
TEZĂ DE DOCTORAT

Markeri ai inflamației în bolile intestinale la copii

Doctorand **Ioana Fodor**

Conducător de doctorat **Dan Lucian Dumitrașcu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

| | |
|---|----|
| INTRODUCERE | 13 |
| STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII | |
| 1. Bolile inflamatorii intestinale | 17 |
| 1.1. Epidemiologie, etiologie și etiopatogeneză | 17 |
| 1.2. Clasificarea bolilor intestinale inflamatorii | 18 |
| 1.3. Tabloul clinic și aprecierea activității clinice a pacienților cu boli inflamatorii intestinale | 20 |
| 1.3.1. Scorul PUCAI (paediatric ulcerative colitis index) | 22 |
| 1.3.2. Scorul wPCDAI (weighted paediatric Crohn's disease activity index) | 22 |
| 1.4. Evaluarea pacientului | 23 |
| 1.4.1. Markerii serologici ai inflamației | 23 |
| 1.4.1.1. Proteina C reactivă și viteza de sedimentare a eritrocitelor | 23 |
| 1.4.1.2. Anticorpul p-ANCA și ASCA | 24 |
| 1.4.1.3. B-cell activating factor | 25 |
| 1.4.2. Calprotectina fecală | 27 |
| 1.4.3. Colonoscopia cu biopsii seriate și examinarea histologică | 27 |
| 1.4.4. Imagistică prin rezonanță magnetică | 30 |
| 1.4.5. Ultrasonografia abdominală | 30 |
| CONTRIBUȚIA PERSONALĂ | |
| 1. Ipoteza de lucru/obiective | 35 |
| 2. Studiul 1 – Utilitatea VSH-ului, PCR-ului, calprotectinei fecale pentru monitorizarea pacienților cu boală inflamatorie intestinală | 37 |
| 2.1. Introducere | 37 |
| 2.2. Ipoteza de lucru | 38 |
| 2.3. Material și metodă | 38 |
| 2.4. Rezultate | 39 |
| 2.5. Discuții | 42 |
| 2.6. Concluzii | 43 |
| 3. Studiul 2 - B cell-activating factor (BAFF) la copiii cu boală intestinală inflamatorie | 45 |
| 3.1. Introducere | 45 |
| 3.2. Ipoteza de lucru/obiective | 46 |
| 3.3. Material și metodă | 46 |
| 3.4. Rezultate | 49 |
| 3.5. Discuții | 54 |
| 3.6. Concluzii | 56 |
| 4. Studiul 3 – Rolul ecografiei în monitorizarea pacienților | 57 |

| | |
|---|----|
| pediatrici cu colită ulcerativă | |
| 4.1. Introducere | 57 |
| 4.2. Ipoteza de lucru | 58 |
| 4.3. Material și metodă | 59 |
| 4.4. Rezultate | 63 |
| 4.5. Discuții | 67 |
| 4.6. Concluzii | 68 |
| 5. Studiul 4 – Rolul ecografiei în monitorizarea pacienților pediatrici cu boală Crohn | 69 |
| 5.1. Introducere | 69 |
| 5.2. Ipoteza de lucru | 70 |
| 5.3. Material și metodă | 70 |
| 5.4. Rezultate | 74 |
| 5.5. Discuții | 76 |
| 5.6. Concluzii | 78 |
| 7. Concluzii generale (sinteză) | 79 |
| 8. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei | 81 |
| REFERINȚE | 83 |

Cuvinte cheie: boală inflamatorie intestinală, pacienți pediatrici, ultrasonografie, markeri ai inflamației

INTRODUCERE

Termenul „boli inflamatorii cronice intestinale” este folosit pentru a reprezenta 2 patologii intestinale cronice idiopatice distincte, boala Chron și colita ulcerativă. Etiologia acestor boli nu este complet elucidată, însă ambele patologii sunt caracterizate de exacerbări și remisii spontane.

Bolile inflamatorii intestinale (BII), sunt, de cele mai multe ori diagnosticate în perioada copilăriei și a adolescenței, studiile recente arătând o incidență în creștere în această perioadă de vârstă. Diagnosticul și urmărirea pacienților cu BII sunt bazate pe anamneză, examen clinic, scorul de activitate al bolii (the *Pediatric Crohn's Disease activity Index* și *Paediatric ulcerative colitis activity index*), examinări de laborator, endoscopie cu prelevare de biopsii seriate, însă explorările imagistice și determinarea markerilor inflamatori au un rol central. Protocoalele actuale recomandă pentru diagnosticul BII endoscopia și entero-RM-ul. Recent, unii autori au sugerat că ultrasonografia poate fi folosită ca și mijloc de screening și de monitorizare a copiilor cu BII.

