



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΝΟΣΗΛΕΥΤΙΚΗ – ΕΡΕΥΝΑ»

Διευθύντρια: Ευαγγελία Χαρμανδάρη, MD, MSc, PhD, MRCP(UK), CCST(UK)

Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΣΕ
ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΤΜΗΜΑ ΝΟΣΗΛΕΥΤΙΚΗΣ ΤΟΥ ΤΕΙ ΑΘΗΝΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΘΕΜΑ: « Η ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΩΝ ΒΙΟΛΕΙΚΤΩΝ ΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ
ΜΕ ΔΙΑΡΡΟΙΑ»

ΜΗΤΡΟΓΙΩΡΓΟΥ Κ. ΜΑΡΙΝΑ

Ειδικευόμενη Παιδιάτρος

Αθήνα, 2018



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΑΙ ΝΟΣΗΛΕΥΤΙΚΗ – ΕΡΕΥΝΑ»

Διευθύντρια: Ευαγγελία Χαρμανδάρη, MD, MSc, PhD, MRCP(UK), CCST(UK)

Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΣΕ
ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΤΟ ΤΜΗΜΑ ΝΟΣΗΛΕΥΤΙΚΗΣ ΤΟΥ ΤΕΙ ΑΘΗΝΑΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

***ΘΕΜΑ: « Η ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΑΞΙΑ ΤΩΝ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ
ΜΕ ΔΙΑΡΡΟΙΑ»***

ΜΗΤΡΟΓΙΩΡΓΟΥ Κ. ΜΑΡΙΝΑ

Ειδικευόμενη Παιδιάτρος

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΠΑΠΑΕΥΑΓΓΕΛΟΥ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- **ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΠΑΠΑΕΥΑΓΓΕΛΟΥ**
Καθηγήτρια Παιδιατρικής- Παιδιατρικής Λοιμωξιολογίας
- **ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Γ. ΜΙΧΟΣ**
Αν.Καθηγητής Παιδιατρικής-Παιδιατρικής Λοιμωξιολογίας
- **ΧΡΥΣΑΝΘΗ ΤΖΟΥΜΑΚΑ-ΜΠΑΚΟΥΛΑ**
Ομότιμη Καθηγήτρια Παιδιατρικής

Αθήνα, 2018

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	5
Κεφάλαιο 1 Εισαγωγή.....	6
I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	9
Κεφάλαιο 2 Διάρροια	9
Κεφάλαιο 3 Οξεία γαστρεντερίτιδα.....	10
3.1 Ορισμός.....	10
3.2 Αίτια	10
3.3 Παθοφυσιολογία.....	13
3.4 Κλινική εικόνα.. ..	14
3.5 Διάγνωση.....	15
3.6 Προσδιορισμός αιτιολογίας.....	18
3.7 Θεραπεία.....	20
Κεφάλαιο 4 Ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου στα παιδιά.....	21
4.1 Επιδημιολογία	21
4.2 Αιτιολογία.....	21
4.3 Κλινική εικόνα	22
4.4 Διάγνωση.....	27
4.5 Θεραπεία	28

4.6 Επιπλοκές-Πρόγνωση.....	29
Κεφάλαιο 5 Βιοδείκτες κοπράνων.....	31
5.1 Καλπροτεκτίνη κοπράνων.....	32
5.2 Λακτοφερρίνη κοπράνων.....	34
5.3 S100A12 κοπράνων.....	35
II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	37
1.Σκοπός.....	37
2.Υλικό και Μέθοδος.....	37
2.1Πληθυσμός της μελέτης.....	37
2.2 Μεθοδολογία.....	37
2.3 Προσδιορισμός καλπροτεκτίνης λακτοφερρίνης και S100A12 κοπράνων....	38
3.Στατιστική Ανάλυση.....	41
4.Δεοντολογία της έρευνας.....	42
5.Αποτελέσματα.....	42
5.1 Περιγραφικά αποτελέσματα.....	42
5.2 Στατιστικά αποτελέσματα.....	45
6.Συζήτηση.....	52
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	56
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	57

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερώς την επιβλέπουσα μου την Καθηγήτρια Παιδιατρικής Λοιμωξιολογίας - Διευθύντρια της Γ΄Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών κ.Βάνα Παπαευαγγέλου, για την ευκαιρία και το έναυσμα που μου έδωσε να πραγματοποιήσω τη συγκεκριμένη μεταπτυχιακή μελέτη, για τις πολύτιμες συμβουλές και την καθοδήγησή της που μου προσέφερε σε όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας.

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο Ερευνητικό Εργαστήριο της Γ΄Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών που στεγάζεται στο Γενικό Πανεπιστήμιο Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚΟΝ» , υπό την επίβλεψη της κ.Άννα Παπαδοπούλου Βιοχημικός-Μοριακός Βιολόγος, DEA,PhD. Η μετάδοση γνώσεων και η υποστήριξη που μου προσέφερε, ήταν καθοριστικές και συνέβαλαν τόσο στην εργαστηριακή όσο και συγγραφική διεκπεραίωση της εργασίας μου.

Εκφράζω, επίσης, ευχαριστίες στα Μέλη της Τριμελούς Επιτροπής, την Ομότιμη Καθηγήτρια Παιδιατρικής κ.Χρυσάνθη Τζουμάκα-Μπακούλα και τον Αν. Καθηγητή Παιδιατρικής Λοιμωξιολογίας της Ιατρική Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών Αθανάσιο Μίχο για την υποστήριξη τους στη διεκπεραίωση της μεταπτυχιακής μου μελέτης.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Παιδιάτρο - Παιδογαστρεντερολόγο κ.Σμαραγδή Φεσσάτου για την έμπνευση και τη πολύτιμη βοήθεια που μου προσφέρει όλα αυτά τα χρόνια κατά τη διάρκεια της ειδικότητας μου καθώς επίσης και στην εκπόνηση της διπλωματικής μου μελέτης.

Τις θερμότερες ευχαριστίες μου θα ήθελα να δώσω στη φίλη και παιδιάτρο Μαρία Καραλέξη για τη πολύτιμη υποστήριξη που μου παρείχε στο μεθοδολογικό κομμάτι της μελέτης και για την αμέριστη συμπαράστασή της.

Τέλος, θέλω να εκφράσω την απεριόριστη ευγνωμοσύνη μου στην οικογένεια μου , στους φίλους μου και στο σύζυγο μου για την υπομονή και τη δύναμη που μου παρείχαν καθ'όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου μελέτης .

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οξεία γαστρεντερίτιδα, που χαρακτηρίζεται από την αιφνίδια έναρξη διάρροιας με ή χωρίς έμετο και είναι από τα πιο συχνά λοιμώδη νοσήματα της παιδικής ηλικίας. Η συχνότητα εμφάνισης της διάρροιας κυμαίνεται από 0,5 έως 2 επεισόδια ανά παιδί ανά έτος σε παιδιά <3 ετών στην Ευρώπη. Η πιο σημαντική αιτία της διάρροιας είναι οι ιοί που ευθύνονται περίπου για το 40% έως 60% των περιπτώσεων. Ο ροταϊός είναι το πιο γνωστό παθογόνο που προκαλεί διάρροια στα παιδιά καθώς επίσης ο αδενοϊός, ο νοροϊός και ο αστροϊός. Η πιο κοινή βακτηριακή αιτία της διάρροιας είναι η σαλμονέλλα καθώς επίσης το καμπυλοβακτηρίδιο, η σιγκέλλα και το κλωστηρίδιο. Αυτά τα παθογόνα έχουν την ικανότητα να εισβάλλουν στο βλεννογόνο του άνω λεπτού και του παχέος εντέρου, όπου διεγείρουν τοπικές και συστηματικές φλεγμονώδεις αποκρίσεις, ενώ ενδέχεται μερικές φορές να προκαλούν αιμορραγία και εξέλκωση του βλεννογόνου. Αν και η οξεία μολυσματική διάρροια είναι μια κοινή νόσος στα παιδιά, οι γιατροί συχνά αντιμετωπίζουν διαγνωστικές δυσκολίες στη διάκριση μεταξύ βακτηριακής και μη-βακτηριακής διάρροιας. Σε ένα μικρό μόνο ποσοστό των περιπτώσεων ανιχνεύεται το συγκεκριμένο παθογόνο. Αυτή η αδυναμία διαγνωστικής ακρίβειας συχνά καθυστερεί την κατάλληλη διαχείριση των εντερικών λοιμώξεων. Οι γιατροί διαθέτουν λίγα αξιόπιστα και μη επεμβατικά διαγνωστικά εργαλεία για τους ασθενείς με οξεία λοιμώδη διάρροια ή επίμονα πεπτικά συμπτώματα.

Ο προσδιορισμός των διαφόρων βιοδεικτών κοπράνων προσφέρει τη δυνατότητα προσέγγισης των παθογενετικών μηχανισμών των φλεγμονών του εντέρου. Οι περισσότεροι από τους μέχρι σήμερα γνωστούς δείκτες συνδέονται με το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα του εντέρου, εκτός από τη M2-πυροσταφυλική κινάση. Η έμφυτη ανοσία του εντέρου παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση μιας λεπτής ισορροπίας μεταξύ της ανοχής σε συμβιωτικά βακτήρια και στην ανοσολογική απόκριση σε πιθανούς παθογόνους παράγοντες. Είναι ένα πολύπλοκο σύστημα, το οποίο αποτελείται από πολλαπλά στοιχεία, συμπεριλαμβανομένων αντιμικροβιακών πεπτιδίων (π.χ., αμυντοσίνες, καθελικιδίνες, λακτοφερίνη, και οστεοπροτεγερίνη), φλεγμονωδών πρωτεϊνών (π.χ., calprotectin και S100A12) και μικροβιακών προϊόντων (π.χ., βραχείας αλύσου λιπαρά οξέα). Η δυσλειτουργία οποιουδήποτε συστατικού μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη εντερικής νόσου και διάφορες ασθένειες έχουν

συσχετιστεί με διαφορετικά επίπεδα βιοδεικτών στα κόπρανα. κοπράνων. Η ποσοτικοποίηση αυτών των βιοδεικτών παρέχει μια μη επεμβατική μέθοδο για την κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών αλλά και την αξιολόγηση της πορείας των ασθενών. Οι βιοδείκτες κοπράνων είναι γνωστοί στη χρήση τους στη παιδιατρική κοινότητα σε παιδιά με ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο κατά τη διάγνωση και για τη παρακολούθηση της κλινικής πορείας της νόσου.

Η καλπροτεκτίνη κοπράνων είναι μια μικρή πρωτεΐνη δέσμευσης ασβεστίου που ανήκει στην οικογένεια S100 (S100 A8 / A9). Η πρωτεΐνη αυτή είναι άφθονη κυρίως στα ουδετερόφιλα αλλά και σε μονοκύτταρα. Η παρουσία αυξημένων επιπέδων καλπροτεκτίνης στα κόπρανα είναι ένας δείκτης της φλεγμονής σε περιπτώσεις όπως η βακτηριακή εντερίτιδα και η ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Στη βιβλιογραφία, υπάρχουν λίγα στοιχεία που να συγκρίνουν την οξεία λοιμώδη διάρροια σε παιδιά (ιογενή ή βακτηριακή) και τις τιμές της καλπροτεκτίνης ανάλογα το παθογόνο και την πορεία της νόσου.

Η λακτοφερρίνη είναι μία γλυκοπρωτεΐνη σύνδεσης σιδήρου της τρανσφερίνης που παράγεται από πολλούς εξωκρινείς αδένες και ανήκει σε μια οικογένεια η οποία παίζει ρόλο στην μεταφορά του σιδήρου του ορού. Η λακτοφερρίνη εμφανίζει ποικίλες βιολογικές δραστηριότητες, μεταξύ των οποίων την ενεργοποίηση της φυσικής ανοσίας και τη βακτηριοκτόνο δράση μέσω απευθείας δράσης με τα βακτήρια. Η παρουσία λακτοφερρίνης στα σωματικά υγρά, συμπεριλαμβανομένου του εντερικού αυλού, είναι ανάλογη με την ροή των ουδετερόφιλων, και η εκτίμηση της μπορεί να παρέχει μια αξιόπιστη τιμή βιοδείκτη για τη φλεγμονή. Τα ουδετερόφιλα φαίνεται να εμπλέκονται στη διαίωνιση της φλεγμονής στο έντερο σε οξείες λοιμώξεις που προκαλούνται από *Shigella* και *Salmonella* και η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα λακτοφερρίνης αποτελούν ένα ευαίσθητο και ειδικό δείκτη εντερικής φλεγμονής σε ασθενείς με χρόνια εντερική νόσο.

Η S100A12 είναι ένα ενδογενές μόριο του εντερικού ενδοθηλίου που απελευθερώνεται από ενεργοποιημένα ή κατεστραμμένα κύτταρα υπό συνθήκες κυτταρικού στρες. Ειδικότερα, επί φλεγμονής το S100A12 απελευθερώνεται σχεδόν αποκλειστικά από τα ουδετερόφιλα. Το εξωκυτταρικό S100A12 έχει προφλεγμονώδη και χημειοτακτική δράση, ιδιότητες που προσελκύουν φλεγμονώδη κύτταρα με αποτέλεσμα να ενεργοποιεί τα ιστιοκύτταρα,

διεγείροντας την απελευθέρωση των κυτοκινών συμπεριλαμβανομένου του παράγοντα νέκρωσης του όγκου (TNF- α). Τα τρέχοντα δεδομένα υποδηλώνουν ότι το S100A12 μπορεί να είναι ακριβέστερος δείκτης της φλεγμονής του εντέρου από την καλπροτεκτίνη. Μελέτες έχουν δείξει επίσης ότι η S100A12 είναι αυξημένη σε βακτηριακή γαστρεντερίτιδα. Ωστόσο, τα δεδομένα είναι περιορισμένα, παρά τη σταθερότητα και την υψηλή ευαισθησία του και ειδικότητα, καθώς δεν έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην κλινική πράξη.

ΔΙΑΡΡΟΙΑ

Η διάρροια είναι ένα σύμπτωμα που ορίζεται ως η υπερβολική απώλεια υγρών και ηλεκτρολυτών στα κόπρανα. Η διάρροια στην παιδική ηλικία παραμένει σημαντική αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας παγκοσμίως, αφού υπολογίζονται περίπου 525.000 θάνατοι σε παιδιά ηλικίας κάτω των 5 ετών ετησίως, καθώς επίσης αποτελούν τη δεύτερη κύρια αιτία θανάτου σε αυτόν τον πληθυσμό σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (ΠΟΥ).(Organization, 2017) Η συχνότητα εμφάνισης της διάρροιας κυμαίνεται από 0,5 έως 2 επεισόδια ανά παιδί ετησίως στα παιδιά <3 ετών στην Ευρώπη. (Whyte et al.) Σε παγκόσμιο επίπεδο, υπάρχουν περίπου 1,7 δισεκατομμύρια περιπτώσεις παιδιών που εμφανίζουν διάρροια κάθε χρόνο. Αυτό το πρόβλημα δεν περιορίζεται μόνο στις αναπτυσσόμενες χώρες αλλά είναι επίσης μια σημαντική αιτία νοσηρότητας και στις αναπτυγμένες χώρες, ιδίως στο 1^ο χρόνο ζωής.(Lo Vecchio et al.)

Η οξεία διάρροια ορίζεται ως αλλαγή στη σύσταση των κοπράνων, που μπορεί να εμφανίζονται είτε μαλακά είτε υδαρή, ή η αύξηση στη συχνότητα των κενώσεων >3 φορές μέσα στο 24ωρο. Συνήθως διαρκεί περίπου από 5 έως 7 ημέρες και στη συντριπτική πλειονότητα των περιπτώσεων είναι συνέπεια της οξείας γαστρεντερίτιδας. Η γαστρεντερίτιδα είναι ένα πολύ συχνό αίτιο εισαγωγής στο νοσοκομείο και έχει μεγάλο οικονομικό αντίκτυπο.(Giannattasio et al., Lo Vecchio et al.) Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο το 2001 οι εισαγωγές στο νοσοκομείο λόγω οξείας γαστρεντερίτιδας ήταν 65,7/ 10.000 παιδιά <5 ετών.(Whyte et al.) Σε περίπτωση, που οι διάρροιες διαρκούν από 7 έως 14 ημέρες, χαρακτηρίζεται ως εμμένουσα διάρροια που μπορεί να οφείλονται σε ανεπαρκή αντιμετώπιση της οξείας γαστρεντερίτιδας, σε τροφικές αλλεργίες ή και σε δυσανεξία στη λακτόζη.(Giannattasio et al.) Η διάρροια που διαρκεί πάνω από 14 ημέρες χαρακτηρίζεται ως χρόνια, ενώ μερικοί ειδικοί αναφέρονται στη χρόνια διάρροια σε περίπτωση επεισοδίων που διαρκούν περισσότερο από 4 εβδομάδες. Συνήθως δεν έχει οξεία έναρξη και είναι η εκδήλωση δομικών και φλεγμονωδών διαταραχών του εντέρου και οφείλεται σε χρόνιες καταστάσεις όπως τα σύνδρομα δυσαπορρόφησης (κουλιοκάκη) και την ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου.(Giannattasio et al., Lo Vecchio et al.)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΟΞΕΙΑ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑ

1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Ως οξεία γαστρεντερίτιδα ορίζεται η λοίμωξη της γαστρεντερικής οδού, που οφείλεται σε ιογενή, βακτηριακά ή παρασιτικά αίτια, εκδηλώνεται με διάρροια ή/και έμετο και συστηματικές εκδηλώσεις, όπως πυρετό και κοιλιακό άλγος. Σύμφωνα με την ESPGHAN οξεία γαστρεντερίτιδα ορίζεται η μείωση της συνοχής της σύστασης των κοπράνων (μαλακή ή υδαρής κένωση) και/ή η αύξηση στη συχνότητα των κενώσεων (τυπικά περισσότερες από 3 κενώσεις/24ωρο) με ή χωρίς πυρετό ή έμετο. (Guarino et al.) Ο ποσοτικός ορισμός της οξείας γαστρεντερίτιδας αναφέρεται ως «3 ή περισσότερες μαλακές ή υδαρείς κενώσεις ή οποιοσδήποτε αριθμός μαλακών κενώσεων με πρόσμιξη αίματος στη διάρκεια ενός 24ώρου», που καθιερώθηκε σε προοπτική μελέτη παρατήρησης στην κοινότητα και είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος ορισμός στις μελέτες επιπολασμού. (Fonseca et al., 2004)

2. ΑΙΤΙΑ

Τα κυριότερα αίτια οξείας γαστρεντερίτιδας περιλαμβάνουν 3 κατηγορίες: 1) ιοί 2) βακτήρια 3) παράσιτα. Πίνακας 1 (Guarino et al., 2008) Μελέτες, που έγιναν σε νοσηλεύόμενα παιδιά έδειξαν ότι 45% έως 75% των παιδιών με οξεία γαστρεντερίτιδα είχαν έναν τουλάχιστον παθογόνο μικροοργανισμό στα κόπρανα. (Guarino et al.)

Πίνακας 1. Τα κυριότερα αίτια οξείας γαστρεντερίτιδας στα παιδιά.

ΙΟΙ	ΒΑΚΤΗΡΙΑ	ΠΡΩΤΟΖΩΑ
Rotavirus	Shigella spp	Giardia lamblia
Norovirus (Calicivirus)	Salmonella (enterica, thyphi)	Cryptosporidium
Astrovirus	Campylobacter jejuni	Isospora belli
Adenovirus	Yersinia (enterocolitica, pseudotuberculosis)	Entamoeba histolytica
Corona-like virus	E. coli (EHEC, ETEC)	Strongyloides stercoralis
Cytomegalovirus	Vibrio (cholerae, parahaemolyticus, vulnificus)	Trichuris trichiura
	Clostridium (perfringens, difficile)	Cyclospora cayetanensis
	Staphylococcus aureus	

Τα αίτια διαφέρουν ανάλογα με τη γεωγραφική κατανομή και παρατηρούμε ότι στις ευρωπαϊκές χώρες ο ροταϊός είναι το πιο κοινό εντεροπαθογόνο σε όλη την έκταση της Ευρώπης. Το καμπυλοβακτηρίδιο είναι το δεύτερο πιο συχνό εντεροπαθογόνο στις βόρειες χώρες και η σαλμονέλα στις νότιες χώρες. (Εικόνα.1)(Guarino et al., 2008)

Εικόνα.1



Ο ροταϊός αντιπροσωπεύει το πιο σημαντικό παθογόνο από τους ιούς σε όλο τον κόσμο (75-90%) τόσο στις αναπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες.(Churgay and Aftab) Συστηματική ανασκόπηση στη Δυτική Ευρώπη, έδειξε συχνότητα εμφάνισης γαστρεντερίτιδας από ροταϊό από 1,33 έως 4,96 περιπτώσεις / 100 άτομα έτος. Τα ποσοστά νοσηλείας για τη γαστρεντερίτιδα από ροταϊό κυμαίνονταν από 7% σε 81% σε διάφορες χώρες.(Ogilvie et al.) Η συστηματική εφαρμογή των εμβολίων του ροταϊού έχει οδηγήσει σε μείωση της νοσηρότητας της οξείας γαστρεντερίτιδας στα παιδιά μικρότερα των 5 ετών.(Guarino et al.) Έτσι ο νοροϊός, γενικά θεωρείται ο δεύτερος πιο σημαντικός παράγοντας της οξείας γαστρεντερίτιδας σε χώρες με υψηλή κάλυψη με εμβόλιο ροταϊού.(Payne et al.) Οι καλυκοϊοί, αστροϊοί, και εντερικοί αδενοϊοί ολοκληρώνουν τους ιογενείς παράγοντες της οξείας γαστρεντερίτιδας.

