

粪便钙卫蛋白检测在腹泻鉴别诊断中的意义

计春燕 刘浩 汪毅 白乌日娜 何小军 谭诗云 屈银宗

【摘要】 目的 评价粪便钙卫蛋白(FCP)检测作为一种非侵入性检查方法,在有腹泻症状的患者鉴别诊断中的临床意义。方法 研究对象共 135 例,其中病例组 105 例,包括感染性腹泻组 48 例、大肠癌组 27 例、腹泻型肠易激综合征(D-IBS)组 30 例;正常对照组 30 例。各组分别留取粪便 5~10 g,用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测 FCP 含量;同时检测患者的中性粒细胞绝对值(ANC)。结果 感染性腹泻组 FCP 值最高(中位数为 515.21 $\mu\text{g/g}$),大肠癌组居中(中位数为 162.47 $\mu\text{g/g}$),两组均显著高于 D-IBS 组(中位数为 35.02 $\mu\text{g/g}$)和正常对照组(中位数为 25.18 $\mu\text{g/g}$) ($P < 0.05$)。D-IBS 组和正常对照组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$),其他组间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。感染性腹泻组 FCP 检测值与 ANC 呈正相关 ($r = 0.581$)。当将 FCP 值 = 70 $\mu\text{g/g}$ 为临界值时,感染性腹泻组阳性率为 91.7%,大肠癌组阳性率为 85.2%,D-IBS 和正常对照组阳性率分别为 10.0%、3.3%。结论 FCP 具有无创、快速、简便、准确率高、患者依从性好等优点,有助于初步鉴别腹泻,值得临床推广应用。

【关键词】 粪便钙卫蛋白; 感染性腹泻; 腹泻型肠易激综合征

Fecal calprotectin in differential diagnosis of diarrhea Ji chun-yan*, LIU hao, WANG yi, BAI Wu-ri-na, HE Xiao-jun, TAN shi-yun, QU Yin-zong. * Department of Gastroenterology, Hubei Xinhua Hospital, Wuhan 430015, China

Corresponding author: QU Yin-zong, Email: QuYinZong@126.com

【Abstract】 **Objective** To assess the clinical values of fecal calprotectin (FCP) as a non-invasive screening biomarker in differential diagnosis of diarrhea. **Methods** Subjects were a total of 135 persons, including 48 patients with infectious diarrhea, 27 patients with colorectal cancer, 30 patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (D-IBS), and 30 healthy controls. All the persons were asked to collect 5-10 g of stool sample for determining FCP by an enzyme-linked immunosorbent assay; Meanwhile the absolute neutrophil cell (ANC) were collected simultaneously. **Results** The median of FCP concentrations were 515.21 $\mu\text{g/g}$ and 162.47 $\mu\text{g/g}$ in infectious diarrhea and colorectal cancer, which were significantly higher than the healthy controls (25.18 $\mu\text{g/g}$) and the D-IBS (35.02 $\mu\text{g/g}$) ($P < 0.05$). There was no statistical significance of FCP concentrations between patients with D-IBS and healthy controls ($P > 0.05$). There were statistical significance between patients with infectious diarrhea, colorectal cancer, and others ($P < 0.05$). The level of FCP with infectious diarrhea was related with ANC ($r = 0.581$). When the cut-off limit was set as 70 $\mu\text{g/g}$ of fecal calprotectin, the positive rates of infectious diarrhea, colorectal cancer, D-IBS and healthy controls were 91.7%, 85.2%, 10.0%, and 3.3%, respectively. **Conclusion** FCP as a non-invasive screening biomarker could be helpful to the differential diagnosis of diarrhea. It was convenient, economical and worth spreading in clinical works.

【Key words】 Fecal calprotectin; Infectious diarrhea; Diarrhea-predominant irritable bowel syndrome

钙卫蛋白(CP)来源于中性粒细胞和巨噬细胞,是一种炎症活动性标志物^[1],以往国内外对粪便钙卫蛋白(FCP)的研究大多集中于炎症性肠病活动性的判断^[2-3]。本研究旨在检测感染性肠病、大肠癌、腹泻型肠易激综合征(D-IBS)等腹泻患者的 FCP 含量,探讨

