

新生儿败血症诊断的生物标志物的研究进展

邓玲莉, 李禄全

重庆医科大学附属儿童医院, 重庆

收稿日期: 2021年9月25日; 录用日期: 2021年10月18日; 发布日期: 2021年10月27日

摘要

新生儿败血症(Neonatal Sepsis)是新生儿常见的感染疾病,也是引起新生儿死亡的重要原因之一,报告显示每1000例新生儿中有1至5例患新生儿败血症。新生儿败血症诊断的金标准是血培养,但培养结果需等待48~72小时,且阳性率低,目前主要还是依赖于临床诊断,临床中最常用的生物标志物有白细胞(WBC)、血小板(PLT)、未成熟粒细胞与总中性粒细胞比率(I/T)、C反应蛋白(CRP)和降钙素原(PCT),以上指标需联合运用诊断,才具有一定敏感性及特异性,故目前需寻找一种敏感性、特异性均较高的理想的生物标志物,以满足新生儿败血症的早期准确诊断。本篇综述将介绍除传统非特异性炎症指标之外的新生儿败血症诊断的生物标志物,旨在为新生儿败血症的诊断提供新的思路,为临床实践提供理论依据。

关键词

新生儿败血症, 生物标志物, 诊断

Research Progress of Biomarkers for the Diagnosis of Neonatal Sepsis

Lili Deng, Luquan Li

Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Sep. 25th, 2021; accepted: Oct. 18th, 2021; published: Oct. 27th, 2021

Abstract

Neonatal sepsis is a common infectious disease in newborns and also is one of the important causes of newborn deaths. Neonatal septicemia is reported in 1 to 5 of every 1000 births. The gold standard for diagnosis of neonatal sepsis is blood culture. However, the results of blood culture need to wait for 48~72 hours, and the positive rate is low. In the present, the diagnosis of neonatal mainly depends on clinical diagnosis standards. The most common biomarkers used in clinical are

white blood cells (WBC), platelets (PLT), the ratio of immature granulocytes to total neutrophils (I/T), C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT). The above biomarkers need to be combined for diagnosis to have a certain sensitivity and specificity. Therefore, it is necessary to find a signal biomarker with high sensitivity and specificity to satisfy the early and accurate diagnosis of neonatal sepsis. This review will introduce some new biomarkers to diagnose neonatal sepsis, aiming to provide new ideas for the diagnosis of neonatal sepsis and provide a theoretical basis for clinical practice.

Keywords

Neonatal Sepsis, Biomarker, Diagnosis

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

新生儿败血症是由细菌、病毒或真菌入血引起的全身性感染疾病,具有较高的发病率和死亡率。根据新生儿败血症的发病时间,可分为早发性败血症(EOS)和晚发性败血症(LOS)。EOS 的临床表现通常出现在出生后 3 天内,LOS 则是在出生 3 天后发病[1] [2] [3]。EOS 通常与围产期危险因素,如宫内感染(即绒毛膜羊膜炎)、羊膜囊破裂延长和母体 B 组链球菌定植等相关。LOS 通常与社区获得性病原体有关[4]。

新生儿败血症的临床表现具有非特异性和多样性,包括食欲减退、呼吸窘迫、肺炎、呼吸暂停、毛细血管充盈时间延迟、面色改变、喂养不耐受、坏死性小肠结肠炎、体温不稳定(体温过低、体温过高)、低张力、癫痫发作、囟门张力增高、弥散性血管内凝血(DIC)、出血或黄疸延长[1] [5]。以上的临床症状同样可以见于新生儿的其他疾病,故在临床表现的前提下,需结合白细胞、血小板、I/T、CRP 和 PCT 等相应的生物标志物联合诊断。但是传统的生物标志物在诊断方面的敏感性和特异性较局限[1] [6] [7]。

本文将对近几年有关新生儿败血症诊断的标志物的相关研究进行一个简要的介绍,包括五肽 3 (PTX3)、CD64、中性粒细胞 CD11 β 、前蛋白酶、细胞因子类、MicroRNA 相关标志物等,总体评估相关标志物的敏感性和特异性,部分被证实有较大的临床价值,部分标志物研究较局限,需要进一步探索。

