

IL-6、IL-8、CD64 和 CD11b 检测对新生儿感染性疾病的诊断价值*

郑 婧, 李 莉, 蔺丽慧[△](上海市第一人民医院检验科 200080)

【摘要】 目的 探讨白细胞介素-6(IL-6)、IL-8、CD64 和 CD11b 在新生儿感染性疾病早期诊断中的价值。**方法** 选取 2013 年 3 月至 2014 年 3 月上海市第一人民医院儿科和产科收治的新生儿,分为感染组(50 例)、非感染对照组(30 例)、健康对照组(50 例);采用定量夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清 IL-6 和 IL-8 水平,采用全血三色荧光标记法流式细胞术检测外周血中性粒细胞表面 CD64 和 CD11b 分子表达水平,比较分析 3 组新生儿的 IL-6、IL-8、CD64 和 CD11b 水平及阳性率。**结果** 对于血清 IL-6、IL-8 两项检测指标,感染组分别为(187.3±25.1) ng/L、(1.05±0.32) pg/mL,非感染对照组分别为(60.9±5.2) ng/L、(0.35±0.12) pg/mL,健康对照组分别为(53.2±9.3) ng/L、(0.30±0.05) pg/mL;感染组分别高于非感染对照组和健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。并且感染组中性粒细胞表面 CD64、CD11b 分子表达水平分别高于非感染对照组和健康对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 临床检测新生儿血清 IL-6、IL-8 水平及外周血中性粒细胞表面 CD64 和 CD11b 分子的表达水平,可更加及时、准确、灵敏地诊断新生儿早期感染性疾病。

【关键词】 白细胞介素-6; 白细胞介素-8; CD64; CD11b; 新生儿感染

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.05.006 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)05-0591-03

Diagnostic value of IL-6, IL-8, CD64 and CD11b detection in neonatal infectious diseases* ZHENG Jing, LI Li, LIN Li-hui[△] (Department of Clinical Laboratory, Shanghai Municipal First People's Hospital, Shanghai 200080, China)

【Abstract】 Objective To explore the value of the interleukin-6(IL-6), IL-8, CD64 and CD11b detection in early diagnosis of neonatal infection. **Methods** The neonates in the pediatric and obstetric departments of our hospital from Mar. 2013 to Mar. 2014 were selected and divided into the infection group ($n=50$), non-infection control group ($n=30$) and healthy control group ($n=50$). The IL-6 and IL-8 levels were detected by the enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA), the expression of peripheral blood neutrophil CD64 and CD11b was detected by the whole blood cytometry trichromatic fluorescent marker method. The levels and positive rate of IL-6, IL-8, CD64 and CD11b were compared among the three groups. **Results** The serum levels of IL-6 and IL-8 were (187.3±25.1) ng/L and (1.05±0.32) pg/mL in the infection group, (60.9±5.2) ng/L and (0.35±0.12) pg/mL in the non-infected control group and (53.2±9.3) ng/L and (0.30±0.05) pg/mL in the healthy control group, the infection group was higher than the non-infection group and the control group respectively, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The expression levels of peripheral blood neutrophil CD64 and CD11b in the infection group were higher than those in the non-infected group and the healthy control group with statistically significant differences ($P<0.05$). **Conclusion** Determining the serum IL-6, IL-8 levels and the expression levels of peripheral blood neutrophil CD64 and CD11b in neonates might diagnose the early infectious disease more timely, accurately and sensitively.