Στις αναπτυγμένες χώρες, τα μικροβιακά αίτια ευθύνονται σε μικρό ποσοστό, περίπου 2-10%, των περιπτώσεων της οξείας γαστρεντερίτιδας στα παιδιά.(Churgay and Aftab) Στις ΗΠΑ τα πιο συχνά αίτια είναι το καμπυλοβακτηρίδιο, η σαλμονέλλα, η σιγκέλλα και το κολοβακτηρίδιο (EHEC species) ενώ στις αναπτυσσόμενες χώρες, το κολοβακτηρίδιο (ETEC species) είναι το πιο σημαντικό μικροβιακό αίτιο ακολουθούμενο από τα καμπυλοβακτηρίδιο, τη σαλμονέλλα και τη σιγκέλλα και προκαλεί την πλειονότητα των περιπτώσεων ταξιδιωτικής διάρροιας σε όλες τις ηλικιακές ομάδες.(Dennehy, 2005) Το κλωστηρίδιο (C. Difficile) είναι ένας σημαντικός αιτιολογικός παράγοντας για οξεία γαστρεντερίτιδα, που προκαλείται από αντιβιοτικά στα παιδιά. Οποιοδήποτε αντιβιοτικό μπορεί να προκαλέσει λοίμωξη με κλωστηρίδιο, αν και οι πενικιλίνες, οι κεφαλοσπορίνες και η κλινδαμυκίνη είναι οι πιο συχνές αιτίες.(Sandora et al.) Τέλος τα παράσιτα είναι σπάνιο αίτιο οξείας γαστρεντερίτιδας στα υγιή παιδιά, ενώ προκαλούν συχνά διάρροια σε ανοσοκατασταλμένα παιδιά ή παιδιά που ζουν σε χώρες με χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, όπου προκαλούν ενδημικά φαινόμενα και οδηγούν σε υποσιτισμό. Τα πιο συχνά στις ΗΠΑ είναι το Cryptosporidium και η Giardia. Σε αυτές τις περιπτώσεις η διάρροια τείνει να γίνει χρόνια.(Dennehy, 2005)

Τα αίτια της οξείας γαστρεντερίτιδας διαφέρουν ανάλογα με την ηλικιακή ομάδα. Πίνακας 2.(Guarino et al., 2008) Η επίπτωση της γαστρεντερίτιδας από ροταϊό φαίνεται ότι είναι μεγαλύτερη σε παιδιά ηλικίας 6-11 μηνών και 12 -23 μηνών σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ηλικιακές ομάδες.

Πίνακας 2. Τα κυριότερα αίτια Οξείας Γαστρεντερίτιδας ανά ηλικιακή ομάδα σε παιδιά στην Ευρώπη.

ΗΛΙΚΙΑ <1 ΕΤΟΥΣ	ΗΛΙΚΙΑ 1-5 ΕΤΩΝ	ΗΛΙΚΙΑ >5 ΕΤΩΝ
Rotavirus	Rotavirus	Campylobacter jejuni
Norovirus (Calicivirus)	Norovirus (Calicivirus)	Salmonella
Adenovirus	Adenovirus	Rotavirus
Salmonella	Salmonella	
	Campylobacter jejuni	
	Yersinia	

Τα αίτια της γαστρεντερίτιδας επίσης διαφέρουν ανάλογα με το κλίμα και την εποχή. Οι ιογενείς γαστρεντερίτιδες εμφανίζονται συνήθως τον χειμώνα και την άνοιξη ενώ οι μικροβιακές το καλοκαίρι. Σε μια συστηματική ανασκόπηση από μελέτες που έγιναν στην Ευρώπη, φάνηκε ότι η οξεία γαστρεντερίτιδα είχε μεγαλύτερη επίπτωση την περίοδο μεταξύ Ιανουαρίου και Μαρτίου. Οι περισσότερες περιπτώσεις οφείλονταν σε ιογενείς λοιμώξεις, όπως ο ροταϊός και οι νοροϊοί. Ο ροταϊός είχε μεγαλύτερη επίπτωση από τον Ιανουάριο έως και το Μάρτιο σε όλες τις χώρες με εξαίρεση τη Σουηδία, όπου είχε τον Απρίλιο. Από τα μικροβιακά αίτια το καμπυλοβακτηρίδιο και η σαλμονέλλα ανιχνεύθηκαν όλο το χρόνο και κυρίως όμως τις περιόδους Μάιο με Ιούνιο και Σεπτέμβριο με Οκτώβριο. (Guarino et al., 2008)

3. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Η παθογένεση κι η σοβαρότητα των βακτηριακών νόσων εξαρτάται από το εάν ο παθογόνος μικροοργανισμός έχει προσχηματισμένες τοξίνες (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*), αν παράγει τοξίνες, αν μπορεί να διεισδύσει στους βλεννογόνους και αν μπορεί να πολλαπλασιαστεί μέσα στις τροφές. Τα εντεροπαθογόνα μπορεί να προκαλέσουν είτε φλεγμονώδη είτε μη φλεγμονώδη αντίδραση του εντερικού βλεννογόνου. Τα εντεροπαθογόνα προκαλούν μη φλεγμονώδη διάρροια μέσω της παραγωγής εντεροτοξινών από κάποια βακτήρια, της καταστροφής των επιφανειακών κυττάρων των λαχνών από τους ιούς και της προσκόλλησης παρασίτων ή βακτηρίων. Φλεγμονώδης διάρροια προκαλείται συνήθως από βακτήρια, που διεισδύουν απευθείας στο έντερο ή παράγουν κυτταροτοξίνες και προκαλούν εκροή υγρών, πρωτεϊνών και κυττάρων (ερυθροκυττάρων, λευκοκυττάρων) στον εντερικό αυλό. Κάποια εντεροπαθογόνα διαθέτουν περισσότερους από έναν παθογενετικούς μηχανισμούς μόλυνσης. Για παράδειγμα ο ροταϊός στοχεύει τα άκρα των μικρολαχνών των εντεροκυττάρων και μπορεί να εισέλθει στα κύτταρα είτε με άμεση διείσδυση είτε με ενδοκυττάρωση, που εξαρτάται από τη συγκέντρωση του ενδοκυττάρου ασβεστίου. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε βράχυνση και καταστροφή των μικρολαχνών και μείωση της απορροφητικής επιφάνειας των εντεροκυττάρων. Επίσης απελευθερώνει την πρωτεΐνη NSP4, που δρα ως ιϊκή εντεροτοξίνη και παρεμβάλλεται στους κυτταρικούς μηχανισμούς και την ομοιοστάση του εντερικού βλεννογόνου. Τα περισσότερα βακτηριακά παθογόνα παράγουν εντεροτοξίνες. Οι βακτηριακές εντεροτοξίνες ενεργοποιούν επιλεκτικά την ενδοκυττάρια

σηματοδότηση των εντεροκυττάρων και προκαλούν αναδιάταξη του κυτταροσκελετού με επακόλουθη μεταβολή στη ροή νερού και ηλεκτρολυτών διαμέσου των εντεροκυττάρων. Η ενεργοποίηση των οδών αυτών οδηγεί σε αναστολή της συζευγμένης με NaCl απορρόφησης νερού και σε αύξηση της εκροής χλωρίου, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε έκκριση και απώλεια νερού προς τον εντερικό αυλό. Η συζευγμένη μεταφορά νατρίου με γλυκόζη και αμινοξέα συνήθως παραμένει ανεπηρέαστη. Η οδός του μονοξειδίου του αζώτου μπορεί επίσης να επηρεαστεί, επειδή η ενδογενής παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου είναι σημαντικά υψηλότερη στη λοιμώδη έναντι της μη λοιμώδους διάρροιας.

Η εντεροτοξινογόνος *E.coli* (ETEC) αποικίζει και προσκολλάται στα κύτταρα του λεπτού εντέρου μέσω των κροσσών της επιφάνειάς τους και επάγει υπερέκκριση υγρών και ηλεκτρολυτών προς το λεπτό έντερο μέσω δύο τοξινών: της θερμοευαίσθητης εντεροτοξίνης (LT) ή της θερμοσταθερής εντεροτοξίνης. Η LT έχει παρόμοια δομή με την τοξίνη του *Vibrio Cholerae* και ενεργοποιεί την αδενυλοκυκλάση, με αποτέλεσμα την αύξηση της ενδοκυττάριας κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cGMP). Αντιθέτως η *Shigella* spp. προκαλεί γαστρεντερίτιδα μέσω επιφανειακής διείσδυσης στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου διαμέσου των κυττάρων M, που βρίσκονται στις πλάκες Peyer. Μετά τη φαγοκυττάρωση λαμβάνει χώρα μια σειρά γεγονότων, όπως πολλαπλασιασμός και εξάπλωση βακτηρίων προς παρακείμενα κύτταρα, έκλυση φλεγμονωδών μεσολαβητών κυρίως ιντερλευκίνη I και 8 (IL-1, IL-8), μετακίνηση ουδετερόφιλων προς τον αυλό του κόλου, νέκρωση και αποκοκκίωση των ουδετερόφιλων, απόπτωση μακροφάγων, περαιτέρω ρήξη του επιθηλιακού φραγμού και καταστροφή του βλεννογόνου.

4. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΟΞΕΙΑΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ

Οι περισσότερες από τις κλινικές εκδηλώσεις της οξείας γαστρεντερίτιδας συνδέονται με το υπεύθυνο παθογόνο, το μολυσματικό φορτίο, τη φύση του παθογόνου και τον ενοφθαλμισμό. Οι υπόλοιπες εκδηλώσεις εξαρτώνται από την εμφάνιση επιπλοκών (πχ. αφυδάτωση, διαταραχές ηλεκτρολυτών κλπ). Η διάκριση μεταξύ μικροβιακής και ιογενούς γαστρεντερίτιδας δεν είναι απόλυτη, ωστόσο ορισμένα κλινικά χαρακτηριστικά βοηθούν στη διαφοροποίηση των κυριότερων αιτιών διαρροϊκής νόσου και στην ταχεία διαλογή των

ασθενών, ώστε να χορηγηθεί έγκαιρα αντιβιοτική θεραπεία ή ειδική διαίτα. Αδρά η διαφορική διάγνωση, που πρέπει να γίνεται είναι ότι ο υψηλός πυρετός ($>40^{\circ}\text{C}$), η πρόσμιξη αίματος στα κόπρανα, το κοιλιακό άλγος και η συμμετοχή από το ΚΝΣ συνήθως υποδηλώνουν μικροβιακή λοίμωξη, ενώ οι έμετοι και τα συμπτώματα από το ανώτερο αναπνευστικό σχετίζονται με ιογενούς αιτιολογίας γαστρεντερίτιδα.(Guarino et al.) Πολλές φορές βέβαια η συμπτωματολογία παρουσιάζει μεγάλη αλληλοεπικάλυψη. Εφόσον είναι σκόπιμο και εφόσον υπάρχει κατάλληλος εξοπλισμός, η αιτιολογία της διάρροιας εξακριβώνεται με κατάλληλες εργαστηριακές εξετάσεις. Οι περισσότερες από τις επιπλοκές της οξείας γαστρεντερίτιδας οφείλονται σε καθυστερημένη διάγνωση και σε καθυστέρηση χορήγησης κατάλληλης θεραπείας. Χωρίς έγκαιρη και κατάλληλη ενυδάτωση, πολλά παιδιά θα εμφανίσουν αφυδάτωση και σχετικές επιπλοκές, που μπορεί να αποβούν επικίνδυνες για τη ζωή των βρεφών και των μικρών παιδιών. Η χορήγηση λανθασμένης θεραπείας μπορεί να προκαλέσει παράταση των διαρροϊκών κενώσεων με επακόλουθο υποσιτισμό ή άλλες επιπλοκές, όπως δευτερογενείς λοιμώξεις και ανεπάρκεια μικροθρεπτικών συστατικών (πχ σίδηρος, ψευδάργυρος). Στις αναπτυσσόμενες χώρες η βακτηριαμία είναι συνηθισμένη επιπλοκή σε υποσιτιζόμενα παιδιά με διάρροια. Εξωεντερικές εκδηλώσεις και επιπλοκές συνδέονται με συγκεκριμένα παθογόνα, δεν είναι συνήθως παθογνωμονικές για τη λοίμωξη και δεν έχουν πάντα στενή χρονική σχέση με το διαρροϊκό σύνδρομο.

5. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΟΞΕΙΑΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ

Η διάγνωση της οξείας γαστρεντερίτιδας γίνεται κλινικά και επιβεβαιώνεται με κατάλληλες εργαστηριακές μεθόδους, εάν και εφόσον κρίνεται σκόπιμο. Σημαντική είναι η αξιολόγηση της σοβαρότητας της αφυδάτωσης του ασθενούς μέσω ταχείας εκτίμησης με κατάλληλες κλίμακες βαρύτητας. Διάφορα συστήματα βαθμονόμησης εκτιμούν την αφυδάτωση με βάση κλινικά σημεία και συμπτώματα, όπως ο χρόνος τριχοειδικής επαναπλήρωσης, η σπαργή δέρματος και η διούρηση (κλίμακες αφυδάτωσης-dehydration scales, Πίνακας 3). Άλλα συστήματα εκτιμούν την ολική κλινική εικόνα βασιζόμενα σε μια ομάδα συμπτωμάτων (πχ διάρροια, έμετος, πυρετός) και προτείνουν την ανάγκη για νοσηλεία σε νοσοκομείο ή για επανεκτίμηση (κλίμακες βαρύτητας-severity scores).(Guarino et al.)

Πίνακας 3. Κλίμακα αφυδάτωσης (Clinical Dehydration Scales)

ΒΑΘΜΟΙ	0	1	2
Γενική εικόνα	Καλή	Ανησυχία, ευερεθιστότητα, λήθαργος	Υπνηλία, παγωμένο δέρμα με εφίδρωση, κωματώδης κατάσταση
Οφθαλμοί	Φυσιολογική	Ελαφρώς βυθισμένοι	Εξαιρετικά βυθισμένοι
Βλεννογόνοι (γλώσσα)	Υγροί	Κολλώδεις	Στεγνοί
Δάκρυα	Φυσιολογικά	Μειωμένα	Απουσία

Βαθμολογία 0:καθόλου αφυδάτωση 1 έως 4 μερική αφυδάτωση 5 έως 8 μέτρια προς σοβαρή αφυδάτωση.

Κλίμακες βαρύτητας οξείας γαστρεντερίτιδας (Severity Scores)

Η κλίμακα βαρύτητας Vesikari scale είναι μια 20βαθμη κλίμακα και ταξινομείται σε 2 κατηγορίες (σοβαρή και μη) ανάλογα με το αν η τελική βαθμολογία κυμαίνεται <11 θεωρείται μη σοβαρή και ≥ 11 σοβαρή.

Αφ' ετέρου, η κλίμακα βαρύτητας Clark scale είναι μια 24βαθμη κλίμακα, και ταξινομείται σε τρεις κατηγορίες ήπια(<9), μέτρια(9-16) και σοβαρή(>16). Και οι δύο κλίμακες βαρύτητας αξιολογούν το μέγεθος και τη διάρκεια των διαρροϊκών κενώσεων, των εμέτων και της μέγιστης θερμοκρασίας. Εκτός από αυτές τις παραμέτρους, η κλίμακα Clark αξιολογεί το μέγεθος και τη διάρκειαν συμπεριφορικών συμπτωμάτων και της διάρκειας του εμπυρέτου μεγαλύτερη από 38,0° C, ενώ η Vesikari κλίμακα αξιολογεί την αφυδάτωση και τη θεραπεία.Πίνακας 4.(Aslan et al.)

Πίνακας 4. Κλίκαμες Vesikari και Clark

	Vesikari scale			Clark scale		
ΒΑΘΜΟΙ	1	2	3	1	2	3
Μέγιστος αριθμός διαρροϊκών κενώσεων /24ωρο	1 – 3	4 – 5	≥ 6	2-4	5 – 7	≥ 8
Διάρκεια διάρροιας (σε ημέρες)	1 – 4	5	≥ 6	1 – 4	5 – 7	≥ 8
Μέγιστος αριθμός εμέτων ανά 24ωρο	1	2 – 4	≥ 5	1 – 3	4 – 6	≥ 7
Διάρκεια εμέτων (σε ημέρες)	1	2	≥ 3	2	3 – 5	≥ 6
Μέγιστη μετρημένη θερμοκρασία (οC)	37.1-38.4	38.5-38.9	≥ 39.0	38.1 – 38.2	38.3 – 38.7	≥ 38.8
Διάρκεια εμπυρέτου (σε ημέρες)	-	-	-	1 – 2	3 – 4	≥ 5
Αφυδάτωση	Καθόλου	1-5%	$\geq 6\%$	-	-	-
Συμπτώματα συμπεριφοράς	-	-	-	Ανησυχία, ευερεθιστότητα	λήθαργος	Σπασμοί
Διάρκεια συμπτωμάτων συμπεριφοράς (σε ημέρες)	-	-	-	1 – 2	3 – 4	5
Θεραπεία	Ενδοφλέβια ενυδάτωση	Ανάγκη για νοσηλεία	-	-	-	-

6. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑΣ ΟΞΕΙΑΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ

Ο προσδιορισμός της πιθανής αιτιολογίας της διάρροιας είναι χρήσιμος, ώστε να χορηγηθεί άμεσα αντιβιοτική θεραπεία, εάν ενδείκνυται. Η ναυτία και ο έμετος είναι μη ειδικά συμπτώματα, αλλά υποδηλώνουν λοίμωξη της ανώτερης μοίρας του εντέρου. Ο πυρετός παραπέμπει σε φλεγμονώδη διεργασία αλλά εκδηλώνεται και κατόπιν αφυδάτωσης ή x συλλοίμωξης (ουρολοίμωξη, μέση ωτίτιδα). Πυρετός παρατηρείται συχνά σε ασθενείς με φλεγμονώδη διάρροια. Το έντονο κοιλιακό άλγος και ο τεινεσμός υποδηλώνουν προσβολή του παχέος εντέρου και του ορθού. Στοιχεία όπως η ναυτία, ο έμετος και η απουσία πυρετού ή ο χαμηλός πυρετός με ήπιο ή μέτριο περιομφαλικό κοιλιακό άλγος και υδαρή διάρροια υποδεικνύουν προσβολή του λεπτού εντέρου και συνδέονται με μικρότερη πιθανότητα σοβαρής βακτηριακής λοίμωξης. Η μικροσκοπική εξέταση κοπράνων και η καλλιέργεια κοπράνων μπορούν να προσφέρουν σημαντικές πληροφορίες για την αιτιολογία της οξείας γαστρεντερίτιδας. Τα δείγματα κοπράνων θα πρέπει να εξετάζονται ως προς την παρουσία βλέννης, αίματος και λευκοκυττάρων. Η παρουσία λευκοκυττάρων παραπέμπει σε βακτηριακή προσβολή στο βλεννογόνο του παχέος εντέρου, ενώ σε περιοχές, όπου ενδημούν τα παράσιτα, που προκαλούν διάρροια, όπως η *G. Lamblia* και η *E. Histolytica*, κατά τη μικροσκοπική εξέταση θα πρέπει να αναζητούνται και τα παράσιτα αυτά. Καλλιέργειες κοπράνων θα πρέπει να εκτελούνται όσο το δυνατόν πιο σύντομα από την έναρξη των συμπτωμάτων σε παιδιά με διαρροϊκές κενώσεις με πρόσμιξη αίματος, σε περίπτωση που η μικροσκοπική εξέταση κοπράνων αναδεικνύει λευκοκύτταρα, σε περιπτώσεις εξάρσεων από πιθανολογούμενο στέλεχος, που προκαλεί αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο και σε ανοσοκατασταλμένα παιδιά με διάρροια. Τα δείγματα κοπράνων προς καλλιέργεια πρέπει να μεταφέρονται γρήγορα στο εργαστήριο και να επιστρώνονται άμεσα. Εάν αυτό δεν είναι δυνατό, ίσως χρειαστεί τα δείγματα να μεταφερθούν μέσα σε ειδικό υλικό. Με τη χρήση των νέων μεθόδων μοριακής διάγνωσης όπως η αντίδραση αλυσιδωτής πολυμεράσης (PCR) έχει βελτιωθεί η διάγνωση της βακτηριακής οξείας γαστρεντερίτιδας. Οι περισσότεροι από τους ιούς, που προκαλούν οξεία γαστρεντερίτιδα δεν αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες και επομένως η απομόνωσή τους με αυτή τη μέθοδο δεν μπορεί να αποτελέσει μέθοδο αναφοράς. Αντίθετα, η αναγνώρισή τους με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο είναι πολύ εύκολη λόγω της διαφορετικής μορφολογίας τους, αν και η ευαισθησία της μεθόδου είναι πολύ χαμηλή και δημιουργούνται τεχνικοί και οικονομικοί

περιορισμοί με αυτή τη μέθοδο. Οι παθητικές μέθοδοι ανοσοσυγκόλλησης (Passive Particle Agglutination Test-PPAT) χρησιμοποιούνται επίσης στη διάγνωση των ιογενών λοιμώξεων αλλά έχουν μικρή εφαρμογή λόγω της χαμηλής τους ευαισθησίας. Οι μοριακές μέθοδοι και πιο ειδικά η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με ή χωρίς αντίστροφη μεταγραφάση (RT-PCR ή PCR αντίστοιχα) παρέχουν εξαιρετικά υψηλή ειδικότητα και ευαισθησία και πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης των ιών. Έτσι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε συνδυασμό με ανοσολογικές τεχνικές, που ανιχνεύουν αντισώματα στον ορό ασθενών και αντιγόνα των ιών στα κόπρανα με ανοσοενζυμικές δοκιμασίες (Enzyme Immunoassays), όπως η ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) χρησιμοποιούνται πλέον για την εργαστηριακή διάγνωση και την επιδημιολογική επιτήρηση των ιογενών γαστρεντεριτίδων. Πίνακας 5.(Zuckerman A., 2009)

Πίνακας 5. Διαγνωστικές μέθοδοι για την ανίχνευση ιών, που προκαλούν οξεία γαστρεντερίτιδα

Ιός	HM	EIA	PPAT	PCR
Rotavirus	+	++	+	+++ (RT)
Adenovirus	+	++	—	+++
Norovirus	+/-	++	—	+++ (RT)
Astrovirus	+	+	—	+++ (RT)

Η κλίμακα από (-) έως (+++) υποδηλώνει τα σχετικά επίπεδα ευαισθησίας και τη σχετική διαγνωστική αξία της μεθόδου.