2. PTX3

五聚糖是一种在碳链端有一个类似五聚糖结构域的糖蛋白,根据其结构的长短,分为短五聚糖家族和长五聚糖家族。C 反应蛋白(CRP)和血清淀粉样蛋白 P (SAP)是两种短的五肽,而长的五肽包括五肽 3 (PTX3)和神经元五肽,均与体液先天性免疫有关。PTX3 是在细胞因子和细菌内毒素的刺激下,由内皮细胞和单核巨噬细胞所产生的,是先天性免疫系统的重要组成部分,在防御微生物和清除坏死细胞方面发挥着模式识别受体的主要作用[1]。作为一种急性期的反应蛋白,PTX3 的血液水平在正常情况下很低(小于 2 ng/ml),但当发生了休克、败血症或其他炎症反应等情况,可以在 6~8 小时内急剧上升至峰值 200~800 ng/ml。这为其作为败血症早期诊断标志物提供了理论依据。

一项纳入了 90 名新生儿(60 名为晚发败血症组,30 名为正常对照)的前瞻性研究显示:病例组的 PTX3 水平明显高于对照组(28.98 ± 9.04 g/L vs. 2.89 ± 0.94 g/L, $P < 0.001$),且生成 PTX3 水平的 ROC 曲线下面积为 0.995。以 PTX3 为 5.6 g/L 作为界值诊断败血症的敏感性为 98.3%,特异性为 96.7%。研究中还将病

例组分为生存在与非生存组, 发现两组的血清 PTX3 水平有显著差异, 表明 PTX3 有可能作为预测败血症预后的一个有用的生物标志物[8] [9]。在另一个研究中将受试者分为败血症组和健康组(均为足月和晚期早产儿), 评估了败血症组再诊断时所测的血清 PTX3 浓度, 结果表明两组的 PTX3 明显有统计学差异 (5.2 ± 3.7 ; 2.3 ± 0.78 ; $P < 0.001$), 敏感性为 100%, 特异性为 94.3%, ROC 曲线下面积为 0.875。该实验也表明 PTX3 在新生儿败血症中有较好诊断价值[10]。

但近期有另一项针对于 PTX3 对新生儿早发败血症的研究中表示, PTX3 不能帮助早发败血症的早期诊断, 但是随着疾病的进展, PTX3 表达的量更高[11]。但是这项实验是选用的早发性败血症患儿作为实验组, 与前两个实验的差异提示我们, 会不会 PTX3 在早发败与晚发败中的表达水平有所差异, 对于这个结论, 具体未找到相关文献证实, 但是可以明确的是, PTX3 在新生儿败血症的诊断中具有比较可观的价值, 且与疾病的转归有一定关系。

3. CD64

CD64 是 IG1 和 IG3 的高亲和力 Fc 受体, 感染后的 4~6 小时内, 在活化的中性粒细胞中水平增加 10 倍, 感染后 24 小时内仍可以保持高水平的稳定, 当除去感染刺激后, 表达水平恢复正常[11]。

近期有文章表明 CD64 可作为新生儿早期诊断敏感指标, 且 CD64 的表达不受新生儿短暂性呼吸急促、呼吸窘迫综合征和其他非感染性围产期事件的影响。该研究收集了 133 名败血症新生儿的资料, 选取了 102 名正常新生儿作为对照组, 评估中心粒细胞 CD64 在新生儿败血症中的诊断价值。研究显示, 当 CD64 的截止点取 41.6% 时, 能区分败血症的存在, 敏感性 94.7%, 特异性 93.6%, AUC 为 0.925, 且结合 CRP 联合诊断价值更高, 敏感性 96.9%, 特异性 100%, AUC 为 0.987, 结合 Presepsin (前蛋白酶) 时, 敏感性 98.6%, 特异性 100%, AUC 为 0.997 [12] [13] [14]。但是在不同的研究中表明, CD64 界值的取定没有统一的定论, 这是阻碍该指标运用于临床诊断的阻力之一[15]。通过大量得文献可知 CD64 的敏感性和特异性相差很大, 但是仍需考虑到两组实验所选取的实验对象在数量和性质上都有一定的差异, 不能完全认为特异性及敏感性的差别是来自于界值的取值不同。

