

出生 24 h 内外周血炎性标志物在 NEOS 中的水平及 NEOS 病原菌分布

薛霖¹, 王佳²

江苏省南京市浦口区中心医院/江苏省人民医院浦口分院;1. 临床基因扩增实验室;2. 检验科, 江苏南京 211899

摘要:目的 分析外周血炎性标志物在新生儿早发型败血症(NEOS)患儿出生 24 h 内的水平,并调查该院 NEOS 病原菌分布。方法 回顾性分析该院 2014 年 7 月至 2017 年 12 月收治的 451 例新生儿,分为 NEOS 组(363 例)和对照组(88 例),比较两组一般资料,围生期影响因素,外周血炎性标志物超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、血清降钙素原(PCT)、白细胞计数(WBC)及中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)水平,评估新生儿出生 24 h 内外周血炎性标志物对 NEOS 的诊断效能。结果 两组的胎龄、体质量、低出生体质量患儿比例、住院时间、5 min Apgar 评分比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组患儿母亲在孕次、产次、胎膜早破、产前发热、羊水异常方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而生产方式差异有统计学意义($P < 0.05$)。NEOS 患儿病原菌培养出革兰阳性菌 177 例,以凝固酶阴性葡萄球菌为主;革兰阴性菌 168 例,以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主。血清 PCT 对 NEOS 具有较高的诊断效能。动态分析两组血清 PCT 变化趋势,NEOS 组 24~48 h 达到高峰,72 h 后下降,而对照组在 24 h 内达到峰值。结论 引起 NEOS 的革兰阳性菌以凝固酶阴性葡萄球菌为主,革兰阴性菌以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主。血清 PCT 水平在出生 24 h 内即可预测 NEOS,动态监测血清 PCT 水平有助于早期诊断 NEOS 及监测疗效。

关键词:新生儿早发型败血症; 病原菌; 降钙素原

中图分类号:R722.13+1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)09-1189-04

Levels of peripheral blood inflammatory markers within 24 h after birth in neonatal early onset sepsis and pathogenic bacteria distribution

XUE Lin¹, WANG Jia²

1. Department of Clinical Gene Amplification Laboratory; 2. Department of Clinical Laboratory, Nanjing Pukou District Central Hospital/Pukou Branch Hospital of Jiangsu Provincial Hospital, Nanjing, Jiangsu 211899, China

Abstract: Objective To analyze the levels of peripheral blood inflammatory markers within 24 h after birth and to investigate the pathogenic bacteria distribution of neonatal early onset sepsis (NEOS) patients in this hospital. **Methods** A total of 451 neonates in this hospital from July 2014 to December 2017 were retrospectively analyzed and divided into the NEOS group (363 cases) and control group (88 cases). The differences in the general data, influencing factors during perinatal period and the levels of peripheral blood inflammatory markers hs-CRP, PCT, WBC count and neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) were compared between the two groups. The diagnostic efficiency of peripheral blood inflammatory markers in NEOS was evaluated. **Results** The gestational age, body mass, proportion of neonates with low birth mass, hospitalization stay and Apgar scores at 5 min had statistically significant differences between the two groups ($P < 0.05$). The gravidity, parity, premature rupture of membrane, prenatal fever and amniotic fluid abnormality had no statistical differences between the mothers of two groups ($P > 0.05$). But the delivery mode had statistical difference between the mothers of two groups ($P < 0.05$). In the pathogenic bacteria of NEOS, 177 cases of Gram positive bacteria were cultured out, which was dominated by coagulase negative staphylococci (CNS), 168 cases were Gram-negative bacterium, which was dominated by *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Serum PCT had higher diagnostic efficiency for NEOS. In dynamic analysis of serum PCT change trend in the two groups, PCT in the NEOS group reached the peak during 24~48 h, then declined after 72 h, but which in the control group reached the peak within 24 h. **Conclusion** The Gram-positive bacteria causing NEOS are mainly CNS, the Gram-negative bacteria are dominated by *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Serum PCT level can predict NEOS within 24 h after birth. Dynamically monitoring serum PCT is conducive to early diagnosis of NEOS and monitoring of therapeutic effect.

Key words: neonatal early onset sepsis; pathogenic bacteria; procalcitonin

作者简介:薛霖,女,主管技师,主要从事感染免疫研究。

本文引用格式:薛霖,王佳. 出生 24 h 内外周血炎性标志物在 NEOS 中的水平及 NEOS 病原菌分布[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(9): 1189-1192.

