

· 临床研究 ·

极低出生体质量儿中性粒细胞参考范围的建立 及其在诊断败血症中的应用

王建辉, 余加林[△], 刘振球

(重庆医科大学附属儿童医院新生儿科, 重庆 400014)

摘要:目的 建立极低出生体质量儿(VLBW)外周血中性粒细胞各参数的参考范围,并评价其在诊断败血症中的实用性。方法 回顾性收集无相关并发症的 VLBW 的临床资料,通过计算中性粒细胞绝对计数(ATN)、未成熟中性粒细胞绝对计数(ATI)及未成熟中性粒细胞与总中性粒细胞比值(I/T)各时间段的均值、第 5 百分位和第 95 百分位,建立各参数的参考范围,并比较各参数在诊断 VLBW 败血症时的灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值。结果 ATN 在生后约 10 h 出现峰值,60 h 左右达到基本稳定,上限为 $8.52 \times 10^9/L$,下限为 $1.94 \times 10^9/L$ 。ATI 在生后 10~12 h 达到高峰,120 h 后维持在 $0.50 \times 10^9/L$ 。I/T 值上限在出生时为 0.16,生后 60 h 左右降至 0.13,后逐渐趋于稳定。在诊断 VLBW 败血症时,单项参数中 ATN 有最高的灵敏度及阴性预测值,分别为 64.10% 和 92.76%。I/T 有最高的特异度和阳性预测值,分别为 91.50% 和 40.91%。平行联合诊断检验时,灵敏度和阴性预测值最高,分别为 74.36% 和 93.08%。结论 建立国内的 VLBW 中性粒细胞参考范围,对临床诊断 VLBW 败血症有重要的价值。

关键词: 婴儿, 极低出生体重; 中性粒细胞; 参考值; 败血症

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.15.012

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)15-1713-04

Establishment of reference ranges for neutrophils in very low birth weight infants and their application in diagnosis of septicemia

Wang Jianhui, Yu Jialin[△], Liu Zhenqiu

(Department of Neonatology, Affiliated Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

Abstract: Objective To establish the reference ranges for neutrophils in very low birth weight (VLBW) infants in the southwest area of China and to evaluate their application in the diagnosis of septicemia. **Methods** The clinical data from the VLBW infants without relative complications were collected retrospectively. The reference ranges for absolute total neutrophil count (ATN), absolute total immature neutrophil count (ATI) and the ratio of immature neutrophils to total neutrophils (I/T ratio) were established by calculating the mean, 5th and 95th percentile intervals, and the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of neutrophilic indices used in diagnosing VLBW septicemia were compared. **Results** The peak of ATN occurred at about 10 h after birth, and remained stable after 60 h with a maximum of $8.52 \times 10^9/L$ and a minimum of $1.94 \times 10^9/L$. The peak of ATI occurred at 10-12 h and reached the stable value of $0.50 \times 10^9/L$ after 120 h. The upper limit of I/T ratio was 0.16 at birth and then declined to 0.13 beyond 60 h. In diagnosing septicemia with single index, ATN showed the highest sensitivity 64.10% and the highest negative predictive value 92.76%. I/T ratio showed the highest specificity of 91.50% and the highest positive predictive value of 40.91%. Parallel combined test showed 74.36% sensitivity and 93.08% negative predictive value. **Conclusion** The newly established domestic reference ranges for neutrophils in VLBW infants have the important value in diagnosing septicemia in VLBW infants.

Key words: infant, very low birth weight; neutrophils; reference values; septicemia

极低出生体质量儿(very low birth weight infants, VLBW)是新生儿生后并发细菌感染的高危人群,死亡率较高。在临床工作中,血常规是一项既经济又有很大临床价值的检查,特别是中性粒细胞相关参数,如中性粒细胞绝对计数(absolute total neutrophil count, ATN)、未成熟中性粒细胞绝对计数(absolute total immature neutrophil count, ATI)和未成熟中性粒细胞与总中性粒细胞比值(the ratio of immature neutrophils to total neutrophils, I/T)仍然是临床诊断败血症最为常用的非特异性指标。但新生儿早期外周血中性粒细胞因易受各种因素的影响,变化波动较大,VLBW 更易合并各种围生期并发症,