总的来说, CD64 对败血症具有较高的诊断价值, 后续需要做出的研究方向主要是评估其界值的取值以及在早发、晚发、早产、足月新生儿败血症中是否有不同的界值取定。

4. 中性粒细胞 CD11 β

CD11 β 是中心粒细胞表面的 β -整合素粘附蛋白, 在炎症反应时, 有助于中性粒细胞迁移到感染部位发挥黏附、吞噬功能, 且在细菌感染 5 分钟内, 中性粒细胞上的 CD11 β 表达增加, 通过流式细胞术快速检验, 可以得到较高的灵敏性和特异性[16] [17]。故从理论上而言, 可作为新生儿败血症早期诊断的良好生物标志物。

在近期的一项关于中性粒细胞 CD11 β 对新生儿败血症的早期诊断价值的 Meta 分析中纳入了 9 项研究, 共 843 例新生儿, 对其进行了敏感性、特异性、阳性似然比(PLR)、阴性似然比(NLR)、诊断 OR (DOR)、AUC 等统计分析, 得出了 CD11 β 的综合灵敏度、特异度、PLR、NLR、DOR、AUC 分别为 0.82 (95% CI 0.71~0.90)、0.93 (95% CI 0.62~0.99)、11.51 (95% CI 1.55~85.62)、0.19 (95% CI 0.10~0.36)、59.50 (95% CI 4.65~761.58)、0.90, 败血症新生儿的 CD11 β 阳性率是非败血症新生儿的 11.51 倍, 表明 CD11 β 可作为新生儿败血症早期诊断的生物标志物, 且 CD11 β 对新生儿早发性败血症的诊断准确率较高[16] [17] [18]。

但 Aradhana Rohil 等人一项前瞻性研究中纳入 53 例(妊娠 < 34 周)晚发败血症的新生儿, 分别于发病后 0 h 和 48 h 检测细胞表面生物标志物、CRP 和相关的血液学指标。根据统计学分析得出发病后 48 h, 明确脓败血症新生儿的 CD11 β 中位数明显低于无明确败血症新生儿的值($P < 0.05$)。尽管 CD11 β 在生物

学上可能与败血症有关, 但在本次研究中, 它作为疑似晚发败血症的早产儿的诊断试验的表现并不令人满意[19]。

综上, CD11 β 作为败血症的诊断指标而言还有很多不确定性, 可能和胎龄以及发病时间有密切的相关性, 具体的规律还需要大量的研究去寻找和证实。

5. 前蛋白酶(P-SEP)

前蛋白酶(P-SEP)是可溶性 CD14 (sCD14)的切割截短的形式。CD14 是一种在不同细胞表面表达的细胞表面糖蛋白, 与脂多糖复合物(LPSs)具有高亲和力, 因此是多种细菌产物的受体。细菌入侵后, 其表面的脂多糖(LPS)或肽聚糖组分与细胞表面表达的 CD14 结合后形成复合物, 被释放到循环中形成 sCD14, 在血浆中的蛋白酶作用下被切割成 sCD14 片段, 即 P-SEP [20]。大量研究表明, P-SEP 可作为预测成人败血症的生物标志物, 也有部分研究表明 P-SEP 在检测新生儿败血症方面由较高的价值。

在一项前瞻性的病例对照研究中, 以胎龄 ≤ 32 周且血培养为阳性的迟发性败血症的新生儿作为研究对象, 在诊断的第 3 天和第 7 天评估血清 P-SEP 的值, 探究 P-SEP 在血培养阳性的迟发性败血症的诊断中的作用价值。最终结果表明, P-SEP 在临界值为 823 ng/ml 的情况下, 具有 88.9% 的灵敏度和 88.9% 的特异性, 受试者工作曲线下面积为 0.939。提示 P-SEP 可能是诊断和监测早产儿迟发性败血症的准确标志物[21] [22] [23]。

另一项关于 P-SEP 对新生儿败血症的诊断价值研究的 Meta 分析中, 共检索到 15 项研究, 涉及了 1327 名新生儿。所有的研究都认为 P-SEP 可以作为新生儿败血症早期诊断的有价值的生物标志物。通过统计分析显示, P-SEP 的总体敏感性为 90%, 总体特异性为 90%, AUC 为 0.968, 均表明其在新生儿败血症方面具有较高的诊断价值[24]。