新生儿由于免疫系统、皮肤黏膜屏障发育不健全,抵抗力低,极易发生感染。感染是导致新生儿死亡的主要原因之一。新生儿早发型败血症(NEOS)起病隐匿,进展快,具有较高的病死率,已成为世界范围内新生儿科面临的巨大挑战^[1]。因此,早期诊断并及时进行临床干预对 NEOS 至关重要。外周血炎性标志物,如超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、血清降钙素原(PCT)、白细胞计数(WBC)及中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)等具有检测快速、便捷、价廉等优点,同时其水平在炎性反应初期可出现明显变化。其中 PCT 在感染发生后 4 h 即可升高^[2],被认为是鉴别细菌感染的良好炎性标志物而广泛应用于临床。然而,新生儿时期外周血炎性标志物变化情况与成人不同^[3],有研究报道,新生儿血清 PCT 水平在出生后 48 h 内可出现生理性升高^[4]。分析新生儿出生早期(出生 24 h 内)炎性标志物特点方面的文献报道较少,因此,本研究收集 2014 年 7 月至 2017 年 12 月于本院出生的新生儿资料,回顾性分析 NEOS 的病原菌分布,旨在评估新生儿出生 24 h 内炎性标志物对 NEOS 的诊断价值,为临床早期诊断 NEOS 提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 7 月至 2017 年 12 月于本院出生的 363 例 NEOS 患儿纳入 NEOS 组。其中足月儿 66 例,早产儿 297 例。NEOS 定义为出生 72 h 内发生的败血症。NEOS 组患儿纳入标准:符合相应临床症状,同时满足实验室培养结果,(1)应用抗菌药物前血培养或无菌体液培养出致病菌;(2)若培养结果为条件致病菌,须两份标本从无菌体液或血培养中检测出同一菌种^[5]。选取同期入院的 88 例非感染性疾病新生儿纳入对照组。其中足月儿 31 例,早产儿 57 例。低出生体质量:出生体质量 < 2 500 g;极低出生体质量:出生体质量 ≤ 1 500 g。排除标准:社区获得性感染及病历资料不全的患儿。

1.2 仪器与试剂 所用仪器包括全自动血培养仪(BacT/ALERT 3D,法国生物梅里埃)、全自动细菌鉴定及药敏分析系统(VITEK-2,法国生物梅里埃)、全自动血液分析仪(ADVIA 2120,美国拜耳)、干式免疫分析仪(i-Reader,上海艾瑞德)、PCT 分析仪(BRAHMS PCT-Q,德国)。采用仪器配套试剂进行检测。血培养接种平板采用血平板和巧克力平板(广州迪景)。细菌培养质控菌株:大肠埃希菌 ATCC25922、肺炎克雷伯菌 ATCC700603、金黄色葡萄球菌 ATCC25923、铜绿假单胞菌 ATCC27853。

1.3 方法

1.3.1 血培养方法 在 NEOS 患儿发热、应用抗菌药物前采集 2~5 mL 静脉血于培养瓶中,置于全自动血培养仪进行检测。血培养报阳后,同时接种于血平板和巧克力平板,分离出单个菌落制成 0.5 麦氏浊度菌悬液,采用全自动细菌鉴定及药敏分析系统进行鉴定。

1.3.2 出生 24 h 内血清炎性标志物检测 PCT:采集患儿静脉血 2~5 mL,凝固后 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清,经免疫色谱层析法(BRAHMS PCT-Q,德国)进行检测,以 PCT ≥ 0.5 ng/mL 为阳性。hs-CRP:采集 EDTA 抗凝血,采用免疫层析法(i-Reader,上海艾瑞德)进行检测,正常值 < 10 mg/L。EDTA 抗凝血采集后混匀,经全自动血液分析仪 ADVIA 2120 及其配套试剂进行血常规检测。