Ο αιματολογικός έλεγχος με C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και προκαλσιτονόνη δεν μπορούν να διαφοροποιήσουν τη μικροβιακή από την ιογενή γαστεντερίτιδα. Ενώ χρήσιμος είναι ο προσδιορισμός των ηλεκτρολυτών για την εκτίμηση της βαρύτητας της αφυδάτωσης.(Guarino et al.)

Οι βιοδείκτες στα κόπρανα, όπως είναι η καλπροτεκτίνη και η λακτοφερίνη, αυξάνονται όταν εμφανίζεται εντερική φλεγμονή. Και οι δύο βιοδείκτες των κοπράνων (καλπροτεκτίνη και λακτοφερίνη) έχουν μελετηθεί εκτενώς κυρίως στη διάγνωση και στη παρακολούθηση της ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου.(Guarino et al.)

7. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΟΞΕΙΑΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ

Οι γενικές αρχές της αντιμετώπισης της οξείας γαστρεντερίτιδας στα παιδιά περιλαμβάνει τη θεραπεία επανυδάτωσης από του στόματος , την εντερική σίτιση και την επιλεγμένη διαίτα (αποφυγή λακτόζης) , τη χορήγηση συμπληρωμάτων ψευδαργύρου και άλλες θεραπείες όπως τη χορήγηση προβιοτικών. (Guarino et al.)

Ενδείξεις για εισαγωγή σε νοσοκομείο

- Καταπληξία
- Σοβαρή αφυδάτωση (>9% του σωματικού βάρους)
- Συμμετοχή από το ΚΝΣ (λήθαργος, σπασμοί κλπ)
- Ανθεκτικοί ή χολώδεις έμετοι
- Αποτυχία της από του στόματος επανυδάτωσης
- Υποψία νόσου, που χρειάζεται χειρουργική αντιμετώπιση
- Καταστάσεις, στις οποίες δεν υπάρχει ασφαλής παρακολούθηση και αντιμετώπιση του περιστατικού στο σπίτι

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ (ΙΦΝΕ)

Η ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (ΙΦΝΕ) αποτελεί σημαντικό νόσημα στην παιδική ηλικία, το οποίο προβληματίζει στη διάγνωση αλλά και στη θεραπευτική προσέγγιση του. Ο όρος ΙΦΝΕ χρησιμοποιείται για την περιγραφή της ελκώδους κολίτιδας και της νόσου Crohn, δυο νοσημάτων που εμφανίζουν φλεγμονή στο πεπτικό σωλήνα και διαφέρουν ως προς την εντόπιση και τα χαρακτηριστικά της ιδιοπαθούς φλεγμονής. Εκτός από την ελκώδη κολίτιδα και τη νόσο του Crohn, υπάρχει ένας ακόμα τύπος ΙΦΝΕ, η αταξινόμητη κολίτιδα (IBD-U) , με συχνότητα από 10-15%. Σε αυτό το τύπο η φλεγμονή περιορίζεται στο κόλον , αλλά τα ιστολογικά της χαρακτηριστικά δεν είναι τυπικά ούτε της ελκώδους κολίτιδας ούτε της νόσου Crohn.(Dabritz et al., Levine et al.)

1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η ΙΦΝΕ εμφανίζεται κατ'εξοχήν στην εφηβική ηλικία, μπορεί όμως να εμφανιστεί και στην παιδική ηλικία. Υπολογίζεται ότι περίπου 25% των ενηλίκων εμφανίζουν ΙΦΝΕ στην παιδική ηλικία και στην εφηβική ηλικία.(Levine et al.). Παγκοσμίως υπολογίζεται ότι εμφανίζονται περίπου 20 νέες περιπτώσεις/100.000 κατοίκους το χρόνο. Η συχνότητα εμφάνισης της νόσου Crohn (CD) στα παιδιά αυξάνεται παγκοσμίως, κυμαινόμενο από 2,5- 11,4/100.000 , ενώ της ελκώδους κολίτιδας 1-4/100.000.(Turner et al., Turner et al.).

2. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η αιτιολογία παραμένει άγνωστη, αλλά θεωρείται ότι είναι πολυπαραγοντική. Τόσο γενετικές, περιβαλλοντικές και ανοσολογικές επιρροές ενέχονται στην παθογένεση της ΙΦΝΕ. Γενετικά καθορισμένα διαταραχές στη φυσική ανοσία οδηγούν σε παθολογικές απαντήσεις της τοπικής μικροβιακής χλωρίδας στο βλεννογόνο, που τελικά οδηγούν σε χρόνιες φλεγμονώδεις αλλοιώσεις χαρακτηριστικές της ΙΦΝΕ. Ένας ισχυρός συσχετισμός αναφέρεται μεταξύ της νόσου του Crohn και των παραλλαγών του γονιδίου NOD2/CARD15 στο χρωμόσωμα 16. Τα δεδομένα από 10 μελέτες στις οποίες συμμετείχαν περισσότερα από 1.300 παιδιά ευρωπαϊκής καταγωγής έδειξαν ότι ο κίνδυνος για την ανάπτυξη νόσου του Crohn που σχετίζεται με το NOD2 / CARD15 είναι παρόμοιος μεταξύ παιδιατρικών και ενήλικων ασθενών.(C., 2009) Η

γενετική μπορεί να διαδραματίσει έναν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στον παιδιατρικό πληθυσμό, καθώς τα παιδιά συνήθως στερούνται περιβαλλοντικών επιρροών που σχετίζονται με την ΙΦΝΕ στους ενήλικες (π.χ. μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα) και είχαν λιγότερο χρόνο για να επηρεαστούν από αυτούς τους ανοσοποιητές τροποποίησης. Παραλλαγές των γονιδίων του IBD5 και του παράγοντα νέκρωσης όγκων-α (TNF-α) μπορεί επίσης να αυξήσουν την ευαισθησία στην ΙΦΝΕ σε παιδιά, αλλά δεν έχει αποδειχθεί η συσχέτιση τους. Το περιπυρηνικό αντιουδετεροφιλικό αντίσωμα (pANCA) απαντάνται στο 70% περίπου των ασθενών με ελκώδη κολίτιδα σε σχέση με το 20% εκείνων με νόσο Crohn. Περίπου το 55% αυτών με νόσο Crohn είναι θετική για το αντι- *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) αντίσωμα.(Zhang, 2014) Η παρουσία της ASCA-ανοσοσφαιρίνης A (IgA) και της IgG είναι ιδιαίτερα ειδική για τη νόσο του Crohn σε παιδιά και ένας αριθμός νεότερων ορολογικών δεικτών για τη νόσο του Crohn έχουν εντοπιστεί σε αυτόν τον πληθυσμό. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν στην ατιοπαθογένεια της νόσου είναι οι περιγεννητικές λοιμώξεις και οι λοιμώξεις στην βρεφική ηλικία, το κάπνισμα, το stress, ο τύπος του τοκετού καθώς επίσης και η αστικοποίηση. Η αλλαγή του μικροβιώματος δημιουργεί δυσβίωση μεταξύ ξενιστή και μικροβιώματος του εντέρου και αποτελεί σημαντικό παράγοντα του ξενιστήγια την ατιολογία της νόσου.(C., 2009, Zhang, 2014)

3. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η κλινική πορεία της ΙΦΝΕ εμφανίζει χαρακτηριστικά εξάρσεις και υφέσεις. Τα παιδιά με ελκώδη κολίτιδα εμφανίζουν στην πλειοψηφία αιμορραγικές κενώσεις(90%) , διάρροια(74%) και κοιλιακά άλγη(60%). Ενώ στη νόσο Crohn τα παιδιά εμφανίζουν περίπου στο 25% κοιλιακό άλγος, διαρροϊκές κενώσεις και ανεπαρκή πρόσληψη βάρους. Στη πλειονότητα των περιστατικών τα παιδιά με ελκώδη κολίτιδα εμφανίζουν πανκολίτιδα, 10% αριστερή κολίτιδα ενώ μόνο 4% περιορίζεται η νόσος μόνο στο ορθό. Η βαρύτητα των συμπτωμάτων σχετίζεται με την έκταση της φλεγμονής στον εντερικό βλεννογόνο. Στη νόσο Crohn οι βλάβες μπορούν να προσβάλλουν οποιοδήποτε τμήμα του πεπτικού σωλήνα, από τη στοματική κοιλότητα έως την περιπρωκτική περιοχή. Κατ'εξοχήν προσβάλλεται ο τελικός ειλεός, ενώ σε σημαντικό ποσοστό(50%) συμμετέχει το παχύ έντερο (ανιόν κόλον). Ανάλογα με την εντόπιση έχουμε διακρίνεται σε νόσο: του λεπτού εντέρου, του παχέος εντέρου και αυτή με τις

εξωεντερικές εκδηλώσεις. Οι εξωεντερικές εκδηλώσεις είναι πιο συχνές στη νόσο Crohn από στην ελκώδη κολίτιδα και μπορεί να προηγούνται της κλινικής εκδήλωσης της ΙΦΝΕ. Η πιο συχνή εξωεντερική εκδήλωση είναι η αρθρίτιδα και στη συνέχεια μπορούν να εμφανιστούν αγγειακές επιπλοκές, αιματολογικές διαταραχές, οζώδες ερύθημα, οφθαλμική συμμετοχή και καθυστέρηση ανάπτυξης και ενήβωσης.(Ruemmele et al., Turner et al.). Έχουν καθοριστεί διάφοροι παράμετροι οι οποίοι υποδεικνύουν την ενεργότητα της ελκώδους κολίτιδας και της νόσου Crohn στα παιδιά, PUCAI SCORE(0-85) και PCDAI SCORE(0-40) αντίστοιχα και χαρακτηρίζουν τη νόσο ως ήπια , μέτριας και σοβαρής βαρύτητας.Πίνακας 6 και 7.(Fell et al., Kammermeier et al.)

Βάση της ενεργότητας της νόσου υπάρχουν για κάθε περίπτωση υποτροπής ή πρωτοδιαγνωσθείσας ΙΦΝΕ αντίστοιχο θεραπευτικό πλάνο αντιμετώπισης της νόσου. Με τη βοήθεια της κλίμακας βαρύτητας γίνεται και η παρακολούθηση της νόσου.

Πίνακας 6. PCDAI SCORE

1. ΙΣΤΟΡΙΚΟ (αφορά την τελευταία εβδομάδα προ της συμπλήρωσης του ερωτηματολογίου)	
ΚΟΙΛΙΑΚΟ ΑΛΓΟΣ	
Όχι	0
Ήπιο, μικρής διάρκειας, δεν επηρεάζει καθημερινές δραστηριότητες	5
Μέτριο /σοβαρό-καθημερινό, μακράς διάρκειας, νυχτερινό, περιορίζει δραστηριότητες	10
ΚΕΝΩΣΕΙΣ (ημερησίως)	
0-1 αποβολή κοπράνων υδαρή, χωρίς αίμα	0
≤ 2 αποβολές κοπράνων ημι-σχηματισμένων με ίχνη αίματος, ή 2-5 υδαρείς	5
Σοβαρή αιμορραγία, ή ≥ 6 αποβολές κοπράνων υδαρείς, ή διάρροια νυχτερινή	10
ΓΕΝΙΚΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΑΣΘΕΝΗ	
Κανένας περιορισμός, ευημερία	0
Περιστασιακός περιορισμός των δραστηριοτήτων	5
Συχνός περιορισμός των δραστηριοτήτων	10
2. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ	
Βάρος	
Αύξηση, σταθερότητα ή μείωση ΒΣ κατόπιν θέλησης	0
Σταθερότητα ή μείωση ΒΣ = 1-9% όχι κατόπιν θέλησης	5
Μείωση ΒΣ ≥ 10%	10
Ύψος (την στιγμή της διάγνωσης)	
Μείωση = < 1 canale di crescita	0
Μείωση = ≥1, <2 canali di crescita	5
Μείωση = 2 canali di crescita	10
Κοιλιά	
Όχι αντίσταση, όχι ψηλάφηση μαζών	0
Αντίσταση, ή μάζες δίχως αντίσταση	5
Αντίσταση, αντανακλαστικό άμυνας δίχως την θέληση, μάζες	10
ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΕΚΤΟΣ ΤΟΥ ΠΕΠΤΙΚΟΥ(πυρετός ≥ 38.5°C για 3 μέρες την προηγούμενη εβδομάδα, αρθρίτιδα, uveite,eritema nodoso, pioderma gangrenoso).	
Κανένα	0

1	5
≥ 2	10
ΠΕΡΙΠΡΩΚΤΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ	
Καμμία, ασυμπτωματικές ραγάδες	0
1-2 ασυμπτωματικά συρίγγια, ήπια παροχέτευση, όχι αντίσταση	5
Ενεργό συρίγγιο, παροχέτευση, αντίσταση, ή απόστημα	10
ΥΨΟΣ (ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ)	
Ταχύτητα αύξησης ≥ 1 SD	0
Ταχύτητα αύξησης ≤ 1 SD, > 2 SD	5
Ταχύτητα αύξησης ≤ 2 ds	10
3. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ	
ΤΚΕ(mm/hr)	
<20	0
20-50	2.5
>50	5
HCT (%)	
<10 ετών >33	11-19ετών Θ >34 0
28-32	29-33 2.5
<28	37 5
11-14 ετών Α >35	15-19 ετών Α >37 0
30-34	32-36 2.5
<30	<32 5
ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ (g/dl)	
≥ 3.5	0
3.1-3.5	5
≤ 30	10
PCDAI SCORE ΤΕΛΙΚΗ ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ	
<10 ύφεση 11-30 ήπια >30 σημαντική	

Πίνακας 7. Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index (PUCAI[®])

ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ	ΒΑΘΜΟΙ
1. Κοιλιακό άλγος:	
Όχι άλγος	0
Άλγος που μπορεί να αγνοηθεί	5
Άλγος που δεν μπορεί να αγνοηθεί	10
2. Αιμορραγία από το ορθό	
Καμμία	0
Μικρή ποσότητα μόνο, σε λιγότερο από το 50% των κενώσεων	10
Μικρή ποσότητα με τις περισσότερες κενώσεις	20
Μεγάλη ποσότητα (>50%)	30
3. Σύσταση των κοπράνων στις περισσότερες κενώσεις	
Σχηματισμένα	0
Ημι-σχηματισμένα	5
Μη-σχηματισμένα εντελώς	10
4. Αριθμός κενώσεων την ημέρα	
0-2	0
3-5	5
6-8	10
>8	15
5. Νυχτερινές κενώσεις (κάθε επεισόδιο που αφυπνίζει)	
Όχι	0
Ναι	10
6. Επίπεδο δραστηριότητας	
Όχι περιορισμός δραστηριοτήτων	0
Περιστασιακός περιορισμός δραστηριοτήτων	5
Έντονα περιορισμένη δραστηριότητα	10
ΑΘΡΟΙΣΗ PUCAI (0-85)	

4. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διάγνωση βασίζεται στο ιστορικό, την κλινική εξέταση σε συνδυασμό με τον εργαστηριακό, ορολογικό, απεικονιστικό, ενδοσκοπικό και ιστολογικό έλεγχο σε συνδυασμό με τον ανοσολογικό και αλλεργιολογικό έλεγχο σε ειδικές περιπτώσεις.(Levine et al.)

- Εργαστηριακός έλεγχος:

Οι αρχικές εξετάσεις αίματος θα πρέπει να περιλαμβάνουν πλήρη αιματολογικό έλεγχο, δείκτες φλεγμονής (TKE, CRP), λευκοματίνη, τρανσαμινάσες και gGT. Ενδεικτικά σε ενεργό νόσο εμφανίζεται αύξηση TKE, αύξηση της CRP και χαμηλά επίπεδα λευκοματίνης. Απαραίτητο για να αποκλειστεί τυχόν εντερική λοίμωξη είναι οι καλλιέργειες και παρασιτολογικές κοπράνων. Οι βιοδείκτες κοπράνων, όπως η καλπροτεκτίνη, η λακτοφερρίνη και η S100A12 είναι εξαιρετικά ευαίσθητες για την ανίχνευση της εντερικής φλεγμονής.(Ruemmele et al.) Η καλπροτεκτίνη κοπράνων είναι πιο ευαίσθητη από τους δείκτες φλεγμονής και είναι χρήσιμη όχι μόνο στη διάγνωση αλλά και στην παρακολούθηση των υποτροπών και της ανταπόκρισης στην θεραπεία.(Turner et al.)

- Ορολογικός έλεγχος

Παρόλο που τα αποτελέσματα είναι συχνά αρνητικά, η ανίχνευση των αντισωμάτων pANCA και των ASCA μπορούν να βοηθήσουν στη διαφορική διάγνωση μεταξύ ελκώδους κολίτιδας και νόσου Crohn. Η ανεύρεση θετικών ASCA σχετίζεται με σοβαρή πορεία της νόσου Crohn.Νεότεροι μη ειδικοί δείκτες είναι τα αντισώματα έναντι μικροβίων(E.coli, Bacteroides) . Όλοι αυτοί οι δείκτες είναι μη ειδικοί και μπορούν να ανιχνευθούν και σε ασθενείς με άλλες ασθένειες.(Levine et al.)

- Απεικονιστικός έλεγχος

Η μαγνητική εντερογραφία (MRE) θεωρείται μέθοδο εκλογής στην παιδιατρική ΙΦΝΕ κατά τη διάγνωση., καθώς μπορεί να εκτιμήσει τόσο την εντερική φλεγμονή, την έκταση της βλάβης αλλά και τις επιπλοκές(συρίγγια, αποστήματα, στενώσεις). Η MRE προτιμάται σε σχέση με την αξονική κοιλίας λόγω της υψηλής διαγνωστικής ακρίβειας αλλά και την έλλειψη ακτινοβολίας. Η ασύρματη ενδοσκοπική κάψουλα (WCE) είναι μια χρήσιμη εναλλακτική

λύση για την εντόπιση βλαβών του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου σε παιδιά με υποψία νόσου Crohn, στην οποία τα συμβατικά η ενδοσκόπηση αλλά και η MRE δεν ήταν διαγνωστική. Αντένδειξεις αυτής της εξέτασης είναι οι στενώσεις και η ηλικία μικρότερη από 1 έτους.

Το υπερηχογράφημα κοιλίας είναι ένα μη επεμβατικό εργαλείο οπού κατά τη διάγνωση των παιδιατρικών ασθενών με ΙΦΝΕ μπορεί να ανιχνεύσει αλλοιώσεις του τοιχώματος του εντέρου, καθώς και εξωτοιχωματικές.(Levine et al.)

- Ενδοσκοπικός-ιστολογικός έλεγχος

Κάθε παιδί με υποψία ΙΦΝΕ θα πρέπει να γίνεται ενδοσκόπηση του ανώτερου και του κατώτερου πεπτικού καθώς αποτελεί την πλέον ειδική και ευαίσθητη μέθοδο για τη διάγνωση της νόσου. Θα πρέπει να ληφθούν πολλαπλά δείγματα για βιοψία για την άμεση επισκόπηση του βλεννογόνου και τον ιστολογικό έλεγχο. Στην ελκώδη κολίτιδα η φλεγμονή είναι συνεχής και μπορεί να αρχίζει από το ορθό και εμφανίζει έντονη φλεγμονή, κρυπτίτιδα και αποστημάτια. Στη νόσο Crohn συνήθως είναι τμηματική ή εστιακή με ενδιάμεσες φυσιολογικές περιοχές και διατοιχωματική, με αποτέλεσμα αποστημάτια και συρίγγια. Χαρακτηριστικά είναι τα αφθώδη έλκη.(Fell et al., Kammermeier et al., Levine et al.)

5. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Στόχοι της θεραπείας είναι η ύφεση της νόσου, η πρόληψη υποτροπών, η διόρθωση διατροφικών ελλειμμάτων , καθώς επίσης η φυσιολογική αύξηση και ανάπτυξη. Η θεραπεία στηρίζεται στη φαρμακευτική, διαιτητική, χειρουργική και ψυχολογική.

