

论著 · 临床研究

早产儿出生早期粪便钙卫蛋白 水平变化及临床意义

崔 娟 李 娟

(中国医科大学附属盛京医院儿科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘 要] **目的** 探讨早产儿生后早期粪便钙卫蛋白(fecal calprotectin, FC)水平及影响因素,寻找早产儿胃肠道损伤的早期诊断指标。**方法** 将 38 例胎龄为 29~33 周的早产儿按早产原因分为胎膜早破(premature rupture of membrane, PROM)组、自发性早产(spontaneous preterm birth, SPB)组及有医学指征早产(indicated preterm birth, IPB)组,收集出生后第 1 次胎便及生后第 3 天最后 1 次粪便(以下简称为第 1 次和第 2 次粪便),用 ELISA 法测定 FC 水平。**结果** 38 例早产儿第 1 次与第 2 次 FC 水平差异无统计学意义($P>0.05$)。PROM 组第 1 次 FC 水平明显高于 IPB 组($P<0.05$)。母亲分娩前应用抗生素治疗的早产儿第 1 次 FC 水平明显低于未用抗生素治疗者($P<0.05$);剖宫产出生的早产儿第 1 次 FC 水平明显低于阴道分娩者($P<0.05$)。生后早期喂养不耐受患儿两次 FC 水平均明显高于喂养耐受患儿($P<0.05$)。1 min Apgar 评分与第 2 次 FC 水平呈显著负相关($r=-0.30, P<0.05$);两次 FC 水平与首次胃肠道喂养时间无显著相关性($P>0.05$)。**结论** 胎膜早破及出生窒息促进早产儿胃肠道分泌 FC,生后早期 FC 水平可反映早产儿早期胃肠道喂养状况,可作为评价早产儿生后早期消化道功能的指标。

[中国当代儿科杂志,2012,14(3):165-168]

[关 键 词] 粪便钙卫蛋白;喂养不耐受;早产儿

[中图分类号] R722.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2012)03-0165-04

Fecal calprotectin levels in preterm infants during the early neonatal period

CUI Xian, LI Juan. Department of Pediatrics, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China (Li J, Email: lijuan8@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To explore whether fecal calprotectin (f-calprotectin, FC) may be an early marker for the identification of gastrointestinal injury in preterm infants by measuring FC concentration and changes of FC concentration in infants with different perinatal factors. **Methods** FC concentration was measured using ELISA in 76 samples (50-100 mg) obtained from 38 preterm infants (gestation 29 to 33 weeks), at birth and on the third day after birth (the 1st and the 2nd FC levels). The infants were classified into three groups according to the reason for preterm birth: premature rupture of membranes (PROM; $n=13$), spontaneous preterm birth (SPB; $n=5$) and indicated preterm birth (IPB; $n=20$). **Results** There were no significant differences between the 1st and 2nd FC levels in the 38 infants. The 1st FC level in the PROM group was significantly higher than that in the IPB group ($P<0.05$). The 1st FC level in infants whose mothers received antenatal antibiotics treatment was significantly lower. Infants born by cesarean section had a significantly lower 1st FC level than those born by vaginal delivery ($P<0.05$). Both the 1st and 2nd FC levels in infants with feeding intolerance were significantly higher than in infants with feeding tolerance ($P<0.05$). The 2nd FC level was negatively correlated with 1 min Apgar score ($r=-0.3, P<0.05$). **Conclusions** Premature rupture of membranes and perinatal asphyxia may lead to an increase in the excretion of FC in preterm infants. FC may be used as a marker for early evaluation of gastrointestinal conditions in preterm infants. **[Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14 (3):165-168]**

Key words: Fecal calprotectin; Feeding intolerance; Preterm infant

由于消化系统生理和神经内分泌调节机能不成熟,早产儿易因胃肠道微生态系统紊乱而影响胃肠道喂养,严重者发生坏死性小肠结肠炎(NEC)^[1],而早产儿胃肠道功能异常多无临床及影像学特征性改变,目前也缺乏准确、可靠的实验室诊断指标。钙卫蛋白是中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞内的