其在腹泻患者中诊断与鉴别诊断价值。

材料和方法

1. 一般资料:随机选择 2009 年 1 月至 2010 年 12 月在湖北省新华医院门诊、住院及健康体检者,共 135 例。所有受试者均知情同意。入选标准:感染性腹泻患者按照国家《感染性腹泻诊断标准和处理原则》、《细菌性痢疾和阿米巴痢疾诊断标准及处理原则》,随机选择以急性腹泻(病程 < 3 周,每日排便量达 200 g 以上,次数超过 3 次,粪便稀薄,水分超过粪便总量的

DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2012.12.088

作者单位:430015 武汉,湖北省新华医院消化科(计春燕、汪毅、屈银宗),普外科(何小军);武汉大学人民医院精神卫生中心(刘浩),消化内科(白乌日娜、谭诗云)

通信作者:屈银宗,Email:QuYinZong@126.com

85%) 为主要临床表现的粪便细菌培养结果阳性患者,排除其他脏器炎症及消化道肿瘤病变。D-IBS 患者,参照罗马 III 标准确诊^[4]。大肠癌患者经电子结肠镜/手术/病理诊断确诊。对照组:选择 1 周内湖北省新华医院行健康体检各项指标均正常的健康志愿者;且所有入选者在纳入研究时均无明显消化道症状、无严重心、肺、肝、肾及神经精神疾病等;排除酗酒、药物成瘾、孕妇及长期服用非甾体类消炎药者^[5]。人 FCP 检测酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 (瑞士 Buhlmann 公司),酶标仪 (Perkin Elmer 公司 1420 型),全自动酶标洗板机 (奥地利 Asys Hitech 公司的 Flexi wash),微量低温高速离心机 (德国贺力氏公司的 Thermo Heraeus Fresco 21),SS 琼脂 (上海医学化验所试剂厂生产),API20E 肠道菌鉴定生化条 (法国生物——梅里埃公司)。

2. 标本收集:留取结肠镜检查 1 周内或手术前 1 周内的患者及健康体检者粪便少许 (5 ~ 10 g),1 h 内送实验室并置于 4 °C 冰箱保存,3 d 内进行集中抽提。同时收集所有入选者病史、临床资料、血液分析结果。

3. 抽提:将留存粪便置于室温下平衡解冻,用一次性的取样环挑取约 50 ~ 100 mg,放入 15 ml 聚丙烯管 (带螺口帽),取样环一并放入称重,按照质量/容积 (g/ml) = 1/49 的比例加入抽提液,置于多管涡旋混合器充分摇动 (最高速度) 30 min,混匀样本后取 1.5 ml 置于 2 ml 离心管中,用微量离心机离心 5 min (10 000 g),取上清液 1 ml 留存于 -50 °C 冰箱备用。

4. ELISA 法检测 FCP 含量反应:严格按照人 FCP 检测 ELISA 试剂盒说明书进行,将 CP 提取液置于室温下平衡解冻,以 1:50 比例稀释,室温下 (18 ~ 28 °C) 孵育,采用常规 ELISA 法。测定:将酶标仪设置为 450 nm 进行测定,标准品包括 5 个质量浓度 (600、300、100、30、10 μg/g),共进行了两次样本检测,最高浓度标准液的吸光度 (A) 值为 2.397 及 2.284,用四参数法计算得出标准曲线,以 1:50 稀释的样本若超过标准曲线范围而未被测出,则需用缓冲液进一步稀释并重新测定直至测出为止,稀释倍数计算在最终的结果中,每次样本检测均重新建立当次的标准曲线。

5. 粪便细菌培养:将粪便直接接种于 SS 琼脂平板上,在 37 °C 温箱中孵育 24 ~ 36 h,然后挑选细小透明菌落接种于克氏半固体琼脂斜面,应用 API20E 肠道菌鉴定生化条进行分纯。

6. 外周血中性粒细胞绝对值 (ANC) 检测:所有患者在入院 24 h 内行血液分析检查,记录 ANC。确诊为感染性肠炎者治疗 1 周病情好转后,复查血液分析。

7. 统计学方法:应用 SPSS 16.0 统计软件分析。

计算样本的中位数、四分位间距、全距,组间比较采用非参数检验 Mann Whitney U 检验。相关系数采用 Spearman 相关分析计算, $r > 0$ 表示呈正相关。