Η φαρμακευτική αγωγή διαφοροποιείται βάση τη βαρύτητα και την εντόπιση της νόσου. Στην ελκώδη κολίτιδα σε ήπια νόσο χρησιμοποιούνται τα αμνοσαλικυλικά (σουλφασαλαζίνη και 5-ASA). Σε μέτρια νόσο τα κορτικοστεροειδή παραμένουν η πρώτη θεραπεία εκλογής. Οι αναστολείς της καλσινευρίνης (κυκλοσπορίνη ή tacrolimus) χορηγούνται για την αποφυγή της κολεκτομής σε σοβαρή ελκώδη κολίτιδα. Όταν η νόσος είναι ανθεκτική στα κορτικοστεροειδή χρησιμοποιούνται τα ανοσορυθμιστικά, θειοπουρίνες (αζαθειοπρίνη ή 6-μερκαπτοπουρίνη). Στη νόσο Crohn σε ανθεκτικότητα στις θειοπουρίνες μπορούν να χρησιμοποιηθεί η

μεθοτρεξάτη. Σε μη κλινική ανταπόκριση στην ελκώδη κολίτιδα στην αρχική φαρμακευτική αγωγή, καθώς επίσης και σε σοβαρή νόσο Crohn παρουσία εξωεντερικών εκδηλώσεων και συρριγγίων κρίνεται σκόπιμο η έναρξη βιολογικών παραγόντων. (Fell et al., Kammermeier et al.) Οι βιολογικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στα παιδιά είναι η ινφλιξιμάμπη (χημιαϊκό μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του παράγοντα νέκρωσης του όγκου anti-TNF α), η αδαλιμουμάμπη (ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του παράγοντα νέκρωσης του όγκου anti-TNF α) και η βεδολιζουμάμπη (ένα εξανθρωπισμένο μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο δρα έναντι ετεροδιμερούς $\alpha 4\beta 7$ ιντεγκρίνης και δεσμεύει την αλληλεπίδραση της $\alpha 4\beta 7$ ιντεγκρίνης με MAdCAM-1). (Fell et al.) Η διατροφική υποστήριξη παραμένει αναπόσπαστο κομμάτι της θεραπείας του ασθενούς με ΙΦΝΕ λόγω του υποσιτισμού και της καθυστέρησης αύξησης. Στη νόσο Crohn η αποκλειστική εντερική σίτιση για 6-8 εβδομάδες αποτελεί πρώτης γραμμής θεραπεία και φαίνεται ότι προκαλεί την ύφεση στο 60-80% των ασθενών, σχεδόν ίδιο ποσοστό με τα κορτικοστεροειδή χωρίς όμως τις παρενέργειες. Χρησιμοποιούνται στοιχειακά ή πολυμερικά διαλύματα και οι πιθανοί μηχανισμοί ύφεσης είναι ασαφείς αλλά περιλαμβάνουν: μείωση του εντερικού περισταλτισμού, βελτίωση της διατροφικής κατάστασης, μείωση του αντιγονικού φορτίου, μέσω του αυξητικού παράγοντα TGF- $\beta 1$, την αναστολή της παραγωγής των προφλεγμονωδών κυτταροκινών και αλλαγή του μικροβιώματος. (Grover et al., Ruemmele et al., Suskind et al.) Η χειρουργική αντιμετώπιση στην ελκώδη κολίτιδα είναι θεραπευτική ενώ στη νόσο Crohn δεν φέρει μόνιμο αποτέλεσμα λόγω συχνών υποτροπών στην περιοχή της εκτομής. (Levine et al.).

6. ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ-ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Οι πιο συχνές επιπλοκές είναι η μαζική αιμορραγία, το τοξικό megacolon, ενώ στη νόσο Crohn είναι και η εντερική απόφραξη, τα αποστήματα και τα συρίγγια. Η πορεία της ελκώδους κολίτιδας χαρακτηρίζεται από εξάρσεις και υφέσεις. Τα περισσότερα παιδιά με αυτή τη νόσο ανταποκρίνονται καλά στη φαρμακευτική αγωγή. Μετά τα πρώτα 10 έτη νόσου, αυξάνεται ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του παχέος εντέρου (2% στα 10έτη, 8% στα 20έτη, 18% στα 30έτη). Γι' αυτό μετά τα 10 πρώτα χρόνια νόσου απαιτείται συστηματικός έλεγχος με ενδοσκόπηση και πολλαπλές βιοψίες κάθε 2 χρόνια. (Turner et al.) Η νόσος Crohn έχει υψηλή νοσηρότητα, αλλά όχι θνησιμότητα. Ποσοστό μεγαλύτερο από το 15% των ατόμων που

παρουσιάζουν καθυστέρηση στην ανάπτυξη λόγω νόσου παρουσιάζουν μόνιμη καθυστέρηση στην γραμμική αύξηση.(Heuschkel et al., 2008) Η οστεοπενία είναι συνηθισμένη στα άτομα με χρόνια κακή θρέψη και χρήση κορτικοστεροειδών. (Sandhu et al.)

Τελικά η ΙΦΝΕ στη παιδική και στην εφηβική ηλικία είναι ένα δύσκολο νόσημα που χρειάζεται χρόνια φαρμακευτική αγωγή και ψυχολογική υποστήριξη. Καθώς τα περισσότερα παιδιά που διαγιγνώσκονται βρίσκονται στην έναρξη της εφηβείας θα εμφανίσουν σοβαρά προβλήματα που αφορούν την εμφάνιση τους (μειωμένη σωματική αύξηση και ενήβωση, εμφάνιση προσωπείο Cushing, ακμή από τα κορτικοστεροειδή) ενώ θα αποφεύγουν τις παρέες σε περιόδους εξάρσεων λόγω κοιλιακού άλγους και διαρροϊκών κενώσεων.(Sandhu et al.) Η ομαλή διαδικασία της μετάβασης είναι ένα ζήτημα που θα πρέπει από κοινού, παιδογαστρεντερολόγος και γαστρεντερολόγος ενηλίκων να επιλύσουν για την ψυχοπαθολογία του ασθενούς.(Turner et al.)

ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ

Η φυσική ανοσία του εντέρου αποτελείται από πολλαπλά στοιχεία, το καθένα από τα οποία συμβάλλει στην διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ των συνηθισμένων βακτηρίων και στην αντίδραση στους εν δυνάμει παθογόνους παραγόντες. Συγκεκριμένα, το γαστρεντερικό σύστημα εκτίθεται συνεχώς σε μεγάλη ποσότητα εντερικής μικροχλωρίδας αλλά είναι σε θέση να διατηρήσει ένα φυσικό εμπόδιο στα εξωγενή ερεθίσματα επιτρέποντας ταυτόχρονα την επιλεκτική είσοδο βασικών θρεπτικών ουσιών. Η επιφάνεια του βλεννογόνου καλύπτεται από μια στιβάδα βλέννης, η οποία περιέχει διάφορα αντιμικροβιακά πεπτίδια (AMP) όπως η οστεοπροτεγερίνη (OPG), οι αμυντοσίνες και οι καθελικιδίνες μαζί με την ήδη υπάρχουσα εντερική μικροχλωρίδα σχηματίζουν την πρώτη γραμμή άμυνας κατά των παθογόνων παραγόντων.(Pang et al.) Σε περίπτωση που παραβιαστεί αυτός ο φραγμός του βλεννογόνου, κυκλοφορούν ανοσοκύτταρα όπως τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα τα οποία παρέχουν μια δεύτερη γραμμή άμυνας μέσω φλεγμονωδών πρωτεϊνών όπως της λακτοφερρίνης και των S100 πρωτεϊνών.(Dommett et al., 2005) Ένας μηχανισμός μέσω της εντερικής μικροχλωρίδας που παίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική άμυνα είναι μέσω της παραγωγής των λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας (short-chain fatty acids) όταν τα βακτήρια του κόλον παράγουν μέσω ζύμωσης υδατάνθρακες.(Pang et al.) Ως εκ τούτου, η δυσλειτουργία οποιουδήποτε από αυτά τα συστατικά μπορεί να οδηγήσει σε βλάβη τα άμυνας του βλεννογόνου του ξενιστή, αλλοιώσεις της εντερικής μικροβιακής σύνθεσης, και αύξηση της συχνότητας και της σοβαρότητας των εντερικών λοιμώξεων. Τα φλεγμονώδη κύτταρα που διεισδύουν στον επηρεασμένο ιστό του εντέρου εκκρίνουν πρωτεΐνες και πεπτίδια που μπορεί να ανευρεθούν στον εντερικό αυλό.(Turner et al.) Οι βιοδείκτες κοπράνων έχουν κερδίσει έδαφος τα τελευταία χρόνια και τείνουν να μελετώνται ως ειδικοί δείκτες της φλεγμονής για την γαστρεντερική οδό, καθώς είναι μη επεμβατικοί και οικονομικοί..(Wright et al.) Ένας από τους δείκτες που έχει μελετηθεί και είναι κοινά αποδεκτή στην κλινική πρακτική ως βιοδείκτης κοπράνων για τον έλεγχο της ΙΦΝΕ είναι η καλπροτεκτίνη.(Konikoff and Denson, 2006) Άλλοι δείκτες κοπράνων που έχουν μελετηθεί σε παιδιατρικούς ασθενείς ως δείκτες φλεγμονής του εντέρου είναι η λακτοφερρίνη, η S100A12 καθώς επίσης και η οστεοπροτεγερίνη, α1-αντιθρυψίνη και M2PK.(Turner et al.) Στα επόμενα κεφάλαια θα

αναλυθούν οι 3 πιο συχνοί βιοδείκτες κοπράνων η καλπροτεκτίνη, η λακτοφερρίνη και η S100A12.

5.1 Καλπροτεκτίνη

Η καλπροτεκτίνη, είναι μία πρωτεϊνική σύνδεση ασβεστίου και ψευδαργύρου και αντιπροσωπεύει ένα ετεροδιμερές S100A8 / S100A9 τα οποία είναι μέλη της οικογένειας πρωτεϊνών δέσμησης ασβεστίου S100.(Montalto et al., Dabritz et al.) Η καλπροτεκτίνη είναι μια θερμικά σταθερή πρωτεΐνη δέσμησης ασβεστίου με αντιμικροβιακές προστατευτικές ιδιότητες που αποτελεί το 60% της κυτταρολυτικής πρωτεΐνης ενός ουδετερόφιλου και σε μικρότερο βαθμό προέρχεται από τα μονοκύτταρα και τα αντιδραστικά μακροφάγα.(Dabritz et al.) Απελευθερώνεται στο εντερικό σύστημα ως αποτέλεσμα της μετα-επιθηλιακής μετανάστευσης των λευκοκυττάρων κατά μήκος της φλεγμονής του βλεννογόνου του εντέρου που ακολουθείται από διαταραχή και έκκριση κυττάρων μέσω των κοπράνων.(Lamb and Mansfield) Είναι ανθεκτική στην βακτηριακή αποικοδόμηση και παραμένει αρκετά σταθερή στα κόπρανα για αρκετές ημέρες. Ως εκ τούτου, η συγκέντρωση της καλπροτεκτίνης στα κόπρανα είναι ανάλογη με την εισροή ουδετερόφιλων στην εντερική οδό, χαρακτηριστικό της ενεργού ΙΦΝΕ. Δεν υπάρχει διαφορά, όσον αφορά τα επίπεδα καλπροτεκτίνης μεταξύ των δύο φύλων. Έχει αποδειχθεί, ωστόσο, ότι τα επίπεδα της καλπροτεκτίνης ποικίλλει ανάλογα με την ηλικία: τα νεογνά έχουν υψηλά επίπεδα καλπροτεκτίνης, μειώνοντας τις πρώτες εβδομάδες της ζωής και φθάνοντας σε συγκρίσιμα επίπεδα με τους ενήλικες(50μg/g) έως 5 ετών.(Judd et al.) Τα επίπεδα της καλπροτεκτίνης έχουν αποδειχθεί ότι είναι σταθερά αυξημένη σε ενήλικες και σε παιδιά με ΙΦΝΕ σε σχέση με τους υγιείς. Η καλπροτεκτίνη αποτελεί τον πλέον ευαίσθητο για την πρωτοδιάγνωση της ΙΦΝΕ συγκριτικά με την CRP και τη TKE, ενώ η φυσιολογική τιμή της καλπροτεκτίνης αποκλείει την ΙΦΝΕ.(Levine et al.) Σε πρόσφατη μετα-ανάλυση του 2017 φαίνεται ότι η καλπροτεκτίνη είναι ο καλύτερος δείκτης διάγνωσης των ΙΦΝΕ σε σχέση με τους αιματολογικούς δείκτες και έχει μεγαλύτερη διαγνωστική αξία ακόμα και για ασθενείς μικρού και μεσαίου ρίσκου.(Holtman et al.) Θεωρείται μια από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες μη επεμβατικές δοκιμές λόγω της υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας που παρουσιάζει. Σε μια άλλη μετα-ανάλυση του 2017 η υπολογισθείσα ευαισθησία και ειδικότητα της καλπροτεκτίνης κοπράνων ήταν 95% και 91% αντίστοιχα (von Roon et al., 2007), ενώ σε μία νεότερη μετα-ανάλυση του 2015 ήταν 88% και 73% (Mosli et al.)

αντίστοιχα. Γενικά, πολύ υψηλά επίπεδα καλπροτεκτίνης υποδηλώνουν ενεργό νόσο ωστόσο δεν παρέχει διαφοροδιάγνωση μεταξύ ελκώδους κολίτιδας και νόσου Crohn, ούτε ανιχνεύει το ακριβές σημείο της φλεγμονής.(Canani et al., 2008) Η καλπροτεκτίνη διαφέρει μεταξύ ενεργής και ανενεργής νόσου. Στις περισσότερες μελέτες για ελκώδη κολίτιδα και νόσο Crohn, τα αποτελέσματα της καλπροτεκτίνης συσχετίζονται με την ενδοσκοπικά επιβεβαιωμένη ενεργότητα της νόσου, αποδεικνύοντας την πιθανή υποτροπή καλύτερα απ' ότι ο δείκτης βαρύτητας, όταν οι τιμές της είναι αυξημένες. Καθώς επίσης η καλπροτεκτίνη είναι ικανή να παρακολουθήσει εάν ο ασθενής θα είναι δεκτικός στην θεραπεία του με βιολογικό παράγοντα ή αν θα υπάρχει υποτροπή της νόσου.(Wright et al.) Σε μια μετα- ανάλυση του 2009 όπου συμπεριλήφθηκαν 13 μελέτες (7 ενηλίκων και 6 παιδιών) συγκρίνοντας τα επίπεδα της καλπροτεκτίνης με δείγματα βιοψιών για την ανεύρεση της ενεργού φλεγμονής στους ενήλικες η ευαισθησία και η ειδικότητα ήταν 92% και 96% αντίστοιχα ενώ στο παιδιατρικό πληθυσμό ήταν 92% και 76% αντίστοιχα. (van Rheen et al.) Η καλπροτεκτίνη όμως βρέθηκε να είναι αυξημένη και σε άλλες κλινικές οντότητες οι οποίες μπορούν να εμφανίσουν διαταραχές του εντερικού βλεννογόνου όπως η γαστρεντερίτιδα, η ηωσινοφιλική γαστρεντεροπάθεια, η κοιλιοκάκη , η νόσος του πεπτικού έλκους, κακοήθειες καθώς επίσης και η χορήγηση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών.(Kopylov et al.) Η καλπροτεκτίνη φαίνεται ότι αυξάνεται σε ασθενείς με γαστρεντερίτιδα σε σύγκριση με υγιείς ενώ μπορεί επίσης να εμφανίζει υψηλότερες τιμές όταν η γαστρεντερίτιδα οφείλεται σε βακτηριακά αίτια από ότι σε ιογενή. Σε μια προοπτική μελέτη 153 ασθενών με γαστρεντερίτιδα βρέθηκαν υψηλότερες τιμές σε λοίμωξη από σαλμονέλλα από ότι σε λοίμωξη από ροταϊό.(Chen et al.) Το ίδιο σε μια άλλη προοπτική μελέτη 84 ατόμων φαίνεται ότι η καλπροτεκτίνη μαζί με απλή μικροσκοπική εξέταση κοπράνων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της εντερικής φλεγμονής για τη διάκριση της βακτηριακής γαστρεντερίτιδας από την ιογενή γαστρεντερίτιδα.(Sykora et al.). Ενώ σε μια μελέτη όπου έγινε ταξινόμηση της βαρύτητας της γαστρεντερίτιδας βάση Vesikari scale υπήρξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της τιμής της καλπροτεκτίνης με τη βαρύτητα της νόσου (ήπια-μέτρια-σοβαρή).(Chen et al.) Σε μια συστηματική ανασκόπηση σε 601 νεογνά σε 10 μελέτες παρατηρήθηκε αυξημένη καλπροτεκτίνη κοπράνων σε νεογνά με νεκρωτική εντεροκολίτιδα με ευαισθησία της μεθόδου 76-100% και ειδικότητα της μεθόδου 39-96,4%.(Pergialiotis et al.) Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η τιμή της καλπροτεκτίνης είναι στατιστικά πιο υψηλή στην IFNE από ότι στις λειτουργικές γαστρεντερικές διαταραχές και

συγκεκριμένα στο σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου (IBS) (Dabritz et al.). Τέλος, σε μια μελέτη σε ασθενείς με κοιλιοκάκη που δεν είχαν τεθεί σε δίαιτα ελεύθερης γλουτένης φάνηκαν στατιστικά υψηλότερες τιμές καλπροτεκτίνης συγκριτικά με τους ασθενείς που λαμβάνανε τη δίαιτα (Balamtekin et al.)

5.2 Λακτοφερρίνη

Η λακτοφερρίνη των κοπράνων είναι μια πολυλειτουργική σιδηροδεσμευτική πρωτεΐνη, που προέρχεται κυρίως από ουδετερόφιλα, αλλά μπορεί επίσης να εκκρίνεται από αρκετά επιθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου και βρίσκεται σε πολλές βλεννογονικές επιφάνειες και πολλά βιολογικά υγρά (ορός, δάκρυα, μητρικό γάλα, αρθρικό υγρό). (Vrabie and Kane) Η παρουσία φλεγμονής στον εντερικό αυλό ενεργοποιεί τα ουδετερόφιλα που διεισδύουν στις βλεννογονικές επιφάνειες, πράγμα που με τη σειρά του προκαλεί αναλογική αύξηση της συγκέντρωσης της λακτοφερρίνης στα κόπρανα. Η λακτοφερρίνη είναι σταθερή στα κόπρανα τουλάχιστον 48 ώρες και μπορεί να μετρηθεί με ποσοτική ELISA. Όπως και η καλπροτεκτίνη, η λακτοφερρίνη είναι ευαίσθητη στη διάγνωση της ΙΦΝΕ αλλά μη ειδική. Εκτός από την ενεργό ΙΦΝΕ μπορεί να αυξηθεί σε πολλές άλλες διαταραχές όπως η λοιμώδη διάρροια, ο καρκίνος του παχέος εντέρου ή μετά τη χρήση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων. (Lehmann et al.) Αρκετές μελέτες έδειξαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα λακτοφερρίνης σε ενεργό ελκώδη κολίτιδα και νόσο Crohn. Η λακτοφερρίνη έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται καλά με κλινικά, ενδοσκοπικά και ιστολογικά δεδομένα της ΙΦΝΕ. (Levine et al.) Σε μια από τις πρώτες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν για τη σύγκριση της καλπροτεκτίνης και της λακτοφερρίνης ως προγνωστικοί παράγοντες για κλινική υποτροπή της ΙΦΝΕ (Gisbert et al., 2009), όπου συμπεριλήφθηκαν συνολικά 163 ασθενείς με ΙΦΝΕ και η παρακολούθηση διήρκεσε 12 μήνες, η ευαισθησία και η ειδικότητα της καλπροτεκτίνης ήταν 69% ενώ της λακτοφερρίνης 62 και 65%, αντιστοίχως. Ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα και νόσο Crohn με ενεργό φλεγμονή είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα λακτοφερρίνης σε σύγκριση με ασθενείς σε ύφεση. (Walker et al., 2007). Ενώ ασθενείς με ΙΦΝΕ που παρουσιάζουν κλινική υποτροπή κατά τους επόμενους 2 μήνες παρουσιάζουν επίσης σημαντικά υψηλότερες τιμές λακτοφερρίνης (Wright et al.). Για τη διαφορική διάγνωση μεταξύ της ΙΦΝΕ και του ευερέθιστου εντέρου η λακτοφερρίνη είχε ευαισθησία 56-100% και ειδικότητα 61-100%. (Kane et al., 2003) Σε μια άλλη προοπτική πολυκεντρική μελέτη η

λακτοφερρίνη είχε 46% ευαισθησία και 61% ειδικότητα για την πρόβλεψη υποτροπής στην ελκώδη κολίτιδα και 77% ευαισθησία και 68% ειδικότητα στη νόσο Crohn.(Gisbert et al., 2009) Ενώ είναι αμφιλεγόμενο εάν η λακτοφερρίνη μπορεί να είναι σε θέση να αποτελέσει διαφοροδιαγνωστικό παράγοντα μεταξύ της ελκώδους κολίτιδας και της νόσου Crohn.(Levine et al.). Όπως και στην περίπτωση της καλπροτεκτίνης, η λακτοφερρίνη φαίνεται να μην συσχετίζονται με το σημείο εντοπισμού της νόσου.(Lehmann et al.). Σε μια ομάδα 148 παιδιατρικών ασθενών με ΕΚ (n = 62), CD (n = 79) και σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (n = 7) σε σύγκρισή υγιείς μάρτυρες (n = 22),(Walker et al., 2007) οι συγγραφείς διαπίστωσαν ότι η λακτοφερρίνη στα κόπρανα συσχετίζεται με τη ΤΚΕ όταν στοχεύει στην ανίχνευση της κλινικής ενεργότητας της νόσου ($P < 0,001$), αλλά επίσης έδειξε μια στατιστικά σημαντική τάση να είναι υψηλότερη σε ασθενείς που εμφάνισαν κλινική εκδήλωση της νόσου τους εντός 2 μηνών ($845 \mu\text{g} / \text{mL}$) σε σύγκριση με όσους παρέμεινε σε κλινική ύφεση ($190\mu\text{g} / \text{mL}$, $P = 0,003$). Η παρουσία λακτοφερρίνης στα σωματικά υγρά, συμπεριλαμβανομένου του εντερικού αυλού, είναι ανάλογη της ροής των ουδετερόφιλων και η εκτίμησή της μπορεί να αποτελέσει αξιόπιστο βιολογικό δείκτη για τη φλεγμονή. Τα ουδετερόφιλα έχουν αποδειχθεί ότι εμπλέκονται στη διαίωση της φλεγμονής στο έντερο σε οξείες λοιμώξεις που προκαλούνται από σιγκέλλα και σαλμονέλλα και από φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Σε μια μελέτη επιβεβαίωσαν την αυξημένη λακτοφερρίνη κοπράνων σε 96% (25/26) των δειγμάτων από ασθενείς με σιγκέλλα.(Guerrant et al., 1992) Σε πρόσφατη προοπτική μελέτη βρέθηκαν στατιστικά πιο σημαντικά αυξημένα επίπεδα καλπροτεκτίνης σε παιδιά με βακτηριακή γαστρεντερίτιδα σε σύγκριση με ιογενή. Καθώς επίσης έδειξαν ότι η λακτοφερρίνη συσχετίζεται και με τη βαρύτητα της γαστρεντερίτιδας.(Chen et al.).