【Key words】 interleukin-6; interleukin-8; CD64; CD11b; neonatal infection

新生儿由于免疫力低,易发生感染性疾病,其病死率高,是围生期及新生儿期婴儿死亡的重要原因之一^[1]。但通常情况下患儿感染后不表现出明显、典型的临床症状,再加上缺乏特异有效的检测手段,严重制约了新生儿感染的临床诊疗工作^[2]。已有大量研究报道,白细胞介素-6(IL-6)、IL-8、外周血中性粒细胞表面 CD64 和 CD11b 分子可作为新生儿早期感染的诊断指标^[3]。因此本研究对 2013 年 3 月至 2014 年 3 月本院儿科和产科收治的新生儿血清 IL-6、IL-8 水平和外周全血中性粒细胞表面 CD64 和 CD11b 分子表达水平进行检测,探讨其在新生儿感染性疾病早期诊断中的价值。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 3 月至 2014 年 3 月在本院新生儿疾病病房住院、发病 3 d 以内的患儿 50 例纳入感染组。所有患儿均经血培养、血常规、脓性分泌物培养、X 线片确诊为感染性疾病,其中肺炎 25 例(包括细菌性感染 15 例,非细菌感染 10 例),肠道感染 11 例(均为病毒感染),细菌性败血症 5 例,脐炎 4 例(均为细菌感染),脓疱疹 3 例(均为病毒感染),细菌性脑膜炎 2 例。选取同期住院的非感染性疾病患儿 30 例纳入非感染对照组,其中新生儿高胆红素血症 9 例,颅内出血 3 例,新生儿缺血缺氧性脑病 14 例,新生儿出血症 2 例,咽下综合征 2 例。选取同期在本院产科出生、经体检完全健康的新生儿 50

* 基金项目:上海市卫生局项目(20124184)。

作者简介:郑婧,女,本科,检验技师,主要从事急诊化验研究。 [△] 通讯作者, E-mail:56682144@qq.com。

例纳入健康对照组。3 组患儿的性别、出生胎龄和出生体质量等一般资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 感染组于住院后、使用抗菌药物治疗前,非感染对照组和健康对照组于出生后 1 周内,采用真空采血管抽取静脉血 3 mL,一半血液分离血清后于-20 ℃保存,用于检测 IL-6 和 IL-8;另一半血液置于含肝素(25 U/mL)的聚苯乙烯试管中混匀抗凝,4 ℃暂存,留待检测中性粒细胞表面 CD64 和 CD11b 分子。

1.2.2 检测方法 采用定量夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)测定 IL-6、IL-8 水平,试剂盒购自美国 Bioscience 公司。健康人血清 IL-6 水平为 30~70 ng/L,大于 70 ng/L 视为阳性;参考文献[4],IL-8 水平大于或等于 0.65 pg/mL 视为阳性。采用三色荧光标记法流式细胞术检测中性粒细胞表面 CD64 和 CD11b 分子。异硫氰酸荧光素(FITC)标记的 CD64 抗体(CD64-FITC)、藻红蛋白(PE)标记的 CD11b 抗体(CD11b-PE)、多甲藻(黄)素叶绿素蛋白标记的 CD45 抗体(CD45-PerCP)和其他必需试剂均购自美国 BD 公司;FACS Calibur 流式细胞仪购自美国 BD 公司。上机检测采用同一电压,用 BD CellQuest 软件分析标本资料。每个标本计数 10 000 个细胞,以 CD45-PerCP 标记,选定中性粒细胞群,分析 CD64 和 CD11b 的平均荧光强度(MFI)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据处理与统计学分析;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组血清 IL-6 水平和阳性率比较 感染组血清 IL-6 水平分别高于非感染对照组和健康对照组,差异均有统计学意义(t 分别为 13.25、12.68, $P<0.01$);且感染组 IL-6 阳性率分别高于非感染对照组和健康对照组,差异均有统计学意义(χ^2 分别为 6.93、7.18, $P<0.01$)。见表 1。

表 1 各组血清 IL-6 水平和阳性率比较			
组别	<i>n</i>	IL-6 水平($\bar{x}\pm s$,ng/L)	IL-6 阳性率[<i>n</i> (%)]
感染组	50	187.3 $\pm$ 25.1	41(82.0)
非感染对照组	30	60.9 $\pm$ 5.2	8(26.7)
健康对照组	50	53.2 $\pm$ 9.3	12(24.0)

