

Original Article

Survey of Fecal calprotectin in necrotizing enterocolitis

Manizheh Mostafa Gharebaghi¹, Mandana Rafeey^{2*}, Maryam Shoaran², Amirtaher Eftekhari Sadat², Elham Donyadideh², Shirin Khatib Shahidi²

¹Woman's Reproductive Health Research Center, Department of Children, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Liver and Gastrointestinal Diseases Research Center, Department of Children, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

*Corresponding author; E-mail: mrafeey@yahoo.com

Received: 8 June 2016 Accepted: 17 August 2016 First Published online: 29 April 2018

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 June-July; 40(2):79-86

Abstract

Background: Necrotizing enterocolitis is the most common emergency of the gastrointestinal tract in the newborn period and leading to mortality and morbidity in preterm newborns. Because there is no specific test for diagnosis of necrotizing enterocolitis, now only clinical and radiological findings are using for diagnose. With finding a reliable biomarker for earlier diagnosis of necrotizing enterocolitis, mortality and morbidity will be decreased. The aim of this study is evaluation of diagnostic value of fecal calprotectin level in necrotizing enterocolitis.

Methods: In a case-control study, 20 preterm newborn with necrotizing enterocolitis and 20 preterm newborn without necrotizing enterocolitis for 14 months were investigated. Level of fecal calprotectin was checked by ELISA method in both groups and the data's were compared.

Results: Findings of statistical analysis of level of fecal calprotectin between two groups show significant differences. ($p < 0.001$). According of ROC curve, Level of fecal calprotectin more than 32.5 mg/gr for diagnosis of necrotizing enterocolitis has 80% sensitivity, 90% specificity, 89% positive predictive value and 82% negative predictive value.

Conclusion: Fecal calprotectin can be used as a reliable biomarker for diagnosis of NEC.

Keywords: Newborn, Preterm, Necrotizing Enterocolitis, Calprotectin

How to cite this article: Mostafa Gharebaghi M1, Rafeey M2*, Shoaran M 2, Eftekhari Sadat M2, Donyadideh M2, Khatib Shahidi S2.[Survey of Fecal calprotectin in necrotizing enterocolitis]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 June-July;40(2):79-86. Persian.

مقاله پژوهشی

بررسی کالپروتکتین مدفوع در انتروکولیت نکروزان

منیژه مصطفی قره باغی^۱، ماندانا رفیعی^{۲*}، مریم شعاران^۲، الهام دنیادیده^۲، امیرطاهر افتخارسادات^۲، شیرین خطیب شهیدی^۲

^۱مرکز تحقیقات سلامت باروری زنان، دانشکده پزشکی، گروه بیماریهای کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲مرکز تحقیقات گوارش و بیماری های کبد، دانشکده پزشکی، گروه بیماریهای کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول: ایمیل: mrafeey@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۳/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۲۷ انتشار برخط: ۱۳۹۷/۲/۹
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز، خرداد و تیر ۱۳۹۷؛ ۴۰(۲):۷۹-۸۶

چکیده

زمینه: انتروکولیت نکروزان (Necrotizing Enterocolitis, NEC) شایع ترین اورژانس دستگاه گوارش در دوران نوزادی است و منجر به مورتالیتی و موربیدیتی نوزادان پره میچور می شود. از آنجائیکه تست اختصاصی برای تشخیص NEC وجود ندارد، تنها از علایم بالینی و یافته های رادیولوژیکی استفاده می شود. در صورت یافتن یک بیومارکر قابل اعتماد برای تشخیص NEC میتوان مورتالیتی و موربیدیتی بیماری را کم کرد. هدف از این مطالعه بررسی ارزش تشخیصی کالپروتکتین مدفوع (Fecal Calprotectin, FC) در انتروکولیت نکروزان می باشد.

روش کار: در یک مطالعه مورد - شاهده، ۲۰ نوزاد مبتلا به انتروکولیت نکروزان و ۲۰ نوزاد سالم، طی مدت ۱۴ ماه بررسی شدند. سطح کالپروتکتین در هر دو گروه به روش الیزا اندازه گیری شد و مقادیر ثبت شده بین دو گروه مقایسه گردید.

یافته ها: نتایج بررسی آماری سطح کالپروتکتین مدفوع، در گروه موردشاهد، تفاوت معنی دار آماری در این دو گروه نشان داد ($p < 0.001$). بر اساس منحنی ROC سطح FC بالای ۳۲/۵ میکروگرم در گرم مدفوع، برای تشخیص NEC دارای حساسیت ۸۰٪ و ویژگی ۹۰٪ محاسبه شد. همچنین ارزش اخباری مثبت ۸۹٪ و ارزش اخباری منفی ۸۲٪ گزارش گردید.