5.3 S100A12

Το S100A12 (καλγκρανουλίνη C), ένα άλλο μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνών S100 όπως η καλπροτεκτίνη, είναι μια κυτταρολυτική πρωτεΐνη που βρίσκεται σε ανθρώπινα ουδετερόφιλα αλλά παράγονται επίσης και από άλλους τύπους κυττάρων όπως τα μονοκύτταρα (Leach and Day, 2006). Ειδικότερα, επί φλεγμονής το S100A12 απελευθερώνεται σχεδόν αποκλειστικά από τα ουδετερόφιλα. Το εξωκυτταρικό S100A12 έχει προφλεγμονώδη και χημειοτακτική δράση, ιδιότητες που προσελκύουν φλεγμονώδη κύτταρα με αποτέλεσμα να ενεργοποιεί τα ιστιοκύτταρα, διεγείροντας την απελευθέρωση των

κυτοκινών συμπεριλαμβανομένου του όγκου παράγοντα νέκρωσης (TNF-)α (Yang et al., 2001). Η απελευθέρωση της στα κύτταρα του βλεννογόνου του εντέρου συσχετίζεται με τη δραστηριότητα της φλεγμονής (Foell et al., 2008). Αυξημένα επίπεδα S100A12 στο αίμα έχουν παρατηρηθεί σε νοσήματα όπως ρευματοειδής αρθρίτιδα, η νόσος του Kawasaki και η κυστική ίνωση (Meijer et al.). Ενώ επίσης παρατηρούνται υψηλά επίπεδα S100A12 στο αίμα και στα κόπρανα σε παιδιά με ΙΦΝΕ. παρατηρούνται σε έναν αριθμό φλεγμονωδών συνθήκες (Leach et al., 2007). Σε μελέτη του de Jong και των συνεργατών του, η S100A12 των κοπράνων είχε ευαισθησία 96% και ειδικότητα 92% όταν έγινε διάκριση μεταξύ υγιών μαρτύρων και ασθενών με ΙΦΝΕ με σημείο αποκοπής 10μg/g(de Jong et al., 2006). Παρόμοια αποτελέσματα έδειξε στη μελέτη του ο Sidler και συνεργάτες όπου εμφάνιζε υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για τη διάγνωση της ενεργού φλεγμονής στα παιδιά (97% και για τα δύο) χρησιμοποιώντας μια αποκοπή του 10 mg/ g.(Sidler et al., 2008). Άλλες μελέτες έχουν δείξει υψηλότερα επίπεδα S100A12 στα κόπρανα σε ενήλικες με ΙΦΝΕ σε σχέση με τα άτομα με σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS) (Dabritz et al.). Τα διαθέσιμα δεδομένα δείχνουν ότι η μέτρηση της S100A12 στα κόπρανα μπορεί να είναι πολύ χρήσιμη στην διαπίστωση της εντερικής φλεγμονής καθώς επίσης συσχετίζεται με την απώλεια βάρους, τον περιορισμό του ύψους και την καθυστέρηση της εφηβείας(Stephens et al., 2001). Η S100A12 συσχετίστηκε με τη φλεγμονή και τον δείκτη δραστηριότητας της παιδιατρικής Crohn (pCAI) ενώ μειώνεται βαθμιαία όταν τα παιδιά βρίσκονται σε κλινική ύφεση (de Jong et al., 2006). Η ευαισθησία και η ειδικότητα της S100A12 φαίνεται ότι μπορεί να φτάσει το 86% και 96% αντίστοιχα, το οποίο είναι υψηλότερο από την καλπροτεκτίνη. Ενώ μια άλλη μελέτη δείχνει επίσης ότι η S100A12 είναι καλύτερη από την καλπροτεκτίνη σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες (Kaiser et al., 2007). Η S100A12 είναι επίσης αυξημένη σε βακτηριακή γαστρεντερίτιδα αλλά όχι σε ιογενή γαστρεντερίτιδα. Τα τρέχοντα δεδομένα υποδηλώνουν ότι το S100A12 μπορεί να είναι ακριβέστερος δείκτης της φλεγμονής του εντέρου από την καλπροτεκτίνη (Foell et al., 2008). Ωστόσο, τα δεδομένα είναι περιορισμένα και τα αποτελέσματα δεν έχουν επιβεβαιωθεί από άλλους (Manolakis et al.) Παρά τη σταθερότητα και την ένδειξη της υψηλής ευαισθησίας του και ειδικότητα, το S100A12 δεν έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην κλινική πράξη, πιθανόν επειδή δεν έχει αποδειχθεί ότι είναι ανώτερη από την πιο ευρέως προσβάσιμη δοκιμασία της καλπροτεκτίνης (Fengming and Jianbing).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Πρωταρχικός στόχος της συγκεκριμένης μελέτης είναι ο προσδιορισμός των βιοδεικτών των κοπράνων σε παιδιά που προσέρχονται με οξεία γαστρεντερίτιδα και η διαγνωστική ακρίβεια αυτών ανάλογα με το αίτιο της διάρροιας. Καθώς επίσης και η σύγκριση με παιδιά σε έξαρση της ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου.

2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

2.1 Πληθυσμός μελέτης

Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν όλα τα παιδιά ηλικίας <18 ετών, που νοσηλεύτηκαν στη Γ' Παιδιατρική Κλινική του Π.Γ.Ν. "ΑΤΤΙΚΟΝ" από 1η Ιανουαρίου 2017 έως και 31 Μαρτίου 2018 με εμφάνιση συμπτωμάτων οξείας διάρροιας (>2 διαρροϊκές κενώσεις μέσα στο τελευταίο 24ωρο) σε υγιή παιδιά και παιδιά σε έξαρση που πάσχουν από ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Σύμφωνα με την ESPGHAN οξεία γαστρεντερίτιδα ορίζεται η μείωση της συνοχής της σύστασης των κοπράνων (μαλακή ή υδαρής κένωση) και/ή η αύξηση στη συχνότητα των κενώσεων (τυπικά περισσότερες από 3 κενώσεις/24ωρο).

Επίσης συμπερίφθησαν υγιή παιδιά ίδιας ηλικίας (μάρτυρες).

2.2 Μεθοδολογία

Πρόκειται για μια προοπτική μελέτη, κατά της διάρκειας της οποίας όλα τα παιδιά ηλικίας <18ετών κατά την είσοδο τους και κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους ελέγχονταν καθημερινά για συμπτώματα οξείας διάρροιας, δηλαδή αν εμφάνιζαν ένα από τα παρακάτω συμπτώματα:

- υδαρείς κενώσεις με ή χωρίς πρόσμιξη αίματος ή βλέννης
- αυξημένο αριθμό κενώσεων (διπλασιασμός του φυσιολογικού αριθμού κενώσεων/8h)
- διαρροϊκές κενώσεις διάρκειας > 1 24ωρο αλλά < από 5 24ωρα

Συλλογή δείγματος κοπράνων (x2) γινόταν άμεσα με την έναρξη των συμπτωμάτων ή σε διάστημα μικρότερο από 7 ημέρες από κάθε ασθενή, που εμφάνιζε ένα από τα παραπάνω συμπτώματα. Το 1^ο δείγμα κοπράνων εστάλη στο μικροβιολογικό εργαστήριο του νοσοκομείου μας για την ανίχνευση του παθογόνου αιτίου. Για την ανίχνευση ιών διενεργήθηκε ELISA (ροταϊός, αδενοϊός, νοροϊός) με πραγματικού χρόνου αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράση. Ταυτόχρονα μέσω καλλιέργειας κοπράνων πραγματοποιούνταν η ανίχνευση των παθογόνων μικροβίων όπως σαλμονέλλα, σιγκέλλα ή καμπυλοβακτηρίδιο σε ειδικά προετοιμασμένο άγαρ και η ανίχνευση των τοξινών A και B του κλωστηριδίου.

Το 2^ο δείγμα κοπράνων συλλέγονταν για το προσδιορισμό των βιοδεικτών των κοπράνων (καλπροτεκτίνη, λακτοφερρίνη, S100A12) σε ειδικό δοχείο χωρητικότητας 60ml, κατασκευασμένο από διαφανή μη τοξική πολυστερίνη, αποστειρωμένο, αδιάβροχο, χωρίς να περιέχει απορρυπαντικά, συντηρητικά ή υλικά μεταφοράς. Τα δείγματα, εάν δεν εξετάζονταν μέσα σε 72 ώρες, θα έπρεπε να καταψυχθούν στους -20°C. Βιοδείκτες κοπράνων: Η συγκέντρωση της καλπροτεκτίνης, της λακτοφερρίνης, της S100A12 μετρήθηκαν σε δείγματα κοπράνων με τη μέθοδο της ELISA. Όλες οι αναλύσεις θα πραγματοποιηθούν εις διπλούν όπως προβλέπεται από τους κατασκευαστές (Immundiagnostik, Bensheim, Γερμανία)

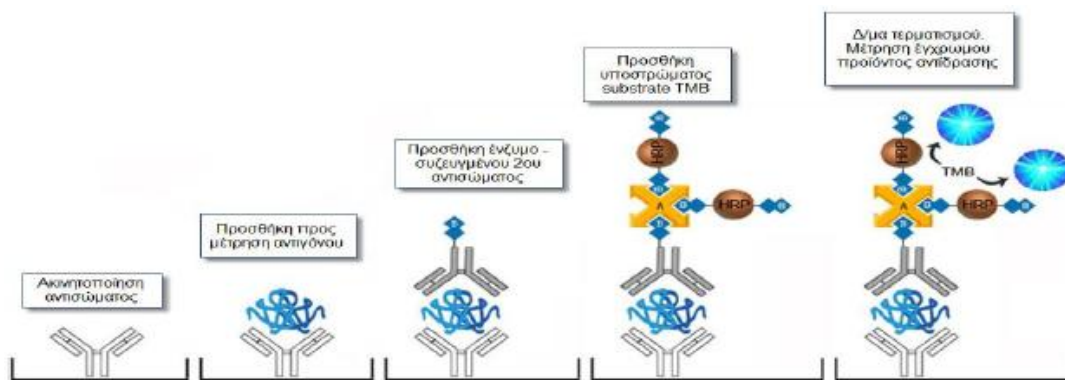
2.3 Προσδιορισμός καλπροτεκτίνης λακτοφερρίνης και S100A12 κοπράνων

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της καλπροτεκτίνης (calprotectin, CAL), εφαρμόζεται η τεχνική της «Sandwich ELISA», μέθοδος υψηλής ευαισθησίας, που επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό αντισωμάτων, αντιγόνων, κυτταροκινών, χημικών ουσιών και ορμονών σε βιολογικά υγρά.

- i. Αντιδραστήρια – όργανα που χρησιμοποιήθηκαν: Φωτόμετρο ELISA, Εξειδικευμένο Elisa Kit για CAL, Τριβλύο των 96 βοθρίων, αυτόματες πιπέτες και tips (1-10μL, 10-100μL, 100-1000μL), eppendorfs των 1.5mL και 2mL, falcons των 50mL, Απιονισμένο ή δυσαπιονισμένο νερό, Vortex, Φυγόκεντρος
- ii. Αρχή μεθόδου:

Η αρχή της μεθόδου έγκειται στην ειδική αλληλεπίδραση αντιγόνου-αντισώματος. Στην ELISA τύπου Sandwich χρησιμοποιούνται δύο διαφορετικά αντισώματα που αναγνωρίζουν διαφορετικούς επιτόπους του αντιγόνου. Τα αντισώματα που χρησιμοποιούνται για την

πρόσδεση και την ανίχνευση των αντιγόνων είναι είτε μονοκλωνικά είτε πολυκλωνικά. Τα μονοκλωνικά αντισώματα αναγνωρίζουν έναν μόνο επίτοπο του αντιγόνου, επιτρέποντας την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση ακόμα και μικρών ποσοτήτων του αντιγόνου. Τα πολυκλωνικά αντισώματα, από την άλλη, χρησιμοποιούνται ως αντισώματα πρόσδεσης. Το πρώτο αντίσωμα ακινητοποιείται στην στερεά επιφάνεια και στη συνέχεια προστίθεται το εξεταζόμενο δείγμα που περιέχει το υπό ανίχνευση αντιγόνο σε άγνωστη συγκέντρωση. Μετά την αντίδραση του πρώτου αντισώματος με το εξεταζόμενο αντιγόνο, ακολουθεί πλύση για να απομακρυνθεί ό,τι δεν δεσμεύτηκε και έπειτα προσθήκη του ενζυμο-συζευγμένου δευτέρου αντισώματος. Στη συνέχεια, επαναλαμβάνεται πλύση και προστίθεται το κατάλληλο υπόστρωμα, το οποίο αντιδρά με το ένζυμο, παράγοντας έγχρωμο προϊόν και έτσι, ανιχνεύεται η ποσότητα του προϊόντος, η οποία είναι ανάλογη αυτής του αντιγόνου που έχει συνδεθεί με το ακινητοποιημένο αντίσωμα. Το προϊόν της αντίδρασης απορροφά στα 450nm.



Εικόνα 1. Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας της sandwich ELISA.

iii. Αναλυτική πορεία:

Τα επίπεδα της καλπροτεκτίνης (CAL) στα δείγματα κοπράνων μετρούνται σε φωτόμετρο ELISA έπειτα από την εφαρμογή εξειδικευμένου Elisa sandwich Kit και αφότου τα αντιδραστήρια, τα πρότυπα και τα δείγματα των ασθενών έχουν προετοιμαστεί σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευαστικής εταιρίας. Πριν την εφαρμογή του πρωτόκολλου τα φυγοκετρημένα δείγματα (3000rpm για 10 λεπτά) και τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) και να έχουν αναμειχθεί επαρκώς. Έπειτα, 100μL από αυτά προστίθενται στα βοθρία του τριβλύου, το οποίο είναι επικαλυμμένο με ένα υψηλής συγγένειας για την CAL μονοκλωνικό αντίσωμα. Το τριβλύο καλύπτεται και αφήνεται να επωαστεί για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το πέρας των 30 λεπτών το υπερκείμενο απομακρύνεται και ξεπλένεται με το διάλυμα πλύσης (5x250μL). Στη συνέχεια,

100μL από το επισημασμένο με υπεροξειδάση προϊόν σύζευξης (cojugate) προστίθεται σε κάθε βοθρίο και το τριβλύο επωάζεται για ακόμα 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Απομακρύνεται ξανά το υπερκείμενο και ξεπλένεται με το διάλυμα πλύσης. Ακολουθεί προσθήκη 100μL υποστρώματος (substrate) τετραμεθυλοβενζιδίνης και επώαση για 10-20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό σημείο. Τέλος, προστίθενται 100μL όξινου διαλύματος τερματισμού και το χρώμα μετατρέπεται από μπλε σε κίτρινο, με την ένταση του να είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση της καλπροτεκτίνης στο δείγμα. Μετράται η απορρόφηση στα 450nm στο φωτόμετρο ELISA και τα αποτελέσματα εκφράζονται σύμφωνα με την πρότυπη καμπύλη.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της λακτοφερρίνης και της S100A12 σε δείγμα κοπράνων γίνεται με την τεχνική της «Sandwich ELISA», με την ίδια αρχή μεθόδου και τα ίδια αντιδραστήρια-όργανα, όπως στην καλπροτεκτίνη.



Εικόνα 2. Απεικόνιση της χρωματικής αλλαγής κατά την αντίδραση του κατάλληλου υποστρώματος με το συζευγμένο με το αντίσωμα ένζυμο (μπλε βοθρία) και κατά την προσθήκη του αντιδραστήριου τερματισμού (κίτρινα βοθρία).

Επίσης για κάθε περιστατικό, που συμπεριελήφθη στη μελέτη συλλέχτηκαν και καταγράφηκαν δημογραφικά δεδομένα των ασθενών (κοινωνικοοικονομικά, οικογενειακό και ατομικό ιστορικό) κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα (Αιματολογικές και βιοχημικές εξετάσεις (συμπεριλαμβανομένων της αιμοσφαιρίνης, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη ορού (CRP), και ηλεκτρολύτες)..Η βαρύτητα της διάρροιας θα εκτιμηθεί με τη κλίμακα σοβαρότητας των Vesikari και Clark κλίμακες των 20 και 24 σημείων αντίστοιχα. Άλλα κλινικά συμπτώματα, όπως πυρετός, έμετος, κοιλιακός πόνος, ημερήσια πρόσληψη θα καταγραφούν. ήπια, μέτρια και σοβαρή γαστρεντερίτιδα. Τέλος για τα παιδιά με ΙΦΝΕ έγινε καταγραφή της βαρύτητας της κλινικής εικόνας βάση το PUCAI Score και PCDAI Score.

3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το στατιστικό πακέτο SAS version 9.4 και SPSS IBM 21. Χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες chi-square και fisher-exact tests για τη διερεύνηση τυχόν συσχέτισης μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών. Τα αποτελέσματα με two-tailed p value <0,05 θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικά.

Μεταβλητές

Συνεχείς μεταβλητές: λευκά αιμοσφαίρια (WBC, K/μl), αιμοπετάλια (PLT, K/μl), αιμοσφαρίνη (Hb, g/dL)

Κατηγορικές μεταβλητές: ηλικία, φύλο, εθνικότητα, παρακολούθηση παιδικού σταθμού, Vesikari Score, παθογόνο αίτιο, C- αντιδρώσα πρωτεΐνη (mg/L), Καλπροτεκτίνη κοπράνων (Calpr, μg/g), Λακτοφερρίνη κοπράνων (Lac, μg/g), S100A12 (μg/g).

Για τον έλεγχο της σχέσης μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε αρχικά το chi-square ή Fisher's exact test.

Στη συνέχεια, δημιουργήθηκε πολυπαραγοντικό μοντέλο λογαριθμικής παλινδρόμησης για να εξεταστεί η πιθανή επίδραση τυχόν συγχυτικών παραγόντων όπως η ηλικία, φύλο, εθνικότητα, η παρακολούθηση παιδικού σταθμού και το Vesikari score στις τιμές της CRP, καλπροτεκτίνης, λακτοφερρίνης και S100 κοπράνων. Η επιλογή των μεταβλητών που συμπεριλήφθηκαν στο μοντέλο εξαρτήθηκε από το πόρισμα των ελέγχων υποθέσεων που προηγήθηκαν.

Για την περαιτέρω διερεύνηση της επίδρασης των βιοδεικτών ανά παθογόνο αίτιο γαστρεντερίτιδας, έγιναν ξεχωριστά πολυπαραγοντικά μοντέλα λογαριθμικής παλινδρόμησης για τα παιδιά με βακτηριακή και για αυτά με ιογενή γαστρεντερίτιδα. Τέλος για τη συγκριτική διερεύνηση των βιοδεικτών σε παιδιά με γαστρεντερίτιδα και ΙΦΝΕ έγιναν ξεχωριστά πολυπαραγοντικά μοντέλα λογαριθμικής παλινδρόμησης χρησιμοποιώντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, φύλο, εθνικότητα και την παρακολούθηση παιδικού σταθμού.

4. ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Στη παρούσα μελέτη τηρήθηκαν όλες οι δεοντολογικές αρχές, που διέπουν την έρευνα σε ανθρώπους και εξασφαλίστηκε η άδεια διεξαγωγής της μελέτης από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας Νοσοκομείου "ΑΤΤΙΚΟΝ", από το οποίο ελήφθησαν τα στοιχεία. Σε κάθε επιστημονική μελέτη για να αποτραπεί κάθε πιθανότητα εμφάνισης χειρισμών, που θα μπορούσαν να βλάψουν τα υποκείμενα που λαμβάνουν μέρος σε αυτήν, θα πρέπει να εφαρμόζονται και να τηρούνται αυστηρά οι αρχές δεοντολογίας, οι οποίες διασφαλίζουν και καθορίζουν τους ηθικούς άξονες μέσα στους οποίους αναπτύσσεται και ολοκληρώνεται μια μελέτη

Η μελέτη έγινε στα πλαίσια της διπλωματικής εργασίας για το μεταπτυχιακό "Κλινική Παιδιατρική και Νοσηλευτική – Έρευνα", χωρίς τη λήψη χρηματοδότησης από οποιονδήποτε φορέα.

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 Περιγραφικά αποτελέσματα

Στην παρούσα μελέτη συμπεριλήφθηκαν τελικά βάσει τα κριτήρια ένταξης 37 παιδιά με οξεία γαστρεντερίτιδα, 36 υγιείς μάρτυρες καθώς επίσης και 22 ασθενείς με ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου που παρουσίαζαν διαρροϊκές κενώσεις στα πλαίσια είτε πρώτης εκδήλωσης της νόσου είτε λόγω υποτροπής.

Η μέση ηλικία των παιδιών με γαστρεντερίτιδα σε μήνες ήταν 46,22 ($3^{10/12}$ ετών) με σταθερή απόκλιση 50,43 μήνες ($SD \pm 4^{1/12}$ ετών). Τα περισσότερα ήταν αγόρια, 21/36 (58,3%). Ελληνικής καταγωγής ήταν τα 28/36 (77,7%) ενώ 8/36 (22,2%) ήταν παιδιά μεταναστών. Από τον εργαστηριακό έλεγχο στους ασθενείς με γαστρεντερίτιδα προκύπτουν τα εξής: μέση τιμή λευκών αιμοσφαιρίων- WBC 12,423 K/μl ($SD \pm 5,148$), μέση τιμή αιμοσφαιρίνης- Hb 12.27 g/dL ($SD \pm 1.4$), μέση τιμή αιμοπεταλίων – PLT 325,969 K/μl ($SD \pm 109,024$). Ενώ η μέση τιμή της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης ήταν 35,51 mg/dl ($SD \pm 46.61$). Από τους βιοδείκτες κοπράνων η μέση τιμή της καλπροτεκτίνης ήταν 1,490 μg/g ($SD \pm 1,913$), η μέση τιμή της λακτοφερρίνης ήταν 75,67 μg/g ($SD \pm 72,59$) και η μέση τιμή της S100A12 28,26 μg/g ($SD \pm$

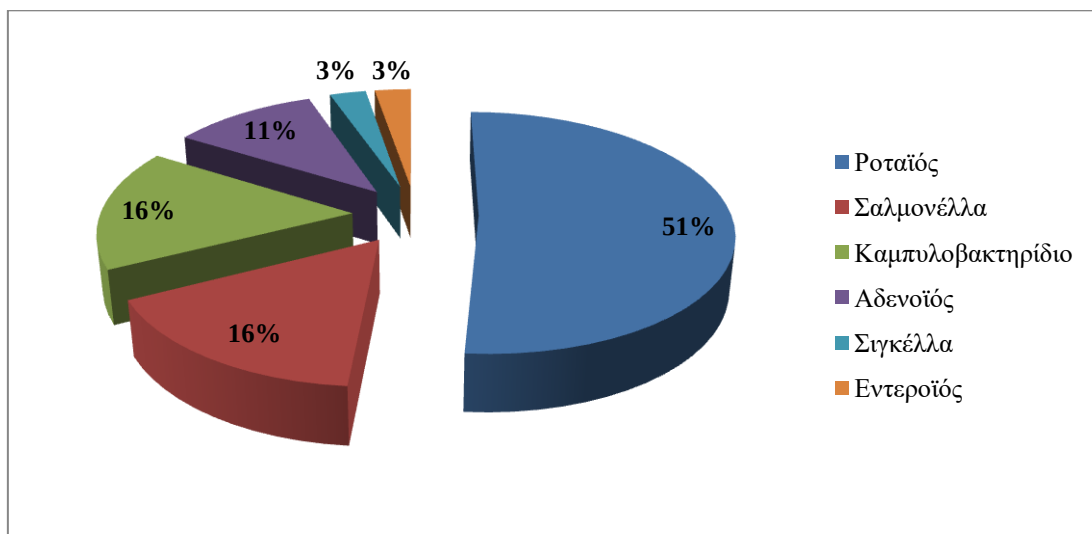
25,28). Καθώς επίσης στο πίνακα φαίνονται αναλυτικά και οι μέσες τιμές στους υγιείς μάρτυρες. Τα αποτελέσματα φαίνονται αναλυτικά στο πίνακα 8.

Πίνακας 8. Μέση τιμή και σταθερή απόκλιση στα παιδιά με οξεία γαστρεντερίτιδα και μάρτυρες

Μεταβλητές	Ασθενείς με γαστρεντερίτιδα		Μάρτυρες	
	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
Ηλικία (μήνες)	46.22	50.43	49.88	50.04
Λευκά αιμοσφαίρια	12,423	5,148	12,071	5,348
Αιμοσφαιρίνη	12.27	1.40	11.89	1.53
Αιμοπετάλια	325,969	109,024	329,850	135,095
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)	35.51	46.61	35.45	40.91
Καλπροτεκτίνη κοπράνων	1490.23	1913.55	632.88	1534.95
Λακτοφερρίνη κοπράνων	75.67	72.59	17.17	42.20
S100A12 κοπράνων	28.26	25.28	6.51	11.66

Από τα 47 παιδιά που πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης στη μελέτη, παθογόνο αίτιο ταυτοποιήθηκε στα 37 παιδιά με γαστρεντερίτιδα (78.7%). Από τα παιδιά που ταυτοποιήθηκε παθογόνο αίτιο τα 19 είχαν ροταϊό (51%), 4 αδενοϊό (11%), 1 εντεροϊό (3%) ενώ από βακτηριακά αίτια 6 παιδιά είχαν σαλμονέλλα (16%), 6 καμπυλοβακτηρίδιο (16%) και 1 σιγκέλλα (3%) (Σχήμα 1). Από την εργαστηριακή διερεύνηση των κοπράνων στα 47 δείγματα σε 7 (14%) βρέθηκε θετικό αντιγόνο κλωστηριδίου (Ag clostridium) ενώ σε 2 (4,2%) δείγματα θετική τοξίνη κλωστηριδίου (Toxin Clostridium).

Σχήμα 1. Κατανομή των παιδιών με γαστρεντερίτιδα ανά αιτιολογικό παράγοντα



Οι ασθενείς με ΙΦΝΕ που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη ήταν συνολικά 22. Τα κορίτσια ήταν 13/22 (59%) ενώ τα αγόρια 9/22 (41%). Από τους 22 ασθενείς με ΙΦΝΕ οι 16 είχαν νόσο Crohn (72%) ενώ οι ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα ήταν 6 (28%).

Η μέση ηλικία των παιδιών με ΙΦΝΕ σε μήνες ήταν 94,69 με σταθερή απόκλιση ($SD \pm 73,62$). Από τον εργαστηριακό έλεγχο στους ασθενείς με ΙΦΝΕ προκύπτουν μέση τιμή λευκών αιμοσφαιρίων-WBC 5,752 K/μl ($SD \pm 7,102$), η μέση τιμή της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης ήταν 32.4mg/dl ($SD \pm 37.8$). Από τους βιοδείκτες κοπράνων η μέση τιμή της καλπροτεκτίνης ήταν 1537μg/g ($SD \pm 2329$), η μέση τιμή της λακτοφερρίνης ήταν 50.12μg/g ($SD \pm 81.24$) και η μέση τιμή της S100A12 23.36μg/g ($SD \pm 26.04$). Τα αποτελέσματα φαίνονται αναλυτικά στο πίνακα 9.

Πίνακας 9. Μέση τιμή και σταθερή απόκλιση στα παιδιά με ΙΦΝΕ και υγιών μαρτύρων

Μεταβλητές	Ασθενείς με ΙΦΝΕ		Μάρτυρες	
	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
Ηλικία (μήνες)	94.69	73.62	49.88	50.04
Λευκά αιμοσφαίρια	5,752	7,102	12,071	5,348
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)	32.4	37.8	35.45	40.91
Καλπροτεκτίνη κοπράνων	1537.17	2329.64	632.88	1534.95
Λακτοφερρίνη κοπράνων	50.12	81.24	17.17	42.20
S100A12 κοπράνων	23.36	26.04	6.51	11.66

5.2 Στατιστικά Αποτελέσματα

Για τον έλεγχο της σχέσης μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε αρχικά το chi-square ή Fisher's exact test και δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών-μαρτύρων στην ηλικία, στο φύλο, στην εθνικότητα, στην παρακολούθηση παιδικού σταθμού και μεταξύ της C- αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP).

Στατιστικά σημαντική διαφορά ($p= 0,006$), αποδείχθηκε ότι είχαμε στη κλίμακα βαρύτητας της γαστρεντερίτιδας σύμφωνα με τη Vesikari Score ανάμεσα στους ασθενείς-μάρτυρες σε επίπεδο σημαντικότητας $p<0,05$

Καθώς επίσης όπως φαίνεται στο παρακάτω πίνακα και οι 3 βιοδείκτες κοπράνων, η καλπροτεκτίνη, η λακτοφερρίνη και η S100A12 έχουν στατιστική σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών- μαρτύρων ($P<0,001$). Πίνακας 10

Πίνακας 10.

Μεταβλητές	Ασθενείς (N)	Μάρτυρες (N)	p-value (chi-square)
Ηλικία (μήνες)			0.46
<12	10	7	
12-36	12	13	
>36	14	16	
Φύλο			0.48
Άρρεν	21	18	
Θήλυ	15	18	
Εθνικότητα			0.59
Ελληνική	28	26	
Άλλη	8	10	
Παρακολούθηση παιδικού σταθμού			0.10
Ναι	16	23	
Όχι	20	13	
Vesikari score			0.006
<11	29	36	
11-15	7	0	
≥16	0	0	
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)			0.25
<50	25	12	
≥50	7	7	
Καλπροτεκτίνη κοπράνων			<0.0001
<200	5	23	
≥200	31	13	
Λακτοφερρίνη κοπράνων			<0.0001
<7.25	6	24	
≥7.25	30	12	
S100A12 κοπράνων			<0.0001
<10	13	29	
≥10	23	7	

Για την περαιτέρω διερεύνηση της επίδρασης των βιοδεικτών ανά παθογόνο αίτιο της γαστρεντερίτιδας, έγιναν ξεχωριστά πολυπαραγοντικά μοντέλα λογαριθμικής παλινδρόμησης για τα παιδιά με βακτηριακή και για αυτά με ιογενή γαστρεντερίτιδα χρησιμοποιώντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, φύλο, εθνικότητα και την παρακολούθηση παιδικού σταθμού. Πίνακας 11

Πίνακας 11. Πολυπαραγοντικό μοντέλο λογαριθμικής παλινδρόμησης στα παιδιά με γαστρεντερίτιδα

Μεταβλητές*	Γαστρεντερίτιδα (σύνολο ασθενών)				Βακτηριακή γαστρεντερίτιδα			Ιογενής γαστρεντερίτιδα		
	ORs	95% CIs			ORs	95% Cis		ORs	95% Cis	
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)	<50	Αναφορά			Αναφορά			Αναφορά		
	≥50	0.85	0.41	1.74	1.91	0.44	8.31	0.56	0.14	2.18
Καλπροτεκτίνη	<200	Αναφορά			Αναφορά			Αναφορά		
	≥200	3.46	1.44	8.32	1.87	0.44	7.89	4.94	1.27	19.23
Λακτοφερίνη	<7.25	Αναφορά			Αναφορά			Αναφορά		
	≥7.25	2.86	1.32	6.24	2.36	0.56	9.98	4.25	1.23	14.75
S100A12	<10	Αναφορά			Αναφορά			Αναφορά		
	≥10	2.20	1.18	4.10	10.23	1.88	55.64	1.46	0.53	4.04

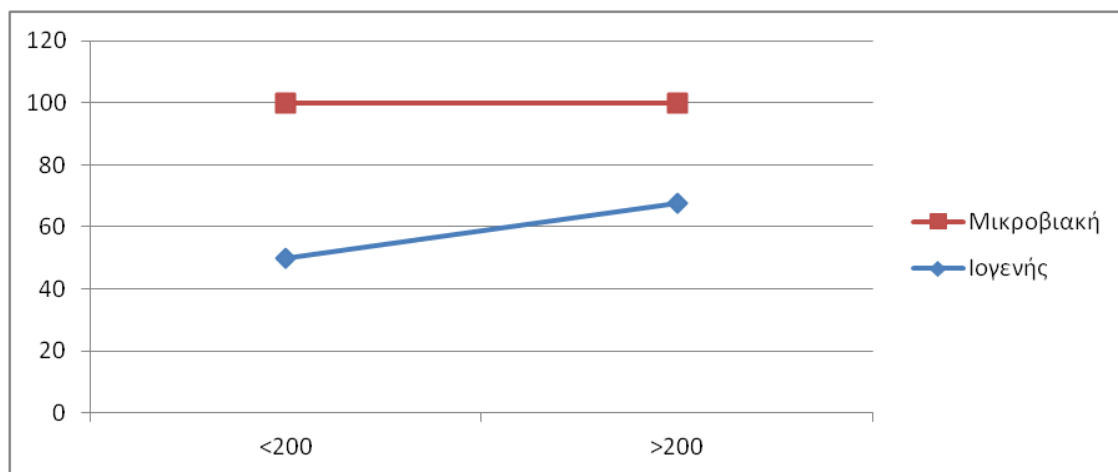
*Σε όλα τα μοντέλα συγχυτικοί παράγοντες: ηλικία, φύλο, εθνικότητα, παρακολούθηση παιδικού σταθμού

Από τη πολυπαραγοντική ανάλυση η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) η θετική τιμή ήταν μη-στατιστικά σημαντική για όλες τις γαστρεντερίτιδες και δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ βακτηριακών και ιογενών. Θετική τιμή της καλπροτεκτίνης (≥200 μg/g) σχετίστηκε με 3 πλάσιο κίνδυνο (ΣΚ:3.46, 95% ΟΑ: 1.44-8.32) εμφάνισης γαστρεντερίτιδας ενώ ο κίνδυνος ήταν 4πλάσιος (ΣΚ: 4.94, 95% ΟΑ:1.27-19.23) για τις ιογενείς και μη-στατιστικά σημαντικός για τη βακτηριακή γαστρεντερίτιδα. Επίσης η θετική τιμή της λακτοφερρίνης (≥7.25μg/g)

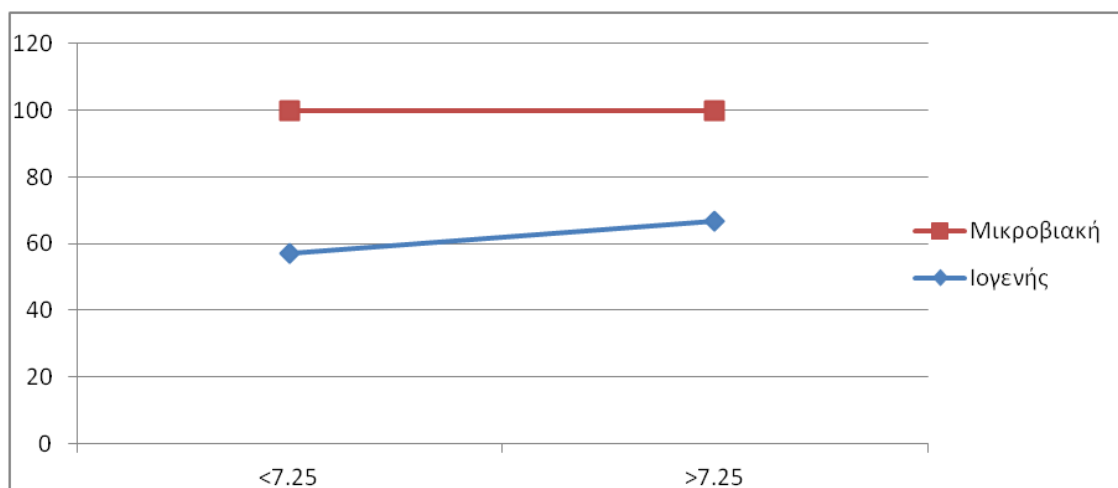
σχετίστηκε με 2πλάσιο κίνδυνο (ΣΚ:2.86, 95% ΟΑ: 1.32-6.24) εμφάνισης γαστρεντερίτιδας ενώ ο κίνδυνος ήταν 4πλάσιος(ΣΚ:4.25, 95% ΟΑ: 1.23-14.75) για τις ιογενείς και μη στατιστικά σημαντικός για τις βακτηριακές. Θετική τιμή της S100A12 ($\geq 10\mu\text{g/g}$) σχετίστηκε με 2πλάσιο κίνδυνο (ΣΚ: 2.20, 95%ΟΑ: 1.18-4.10) εμφάνισης γαστρεντερίτιδας συνολικά, ενώ ο κίνδυνος ήταν 10πλάσιος (ΣΚ: 10.23, 95%ΟΑ: 1.88-55.64) για τη βακτηριακή και μη-στατιστικά σημαντικός για την ιογενή γαστρεντερίτιδα. Πίνακας 11

Στα παρακάτω γραφήματα φαίνεται για κάθε ένα βιοδείκτη ξεχωριστά πως διαφοροποιούνται βάση ιογενούς ή βακτηριακής γαστρεντερίτιδας. Στον άξονα x αναφέρονται οι 2 τιμές αναφοράς για κάθε ένα βιοδείκτη ξεχωριστά με μονάδα μέτρησης $\mu\text{g/g}$ και στον άξονα y φαίνεται το ποσοστό της μέσης κατανομής του κάθε βιοδείκτη. Στο γράφημα 3 της S100A12 κοπράνων αξίζει να σημειωθεί ότι θετική τιμή δηλ. $>10\mu\text{g/g}$ είχε το 85% των βακτηριακών γαστρεντερίτιδων ενώ το 54% των ιογενών.

