

[20] Dong ZM, Brown AA, Wagner DD. Prominent role of P-selectin in the development of advanced atherosclerosis in APOE-deficient mice[J]. *Circulation*, 2000, 101(5):2290-2295.

[21] Davi G, Patrono C. Platelet, activation and atherothrombosis[J]. *N Eng Med*, 2007, 357(12):2482-2494.

[22] Iannacone M, Sitia G, Isogawa M, et al. Platelets mediate cytotoxic T lymphocyte-induced liver damage[J]. *Nature Med*, 2005, 11(11):1167-1169.

[23] Langer HF, Daub K, Braun G, et al. Platelets recruit human dendritic cells Via MAC-1/JAM-C interaction and modulate dendritic

cell function in vitro[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(6):1463-1470.

[24] Semple JW, Italiano JE, Freedman J. Platelets and the immune continuum[J]. *Nature Immunol*, 2011, 11(4):264-274.

[25] Kniiff-Dutmer EA, Koerts J, Nieuwland R, et al. Elevated levels of platelet microparticles are associated with disease activity in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(6):1498-1503.

(收稿日期:2011-12-01)

• 综 述 •

新生儿败血症实验诊断方法现状及研究进展

张玉东 综述, 陈贻骥[△] 审校

(重庆医科大学附属儿童医院新生儿诊治中心 400014)

关键词: 败血症; 诊断方法; 婴儿, 新生; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.05.024

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)05-0562-03

新生儿败血症是新生儿期的危重病症,也是造成新生儿死亡的主要原因之一,存活者可留有严重后遗症,应高度重视。现有实验室检查不能提供敏感、特异的早期诊断依据,早期诊断败血症非常困难。近年来国内外学者做了大量相关工作。

1 临床常用新生儿败血症实验室诊断依据

1.1 外周血象 外周血象检查是败血症高危儿的常规检查。该检查操作技术难度小,80%败血症新生儿外周血可有1项或多项指标异常^[1]。

1.1.1 白细胞计数(WBC)及分类 WBC增多在感染性疾病的诊断中易引起重视。出生12 h后采血结果较为可靠;WBC减少(WBC < 5 × 10⁹/L)或增多(年龄小于或等于3 d者, WBC > 25 × 10⁹/L;大于3 d者, WBC > 20 × 10⁹/L);杆状核细胞/中性粒细胞(I/T) ≥ 0.16,均提示感染^[2]。Berger等^[3]指出50%的新生儿败血症患儿WBC可处于正常范围内。WBC异常也可能出现于其他病理状态下,故对于早期诊断新生儿败血症,WBC既缺乏敏感性又缺乏特异性。与WBC相比,I/T具有较好的临床诊断价值。健康新生儿在出生后24 h内I/T明显升高,但最高不会超过0.14。通常以I/T > 0.2作为诊断新生儿败血症的实验室依据,其灵敏度为60%~90%^[4]。

1.1.2 白细胞形态改变 在WBC无明显增高的败血症中,白细胞形态改变的诊断价值更大。新生儿败血症时,中性粒细胞出现球形包涵体常占50%,空泡变性可达100%,中毒颗粒、核溶解等改变也很常见。但白细胞形态学检查采用血涂片标本,并需严格复核以便发现特殊异常细胞,这与检验人员专业素质密切相关,误差大。

1.1.3 血小板计数(PLT)减少 有文献报道,约22%重症监护新生儿中可发生PLT减少,而败血症是导致PLT减少的明确因素^[5]。感染导致PLT减少可作为新生儿败血症诊断的重要依据之一,PLT < 100 × 10⁹/L有明确的诊断价值^[3]。Mavrommatis等^[6]报道约35%~59%新生儿败血症患儿PLT减少。但PLT减少还常见于呼吸窘迫综合征、窒息等,故PLT减少作为诊断新生儿败血症的特异度不高。

1.1.4 红细胞沉降率(ESR) 有学者曾采用简单微量方法对

患儿发现感染当天进行ESR检测,多数患儿在24 h内ESR有异常改变,认为ESR > 15 mm/h有诊断意义^[3]。但ESR明显增加也可出现在血型不合溶血、纤维蛋白原上升及结缔组织病,且ESR变化相对较迟缓。