Ris van Maldeghe 等人也针对 P-SEP 作为诊断新生儿败血症(包括早发败和晚发败)的生物标志物的做出了系统评价和 Meta 分析, 得出的结论是败血症患儿的 P-SEP 水平更高, 晚发败的 P-SEP 水平明显高于早发败[25]。

从以上的研究可得出 P-SEP 确实可作为新生儿败血症诊断的前途指标, 但是其在早发败与晚发败中的诊断水平有差异, 具体的原理机制尚不得而知, 需要进一步做细胞分子学的研究, 但是就临床而言, P-SEP 已经有明确的价值了。

6. 细胞因子

细胞因子是在炎症过程和免疫应答中起核心作用的小肽, 其种类繁多, 包括趋化因子、白细胞介素(ILs)、干扰素(IFNs)、淋巴因子和肿瘤坏死因子(TNFs), 它们由不同类型的细胞分泌, 在炎症反应早期, 它们的浓度可以迅速从皮克每毫升增加到微克每毫升, 直接测量血清中的细胞因子水平可早期对感染进行准确的判断[26] [27] [28]。

6.1. IL-10

IL-10 可诱导 CD163 受体的产生, CD163 可以通过抑制抗原提呈细胞和效应 T 细胞的功能从而限制炎症的发展。在一篇 meta 分析中, 检索了 879 篇相关文章, 得出的相关结果: IL-10 在新生儿败血症中的表达可以持续升高约 5 天, 然后下降到正常浓度; 此外, IL-10 的表达水平与新生儿败血症的严重程度呈正相关, 新生儿败血症的病情越重, IL-10 表达水平越高, 尤其是对于低出生体重儿而言[29] [30]。

然而, IL-10 作为生物标志物在新生儿败血症诊断中的应用会受到一些混杂因素的影响, 尤其是对于出生后不久的新生儿, 混杂因素包括缺氧、感染细菌的毒力、胎儿窘迫、早产、产前激素使用和胎粪吸入。在研究中, 还发现在一些反复发生败血症的新生儿中, IL-10 的诊断准确性减低[31]。另外, 不同的

感染途径也对 IL-10 诊断的敏感性有一定的影响, 比如呼吸道感染所致败血症病例较肠道感染的 IL-10 表达水平差异更明显[32]。

由于 IL-10 所受非感染的因素影响较大, 因此不适合单独利用其来作为新生儿败血症诊断的生物标志物。有研究表明 IL-10 与病情的严重性及后期的转归都有一定的联系[6]。因此在这方面的作用可进一步探索。

6.2. IL-9 和 IL-21

IL-9 和 IL-21 均是由 CD4+辅助 T 细胞产生的多效性细胞因子, 在新生儿败血症中 IL-9 和 IL-21 有升高。有证据表明, IL-9 通过增强 IL-4 来介导人体的 B 细胞产生 IgE 和 IgG, 参与感染过程中的免疫反应。IL-21 则是通过促进 B 细胞活化、增殖从而参与感染中的免疫反应的过程[33] [34] [35]。在 Glenn Malin Froeschle 的研究中, IL-9 和 IL-21 在感染新生儿中的平均水平明显高于对照组, 但诊断准确性不高, 特异性分别只有 63%和 52%。当 IL-9 或 IL-21 分别与 IL-6 联合使用时, 敏感性较高[28] [36]。目前相关的研究较少, 但均提示其单独诊断的价值较低, 虽与 IL-6 联合有可观的价值, 但是 IL-6 本身单独诊断新生儿败血症有较高的价值, 总之其诊断意义不大。

6.3. IL-8

IL-8 是由单核细胞、巨噬细胞和内皮细胞在多糖和 TNF- α 等不同刺激下表达而来, 是促炎反应的介质, 被认为是一个高指精度的标, 其灵敏度在 80%到 91%之间, 特异性在 76%到 100%之间。与未感染新生儿相比, 感染新生儿的 IL8 和 IL8 mRNA 水平显著升高[6]。IL-8 作为早期诊断指标是具有一定价值的, 但是目前其相关临床病例研究较少, 能否有效运用于临床还有待证实。

