doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2016.11.005

论著·临床研究

肠型脂肪酸结合蛋白和粪钙卫蛋白联合检测在足月新生儿坏死性小肠结肠炎中的应用价值

田云粉[1] 李利[1] 米弘瑛[1] 皇甫春荣[1] 何山[1] 许小艳[1] 曹永久[2]

（云南省第一人民医院 1. 儿科；2. 遗传诊断中心，云南 昆明 650032）

［摘要］ **目的** 探讨肠型脂肪酸结合蛋白（I-FABP）、粪钙卫蛋白（FC）联合检测在足月新生儿坏死性小肠结肠炎（NEC）诊断中的应用价值。**方法** 选择足月新生儿 NEC 36 例（病例组）和同期非消化系统疾病新生儿 39 例（对照组）为研究对象。采用酶联免疫吸附法（ELISA）分别检测两组患儿血清 I-FABP 及粪便中 FC 的水平，并评估 I-FABP 联合 FC 诊断 NEC 的临床价值。**结果** 病例组 I-FABP 和 FC 显著高于对照组（$P<0.05$）；病例组患儿血清 I-FABP 与粪便中 FC 呈现正相关（$r=0.71$，$P<0.05$）；分别以 I-FABP、FC 及两指标联合为参考，诊断 NEC 的敏感性分别为 83.3%，81.5% 和 79.5%；特异性分别为 72.5%，75.8 和 86.3%，诊断的 ROC 曲线下面积（AUC）分别为 0.82，0.81 和 0.88。联合检测诊断 NEC 的特异性和 AUC 明显高于单一检测（$P<0.05$）。**结论** I-FABP 与 FC 在 NCE 患儿显著升高，且两者存在相关性，联合检查可提高诊断 NEC 的特异性。

［中国当代儿科杂志，2016，18（11）：1080-1083］

［关键词］ 肠型脂肪酸结合蛋白；粪钙卫蛋白；坏死性小肠结肠炎；新生儿

Value of combined measurement of intestinal fatty acid-binding protein and fecal calprotectin in diagnosis of necrotizing enterocolitis in full-term neonates

TIAN Yun-Fen, LI Li, MI Hong-Ying, HUANG-PU Chun-Rong, HE Shan, XU Xiao-Yan, CAO Yong-Jiu. Department of Pediatrics, First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650034, China (Li L, Email: ijhww76wuyu0@163.com)

Abstract: Objective To study the value of combined measurement of intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) and fecal calprotectin (FC) in the diagnosis of necrotizing enterocolitis (NEC) in full-term neonates. **Methods** A total of 36 full-term neonates with NEC (case group) and 39 neonates without digestive system diseases (control group) were enrolled as study subjects. ELISA was used to measure the serum I-FABP level and fecal FC level, and the clinical value of I-FABP combined with FC in the diagnosis of NEC was evaluated. **Results** The case group had significantly higher I-FABP and FC levels than the control group ($P<0.05$). In the case group, serum I-FABP level was positively correlated with fecal FC level ($r=0.71$, $P<0.05$). In the diagnosis of NEC, I-FABP alone, FC alone, and I-FABP/FC combination had sensitivities of 83.3%, 81.5%, and 79.5%, specificities of 72.5%, 75.8%, and 86.3%, and areas under the ROC curve (AUCs) of 0.82, 0.81, and 0.88. The combined measurement showed significantly higher specificity and AUC than single measurement ($P<0.05$). **Conclusions** Children with NEC have significant increases in I-FABP and FC levels, and there is a correlation between them. Combined measurement of I-FABP and FC can increase the specificity of the diagnosis of NEC. **[Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(11): 1080-1083]**

Key words: Intestinal fatty acid-binding protein; Fecal calprotectin; Necrotizing enterocolitis; Neonate

［收稿日期］2016-05-04；［接受日期］2016-06-23
［基金项目］云南省应用基础研究计划面上项目（项目编号：2012FB204）。
［作者简介］田云粉，女，硕士，主治医师。
［通信作者］李利，女，主任医师。

新生儿坏死性小肠结肠炎（necrotizing enterocolitis, NEC）是临床上常见的一类新生儿消化系统疾病，好发于早产儿。NEC 主要表现为腹胀、呕吐、便血和腹部 X 线平片部分肠壁囊样积气等，其病理学特征为肠黏膜甚至肠深层组织的坏死[1]。目前，NEC 确切发病机制并未完全阐明，可能与患儿肠粘膜血液供应减少、缺血缺氧及喂养不当或细菌感染有关[2]。NEC 早期症状多不典型，容易漏诊或误诊，患儿死亡率较高。因此，探寻 NEC 诊断及病情评估的生物标志物是研究热点。既往文献报道肠型脂肪酸结合蛋白（intestinal fatty acid binding protein, I-FABP）和粪钙卫蛋白（fecal calprotectin, FC）在早产新生儿 NEC 早期往往升高，可作为 NEC 诊断的标志物[3-4]。但 I-FABP 与 FC 水平在足月新生儿 NEC 中的研究较少。目前国内外也未见有关 FC 与 I-FABP 联合检查对足月新生儿 NEC 的诊断价值的报道。因此，本研究选择足月新生儿 NEC 为研究对象，探讨 I-FABP 联合 FC 检测在足月新生儿 NEC 诊断中的应用价值，以期为临床工作提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择 2012 年 2 月至 2015 年 11 月本院收治的足月新生儿 NEC 36 例（病例组）为研究对象。