Ținând cont de incidența în creștere a BII la nivelul populației pediatrice și de datele limitate din literatură în ceea ce constă monitorizarea imagistică și din punctul de vedere al markerilor inflamatori atât serici cât și fecali, ne-am propus realizarea unei cercetări a inflamației intestinale la acești pacienți. Nevoia de biomarkeri și de proceduri non-invazive pentru diagnosticarea și monitorizarea copiilor cu BII este din ce în ce mai crescută.

CONTRIBUȚIE PERSONALĂ

Partea de contribuție personală cuprinde 4 studii în care au fost incluși pacienți pediatrici cu BII (BC sau CU), SII și subiecți sănătoși aflați în evidența departamentului nostru. Toate studiile au fost aprobate de către comisia de etică a Universității de Medicină și Farmacie “Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca (151/2.04.2018) și au fost realizate în conformitate cu principiile Declarației de la Helsinki. În urma acestei cercetări, au rezultat trei articole publicate în reviste ISI: *World Journal of Clinical Cases, Pediatric Research și Medical Ultrasonography*.

Studiul 1. Utilitatea VSH-ului, PCR-ului și calprotectinei fecale pentru monitorizarea pacienților cu boală inflamatorie intestinală

Obiective: Markerii inflamatori care și-au dovedit cea mai înaltă utilitate în practica clinică pentru monitorizarea pacienților cu BII sunt proteina C reactivă (PCR), viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) și calprotectina fecală (CF). În acest studiu retrospectiv am analizat valoarea markerilor de inflamație clasici (VSH, PCR și CF) pentru monitorizarea pacienților cu BII.

Material și metodă: Am înrolat pacienți pediatrici anterior diagnosticați cu BII și două loturi de pacienți martori (un lot de pacienți diagnosticați cu SII și un lot de pacienți aparent sănătoși) din baza de date a departamentului nostru. După aplicarea criteriilor de excludere, am înrolat în studiu un număr de 68 de pacienți: 32 BII (16 BC și 16 UC), 10 SII și 26 subiecți sănătoși.

Rezultate: Valorile VSH-ului și PCR-ului nu au avut diferență statistică semnificativă între grupuri (toate p-urile >0,05). Nivel mai crescut a CF s-a decelat în grupul BII comparativ cu SII și cu grupul pacienților sănătoși (toate p-urile <0,001).

Concluzii: Pentru monitorizarea pacienților pediatrici cu BII este importantă utilizarea procedurilor non-invazive, acestea fiind ușor acceptate de către copii. Rezultatele noastre, în ceea ce privește CF vin în completarea studiilor publicate referitor utilitatea determinării de rutină a acesteia pentru discriminarea afecțiunilor gastrointestinale organice de cele funcționale. CF este un marker fecal cu utilitate crescută pentru monitorizarea inflamației microscopice intestinale. VSH-ul și PCR-ul nu au avut diferențe semnificativ statistice între grupurile înrolate.

Studiul 2. B cell-activating factor (BAFF) la copiii cu boală intestinală inflamatorie

Obiective: Descoperirea de noi biomarkeri ai inflamației intestinale este foarte stringentă. Unul dintre noii biomarkeri considerați pentru evaluarea inflamației intestinale este B-cell activating factor (BAFF), membru al superfamiliei TNF, produs în principal de monocite, macrofage, neutrofile și celule dendritice. Rezultatele studiilor pe pacienții adulți cu BII fiind încurajatoare, am studiat utilitatea BAFF-ului seric și fecal la copii cu BII.

Material și metodă: În acest studiu prospectiv, am înrolat pacienți pediatrici anterior diagnosticați cu BII și două loturi de pacienți martori (un lot de pacienți diagnosticați cu SII și un lot de pacienți aparent sănătoși) care s-au prezentat consecutiv în clinica Pediatrie II și III, între octombrie 2018 și aprilie 2019. Toți subiecții incluși în studiu (BII, SII și copiii sănătoși) au fost examinați clinic și s-au efectuat analize de laborator (probă de sânge și de fecale), toate acestea în aceeași zi. Pacienții cu BII au fost evaluați endoscopic în cursul anului 2019. Ca și evaluare imagistică s-a realizat ecografia abdominală.

