

„Staré“ a „nové“ laboratorní znaky novorozenecké sepsi

MUDr. Anna Medková¹, MUDr. Jan Hálek, Ph.D.^{1,2}, prof. MUDr. Vladimír Mihál, CSc.¹

¹Dětská klinika, Fakultní nemocnice Olomouc

²Novorozenecké oddělení, Fakultní nemocnice Olomouc

Navzdory obrovskému pokroku v neonatologické péči, a to především v péči o nezralé novorozence, zůstává stále velkým problémem novorozenecká sepsi. Novorozeneckou sepsi dělíme na časnou, tzv. „early-onset sepsis“, a pozdní, tzv. „late-onset sepsis“. V tomto přehledovém článku se zaměřujeme především na novorozeneckou sepsi časnou. Včasná diagnostika a zahájení terapie rozhoduje zásadním způsobem o dalším osudu dítěte. Klasická definice sepsi se opírá o klinické známky a průkaz patogenu. V klinické praxi je to však problematické, a jsou tedy používány také pomocné laboratorní znaky bakteriální infekce. V přehledu uvádíme stručné informace o běžně užívaných laboratorních znacích. Druhou část sdělení věnujeme novým možnostem diagnostiky, konkrétně vyšetření sérového kalprotektinu a CD64 – povrchového markeru leukocytů.

Klíčová slova: novorozenecká sepsi, markery, kalprotektin, CD64.

Classic and recent laboratory markers of newborn sepsis

Despite the huge progress in neonatology, especially in care of premature infants, newborn sepsis remains a big problem. In neonatology, we talk about early-onset newborn sepsis and late-onset newborn sepsis. This review is focused on early-onset sepsis. Early diagnosis and initiation of therapy is essential for infant's good prognosis. Classic definition of sepsis is based on the clinical signs and proof of pathogen in the blood stream. But, this is problematic in clinical practice, so another laboratory markers of bacterial infection are used. In this review article, we discuss commonly used markers. In the second part of this article we introduce new diagnostic possibilities, especially new laboratory markers – calprotectin and CD64 (surface marker of leukocytes).

Key words: newborn sepsis, markers, calprotectin, CD64.

Úvod

Neonatologie je jeden z nejrychleji se rozvíjejících medicínských oborů. Za posledních 20 let učinila obrovský pokrok v péči o nezralé novorozence. Avšak velkým problémem nadále zůstává novorozenecká sepsi a komplikace s ní spojené. Novorozenecká sepsi je důležitou příčinou morbidit a mortality novorozenců, dle statistiky publikované Yale-New Haven Hospital činí úmrtí na novorozenecké sepsi 11 % ze všech příčin úmrtí v novorozeneckém věku (1). Novorozenecké sepsi dělíme na tzv.

„early-onset sepsis“ (EOS), tedy časnou novorozeneckou sepsi a „late-onset sepsis“ (LOS), pozdní novorozeneckou sepsi. Jak již bylo zmíněno v abstraktu, v tomto review se budeme věnovat novorozenecké sepsi časně. EOS je definována jako sepsi, která vznikla přestupem bakterií vertikálně z matky na dítě před nebo během porodu a objeví se do 72 h po porodu (2). Novorozenecká sepsi ohrožuje novorozence narozené v termínu i novorozence předčasně narozené, její výskyt a četnost komplikací je vyšší v populaci novorozenců nízké

porodní hmotnosti (3). Základním problémem je její včasná diagnostika, ta spolu s včasnou a správnou léčbou rozhoduje o dalším osudu novorozence, a to především u novorozence předčasně narozeného.

Definice novorozenecké sepsi: Klasickými diagnostickými pilíři pro diagnostiku novorozenecké sepsi je výskyt klinických příznaků zánětlivé reakce organismu (SIRS) a průkaz patogenní bakterie v krevním vzorku (pozitivní hemokultura).

Klinické příznaky zánětlivé reakce organismu jsou v novorozeneckém období nespecifické.



KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: MUDr. Anna Medková, medkova.andula@gmail.com
Dětská klinika, Fakultní nemocnice Olomouc
I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc

Cit. zkr: Pediatr. praxi. 2017; 18(4): 219–222
Článek přijat redakcí: 19. 5. 2017
Článek přijat k publikaci: 8. 6. 2017

ké. Dle jedné recentní studie, která shromáždila data z 26 britských neonatologických center (4), jsou nejčastějšími klinickými známkami sepse náhle vzniklá potřeba kyslíku či ventilační podpory, apnoické pauzy, bradykardie, hypotenze, intolerance glukózy, kapilární návrat > 3 s, rozdíl teploty mezi periferií a tělesným jádrem > 2 °C, letargie/dráždivost, tepelná nestabilita, intolerance stravy, zvýšení sérového bilirubinu, oligurie, metabolická acidóza. Žádný z těchto znaků není pro sepsi specifický a je pozorován i u řady neinfekčních stavů. Kritéria SIRS navržená pro jiné věkové skupiny pacientů se sepsí mají v novorozeneckém věku malou diagnostickou hodnotu.

Zlatým standardem v diagnostice sepse je průkaz původce z hemokultury. Také tohle vyšetření má v novorozeneckém věku řadu úskalí; výsledek nemáme k dispozici dříve než za 24 či 48 h. Výtěžnost vyšetření klesá díky častému antenatálnímu podání ATB matce, technickým potížím či malému množství odebraného vzorku. (Minimální požadované množství by mělo být 1 ml, ideálně 2 ml, což v případě novorozence není množství zanedbatelné) (5). U poměrně významné části novorozenců se sepsí se z výše uvedených důvodů průkaz původce nezdaří.

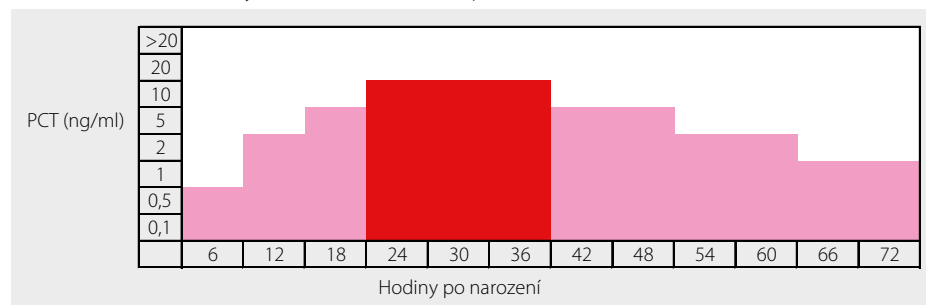
Laboratorní známky novorozenecké sepse

Vzhledem k výše uvedeným problémům se v klinické praxi používají různé laboratorní markery infekce.

C-reaktivní protein je protein akutní fáze; je syntetizován játry a jeho sérová koncentrace se zvyšuje o 5 mg/l/6 h po infekčním stimulu s maximem do 48 h (6, 7). Stimulem pro vyplavení CRP je IL-6 (8, 9). V interpretaci výsledků je důležité si uvědomit postnatální dynamiku; nejčastěji udávaný cut-off 1. den života je 4–5 mg/l, dále pak 10–12 mg/l (10).

Bender a kol. ve své studii z roku 2008, do které bylo zahrnuto 123 novorozenců uvádí, že medián maximální hladiny CRP je po infekčním stimulu 16–24 h. Dále zjistili, že CRP začalo stoupat v době, kdy sérové hladiny cytokinů (IL-6 a IL-8) již klesaly (11). Z uvedeného vyplývá, že CRP není vhodným markerem pro včasnou diagnostiku časně novorozenecké sepse. Navíc zvýšené koncentrace CRP byly pozorovány i u neinfekčních stavů jako je aspirace mekonie,

Obr. 1. Normální hodnoty PCT s ohledem na věk (upraveno dle Stocker, et al. 2010 (23))



nekróza tkáně, po operaci (12, 13). C-reaktivní protein je vhodný k monitoraci léčby, jelikož jeho hladina klesá po eradikaci infekčního stimulu (14).