因此新生儿界对于早期新生儿,特别是 VLBW 的外周血中性粒细胞参考范围长期存在认识不足。Manroe 等^[1]率先建立了新生儿外周血中性粒细胞参考范围,1994 年, Mouzinhos 等^[2]进一步建立了 VLBW 的外周血中性粒细胞参考范围。Schmutz 等^[3]在采用网络工作站收集数据的基础上,对参考范围进一步作了修正,这些具有里程碑式意义的文章的发表,为判断 VLBW 生后不同时段的血常规是否正常提供了标准。然而,直至目前为止,国内尚缺乏类似的标准,本文力求建立相类似的国内的中性粒细胞参考范围。并在此基础上探讨所建立的参考范围在诊断 VLBW 败血症时的应用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2006 年 1 月至 2012 年 1 月在本院新生儿科住院的 537 例 VLBW 的临床资料。符合“正常”VLBW 纳入标准的共有 321 例,其中男 180 例,女 141 例,平均孕周(30.9±2.0)周,平均出生体质量(1 307.2±135.5)g,收集血常规结果 565 份。疾病诊断标准:新生儿败血症诊断标准参考中华医学会新生儿败血症诊疗方案^[4],其余疾病的诊断参考《实用新生儿学》第 4 版^[5]。VLBW 如有下列情况将被剔除:(1)妊娠期高血压;(2)母孕期感染、发热性疾病;(3)超过 12 h 以上的胎膜早破;(4)自然分娩困难(包括第二产程延长、臀位、产钳助产及前置胎盘等),产时使用 6 h 以上的缩宫素;(5)严重窒息(5 min Apgar 评分小于或等于 5 分);(6)败血症、坏死性小肠结肠炎及化脓性脑膜炎;(7)胎粪吸入综合征;(8)溶血性疾病;(9)不明原因的抽搐;(10)出生后手术。一个 VLBW 可能具有上述 1 项或几项情况。不具备以上任何情况的 VLBW 认定为“相对正常”的 VLBW。

1.2 方法 本文血常规标本均为末梢血,应用 Sysmex XE2100 全自动血液分析仪进行检测,同时在光镜下镜检 100 个有核细胞,分别得出白细胞计数(WBC),ATN、ATI 及 I/T 的结果(ATN 为所有成熟与未成熟的中性粒细胞的总和,ATI 为所有杆状核中性粒细胞与其更幼稚的中性粒细胞的总和,I/T 为未成熟中性粒细胞与总的中性粒细胞的比值)。仪器检测得到的未校正的 WBC 实际包括 WBC 和有核红细胞,WBC 的计算按照如下公式进行:

$$WBC = \text{未校正 WBC} \times \frac{100}{\text{有核红细胞} + 100}$$

1.3 统计学处理 所有数据应用 SPSS17.0 统计软件进行分析。描述性统计结果以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示。受样本量限制,各个时相点数据不一定呈正态分布,且方便与国外相关的资料进行对比,本文采取与国外之前的研究同样的方法,即通过分别计算各个参数在不同时间段的均数,第 5 百分位数及第 95 百分位数,从而建立各个参数的 90% 的参考范围,并以曲线图的形式表示出来。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各时相点的病例数 本文所收集的数据,大部分都集中在 60 h 以内,说明了目前 VLBW 的临床救治工作中,对于血常规的监测主要集中在 60 h 以内(图 1),因此,在此时间范围内构建的参考范围由于样本量相对较大,精确度也较高。

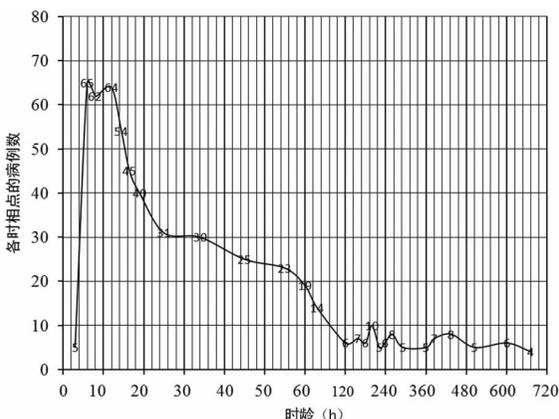


图 1 不同时相点的数据病例数 (n=565)