结 果

1. 一般情况:实验入组 135 例,其中病例组 105 例,包括:感染性腹泻组 48 例、D-IBS 组 30 例、大肠癌组 27 例;对照组 30 例。入组者中男性 74 例,女性 61 例。各组年龄、性别构成差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2. FCP 检测结果:经正态性检验,各组 FCP 水平呈非正态分布,因此计算中位数、四分位间距、全距,采用非参数检验进行组间比较。感染性腹泻组 FCP 值最高,中位数为 515.21 μg/g;大肠癌组 FCP 值居中,中位数为 162.47 μg/g;D-IBS 组和正常对照组的 FCP 值较低,中位数分别为 35.02 μg/g 和 25.18 μg/g。感染性腹泻组与大肠癌组、D-IBS 组、正常对照组比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);大肠癌组与 D-IBS 组、正常对照组比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);而 D-IBS 组和正常对照组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$,表 1)。

表 1 各组之间 FCP 测定结果 (μg/g)

组别	例数	中位数	四分位间距	全距
感染性肠炎组	48	515.21	176.57 ~ 804.70	54.33 ~ 911.81
大肠癌组	27	162.47	82.51 ~ 294.23	26.31 ~ 784.22
D-IBS 组	30	35.02	28.13 ~ 43.02	20.80 ~ 194.20
对照组	30	25.18	17.79 ~ 53.81	2.70 ~ 132.37

注:与 D-IBS 组和正常对照组比较, $P < 0.05$

3. FCP 检测值与血 ANC 之间的相关分析:48 例感染性肠炎患者入院时血 ANC 为 $(8.64 \pm 1.74) \times 10^9/L$,感染性肠炎者 FCP 检测值与血 ANC 之间进行相关分析显示 Spearman 相关系数 $r = 0.581$ ($P < 0.05$),说明两者呈正相关,即血 ANC 越多其 FCP 检测值越高 (图 1)。治疗 1 周症状好转后复查 ANC 为 $(4.01 \pm 1.32) \times 10^9/L$ 。治疗前后 ANC 值差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

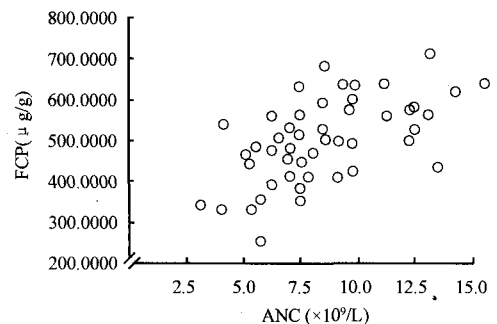


图 1 感染性肠炎者 FCP 检测值与血 ANC 值的相关分析散点图

4. FCP检测的阳性率:根据FCP试剂盒说明书的推荐值,结合各组实验结果,当以 FCP 值 = 70 $\mu\text{g/g}$ 为临界值时,同时满足器质性疾病组(感染性腹泻组、大肠癌组)阳性率 $\geq 85\%$,正常对照组阳性率 $\leq 5\%$ 。判断感染性腹泻的阳性率为 91.7%,大肠癌的阳性率为 85.2%,D-IBS 和正常对照组阳性率分别为 10.0%、3.3%。

讨 论

CP 是判断炎症活动性的一种炎性标志物,在肠腔和外界环境中可长期保持相对稳定而不被酶和细菌所破坏,不会随粪便降解而被水解掉,甚至样本在室温下放置 5 d 也不会使其浓度有明显丢失^[6],具有良好的粪便标志物的条件^[7],从而使其可能成为一个方便的肠道炎症监测指标^[8-11]。有研究结果表明粪 CP 含量约是血浆 CP 含量的 6 倍^[12],故粪便炎性标志物比血清标志物应更能敏感地反映消化道炎症程度。

检测各组的 FCP 值进行比较,结果发现 FCP 中位数从高到低依次为感染性腹泻组(515.21 $\mu\text{g/g}$)、大肠癌组(162.47 $\mu\text{g/g}$)、D-IBS 组(35.02 $\mu\text{g/g}$)和正常对照组(25.18 $\mu\text{g/g}$)。感染性腹泻组与大肠癌组、D-IBS 组、正常对照组比较,差异均有统计学意义;大肠癌组与 D-IBS 组、正常对照组比较,差异均有统计学意义;而 D-IBS 组和正常对照组之间差异无统计学意义,检测结果与国外报道基本一致^[13-14]。感染性腹泻组 FCP 值明显升高的原因可能为病原体感染肠道后造成肠道黏膜屏障功能障碍^[15],释放毒素引起分泌性反应导致腹泻,中性粒细胞通过病变黏膜逐渐迁移至肠腔使 FCP 增高,从粪便排出。结肠癌在生长过程中癌组织向周边组织浸润,可产生炎性细胞,引起一定水平的 CP 表达,因此,结肠癌患者的 FCP 含量较正常者也有所增高^[16]。Roseth 等^[12]研究结果表明,在预测结肠癌方面,CP 的敏感性达到了 90%,超过了粪便隐血试验、血沉和 C 反应蛋白等。肠道动力异常是肠易激综合征(IBS)的主要病理生理基础之一^[17],D-IBS 的腹泻,因不存在肠黏膜的炎症和组织损伤而无中性粒细胞的浸润,故其 FCP 值最低,且与正常对照组差异无统计学意义,与本研究结果基本一致。基于 FCP 值在不同病因所致腹泻患者中的检测值差异有统计学意义,我们认为 FCP $\geq 70 \mu\text{g/g}$ 时,应高度疑诊为感染性腹泻或结肠肿瘤可能,结合患者临床病史,即可作出感染性腹泻或结肠肿瘤初步诊断。