Dalším klasickým laboratorním markerem sepse je **procalcitonin (PCT)**. PCT je peptid sestávající ze 116 aminokyselin a je prekurzorem calcitoninu (CT) (15). Procalcitonin je kódován *CALC-1* genem lokalizovaným na chromozomu 11 (56, 57). Při nepřítomnosti infekčního stimulu je transkripce *CALC-1* genu pro procalcitonin v non-neuroendokrinních tkáních potlačena; kromě C-buněk štítné žlázy, kde se expresí tohoto genu produkuje PCT, prekurzor calcitoninu u zdravých neinfekčních jedinců (16). Mikrobiální infekce je tedy zodpovědná za zvýšení exprese genu *CALC-1* a následné uvolnění prekurzorů calcitoninu ze všech tkání a buněk celého těla (17). Co se týká užití PCT jako markeru časně novorozenecké sepse hlavním úskalím je jeho fyziologické zvýšení v prvních hodinách a dnech života (18). Nejvyšších fyziologických hodnot dosahuje PCT mezi 18. a 30. hodinou života; k base-line se vrací mezi 42. a 48. hodinou života (19, 20, 21, 22). PCT patří svou dynamikou mezi časně laboratorní markery infekce, jeho reakce je tedy rychlejší ve srovnání s CRP, také rychleji reaguje na úspěšnou ATB léčbu infekce. Hladina PCT koreluje s tíží infekce, není ovlivněna virovými infekty. Při zohlednění fyziologického postnatálního vzestupu je PCT dobrým a poměrně specifickým markerem bakteriální infekce v novorozeneckém věku.

Mezi další klasické laboratorní znaky, rutinně používané v diagnostice novorozenecké sepse, můžeme zařadit také **interleukin-6 (IL-6)**. IL-6 je cytokin, který díky svému rozsáhlému imunitnímu a hematopoetickému působení a schopnosti vyvolat odpověď akutní fáze, hraje jednu z hlavních rolí v obraně organismu (4). Cytokiny jsou malé molekuly, jejichž poločas v séru je minuty až hodiny (24).

IL-6 patří k časným markerům novorozenecké infekce. Je jedním ze základních mediátorů zánětlivé reakce organismu, podílí se i na vyvolání některých klinických příznaků. Jde o velmi časný marker, významná elevace je přítomna při nebo i před vznikem klinických projevů.

Bylo publikováno mnoho studií, ve kterých hodnotili využití **krevního obrazu, diferenciálního rozpočtu a I/T indexu** v diagnostice novorozenecké sepse. Přestože má krevní obraz sám o sobě nízkou prediktivní hodnotu, normální hodnoty naměřené vícekrát po sobě by měly zvýšit pravděpodobnost nepřítomnosti sepse (25, 26). Kdežto nízký počet leukocytů, nízké ANC a vysoká hodnota I/T indexu jsou spojeny s vyšším rizikem infekce (27).

„Nové markery novorozenecké sepse“

Jelikož klasické, téměř ve všech neonatologických centrech používané, markery sepse nesplňují požadavky na marker ideální, je vynakládáno velké úsilí k objevení nového perspektivního markeru novorozenecké sepse. Pro klinickou praxi by byla nejpřínosnější taková laboratorní známka sepse, která by rozlišila infekčního novorozence ještě před objevením klinických známek sepse. Hypotetický ideální marker sepse by měl mít dobře definovanou optimální „cut-off“ hodnotu, senzitivitu a negativní prediktivní hodnotu blízkou 1,00 a specifitu a pozitivní prediktivní hodnotu > 0,85, předpovědět závažnost infekce v počátku klinických příznaků, rozlišit jednotlivé skupiny etiologických agens, měl by se podle jeho dynamiky dát poznat vývoj nemoci a reakce na ATB terapii, popřípadě komplikace, předpovědět prognózu a mortalitu, dále by pro jeho detekci mělo stačit malé množství odebrané krve, shoda mezi žilní a kapilární hodnotou a měl by být levný (28).

Jeden z možných potenciálně ideálních markerů by mohl být **kalprotektin**. Kalprotektin je členem rodiny S100 proteinů. Některé proteiny této rodiny mají intracelulární regulační efekt, některé intra i extracelulární funkci a jiné regulační efekt pouze extracelulární. Vykazují buněčnou specifitu, avšak za jistých patologických okolností může být konkrétní protein exprimován buňkou, ve které se za fyziologického stavu nenachází (29).