7. miRNA 相关标志物

miRNA 是一类高度保守的非编码的 RNA, 核苷酸长度在 20~25 之间, miRNA 与特定的 mRNA 分子结合, 抑制靶基因的表达或降解 miRNA, 从而参与细胞增殖、分化、发育、代谢、凋亡和其他的生理或者病理过程[4] [6] [20]。有研究表示, 病原微生物的入侵, 会刺激 miRNA 的快速产生, 从而直接促进炎症因子的释放, 活化人体的免疫反应; miRNA 也可以通过诱导细胞凋亡或降解, 从而激活相应的炎症因子的产生, 刺激免疫抑制的的发生[37]。所以, miRNA 的异常表达可能与新生儿败血症患者的炎症反应有关, 这使得 miRNA 有可能成为包括败血症早期诊断的生物标志物[37] [38]。

7.1. miRNA-16a

miRNA-16a 是位于染色体 13q14 上的 RNA 非编码分子, 能抑制细胞的周期进程, 从而抑制细胞的增殖, 参与细胞的凋亡; 也可以通过抑制促炎因子如 IL-6 和 TNF- α 的分泌, 从而参与机体的炎症反应[39]。Sally M. El-Hefnawy 等人针对 25 例败血症新生儿和 25 例健康新生儿进行了前瞻性研究, 观察到败血症组新生儿的 miRNA-16a 水平明显高于健康新生儿, 其预测值的灵敏度为 88.5%, 特异度为 90.4。另一篇文章研究了败血症新生儿和非败血症组的全身炎症反应综合征(SIRS)新生儿血清中 miRNA-16a 的水平, 得出败血症组新生儿的血清 miRNA-16a ($p < 0.05$)明显高于对照组, miRNA-16a 敏感性为 68.3%, 特异性为 94.4% [40] [41]。从目前的有限研究而言, miRNA-16a 具有较高的诊断价值, 在不考虑经济方面的情况下, 可有效运用于临床诊断。

7.2. miR-141

miR-141 在新生儿败血症中显著下调的趋势, 提示其可能有潜在的临床诊断价值。在一篇探讨

miR-141 在新生儿败血症中的诊断价值及其在脂多糖(LPS)诱导的单核细胞炎症中的调节作用的文章中证实了这一点。该研究筛选了 98 例败血症新生儿(包含早发败及晚发败)。通过对对照组和病例组血清中 miR-141 的测量, 得出败血症新生儿组的血清 miR-141 下调, ROC 曲线显示 AUC 为 0.870, 在临界值为 0.715 时, 敏感性和特异性分别为 76.5% 和 84.0%。在研究中研究人员利用脂多糖处理单核细胞, 从而在体外模拟出新生儿败血症中的炎症反应, 结果表明, miR-141 在脂多糖处理的单核细胞中的表达明显受到抑制, 这与败血症新生儿中的 miR-141 表达下调的结果一致。故得出结论, miR-141 的下调在新生儿败血症中具有诊断准确性[38] [42]。但 miR-141 作用的具体机制还不清楚, 还需要进一步研究。

7.3. 其他 miR-相关标志物

miR-23b 在败血症新生儿中的血清中的水平明显降低, 提示其可能在败血症的发展的过程中被消耗, 表明其在败血症中具有一定的保护作用, 可考虑将其作为分子诊断的标志物[37]。Eman Fouda 等人的研究表明, 在败血症患儿中, miR-15b 升高, 且在极端败血症及败血症休克患者的进一步显著升高[43]。miR-96-5p、miR-26a 在患有败血症中的新生儿血清中有明显下调的趋势, 均可以作为一种特异性生物标志物[38] [43] [44]。以上生物标志物在目前研究中规模小, 研究较少, 很多机制及波动的影响因素不明, 具有很大的探索价值。

目前而言, 从基因的角度去探索新生儿败血症的诊断标志物是一个非常有前景的方向, 需要我们进一步探索, 不论是从原理上、诊疗价值上, 还是成本上, 都需要我们的不断研究带来新的突破。