2.2 参考范围

2.2.1 WBC WBC 在整个新生儿期变化无明显规律,特别在生后 12 h 之内波动明显。生后 14~22 h 有 1 个高峰,上限峰值在 $23.56 \times 10^9/L$ 。生后 25 d, WBC 基本稳定,上限为 $10.16 \times 10^9/L$,下限为 $6.71 \times 10^9/L$ 。见图 2。

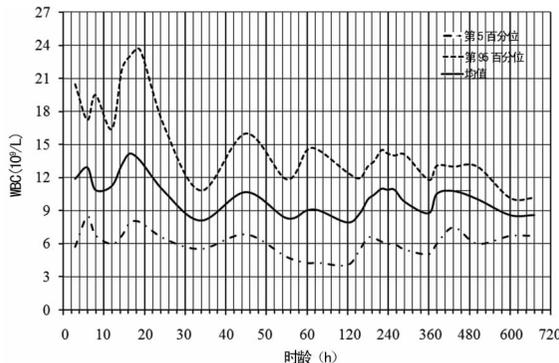


图 2 VLBW 新生儿期 WBC 动态变化 (n=565)

2.2.2 白细胞分类 出生时,中性粒细胞占优势,约为 0.64,淋巴细胞约占 0.34。生后 60 h 左右,中性粒细胞比值开始下降,在生后 8~15 d,二者百分比基本相等。之后淋巴细胞约占 0.60,中性粒细胞约占 0.40。见图 3。

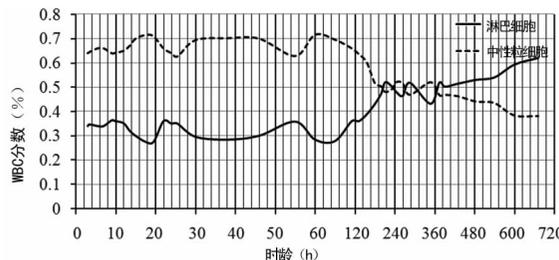


图 3 VLBW 新生儿期白细胞分类的动态变化 (n=565)

2.2.3 ATN 生后 ATN 迅速升高,至生后 10 h 左右出现峰值,上限为 $19.71 \times 10^9/L$,下限为 $5.70 \times 10^9/L$ 。随后逐渐下降,在 60 h 左右达到基本稳定,上限为 $8.52 \times 10^9/L$,下限为 $1.94 \times 10^9/L$,见图 4。本文所建立的 ATN 参考范围与文献 [2-3] 所建立的标准比较,在 ATN 稳定后,本文参考范围比 Mouzinho 等^[2] 有更高的上限值,但小于 Schmutz 等^[3] 的上限值。三者达到稳定时间均在生后 2~3 d,但此参考范围到达高峰的时间早于 Mouzinho 等^[2],晚于 Schmutz 等^[3],见表 1。

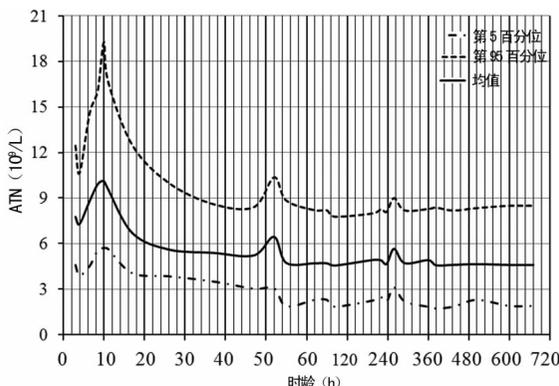


图 4 VLBW 新生儿期 ATN 的动态变化 (n=565)

2.2.4 ATI 和 I/T 与 WBC、ATN 不同,ATI 和 I/T 的参考范围只有上限。ATI 上限在生后 10~12 h 有一峰值,后渐下降,在 60~120 h 上限逐渐从 $0.58 \times 10^9/L$ 降至 $0.50 \times 10^9/L$,

后有小幅波动。I/T 值上限在出生时最高,为 0.16,后逐渐下降,在生后 60 h 左右降至 0.13,后无明显波动,见图 5。

表 1 本组资料与文献[2-3]资料 ATN 的比较

| 组别 | 孕周 ($\bar{x}\pm s$,周) | 高峰时间 (h) | 稳定时间 (h) | 高峰时上限 ($\times 10^9/L$) | 稳定后上限 ($\times 10^9/L$) |
|---------------------------|----------------------------|-------------|-------------|------------------------------|------------------------------|
| 本组资料 | 30.9 \pm 2.0 | 10 | 60 | 19.71 | 8.52 |
| Mouzinho 等 ^[2] | 29.9 \pm 2.3 | 18~20 | 60 | 14.00 | 6.00 |
| Schmutz 等 ^[3] | 28~36 | 6~8 | 72 | 25.00 | 12.50 |

