

## Original Article

### Survey of Fecal calprotectin in necrotizing enterocolitis

Manizheh Mostafa Gharebaghi<sup>1</sup>, Mandana Rafeey<sup>2\*</sup>, Maryam Shoaran<sup>2</sup>, Amirtaheer Eftekhari Sadat<sup>2</sup>, Elham Donyadideh<sup>2</sup>, Shirin Khatib Shahidi<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Liver 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<sup>۱</sup>، ماندانا رفیعی<sup>۲\*</sup>، مریم شعاران<sup>۲</sup>، الهام دنیادیده<sup>۲</sup>، امیرطاهر افتخارسادات<sup>۲</sup>، شیرین خطیب شهیدی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>مرکز تحقیقات سلامت باروری زنان، دانشکده پزشکی، گروه بیماریهای کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران  
<sup>۲</sup>مرکز 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

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 میکروارگانیزم 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 تاثیر 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 تا 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 علائم 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 نکروران پیگیری شدند (۲). استاندارد طلائی 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

انتروکولیت نکروران (NEC) شایع ترین اورژانس دستگاه گوارش در دوران نوزادی است. این بیماری با درجات متفاوتی از نکرروز مخاطی یا کل دیواره روده مشخص می شود و منجر به مورتالیتی و موربیدیتی نوزادان پره منجور 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 نکرروز ناحیه درگیر می شود، بروز می کند. آسیب مخاطی موجب نکرروز 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 بیماری های 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 پنوموپیتوئن نشانه 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 بیومارکرهای 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 موربیدیتی 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).

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 لکوپنی (WBC زیر ۵۰۰۰) در گروه شاهد و مورد تفاوت معنی داری نشان داد ( $p=0/03$ ) (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 ( $p=0/03$ ) (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 وجود نداشت ( $p=1/00$ ) (جدول ۳).

متوسط سطح کالپروتکتین مدفوع، در گروه مورد  $377/34 \pm 373/74$  (۶۷۴-۸) میکروگرم در گرم مدفوع و در گروه شاهد  $40/81 \pm 66/04$  (۲۶۴/۵-۱۰) 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 بر این 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.

سانتریفیوژ شد، پس لایه فوقانی نمونه سانتریفیوژ شده، میکرو سانتریفیوژ و در دمای  $20^\circ\text{C}$  درجه سانتریگراد 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 فیشر 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  $0/05$  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  $55\%$  نوزادان دختر و  $45\%$  نوزادان پسر بودند و در گروه شاهد  $50\%$  نوزادان دختر و  $50\%$  نوزادان پسر بودند. در بررسی علایم بالینی NEC، در گروه مورد، دیستانسیون شکم در  $95\%$  درصد بیماران، عدم تحمل شیر در  $35\%$  درصد، مدفوع خونی در  $15\%$  درصد، استفراغ در  $25\%$  درصد و کاهش رفلکس های نوزادی در  $10\%$  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  $150000$  و بالای  $150000$  تقسیم بندی شد. در بررسی آماری شمارش پلاکت

جدول ۱: مشخصات دموگرافیک نوزادان مورد مطالعه در دو گروه

متغیر	مورد	شاهد	p-value*
وزن تولد (گرم)	$1309/00 \pm 624/72$	$1575/50 \pm 490/90$	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 حاملگی (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
	۰(٪۰)	۳(٪۱۵)	۵۰-۱۰۰
	۲(٪۱۰)	۱۳(٪۶۵)	>۱۰۰
	۰(٪۰)	۸(٪۴۰)	<۵۰۰۰
۰/۰۰۳***	۱۵(٪۷۵)	۷(٪۳۵)	۵۰۰۰-۱۵۰۰۰
	۵(٪۲۵)	۵(٪۲۵)	۱۵۰۰۰<
	۷(٪۳۵)	۸(٪۴۰)	<۱۵۰۰۰۰
۰/۷۴*	۱۳(٪۶۵)	۱۲(٪۶۰)	>۱۵۰۰۰۰
	۱۷(٪۸۵)	۷(٪۳۵)	-
۰/۰۰۳***	۳(٪۱۵)	۱۳(٪۶۵)	+

\*Chi-Square Tests

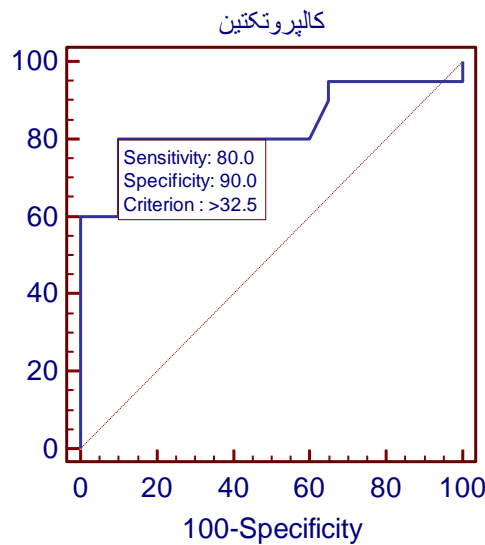
\*\* Chi-Square Tests by method Monte Carlo

