·论　著·

淋巴细胞 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 亚群检测在早发型新生儿败血症诊断中的价值

高李华
（江西省赣州市人民医院儿科　341000）

摘　要：目的　探讨早发型新生儿败血症诊断中，淋巴细胞 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 百分比检测的价值。**方法**　将 2014 年 1 月至 2015 年 6 月出生，7 d 内发病，疑似感染的患儿纳入本研究，入院 24 h 内采集静脉血，检测 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 淋巴细胞百分比，C 反应蛋白（CRP）及血常规，在抗菌药物使用前做血培养。将其中血培养证实为早发型新生儿败血症的足月新生儿作为败血症组，血培养阴性的作为局部感染组。同时选择同期因高胆红素血症（排除感染等因素所致）而住院的足月新生儿作为非感染组。采用流式细胞仪对上述患儿标本进行检测，观察并比较 3 组间淋巴细胞亚群 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 百分比。**结果**　败血症组 $CD3^+$［(40.3±10.6)%］，$CD4^+$［(28.6±11.2)%］，$CD8^+$［(10.8±2.6)%］低于局部感染组的 $CD3^+$［(64.8±9.8)%］，$CD4^+$［(48.9±10.2)%］，$CD8^+$［(17.6±5.6)%］和非感染组的 $CD3^+$［(62.6±11.6)%］、$CD4^+$［(46.4±13.6)%］、$CD8^+$［(16.5±7.3)%］，差异有统计学意义（$P<0.05$），局部感染组的 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 与非感染组之间比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。**结论**　$CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 百分比可以作为诊断早发型新生儿败血症的指标。

关键词：败血症；　流式细胞术；　淋巴细胞；　新生儿
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2017.05.016　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2017)05-0615-03

Value of lymphocyte $CD3^+$, $CD4^+$ and $CD8^+$ subsets detection in early diagnosis of neonatal septicemia

GAO Lihua
(*Department of Pediatrics, Ganzhou Municipal People's Hospital, Ganzhou, Jiangxi* 341000, *China*)

Abstract: Objective　To investigate the value of T-lymphocyte subsets $CD3^+$, $CD4^+$ and $CD8^+$ percentage detection in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis. **Methods**　The neonates born in January 2014 to June 2015 with suspected infection and onset within 7 d were included into this study. The venous blood was collected within 24 h after admission. $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ lymphocyte percentage, C reactive protein and blood routine were detected. The blood culture was performed before the use of antibacterial drugs. The full-term neonates with early onset sepsis confirmed by blood culture were taken as the sepsis group and those of negative blood culture was taken as the local infection group select the blood culture negative for local infection group. At the same time, the hospitalized full-term neonates with hyperbilirubinemia (excluding cases caused by factors such as infection) served as the control group. The flow cytometery was adopted to detect the samples of above neonatal patients. The lymphocyte subsets $CD3^+$, $CD4^+$ and $CD8^+$ percentages were observed and compared among 3 groups. **Results**　$CD3^+$［(40.3±10.6)%］, $CD4^+$［(28.6±11.2)%］and $CD8^+$［(10.8±2.6)%］in the sepsis group were lower than $CD3^+$［(64.8±9.8)%］, $CD4^+$［(48.9±10.2)%］, $CD8^+$［(17.6±5.6)%］in the local infection group and $CD3^+$［(62.6±11.6)%］, $CD4^+$［(46.4+13.6)%］and $CD8^+$［(16.5±7.3)%］in the non-infection group, the differences were statistically significant ($P<0.05$); $CD3^+$, $CD4^+$ and $CD8^+$ had no statistical difference between the local infection group and non-infection group ($P>0.05$). **Conclusion**　$CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ percentage can be used as an indicator for the diagnosis of early onset neonatal sepsis.