8. 结论

新生儿败血症是一个全球性的问题, 发病率和死亡率都很高, 主要是因为早期诊断方面面临着巨大的挑战。虽然以上列举的生物标志物在一部分研究中具有较高的诊断价值, 但是各个研究给出的诊断价值差异较大, 且大多数生物标志物需联合诊断才具有较高的价值。目前诊断新生儿败血症的生物标志物仍在继续探索中, 尚未找到一个可以迅速判断、敏感性及特异性好、在临床上实用的能够给新生儿败血症诊断带来革命性进展的生物标志物。就以上的生物标志物而言, MicroRNA 相关标志物的研究较少, 其潜力较大, 有希望给新生儿败血症的诊断带来新的突破, 目前仍需大量的临床研究及实践来证明。

参考文献

- [1] Sharma, D., et al. (2018) Biomarkers for Diagnosis of Neonatal Sepsis: A Literature Review. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, **31**, 1646-1659. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1322060>
- [2] 中华医学会儿科学分会新生儿学组, 中国医师协会新生儿科医师分会感染专业委员会. 新生儿败血症诊断及治疗专家共识(2019年版)[J]. *中华儿科杂志*, 2019, 57(4): 252-257.
- [3] Shane, A.L., Sanchez, P.J. and Stoll, B.J. (2017) Neonatal Sepsis. *The Lancet*, **390**, 1770-1780. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31002-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31002-4)
- [4] Cantey, J.B. and Lee, J.H. (2021) Biomarkers for the Diagnosis of Neonatal Sepsis. *Clinics in Perinatology*, **48**, 215-227. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2021.03.012>
- [5] Sharma, D., Dasi, T., Murki, S. and Oleti, T.P. (2015) *Kluyvera ascorbata* Sepsis in an Extremely Low Birth Weight Infant. *Indian Journal of Medical Microbiology*, **33**, 437-439. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.158585>
- [6] Memar, M.Y., Alizadeh, N., Varshochi, M. and Kafil, H.S. (2019) Immunologic Biomarkers for Diagnostic of Early-Onset Neonatal Sepsis. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, **32**, 143-153. <https://doi.org/10.1080/14767058.2017.1366984>
- [7] Chiesa, C., et al. (2003) C-reactive Protein, Interleukin-6, and Procalcitonin in the Immediate Postnatal Period: Influence of Illness Severity, Risk Status, Antenatal and Perinatal Complications, and Infection. *Clinical Chemistry*, **49**, 60-68. <https://doi.org/10.1373/49.1.60>
- [8] Fahmey, S.S. and Mostafa, N. (2019) Pentraxin 3 as a Novel Diagnostic Marker in Neonatal Sepsis. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine*, **12**, 437-442. <https://doi.org/10.3233/NPM-190261>

