

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.02.009

IRF 评估新型冠状病毒肺炎患者死亡风险的价值

曹晓淬, 张红梅, 孔 曼, 毛小莉, 黄丽锋, 卢忠心[△]

华中科技大学同济医学院附属武汉市中心医院检验科, 湖北武汉 430014

摘 要:目的 探讨未成熟网织红细胞比率(IRF)在预测新型冠状病毒肺炎(COVID-19)患者死亡风险中的价值。方法 选取该院 2020 年 1 月 23 日至 3 月 31 日确诊的 108 例 COVID-19 患者为病例组, 其中生存患者 88 例, 死亡患者 20 例, 并以同期进行体检的 57 例健康者为健康对照组。收集患者的病例资料, 比较生存和死亡患者、COVID-19 不同临床分型患者网织红细胞绝对值(Ret#)、网织红细胞百分比(Ret%)、高荧光强度网织红细胞比率(HFR)、中荧光强度网织红细胞比率(MFR)、低荧光强度网织红细胞比率(LFR)、IRF。采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)和曲线下面积(AUC)评价 IRF 对 COVID-19 死亡风险的诊断价值。结果 病例组 IRF 水平高于健康对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$); 死亡组 IRF 水平高于生存组, 差异有统计学意义($P<0.05$); IRF 诊断 COVID-19 死亡风险的 AUC 为 0.774(95%CI: 0.66~0.89), 以 IRF=7.90% 为诊断 COVID-19 死亡风险指标的 Cut-off 值, 灵敏度为 80.0%, 特异度为 73.6%。结论 IRF 水平是早期预测 COVID-19 患者死亡风险的一个较好的指标。

关键词:未成熟网织红细胞比率; 网织红细胞; 新型冠状病毒肺炎
中图法分类号:R563 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2021)02-0176-04

The value of IRF in assessing mortality risk in COVID-19 patients

CAO Xiaocui, ZHANG Hongmei, KONG Man, MAO Xiaoli, HUANG Lifeng, LU Zhongxin[△]

Department of Clinical Laboratory, The Central Hospital of Wuhan, Wuhan, Hubei 430014, China

Abstract: **Objective** To investigate the value of immature reticulocyte ratio (IRF) in predicting the risk of death in Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) patients. **Methods** A total of 108 COVID-19 patients diagnosed in the hospital from January 23 to March 31, 2020 were selected as the case group, including 88 surviving patients and 20 dead patients. At the same time, 57 healthy people were selected as control group. Information of cases were collected, the determination of reticulocyte absolute value (Ret #), equipment operation instruction, reticulocyte percentage (Ret %), high intensity of fluorescent reticulocyte (HFR), middle intensity of fluorescent reticulocyte (MFR), low intensity of fluorescent reticulocyte (LFR) and IRF were compared between survival and death patients, as well as between COVID-19 patients with different clinical types. The diagnostic value of IRF in the risk of death of COVID-19 was evaluated by receiver operating characteristic curve (ROC curve) and area under curve (AUC). **Results** The IRF level of case group was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). IRF level in the death group was significantly higher than that in the survival group ($P<0.05$). The AUC of IRF in predicting the death risk of COVID-19 was 0.774 (95%CI: 0.66-0.89). When the cut-off value of IRF was 7.90% in predicting the death risk of COVID-19, the sensitivity was 80.0% and specificity was 73.6%. **Conclusion** IRF level is a good predictor of mortality risk in COVID-19 patients.

Key words:immature reticulocytes ratio; reticulocyte; Corona Virus Disease 2019

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)主要的传播途径是呼吸道传播和飞沫传播, 病原体通过呼吸道侵入人体, 作用于呼吸道黏膜上皮细胞和肺泡上皮细胞, 引起肺部感染, 并伴随脾脏、淋巴结、骨髓组织等免疫器官的损伤。患者发病的常见症状有发烧、咳嗽、肌痛

或疲劳, 部分患者有头痛、咯血和腹泻等症状, 约有 50% 肺部感染的患者会出现呼吸困难, 甚至有 1/3 患者被送入 ICU 进行治疗。轻型或普通型患者可很快在适当的医疗干预下恢复^[1], 但重型或危重型患者, 尤其是合并有高血压、糖尿病等基础疾病的患者或老

作者简介:曹晓淬,女,主管技师,主要从事临床基础检验方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail:lxz71@yahoo.com
本文引用格式:曹晓淬,张红梅,孔曼,等. IRF 评估新型冠状病毒肺炎患者死亡风险的价值[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(2):176-179.