本研究结果显示,感染性腹泻组 FCP 检测值与

ANC 呈正相关($r = 0.581$)。外周血 ANC 值越高其 FCP 检测值越高,说明 CP 的水平与炎症程度密切相关^[18]。因此,通过 FCP 与 ANC 联合检测一方面有利于感染性腹泻初步诊断,另一方面可用于监测感染性腹泻患者的炎症程度及治疗后的转归。

本研究结果表明,对有腹泻症状的患者进行 FCP 值的检测有助于腹泻的诊断与鉴别诊断,具有一定的临床应用价值。

参 考 文 献

- [1] Kerkhoff C, Klempt M, Sorg C. Novel insights into structure and function of MRP8 and MRP14. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1448: 200-211.
- [2] Erbayrak M, Turkyay C, Eraslan E, et al. The role of fecal calprotectin in investigating inflammatory bowel diseases. *Clinics*, 2009, 64: 421-425.
- [3] Konikoff MR, Denson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 2006, 12: 524-534.
- [4] 德罗斯曼. 罗马 III/功能性胃肠病. 柯美云, 方秀才等译. 科学出版社, 2008: 231-346.
- [5] Poullis A, Foster R, Mendall MA, et al. Proton pump inhibitors are associated with elevation of faecal calprotectin and may affect specificity. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2003, 15: 573-574.
- [6] 黄平晓, 谭诗云, 罗小芳, 等. 粪便钙卫蛋白判断消化性溃疡活动性的临床价值. *中华消化内镜杂志*, 2010, 27: 97-100.
- [7] Gebhardt C, Németh J, Angel P, et al. S100A8 and S100A9 in inflammation and cancer. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72: 1622-1631.
- [8] D'Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, et al. Calprotectin and lactoferrin in the assessment of intestinal inflammation and organic disease. *Int J Colorectal Dis*, 2007, 22: 429-437.
- [9] Rutgeerts P, Vermeire S, Van Assche G. Mucosal healing in inflammatory bowel disease; impossible ideal or therapeutic target. *Gut*, 2007, 56: 453-455.
- [10] Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, et al. Fecal calprotectin correlates more closely with the simple endoscopic score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, blood leukocytes, and the CDAI. *Am J Gastroenterol*, 2010, 105: 162-169.
- [11] Wu Y, Wang FY, Wei J, et al. Mannose-binding lectin and dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *J Med Postgrad*, 2010, 23: 35-40.
- [12] Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, et al. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces: a methodologic study. *Scand J Gastroenterol*, 1992, 27: 793-798.
- [13] Carroccio A, Iacono G, Cottone M, et al. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. *Clin Chem*, 2003, 49: 861-867.
- [14] Tibble J, Sigthorsson G, Foster R, et al. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from non-organic intestinal disease. *Gastroenterology*, 2002, 123: 450-460.
- [15] 秦新裕, 刘凤林. 胃肠外科实验研究的进展. *中华实验外科杂志*, 2007, 24: 519-520.
- [16] 李昶, 姜敏. 粪便钙卫蛋白检测在肠道疾病诊断中的价值. *国际消化病杂志*, 2010, 30: 210-216.
- [17] 周婷, 陈明楷, 张丽, 等. 慢性综合应激对大鼠肠道 Cajal 间质细胞的影响. *中华实验外科杂志*, 2011, 28: 42-44.
- [18] Roseth AG, Aadland E, Jahnsen J, et al. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion*, 1997, 58: 176-180.

(收稿日期: 2012-06-17)