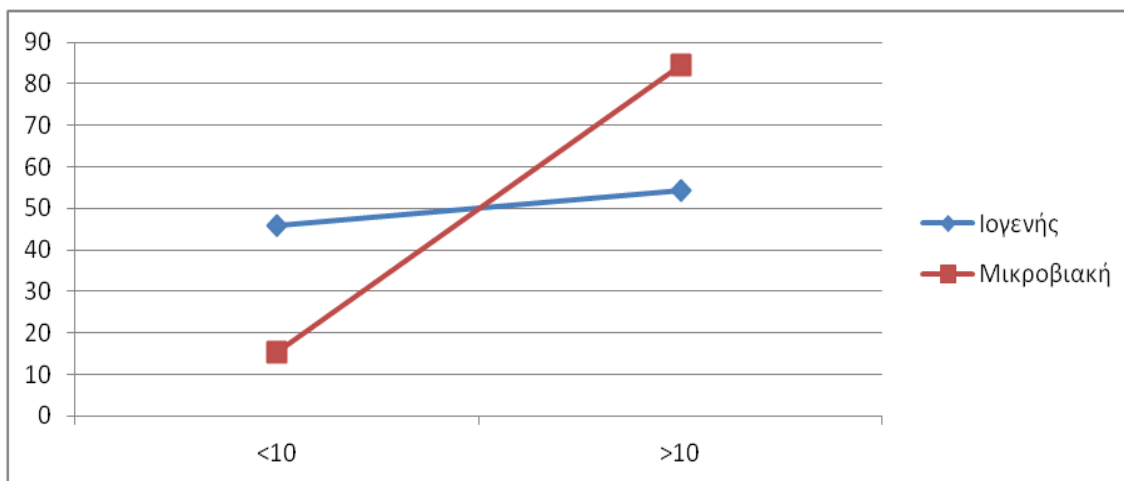
Γράφημα 1. Καλπροτεκτίνη κοπράνων



Γράφημα 2. Λακτοφερρίνη κοπράνων

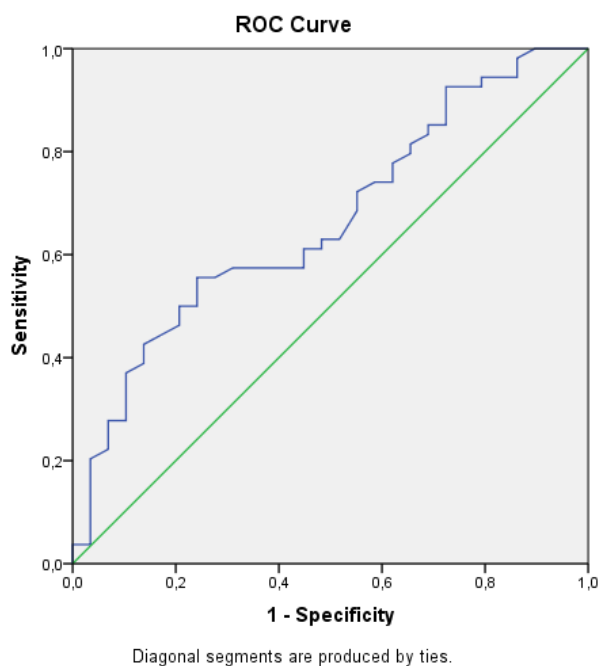


Γράφημα 3. S100A12



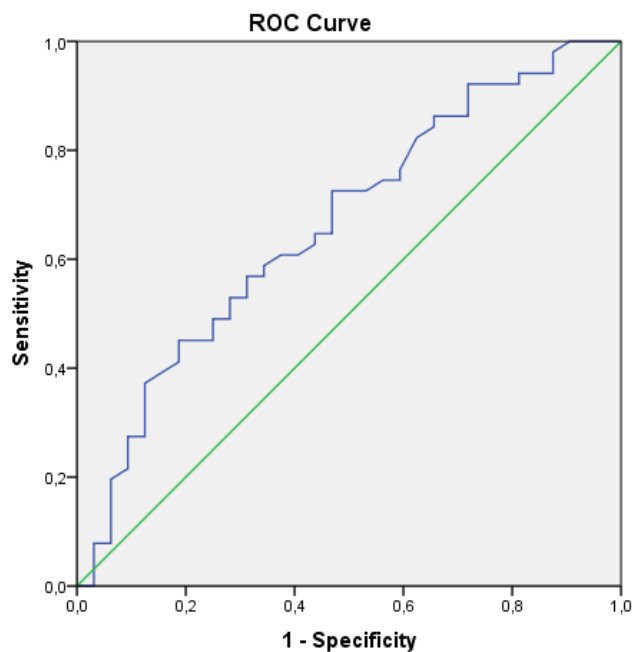
Καμπύλες ROC- Λειτουργικού χαρακτηριστικού δέκτη

Γράφημα 4. Καλπροτεκτίνη κοπράνων



ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ: 58%, ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ: 60%

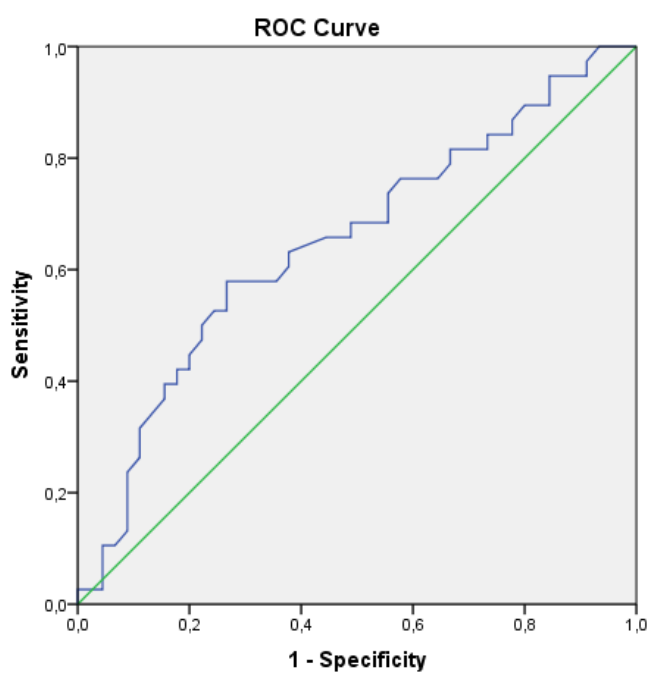
Γράφημα 5. Λακτοφερρίνη κοπράνων



Diagonal segments are produced by ties.

ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ: 70%, ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ: 65%

Γράφημα 6. S100A12 κοπράνων



Diagonal segments are produced by ties.

ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ: 60%, ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ: 80%

Τέλος, για τη διερεύνηση των βιοδεικτών στα παιδιά με ΙΦΝΕ εφαρμόστηκε επίσης πολυπαραγοντική ανάλυση η οποία ανέδειξε τα εξής: η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη(CRP) ήταν μη στατιστικά σημαντική η διαφορά μεταξύ των ασθενών και των υγιών μαρτύρων ενώ η θετική τιμή της καλπροτεκτίνης συσχετίστηκε με 16πλάσιο κίνδυνο (ΣΚ: 16.51, 95%ΟΑ: 3.27-83.38) εμφάνισης ΙΦΝΕ συνολικά. Η θετική τιμή της λακτοφερρίνης συσχετίστηκε με 10πλάσιο κίνδυνο (ΣΚ: 10.48, 95%ΟΑ: 2.68-41.05). Τέλος, η S100A12 συσχετίστηκε με 60πλάσιο κίνδυνο (ΣΚ: 68.69, 95%ΟΑ: 7.64-617.34) εμφάνισης ΙΦΝΕ. Πίνακας 12

Πίνακας 12. Πολυπαραγοντικό μοντέλο λογαριθμικής παλινδρόμησης στα παιδιά με ΙΦΝΕ

Μεταβλητές*		ΙΦΝΕ vs. υγιείς μάρτυρες		
		ORs	95% CIs	
C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)	<50	Reference		
	≥50	0.29	0.06	1.34
Καλπροτεκτίνη κοπράνων	<200	Reference		
	≥200	16.51	3.27	83.38
Λακτοφερρίνη κοπράνων	<7.25	Reference		
	≥7.25	10.48	2.68	41.05
S100A12 κοπράνων	<10	Reference		
	≥10	68.69	7.64	617.34

*Σε όλα τα μοντέλα συγχυτικοί παράγοντες: ηλικία, φύλο, εθνικότητα, παρακολούθηση παιδικού σταθμού

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η συγκεκριμένη μελέτη πραγματοποιήθηκε στη Παιδιατρική Κλινική του Π.Γ.Ν.«ΑΤΤΙΚΟΝ» και είναι η πρώτη στη χώρα μας που παρουσιάζει το προσδιορισμό τριών βιοδεικτών κοπράνων (καλπροτεκτίνη, λακτοφερρίνη, S100A12) σε παιδιατρικούς ασθενείς με οξεία γαστρεντερίτιδα. Καθώς επίσης και τη χρήση τους στη διαφοροδιάγνωση μεταξύ ιογενούς και βακτηριακής γαστρεντερίτιδας. Τέλος, η συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί από τις ελάχιστες στην οποία προσδιορίζονται και οι τρεις βιοδείκτες ταυτόχρονα σε παιδιατρικούς ασθενείς με ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες.

Οι βιοδείκτες κοπράνων είναι γνωστοί, κυρίως για τη χρήση τους ως μη επεμβατικοί δείκτες για την διάγνωση και τη παρακολούθηση της ιδιοπαθούς φλεγμονώδους νόσου του εντέρου που αρχικά χρησιμοποιήθηκε στη κλινική πράξη στους ενήλικες και τα τελευταία χρόνια και στους παιδιατρικούς ασθενείς (Wright et al.). Ο πιο συχνός και κοινά αποδεκτός δείκτης που έχει χρησιμοποιηθεί στη κλινική πράξη είναι η καλπροτεκτίνη κοπράνων. Η καλπροτεκτίνη κοπράνων είναι μια μικρή πρωτεΐνη δέσμευσης ασβεστίου που ανήκει στην οικογένεια S100 (S100 A8/A9) και είναι άφθονη κυρίως στα ουδετερόφιλα αλλά και στα μονοκύτταρα στο κυτταρόπλασμα και στα επιθηλιακά κύτταρα. Η καλπροτεκτίνη μπορεί να αυξηθεί σε διάφορες κλινικές οντότητες που επηρεάζεται το γαστρεντερικό σύστημα όπως η ΙΦΝΕ, ο καρκίνος, η γαστρεντερίτιδα και η χρήση ΜΣΑΦ (Lehmann et al.). Η φυσιολογική τιμή της καλπροτεκτίνης κοπράνων θεωρείται $<50 \mu\text{g} / \text{g}$. Ωστόσο, υπάρχει μεγάλη ποικιλία στον υγιή πληθυσμό ανάλογα με την ηλικία των ασθενών, καθώς φαίνεται ότι είναι υψηλότερο στη παιδική ηλικία, δηλαδή πριν από 5 έτη (όταν αρχίζει η ευθυγράμμιση με τις τιμές των ενηλίκων), πιθανώς λόγω αύξησης της διαπερατότητας στον εντερικό βλεννογόνο και της διαφοράς στην εντερική χλωρίδα. Σε παιδιά από 2 έως 9 ετών φυσιολογικό μπρέι να θεωρηθεί εάν η τιμή είναι $<166 \mu\text{g} / \text{g}$, ενώ από 10-20 $<51 \mu\text{g} / \text{g}$ (D'Angelo et al.) Γενικά θεωρείται ως παθολογική τιμή $>200 \mu\text{g/g}$ (El-Matary et al.). Τα τελευταία χρόνια όλο και πιο πολλοί βιοδείκτες μελετώνται στην παιδιατρική κοινότητα, ως προς την ειδικότητα και την ευαισθησία τους, για την ανεύρεση φλεγμονής του εντερικού βλεννογόνου όπως η λακτοφερρίνη και η S100A12 (Musci et al.) Η λακτοφερρίνη η οποία είναι μια πρωτεΐνη δέσμευσης σιδήρου καλύπτει την περισσότερη επιφάνεια του βλεννογόνου και αποτελεί βασικό στοιχείο των ουδετερόφιλων κοκκιοκυττάρων και ενεργοποιείται σε φλεγμονή της

εντερικής οδού. Οι τιμές της λακτοφερρίνης φαίνεται ότι αυξάνονται περισσότερο σε ασθενείς με ΙΦΝΕ από ότι σε άτομα με σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου (IBS) (Vrabie and Kane). Επίσης οι περισσότερες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, κυρίως σε ενήλικο πληθυσμό, είναι για τη διάγνωση και τη παρακολούθηση της ενεργότητας της ΙΦΝΕ, ενώ φάνηκε ότι μπορεί να καθορίσει ακόμα και την ανταπόκριση στη θεραπευτική προσέγγιση. Η φυσιολογική τιμή στη οποία αναφέρονται σχεδόν όλες οι μελέτες είναι $<7.25\mu\text{g/g}$. (Wright et al.) Σε μια μετα- ανάλυση του 2009 η ευαισθησία και η ειδικότητα της λακτοφερρίνης για την ανεύρεση ενεργού φλεγμονής στο έντερο ήταν 80% και 82% αντίστοιχα (Gonsalves et al., Langhorst and Boone, Pfefferkorn et al.) Η λακτοφερρίνη είναι μη ειδική για τη διάγνωση της ΙΦΝΕ καθώς μπορεί και αυξάνεται και σε εντερικές λοιμώξεις όπως σε λοίμωξη από σαλμονέλλα ή σιγκέλλα (Chen et al.). Τέλος η S100A12 ή αλλιώς καλγκρανουλίνη C κοπράνων δεν έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην κλινική πράξη οπότε και τα δεδομένα είναι περιορισμένα, παρά τη σταθερότητα και την ένδειξη της υψηλής ευαισθησίας της και ειδικότητα της. (Musci et al.) Η S100A12 είναι ένα ενδογενές μόριο του εντερικού ενδοθηλίου που απελευθερώνεται επί φλεγμονής σχεδόν αποκλειστικά από τα ουδετερόφιλα. Τα τρέχοντα δεδομένα υποδηλώνουν ότι το S100A12 μπορεί να είναι ακριβέστερος δείκτης της φλεγμονής του εντέρου από την καλπροτεκτίνη, καθώς η ευαισθησία και η ειδικότητα μπορεί να φθάσει 86% και 96% αντίστοιχα, ποσοστό υψηλότερο από τη καλπροτεκτίνη (Kaiser et al., 2007). Ενώ μελέτες έχουν δείξει επίσης ότι η S100A12 είναι αυξημένη σε βακτηριακή γαστρεντερίτιδα αλλά όχι σε ιογενή γαστρεντερίτιδα. Η S100A12 συσχετίζεται καλύτερα με την εντερική φλεγμονή από την καλπροτεκτίνη ή σε σύγκριση με άλλους βιοδείκτες (Fengming and Jianbing). Για την αξιολόγηση της εντερικής φλεγμονής ως φυσιολογική τιμή έχει οριστεί το όριο $<10\mu\text{g/g}$ το οποίο ισχύει και για τα παιδιά και για τους ενήλικες. (Day et al.)

Στη δική μας μελέτη, αρχικά συμπεριλήφθησαν 47 παιδιά με γαστρεντερίτιδα (εκ των οποίων στα 36 παιδιά ταυτοποιήθηκε παθογόνο αίτιο) και 36 ως υγιείς μάρτυρες. Οι ιογενείς γαστρεντερίτιδες ήταν οι πιο συχνές από ότι οι μικροβιακές και το πιο συχνό παθογόνο ήταν ο ροταϊός το οποίο συνάδει με τη διεθνή βιβλιογραφία, καθώς αποτελεί το πιο συχνό αίτιο γαστρεντερίτιδας στην Ευρώπη σε παιδιά <5 ετών. (Guarino et al.)

Από τον έλεγχο της σχέσης μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών όπου εφαρμόστηκε chi-square test μεταξύ των ασθενών με γαστρεντερίτιδα σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες δεν

παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ηλικία, στο φύλο, στην εθνικότητα καθώς επίσης δε υπήρχε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την C- αντιδρώσα πρωτεΐνη. Είναι γνωστό ότι η CRP δεν μπορεί να βοηθήσει στη διαφοροδιάγνωση του παθογόνου αιτίου της γαστρεντερίτιδας (Guarino et al., 2008). Ενώ η κλίμακα βαρύτητας κατά Vesikari, όπου περιλαμβάνει συμπτώματα όπως διάρροια, έμετους, κοιλιακό άλγος και τον πυρετό, ήταν στατιστικά σημαντική η διαφορά ανάμεσα σε ασθενείς-μάρτυρες ($P = 0,006$). Η κλίμακα Vesikari αποτελεί ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο στη παιδιατρική κλινική πράξη και μπορεί να βοηθήσει στη διαχείριση των γαστρεντερίτιδων πριν ακόμα και από την ταυτοποίηση του παθογόνου αιτίου (Shim et al.).

Όσον αφορά στο προσδιορισμό των βιοδεικτών κοπράνων στα παιδιά με γαστρεντερίτιδα φάνηκε να επηρεάζονται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. Αυτό το αποτέλεσμα έρχεται να επιβεβαιώσει μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε παιδιατρικούς ασθενείς, κυρίως με τη καλπροτεκτίνη και τελευταία με τη λακτοφερρίνη, ότι οι βιοδείκτες κοπράνων μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εργαλεία στη διάγνωση της γαστρεντερίτιδας και στη διαχείρισή τους.(Chen et al., Chen et al.)

Όσον αφορά το ερώτημα εάν οι βιοδείκτες κοπράνων μπορούν να διαχωρίσουν την ιογενή από τη μικροβιακή γαστρεντερίτιδα είχαμε κάποια πολύ ενδιαφέροντα αποτελέσματα με την εφαρμογή του πολυπαραγοντικού μοντέλου λογαριθμικής παλινδρόμησης. Η τιμή της καλπροτεκτίνης και της λακτοφερρίνης κοπράνων φάνηκε να πιο υψηλή στις ιογενείς σε σύγκριση με τις βακτηριακές γαστρεντερίτιδες. Η αντίφαση μεταξύ του ανωτέρω μοντέλου και των αποτελεσμάτων δεν προκαλεί ιδιαίτερη έκπληξη, παρότι και η καλπροτεκτίνη και η λακτοφερρίνη σε άλλες μελέτες φάνηκαν να είναι πιο αυξημένες στις βακτηριακές γαστρεντερίτιδες(Chen et al., Chen et al., Duman et al.) καθώς το δείγμα της μελέτης αποτελούταν συνολικά από 37 ασθενείς εκ των οποίων οι 24 είχαν ιογενή γαστρεντερίτιδα και μόλις 13 βακτηριακή.

Αξιοσημείωτο της μελέτης αυτής είναι ότι παρότι οι ιογενείς γαστρεντερίτιδες ήταν περισσότερες σε αριθμό από ότι οι βακτηριακές, η S100A12 κοπράνων ήταν 10 φορές πιο αυξημένη στις βακτηριακές από ότι στις ιογενείς. Αυτό το αποτέλεσμα έρχεται να συμφωνήσει με την άποψη των τελευταίων δεδομένων πως η S100A12 είναι αυξημένη σε βακτηριακή γαστρεντερίτιδα αλλά όχι σε ιογενή γαστρεντερίτιδα και μπορεί συσχετίζεται καλύτερα με την

εντερική φλεγμονή από την καλπροτεκτίνη ή σε σύγκριση με άλλους βιοδείκτες(Fengming and Jianbing).

Επίσης, στην ομάδα των παιδιών με ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες παρατηρήσαμε ότι η CRP δεν είχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Ενώ οι τιμές της καλπροτεκτίνης, της λακτοφερρίνης και της S100A12 ήταν στατιστικά σημαντικά πιο υψηλές από τους μάρτυρες. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι ότι και σε αυτή την ομάδα η S100A12 ήταν πολύ πιο υψηλή σε σύγκριση με τη καλπροτεκτίνη και τη λακτοφερρίνη κοπράνων αποδεικνύοντας πως αποτελεί πιο ευαίσθητο δείκτη της φλεγμονής του εντέρου από τους άλλους βιοδείκτες.(Vrabie and Kane)

Συνοψίζοντας, είναι σαφές πως η παρούσα μελέτη παρουσιάζει κάποιους περιορισμούς ιδίως όσον αφορά το δείγμα της μελέτης, και τα αποτελέσματα της αφορούν ουσιαστικά αυτό το δείγμα, παρ'όλα αυτά αποτελεί μια από τις ελάχιστες που πραγματοποιούνται σε παιδιά με γαστρεντερίτιδα με ταυτόχρονη σύγκριση 3 βιοδεικτών.

Καίρια ερωτήματα μένουν να απαντηθούν στο μέλλον που αφορά όχι μόνο στη διάγνωση και τη παρακολούθηση της ελκώδους κολίτιδας και της νόσου Crohn αλλά και τη χρησιμότητα των βιοδεικτών αυτών και σε άλλες κλινικές οντότητες. Υπογραμμίζεται η ανάγκη για τη διενέργεια και άλλων μελετών που θα διερευνήσουν το ρόλο της S100A12 στη φλεγμονή του εντέρου και αν μπορεί να αντικαταστήσει το ρόλο της καλπροτεκτίνης. Επίσης μελέτες σε φυσιολογικά παιδιά ώστε να καθοριστούν φυσιολογικές τιμές ανά ηλικιακή ομάδα κρίνεται σκόπιμο για τη μακροπρόθεσμη χρησιμότητα των βιοδεικτών των κοπράνων στο μέλλον.

S100A12 : ΕΝΑΣ ΑΞΙΟΠΙΣΤΟΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ ΚΟΠΡΑΝΩΝ ΣΤΗ ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ

ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΙΟΓΕΝΟΥΣ - ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΤΙΔΑΣ

Εισαγωγή: Η οξεία γαστρεντερίτιδα είναι από τις πιο συχνές λοιμώξεις της παιδικής ηλικίας. Η διαφορική διάγνωση μεταξύ ιογενούς και βακτηριακής γαστρεντερίτιδας είναι δύσκολη με αποτέλεσμα την καθυστέρηση στην αντιμετώπιση των ασθενών. Η καλπροτεκτίνη αποτελεί το πρώτο βιοδείκτη κοπράνων που χρησιμοποιήθηκε στη διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με ιδιοπαθή φλεγμονώδη νόσο του εντέρου.

Σκοπός: Προσδιορισμός βιοδεικτών κοπράνων (καλπροτεκτίνη, λακτοφερρίνη, S100A12) σε παιδιά με οξεία γαστρεντερίτιδα και η χρήση τους στο διαχωρισμό ιογενούς-μικροβιακής αιτιολογίας.

Υλικό και Μέθοδος: Προοπτική μελέτη που διεξήχθη από τον 01/2017 έως και 03/2018. Συλλέχθηκαν επιδημιολογικά και κλινικά δεδομένα από ασθενείς και μάρτυρες. Η μέτρηση των βιοδεικτών στα κόπρανα έγινε με τη μέθοδο ELISA.

Αποτελέσματα: Συμπεριελήφθησαν 37 ασθενείς με γνωστή αιτιολογική διάγνωση οξείας γαστρεντερίτιδας και 37 υγιείς-μάρτυρες ίδιας ηλικίας. Το 62% των ασθενών έπασχαν από ιογενή γαστρεντερίτιδα. Τα αγόρια υπερείχαν ως προς τα κορίτσια (58,8%). Η συγκέντρωση της καλπροτεκτίνης, της λακτοφερρίνης και της S100A12 στα κόπρανα ήταν υψηλότερη στους ασθενείς σε σχέση με τους μάρτυρες ($p < 0.0001$), ενώ η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη ήταν μη στατιστικά σημαντική ($p = 0.27$). Μόνο η S100A12 διέφερε σημαντικά μεταξύ παιδιών με ιογενή και βακτηριακή γαστρεντερίτιδα. Θετική τιμή της S100A12 ($\geq 10 \mu\text{g/g}$) σχετίστηκε με 2πλάσιο κίνδυνο (ΣΚ: 2.20, 95%ΟΑ: 1.18-4.10) εμφάνισης γαστρεντερίτιδας συνολικά, ενώ ο κίνδυνος ήταν 10πλάσιος (ΣΚ: 10.23, 95%ΟΑ: 1.88-55.64) για τη βακτηριακή και μη-στατιστικά σημαντικός για την ιογενή γαστρεντερίτιδα.