年人病死率较高^[2-6],因其分型不同而病情差异较大,治疗措施也不尽相同,因此早期评估 COVID-19 病情严重程度及预测患者发生死亡的风险显得尤为重要。本研究收集 108 例 COVID-19 住院患者的临床资料、全血细胞计数及网织红细胞(Ret)5 项参数的结果,以此来探讨未成熟 Ret 比率(IRF)在评估 COVID-19 患者预后的临床价值及变化,为评估 COVID-19 患者死亡风险提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2020 年 1 月 23 日至 3 月 31 日收治的 108 例 COVID-19 住院患者为研究对象(病例组),其中男 47 例、女 61 例,年龄 23~92 岁、平均(62.42±14.80)岁。健康对照组 57 例均为体检中心查体健康人员,男 26 例、女 31 例,年龄 35~82 岁、平均(61.40±9.43)岁。两组研究对象性别比例、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。所有 COVID-19 病例均根据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[7]确诊。COVID-19 疑似病例同时具备以下病原学或血清学证据之一者可确诊:(1)呼吸道标本或者血液标本实时荧光 RT-PCR 检测新型冠状病毒核酸阳性;(2)呼吸道标本或者血液标本病毒基因测序结果,与已知的新型冠状病毒高度同源;(3)血清新型冠状病毒特异性 IgM 抗体和 IgG 抗体阳性;血清新型冠状病毒特异性 IgG 抗体由阴性转为阳性或恢复期较急性期 4 倍及以上升高。临床分型:根据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[7]进行临床分型。轻型:临床症状轻微,影像学未见肺炎表现;普通型:具有发热、呼吸道感染等症状,影像学可见肺炎表现;重型:符合下列任何 1 条,(1)呼吸窘迫,呼吸频率 ≥ 30 次/分钟;(2)静息状态下,指氧饱和度 $\leq 93\%$;(3)动脉血氧分压/吸氧浓度 ≤ 300 mm Hg。危重型:符合以下情况之一者,(1)出现呼吸衰竭,且需要机械通气;(2)出现休克;(3)合

并其他器官功能衰竭需进入 ICU 监护治疗。

1.2 方法 所有患者及对照组抽取 EDTA-K₂ 抗凝全血 2 mL 进行外周血全血细胞计数及 Ret 计数检测。全血细胞计数及分类采用 Mindray CAI8000 自动血细胞分析仪及其配套的试剂进行检测。各指标参考范围如下。红细胞计数(RBC):男(4.3~5.8) $\times 10^{12}$ /L;女(3.8~5.1) $\times 10^{12}$ /L。血红蛋白(Hb):男 130~175 g/L;女 115~150 g/L。血细胞比容(HCT):男 40%~50%;女 35%~45%。平均红细胞体积(MCV)82~100 fL。平均红细胞血红蛋白量(MCH)27~34 pg。平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)346~354 g/L。Ret 绝对值计数(Ret #)0.02~0.20。Ret 百分数(Ret%)0.3%~3.0%。高荧光强度网织红细胞比率(HFR)0.0%~5.0%。中荧光强度网织红细胞比率(MFR)0.0%~20.0%。低荧光强度网织红细胞比率(LFR)80.0%~100.0%。IRF 0.0%~25.0%。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验。非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,两组间比较采用 Mann-Whitney U 秩和检验。此外,通过受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价 IRF 在评估 COVID-19 患者死亡风险中的价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 病例组与健康对照组临床资料、全血细胞计数及 Ret 的比较 与健康对照组相比,病例组患者 MCV、Ret #、Ret%、HFR、MFR、IRF 均显著增高($P<0.05$);RBC、Hb、HCT、MCHC、LFR 均显著降低($P<0.05$);而 MCH 差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 病例组与健康对照组临床资料、全血细胞计数及 Ret 水平的比较