[收稿日期]2011-09-20;[修回日期]2011-10-30
[作者简介]崔娟,女,硕士,住院医师。
[通信作者]李娟,教授。

钙-锌结合蛋白,为中性粒细胞更新的标志物,正常情况下,粪便钙卫蛋白(fecal calprotectin, FC)含量约是血浆中的 6 倍,具有耐热性和抗蛋白酶活性,是目前用于成人及儿童炎症性肠病时评价疾病活动性的可靠指标^[2-3]。Campeoto 等^[4]研究发现,有胃肠道出血或腹胀的轻度消化功能异常新生儿,FC 水平暂时性增高;Carroll 等^[5]发现,发生 NEC 的早产儿 FC 明显增高。早产儿生后早期胃肠喂养与 FC 水平是否有关?目前尚未见报道。本研究通过测定早产儿生后早期 FC 水平,分析 FC 与围产因素的关系及对早产儿喂养的影响,试图寻找早产儿胃肠道损伤的早期诊断指标。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2010 年 4~7 月于中国医科大学附属盛京医院新生儿内科住院、胎龄 <34 周的早产儿 38 例,其中男 16 例,女 22 例,双胞胎 3 对,除外先天发育畸形。

按早产原因^[6]将新生儿分为 3 组:(1)胎膜早破(PROM)组 13 例;(2)自发性早产(SPB)组 5 例;(3)有医学指征早产(IPB)组 20 例,主要包括母亲妊娠高血压综合征、胎盘或子宫异常、胎儿宫内窘迫等。各组早产儿母亲孕期及早产儿出生后情况见表 1。11 例母亲(PROM 组 9 例,SPB 组 1 例,IPB 组 1 例)孕晚期因发热,白细胞、中性粒细胞或 C-反应蛋白(CRP)升高,分娩前应用第 3 代头孢菌素治疗 3~5 d,这些母亲所生早产儿中 4 例 CRP 升高,5 例血小板下降,生后即静脉给予第 3 代头孢菌素治疗 1 周,至化验结果正常;其余早产儿入院后常规给予青霉素治疗 3 d,化验结果显示无细菌感染。

早产儿喂养不耐受的诊断按照 Ng 等^[7]提出的标准,即(1)鼻胃管回抽残留奶量大于前次喂养量的 50%或至少一次残留奶量大于前次喂养量的 30%;(2)残留奶量大于每日喂养总量的 10%;(3)早产儿有腹胀、血便(须除外血培养阳性的败血症及 X 线片证实为 NEC 者),具备上述 3 项中 1 项或 1 项以上者诊断为喂养不耐受。

表 1 早产儿围产期情况比较

组别	例数	出生体重(g)	胎龄(周)	窒息复苏史(例)	首次胃肠道喂养时间(h)				喂养不耐受(例)	剖宫产(例)	母孕期情况(例)		
					≤24	>24	>48	>72			应用抗生素	妊娠期高血压	产前地塞米松治疗
PROM	13	1520(1270~1770)	31.1(30~32)	9	5	4	1	3	6	11	9	2	6
SPB	5	1684(1014~2353)	31.7(30~33)	1	3	0	0	2	3	5	1	2	2
IPB	20	1416(1247~1586)	30.2(29~31)	6	6	5	7	2	11	15	1	6	8

1.2 研究方法

1.2.1 一般资料 记录母孕期疾病史、抗生素或激素应用史、胎膜早破及时间、血常规、CRP、分娩方式等;新生儿胎龄、日龄、出生体重、1 min 及 5 min Apgar 评分、胃肠喂养开始时间及量、胃内残留量及性状、到达全胃肠喂养时间、抗生素应用史及血常规、CRP、便常规等。

1.2.2 标本获取 收集新生儿出生后第 1 次胎便及生后第 3 天最后 1 次粪便(以下简称为第 1 次和第 2 次粪便)50~100 mg,密封后 2~8℃冷藏保存,6 d 内抽提、分装,置-20℃冻存。