1.2 急性时相蛋白(APP) C反应蛋白(CRP)在急性感染早期即增多,是机体应激状态下由肝脏合成的正性APP,反应灵敏,在炎症反应及急性损伤后6~8 h内即可上升(CRP ≥ 8 mg/L)。细菌感染后常在12~24 h内升高,2~3 d达峰值。8%的健康新生儿出生后24~48 h可出现暂时性、生理性CRP升高。因此,新生儿出生48 h后CRP持续性升高才提示细菌感染^[7]。CRP同感染的严重程度呈正相关,所以动态观察CRP变化非常重要,CRP峰值可超过正常值数百倍以上,而在感染控制后又可迅速降低。祁从辉等^[8]采用免疫比浊法对428例细菌感染性疾病患者和55例病毒感染患者血清CRP浓度及ESR、WBC、中性粒细胞百分数进行测定,结果显示在细菌感染急性期ESR、WBC及中性粒细胞百分数变化与CRP浓度变化具有相关性,但不如CRP浓度升高敏感。同外周血象中白细胞计数及分类、PLT、ESR等相比较,CRP对早期诊断新生儿败血症的意义更大,其灵敏度和特异度最高(分别为64.7%和81.4%)。

1.3 细菌培养 细菌培养是诊断新生儿败血症的“金标准”,但大约在感染后72 h,最早也要在36~48 h才能得到检测结果,并且存在假阳性与假阴性。Griffin和Morman^[4]的研究中30%~40%的临床诊断败血症的新生儿血培养出现假阴性结果。必须在抗菌药物使用前进行血培养,抽血时应严格消毒,怀疑有肠源性感染者须同时进行厌氧菌培养,长时间用青霉素类和头孢类药物者应同时进行L型细菌培养,上述方法均可提检测阳性率。抽血过少可导致假阴性,所以取血量至少为0.5 mL。国外一般主张从2个部位取血以减少皮肤污染所致假阳性结果,但国内一般推荐1个部位取血^[4]。此外,耻骨上膀胱穿刺取尿液、脑脊液、浆膜腔液、脓腔液,以及拔除的留置导管头等均应进行细菌培养。细菌培养出现假阳性或假阴性结果的可能性均较高,灵敏度低,并且耗时较长,易错过最佳治

[△] 通讯作者, E-mail: chenyesi55@yahoo.com.cn.

疗时机,故难以在早诊断、早治疗中发挥明显作用。

2 早期诊断新生儿败血症检测方法研究

近些年,国内外学者进行了大量工作,力求找到更敏感的早期诊断新生儿败血症的实验诊断方法,现已取得了一些成果。

2.1 降钙素原(PCT) PCT 是 11 号染色体上降钙素 I 基因(CALC2D)的表达产物。细菌感染可诱导全身各组织器官多种细胞 CALC2I 的表达和 PCT 的连续性产生、释放^[9]。感染时,PCT 水平会在 2~6 h 内迅速升高,于 6~12 h 达高峰。郝玲等^[10]对 36 例新生儿败血症患儿及 26 例健康对照新生儿在初入院及恢复期采空腹静脉血,结果显示败血症组 PCT 水平为(24.12±20.37)μg/L,高于对照组的(0.30±0.19)μg/L($P<0.01$),恢复期 PCT 水平明显下降($P<0.01$)。PCT 水平与炎症反应程度有关,其水平升高是炎症反应增强的信号和标志。其特异度、灵敏度和预测值均高于 CRP、WBC 等^[11]。PCT 诊断败血症最佳阈值为 2.5 μg/L,阴性预测值可达 93%。正常经阴道分娩新生儿出生后 48 h 内 PCT 可出现生理性增多,但出生 12 h 内血清 PCT 水平很少超过 2.0 μg/L,而在 12~47 h,PCT>2.0 μg/L 十分常见,出生后 24~35 h PCT 可达到峰值,而后下降,出生后 12~23 h 和 48 h 差异较显著($P<0.001$),3~30 d 内辅助诊断新生儿败血症的灵敏度和特异度均达 100%^[12]。López Sastre 等^[13]对 317 例新生儿出生后 48 h 内血清 PCT 进行检测,结果显示判断败血症的血清 PCT 推荐值在出生时、出生后 12~24 h、出生后 36~48 h 分别为 0.55、4.7、1.7 μg/L。Hatherill 等^[14]将 PCT 与 CRP、WBC 相比较,认为 PCT 诊断新生儿败血症更敏感、更特异。国内有学者的研究也认为 PCT 诊断价值明显优于 CRP^[15]。但由于 PCT 在出生后 3 d 内波动范围较大,因此对于早发型新生儿败血症的诊断价值还存在一定争议。