نتیجه گیری: بر اساس یافته های مطالعه، می توان از کالپروتکتین مدفوع به عنوان یک بیومارکر قابل اطمینان در تشخیص NEC بهره برد.

کلید واژه ها: نوزاد، پره ترم، انتروکولیت نکروزان، کالپروتکتین

نحوه استناد به این مقاله: قره باغی م، رفیعی م، شعاران م، دنیادیده ا، افتخارسادات ا ط، خطیب شهیدی ش. بررسی کالپروتکتین مدفوع در انتروکولیت نکروزان. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۷؛ ۴۰(۲):۷۹-۸۶

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

انتروکولیت نکروزان (NEC) شایع ترین اورژانس دستگاه گوارش در دوران نوزادی است. این بیماری با درجات متفاوتی از نکروز مخاطی یا کل دیواره روده مشخص می شود و منجر به مورتالیتی و مورییدیتی نوزادان پره منچور بخصوص زیر ۳۲ هفته و زیر ۱۵۰۰ گرم می شود (۱). اگر چه پاتوفیزیولوژی دقیق NEC مشخص نیست، اما به نظر میرسد پره ماچوریتی و عدم بلوغ روده، تغذیه با فرمولا و عوامل باکتریال موجب پاسخ التهابی در دیواره روده می شود و به دنبال التهاب، سد اپیتلیال روده دچار آسیب می شود. NEC احتمالاً در نتیجه تعامل میان آسیب مخاطی و پاسخ میزبان به این آسیب که منجر به نکروز ناحیه درگیر می شود، بروز می کند. آسیب مخاطی موجب نکروز و در صورت پیشرفت منجر به پارگی روده، پریتونیت، سپسیس و مرگ می شود (۲). طیف علایم بیماری وسیع است و از بیماری خفیف بدون علایم اختصاصی تا بیماری شدید با پارگی روده و حتی مرگ، متغیر می باشد. اولین نشانه های شروع بیماری، غیر اختصاصی هستند که موجب افتراق سخت NEC از سپسیس و سایر بیماریهای گوارشی می گردد. از آنجائیکه تست اختصاصی برای تشخیص NEC وجود ندارد، تنها از علایم بالینی و یافته های رادیولوژیکی استفاده می شود. رادیوگرافی ساده شکم برای تشخیص ضروری است. وجود پنوماتوز روده جنبه تشخیصی دارد و وجود هوا در ورید پورت و پنموپریتون نشان وخامت بیماری می باشد.

در حال حاضر تمام یافته های آزمایشگاهی برای NEC غیر اختصاصی است و هیچ بیومارکر قابل اعتمادی برای تشخیص NEC وجود ندارد و اکثر بیومارکهای بررسی شده توانایی افتراق NEC را از سایر بیماریها ندارند.

درمان اختصاصی برای NEC وجود ندارد موارد خفیف با اقدامات حمایتی درمان می شود و موارد شدید (۳۰-۵۰٪) نیاز به جراحی خواهند داشت که هنوز زمان دقیق مداخله جراحی مورد بحث است. درمان دارویی در ۲۰ تا ۴۰ درصد بیماران با شکست مواجهه می شود و از این تعداد ۱۰ الی ۳۰ درصد فوت می کنند (۴). با تمام این اوصاف در صورت یافتن یک بیومارکر قابل اعتماد برای تشخیص NEC میتوان مورتالیتی و مورییدیتی بیماری را کم کرد و همچنین از مداخلات غیر ضروری در نوزادان بدون ابتلا به NEC کاست و در مبتلایان به NEC در زمان مناسب اقدام به مداخله جراحی کرد و همچنین شدت بیماری و حتی روند پاسخ به درمان را پیش کرد (۵).