纳入标准：（1）符合 NEC 诊断标准[5]（①肠道症状和体征：胃残奶增加；中腹部膨胀呕吐咖啡样物；粪便带血、黑边或大便潜血阳性；肠鸣音消失；腹部可有压痛。②全身症状和体征：体温不稳定；呼吸暂停或深情萎靡；代谢性酸中毒或血小板减低。③腹部 X 线平片：肠充气或功能性梗阻；肠胀气肠壁囊样积气体；或有腹水）；（2）为足月新生儿；（3）患儿血液等标本的获取经家属签署知情同意书。

排除标准：（1）诊断不明确或可疑 NEC 患儿；（2）非足月新生儿；（3）低或极低出生体重儿；（4）合并其他消化系统疾病患儿（如腹泻、中毒性巨结肠等），合并其他感染性疾病患儿，HIV 及其他传染性疾病患儿。

另选取同期非消化系统疾病、非感染性疾病足月新生儿 39 例作为对照组。

1.2 研究方法

（1）标本留取　两组患儿于明确诊断后抽取头皮或上肢静脉血 2 mL，室温放置 2 h 后置入离心管中 2000 转 /min 离心 10 min，吸取上层血清置于 EP 管中并保存在 –80℃冰箱中待测。大便标本采用无菌一次性粪便收集器收集大便 0.5 g 并保存于 4℃冰箱中待检。

（2）标本检测　应用酶联免疫吸附法对两组血清 I-FBAP、C 反应蛋白（CRP）及大便 CF 进行定量检测，试剂盒购自上海酶联生物研究所和上海天呈医药有限公司。将置于 –80℃的两组血清于 4℃下解冻后，根据试剂盒操作说明对样品进行处理，在加终止液后 15 min 以内上机检测。选取 450 nm 波长测量各样本的光密度（A 值），以标准物的浓度为纵坐标，A 值为横坐标，绘出标准曲线，根据样品的 A 值由标准曲线查出相应的浓度，再乘以稀释倍数得出各样本中 I-FBAP 和 CRP 浓度。大便 FC 的检查根据试剂盒说明进行

1.3 统计学分析

采用 Stata 8.0 软件进行相关数据分析，计量资料采用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用 Student-*t* 检验，相关性检验采用 Pearson 相关检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料比较

两组患儿的临床基本资料情况详见表 1，病例组与对照组差别无统计学意义（$P>0.05$），组间具有可比性。对照组患儿中原发病为先天性心脏病 14 例，新生儿黄疸 12 例，新生儿窒息 10 例，新生儿气胸 2 例，新生儿膈疝 1 例。病例组患儿中 NEC Ⅰ期 17 例，Ⅱ期 19 例。

表 1　两组临床资料比较　[（$\bar{x}\pm s$）或 n（%）]

组别	例数	男性	胎龄（周）	标本采集时间（d）	出生体重（g）	CRP（mg/L）	WBC（$\times 10^9$/L）	血小板（$\times 10^9$/L）
对照组	39	24(62)	38.2 ± 1.9	5.2 ± 1.4	2933 ± 569	4.0 ± 1.3	8.9 ± 2.6	259 ± 60
病例组	36	22(61)	37.9 ± 2.2	5.3 ± 1.5	2902 ± 607	4.2 ± 1.9	9.2 ± 3.3	256 ± 63
t/χ^2 值		<0.001	0.63	0.64	0.30	0.54	0.44	0.23
P 值		0.97	0.53	0.53	0.77	0.59	0.66	0.82

2.2　两组 I-FABP 及 FC 比较

病例组血清 I-FABP 和大便 FC 分别为 4.3 ± 2.9 ng/mL 和 64 ± 39 ng/mL，明显高于对照组（2.2 ± 0.9 ng/mL，21 ± 17 ng/mL），差别有统计学意义（t 值分别为 4.31 和 6.33，均 P<0.05），见图 1。