2.2 细胞因子

2.2.1 白细胞介素-6(IL-6) IL-6 是刺激肝细胞合成、释放 APP 的主要细胞因子。IL-6 在炎症反应中具有抗炎及促炎作用,其水平高低与疾病严重程度密切相关。Veleminsk 等^[16]研究发现早发型新生儿败血症中,IL-6 灵敏度和特异度分别是 80.0%和 97.2%。出生后 12 h 内血浆 IL-6 水平是诊断新生儿早发型感染的理想指标,有较高的灵敏度和特异度。IL-6 可在感染后 60 min 内释放,2~4 h 内达高峰,可持续 24 h,不同胎龄的新生儿败血症患儿均升高。在 Panere 等^[17]的研究中,17 例晚发型败血症患儿有 15 例存活,2 例死亡,存活者 IL-6 水平经抗菌药物治疗后显著下降,而死亡者 IL-6 水平无明显下降,提示治疗前后 IL-6 水平的改变与新生儿感染预后密切相关,IL-6 水平明显下降者预后好。Magudurmna 等^[18]的研究进一步证实,IL-6 是早期诊断新生儿败血症的理想指标,在 IL-6<20 μg/L 时方可考虑停用抗菌药物。

2.2.2 肿瘤坏死因子(TNF) TNF-α 是炎症反应中起介导作用的最重要促炎因子,败血症或感染性休克患儿体内 TNF-α 水平可显著升高。研究表明,在相同病原体感染后,新生儿单核细胞分泌 TNF-α 的能力较成人低,但在判断新生儿感染时检测 TNF-α 仍有较高的特异度及灵敏度^[19-20]。Atici 等^[19]对 45 例败血症新生儿与 40 例健康新生儿血清 TNF-α 水平进行了比较,发现败血症组的 TNF-α 值(154.0 ng/L)较健康组(61.5 ng/L)显著升高($P<0.001$),且 TNF-α 水平与胎龄、日龄及患儿体质量无关($P>0.05$);败血症休克患儿 TNF-α 值(242.5 ng/L)较健康组或败血症无休克患儿增高,提示 TNF-α

水平也与疾病严重程度相关。Silveria 和 Precianoy^[20]也认为败血症患儿 TNF-α 水平较健康新生儿增高,与 IL-6 联合检测可使诊断新生儿败血症的灵敏度大大提高。

2.2.3 白细胞介素-8(IL-8) IL-8 是中性粒细胞和嗜碱性粒细胞的趋化因子。细菌感染时 IL-8 水平升高,能够为早期诊断新生儿细菌感染提供依据。Berner 等^[21]研究发现,早发型细菌感染新生儿血浆 IL-8 水平较未肯定感染者和健康者显著增高,灵敏度和特异度分别为 91%、93%。一般情况下,败血症可导致新生儿血清 IL-8 水平明显升高,且随着炎症反应的消退,IL-8 水平逐渐降低,恢复期可降至正常水平。因此,新生儿败血症早期血清 IL-8 水平检测可为疗效观察、病情评估及预后判断提供有效的依据。

2.3 血清可溶性细胞间黏附分子 I (sICAM- I) sICAM- I 又称 CD54,介导白细胞黏附于内皮细胞、向炎症反应部位移行和定位,感染时细胞毒素、细胞因子可上调 sICAM- I 的表达。Edgar 等^[22]用放射免疫法测定了 149 例新生儿血液 sICAM- I 浓度,并根据血培养结果及临床症状将这些新生儿分为败血症组和非败血症组,以 sICAM- I ≥300 μg/L 作为新生儿败血症的诊断值,结果显示,败血症组血液 sICAM- I 浓度明显高于非败血症组,其诊断新生儿败血症的灵敏度可达 93%,阴性预测值高达 97%。Hansen 等^[23]的研究也证实败血症患儿血液 sICAM- I 浓度高于非败血症新生儿,以 sICAM- I ≥300 μg/L 作为诊断败血症的诊断值,结果显示,其灵敏度和特异度分别为 78%、90%。以上结果均证实 sICAM- I 诊断新生儿败血症的实用价值。