组别	<i>n</i>	RBC($\times 10^{12}$ /L, $\bar{x} \pm s$)		Hb(g/L, $\bar{x} \pm s$)		HCT(% , $\bar{x} \pm s$)		MCV(fL, $\bar{x} \pm s$)	
		男	女	男	女	男	女		
病例组	108	3.96±0.93	3.53±0.72	116.22±27.98	107.56±20.78	36.82±8.27	34.04±6.81	95.90±9.09	
健康对照组	57	4.70±0.45	4.57±0.49	143.22±15.24	139.94±12.02	43.13±4.26	42.36±3.53	92.64±4.30	
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.01	

组别	<i>n</i>	MCH	MCHC	Ret #	Ret%	HFR	MFR	LFR	IRF
		(pg, $\bar{x} \pm s$)	(g/L, $\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	(% , $\bar{x} \pm s$)	[%, $M(P_{25}, P_{75})$]	(% , $\bar{x} \pm s$)	(% , $\bar{x} \pm s$)	[%, $M(P_{25}, P_{75})$]
病例组	108	30.23±3.33	317.24±29.95	0.07±0.04	2.07±1.63	0.15(0.00,1.55)	7.51±6.16	90.66±9.72	5.50(3.20,12.88)
健康对照组	57	30.66±1.70	330.91±8.13	0.06±0.02	1.21±0.31	0.00(0.00,0.00)	3.18±1.41	96.82±1.41	3.10(2.20,3.90)
<i>P</i>		0.37	<0.001	0.02	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同临床分型 COVID-19 患者各指标比较 根据相关标准,轻型/普通型组、重型组、危重型组分别有 62、23、23 例;Ret%、IFR、HFR、MFR 水平在轻型/普通型组、重型组、危重型组中依次增高,而 LFR 水平在轻型/普通型组、重型组、危重型组依次降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 轻型/普通型、重型、危重型组间各指标比较[%, $M(P_{25},P_{75})$]

组别	<i>n</i>	Ret%	IRF	HFR	MFR	LFR
轻型/普通型组	62	1.18(0.87,2.04)	3.65(1.75,5.45)	0.00(0.00,0.25)	3.65(1.75,5.28)	96.35(94.55,98.25)
重型组	23	2.47(1.65,4.45)	12.90(6.50,19.20)	1.00(0.40,3.60)	11.40(6.10,16.00)	87.10(80.8,93.50)
危重型组	23	2.52(0.76,3.68)	16.00(8.90,29.60)	2.60(0.80,9.20)	13.20(7.50,18.10)	84.00(70.40,91.10)
<i>H</i>		18.34	50.46	59.09	49.31	50.46
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 死亡组、生存组间 Ret#、Ret%、HFR、MFR、LFR、IRF 结果比较[$M(P_{25},P_{75})$]

组别	<i>n</i>	Ret#	Ret%(%)	HFR(%)	MFR(%)	LFR(%)	IRF(%)
死亡组	20	0.08(0.03,0.11)	2.14(0.84,3.86)	1.95(0.70,6.60)	12.10(7.35,17.05)	86.40(76.25,91.50)	13.60(8.30,26.68)
生存组	88	0.06(0.04,0.09)	1.56(0.98,2.36)	0.01(0.00,0.70)	4.75(2.85,7.50)	95.05(91.85,97.15)	4.95(2.83,8.38)
<i>P</i>		0.20	0.02	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 IRF 对 COVID-19 的诊断效能分析 ROC 曲线分析结果显示,IRF 诊断 COVID-19 生存情况的曲线下面积(AUC)为 0.774(95%CI:0.66~0.89),Cut-off 值为 7.90%时,预测的灵敏度为 80.0%,特异度为 73.6%。