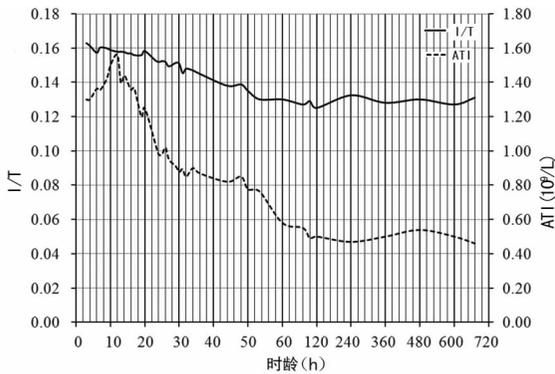


图 5 VLBW 新生儿期 I/T、ATI 动态变化 (n=565)

2.3 参考范围在诊断 VLBW 败血症中的应用 在建立 VLBW 中性粒细胞参考范围之后,本文进一步评价该参考范围在诊断 VLBW 败血症中的临床价值。在单个参数诊断 VLBW 败血症时,ATN 有最高的灵敏度 64.10% 和阴性预测值 92.76%,I/T 比值有最高的特异度 91.50% 和阳性预测值 40.91%。WBC 的灵敏度和特异度均较差,分别为 48.72% 和 67.32%。当平行联合诊断检验时,灵敏度达到最高,为 74.36%,见表 2。

表 2 中性粒细胞各参数诊断 VLBW 败血症的比较

| 参数 | WBC | ATN | ATI | I/T | 平行试验 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 灵敏度 | 48.72 | 64.10 | 56.41 | 34.62 | 74.36 |
| 特异度 | 67.32 | 78.21 | 80.61 | 91.50 | 58.61 |
| 阳性预测值 | 20.21 | 33.33 | 33.08 | 40.91 | 23.39 |
| 阴性预测值 | 88.54 | 92.76 | 91.58 | 89.17 | 93.08 |

2.4 影响 ATN 因素 在分析围生期及新生儿期相关因素对 ATN 有无影响时,发现女性,孕周越小和单胎生产的 VLBW 比男性,孕周较大和双胎或多胎的 VLBW 有更高的 ATN (7.91 \pm 4.34 vs. 6.25 \pm 4.18,7.89 \pm 4.91 vs. 6.21 \pm 3.63, 8.01 \pm 4.49 vs. 6.42 \pm 4.30, $P < 0.05$)。其他因素,如母孕期感染、胎膜早破(大于 12 h)、生产方式及患儿出生体质量、不明原因黄疸、呼吸暂停均不对 ATN 产生影响。

3 讨论

VLBW 作为一个特殊的高危人群,极易合并各种围生期并发症,因此,严格意义上讲,不存在完全正常的 VLBW。各种并发症可能对中性粒细胞的各项参数造成影响^[6],因此,本文在排除相关因素后,纳入“相对正常”的 VLBW,并在此基础上建立 VLBW 的中性粒细胞参考范围。

WBC 在生后 14~22 h 出现 1 个明显的高峰,较足月儿延迟约 8 h。WBC 分类中,生后中性粒细胞占优势,8~15 d 后逐渐转变为淋巴细胞为主,与正常新生儿 4~6 d 发生转变延迟约 7 d 时间,且时间跨度更大。这可能与 VLBW 的造血系统发育延迟有关。从国内外的 ATN 动态变化图可见,ATN 在生后 24 h 内都有 1 个高峰出现,主要集中在 6~12 h。目前认为,神经递质在其中起了作用。出生时,血液中儿茶酚胺水平增高,肾上腺素动员附着于小血管壁边缘的中性粒细胞入血,以增加其在血液中的数量是主要原因。ATN 从血管壁上的脱离在注射肾上腺素的几分钟内就开始,然而,在 1 h 左右又重新靠近血管壁^[7]。这与图 4 所示 ATN 恢复到基线需要数天时间的事实不完全符合,很可能生后数小时的肾上腺素释放导致的一个较长时间的 ATN 从血管壁脱离,形成了这个高峰。