- [9] Mantovani, A., Garlanda, C., Doni, A. and Bottazzi, B. (2008) Pentraxins in Innate Immunity: From C-Reactive Protein to the Long Pentraxin PTX3. *Journal of Clinical Immunology*, **28**, 1-13. <https://doi.org/10.1007/s10875-007-9126-7>
- [10] Sabry, A., Ibrahim, M. and Khashana, A. (2021) Assessment of Pentraxin 3 in a Systemic Inflammatory Response Occurring with Neonatal Bacterial Infection. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine*. <https://doi.org/10.3233/NPM-200550>
- [11] Tunc, T., et al. (2020) Assessment of Novel Biomarkers: sTREM-1, Pentraxin-3 and Pro-Adrenomedullin in the Early Diagnosis of Neonatal Early Onset Sepsis. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine*, **13**, 47-54. <https://doi.org/10.3233/NPM-180131>
- [12] Hashem, H.E., et al. (2020) The Utility of Neutrophil CD64 and Presepsin as Diagnostic, Prognostic, and Monitoring Biomarkers in Neonatal Sepsis. *International Journal of Microbiology*, **2020**, Article ID: 8814892. <https://doi.org/10.1155/2020/8814892>
- [13] El-Madbouly, A.A., El Sehemawy, A.A., Eldesoky, N.A., Abd Elgalil, H.M. and Ahmed, A.M. (2019) Utility of Presepsin, Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1, and Neutrophil CD64 for Early Detection of Neonatal Sepsis. *Infection and Drug Resistance*, **12**, 311-319. <https://doi.org/10.2147/IDR.S191533>
- [14] Dilli, D., Oguz, S.S., Dilmen, U., Yavuz Koker, M. and Kizilgun, M. (2010) Predictive Values of Neutrophil CD64 Expression Compared with Interleukin-6 and C-Reactive Protein in Early Diagnosis of Neonatal Sepsis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **24**, 363-370. <https://doi.org/10.1002/jcla.20370>
- [15] Ng, P.C., Li, K., Wong, R.P., et al. (2002) Neutrophil CD64 Expression: A Sensitive Diagnostic Marker for Late-Onset Nosocomial Infection in Very Low Birthweight Infants. *Pediatric Research*, **51**, 296-303. <https://doi.org/10.1203/00006450-200203000-00006>
- [16] O'Hare, F.M., et al. (2015) Neutrophil and Monocyte Toll-Like Receptor 4, CD11b and Reactive Oxygen Intermediates, and Neuroimaging Outcomes in Preterm Infants. *Pediatric Research*, **78**, 82-90. <https://doi.org/10.1038/pr.2015.66>
- [17] Weirich, E., et al. (1998) Neutrophil CD11b Expression as a Diagnostic Marker for Early-Onset Neonatal Infection. *The Journal of Pediatrics*, **132**, 445-451. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(98\)70018-6](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(98)70018-6)
- [18] Qiu, X., et al. (2019) Is Neutrophil CD11b a Special Marker for the Early Diagnosis of Sepsis in Neonates? A Systematic Review and Meta-Analysis. *BMJ Open*, **9**, e025222. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-025222>
- [19] Rohil, A., et al. (2021) Cell-Surface Biomarkers, C-Reactive Protein and Haematological Parameters for Diagnosing Late Onset Sepsis in Pre-Term Neonates. *Journal of Tropical Pediatrics*, **67**, fma016. <https://doi.org/10.1093/tropej/fma016>
- [20] Tziialla, C., et al. (2018) New Diagnostic Possibilities for Neonatal Sepsis. *American Journal of Perinatology*, **35**, 575-577. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1639361>
- [21] Degirmencioglu, H., et al. (2019) Presepsin and Fetuin-A Dyad for the Diagnosis of Proven Sepsis in Preterm Neonates. *BMC Infectious Diseases*, **19**, 695. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4316-5>
- [22] Zheng, Z., et al. (2015) The Accuracy of Presepsin for the Diagnosis of Sepsis from SIRS: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Annals of Intensive Care*, **5**, 48. <https://doi.org/10.1186/s13613-015-0089-1>
- [23] Poggi, C., Bianconi, T., Gozzini, E., Generoso, M. and Dani, C. (2015) Presepsin for the Detection of Late-Onset Sepsis in Preterm Newborns. *Pediatrics*, **135**, 68-75. <https://doi.org/10.1542/peds.2014-1755>
- [24] Parri, N., Trippella, G., Lisi, C., De Martino, M., Galli, L. and Chiappini, E. (2019) Accuracy of Presepsin in Neonatal Sepsis: Systematic Review and Meta-Analysis. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, **17**, 223-232. <https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1584037>
- [25] Machado, J.R., et al. (2014) Neonatal Sepsis and Inflammatory Mediators. *Mediators of Inflammation*, **2014**, Article ID: 269681. <https://doi.org/10.1155/2014/269681>
- [26] Chauhan, N., Tiwari, S. and Jain, U. (2017) Potential Biomarkers for Effective Screening of Neonatal Sepsis Infections: An Overview. *Microbial Pathogenesis*, **107**, 234-242. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.03.042>
- [27] Froeschle, G.M., et al. (2020) T Cell Cytokines in the Diagnostic of Early-Onset Sepsis. *Pediatric Research*. <https://doi.org/10.1038/s41390-020-01248-x>
- [28] Dreschers, S., Ohl, K., Schulte, N., Tenbrock, K. and Orlikowsky, T.W. (2020) Impaired Functional Capacity of Polarised Neonatal Macrophages. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 624. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56928-4>
- [29] Sherwin, C., et al. (2008) Utility of Interleukin-12 and Interleukin-10 in Comparison with Other Cytokines and Acute-Phase Reactants in the Diagnosis of Neonatal Sepsis. *American Journal of Perinatology*, **25**, 629-636. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1090585>
- [30] Wang, Q., et al. (2021) The Value of Interleukin-10 in the Early Diagnosis of Neonatal Sepsis: A Meta-Analysis. *Pe-*