Rezultate: Valorile VSH-ului și PCR-ului nu au avut diferență statistică semnificativă între grupuri (toate p-urile >0,05). Nivel mai crescut a CF s-a decelat în grupul BII comparativ cu SII și cu grupul pacienților sănătoși (toate p-urile <0,001). Concentrația BAFF-ului seric nu a avut diferență statistică între grupul pacienților cu SII și a celor sănătoși sau între subgrupurile BII (toate p-urile >0,05), însă BAFF-ul fecal a fost semnificativ crescut la cei cu BII ($p < 0,05$) comparativ cu ambele grupuri de control. Mai mult decât atât, concentrația BAFF-ului fecal a fost semnificativ mai crescut la pacienții cu CU comparativ cu BC ($p = 0,015$), SII ($p < 0,05$) și grupul pacienților sănătoși ($p < 0,05$). Concentrația BAFF-ului fecal la pacienții cu BC comparat cu al pacienților cu SII și a celor din lotul celor sănătoși a fost fără diferențe statistice (toate p-urile >0,05). Am împărțit grupul copiilor cu BII în funcție de valoarea CF decelată (<250 și >250 mcg/g) în două subgrupuri (23 și 9 pacienți). Concentrația serică a BAFF-ului a fost fără diferență statistică între subgrupuri: 1047.0 (802.55 – 1182.6) vs 939.5 (622.8 – 1168.9), $p > 0.05$, însă BAFF-ul fecal a fost semnificativ statistic mai crescut în subgrupul pacienților cu CF >250 mcg/g: 13.4 (9.1 – 38.35) vs 94.5 (15.7 – 111.0), $p = 0.02$. Nu s-au decelat rezultate semnificative în momentul în care analiza a fost efectuată în funcție de CU sau BC (toate p-urile >0,05).

Concluzii: În cazul pacienților pediatrici cu BII inactivă sau ușoară, BAFF-ul fecal ar putea fi considerat un marker non-invaziv de monitorizare a bolii. Pentru stabilirea utilității reale ale BAFF-ului este nevoie de studii longitudinale mari, nu doar pentru diagnostic, ci mai ales pentru monitorizarea non-invazivă a acestor pacienți.

Studiul 3. Rolul ecografiei în monitorizarea pacienților pediatrici cu colită ulcerativă

Obiective: Majoritatea studiilor publicate în literatură evaluează utilitatea diagnostică a US la pacienții cu BC și CU (dar cu un număr mic de pacienți diagnosticați cu CU), sau doar la pacienți cu BC. În plus, utilizarea de rutină a US abdominale pentru monitorizarea pacienților cu BII nu este încă standardizată, în ciuda rezultatelor foarte bune ale studiilor publicate în populația adultă și pediatică.

Din aceste motive, ne-am propus evaluarea utilității US abdominală comparată cu valorile CF și colonoscopia pentru monitorizarea pacienților pediatrici diagnosticați cu UC.

Material și metodă: Din baza de date a spitalului, am selectat pacienții pediatrici diagnosticați anterior cu CU, conform criteriilor Porto revizuite. Pacienții au fost evaluați ecografic și colonoscopic în cadrul aceleiași spitalizări în decurs de o săptămână, între ianuarie 2018 și ianuarie 2020.

S-a recoltat probă de scaun tuturor pacienților, depozitată la 4°C până la procesare, pentru determinarea CF prin tehnica ELISA.

Rezultate: Din numărul total de pacienți înrolați, 27 (90%) au prezentat leziuni active obiectivate prin colonoscopie, însă doar 18 dintre cei 27 au avut boală activă din punct de vedere clinic cu un scor PUCAI >10, (Se 66,7%, Sp 33% pentru PUCAI de a detecta pacienții cu boală activă). Un nivel al CF peste 250 mcg/g a fost decelat la 23 (76,7%) dintre pacienți, dar 2 dintre pacienți nu au avut modificări colonoscopice (Se 77,8%, Sp 33,3% pentru CF de a identifica boala activă).

La examinarea US abdominală, 27 de pacienți au avut modificări patologice, toți fiind cu boală activă demonstrată prin colonoscopie (concordanță excelentă între US și colonoscopie, la nivel de pacient, $k = 1.0$, $p < 0.001$, Se = 100%, Sp = 100%). La analiza rezultatelor pe segmente colonice (180 de segmente colonice evaluate prin US), concordanța globală între US și colonoscopie a fost bună ($k = 0.767$, $p < 0.001$, Se 86.5%, Sp 90.1).

Dintre cei 27 de pacienți cu modificări patologice la US abdominală, 23 au avut nivel CF >250 mcg/g (85.1%).

Concordanța globală inter-observator pentru măsurătorile US a fost excelentă (ICC=0.926, $p < 0.001$).