Key words: sepsis;　flow cytometry;　lymphocyte;　newborns

新生儿败血症是指新生儿期细菌侵入血液循环并生长繁殖、产生毒素所造成的全身性感染。根据发病时间可分为早发型败血症与晚发型败血症[1]。有研究显示新生儿败血症的发病率达 0.5%～8.0%[2]。因新生儿免疫功能尚未发育完善，败血症极易导致新生儿死亡，已成为新生儿期患儿病死率高的主要原因之一。据估计，每年全世界有超过 140 万例新生儿死于侵袭性感染[3]，而且以出生后 7 d 内发病的患儿病死率极高，所以对早发型败血症的诊治关键在于早诊断、早治疗。但由于该病早期症状、体征不典型，血培养虽可以确诊，却所需时间长，阳性率低，C 反应蛋白（CRP）、降钙素原、内毒素等检测均缺乏特异性。因此，需要寻找一种可靠而又敏感的指标用于早期诊断新生儿细菌感染。本研究通过检测败血症患儿、局部感染患儿与非感染新生儿外周血淋巴细胞 CD3、CD4、CD8 的表达，旨在评估 T 淋巴细胞亚群检测在早发型新生儿败血症早期诊断中的价值，从而达到早期诊断早发型新生儿败血症的目的，现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　将本院新生儿科病房 2014 年 1 月至 2015 年 6 月收治的足月新生儿共 298 例纳入本研究，男婴 160 例、女婴 138 例。败血症组（98 例）：经血培养证实为阳性的新生儿作为败血症组，其中大肠埃希氏菌感染 20 例，肺炎克雷伯杆菌感染 18 例、绿脓杆菌感染 8 例、表皮葡萄球菌感染 16 例、金黄色葡萄球菌感染 15 例、阴沟肠杆菌感染 12 例、屎肠球菌感染 6 例、链球菌感染 3 例，平均体质量为（3.1±0.8）kg，胎龄（37.8±1.6）周。局部感染组（100 例）：血培养结果回报为阴性，其中新生儿肺炎 46 例、新生儿脐炎 12 例、新生儿肠炎 8 例、新生儿脓疱疹 10 例、新生儿泌尿道感染 16 例、其他感染 8 例，平均体质量为（3.2±0.5）kg，胎龄（37.2±3.1）周。非感染

作者简介：高李华，男，主治医师，主要从事新生儿感染及重症医疗的研究。

组(100 例):将同期因高胆红素血症(排除感染等因素所致)而住院的足月新生儿作为非感染组,平均体质量为(3.1±0.6)kg,胎龄(38.0±2.1)周。3 组间在性别、胎龄及体质量等方面比较差异无统计学意义($P>0.05$)。所有纳入研究的患儿均获得家属知情同意并通过了医院伦理管理委员会审查。

1.2 诊断标准　败血症诊断标准参照全国新生儿败血症诊断标准修订方案[4]。局部感染如新生儿肺炎、新生儿脐炎、新生儿肠炎、新生儿脓疱疹、新生儿泌尿道感染等疾病以及非感染组疾病诊断标准均参考《实用新生儿学(第 4 版)》。排除标准患有先天性免疫缺陷性疾病、先天性畸形、遗传代谢性疾病者。

1.3 方法　败血症组和局部感染组入院 24 h 内采集静脉血 3 mL 行 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 淋巴细胞百分比及 CRP、血常规检测,在抗菌药物使用前做血培养。非感染组患儿入院 24 h 内采集静脉血,进行 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$、CRP、血常规检测及血培养。采用流式细胞仪进行 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 检测,试剂和仪器均购自美国 Beckman Coulter 公司;采用散射比浊法进行 CRP 检测,试剂购自深圳市国赛生物技术有限公司及其配套仪器;使用 Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪进行血常规检测。同时对上述患儿做痰培养、粪便常规检测、粪便培养、脐部分泌物培养等检查。

1.5 统计学处理　采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析,计数资料以百分比表示,组间比较采用 Pearson χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用非参数性检验或 t 检验,多组间的比较采用方差分析;$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结　　果

2.1 3 组间 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 淋巴细胞百分比的比较　败血症组 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 淋巴细胞百分比均低于局部感染组,差异有统计学意义($P<0.05$);局部感染组 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 与非感染组之间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1　3 组 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 百分比比较(%,$\bar{x}\pm s$)