1.4 观察指标 (1)比较两组患儿胎龄、性别、体质量、1 min 与 5 min Apgar 评分、住院时间、死亡情况。(2)比较两组患儿出生 24 h 内外周血炎性标志物水平。(3)分析 NEOS 患儿病原菌分布情况。(4)评估外周血炎性标志物对 NEOS 的诊断效能。(5)451 例患儿共获得 147 例患儿母亲资料,其中 NEOS 组 83 例,对照组 64 例。分析两组患儿母亲的围生期相关影响因素,包括孕次、产次、生产方式、产前发热、胎膜早破、羊水异常(包括羊水减少、羊水增多、羊水浑浊、血性羊水)。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估外周血炎性标志物对 NEOS 的诊断效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 两组在胎龄、体质量、低出生体质量患儿比例、5 min Apgar 评分、住院时间方面比较,差异有统计意义($P < 0.05$),见表 1。所有患儿的临床表现以新生儿肺炎(115 例)、新生儿呼吸窘迫综合征(90 例)、先天性心脏病(40 例)、新生儿高胆红素血症(50 例)、新生儿黄疸(38 例)为主。

表 1 一般资料在两组间比较

项目	NEOS 组 (n=363)	对照组 (n=88)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
胎龄($\bar{x} \pm s$,周)	34.54 ± 2.06	36.08 ± 1.39	-7.070	<0.001
体质量($\bar{x} \pm s$,kg)	2.41 ± 0.97	3.07 ± 1.17	1.532	0.031
低出生体质量[n(%)]	192(52.9)	31(35.2)	3.448	0.001
极低出生体质量[n(%)]	73(20.1)	15(17.0)	1.675	0.094
性别(<i>n</i>)			-1.818	0.069
男	232	47		
女	131	41		
Apgar 评分($\bar{x} \pm s$,分)				
1 min	7.98 ± 1.88	8.39 ± 1.61	18.640	0.353
5 min	6.91 ± 2.05	9.63 ± 1.63	27.930	<0.001
住院时间($\bar{x} \pm s$,d)	26.81 ± 7.08	11.32 ± 4.52	11.735	<0.001
死亡(<i>n</i>)	9	0	-1.490	0.136

2.2 两组患儿出生 24 h 内外周血炎性标志物水平比

较 NEOS 组患儿血清 PCT、WBC、NLR 水平明显 高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患儿出生 24 h 内外周血炎症标志物水平比较 [$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	n	PCT(ng/mL)	hs-CRP(mg/L)	WBC($\times 10^9/L$)	NLR
NEOS 组	363	2.21(0.85, 6.81)	20.31(13.36, 34.93)	9.80(8.18, 13.90)	2.91(1.76, 5.11)
对照组	88	0.66(0.20, 1.30)	17.73(11.85, 29.17)	8.94(5.43, 11.32)	1.73(1.42, 4.05)
Z		-9.087	-0.110	-4.091	-2.465
P		<0.01	0.913	<0.01	<0.01

2.3 NEOS 病原菌分布情况 NEOS 患儿共培养出革兰阴性菌 168 例,革兰阳性菌 177 例,真菌 18 例。革兰阴性菌分别为大肠埃希菌(72 例)、肺炎克雷伯菌(46 例)、阴沟肠杆菌(13 例)、鲍曼不动杆菌(7 例)、其他革兰阴性菌(30 例)。革兰阳性菌以凝固酶阴性葡萄球菌为主(77 例),其他还包括金黄色葡萄球菌(37 例)、无乳链球菌(33 例)、耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS, 22 例)、肠球菌(8 例)。检出真菌 18 例,为白色念珠菌(10 例)、近平滑念珠菌(5 例)和热带念珠菌(3 例)。

2.4 出生 24 h 内的外周血炎症标志物对 NEOS 的诊断效能 ROC 曲线分析结果显示,血清 PCT 的曲线下面积最大,具有较高的灵敏度和特异度,见表 3、图 1。由于新生儿血清 PCT 基线水平与成人不同,为了明确该炎症标志物在 NEOS 中的变化特点,与同期对照组的早产儿和足月儿进行比较,结果显示两组血清 PCT 水平变化趋势不同($P < 0.05$)。NEOS 组 24~<48 h 达到高峰,72 h 后下降,而对照组在 24 h 内达到峰值。见表 4。

表 3 出生 24 h 内的外周血炎症标志物对 NEOS 的诊断效能

项目	曲线下面积	95%CI	P	约登指数	灵敏度(%)	特异度(%)	最佳临界值
PCT	0.873	0.819, 0.926	<0.001	0.581	64.75	93.33	1.545 ng/mL
hs-CRP	0.607	0.515, 0.700	0.030	0.201	71.22	48.89	15.71 mg/L
WBC	0.641	0.545, 0.738	0.004	0.297	96.40	33.33	$6.28 \times 10^9/L$
NLR	0.617	0.526, 0.708	0.018	0.273	76.26	51.12	1.75