2.4 中性粒细胞黏附分子 CD11b/CD18 亚单位 CD11b

CD11b 是 CD11b/CD18 的 α 亚单位,当受到细菌黏多糖、TNF 等刺激时,在细胞表面大量表达。Weirich 等^[24]对早发型感染新生儿(胎龄 28~41 周)的研究显示,CD11b 可能是诊断早发型新生儿败血症的有效指标之一,有较高的灵敏度和特异度。Nupponen 等^[25]测定了 22 例早发型败血症新生儿、13 例非感染新生儿和 12 例健康新生儿外周血 CD11b,结果发现,败血症组 CD11b 表达水平高于非感染组和健康对照组,CD11b 的灵敏度和特异度均较高,从而肯定了 CD11b 对新生儿败血症的诊断价值。

2.5 聚合酶链反应(PCR) PCR 能够快速且敏感地检测细菌 DNA,但通常仅可鉴定单株菌。细菌 rRNA 按沉降系数可分为 53S、23S 和 16S 3 种。目前已逐渐开始将具有细菌 rRNA 基因高度保守区特异性的引物用于 PCR 检测。吴亦栋等^[26]对 830 例疑为细菌感染性疾病新生儿的血标本进行 16S rRNA 基因荧光定量 PCR 和微生物培养检测,结果显示 PCR 检测阳性率为 5.18% (43/830),高于血培养阳性率 [2.41% (20/830)] ($P<0.01$);以血培养作为对照,荧光定量 PCR 的诊断灵敏度为 100%,特异度为 97.16%,正确诊断指数可达 0.972。也就是说,只要有细菌存在,无论细菌存活与否,均可通过检测 16S rRNA 而检出细菌,可以更加快速地为新生儿败血症诊断提供依据。Brozanski 等^[27]认为该项技术在临床的大规模开展有利于减少抗菌药物用量并缩短患儿在新生儿重症监护病房的住院时间。

以上实验室诊断方法与新生儿败血症有关,但大多处于研究阶段,目前国内仍以血白细胞计数和分类、CRP 检测和细菌培养为主。对于新生儿败血症,仅靠某项实验室检查难以及早做出正确诊断,应根据患儿病程、临床表现,综合分析实验室检查结果及其特异度和敏感度,做出正确的判断。临床表现结

合上述实验室检查,能快速诊断新生儿败血症,为早诊断早治疗提供依据,从而降低新生儿死亡率。

参考文献

[1] Manzoni P, Mostert M, Galleo P, et al. Is thrombocytopenia suggestive of organism-specific response in neonatal sepsis[J]. *Pediatr Int*, 2009, 52(2): 206-210.

[2] 余加林, 吴仕孝. 新生儿败血症诊疗方案[J]. *中华儿科杂志*, 2003, 41(12): 897.

[3] Berger C, Uehlinger J, Gillefi D, et al. Comparison of C-reactive protein and white blood cell count with differential in neonates at risk for septicaemia[J]. *Eur J Pediatr*, 1995, 154(2): 138-144.

[4] Griffin MP, Morman JR. Toward the early diagnosis of neonatal sepsis and sepsis-like illness using novel heart rate analysis[J]. *Pediatrics*, 2001, 107(1): 97-104.

[5] Aird WC. The hematologic system as a marker of organ dysfunction in sepsis[J]. *Mayo Clin Proc*, 2003, 78(6): 869-881.

[6] Mavrommatis AC, Theodofidis T, Orfanidou A, et al. Coagulation system and platelets are fully activated in uncomplicated sepsis [J]. *Chil Care Med*, 2000, 28(6): 451-457.

[7] 余加林. 新生儿败血症的诊断和治疗[J]. *实用儿科临床杂志*, 2005, 20(2): 100-101.

[8] 祁从辉, 孟祥翠, 李进. C-反应蛋白测定在感染性疾病中的价值 [J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(12): 1373-1374.

[9] Müller B, White JC, Nylén ES, et al. Ubiquitous expression of the calcitonin- α gene in multiple tissues in response to sepsis[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(1): 396-404.

[10] 郝玲, 任常军, 王炳辉, 等. CD64、降钙素原在新生儿败血症诊断中的价值[J]. *临床儿科杂志*, 2011, 29(3): 217.

[11] van Rossum AM, Wulkail RW, Murphy AM. Procalcitonin as an early maker of infection in neonates and children[J]. *Lancet Infect Dis*, 2004, 4(4): 620-630.