组别	n	$CD3^+$	$CD4^+$	$CD8^+$
败血症组	98	40.3±10.6*△	28.6±11.2*△	10.8±2.6*△
局部感染组	100	64.8±9.8	48.9±10.2	17.6±5.6
非感染组	100	62.6±11.6	46.4±13.6	16.5±7.3

注:与非感染组比较,*$P<0.05$;与局部感染组比较,△$P<0.05$。

2.2 其他检测　痰培养阳性患儿共 92 例,败血症组中有 36 例(合并血培养阳性),局部感染组中有 56 例;粪便常规检测提示白细胞+~++++的患儿 14 例,败血症组中有 6 例,局部感染组中有 8 例;粪便培养均为阴性;脐部分泌物培养阳性患儿 10 例,其中败血症组 6 例,局部感染组 4 例。从各检查结果可以看出,败血症组、局部感染组两组间痰培养、粪便常规、脐部分泌物培养等检查结果差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 不良反应　研究当中所有患儿在治疗过程中均无明显的不良反应。

3 讨　　论

新生儿败血症是新生儿时期常见的感染性疾病,极易危及生命。新生儿早发型败血症发生于生后 7 d 内,孕母常有胎膜早破、围生期感染、羊水污染等病史,病情凶险,发展迅速,易并发感染性休克、弥散性血管内凝血等,病死率较高。晚发型败血症发生于出生 7 d 后,病情相对轻,感染途径以皮肤、呼吸道、脐部及消化道多见,但易并发化脓性脑膜炎。对其的诊断而言,因受采血量、采血时间等因素影响,特别是早发型败血症,往往阳性检出率不高[5]。传统的血培养检测仍然是诊断败血症的"金标准",但培养时间至少需要 48~72 h[6],相对时间太长,不能及时指导临床治疗。而外周血细胞计数,在 2012 年美国儿科学会胎儿和新生儿委员会提出,对诊断早发型败血症阳性预测值低,几乎没有价值[7]。近年来,有较多学者对降钙素原(PCT)和 CRP 的检测对早发型败血症的诊断意义进行了研究,认为出生后 24 h 后进行 PCT 的诊断价值较出生 1 h 内更大[8],原因在于 PCT 水平在出生后 48 h 内波动较大;而 CRP 对诊断早发型败血症具有较高的阴性预测值,达 92.8%,但灵敏度不高仅为 61.5%[9-10]。比较前沿的研究有报道抵抗素(脂肪细胞分泌的一种多肽类激素)是一个优秀的诊断早发型败血症的新指标[11],及孤儿 G 蛋白耦联受体 APJ 天然受体对早发型败血症诊断的临床价值较高,灵敏度达 100%,特异度 97%[12];但因大部分医院检验科条件受限,较难迅速推广。

在机体抗感染的过程中,T 淋巴细胞、B 淋巴细胞及 NK 细胞均可被激活,从而启动机体的免疫抵抗反应,其中 $CD3^+$ 淋巴细胞为 T 淋巴细胞,$CD4^+$ T 淋巴细胞包括辅助性 T 淋巴细胞,$CD8^+$ T 淋巴细胞为抑制性 T 细胞,T 淋巴细胞的相互调节维持机体免疫平衡,$CD4^+$、$CD8^+$ T 淋巴细胞是目前认为最重要的病毒、细菌清除细胞,但体内 $CD4^+$、$CD8^+$ T 淋巴细胞百分比在病毒感染和长期反复慢性炎症时减少,导致免疫功能降低。

本研究显示,取足月新生儿早期进行 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 淋巴细胞百分比检测,败血症组 $CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$ 百分比均低于非感染组及局部感染组。对大部分医院而言,开展 T 淋巴细胞亚群检测相对较为简单,具有临床推广价值。但王丽丽等[13]的研究显示,感染组与非感染组间比较 $CD8^+$ 百分比差异无统计学意义($P>0.05$),与本研究不一致,所以还需要有更大样本量的研究来确证。

参考文献

[1] Simonsen KA, Anderson-Berry AL, Delair SF, et al. Early-onset neonatal sepsis[J]. Clin Microbiol Rev, 2014, 27(1): 21-47.