2.2 各组血清 IL-8 水平和阳性率比较 感染组血清 IL-8 水平分别高于非感染对照组和健康对照组,差异均有统计学意义(t 分别为 4.16、4.02, $P<0.05$);且感染组 IL-8 阳性率分别高于非感染对照组和健康对照组,差异均有统计学意义(χ^2 分别为 7.24、7.35, $P<0.01$)。见表 2。

表 2 各组血清 IL-8 水平和阳性率比较			
组别	<i>n</i>	IL-8 水平($\bar{x}\pm s$,ng/L)	IL-8 阳性率[<i>n</i> (%)]
感染组	50	1.05 $\pm$ 0.32	34(68.0)
非感染对照组	30	0.35 $\pm$ 0.12	3(10.0)
健康对照组	50	0.30 $\pm$ 0.05	34(8.0)

2.3 各组中性粒细胞表面 CD64 分子表达水平比较 感染组中性粒细胞 CD64 MFI 值分别高于非感染对照组和健康对照

组,差异均有统计学意义(t 分别为 3.52、3.17, $P<0.05$);非感染对照组与健康对照组 CD64 MFI 值比较差异无统计学意义($t=0.39$, $P>0.05$)。见表 3。

表 3 各组中性粒细胞表面 CD64 分子表达水平比较			
组别	<i>n</i>	MFI 值($\bar{x}\pm s$)	MFI 范围
感染组	50	37.06 $\pm$ 19.43	19.96~273.12
非感染对照组	30	12.45 $\pm$ 4.27	8.74~25.16
健康对照组	50	10.23 $\pm$ 3.15	3.39~27.41

2.4 各组中性粒细胞表面 CD11b 分子表达水平比较 感染组中性粒细胞 CD11b MFI 值分别高于非感染对照组和健康对照组,差异均有统计学意义(t 分别为 3.48、3.32, $P<0.05$);非感染对照组与健康对照组 CD11b MFI 值比较差异无统计学意义($t=0.41$, $P>0.05$)。见表 4。

表 4 各组中性粒细胞表面 CD11b 分子表达水平比较			
组别	<i>n</i>	MFI 值($\bar{x}\pm s$)	MFI 范围
感染组	50	631.15 $\pm$ 78.54	70.34~6364.57
非感染对照组	30	272.57 $\pm$ 45.92	82.65~1013.77
健康对照组	50	213.29 $\pm$ 47.26	93.45~823.39

3 讨 论

IL-6、IL-8 及中性粒细胞表面 CD64、CD11b 分子都是临床上可用于诊断新生儿感染性疾病的指标。本研究在本院产科和儿科选取了感染、非感染及健康 3 组研究对象,检测各组的 4 项指标并对比分析。研究结果显示,与非感染对照组与健康对照组比较,感染组患儿血清 IL-6、IL-8 及中性粒细胞表面 CD64 和 CD11b 分子表达水平均明显升高,比较差异均有统计学意义($P<0.05$),而非感染对照组与健康对照组 4 项检测指标比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。说明在感染早期,血清 IL-6、IL-8 及中性粒细胞表面 CD64、CD11b 都十分敏感,可通过检测四者的水平诊断新生儿感染性疾病。并且,本研究设置 2 个对照组,可同时表明患儿在非感染情况下,血清 IL-6、IL-8 水平和中性粒细胞表面 CD64、CD11b 分子表达水平与健康时比较无明显变化,据此可以排除非感染性疾病对诊断结果的影响。