کالپروتکتین یک پروتئین متصل شونده به کلسیم و روی با وزن مولکولی ۳۶ کیلو دالتون است، که ۶۰٪ پروتئین را در سیتوزول نوتروفیل را شامل می شود. همچنین در منوسیت ها، ماکروفاژها و سلول های اپیتلیال وجود دارد و به علت ساختار پایدار خود در برابر تخریب مقاوم است. بررسی های *in vitro* نشان داده است که کالپروتکتین رشد انواع میکروارگانیسم ها را با القاء آپوپتیزیس مهار می کند و همچنین پروسه های التهابی را تنظیم میکند. مقدار FC به علت مهاجرت نوتروفیل ها به دیواره آسیب دیده روده ها در NEC افزایش می یابد و مقدار آن نسبت مستقیم با شدت التهاب دارد. سطح FC در نوزادان سالم نسبت به کودکان بزرگتر و بالغین حدود ۵ برابر بیشتر است. FC تحت تأثیر سن حاملگی، نوع رژیم غذایی، وزن تولد، آپگار تولد و سن نوزاد نمی باشد (۶). از آنجائیکه تقریباً نیمی از بیماران مبتلا به NEC پیشرفته ممکن است توانایی تولید مدفوع را نداشته باشند، جمع آوری نمونه مدفوع و اندازه گیری FC با یک محدودیت روبه رو است (۷).

روش کار

این مطالعه مورد _شاهدی در بخش NICU بیمارستان کودکان تبریز و بیمارستان الزهرا به مدت ۱۴ ماه (فروردین ۱۳۹۴ لغایت اردیبهشت ۱۳۹۵) انجام شده است. کلیه نوزادان که از نظر بالینی و رادیولوژیک مشکوک به NEC بودند، وارد مطالعه شدند. نوزادان مبتلا به آنومالی های دستگاه گوارشی، سن بالای ۶ هفته از تولد و سن حاملگی بالای ۳۷ هفته از مطالعه خارج شدند. طی ۱۴ ماه، ۱۴۵۰ نوزاد پره ترم در بخش NICU بیمارستان الزهرا و بیمارستان کودکان تبریز بستری شدند. در نوزادانی که طی بستری علائم NEC را مثل دیستانسیون شکمی، استفراغ، عدم تحمل شیر و علایم رادیولوژیک شامل اتساع لوپ های روده، ضخامت جدار روده و پنوماتوز جدار روده داشتند، نمونه مدفوع جهت بررسی سطح کالپروتکتین ارسال شد و این نوزادان با توجه به بررسی های انجام گرفته و سیر کلینیکی از نظر تایید یا رد انتروکولیت نکروزان پیگیری شدند (۲). استاندارد طلایی تشخیص وجود هوا در جدار روده بود. برای گروه شاهد نمونه مدفوع از نوزادان پره ترم سالم بستری با وزن و سن (سن حاملگی و سن بعد از تولد) متناسب با گروه مورد ارسال شد. نمونه مدفوع بلافاصله به آزمایشگاه ارسال و جواب آن پیگیری گردید. ۵ گرم مدفوع از هر نمونه جدا شد و پس از مخلوط کردن در roller shaker به مدت ۲۰ دقیقه، در ۳۰۰۰ rpm ۵ دقیقه

سانتریفیوژ شد، پس لایه فوقانی نمونه سانتریفیوژ شده، میکرو سانتریفیوژ و در دمای ۲۰-درجه سانتیگراد نگهداری شد. سپس آزمایش الیزا با کیت کالپروتکتین ساخت سوئیس و کارخانه Buhlmann بررسی گردید. داده های بدست آمده از مطالعه بوسیله روش های آماری توصیفی (میانگین $\pm$ انحراف معیار و فراوانی - درصد) و برای مقایسه داده های کمی از آزمون Mann-Whitney Test و برای مقایسه داده های کیفی از آزمون Chi-Square و آزمون دقیق فشر و برای تعیین حساسیت و ویژگی از نمودار ROC استفاده شد. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۲۰ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در این مطالعه مقدار P-Value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار تلقی شد. پارامترهای مورد بررسی در دو گروه مقایسه و ارتباط سطح کالپروتکتین با NEC تعیین شد.

یافته ها

طبق بررسی آماری جمعا ۴۵ نوزاد را بررسی کردیم که تعداد گروه مورد ۲۵ نمونه مد نظر قرار داده شد، ولی با توجه به اینکه در ۴ بیمار مبتلا به NEC پیشرفته، بیمار دفع مدفوع نداشت و در یک مورد قبل از جمع آوری نمونه، بیمار فوت شد، کلا ۵ مورد از مطالعه خارج شد و ۲۰ بیمار با NEC ثابت شده یا پیشرفته به عنوان گروه مورد و تعداد ۲۰ نوزاد پره ترم سالم متناسب با وزن، سن بارداری و سن در روز نمونه گیری گروه مورد بعنوان گروه شاهد وارد مطالعه شدند. در گروه مورد ۵۵٪ نوزادان دختر و ۴۵٪ نوزادان پسر بودند و در گروه شاهد ۵۰٪ نوزادان دختر و ۵۰٪ نوزادان پسر بودند. در بررسی علایم بالینی NEC، در گروه مورد، دیستانسیون شکم در ۹۵ درصد بیماران، عدم تحمل شیر در ۳۵ درصد، مدفوع خونی در ۱۵ درصد، استفراغ در ۲۵ درصد و کاهش رفلکس های نوزادی در ۱۰ درصد بیماران وجود داشت و در بررسی آماری مابین این علایم بالینی و افزایش سطح FC در گروه مورد، تنها کاهش رفلکس های نوزادی تفاوت معنی داری نشان داد ($P=0/02$) (جدول ۳). شمارش پلاکت به دو گروه زیر ۱۵۰۰۰ و بالای ۱۵۰۰۰ تقسیم بندی شد. در بررسی آماری شمارش پلاکت