1.2.3 检测方法 FC 测定试剂为瑞士 Bühlmann 公司生产,北京海瑞祥天生物科技有限公司提供;Bio-Rad 550 型酶标仪为芬兰百得公司生产。按照试剂说明书处理粪便,取上清液 1 mL,-20℃保存。FC 测定按试剂说明书进行:将粪便提取液室温解冻,以 1:50 比例稀释,用酶联免疫吸附法(ELISA),波长 450 nm,测定吸光度(A)。双份标本检测,取均值,单位 μg/g。试剂盒批内误差 4.7%,

批间误差 4.1%。

1.3 统计学分析

用 SPSS 11.5 统计分析软件进行统计学分析,非正态分布的计量资料,结果以中位数(四分位间距)表示,组间比较采用非参数检验(Mann-Whitney U 检验或 Kruskal-Wallis 检验),相关系数用 Spearman 相关分析计算并进行检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

3 组早产儿住院早期均行早产儿配方奶鼻胃管喂养,未见血便及严重腹胀。生后早期喂养不耐受者 20 例(53%),住院期间无早产儿发生 NEC。大便常规、培养结果无异常。

2.2 不同胎龄早产儿第 1 次 FC 水平

胎龄 <30 周及 ≥30 周早产儿,第 1 次 FC 水平分别为 1728(233~3223)和 1306(445~

2168) $\mu\text{g/g}$, 两组比较差异无统计学意义 ($t = 0.55, P = 0.14$), 提示胎龄对第 1 次 FC 水平无明显影响。

2.3 不同早产原因早产儿 FC 水平

38 例早产儿两次粪便 FC 水平分别为 1484 (721 ~ 2246) 和 1851 (1096 ~ 2607) $\mu\text{g/g}$, 差异无统计学意义 ($t = 0.72, P = 0.48$)。PROM 组、SPB 组及 IPB 组早产儿第 1 次 FC 水平分别为 896 (934 ~ 1575)、784 (1065 ~ 5322) 和 552 (536 ~ 1876) $\mu\text{g/g}$, 第 2 次分别为 1072 (1026 ~ 1511)、1520 (1371 ~ 3377)

和 944 (1303 ~ 2896) $\mu\text{g/g}$, PROM 组第 1 次粪便 FC 水平明显高于 IPB 组 ($t = 0.88, P = 0.04$)。

2.4 围产因素对 FC 水平的影响

母亲分娩前应用抗生素治疗的早产儿, 第 1 次粪便 FC 水平明显低于未用抗生素治疗者 ($t = 1.550, P = 0.03$); 剖宫分娩的早产儿第 1 次粪便 FC 水平明显低于阴道分娩者 ($t = 1.74, P = 0.04$)。见表 2。相关分析发现, 1 min Apgar 评分与第 2 次 FC 水平呈负相关 ($r = -0.30, P = 0.048$)。

表 2 围产因素及生后喂养情况与 FC 水平的关系 [中位数(四分位间距), $\mu\text{g/g}$]

相关因素	例数	第 1 次 FC	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	第 2 次 FC	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
母孕期应用抗生素							
是	11	587 (319 ~ 856)			2192 (509 ~ 3874)		
否	27	1850 (794 ~ 1905)	1.50	0.03	1713 (825 ~ 2601)	0.58	0.54
妊娠期高血压							
是	10	1256 (188 ~ 2325)			1637 (574 ~ 2701)		
否	28	1728 (233 ~ 2223)	0.72	0.44	2908 (1349 ~ 4167)	0.68	0.60
产前地塞米松治疗							
是	16	1797 (610 ~ 2985)			2146 (976 ~ 3315)		
否	22	1256 (188 ~ 2325)	0.71	0.48	1637 (574 ~ 2701)	0.67	0.63
剖宫产							
是	31	1181 (554 ~ 1807)			2011 (1090 ~ 2033)		
否	7	2827 (827 ~ 4527)	1.74	0.04	1142 (623 ~ 1661)	0.90	0.11
窒息复苏史							
是	16	1728 (233 ~ 2223)			2320 (602 ~ 4037)		
否	22	1306 (445 ~ 2168)	0.55	0.66	1511 (950 ~ 2073)	1.07	0.06
早产儿应用抗生素							
是	11	646 (384 ~ 907)			2908 (1349 ~ 4167)		
否	27	1611 (736 ~ 2486)	0.86	0.14	1691 (944 ~ 2438)	1.11	0.16
CRP > 8 mg/L							
是	4	1228 (43 ~ 2418)			1036 (336 ~ 2408)		
否	34	1514 (661 ~ 2367)	0.23	0.40	1947 (1109 ~ 2785)	0.75	0.40
喂养不耐受							
是	20	2046 (612 ~ 3480)			2379 (992 ~ 3766)		
否	18	860 (531 ~ 1190)	1.61	0.01	1265 (769 ~ 1761)	1.52	0.02