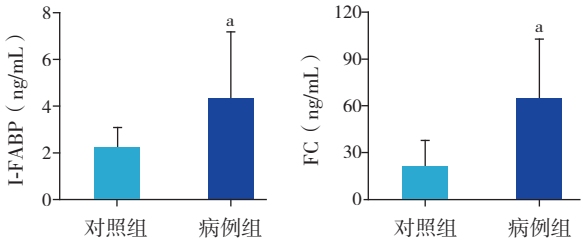

图 1　两组患儿 I-FABP 及 FC 水平比较　a 示与对照组比较，P<0.05。

2.3　病例组 I-FABP 与 FC 相关性

病例组患儿血清 I-FABP 与粪便中 FC 水平呈现正相关（r=0.71，P<0.05），见图 2。

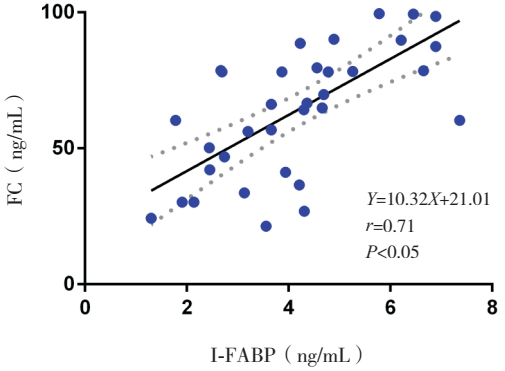

图 2　I-FABP 与 FC 相关性

2.4　I-FABP 与 FC 联合诊断 NEC 的价值

分别以 I-FABP、FC 及两指标联合为参考，诊断 NEC 的敏感性分别为 83.3%，81.5% 和 79.5%；特异性分别为 72.5%，75.8 和 86.3%，诊断的 ROC 曲线下面积（AUC）分别为 0.82，0.81 和 0.88。联合检测诊断 NEC 的特异性和 AUC 明显高于单一检测，见图 3。

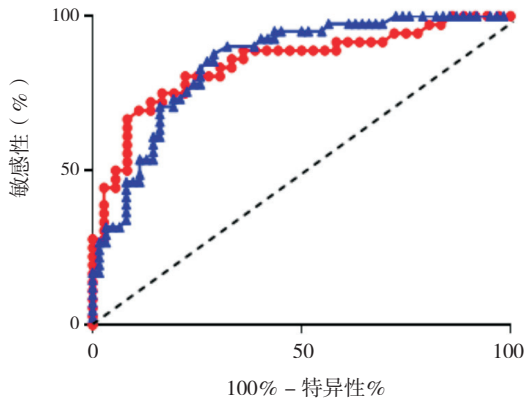

图 3　I-FABP 与 FC 联合诊断 NEC 的价值

3　讨论

NEC 为新生儿科常见的消化道疾病之一，患儿病情往往较重，诊治不及时可导致预后不良。目前研究显示其发病可能与新生儿缺氧、感染及喂养不当有关[6-7]。NEC 起病急骤，患儿临床上主要表现为腹胀、肠鸣音减弱、呕吐、腹泻、便血及全身中等毒症状[8]。目前，NEC 的诊断主要依靠临床表现和医师临床经验，但由于 NEC 早期临床症状不典型，容易与其他新生儿常见疾病如肠套叠和急性肠炎等混淆，因而容易发生误诊。近年来文献报道 I-FABP 和 FC 在早产 NEC 患儿显著升高，可作为判断 NEC 发生的标志物[9-12]。同时

本课题组前期研究结果显示，足月 NEC 患儿血清 I-FABP 水平在 NCE 早期（Ⅰ期）已明显升高，且 I-FABP 升高水平与患儿病情的严重程度存在相关性，Ⅱ～Ⅲ期组显著高于Ⅰ期患儿；以 I-FABP 判断 NEC 的敏感性为 80.49%，特异性为 70.19%[4]。

FC 是从中性粒细胞中分离鉴定的一类组织细胞特异性表达的蛋白，因其能够与钙离子结合而得名 [13]。FC 能够反映体内白细胞的活化状态，体现机体炎症水平。文献报道，FC 在大便中的表达水平是外周血中的 6 倍，因而检测粪便中 FC 的水平能够较为准确的反映肠道的炎症水平 [14]。文献报道，NEC 患儿粪便中 FC 的水平明显升高，可作为诊断 NEC 的标志物 [3,14]。李红新等 [3] 报道，在极低出生体重 NEC 患儿中，粪便中 FC 水平在疾病早期即明显升高，可作为诊断极低出生体重患儿 NEC 的生物标记物。但因围产期缺氧可导致 FC 的增高 [15]，而缺氧也是 NEC 的高危因素，两者可能造成混杂，因此单独检测 FC 组作为 NEC 的诊断指标可能存在一定的局限性。