3 讨论

Ret 是介于晚幼红细胞和成熟红细胞之间的尚未完全成熟的红细胞,是反映骨髓造血功能的重要指标之一^[8],当被活体染色剂(如 NMB)染色时,含能被染色的核酸(细胞内 RNA)或与特定的核酸结合且被荧光剂染色时,显示细胞内增高的荧光强度^[9]。基于流式细胞术及荧光染色原理,将 Ret 分为 HFR、MFR、LFR 共 3 种类型,其中 HFR、MFR 称为未成熟 Ret,细胞质中残存的 RNA 较多,而 IRF 已成为骨髓和造血干细胞移植及化疗后骨髓再生的早期标志物^[10-11]。本研究结果显示,病例组的 RBC、Hb、HCT、MCHC、LFR 均低于健康对照组($P<0.05$);MCV、Ret#、Ret%、HFR、MFR、IRF 均高于健康对照组($P<0.05$)。当外周血 IRF 增高时,间接反映骨髓红系造血被抑制,出现贫血或贫血加重,从而导致 RBC、Hb、HCT 降低。与此同时,机体及时做出反应,使得红系代偿性增生,生成更多的未成熟 Ret 释放到外周血,经历 24 h 变为成熟的红细胞,满足机体需要^[12]。而部分患者的 Ret# 和 Ret%变化不明显,仅 IRF 增高,并且 HFR 和 MFR 与其变化的趋势相同,说明 IRF

2.3 COVID-19 患者生存组和死亡组的 Ret 各参数结果比较 按照临床结局的不同,将 COVID-19 患者分为生存组和死亡组,两组 Ret# 差异无统计学意义($P>0.05$);而死亡组的 Ret%、HFR、MFR、IRF 均明显高于生存组,LFR 明显低于生存组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

的灵敏度比 Ret# 和 Ret%更高,因此 IRF 反映了最新从骨髓释放入外周血的红细胞数量,是评价红细胞生成活性的早期敏感指标,且不受机体某些状态的干扰。

本研究分析发现,COVID-19 死亡组的 IRF 明显高于生存组,差异有统计学意义($P<0.05$),ROC 曲线分析结果显示,IRF 的 AUC 为 0.774,Cut-off 值为 7.90%,此时预测 COVID-19 患者发生死亡结局的灵敏度为 80.0%,特异度为 73.6%,提示 IRF 水平升高可以作为一个独立的预后因子预测 COVID-19 患者的死亡风险,对 IRF>7.90%的患者,及时做出判断和有效干预是改善临床转归的关键。

COVID-19 患者死亡时 IRF 升高的具体机制目前还不明确,但本研究发现,COVID-19 死亡组患者 Ret%、HFR、MFR 明显高于生存组,而 LFR 低于生存组,差异有统计学意义($P<0.05$)。当机体感染病原体后,引起体液中迅速大量产生多种细胞因子,这些细胞因子是重要的信号,可以帮助调动免疫细胞,从而将病原体从体内清除出去;当过度刺激免疫系统时,机体过度反应,诱发“炎症风暴”^[13]。COVID-19 患者出现“炎症风暴”时,是感染者从轻症向重症和危重症转变的一个重要节点,同时也是重症和危重症患者死亡的一个原因,释放的各种炎症因子影响骨髓功能、铁代谢及红细胞生成障碍,使得体积大的新生 Ret 进入外周血循环中^[14],提示死亡组患者 HFR、MFR

的增高导致了 IRF 水平的增高, IRF 水平变化只与骨髓状态有关, 不受外周血红细胞及 Hb 的影响, 这进一步解释了 COVID-19 患者死亡风险与 IRF 水平之间存在的关联。部分肺部感染的患者会出现胸闷、呼吸困难等症状, 当机体处于慢性缺氧时, 机体的代偿能力可使骨髓造血系统受到的刺激并不显著, 患者 Ret 和 IRF 升高并不明显, 但当感染等因素导致患者病情加重, 缺氧程度加剧时, 患者的组织及器官严重供氧不足, 由此导致骨髓造血系统大量生成红细胞, 以提高血液供氧能力, 骨髓造血明显增强, 故对外周血 Ret 进行测定, 可以对患者组织缺氧的状态及其发生、发展的趋势进行评估, 对诊断隐匿性缺氧提供临床判断依据^[15]。生理情况下, 体内促红细胞生成素(EPO)水平维持恒定; 当机体出现贫血或其他原因导致肾脏氧气供应减少时, 在缺氧诱导因子的刺激下, EPO 分泌增加, 刺激红细胞增殖并分化成熟^[16-17], 治疗过程中使用 EPO 类药物也会引起外周血 IRF 水平的增高。