在与国外资料的对比时发现,三组资料 ATN 达峰时间不尽相同,但都在 12 h 前后,且三者达到稳定的时间均在 60 h 之后。在高峰时和稳定时的 ATN 比较时发现,本文所建立的参考范围 ATN 上限值比 Mouzinho 等^[2]高,但小于 Schmutz 等^[3]的标准。对此,可能的解释是所调查地区的海拔上的差别^[8]。Mouzinho 等^[2]调查的地区为美国达拉斯市,平均海拔 150 m。Schmutz 等^[3]调查所在地美国奥格登市平均海拔在 1500 m 以上,而本院所在地中国重庆市平均海拔为 400 m 左右。高海拔地区的新生儿有更高的外周血中性粒细胞水平,这与 Maynard 等^[9]的发现是相符的。可能的机制是海拔越高,空气中氧浓度越低,低氧可通过一种 HIF-1 α 的细胞因子抑制中性粒细胞的凋亡,从而使中性粒细胞增多^[10]。I/T 在诊断新生儿败血症时现使用的截断值国内为 0.16^[4],国外为 0.2^[6],但是这个标准可能需要被修正。本研究提示 I/T 在 VLBW 的整个新生儿期是一个动态变化的过程,而不是一个固定的数值,当然这种特性是否发生在足月儿尚未明确。有报道患有败血症的新生儿 I/T 平均值为 0.09,诊断的截断值为 0.08^[11]。因此,确认足月新生儿的 I/T 的参考范围,并重新修正诊断新生儿败血症时的 I/T 截断值是必要的。

本研究在建立 VLBW 中性粒细胞参考范围后一个重要的目的是检验该参考范围在筛查 VLBW 败血症时的实用性。总体来看,单个参数中,ATN 的灵敏度最高。普遍认为,ATN 减少是提示败血症一项很重要的指标,而 ATN 升高与感染的关系并不密切^[6]。文献报道,早产儿在面对感染时中性粒前体细胞增生能力受限,表现为中性粒细胞减少^[12]。但除了败血症外,其余如母孕期妊娠性高血压,严重的新生儿窒息和溶血性疾病都可引起粒细胞减少^[6]。相比而言,I/T 值有较高的特异度和阳性预测值,Bender 等^[13]的一项研究也提示这项“古老”的指标和白细胞介素-6(IL-6)一样有效。然而,本文的结果与 Walliullah 等^[14]报道的有明显的差异,后者报道的 I/T 筛查败血症的灵敏度和特异度分别为 70% 和 56%。不同实验室的临床检验师在光镜下发现未成熟中性粒细胞的能力存在差别,可能导致了这种差异^[15]。

尽管 ATN 在诊断 VLBW 败血症时是一项很重要的指标,但在分析正常 VLBW 的中性粒细胞参考范围时,本研究也发现性别、孕周和单次分娩的胎儿数能对其造成影响。本文研究发现,女性比男性 ATN 有显著意义的升高,这可能和女性体内相对较高的雌激素水平相关。从出生到青春期的每个阶段,

女性体内的雌二醇水平均要高于男性^[16],雌二醇可以在线粒体水平减少细胞色素 C 的释放,从而延迟 ATN 的凋亡^[17],导致 ATN 水平的增高。孕周越小,单胎生产的 VLBW,ATN 越高,这与 Mouzinho 等^[2]的研究结果相符合,但具体的机制目前尚不完全明确。

本文初步建立了国内 VLBW 的中性粒细胞参考范围,显示了中性粒细胞不同参数在新生儿期的动态变化过程。同时证实了该参考范围在在诊断 VLBW 败血症时有重要价值。这为 VLBW 的临床救治工作提供了帮助。在此基础上,进行更大范围,更大样本量的前瞻性多中心研究,并对参考范围进行修正,是必要的。

参考文献:

- [1] Manroe BL, Weinberg AG, Rosenfeld CR, et al. The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells[J]. *J Pediatr*, 1979, 95(1): 89-98.
- [2] Mouzinho A, Rosenfeld CR, Sanchez PJ, et al. Revised reference ranges for circulating neutrophils in very-low-birth-weight neonates[J]. *Pediatrics* 1994, 94(1): 76-82.
- [3] Schmutz N, Henry E, Jopling J, et al. Expected ranges for blood neutrophil concentrations of neonates; the Manroe and Mouzinho charts revisited[J]. *J Perinatol*, 2008, 28(2): 275-281.
- [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] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [6] Taesch HW, Ballard RA, Gleason CA, et al. Avery's diseases of the newborn [M]. 8th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005.
- [7] Schaffner A, Fehr J. Granulocyte demargination by epinephrine in evaluation of hypersplenic states[J]. *Scand J*

Haematol, 1981, 27(4): 225-230.