در گروه شاهد و مورد تفاوت معنی داری نشان نداد ($p=0/74$) (جدول ۲). همچنین ما بین شمارش پلاکت و افزایش سطح کالپروتکتین تفاوت معنی داری پیدا نشد ($p=0/37$) (جدول ۳). شمارش WBC به سه گروه زیر ۵۰۰۰، مابین ۵۰۰۰-۱۵۰۰۰ و بالای ۱۵۰۰۰ تقسیم بندی شد. در بررسی آماری لکونی (WBC زیر ۵۰۰۰) در گروه شاهد و مورد تفاوت معنی داری نشان داد ($p=0/003$) (جدول ۲). اما مابین افزایش یا کاهش شمارش WBC و افزایش سطح کالپروتکتین در هیچ کدام از گروه ها تفاوت معنی داری پیدا نشد ($p=0/54$) (جدول ۳). CRP به دو گروه منفی و مثبت تقسیم بندی شد. در بررسی آماری مثبت بودن CRP در گروه شاهد و مورد تفاوت معنی داری نشان داد ($p=0/003$) (جدول ۲). همچنین در بررسی آماری مابین مثبت بودن CRP و افزایش سطح کالپروتکتین تفاوت معنی داری پیدا شد ($p=0/04$) (جدول ۳).

سرانجام بیماری به سه گروه ترخیص پس از دارو درمانی، ترخیص پس از جراحی و فوت تقسیم بندی شد. ۷۰ درصد بیماران تحت دارو درمانی قرار گرفتند و ۱۵ درصد بیماران در نهایت نیاز به جراحی پیدا کردند و ۱۵ درصد بیماران فوت نمودند. در بررسی آماری در گروه مورد، مابین سرانجام بیماری و افزایش سطح FC رابطه معنی داری جود نداشت ($p=1/00$) (جدول ۳).

متوسط سطح کالپروتکتین مدفوع، در گروه مورد $373/74 \pm 277/34$ ($8-674$) میکروگرم در گرم مدفوع و در گروه شاهد $40/81 \pm 66/04$ ($10-264/5$) میکروگرم در گرم مدفوع بود. نتایج بررسی آماری تفاوت معنی دار آماری در این دو گروه نشان داد ($p<0/001$) (جدول ۲).

منحنی ROC برای تعیین حساسیت و ویژگی و ارزش اخباری منفی و مثبت برای FC در گروه مورد و شاهد رسم شد که براین اساس، سطح زیر منحنی $0/835$ بود و سطح FC بالای $32/5$ میکروگرم در هر گرم مدفوع، برای تشخیص NEC دارای حساسیت 80% و ویژگی 90% محاسبه شد. همچنین ارزش اخباری مثبت 89% و ارزش اخباری منفی 82% محاسبه شد.

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک نوزادان مورد مطالعه در دو گروه

متغیر	مورد	شاهد	p-value*
وزن تولد (گرم)	$1309/0 \pm 624/72$	$1575/50 \pm 490/90$	۰/۱۲
سن حاملگی (هفته)	$30/15 \pm 3/77$	$30/95 \pm 2/21$	۰/۲۴
سن نمونه برداری (روز)	$14/60 \pm 11/79$	$11/25 \pm 7/44$	۰/۹۵
کالپروتکتین (میکروگرم در گرم مدفوع)	$373/74 \pm 277/34$	$40/81 \pm 66/04$	<۰/۰۰۱

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک نوزادان مورد مطالعه در دو گروه