Συμπεράσματα: Από τους βιοδείκτες κοπράνων, η S100A12 φαίνεται ότι αποτελεί τον πιο αξιόπιστο δείκτη για την αιτιολογική διερεύνηση της οξείας γαστρεντερίτιδας στα παιδιά.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

7. ASLAN, A., KURUGOL, Z., CETIN, H., KARAKASLILAR, S. & KOTUROGLU, G. Comparison of Vesikari and Clark scales regarding the definition of severe rotavirus gastroenteritis in children. *Infect Dis (Lond)*, 47, 332-7.
8. BALAMTEKIN, N., BAYSOY, G., USLU, N., ORHAN, D., AKCOREN, Z., OZEN, H., GURAKAN, F., SALTIK-TEMIZEL, I. N. & YUCE, A. Fecal calprotectin concentration is increased in children with celiac disease: relation with histopathological findings. *Turk J Gastroenterol*, 23, 503-8.
9. C., C. (2009) Diagnostic Considerations in Pediatric Inflammatory Bowel Disease Management. *Gastroenterology & Hepatology*. 2009;5(11):775-783.
10. CANANI, R. B., TERRIN, G., RAPACCIUOLO, L., MIELE, E., SIANI, M. C., PUZONE, C., COSENZA, L., STAIANO, A. & TRONCONE, R. (2008) Faecal calprotectin as reliable non-invasive marker to assess the severity of mucosal inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis*, 40, 547-53.
11. CHEN, C. C., CHANG, C. J., LIN, T. Y., LAI, M. W., CHAO, H. C. & KONG, M. S. Usefulness of fecal lactoferrin in predicting and monitoring the clinical severity of infectious diarrhea. *World J Gastroenterol*, 17, 4218-24.
12. CHEN, C. C., HUANG, J. L., CHANG, C. J. & KONG, M. S. Fecal calprotectin as a correlative marker in clinical severity of infectious diarrhea and usefulness in evaluating bacterial or viral pathogens in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 55, 541-7.
13. CHURGAY, C. A. & AFTAB, Z. Gastroenteritis in children: Part 1. Diagnosis. *Am Fam Physician*, 85, 1059-62.
14. D'ANGELO, F., FELLE, C. & FROSSARD, J. L. Calprotectin in Daily Practice: Where Do We Stand in 2017? *Digestion*, 95, 293-301.
15. DABRITZ, J., GERNER, P., ENNINGER, A., CLASSEN, M. & RADKE, M. Inflammatory Bowel Disease in Childhood and Adolescence. *Dtsch Arztebl Int*, 114, 331-338.
16. DABRITZ, J., MUSCI, J. & FOELL, D. Diagnostic utility of faecal biomarkers in patients with irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol*, 20, 363-75.
17. DAY, A. S., EHN, M., GEARRY, R. B., LEMBERG, D. A. & LEACH, S. T. Fecal S100A12 in healthy infants and children. *Dis Markers*, 35, 295-9.
18. DE JONG, N. S., LEACH, S. T. & DAY, A. S. (2006) Fecal S100A12: a novel noninvasive marker in children with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, 12, 566-72.
19. DENNEHY, P. H. (2005) Acute diarrheal disease in children: epidemiology, prevention, and treatment. *Infect Dis Clin North Am*, 19, 585-602.
20. DOMMETT, R., ZILBAUER, M., GEORGE, J. T. & BAJAJ-ELLIOTT, M. (2005) Innate immune defence in the human gastrointestinal tract. *Mol Immunol*, 42, 903-12.
21. DUMAN, M., GENCPINAR, P., BICMEN, M., ARSLAN, N., OZDEN, O., UZUM, O., CELIK, D., SAYINER, A. A. & GULAY, Z. Fecal calprotectin: can be used to distinguish between bacterial and viral gastroenteritis in children? *Am J Emerg Med*, 33, 1436-9.
22. EL-MATARY, W., ABEJ, E., DEORA, V., SINGH, H. & BERNSTEIN, C. N. Impact of Fecal Calprotectin Measurement on Decision-making in Children with Inflammatory Bowel Disease. *Front Pediatr*, 5, 7.
23. FELL, J. M., MUHAMMED, R., SPRAY, C., CROOK, K. & RUSSELL, R. K. Management of ulcerative colitis. *Arch Dis Child*, 101, 469-74.
24. FENGMING, Y. & JIANBING, W. Biomarkers of inflammatory bowel disease. *Dis Markers*, 2014, 710915.
25. FOELL, D., WITTKOWSKI, H., REN, Z., TURTON, J., PANG, G., DAEBRITZ, J., EHRCHEN, J., HEIDEMANN, J., BORODY, T., ROTH, J. & CLANCY, R. (2008) Phagocyte-specific S100 proteins are released from affected mucosa and promote immune responses during inflammatory bowel disease. *J Pathol*, 216, 183-92.

26. FONSECA, B. K., HOLDGATE, A. & CRAIG, J. C. (2004) Enteral vs intravenous rehydration therapy for children with gastroenteritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 158, 483-90.
27. GIANNATTASIO, A., GUARINO, A. & LO VECCHIO, A. Management of children with prolonged diarrhea. *F1000Res*, 5.
28. GISBERT, J. P., BERMEJO, F., PEREZ-CALLE, J. L., TAXONERA, C., VERA, I., MCNICHOLL, A. G., ALGABA, A., LOPEZ, P., LOPEZ-PALACIOS, N., CALVO, M., GONZALEZ-LAMA, Y., CARNEROS, J. A., VELASCO, M. & MATE, J. (2009) Fecal calprotectin and lactoferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. *Inflamm Bowel Dis*, 15, 1190-8.
29. GONSALVES, S., LIM, M., FINAN, P., SAGAR, P. & BURKE, D. Fecal lactoferrin: a noninvasive fecal biomarker for the diagnosis and surveillance of pouchitis. *Dis Colon Rectum*, 56, 733-7.
30. GROVER, Z., MUIR, R. & LEWINDON, P. Exclusive enteral nutrition induces early clinical, mucosal and transmural remission in paediatric Crohn's disease. *J Gastroenterol*, 49, 638-45.
31. GUARINO, A., ALBANO, F., ASHKENAZI, S., GENDREL, D., HOEKSTRA, J. H., SHAMIR, R. & SZAJEWSKA, H. (2008) European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Paediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: executive summary. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 46, 619-21.
32. GUARINO, A., ASHKENAZI, S., GENDREL, D., LO VECCHIO, A., SHAMIR, R. & SZAJEWSKA, H. [European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 53, 499-509.
33. GUERRANT, R. L., ARAUJO, V., SOARES, E., KOTLOFF, K., LIMA, A. A., COOPER, W. H. & LEE, A. G. (1992) Measurement of fecal lactoferrin as a marker of fecal leukocytes. *J Clin Microbiol*, 30, 1238-42.
34. HEUSCHKEL, R., SALVESTRINI, C., BEATTIE, R. M., HILDEBRAND, H., WALTERS, T. & GRIFFITHS, A. (2008) Guidelines for the management of growth failure in childhood inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 14, 839-49.
35. HOLTMAN, G. A., LISMAN-VAN LEEUWEN, Y., DAY, A. S., FAGERBERG, U. L., HENDERSON, P., LEACH, S. T., PERMINOW, G., MACK, D., VAN RHEENEN, P. F., VAN DE VIJVER, E., WILSON, D. C., REITSMA, J. B. & BERGER, M. Y. Use of Laboratory Markers in Addition to Symptoms for Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease in Children: A Meta-analysis of Individual Patient Data. *JAMA Pediatr*, 171, 984-991.
36. JUDD, T. A., DAY, A. S., LEMBERG, D. A., TURNER, D. & LEACH, S. T. Update of fecal markers of inflammation in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 26, 1493-9.
37. KAISER, T., LANGHORST, J., WITTKOWSKI, H., BECKER, K., FRIEDRICH, A. W., RUEFFER, A., DOBOS, G. J., ROTH, J. & FOELL, D. (2007) Faecal S100A12 as a non-invasive marker distinguishing inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome. *Gut*, 56, 1706-13.
38. KAMMERMEIER, J., MORRIS, M. A., GARRICK, V., FURMAN, M., RODRIGUES, A. & RUSSELL, R. K. Management of Crohn's disease. *Arch Dis Child*, 101, 475-80.
39. KANE, S. V., SANDBORN, W. J., RUFO, P. A., ZHOLUDEV, A., BOONE, J., LYERLY, D., CAMILLERI, M. & HANAUER, S. B. (2003) Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker in identifying intestinal inflammation. *Am J Gastroenterol*, 98, 1309-14.
40. KONIKOFF, M. R. & DENSON, L. A. (2006) Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 12, 524-34.
41. KOPYLOV, U., ROSENFELD, G., BRESSLER, B. & SEIDMAN, E. Clinical utility of fecal biomarkers for the diagnosis and management of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 20, 742-56.
42. LAMB, C. A. & MANSFIELD, J. C. Measurement of faecal calprotectin and lactoferrin in inflammatory bowel disease. *Frontline Gastroenterol*, 2, 13-18.

43. LANGHORST, J. & BOONE, J. Fecal lactoferrin as a noninvasive biomarker in inflammatory bowel diseases. *Drugs Today (Barc)*, 48, 149-61.
44. LEACH, S. T. & DAY, A. S. (2006) S100 proteins in the pathogenesis and diagnosis of inflammatory bowel disease. *Expert Rev Clin Immunol*, 2, 471-80.
45. LEACH, S. T., YANG, Z., MESSINA, I., SONG, C., GECZY, C. L., CUNNINGHAM, A. M. & DAY, A. S. (2007) Serum and mucosal S100 proteins, calprotectin (S100A8/S100A9) and S100A12, are elevated at diagnosis in children with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*, 42, 1321-31.
46. LEHMANN, F. S., BURRI, E. & BEGLINGER, C. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease. *Therap Adv Gastroenterol*, 8, 23-36.
47. LEVINE, A., GRIFFITHS, A., MARKOWITZ, J., WILSON, D. C., TURNER, D., RUSSELL, R. K., FELL, J., RUEMMELE, F. M., WALTERS, T., SHERLOCK, M., DUBINSKY, M. & HYAMS, J. S. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflamm Bowel Dis*, 17, 1314-21.
48. LEVINE, A., KOLETZKO, S., TURNER, D., ESCHER, J. C., CUCCHIARA, S., DE RIDDER, L., KOLHO, K. L., VERES, G., RUSSELL, R. K., PAERREGAARD, A., BUDERUS, S., GREER, M. L., DIAS, J. A., VEEREMAN-WAUTERS, G., LIONETTI, P., SLADEK, M., MARTIN DE CARPI, J., STAIANO, A., RUEMMELE, F. M. & WILSON, D. C. ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 58, 795-806.
49. LO VECCHIO, A., GIANNATTASIO, A., DUGGAN, C., DE MASI, S., ORTISI, M. T., PAROLA, L. & GUARINO, A. Evaluation of the quality of guidelines for acute gastroenteritis in children with the AGREE instrument. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 52, 183-9.
50. LO VECCHIO, A., VANDENPLAS, Y., BENNINGA, M., BROEKAERT, I., FALCONER, J., GOTTRAND, F., LIFSCHITZ, C., LIONETTI, P., OREL, R., PAPADOPOULOU, A., RIBES-KONINCKX, C., SALVATORE, S., SHAMIR, R., SCHAPPI, M., STAIANO, A., SZAJEWSKA, H., THAPAR, N., WILSCHANSKI, M. & GUARINO, A. An international consensus report on a new algorithm for the management of infant diarrhoea. *Acta Paediatr*, 105, e384-9.
51. MANOLAKIS, A. C., KAPSORITAKIS, A. N., GEORGOULIAS, P., TZAVARA, C., VALOTASSIOU, V., KAPSORITAKI, A. & POTAMIANOS, S. P. Moderate performance of serum S100A12, in distinguishing inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol*, 10, 118.
52. MEIJER, B., GEARRY, R. B. & DAY, A. S. The role of S100A12 as a systemic marker of inflammation. *Int J Inflam*, 2012, 907078.
53. MONTALTO, M., GALLO, A., SANTORO, L., D'ONOFRIO, F., LANDOLFI, R. & GASBARRINI, A. Role of fecal calprotectin in gastrointestinal disorders. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 17, 1569-82.
54. MOSLI, M. H., ZOU, G., GARG, S. K., FEAGAN, S. G., MACDONALD, J. K., CHANDE, N., SANDBORN, W. J. & FEAGAN, B. G. C-Reactive Protein, Fecal Calprotectin, and Stool Lactoferrin for Detection of Endoscopic Activity in Symptomatic Inflammatory Bowel Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol*, 110, 802-19; quiz 820.
55. MUSCI, J. O., CORNISH, J. S. & DABRITZ, J. Utility of surrogate markers for the prediction of relapses in inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol*, 51, 531-47.
56. OGILVIE, I., KHOURY, H., GOETGHEBEUR, M. M., EL KHOURY, A. C. & GIAQUINTO, C. Burden of community-acquired and nosocomial rotavirus gastroenteritis in the pediatric population of Western Europe: a scoping review. *BMC Infect Dis*, 12, 62.
57. ORGANIZATION, W. H. (2017) Diarrhoeal disease.
58. PANG, T., LEACH, S. T., KATZ, T., DAY, A. S. & OOI, C. Y. Fecal biomarkers of intestinal health and disease in children. *Front Pediatr*, 2, 6.
59. PAYNE, D. C., VINJE, J., SZILAGYI, P. G., EDWARDS, K. M., STAAT, M. A., WEINBERG, G. A., HALL, C. B., CHAPPELL, J., BERNSTEIN, D. I., CURNS, A. T., WIKSWO, M., SHIRLEY, S. H., HALL, A. J., LOPMAN, B. & PARASHAR, U. D. Norovirus and medically attended gastroenteritis in U.S. children. *N Engl J Med*, 368, 1121-30.
60. PERGIALIOTIS, V., KONSTANTOPOULOS, P., KARAMPETSOU, N., KOUTAKI, D., GKIOKA, E., PERREA, D. N. & PAPANTONIOU, N. Calprotectin levels in necrotizing enterocolitis: a systematic review of the literature. *Inflamm Res*, 65, 847-852.

61. PFEFFERKORN, M. D., BOONE, J. H., NGUYEN, J. T., JULIAR, B. E., DAVIS, M. A. & PARKER, K. K. Utility of fecal lactoferrin in identifying Crohn disease activity in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 51, 425-8.
62. RUEMMELE, F. M., VERES, G., KOLHO, K. L., GRIFFITHS, A., LEVINE, A., ESCHER, J. C., AMIL DIAS, J., BARABINO, A., BRAEGGER, C. P., BRONSKY, J., BUDERUS, S., MARTIN-DE-CARPI, J., DE RIDDER, L., FAGERBERG, U. L., HUGOT, J. P., KIERKUS, J., KOLACEK, S., KOLETZKO, S., LIONETTI, P., MIELE, E., NAVAS LOPEZ, V. M., PAERREGAARD, A., RUSSELL, R. K., SERBAN, D. E., SHAOUL, R., VAN RHEENEN, P., VEEREMAN, G., WEISS, B., WILSON, D., DIGNASS, A., ELIAKIM, A., WINTER, H. & TURNER, D. Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. *J Crohns Colitis*, 8, 1179-207.
63. SANDHU, B. K., FELL, J. M., BEATTIE, R. M., MITTON, S. G., WILSON, D. C. & JENKINS, H. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in children in the United Kingdom. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 50 Suppl 1, S1-13.
64. SANDORA, T. J., FUNG, M., FLAHERTY, K., HELSING, L., SCANLON, P., POTTER-BYNOE, G., GIDENGIL, C. A. & LEE, G. M. Epidemiology and risk factors for *Clostridium difficile* infection in children. *Pediatr Infect Dis J*, 30, 580-4.
65. SHIM, D. H., KIM, D. Y. & CHO, K. Y. Diagnostic value of the Vesikari Scoring System for predicting the viral or bacterial pathogens in pediatric gastroenteritis. *Korean J Pediatr*, 59, 126-31.
66. SIDLER, M. A., LEACH, S. T. & DAY, A. S. (2008) Fecal S100A12 and fecal calprotectin as noninvasive markers for inflammatory bowel disease in children. *Inflamm Bowel Dis*, 14, 359-66.
67. STEPHENS, M., BATRES, L. A., NG, D. & BALDASSANO, R. (2001) Growth failure in the child with inflammatory bowel disease. *Semin Gastrointest Dis*, 12, 253-62.
68. SUSKIND, D. L., WAHBEH, G., GREGORY, N., VENDETTUOLI, H. & CHRISTIE, D. Nutritional therapy in pediatric Crohn disease: the specific carbohydrate diet. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 58, 87-91.
69. SYKORA, J., SIALA, K., HUML, M., VARVAROVSKA, J., SCHWARZ, J. & POMAHACOVA, R. Evaluation of faecal calprotectin as a valuable non-invasive marker in distinguishing gut pathogens in young children with acute gastroenteritis. *Acta Paediatr*, 99, 1389-95.
70. TURNER, D., LEACH, S. T., MACK, D., UUSOUE, K., MCLERNON, R., HYAMS, J., LELEIKO, N., WALTERS, T. D., CRANDALL, W., MARKOWITZ, J., OTLEY, A. R., GRIFFITHS, A. M. & DAY, A. S. Faecal calprotectin, lactoferrin, M2-pyruvate kinase and S100A12 in severe ulcerative colitis: a prospective multicentre comparison of predicting outcomes and monitoring response. *Gut*, 59, 1207-12.
71. TURNER, D., LEVINE, A., ESCHER, J. C., GRIFFITHS, A. M., RUSSELL, R. K., DIGNASS, A., DIAS, J. A., BRONSKY, J., BRAEGGER, C. P., CUCCHIARA, S., DE RIDDER, L., FAGERBERG, U. L., HUSSEY, S., HUGOT, J. P., KOLACEK, S., KOLHO, K. L., LIONETTI, P., PAERREGAARD, A., POTAPOV, A., RINTALA, R., SERBAN, D. E., STAIANO, A., SWEENEY, B., VEERMAN, G., VERES, G., WILSON, D. C. & RUEMMELE, F. M. Management of pediatric ulcerative colitis: joint ECCO and ESPGHAN evidence-based consensus guidelines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 55, 340-61.
72. TURNER, D., RUEMMELE, F. M., ORLANSKI-MEYER, E., GRIFFITHS, A. M., DE CARPI, J. M., BRONSKY, J., VERES, G., ALOI, M., STRISCIUGLIO, C., BRAEGGER, C. P., ASSA, A., ROMANO, C., HUSSEY, S., STANTON, M., PAKARINEN, M., DE RIDDER, L., KATSANOS, K., CROFT, N., NAVAS-LOPEZ, V., WILSON, D. C., LAWRENCE, S. & RUSSELL, R. K. Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 1: Ambulatory Care-An Evidence-based Guideline From European Crohn's and Colitis Organization and European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 67, 257-291.
73. TURNER, D., TRAVIS, S. P., GRIFFITHS, A. M., RUEMMELE, F. M., LEVINE, A., BENCHIMOL, E. I., DUBINSKY, M., ALEX, G., BALDASSANO, R. N., LANGER, J. C., SHAMBERGER, R., HYAMS, J. S., CUCCHIARA, S., BOUSVAROS, A., ESCHER, J. C., MARKOWITZ, J., WILSON, D. C., VAN ASSCHE, G. & RUSSELL, R. K. Consensus for managing acute severe ulcerative colitis in children: a systematic review and joint

- statement from ECCO, ESPGHAN, and the Porto IBD Working Group of ESPGHAN. *Am J Gastroenterol*, 106, 574-88.
74. VAN RHEENEN, P. F., VAN DE VIJVER, E. & FIDLER, V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *Bmj*, 341, c3369.
 75. VON ROON, A. C., KARAMOUNTZOS, L., PURKAYASTHA, S., REESE, G. E., DARZI, A. W., TEARE, J. P., PARASKEVA, P. & TEKKIS, P. P. (2007) Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. *Am J Gastroenterol*, 102, 803-13.
 76. VRABIE, R. & KANE, S. Noninvasive Markers of Disease Activity in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*, 10, 576-84.
 77. WALKER, T. R., LAND, M. L., KARTASHOV, A., SASLOWSKY, T. M., LYERLY, D. M., BOONE, J. H. & RUFO, P. A. (2007) Fecal lactoferrin is a sensitive and specific marker of disease activity in children and young adults with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 44, 414-22.
 78. WHYTE, L. A., AL-ARAJI, R. A. & MCLOUGHLIN, L. M. Guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*, 100, 308-12.
 79. WRIGHT, E. K., DE CRUZ, P., GEARRY, R., DAY, A. S. & KAMM, M. A. Fecal biomarkers in the diagnosis and monitoring of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, 20, 1668-77.
 80. YANG, Z., TAO, T., RAFTERY, M. J., YOUSSEF, P., DI GIROLAMO, N. & GECZY, C. L. (2001) Proinflammatory properties of the human S100 protein S100A12. *J Leukoc Biol*, 69, 986-94.
 81. ZHANG, Y.-Z., & LI, Y.-Y. (2014) Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, WJG, 20(1), 91-99. .
 82. ZUCKERMAN A., B. J., GRIFFITHS P., SCHOU B, MORTIMER P. (2009) Principles and practice of clinical virology. 6th edition, John Wiley & Sons, 2009.