Kalprotektin je antimikrobiální, kalcium a zinek vázající protein, který se nachází v cytosolu buněk vrozené imunity a uvolňuje se bezprostředně po interakci hostitel-patogen. Pro tuto svou vlastnost se používá jako laboratorní známka aktivace granulocytů a mononukleárních (30). V cytosolu zaujímá téměř polovinu ze všech cytosolových proteinů (31).

Měření hladiny tohoto S100 proteinu ve stolici je již rutinně zavedeno v gastroenterologii, jednak v diferenciální diagnostice funkčních gastroenterologických potíží a nespecifických střevních zánětů, a jednak odráží aktivitu nemoci u pacientů s nespecifickými střevními záněty (32, 33). Také v revmatologii se kalprotektin stal běžně užívaným markerem například pro strategii biologické léčby juvenilní idiopatické artritidy (34).

V klinické studii z roku 2011 porovnával Terrin a spol. u 231 novorozenců s PH < 1 500 g diagnostickou přesností sérového kalprotektinu s běžně užívanými markery jako je WBC, I/T index, počet krevních destiček a CRP v diagnostice pozdní novorozenecké sepse. Sérová koncentrace kalprotektinu byla signifikantně vyšší ($p < 0,001$) u 62 novorozenců s potvrzenou sepsí. Hodnota kalprotektinu byla u septických novorozenců $3,1 \pm 1,0 \mu\text{g/l}$ narozdíl od hodnoty $1,1 \pm 0,3 \mu\text{g/l}$ u 29 novorozenců neinfekčních a $0,91 \pm 0,58 \mu\text{g/l}$ u 110 zdravých kontrol (35).

Decembrino a spol. v roce 2015 také porovnával diagnostické možnosti a přesnost u již zavedených laboratorních znaků (leukocyty, neutrofilie, trombocyty, CRP) a kalprotektinu u novorozenecké sepse (tentokrát nerozlišovali EOS a LOS). Soubor čítal 41 novorozenců. 8 z těchto novorozenců mělo pozitivní hemokulturu, 33 vykazovali klinické známky sepse, avšak bez pozitivní hemokultury (36). Data z této studie ukazují, že by kalprotektin mohl být užíván jako časný marker sepse. Jeho sérová hladina není

ovlivněna stářím, pohlavím, způsobem porodu či počtem leukocytů.

CD64 je vysoko afinní Fc receptor, tedy receptor, který specificky váže Fc oblast protilátek. Za fyziologických okolností je exprimován převážně monocyty a velmi slabě neaktivními neutrofily (37). Při aktivaci imunitního systému vidíme výrazný nárůst exprese CD64 na neutrofilech, a to do jedné hodiny po invazi bakteriálním patogenem (38). Tento Fc receptor je možné rychle a elegantně detekovat pomocí průtokové cytometrie, kde je zapotřebí velmi malé množství krve, což je v případě nezralého novorozence velkou výhodou (39).

Již v roce 2004 se Nehal a spol. zamýšlel nad možným významem CD64 v diagnostice časné novorozenecké sepse. U 60 novorozenců s antenatálními rizikovými faktory pro vznik časné novorozenecké sepse odebírali v nutě (z pupečníku), 8., 24. a 48. hodině po porodu krev a měřili hladinu CD64. Retrospektivně pak rozdělili novorozence do dvou skupin – septických a neinfekčních. V septické skupině byla exprese CD64 signifikantně vyšší než v neinfekční skupině. Ve 24. hodině po porodu „cut-off“ hodnota 50% exprese měla 100% specifitu a senzitivitu pro predikci mortality (40).

V klinické studii z roku 2010 El-Mazary a spol. porovnával hladinu CD64 a hodnoty klasických zánětlivých markerů (CRP, IL-6, leukocyty, trombocyty) u novorozenců, kteří byli přijati na JIP se známky časné novorozenecké sepse. Vzorky byly odebrány mezi 0. a 48. h života před nasazením ATB terapie. V této studii potvrdili, že exprese CD64 je výrazně vyšší u septických pacientů, než u zdravých kontrol, kdy je hodnota $p = 0,001$.