متغیر	مورد	شاهد	p-value*
وزن تولد (گرم)	۱۳۰۹/۰۰±۶۲۴/۷۲	۱۵۷۵/۵۰±۴۹۰/۹۰	۰/۱۲
سن حمامگی (هفته)	۳۰/۱۵±۳/۷۷	۳۰/۹۵±۲/۲۱	۰/۲۴
سن نمونه برداری (روز)	۱۴/۶۰±۱۱/۷۹	۱۱/۲۵±۷/۴۴	۰/۹۵
کالپروتکتین (میکروگرم در گرم مدفوع)	۳۷۳/۷۴±۲۷۷/۳۴	۴۰/۸۱±۶۶/۰۴	<۰/۰۰۱

* Mann-Whitney Test

جدول ۲: مقایسه متغیرها در گروه مورد و شاهد

P-value	گروه			
	شاهد	مورد		
<۰/۰۰۱***	۱۸(٪۹۰)	۴(٪۲۰)	<۵۰	سطح کالپروتکتین
	۰(٪۰)	۳(٪۱۵)	۵۰-۱۰۰	
	۲(٪۱۰)	۱۳(٪۶۵)	>۱۰۰	
۰/۰۰۳***	۰(٪۰)	۸(٪۴۰)	<۵۰۰۰	WBC
	۱۵(٪۷۵)	۷(٪۳۵)	۵۰۰۰-۱۵۰۰۰	
	۵(٪۲۵)	۵(٪۲۵)	۱۵۰۰۰<	
۰/۷۴*	۷(٪۳۵)	۸(٪۴۰)	<۱۵۰۰۰۰	شمارش پلاکت
	۱۳(٪۶۵)	۱۲(٪۶۰)	>۱۵۰۰۰۰	
	۱۷(٪۸۵)	۷(٪۳۵)	-	
۰/۰۰۳***	۳(٪۱۵)	۱۳(٪۶۵)	+	CRP

*Chi-Square Tests

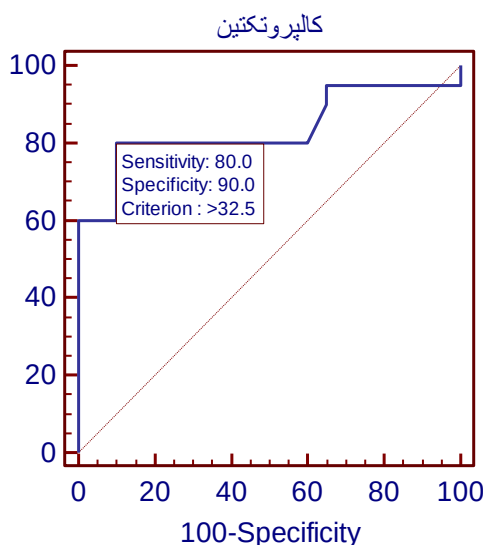
** Chi-Square Tests by method Monte Carlo

*** Fisher's Exact Test

جدول ۳: بررسی ارتباط متغیرها با سطح کالپروتکتین مدفوع

P-value*	سطح کالپروتکتین			
	۱۰۰<	۵۰-۱۰۰	<۵۰	
۰/۵۴	۵(٪۳۳/۳)	۰(٪۰/۰)	۳(٪۱۳/۶)	WBC
	۶(٪۴۰/۰)	۲(٪۶۶/۷)	۱۴(٪۶۳/۶)	
	۴(٪۲۶/۷)	۱(٪۳۳/۳)	۵(٪۲۲/۷)	
۰/۳۷	۸(٪۴۶/۷)	۰(٪۰/۰)	۸(٪۳۴/۴)	شمارش پلاکت
	۸(٪۵۳/۳)	۳(٪۱۰۰)	۱۴(٪۶۳/۶)	
	۶(٪۴۰/۰)	۱(٪۳۳/۳)	۱۷(٪۷۷/۳)	
۰/۰۴	۹(٪۶۰/۰)	۲(٪۶۶/۷)	۵(٪۲۲/۷)	CRP
	۱(٪۷/۷)	۰(٪۰/۰)	۰(٪۰/۰)	
	۱۲(٪۹۲/۳)	۳(٪۱۰۰)	۴(٪۱۰۰)	
۰/۵۲	۸(٪۶۱/۵)	۳(٪۱۰۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	عدم تحمل شیر
	۵(٪۳۸/۵)	۰(٪۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	
	۱۲(٪۹۲/۳)	۳(٪۱۰۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	
۰/۱۴	۱(٪۷/۷)	۰(٪۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	مدفوع خونی
	۱۰(٪۷۶/۹)	۳(٪۱۰۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	
	۳(٪۲۳/۱)	۰(٪۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	
۰/۳۶	۳۱(٪۱۰۰/۰)	۱(٪۳۳/۳)	۴(٪۱۰۰/۰)	استفراغ
	۰(٪۰/۰)	۲(٪۶۶/۷)	۰(٪۰/۰)	
	۲(٪۱۵/۴)	۱(٪۳۳/۳)	۰(٪۰/۰)	
۰/۰۲	۹(٪۶۹/۲)	۲(٪۶۶/۷)	۳(٪۷۵/۰)	کاهش رفلکس نوزادی
	۲(٪۱۵/۴)	۰(٪۰/۰)	۱(٪۲۵/۰)	
	۲(٪۱۵/۴)	۰(٪۰/۰)	۱(٪۲۵/۰)	
۱/۰۰	۹(٪۶۹/۲)	۲(٪۶۶/۷)	۳(٪۷۵/۰)	سرانجام
	۲(٪۱۵/۴)	۰(٪۰/۰)	۱(٪۲۵/۰)	
	۲(٪۱۵/۴)	۰(٪۰/۰)	۱(٪۲۵/۰)	