2.5 FC 水平与早期喂养的关系

生后早期喂养不耐受患儿两次 FC 水平均明显高于喂养耐受患儿 (t 分别为 1.61 及 1.52, $P < 0.05$)。见表 2。两次 FC 水平与首次胃肠道喂养时间均无显著相关性。

2.6 生后早期 FC 水平与早产儿消化功能的关系

第 1 次和第 2 次 FC 水平与到达全胃肠喂养的时间 Spearman 等级相关系数分别为 0.19 及 0.17, $P > 0.05$, 其相关性无统计学意义。

3 讨论

Fagerhol 等 1980 年从中性粒细胞分离发现的钙

卫蛋白, 是中性粒细胞和活化的巨噬细胞胞浆中重要的蛋白质, 可以作为炎性细胞活化的标志物。它与钙离子结合, 使其具有耐热性和抗蛋白酶活性, 在肠腔和外界环境中可长期稳定不被各种酶和细菌破坏; 在粪便中性质稳定且含量不受饮食成分等因素的影响, 是目前用于成人及儿童炎症性肠病评价疾病活动性的有效指标^[2-3,8]。有关早产儿 FC 水平的正常值, 文献报道不一, Campeotto 等^[4,8]报道, 胎便中即可检测到 FC, 且明显高于健康成人及儿童, 早产儿肠道轻度及重度损伤时 FC 水平分别为 363 及 636 $\mu\text{g/g}$ 。Josefsson 等^[9]研究显示 52 例胃肠道喂养的极低出生体重儿胎便 FC 水平为 332 $\mu\text{g/g}$, 本研究结果可能由于早产儿多数有喂养不耐受, 导致

FC水平增高。早产儿FC水平增高的原因,可能与早产儿肠道黏膜的高通透性及肠道生理炎症反应导致中性粒细胞、巨噬细胞向肠腔迁移有关^[8,10]。研究显示,随日龄增加新生儿FC水平逐渐下降,可能与肠道黏膜、免疫功能逐渐成熟及肠道菌群的建立有关^[11]。本研究由于标本测定的间隔较短,两次FC水平无显著差异,并且FC水平与胎龄、性别、出生体重无明显相关,结果与文献报道一致^[2,4-5,10]。

本研究发现,PROM组第1次FC水平明显高于IPB组。据报道,PROM约占早产原因的1/3以上,胎膜早破易继发宫内感染,宫内感染通过引起侵入性细菌在肠道定植或激活致肠损伤的炎性介质,促发局部炎症级联反应^[12]。这些过程可影响早产儿消化道功能,导致FC水平升高。肠道菌群是一个复杂的微生态系统,受许多外部环境和营养因素的影响,正常肠道菌群可刺激中性粒细胞向肠腔迁移,释放FC,表现为生后早期肠道的“生理性”炎症反应及FC水平的“良性”增高^[5]。本研究经阴道分娩早产儿的FC水平升高,考虑与吞咽羊水及含细菌的产道分泌物有关。肠道正常菌群是维持早产儿胃肠道喂养的必备条件^[9,11-12],可能也是影响新生儿生后早期FC水平的主要因素。Rougé等^[13]认为,影响肠道正常菌群定植的因素均会导致FC水平下降。本研究发现产前应用抗生素的早产儿FC水平明显下降,与该观点一致。此外,本研究还发现1 min Apgar评分与第2次FC水平呈显著负相关,提示可能是缺氧缺血时全身血液重新分配,导致肠系膜血管收缩,发生缺氧缺血性消化道损伤,影响胃肠道激素的分泌和胃肠动力,由此导致喂养不耐受,严重者发生NEC。由于胃肠黏膜缺氧缺血性损伤,使中性粒细胞向肠腔迁移,导致FC水平升高^[9-10]。