IL-6 是一种介导天然免疫的细胞因子,是机体受炎症刺激后由 T 细胞、B 细胞、单核巨噬细胞及内皮细胞等分泌的多功能糖蛋白^[5]。它们与各自的特异性受体结合后,既可在局部发挥效应,也可以在全身发挥作用。IL-6 在机体发生防御、急性期反应、免疫反应和造血反应等活动时具有十分重要的作用,它能诱导肝细胞产生急性期蛋白,如 C 反应蛋白(CRP),在感染性疾病中它比 CRP 更早地出现在血液循环中^[6]。大量研究表明,血清 IL-6 水平的变化可以非常灵敏地反映革兰阴性菌或革兰阳性菌引起的新生儿脓毒症的情况^[7]。绝大部分的健康新生儿血液 IL-6 水平极低,一旦发生细菌感染,细菌脂多糖和感染产生的中介物质强烈刺激机体的单核巨噬系统和多种免疫细胞,使之产生 IL-6,导致血液中的 IL-6 水平快速升高^[8]。IL-6 不仅是机体早期对炎性反应的主要介质,在机体发生重症感染时其在血清中的水平升高十分明显,因此根据 IL-6 水平可以推断患者的感染严重程度。冯小三等^[9]研究表明,败血症患儿和一般感染患儿的血清 IL-6 水平明显升高,与各自的恢复期相比差异明显;并且败血症患儿的血清 IL-6 水平明

显高于一般感染患儿。因此,新生儿血清高水平 IL-6 不仅可以作为诊断新生儿感染性疾病的灵敏指标,还可以帮助判断治疗效果。本研究显示,通过 IL-6 诊断新生儿感染的敏感度为 82.0%,特异度为 75.0%,说明 IL-6 的误诊率较低,但是漏诊率较高。

IL-8 为细胞趋化因子家庭成员之一,其主要功能是趋化中性粒细胞和淋巴细胞向炎症部位聚集^[10]。在正常情况下,IL-8 水平很低,但当机体发生炎性病变时,会刺激单核细胞和内皮细胞大量分泌 IL-8^[11]。本研究中,感染组患儿血清 IL-8 水平明显高于非感染对照组和健康对照组。IL-8 在感染早期即参与炎症反应,本研究显示通过 IL-8 诊断新生儿感染的敏感度为 68.0%,特异度达 91.2%,说明误诊率较低,但漏诊率较高。本研究中感染组患儿经治疗病情好转的同时,IL-6 及 IL-8 水平随之下降,接近健康对照组水平(数据未显示)。表明新生儿感染时 IL-6、IL-8 不但参与炎性病变过程,而且其水平高低在一定程度上可反映疾病的严重程度。因此,联合检测 IL-6、IL-8 对早期诊断新生儿感染,及时观察抗菌药物的应用效果,以及指导抗菌药物的合理应用具有重要价值。

研究显示,通过 IL-6 和 IL-8 诊断新生儿感染性疾病都有一定程度的漏诊率,为了避免漏诊情况的出现,CD64 和 CD11b 的检测很有必要。近年来,应用流式细胞仪检测外周血中性粒细胞表面 CD64、CD11b 分子的表达,在诊断新生儿感染性疾病中的作用愈加引人注目^[12]。CD64 是 IgG 的 Fc 段 I 型受体(FcγR I),属免疫球蛋白超家族成员。正常情况下,只有很少一部分中性粒细胞表达 CD64,当受到细菌细胞壁脂多糖和粒细胞集落刺激因子等刺激时,数小时内可使中性粒细胞表面大量表达 CD64^[13]。CD11b 是中性粒细胞表面含量最多的 β 整合素黏附分子,正常情况下表达量很低,但当接触到细菌或其产物后,其在中性粒细胞表面的表达水平便可迅速地增加,因此 CD11b 被看作细菌感染的早期预警指标之一^[14]。本研究通过流式细胞仪测定 3 组新生儿外周血中性粒细胞表面 CD64、CD11b 分子的表达情况,结果显示感染组患儿两项指标的表达水平均高于非感染对照组和健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),而非感染对照组与健康对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),提示中性粒细胞表面 CD64、CD11b 可作为诊断早期新生儿感染性疾病的重要指标。由于 IL-6、IL-8 具有较高的漏诊率,作者认为在检测血清 IL-6、IL-8 的基础上,再检测中性粒细胞表面 CD64、CD11b 的表达水平,能有效地避免漏诊。本研究没有计算 CD64、CD11b 的临床诊断临界值,主要是考虑到因计量单位、荧光抗体种类、流式细胞仪型号和生产厂家不同,各实验室报道的临床诊断临界值往往没有可比性。此外,本研究的样本量较小也无法给临床诊断提供较为明确的参考。因此,将在后续的研究中收集足够的样本量,计算出明确的诊断临界值。