* Chi-Square Tests by method Monte Carlo



منحنی ROC برای سطح FC در دو گروه شاهد و مورد

بحث

در این مطالعه سطح FC در نوزادان مبتلا به NEC با نوزادان سالم همسان (از لحاظ سن حاملگی، سن نمونه برداری و وزن) مقایسه شد. بر این اساس سطح FC به طور معنی دار در مبتلایان NEC بالاتر بود. نقطه برش ۳۲/۵ میکروگرم در هر گرم مدفوع، تعیین شد و این سطح از FC در تشخیص NEC دارای ۸۰ درصد حساسیت و ۹۰ درصد ویژگی و ۸۹٪ ارزش اخباری مثبت و ۸۲٪ ارزش اخباری منفی می باشد. برای بررسی ارزش پیش گویی کننده سطح FC با شدت بیماری NEC، رابطه علایم آزمایشگاهی (CRP, WBC, Plt)، علایم بالینی (دیستانسیون شکم، عدم تحمل شیر، استفراغ، مدفوع خونی، کاهش رفلکس های نوزادی) و سرانجام بیماری (دارو درمانی، جراحی، فوت) با سطح FC بررسی شد که از بین موارد ذکر شده، CRP مثبت و کاهش رفلکس های نوزادی با افزایش سطح FC ارتباط معنی دار آماری داشت و می توان گفت کالپروتکتین علاوه بر تشخیص بیماری NEC در بررسی شدت بیماری هم کمک کننده خواهد بود، بطوریکه نوزادان مبتلا به NEC که کاهش رفلکس های نوزادی داشتند، دارای سطح FC بالاتری بودند. همچنین کاهش شمارش WBC (لکوپنی) و مثبت بودن CRP، در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی داری نشان داد. در مطالعه Clinical Review که توسط Niemarkt همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام گرفته، ذکر شده که FC یک بیومارکر اختصاصی بیماری های التهابی روده است و در نوزادان مبتلا به NEC افزایش می یابد (۳). در مطالعه ای که توسط Albanna و همکاران در دپارتمان اطفال دانشگاه Zagazig مصر در سال ۲۰۱۴ انجام دادند، با مقایسه سطح کالپروتکتین مدفوع در ۱۵ نوزاد

مبتلا به NEC با ۲۰ نوزاد سالم بستری در NICU، بیان کردند که اندازه گیری سطح کالپروتکتین مدفوع یک معیار با ارزش تشخیصی در NEC می باشد و در مبتلایان به موارد پیشرفته بیماری و موارد منجر به مرگ، مقدار FC بالاتر بود (۴). در مطالعه ما نیز سطح کالپروتکتین مدفوع در مبتلایان به NEC نسبت به نوزادان سالم به طور معنی داری بالاتر بود. Aydemir و همکاران در دپارتمان نوزادان دانشگاه آنکارای ترکیه در سال ۲۰۱۲ با مقایسه سطح کالپروتکتین مدفوع در ۲۵ نوزاد مبتلا به NEC با ۲۵ نوزاد سالم بستری در NICU بیان کردند که سطح کالپروتکتین مدفوع یک معیار آزمایشگاهی مناسب جهت ارزیابی ریسک خطر ابتلا نوزادان با NEC می باشد و سطح کالپروتکتین مدفوع میکروگرم در هر گرم مدفوع، دارای حساسیت ۷۶٪ و ویژگی ۹۲٪ برای تشخیص NEC در این نوزادان می باشد (۵). در مطالعه ما FC در تشخیص NEC دارای حساسیت ۸۰٪ و ویژگی ۹۰٪ و ارزش اخباری مثبت ۸۹٪ و ارزش اخباری منفی ۸۲٪ می باشد. Reisinger و همکارانش در دانشگاه ماستریخت هلند در سال ۲۰۱۲ در ۲۹ نوزاد پره ترم مبتلا به NEC، بیومارکرهای متعددی اندازه گیری و بررسی کردند و نشان دادند که استفاده ترکیبی از این بیومارکرها در تشخیص NEC حساسیت و ویژگی بالاتری داشت (۶). در مطالعه ای که توسط Thuijls و همکاران در دپارتمان اطفال دانشگاه Maastricht هلند در سال ۲۰۱۰ انجام دادند، با مقایسه در ۱۴ نوزاد مبتلا به NEC با ۲۱ نوزاد سالم بیان کردند که سطح کالپروتکتین مدفوع در نوزادان مبتلا به NEC بصورت معنی داری بالاتر بود. سطح کالپروتکتین مدفوع با نقطه