- [8] Ohls RK, Maheshwari A. Hematology, immunology and infectious disease; neonatology questions and controversies[M]. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier, 2012.
- [9] Maynard EC, Reed C, Kircher T. Neutrophil counts in newborn infants at high altitude[J]. *J Pediatr*, 1993, 122(6): 990-991.
- [10] Walmsley SR, Print C, Farahi N, et al. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1 α -dependent NF- κ B activity[J]. *J Exp Med*, 2005, 201(1): 105-115.
- [11] Selimovic A, Skokic F, Selimovic Z, et al. The predictive values of total white blood count and differential count in the diagnosis of early-onset neonatal sepsis[J]. *Med Arh*, 2008, 62(4): 205-210.
- [12] Carr R. Neutrophil production and function in newborn infants[J]. *Br J Haematol*, 2000, 110(1): 18-28.
- [13] Bender L, Thaarup J, Varming K, et al. Early and late markers for the detection of early-onset neonatal sepsis [J]. *Dan Med Bull*, 2008, 55(4): 219-223.
- [14] Walliullah SM, Islam MN, Siddika M, et al. Role of micro-ESR and I/T ratio in the early diagnosis of neonatal sepsis[J]. *Mymensingh Med J*, 2009, 18(1): 56-61.
- [15] 焦建成, 余加林. 新生儿败血症诊断研究进展[J]. *中华儿科杂志*, 2010, 48(1): 32-35.
- [16] Janfaza M. Estradiol levels and secretory dynamics in normal girls and boys as determined by an ultrasensitive bioassay: a 10 year experience [J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2006, 19(7): 901-909.
- [17] Molloy EJ, O'Neill AJ, Grantham JJ. Sex-specific alterations in neutrophil apoptosis; the role of estradiol and progesterone[J]. *Blood*, 2003, 102(7): 2653-2659.

(收稿日期: 2012-11-18 修回日期: 2013-02-22)

(上接第 1712 页)

- [7] 韩舟, 黄涛, 魏明. 腹部手术切口裂开 24 例原因剖析及处理[J]. *中国误诊学杂志*, 2007, 7(28): 6896-6897.
- [8] 陆海琴, 闵辉, 郑多安, 等. 腹部切口裂开的常见原因及防治[J]. *中华临床外科杂志*, 2004, 12(1): 962-964.
- [9] 耿小平, 孙昀. 切口裂开的预防与处理[J]. *中国实用外科杂志*, 2007, 27(1): 45-47.
- [10] Elek SD, Conen PE. The virulence of *Staphylococcus pyogenes* for man; a study of the problems of wound infection [J]. *Br J Exp Pathol*, 1957, 38(6): 573-586.
- [11] Ford HR, Jones P, Gaines B, et al. Intraoperative handling and wound healing: controlled clinical trial comparing coated VICRYL plus antibacterial suture (coated polyglactin 910 suture with triclosan) with coated VICRYL suture (coated polyglactin 910 suture) [J]. *Surg Infect (Larch-*

mt), 2005, 6(3): 313-321.

- [12] Gómez-Alonso A, García-Criado FJ, Parreño-Manchado FC, et al. Study of the efficacy of Coated VICRYL Plus Antibacterial suture (coated Polyglactin 910 suture with Triclosan) in two animal models of general surgery[J]. *J Infect*, 2007, 54(1): 82-88.
- [13] Justinger C, Slotta JE, Schilling MK. Incisional hernia after abdominal closure with slowly absorbable versus fast absorbable, antibacterial-coated sutures[J]. *Surgery*, 2012, 151(3): 398-403.
- [14] 阮嘉后, 郭志刚, 胡泽民, 等. 四种腹部切口减张缝合方式的比较[J]. *安徽卫生职业技术学院学报*, 2011, 10(3): 11-12.

(收稿日期: 2012-09-08 修回日期: 2013-01-26)