\*\*\* 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)	<۵۰۰۰
	۶(٪۴۰/۰)	۲(٪۶۶/۷)	۱۴(٪۶۳/۶)	۵۰۰۰-۱۵۰۰۰
	۴(٪۲۶/۷)	۱(٪۳۳/۳)	۵(٪۲۲/۷)	۱۵۰۰۰<
	۸(٪۴۶/۷)	۰(٪۰/۰)	۸(٪۳۴/۴)	<۱۵۰۰۰۰
۰/۳۷	۸(٪۵۳/۳)	۳(٪۱۰۰)	۱۴(٪۶۳/۶)	>۱۵۰۰۰۰
	۶(٪۴۰/۰)	۱(٪۳۳/۳)	۱۷(٪۷۷/۳)	-
۰/۰۴	۹(٪۶۰/۰)	۲(٪۶۶/۷)	۵(٪۲۲/۷)	+
	۱(٪۷/۷)	۰(٪۰/۰)	۰(٪۰/۰)	ندارد
۱/۰۰	۱۲(٪۹۲/۳)	۳(٪۱۰۰)	۴(٪۱۰۰)	دارد
	۸(٪۶۱/۵)	۳(٪۱۰۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	ندارد
۰/۵۲	۵(٪۳۸/۵)	۰(٪۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	دارد
	۱۲(٪۹۲/۳)	۳(٪۱۰۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	ندارد
۰/۱۴	۱(٪۷/۷)	۰(٪۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	دارد
	۱۰(٪۷۶/۹)	۳(٪۱۰۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	ندارد
۰/۳۶	۳(٪۲۳/۱)	۰(٪۰/۰)	۲(٪۵۰/۰)	دارد
	۳۱(٪۱۰۰/۰)	۱(٪۳۳/۳)	۴(٪۱۰۰/۰)	ندارد
۰/۰۲	۰(٪۰/۰)	۲(٪۶۶/۷)	۰(٪۰/۰)	دارد
	۲(٪۱۵/۴)	۱(٪۳۳/۳)	۰(٪۰/۰)	جراحی
۱/۰۰	۹(٪۶۹/۲)	۲(٪۶۶/۷)	۳(٪۷۵/۰)	دارو
	۲(٪۱۵/۴)	۰(٪۰/۰)	۱(٪۲۵/۰)	فوت

\* Chi-Square Tests by method Monte Carlo



منحنی ROC برای سطح FC در دو گروه شاهد و مورد

## بحث

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 ۷۹۲ 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 مطالعه‌ای 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

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 پیش‌گویی کننده سطح FC با شدت بیماری NEC، رابطه علائم آزمایشگاهی (CRP, WBC, Plt)، علائم بالینی (دیستانسسیون شکم، عدم تحمل شیر، استفراغ، مدفوع خونی، کاهش رفلکس‌های نوزادی) و سرانجام بیماری (دارو درمانی، جراحی، فوت) با سطح FC بررسی شد که از بین موارد ذکر شده، CRP مثبت و کاهش رفلکس‌های نوزادی با افزایش سطح FC ارتباط معنی دار آماری داشت و می‌توان گفت کالپروتکتین علاوه بر تشخیص بیماری NEC در بررسی شدت بیماری هم کمک کننده خواهد بود، بطوریکه نوزادان مبتلا به NEC که کاهش رفلکس‌های 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 بیماری‌های التهابی روده است و در نوزادان مبتلا به NEC افزایش می‌یابد (۳). در مطالعه‌ای که توسط Albanna و همکاران در دپارتمان اطفال دانشگاه Zagazig مصر در سال ۲۰۱۴ انجام دادند، با مقایسه سطح کالپروتکتین مدفوع در ۱۵ نوزاد

افزایش سطح FC، لکوپنی و مثبت بودن CRP. به طور معنی داری در مبتلایان NEC و نوزادان سالم متفاوت بود. بنابراین می‌توان از سطح FC، شمارش WBC و CRP، به عنوان معیاری از وقوع NEC استفاده کرد. نیز می‌توان از کالپروتکتین مدفوع در بررسی شدت بیماری هم بهره برد، بطوریکه در نوزادان مبتلا به NEC که CRP مثبت و یا کاهش رفلکس‌های 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 می‌توان 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 آمار: 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.

## 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.

برش ۲۸۶/۲ میکروگرم در هر گرم مدفوع، حساسیت و اختصاصیت بالا در تشخیص NEC در نوزادان دارد (۷). در مطالعه ما نقطه برش ۳۲/۵ میکروگرم در هر گرم مدفوع، تعیین شد. تفاوت موجود بین این دو مطالعه را می‌توان با نوع کیت آزمایشگاهی توجیه کرد. همچنین با افزایش تعداد نمونه‌های 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 می‌آید (۸). در مطالعه ما افزایش سطح کالپروتکتین با کاهش رفلکس‌های نوزاد پریابطه معنی داری نشان داد ولی با سایر موارد از جمله سرانجام بیماری و سایر علائم بالینی (به جز کاهش رفلکس‌های نوزادی) و یافته‌های آزمایشگاهی رابطه معنی داری نشان نداد. Josefsson و همکاران در دیارتمان 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 می‌باشد ولی اولین مارکری نمی‌باشد که در این بیماران افزایش می‌یابد 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 علائم 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 ۳۲/۵ 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 می‌باشد. براساس این مطالعه،

3. Niemarkt HJ, de Meij TG, van de Velde ME, van der Schee MP, van Goudoever JB, Kramer BW. *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, Erdeve 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 QI, 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