I-FABP 和 FC 在足月新生儿 NEC 中均明显升高，但两种指标联合检查对 NEC 的诊断价值如何，目前国内外未见报道。本研究发现，NEC 患儿血清 I-FABP 和大便 FC 显著高于对照组，且患儿血清 I-FABP 与粪便中 FC 水平呈现正相关。提示 I-FABP 与 FC 在判断 NEC 方面一致性较好。同时本研究发现，以 I-FABP、FC 及两指标联合为参考，诊断 NEC 的敏感性分别为 83.3%，81.5% 和 79.5%；特异性分别为 72.5%, 75.8 和 86.3%, AUC 分别为 0.82，0.81 和 0.88，显示联合检测诊断 NEC 的特异性和 AUC 明显高于单一检测，但联合检查的敏感性有所降低。提示 I-FABP 与 FC 联合检测可提高诊断 NEC 的特异性。

但本研究纳入患儿均来自单一医疗单位，可能存在选择性偏倚，同时纳入患儿例数相对较少，可能无法代表所有 NEC 患儿的 I-FABP 及 FC 水平及临床特征。另外，本临床试验研究未采用盲法。上述研究局限性可能对研究结论产生一定的影响，导致研究结果的稳定性有待大样本多中心前瞻性临床研究进一步证实。

[参 考 文 献]

[1] Choi YY. Necrotizing enterocolitis in newborns: update in pathophysiology and newly emerging therapeutic strategies[J]. Korean J Pediatr, 2014, 57(12): 505-513.

[2] Kim JH. Necrotizing enterocolitis: the road to zero[J]. Semin Fetal Neonatal Med, 2014, 19(1): 39-44.

[3] 李红新 , 侯德红 , 屠文娟 , 等 . 粪便钙卫蛋白水平检测在极低出生体质量儿坏死性小肠结肠炎中的意义 [J]. 中华妇幼临床医学杂志 (电子版), 2015, 11(3): 356-360.

[4] 皇甫春荣 , 李平 , 田云粉 . 肠型脂肪酸结合蛋白检测在足月新生儿坏死性小肠炎中的临床意义 [J]. 中国当代儿科杂志 , 2014, 16(11): 1125-1128.

[5] Walsh MC, Kliegman RM, Fanaroff AA. Necrotizing enterocolitis: a practitioner's perspective[J]. Pediatr Rev, 1988, 9(7): 219-226.

[6] Sherman MP, Miller MM, Sherman J, et al. Lactoferrin and necrotizing enterocolitis[J]. Curr Opin Pediatr, 2014, 26(2): 146-150.

[7] Chen AC, Chung MY, Chang JH, et al. Pathogenesis implication for necrotizing enterocolitis prevention in preterm very-low-birth-weight infants[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2014, 58(1): 7-11.

[8] Elgin TG, Kern SL, McElroy SJ. Development of the Neonatal Intestinal Microbiome and Its Association With Necrotizing Enterocolitis[J]. Clin Ther, 2016, 38(4): 706-715.

[9] Gonçalves FL, Soares LM, Figueira RL, et al. Evaluation of the expression of I-FABP and L-FABP in a necrotizing enterocolitis model after the use of Lactobacillus acidophilus[J]. J Pediatr Surg, 2015, 50(4): 543-549.

[10] Mitidiero LF, Simões AL, Gonçalves FL, et al. L-FABP and I-FABP expression in newborn rats changes inversely in the model of necrotizing enterocolitis[J]. Acta Cir Bras, 2014, 29 (Suppl 2): 43-49.

[11] Aydemir O, Aydemir C, Sarikabadayi YU, et al. Fecal calprotectin levels are increased in infants with necrotizing enterocolitis[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2012, 25(11): 2237-2241.

[12] Selimoğlu MA, Temel I, Yıldırım Ç, et al. The role of fecal calprotectin and lactoferrin in the diagnosis of necrotizing enterocolitis[J]. Pediatr Crit Care Med, 2012, 13(4): 452-454.

[13] Ng EW, Poon TC, Lam HS, et al. Gut-associated biomarkers L-FABP, I-FABP, and TFF3 and LIT score for diagnosis of surgical necrotizing enterocolitis in preterm infants[J]. Ann Surg, 2013, 258(6): 1111-1118.

[14] Reisinger KW, Van der Zee DC, Brouwers HA, et al. Noninvasive measurement of fecal calprotectin and serum amyloid A combined with intestinal fatty acid-binding protein in necrotizing enterocolitis[J]. J Pediatr Surg, 2012, 47(9): 1640-1645.

[15] Bin-Nun A, Booms C, Sabag N, et al. Rapid fecal calprotectin (FC) analysis: point of care testing for diagnosing early necrotizing enterocolitis[J]. Am J Perinatol, 2015, 32(4): 337-342.

（本文编辑：王庆红）