Další klinickou studií, která dokazuje význam CD64 jako markeru novorozenecké sepse je studie z roku 2012 vedená Streimishem. CD64 odebírali u novorozenců (celkem 749), kteří byli vyšetřováni pro podezření na novorozeneckou sepsi. Cut-off hodnota 2,38 měla 100% senzitivitu a 100% negativní prediktivní hodnotu. Z této studie vyplývá, že negativní CD64 by mohlo být vhodným markerem k vyloučení časné novorozenecké sepse (41).

Význam CD64 jako brzkého laboratorního znaku časné novorozenecké sepse dokazuje také studie z roku 2013 vedená Du a spol. Zde u 88 septických novorozenců prokázali signifikantně zvýšené hladiny CD64 v porovnáním se zdravými kontrolami (42).

Diskuze

Jak již bylo v úvodu řečeno, novorozenecká sepsi zůstává jedním ze základních problémů neonatologie. Včasná diagnostika je základním předpokladem pro úspěšnost léčby a outcome dítěte. Existuje řada klinických i laboratorních znaků novorozenecké sepse. Klinické znaky jsou však převážně u předčasně narozených novorozenců značně nespecifické.

Klasické laboratorní markery mají řadu nevýhod. Je třeba znát jejich fyziologickou dynamiku a k hodnocení výsledků je nutno přistupovat individuálně. Nejběžněji používaný marker CRP je ovlivněn i neinfekčními stavy jako aspirací mekonie, nekrotizující tkáně, zvyšuje se po operaci, proto je jeho interpretace značně obtížná a nespecifická.

U nových perspektivních markerů, výše zmíněných, je potřeba jednak správně prozkoumat postnatální dynamiku a jednak najít správné „cut-off“ hodnoty s ohledem na gestační věk a porodní hmotnost.

Dva výše zmíněné markery mají značnou výhodu v tom, že k jejich zpracování a měření je třeba pouze malé množství krve či séra; při zpracování CD64 pomocí metod průtokové cytometrie je zapotřebí 50 μL krve (39), v případě kalprotektinu je to 20 μL séra při použití imunochromatografických metod (Bühlmann, The Quantum Blue®). Pro zpracování a měření CRP, PCT a IL-6 je to 200 μL séra, vidíme tedy, že objemy se liší až 10x, což je, převážně u nedonošených novorozenců či novorozenců s nízkou porodní hmotností, velká výhoda.

V diskuzi je také nutno zmínit možný přínos identifikace profilů genové exprese pomocí metod microarrays u septických novorozenců. V recentních článcích se tato metoda jeví velmi nadějně (43, 44).

Závěr

Novorozenecká sepsi, ať už časná či pozdní, je téma v neonatologických kruzích stále živě diskutované. Za poslední dobu proběhla řada klinických studií týkajících se včasné a hlavně správné diagnostiky neonatální sepse. Některé studie jsou přesvědčivé, jiné méně, jak už to ve vědeckém světě bývá.

Tento článek byl podpořen grantovým projektem IGA LF UP 2017_13.