افزایش سطح FC، لکوپنی و مثبت بودن CRP، به طور معنی داری در مبتلایان NEC و نوزادان سالم متفاوت بود. بنابراین می توان از سطح FC، شمارش WBC و CRP، به عنوان معیاری از وقوع NEC استفاده کرد و نیز می توان از کالپروتکتین مدفوع در بررسی شدت بیماری هم بهره برد، بطوریکه در نوزادان مبتلا به NEC که CRP مثبت و یا کاهش رفلکس های نوزادی داشتند، دارای سطح FC بالاتری بودند. در صورت انجام مطالعه با تعداد بیماران بیشتر و اندازه گیری FC به طور سریال در بیماران و بررسی روند تغییر آن با شدت بیماری و پاسخ به درمان می توان به نتایج بیشتر و دقیقتر دست یافت.

قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم میدانند از کادر آزمایشگاه و پرستاری بیمارستان الزهرا و کودکان قدردانی لازم را به عمل آورند.

ملاحظات اخلاقی

پروتکل این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی و پایان نامه رزیدنتی سرکار خانم دکتر دنیا دیده در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز در تاریخ ۹۳/۹/۱۷ به تایید رسیده است.

حمایت مالی

از طرف مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز حمایت مالی در قالب طرح تحقیقاتی و پایان نامه رزیدنتی صورت پذیرفته است.

هیچ منافع متقابلی از تالیف یا انتشار مقاله وجود ندارد.

مشارکت مولفان

طراحی اولیه و نوشتن پروپوزال: منیژه مصطفی قره باغی، ماندانا رفیعی، مریم شعاران. جمع اوری اطلاعات و امار: الهام دنیادیده، شیرین خطیب شهیدی، بررسی آزمایشگاهی: امیر طاهر افتخار سادات، تالیف و بررسی نسخه نهایی: منیژه مصطفی قره باغی، ماندانا رفیعی، مریم شعاران، الهام دنیادیده.

برش ۲/۲۸۶ میکروگرم در هر گرم مدفوع، حساسیت و اختصاصیت بالا در تشخیص NEC در نوزادان دارد (۷). در مطالعه ما نقطه برش ۵/۳۲ میکروگرم در هر گرم مدفوع، تعیین شد. تفاوت موجود بین این دو مطالعه را می توان با نوع کیت آزمایشگاهی توجیه کرد. همچنین با افزایش تعداد نمونه های مورد بررسی، نقطه برش دقیق تری به دست خواهد آمد. Yang و همکاران با بررسی سطح کالپروتکتین مدفوع در نوزادان پره ترم و VLBW بیان کردند که سطح کالپروتکتین مدفوع در این کودکان با سن حاملگی و نوع رژیم غذایی ارتباط ندارد و ارتباط معنی داری با حال عمومی نوزادان دارد بطوریکه در نوزادان بد حال بصورت معنی داری بیشتر بود و سطح کالپروتکتین مدفوع بالاتر از ۳۵۰ میکروگرم در هر گرم مدفوع، ارتباط معنی داری با یک آسیب جدی در دستگاه گوارش نوزادان دارد و پس از درمان سطح FC پایین می آید (۸). در مطالعه ما افزایش سطح کالپروتکتین با کاهش رفلکس های نوزاد پریابطة معنی داری نشان داد ولی با سایر موارد از جمله سرانجام بیماری و سایر علایم بالینی (به جز کاهش رفلکس های نوزادی) و یافته های آزمایشگاهی رابطه معنی داری نشان نداد. Josefsson و همکاران در دپارتمان اطفال دانشگاه Umea سوئد در سال ۲۰۰۷، با بررسی سطح کالپروتکتین مدفوع در کودکان پره ترم و VLBW بیان کردند که سطح کالپروتکتین مدفوع بالای ۲۰۰۰ میکروگرم در هر گرم مدفوع، یک عامل پیشگویی کننده NEC می باشد ولی اولین مارکری نمی باشد که در این بیماران افزایش می یابد و بررسی سریال FC در تعیین شدت بیماری و روند پاسخ به درمان، کمک کننده خواهد بود (۹). در یک مطالعه که توسط Daneilcarroll و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام شد، سطح کالپروتکتین مدفوع در ۷ بیماری که علایم بالینی NEC داشتند با ۷ مورد کنترل بررسی و مقایسه شد که تفاوت معنی داری بین این دو گروه وجود داشت (۱۰). در مطالعه مورد - شاهدهی که توسط Jung M و همکاران در سال ۲۰۱۱ در کشور کره انجام شده است، ۴ نوزاد مبتلا به NEC با ۱۲ نوزاد سالم مقایسه شد و FC به طور معناداری در مبتلایان به NEC بالاتر بود (۱۱).