- diatric Critical Care Medicine*, **22**, e492-e501. <https://doi.org/10.1097/PCC.0000000000002706>
- [31] Dugas, B., *et al.* (1993) Interleukin-9 Potentiates the Interleukin-4-Induced Immunoglobulin (IgG, IgM and IgE) Production by Normal Human B Lymphocytes. *European Journal of Immunology*, **23**, 1687-1692. <https://doi.org/10.1002/eji.1830230743>
- [32] Liu, J., *et al.* (2015) Association of IL-21 Polymorphisms (rs907715, rs2221903) with Susceptibility to Multiple Autoimmune Diseases: A Meta-Analysis. *Autoimmunity*, **48**, 108-116. <https://doi.org/10.3109/08916934.2014.944262>
- [33] Kuchen, S., *et al.* (2007) Essential Role of IL-21 in B Cell Activation, Expansion, and Plasma Cell Generation during CD4+ T Cell-B Cell Collaboration. *The Journal of Immunology*, **179**, 5886-5896. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.9.5886>
- [34] Fatmi, A., *et al.* (2020) miRNA-23b as a Biomarker of Culture-Positive Neonatal Sepsis. *Molecular Medicine*, **26**, 94. <https://doi.org/10.1186/s10020-020-00257-0>
- [35] Lin, X. and Wang, Y. (2021) miR-141 Is Negatively Correlated with TLR4 in Neonatal Sepsis and Regulates LPS-Induced Inflammatory Responses in Monocytes. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **54**, e10603. <https://doi.org/10.1590/1414-431x2020e10603>
- [36] Schuller, S.S., *et al.* (2017) Pentoxifylline Modulates LPS-Induced Hyperinflammation in Monocytes of Preterm Infants *in Vitro*. *Pediatric Research*, **82**, 215-225. <https://doi.org/10.1038/pr.2017.41>
- [37] Altuvia, Y., *et al.* (2005) Clustering and Conservation Patterns of Human microRNAs. *Nucleic Acids Research*, **33**, 2697-2706. <https://doi.org/10.1093/nar/gki567>
- [38] El-Hefnawy, S.M., *et al.* (2021) Biochemical and Molecular Study on Serum miRNA-16a and miRNA-451 as Neonatal Sepsis Biomarkers. *Biochemistry and Biophysics Reports*, **25**, Article ID: 100915. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100915>
- [39] Wang, H., *et al.* (2012) Serum microRNA Signatures Identified by Solexa Sequencing Predict Sepsis Patients' Mortality: A Prospective Observational Study. *PLoS ONE*, **7**, e38885. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038885>
- [40] Chen, J., Jiang, S.Y., Cao, Y. and Yang, Y. (2014) Altered miRNAs Expression Profiles and Modulation of Immune Response Genes and Proteins during Neonatal Sepsis. *Journal of Clinical Immunology*, **34**, 340-348. <https://doi.org/10.1007/s10875-014-0004-9>
- [41] Fouda, E., *et al.* (2021) The Diagnostic and Prognostic Role of MiRNA 15b and MiRNA 378a in Neonatal Sepsis. *Biochemistry and Biophysics Reports*, **26**, Article ID: 100988. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100988>
- [42] Chen, X., *et al.* (2020) MiR-96-5p Alleviates Inflammatory Responses by Targeting NAMPT and Regulating the NF-kappaB Pathway in Neonatal Sepsis. *Bioscience Reports*, **40**, BSR20201267. <https://doi.org/10.1042/BSR20201267>
- [43] Cheng, Q., Tang, L. and Wang, Y. (2018) Regulatory Role of miRNA-26a in Neonatal Sepsis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **16**, 4836-4842. <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6779>
- [44] Ng, P.C., *et al.* (2019) Plasma miR-1290 Is a Novel and Specific Biomarker for Early Diagnosis of Necrotizing Enterocolitis-Biomarker Discovery with Prospective Cohort Evaluation. *The Journal of Pediatrics*, **205**, 83-90.e10. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2018.09.031>