表 4 不同时间段血清 PCT 在两组间的变化趋势 [$M(P_{25}, P_{75}), ng/mL$]

出生时间	足月儿		Z	P	早产儿		Z	P
	NEOS 组(n=66)	对照组(n=31)			NEOS 组(n=297)	对照组(n=57)		
<24 h	1.29(0.78, 5.43)	0.43(0.12, 1.20)	-6.110	<0.001	1.92(0.91, 8.24)	0.95(0.25, 1.50)	-6.178	<0.001
24~<48 h	2.14(0.93, 6.57)	0.22(0.10, 0.55)	-3.252	<0.001	2.23(0.83, 7.33)	0.52(0.10, 1.21)	-2.699	0.007
>72 h	0.57(0.25, 2.10)	0.10(0.10, 0.40)	-2.109	0.031	0.67(0.44, 1.09)	0.34(0.10, 0.58)	-1.276	0.048

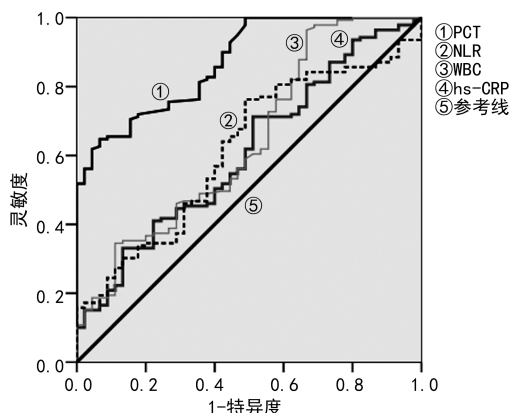


图 1 出生 24 h 内外周血炎症标志物预测 NEOS 的 ROC 曲线

次、产次、胎膜早破、产前发热、羊水异常方面,两组间差异无统计学意义($P > 0.05$),两组间生产方式差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 两组患儿母亲围生期相关影响因素比较

项目	NEOS 组(n=83)	对照组(n=64)	χ^2/Z	P
生产方式[n(%)]			-1.810	0.027
阴道生产	48(57.8)	15(23.4)		
剖宫产	35(42.2)	49(76.6)		
孕次 [$M(P_{25}, P_{75}), 次$]	2(1,3)	2(1,3)	1.290	0.197
产次 [$M(P_{25}, P_{75}), 次$]	2(1,2)	2(1,2)	0.528	0.610
胎膜早破(n)	9	12	1.108	0.268
羊水异常(n)	11	9	0.335	0.737
产前发热(n)	5	4	0.596	0.551

2.5 两组患儿母亲围生期相关影响因素比较 在孕

3 讨 论

新生儿败血症根据败血症的发病时间分为 NEOS 和晚发型败血症 (LOS)^[6]。NEOS 在发展中国家具有较高的发病率,有研究报道 NEOS(出生 < 48 h) 发生率高达 59.33%^[7]。据报道,我国住院 NEOS 发病率高达 5.0%^[8]。相比足月儿,早产儿具有更高的患病风险^[9]。为了明确引起 NEOS 的相关因素,本研究分析了患儿母亲围生期相关影响因素,纳入了孕次、产次、胎膜早破、羊水异常等因素,发现胎膜早破、羊水异常、产前发热、孕次、产次与 NEOS 无关 ($P > 0.05$),而两组间生产方式差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。本研究中血培养结果发现大肠埃希菌、凝固酶阴性葡萄球菌、肺炎克雷伯菌在 NEOS 中占较高比例。大肠埃希菌是育龄期女性阴道常见定植菌,提示 NEOS 患儿多数经产道感染。而作为女性生殖道常见细菌,无乳链球菌在本研究中仅培养出 33 例,与其他研究^[10]比较,培养阳性率较低,其原因在于本院已开展孕产妇无乳链球菌筛查项目,多数筛查阳性孕产妇已进行抗菌药物治疗。凝固酶阴性葡萄球菌和肺炎克雷伯菌是医院感染的常见病原菌,新生儿发育不健全,免疫力低下,极易发生医院感染^[11]。这提示临床对于新生儿等免疫力低下人群应减少广谱抗菌药物使用,避免侵入性检查。