早产儿喂养不耐受是一组由多种因素引起的症候群,是胃肠道及周身损伤或感染的表现之一^[12]。本研究发现,在致FC水平增高的各种因素中,喂养不耐受时FC水平明显升高,提示胃肠功能反映周身状况。本研究中CRP增高者与非增高者FC水平差异无统计学意义;Josefsson等^[9]亦发现CRP与FC水平无明显相关性,提示无严重腹部并发症的全身感染早产儿FC水平可能不受影响。因此本研究认为FC水平可作为判断早产儿胃肠道损伤及评价治疗效果的指标,及时改善并客观评价胃肠道功能及全身状态,对于早期发现早产儿消化系统异常,改善早产儿预后具有重要意义。

本研究不足之处在于,各组例数分布不均,自发性早产例数太少,缺乏动态测定早产儿FC水平。由于早产儿消化系统解剖生理的特殊性及生后早期FC水平受如上所述的“生理性”炎症反应影响,还需分析更多样本及连续观察,客观评价FC水平在早产儿胃肠功能变化时的应用价值,指导胃肠道喂养及临床治疗。

[参 考 文 献]

- [1] Neu J, Zhang L. Feeding intolerance in very-low-birthweight infants: what is it and what can we do about it? [J]. *Acta Paediatr Suppl*, 2005, 94(449): 93-99.
- [2] Bunn SK, Bisset WM, Main MJ, Golden BE. Fecal calprotectin as a measure of disease activity in childhood inflammatory bowel disease[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2001, 32(2): 171-177.
- [3] Olafsdottir E, Aksnes L, Fluge G, Berstad A. Faecal calprotectin levels in infants with infantile colic, healthy infants, children with inflammatory bowel disease, children with recurrent abdominal pain and healthy children[J]. *Acta Paediatr*, 2002, 91(1): 45-50.
- [4] Campeotto F, Kalach N, Lapillonne A, Butel MJ, Dupont C, Kapel N, et al. Time course of faecal calprotectin in preterm newborns during the first month of life[J]. *Acta Paediatr*, 2007, 96(10): 1531-1533.
- [5] Carroll D, Corfield A, Spicer R, Cairns P. Faecal calprotectin concentrations and diagnosis of necrotising enterocolitis[J]. *Lancet*, 2003, 361(9354): 310-311.
- [6] Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and cause of preterm birth[J]. *Lancet*, 2008, 371(9606): 75-84.
- [7] Ng E, Shah V. Erythromycin for the prevention and treatment of feeding intolerance in preterm infants[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, (3): CD001815.
- [8] Campeotto F, Baldassarre M, Butel M, Viallon V, Nganzali F, Soulaïnes P, et al. Fecal calprotectin: cutoff values for identifying intestinal distress in preterm infants[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2009, 48(4): 507-510.
- [9] Josefsson S, Bunn SK, Domellöf M. Fecal calprotectin in very low birth weight infants[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2007, 44(4): 407-413.
- [10] Yang Q, Smith PB, Goldberg RN, Cotten CM. Dynamic change of fecal calprotectin in very low birth weight infants during the first month of life[J]. *Neonatology*, 2008, 94(4): 267-271.
- [11] Grönlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1999, 28(1): 19-25.
- [12] 胡晓艳,周于新,徐颂周,林月钰. 益生菌防治低出生体重早产儿喂养不耐受的临床观察[J]. *中国当代儿科杂志*, 2010, 12(9): 693-695.
- [13] Rougé C, Butel MJ, Piloquet H, Ferraris L, Legrand A, Vodovar M, et al. Fecal calprotectin excretion in preterm infants during the neonatal period[J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11083.

(本文编辑:王庆红)