COVID-19 的发生、发展是一个复杂的过程, 涉及炎症因子、组织缺氧、骨髓造血等多方面的影响。本研究为单中心的回顾性临床研究, COVID-19 患者入院时间不同、临床治疗不同及存在的其他基础性疾病都可能造成 Ret 测定时间的不一致性, 从而引起 Ret 的差异。因此, 需要进行多中心、大样本量的临床研究来探讨 IRF 水平增高的原因及机制, 以便于临床医生评估 COVID-19 患者发生死亡的风险, 从而降低 COVID-19 患者的病死率。

参考文献

- [1] CHEN J, QI T K, LIU L, et al. Clinical progression of patients with COVID-19 in Shanghai, China[J]. J Infect, 2020, 80(5): e1-e6.
- [2] FU L, FEI J, XIANG H X, et al. Influence factors of death risk among COVID-19 patients in Wuhan, China: a hospital-based case-cohort study[J/OL]. MedRxiv Preprint. (2020-03-13) [2020-04-07]. <https://www.researchgate.net/publication/339969596>.
- [3] GAO Q J, HU Y F, DAI Z G, et al. The epidemiological characteristics of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in Jingmen, Hubei, China[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(23): e20605.
- [4] WU Y J, GUO W, LIU H, et al. Clinical outcomes of 402 patients with COVID-2019 from a single center in Wuhan, China[J]. J Med Virol, 2020, 92(11): 2751-2757.
- [5] YANG Y S, PENG F J, WANG R S, et al. The deadly coronaviruses: the 2003 SARS pandemic and the 2020 novel coronavirus epidemic in China[J]. J Autoimmun, 2020, 109: 102434.
- [6] GRALINSKI L E, MENACHERY V D. Return of the Coronavirus: 2019-nCoV[J]. Viruses, 2020, 12(2): 135.
- [7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会办公厅, 国家中医药管理局办公室. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)的通知[EB/OL]. (2020-03-04) [2020-04-07]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [8] 王林海. 未成熟网织红细胞比率测定在肿瘤放化疗中的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(18): 2455-2456.
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for reticulocyte counting (automated blood cell counters, flow cytometry, and supravital dyes): H44-A2[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.
- [10] PIVA E, BRUGNARA C, SPOLAORE F, et al. Clinical utility of reticulocyte parameters[J]. Clin Lab Med, 2015, 35(1): 133-163.
- [11] TAILOR H, MACKIE I, MELLICK A, et al. Evaluation of the Sysmex XN-550, a novel compact haematology analyser from the XN-L[®] series, compared to the XN-20 system[J]. Int J Lab Hematol, 2017, 39(6): 585-589.
- [12] 张拥黎, 卢仁泉, 周磊, 等. 网织红细胞计数在肿瘤患者化疗监测中的临床价值[J]. 检验医学, 2016, 31(5): 359-362.
- [13] 庄世民, 贺小燕. 网织红细胞参数在贫血临床诊断中的应用价值[J]. 中外医学研究, 2014, 12(14): 63-64.
- [14] 安纪红. 感染与细胞因子风暴[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2013, 7(6): 925-926.
- [15] 董磊, 吉品健. 网织红细胞的研究进展及应用[J]. 医学综述, 2012, 18(16): 2567-2569.
- [16] 吴白平, 崔明, 欧阳淑娟. 慢性阻塞性肺病患者网织红细胞指数测定的临床价值[J]. 医学临床研究, 2010, 21(8): 946-948.
- [17] 程卫, 李钟声. 促红细胞生成素治疗肾性贫血的进展[J]. 透析与人工器官, 2008, 19(3): 19-22.

(收稿日期: 2020-07-07 修回日期: 2020-10-26)