[2] Wu JH, Chen CY, Tsao PN, et al. Neonatal sepsis: a 6-year analysis in a neonatal care unit in Taiwan[J]. Pediatr Neonatol, 2009, 50(3): 88-95.

[3] Shane AL, Stoll BJ. Neonatal sepsis: progress towards improved outcomes[J]. J Infect, 2014, 68(Suppl 1): S24-32.

[4] 中华医学会儿科学分会新生儿学组,《中华医学会中华儿科杂志》编辑委员会. 新生儿败血症诊疗方案[J]. 中华儿科杂志, 2003, 41(12): 897-899.

[5] 崔珊,赵晓芬,刘玲,等. 新生儿早发型败血症与晚发型败血症临床分析[J]. 医学信息, 2015, (11): 115-116.

[6] Liu CL, Ai HW, Wang WP, et al. Comparison of 16S rRNA gene PCR and blood culture for diagnosis of neonatal sepsis[J]. Arch Pediatr, 2014, 21(2): 162-169.

[7] Polin RA. Committee on fetus and newborn. management of neonates with suspected or proven early-onset bacterial sepsis[J]. Pediatrics, 2012, 129(5): 1006-1015.

[8] Altunhan H, Annagür A, Örs R, et al. Procalcitonin measurement at 24 hours of age May be helpful in the prompt diagnosis of early-onset neonatal sepsis[J]. Int J Infect Dis, 2011, 15(12): e854-e858.

[9] Ince Z. Diagnosis of neonatal sepsis: what(下转第 619 页)

目前大多数实验室拥有先进的 LIS 系统,但有的系统构建者缺乏相关的医学知识背景。Dangott 等[10]提出先进的个性化 LIS 系统应该在满足基本的功能基础上,加强实用性、医学性、便利性,相对于传统的 LIS 系统所缺少的,新一代 LIS 系统应进行改进。为保证分析前的标本质量,应使设置经济、快速、易于修补,并使得临床医生易于理解和操作[11]。有学者改进了 LIS 系统,实现了临床检验中常规检验的分析前质量控制,实现了标本不合格率小于 1%,标本标示错误率小于万分之二[12]。从微生物检验看,分析前的标本不合格率普遍高于临检和生化标本[12-14],由于微生物检测是诊断疾病、指导用药的重要依据,在临床实践中会受到包括技术条件在内的多方面因素的影响[11]。微生物检验标本中,标本类别等相关信息缺失或不全,高居不合格标本原因的榜首[13-15]。目前在减少微生物检测的标本类型错误率方面很少有特别有效的措施,因此实施新的微生物项目申请模式,并传输至 LIS 系统,对于微生物实验室的分析前质量保证和提高工作流程效率至关重要。

新的项目设置方式有 4 个特点,(1)根据感染部位标本,设置检测项目,微生物项目从最多的 20 项减至最多 8 项最少 1 项,最多的为粪便和尿道分泌物,方便医生迅速查找所需项目。(2)医生不用输入标本类型,点击项目后,系统自动产生标本类型,缩短开单时间,减少错误概率。(3)具有提醒医生特殊检测所需的标本类型,根据不同标本的特点,设置个性化的检验项目,如咽拭子标本除常规培养外,加入流感 A+B 抗原检测,泌尿生殖道标本中,女性宫颈分泌物标本中设置支原体培养,淋球菌培养和衣原体抗原检测[4],阴道分泌物标本中设置针对无乳链球菌的细菌培养,筛选顺产可能对新生儿造成的感染[16]。(4)预留可能增加的标本类型,方便医生需要增加特殊项目。如新生儿科新增胃内容物,超声介入科新增穿刺囊肿液等特殊项目的检测。此设置方式一方面提示医生特殊项目的标本要求,另一方面简化了项目界面,一目了然,缩短了开单时间,减少错误信息的发生,大大提高工作效率,从而保证了微生物分析前的质量。