[12] Sachse C, Dressler F, Henkel E. Increased serum procalcitonin in newborn infants without infection [J]. *J Chin Chem*, 1998, 44(61): 1343-1344.

[13] López Sastre JB, Solís DP, Serradilla VR, et al. Evaluation of procalcitonin for diagnosis of neonatal sepsis of vertical transmission [J/OL]. *BMC Pediatr*, 2007-02-26 [2011-11-13], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17324267>.

[14] Hatherill M, Tibby SM, Sykes K, et al. Diagnostic markers of infection: Comparison of procalcitonin with C-reactive protein and leucocyte count[J]. *Arch Dis Child*, 1999, 81(6): 417-421.

[15] 周明莉, 蔡爱玲, 王雪峰. 降钙素原及 C 反应蛋白测定在新生儿感

染性疾病诊断中的作用[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(6): 684-685.

[16] Veleminsk M Jr, Stránsk P, Veleminsk M Sr, et al. Relationship of IL-6, IL-8, TNF and sICAM-1 levels to PROM, pPROM, and the risk of early-onset neonatal sepsis[J]. *Neuro Endocrinol Lett*, 2008, 29(3): 303-311.

[17] Panere A, Pacifico L, Rossi N, et al. Interleukin-6 in neonates with early and late onset infection [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 1997, 16(4): 370-375.

[18] Magudurmna MO, Ballot DE, Cooper PA, et al. Serum interleukin-6 measurements in the early diagnosis of neonatal sepsis [J]. *J Trop Pediatr*, 2000, 46(5): 267-271.

[19] Atici A, Satar M, Cetiner S, et al. Serum tumor necrosis factor alpha in neonatal sepsis [J]. *Am J Perinatol*, 1997, 14(7): 401-404.

[20] Silveria RC, Precianoy RS. Evaluation of interleukin-6, tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β for early diagnosis of neonatal sepsis [J]. *Aeta Pediatr*, 1999, 88(6): 647-650.

[21] Berner R, Niemeier CM, Leitis GU, et al. Plasma levels and gene expression of granulocyte colony-stimulating factor, tumor necrosis factor- α , interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8 and soluble intercellular adhesion molecule-1, in neonatal early onset sepsis [J]. *Pediatr Res*, 1998, 44(4): 469-477.

[22] Edgar J, Gabriel V, Craig D, et al. Serum sICAM-1 levels in the diagnosis of neonatal infection [J]. *Pediatric Res*, 1998, 44(5): 430-434.

[23] Hansen AB, Verder H, Staun-Olsen P. Soluble intercellular adhesion molecule and C-reactive protein as early marker of infection in newborns [J]. *Perinat Med*, 2000, 28(2): 97-103.

[24] Weirich E, Rabin RL, Maldonado Y, et al. Neutrophil CD11b expression as a diagnostic marker for early onset neonatal infection [J]. *J Pediatr*, 1998, 132(3): 445-451.

[25] Nupponen I, Andersson S, Jarvenpea AL, et al. Neutrophil CD11b expression and circulating interleukin-8 as diagnostic markers for early onset neonatal sepsis [J]. *Pediatrics*, 2001, 108(1): 12-17.

[26] 吴亦栋, 尚世强, 李建平, 等. 细菌 16S rRNA 基因荧光定量 PCR 诊断新生儿败血症 [J]. *中华儿科杂志*, 2007, 45(6): 446-449.

[27] Brozanski BS, Jones JG, Krohn MJ, et al. Use of polymerase chain reaction as a diagnostic tool for neonatal sepsis call result in a decrease in use of antibiotics and total neonatal intensive care unit length of stay [J]. *J Perinatol*, 2006, 26(7): 688-692.

(收稿日期: 2011-12-09)

儿童幽门螺杆菌感染检测方法评估

王瑞锋 综述, 刘泉波[△] 审校

(重庆医科大学附属儿童医院感染消化科 400014)

关键词: 幽门螺杆菌; 儿童; 检测; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 05. 025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)05-0564-03

幽门螺杆菌(Hp)是一种呈螺旋状或 s 形、微需氧革兰阴性杆菌,专一定居于人胃,与人类慢性胃炎、消化性溃疡、胃癌、

胃黏膜相关淋巴样组织淋巴瘤以及部分胃肠道外疾病密切相关。儿童 Hp 感染不仅导致慢性胃炎和消化性溃疡,而且可导

[△] 通讯作者, E-mail: liuqb1223@sina.com。