LITERATURA

1. Bizzarro MJ, Dembry L-M, Baltimore RS, et al. Changing Patterns in Neonatal Sepsis and Ampicillin Resistance in the Era of Intrapartum Antibiotic Prophylaxis. *Pediatrics*. 2008; 121(4): 689 LP–696.
2. Hornik CP, Fort P, Clark RH, et al. Early and late onset sepsis in very-low-birth-weight infants from a large group of neonatal intensive care units. *Early Hum Dev*. 2012; 88(2): 69–74.
3. Kramer MS, Demissie K, Yang H, et al. The Contribution of Mild and Moderate Preterm Birth to Infant Mortality. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*. 2000; 284(7): 843–849.
4. Modi N, Doré CJ, Saraswata A, et al. A case definition for national and international neonatal bloodstream infection surveillance. *Archives of Disease in Childhood – Fetal and Neonatal Edition*. 2008; 94(1): F8 LP–F12.
5. Neal PR, Kleiman MB, Reynolds JK. Volume of blood submitted for culture from neonates. *Journal of Clinical Microbiology*. 1986; 24(3): 353–356.
6. Hofer N, Zacharias E, Müller, et al. An update on the use of C reactive protein in early-onset neonatal sepsis: Current insights and new tasks. *Neonatology*. 2012; 102(1): 25–36.
7. Póvoa P. C-reactive protein: a valuable marker of sepsis. *Intensive Care Medicine*. 2002; 28(3): 235–243.
8. Cekic C, Arbul M, Alper E, et al. Evaluation of the relationship between serum ghrelin, C-reactive protein and interleukin-6 levels, and disease activity in inflammatory bowel diseases. *Hepatogastroenterology*. 2014; 61(133): 1196–1200.
9. Worthmann H, Tryck AB, Dirks M, et al. Lipopolysaccharide binding protein, interleukin-10, interleukin-6 and C-reactive protein blood levels in acute ischemic stroke patients with post-stroke infection. *Journal of Neuroinflammation*. 2015; 12(1): 13.
10. Chiesa C, Osborn JF, Pacifico, et al. Gestational- and age-specific CRP reference intervals in the newborn. *Clinica Chimica Acta*. 2011; 412(19–20): 1889–1890.
11. Bender L, Thaarup J, Varming K, et al. Early and late markers for the detection of early-onset neonatal sepsis. *Danish Medical Bulletin*. 2008; 55(4): 219–223.
12. Ng PC, Cheng SH, Chui KM, et al. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule, and C-reactive protein in preterm very low birthweight infants. *Archives of Disease in Childhood – Fetal and Neonatal Edition*. 1997; 77(3): F221 LP–F227.
13. Pourcyrus M, Bada HS, Korones SB, et al. Significance of Serial C-Reactive Protein Responses in Neonatal Infection and Other Disorders. *Pediatrics*. 1993; 92(3): 431 LP–435.
14. Ehl S, Gehring B, Pohlandt F. A detailed analysis of changes in serum C-reactive protein levels in neonates treated for bacterial infection. *Eur J Pediatr*. 1999; 158(3): 238–242.
15. Jin M, Khan, et al. Procalcitonin: Uses in the Clinical Laboratory for the Diagnosis of Sepsis. *Laboratory Medicine*. 2010; 41(3): 173–177.
16. Christ-Crain M, Müller B. Biomarkers in respiratory tract infections: diagnostic guides to antibiotic prescription, prognostic markers and mediators. *European Respiratory Journal*. 2007; 30(3): 556 LP–573.
17. Muller B, White JC, Nylén ES, et al. Ubiquitous Expression of the Calcitonin-I Gene in Multiple Tissues in Response to Sepsis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86(1): 396–404.
18. van Rossum AMC, Wulkan RW, Oudesluis-Murphy AM. Procalcitonin as an early marker of infection in neonates and children. *Lancet Infectious Diseases*. 2004; 4(10): 620–630.
19. Chiesa C, Panero A, Rossi N, et al. Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1998; 26(3): 664–672.
20. Chiesa C, Pellegrini G, Panero A, et al. 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*. 2003; 49(1): 60 LP–68.
21. Sachse C, Dressler F, Henkel E. Increased Serum Procalcitonin in Newborn Infants without Infection. *Clinical Chemistry*. 1998; 44(6): 1343 LP–1344.
22. Monneret G, Labaune JM, Isaac C, et al. Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections. *Acta Paediatr*. 1997; 86: 209–212.