为进一步加强微生物检验分析前的质量控制,同时加强与临床的联系与及时沟通,针对标本类型的错误情况应定期向临床医护人员进行宣传、培训,减少错误标本类型的发生,使其认识到正确的标本是整个检验质量的保证。改善信息系统后,修改标本类型错误的时间平均每天降低至 5 min 以内,标本类型错误率从 4.6%降至 1.3%及以下,维持在较低水平,正确率明显提高,缩短了各项工作的耗时(包括减少与临床核实标本/减少重复和浪费),实现了降低标本类型的错误率(<2.3%)质量目标。

微生物实验室的建设和发展离不开 LIS 系统的不断更新和改善,将来将更多地把医学性、实用性的思维理念加入到 LIS 系统的设计中,逐步实现智能化的微生物实验室。

参考文献

[1] 贾红兵,李爽,鄢盛恺.医学实验室认可在临床微生物学检验领域的实践[J].实验与检验医学,2011,29(4):339-342.

[2] 陆露.微生物分析前质量控制的重要性[J].国际检验医学杂志,2014(5):609-610.

[3] 肖学会.临床微生物自动化的现状与展望[J].国际检验医学杂志,2016,37(1):80-82.

[4] 王辉,任健康,王明贵.临床微生物学检验[M].北京:人民卫生出版社,2015.

[5] 张杉杉,顾雪明,刘宏,等.糖尿病足感染病原菌分布与病情严重性相关[J].中华内分泌代谢杂志,2012,28(6):487-491.

[6] 葛均波,徐永健.全国高等学校教材:内科学[M].8 版.北京:人民卫生出版社,2013:148.

[7] 徐乐,张元才.实验室信息管理系统现状综述[J].科技情报开发与经济,2008,18(31):186-187.

[8] Sepulveda JL, Young DS. The ideal laboratory information system[J]. Arch Pathol Lab Med,2013,137(8):1129-1140.

[9] Krasowski MD,Schriever A,Mathur G,et al. Use of a data warehouse at an academic medical center for clinical pathology quality improvement,education,and research[J]. J Pathol Inform,2015,6(1):45.

[10] Dangott B. Specialized laboratory information systems [J]. Surg Pathol Clin,2015,8(2):145-152.

[11] 梁晓红,惠燕霞,马启明.临床微生物实验室建设与发展[J].国际检验医学杂志,2015,36(21):3214-3215.

[12] Musilova I, Pliskova L, Kutova R, et al. Streptococcus agalactiae in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2016,29(7):1036-1040.

[13] 郭野,陈倩,吴卫,等.实验室信息管理系统在检验质量关键指标管理中的应用[J].中华医学杂志,2015,95(12):898-902.

[14] 尹秀云,陈建魁,曾利军,等.临床微生物培养不合格标本的特点及解决对策[J].国际检验医学杂志,2012,33(20):2499-2501.

[15] 魏丹,郭晓艳.微生物送检标本不合格原因及质量控制[J].中国医学工程,2014,22(10):189.

[16] 马建飞,郭超良,李刚.微生物培养标本不合格原因分析及处理策略[J].实用预防医学,2015,22(2):244-245.

(收稿日期:2016-08-22　修回日期:2016-10-24)

(上接第 616 页)

the clinician expects, what the laboratory tells[J]. Clin Biochem,2014,47(9):754-755.

[10] Edgar JD, Gabriel V, Gallimore JR, et al. A prospective study of the sensitivity, specificity and diagnostic performance of soluble intercellular adhesion molecule 1, highly sensitive C-reactive protein, soluble E-selectin and serum amyloid A in the diagnosis of neonatal infection [J]. BMC Pediatr,2010,10(1):22.

[11] 卢江溢,李禄全.新生儿早发型败血症诊断进展[J].临床儿科杂志,2015,33(9):822-826.

[12] Gad GI, Ismail RI, El-Masry SA, et al. Serum apelin in early-onset neonatal sepsis: is it diagnostic? [J]. J Neonatal Perinatal Med,2014,7(3):207-212.

[13] 王丽丽,刘光辉,郑洪,等.新生儿感染时 CD64、CD3、CD4、CD8 的表达研究[J].医药前沿,2014,(21):215-216.

(收稿日期:2016-09-06　修回日期:2016-10-28)