血培养的缺点是阳性率低且培养周期较长。血清 PCT 作为一种灵敏的炎性标志物,在革兰阴性菌内毒素刺激下呈高水平表达,在感染后 2~4 h 迅速升高。本研究检测了新生儿出生 24 h 内常见的几种炎性标志物的水平,发现除 hs-CRP 外,NEOS 组与对照组血清 PCT、WBC、NLR 水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。本研究发现,hs-CRP 在出生后普遍升高,无法在早期鉴别诊断 NEOS。其原因在于 C 反应蛋白属急性时相反应蛋白,易受多种因素影响,在分娩、早产、发生新生儿窒息及胎粪吸入时均可导致其水平升高。同样,由于新生儿 WBC 波动幅度大,因此也不宜作为 NEOS 的早期诊断指标。CHIESA 等^[12]通过分析早产儿与足月儿血清 PCT 水平发现,胎龄以及新生儿出生后 PCT 的检测时间对 PCT 水平有一定影响。本研究经 ROC 曲线分析证实血清 PCT 在新生儿出生 24 h 内即具有较高的诊断效能,并发现血清 PCT 在 NEOS 组和对照组中水平和升高趋势不同。有研究报道,血清 PCT 在新生儿中呈生理性升高且与胎龄具有一定相关性^[13]。本研究中对照组研究对象血清 PCT 水平虽有升高,然而呈低水平表达,在 24 h 内达到峰值后缓慢下降。而 NEOS 组患儿血清 PCT 水平则表现为完全不同的变化趋势:在 24~<48 h 达到峰值,在 >72 h 开始下降。这提示动

态监测血清 PCT 水平有助于判断新生儿感染、监测抗菌药物疗效。

综上所述,血清 PCT 的诊断效能优于其他炎性标志物,能够早期预测 NEOS,为临床治疗提供参考。

参考文献

- [1] SHANE A L, SANCHEZ P J, STOLL B J. Neonatal sepsis[J]. Lancet, 2017, 390(10104): 1770-1780.
- [2] TZIOLOS N, KOTANIDOU A, ORFANOS S E. Biomarkers in infection and sepsis; can they really indicate final outcome[J]. Int J Antimicrob Agents, 2015, 46 (Suppl 1): S29-S32.
- [3] PRABHU S B, RATHORE D K, NAIR D, et al. Comparison of human neonatal and adult blood leukocyte subset composition phenotypes [J]. PLoS One, 2016, 11 (9): e162242.
- [4] 黄梅, 韦丹. 降钙素原与超敏 C 反应蛋白在 NICU 医院感染监测中的应用[J]. 儿科药学杂志, 2013, 19(12): 1-3.
- [5] 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 新生儿败血症诊疗方案[J]. 中华儿科杂志, 2003, 41(12): 19-21.
- [6] MCGOVERN M, GIANNONI E, KUESTER H, et al. Challenges in developing a consensus definition of neonatal sepsis[J]. Pediatr Res, 2020, 88(1): 14-26.
- [7] GUDAYU T W, ZELEKE E G, LAKEW A M. The role of the season at admission in neonatal sepsis: a retrospective chart review of a 1-year data at university of gondar comprehensive specialized hospital[J]. BMC Res Notes, 2019, 12(1): 643.
- [8] 葛丽园. 中国大陆新生儿早发败血症病原的文献研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2018.
- [9] BELACHEW A, TEWABE T. Neonatal sepsis and its association with birth weight and gestational age among admitted neonates in Ethiopia: systematic review and meta-analysis[J]. BMC Pediatr, 2020, 20(1): 55.
- [10] 李相会, 孙玲, 吴红丽, 等. PCR 方法筛查无乳链球菌及预防性治疗的效果分析[J]. 中国性科学, 2018, 27(10): 98-101.
- [11] 贾忠兰, 毕福玲, 张彩明. 新生儿败血症病原菌分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(1): 197-200.
- [12] CHIESA C, NATALE F, PASCONI R, et al. C reactive protein and procalcitonin: reference intervals for preterm and term newborns during the early neonatal period[J]. Clin Chim Acta, 2011, 412(11/12): 1053-1059.
- [13] 许蔓春, 廖扬, 任广立, 等. 新生儿出生早期血清降钙素原浓度变化规律及其影响因素分析[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(16): 2267-2269.

(收稿日期: 2020-06-16 修回日期: 2020-11-12)