23. Stocker M, Hop WC, van Rossum, et al. Neonatal Procalcitonin Intervention Study (NeoPinS): Effect of Procalcitonin-guided decision making on Duration of antibiotic Therapy in suspected neonatal early-onset Sepsis: A multi-centre randomized superiority and non inferiority Intervention Study. *BMC Pediatrics*. 2010; 10(1): 89.
24. de Jong HK, van der Poll T, Wiersinga WJ. The systemic proinflammatory response in sepsis. *J Innate Immun*. 2010: 422–430.
25. Rozycki HJ, Stahl GE, Baumgart S. Impaired sensitivity of a single early leukocyte count in screening for neonatal sepsis. *Pediatr. Infect. Dis. J*. 1987; 6: 440–442.
26. Christensen RD, Rothstein G, Hill HR, et al. Fatal early onset group B streptococcal sepsis with normal leukocyte counts. *Pediatr. Infect. Dis*. 1985; 4: 242–245.
27. Hornik CP, Benjamin DK, Becker. Use of the Complete Blood Cell Count in Early-Onset Neonatal Sepsis. *Pediatr Infect Dis J*. 2012; 31(8): 799–802.
28. Ng PC, Ma TP, Lam, HS. The use of laboratory biomarkers for surveillance, diagnosis and prediction of clinical outcomes in neonatal sepsis and necrotising enterocolitis. *Archives of Disease in Childhood – Fetal and Neonatal Edition*. 2015: 1–6.
29. Donato R, Cannon BR, Sorci G, et al. Functions of S100 proteins. *Current Molecular Medicine*. 2013; 13(1): 24–57.
30. Stržič I, Trebichavský I. Calprotectin – A pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiological Research*. 2004; 53(3): 245–253.
31. Hessian PA, Edgeworth J, Hogg N. MRP-8 and MRP-14, two abundant Ca(2+)-binding proteins of neutrophils and monocytes. *Journal of Leukocyte Biology*. 1993; 53(2): 197–204.
32. Lozoya Angulo ME, de las Heras Gómez I, Martínez Villanueva M. Faecal calprotectin, an useful marker in discriminating between inflammatory bowel disease and functional gastrointestinal disorders. *Gastroenterol Hepatol*. 2017; 40(3): 125–131.
33. Zhulina Y, Cao Y, Amcoff K. Prognostic significance of faecal calprotectin in patients with inactive inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016; 44: 495–504.
34. Anink J, Van Suijlekom-Smit LWA, Otten MH, et al. MRP8/14 serum levels as a predictor of response to starting and stopping anti-TNF treatment in juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Research & Therapy*. 2015; 17(1): 200.
35. Terrin G, Passariello A, Manguso F, et al. Serum calprotectin: An antimicrobial peptide as a new marker for the diagnosis of sepsis in very low birth weight newborns. *Clin Dev Immunol*. 2011; 2011: 291085.
36. Decembrino L, De Amici M, Pozzi M, et al. Serum Calprotectin: A Potential Biomarker for Neonatal Sepsis. *J Immunol Res*. 2015: 147973.
37. Fjaertoft G, Hakansson L, Ewald U, et al. Neutrophils from Term and Preterm Newborn Infants Express the High Affinity Fc[gamma]-Receptor I (CD64) During Bacterial Infections. *Pediatr Res*. 1999; 45(6): 871–876.
38. van der Meer W, Pickkers P, Scott CS, et al. Hematological indices, inflammatory markers and neutrophil CD64 expression: comparative trends during experimental human endotoxemia. *J Endotoxin Res*. 2007; 13: 94–100.
39. Umlauf VN, Dreschers S, Orlikowsky TW. Flow cytometry in the detection of neonatal sepsis. *International Journal of Pediatrics*. 2013; 763191.
40. El-Raggal NM, El-Barbar MN, Youssef MF, et al. Neutrophil-surface antigens CD11b and CD64 expression: a potential predictor of early-onset neonatal sepsis. *Egypt J Pediatr Allergy Immunol* 2004; 2(2): 90–100.
41. Streimish I, Bizzarro M, Northrup V, et al. Neutrophil Cd64 as a Diagnostic Marker in Neonatal Sepsis. *Pediatr Infect Dis J*. 2012; 31(7): 777–781.
42. Du J, Li L, Dou Y, et al. Diagnostic utility of neutrophil CD64 as a marker for early-onset sepsis in preterm neonates. *PLoS One*. 2014; 9(7).
43. Sweeney TE, Wynn JL, Cernada M, et al. Validation of the Sepsis MetaScore for Diagnosis of Neonatal Sepsis. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2017; Apr 13.
44. Dickinson P, Smith CL, Forster T. Whole blood gene expression profiling of neonates with confirmed bacterial sepsis. *Genom Data*. 2015; 3: 41–48.