نتیجه گیری

سطح کالپروتکتین مدفوع بالاتر از ۵/۳۲ میکروگرم در هر گرم مدفوع، در تشخیص NEC دارای ۸۰ درصد حساسیت و ۹۰ درصد ویژگی و ۸۹٪ ارزش اخباری مثبت و ۸۲٪ ارزش اخباری منفی می باشد. براساس این مطالعه،

References

1. Arvin Ann, Behraman RE, Kilegman RM. *Nelson Text Book of Pediatrics*. 2016; PP: 1512-1513.
2. Avroy A, fanaroff, Richard J Martin. *Neonatal Perinatal Medicine. Disease of Fetus and Infant*. 2015; PP: 1334-1340.

3. Niemarkt HJ, de Meij TG, van de Velde ME, van der Schee MP, van Goudoever J, B. K. *Necrotizing Enterocolitis: A Clinical Review on Diagnostic Biomarkers and the Role of the Intestinal Microbiota. Inflammatory Bowel Diseases* 2014; **21**(2): 436-444. doi: 10.1097/mib.0000000000000184
4. Albanna EA, Ahmed HS, Awad HA. Stool calprotectin in necrotizing enterocolitis. *J Clin Neonatol* 2014; **3**(1): 16-19. doi: 10.4103/2249-4847.128721
5. Aydemir OI, Aydemir C, Sarikabadayi YU, Emre Canpolat F, Erdevi O, Biyikli Z and et al. (2012). *Fecal calprotectin levels are increased in infants with necrotizing enterocolitis, J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; **25**(11): 2237-2241. doi: 10.3109/14767058.2012.684172
6. Reisinger KW, Kramer BW, Van der Zee DC, Brouwers HA, Buurman WA, van Heurn E, et al. Non-invasive serum amyloid A (SAA) measurement and plasma platelets for accurate prediction of surgical intervention in severe necrotizing enterocolitis (NEC). *PLoS One* 2014; **9**(3): e90834. doi: 10.1371/journal.pone.0090834
7. Thuijls GJ, Derikx JP, van Wijck K, Zimmermann LJ, Degraeuwe PL. Non-invasive markers for early diagnosis and determination of the severity of necrotizing enterocolitis. *Ann Surg* 2010; **251**(6): 1174-1180. doi: 10.1097/sla.0b013e3181d778c4
8. Yang Q1, Smith PB, Goldberg RN, Cotten CM. Dynamic change of fecal calprotectin in very low birth weight infants during the first month of life. *Neonatology* 2008; **94**(4): 267-271. doi: 10.1159/000151645
9. Josefsson S, Bunn SK, Domellöf M. Fecal calprotectin in very low birth weight infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; **44**(4): 407-413. doi: 10.1097/MPG.0b013e3180320643
10. Daniel C, Anthony C, Richard S, Pamela C. *Fecal calprotectin concentrations and diagnosis of necrotizing enterocolitis. Lancet* 2003; 310-311. doi: 10.1016/s0140-6736(03)12333-1
11. Jung M, Ju Yi P, Kyung O. Fecal Calprotectin Concentration in Neonatal Necrotizing Enterocolitis. *Korean J Pediatr* 2014; **57**(8): 351-356. doi: 10.3345/kjp.2014.57.8.351