综上所述,血清 IL-6、IL-8,以及中性粒细胞表面 CD64 和 CD11b 对新生儿早期感染性疾病的诊断有重要意义。综合分析这 4 项检测指标可以提高检出率、降低误诊率,缩短确诊时间,帮助医生尽早对患儿进行有效、合理的治疗,为取得良好的预后奠定基础。

参考文献

[1] 陈卫布,陈丽,耿伟明,等.血清降钙素原检测在小儿颅内

感染鉴别诊断中的价值分析[J].解放军医药杂志,2014,26(5):91-93.

- [2] 余新华,张丙宏.早产儿医院感染原因探析并文献复习[J].临床误诊误治,2013,26(9):54-56.
- [3] 薛慧敏,卢宪梅,李文.新生儿感染性疾病检测方法现状[J/CD].中华妇幼临床医学杂志:电子版,2012,8(4):441-443.
- [4] Kocabas E, Sarikcioglu A, Aksaray N, et al. Role of procalcitonin, C-reactive protein, interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha in the diagnosis of neonatal sepsis[J]. Turk J Pediatr, 2007, 49(1):7-20.
- [5] 刘文彬,涂冬梅,袁丽,等.肺炎支原体肺炎 IL-2 sIL-2R IL-6 IL-8 动态变化及临床意义[J].西南国防医药,2006,16(1):32-33.
- [6] 邱玉芳,沙莉.C-反应蛋白、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子-α 在新生儿败血症早期诊断中的价值[J].实用儿科临床杂志,2005,20(5):455-456.
- [7] Boskabadi H, Maamouri G, Afshari JT, et al. Evaluation of serum interleukins-6, 8 and 10 levels as diagnostic markers of neonatal infection and possibility of mortality [J]. Iran J Basic Med Sci, 2013, 16(12):1232-1237.
- [8] Tutak E, Ozer AB, Demirel I, et al. The relationship between serum bilirubin level with interleukin-6, interleukin-10 and mortality scores in patients with sepsis[J]. Niger J Clin Pract, 2014, 17(4):517-522.
- [9] 冯小三,黄绍敏.新生儿感染性疾病 IL-6、IL-8 和 TNF-α 的研究[J].中国优生与遗传杂志,2004,12(1):93-95.
- [10] Fan Y, Yu JL. Umbilical blood biomarkers for predicting early-onset neonatal sepsis[J]. World J Pediatr, 2012, 8(2):101-108.
- [11] Kurt AN, Aygun AD, Godekmerdan A, et al. Serum IL-1 β, IL-6, IL-8, and TNF-α levels in early diagnosis and management of neonatal sepsis[J]. Mediators Inflamm, 2007, 2007:31397-31402.
- [12] 熊小敏,李薇.CD64/CD163 指数的临床研究现状[J].华国防医学杂志,2013,32(11):856-859.
- [13] Groselj-Grenc M, Ihan A, Pavcnik-Arnol M, et al. Neutrophil and monocyte CD64 indexes, lipopolysaccharide-binding protein, procalcitonin and C-reactive protein in sepsis of critically ill neonates and children[J]. Intensive Care Med, 2009, 35(11):1950-1958.
- [14] Genel F, Atlihan F, Gulez N, et al. Evaluation of adhesion molecules CD64, CD11b and CD62L in neutrophils and monocytes of peripheral blood for early diagnosis of neonatal infection[J]. World J of Pediatr, 2012, 8(1):72-75.

(收稿日期:2014-10-15 修回日期:2014-12-20)