La analizarea discordanțelor dintre examinarea US și colonoscopie, am remarcat că US a identificat ca fără modificări patologice următoarele segmente: un rect, 4 colon sigmoid, 2 transvers și 1 ascendent, toate acestea prezentând semne inflamatorii colonoscopice. La nivelul a 2 segmente de colon descendent, 2 transverse, 2 ascendente și 3 segmente de ileon, US a detectat peretele intestinal îngroșat în ciuda aspectului normal endoscopic.

US abdominală a detectat adenopatii, reacția grăsimii mezenterice și hipervascularizație intestinală la toți pacienții cu un subscor endoscopic Mayo 3, pe când doar la 7 pacienți (46,6%) cu subscor endoscopic Mayo 2 au prezentat adenopatii și hipervascularizație, fără reacția grăsimii mezenterice.

Concluzii: Ecografia ar trebui considerată o tehnică imagistică utilă pentru evaluarea și monitorizarea pacienților pediatrici cu UC, datorită concordanțelor excelente cu colonoscopia atât la nivel de pacient cât și la nivel de segment intestinal. Corelația bună dintre nivelul crescut al calprotectinei fecale și modificările patologice constatăte la examinarea ecografică confirmă capacitatea metodei de a identifica corect inflamația intestinală. În ceea ce privește monitorizarea pacienților, US ar putea înlocui colonoscopia, mai ales când scorul PUCAI și calprotectina fecală sugerează boală activă.

Studiul 4. Rolul ecografiei în monitorizarea pacienților pediatrici cu boală Crohn

Obiective: Evaluarea inflamației intestinale este importantă pentru determinarea activității, monitorizarea și elaborarea unei strategii de management mai ales la pacienții pediatrici cu BII, datorită impactului asupra creșterii și dezvoltării. Din acest motiv, am realizat un studiu în care am comparat capacitatea US de a detecta inflamația intestinală comparativ cu scorul wPCDAI, PCR-ul, VSH-ul și CF.

Material și metodă: Din baza de date a spitalului, am selectat pacienții pediatrici diagnosticați anterior cu BC, conform criteriilor Porto revizuite ale ESPGHAN. Pacienților li s-a recoltat o probă de sânge și una de scaun și au fost evaluați ecografic în cadrul aceleiași spitalizări în decurs de o săptămână.

Rezultate: US a identificat corect 4 din cei 7 pacienți (57,1%) cu activitate clinică a bolii și nu a detectat inflamație intestinală la 3 pacienți (42,9%) clasificați ca activi din punct de vedere clinic. În plus, US a identificat un pacient cu inflamație intestinală, la care scorul wPCDAI, CF, VSH-ul, PCR-ul au fost în limite fiziologice. Concordanța dintre wPCDAI și US pentru detectarea inflamației intestinale a fost moderată ($k=0,475$), $p=0,049$. Toți pacienții cu activitate clinică a bolii au avut o valoare a VSH-ului >10 mm/h, concordanța dintre cele două fiind bună ($k=0,738$), $p=0,002$. PCR >1 mg/dl a fost detectat doar la 3 (42,9%) din cei 7 pacienți cu activitate clinică, concordanță a celor două metode de detectare a activității bolii fiind una moderată ($k=0,458$), $p=0,029$.

Conform criteriilor Porto, am considerat valoarea pozitivă a CF >250 mcg/g. În acest fel, CF a identificat 4 (57,1%) dintre cei 7 pacienți considerați activ clinic, concordanța fiind moderată ($k=0,600$), $p=0,009$.

Concluzii: Datorită acurateții evaluării modificărilor intestinale și extra-intestinale, US ar putea deveni tehnica imagistică de rutină în practica clinică pentru evaluarea pacienților cu BC. Analiza markerilor inflamatori serologici și fecali cresc probabilitatea diagnosticului de BII și sunt utili în monitorizarea evoluției bolii.

PhD Thesis - ABSTRACT

Biomarkers of inflammation in paediatric intestinal diseases

PhD Candidate **Ioana Fodor**

PhD Advisor Prof.Dr. **Dan Lucian Dumitraşcu**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

Table of Contents

| | |
|---|----|
| INTRODUCTION | 13 |
| CURRENT STATE OF KNOWLEDGE | |
| 1. Inflammatory bowel diseases | 17 |
| 1.1. Epidemiology, etiology and etiopathogenesis | 17 |
| 1.2. Classification of inflammatory bowel diseases | 18 |
| 1.3. Clinical diagnosis and evaluation of clinical activity | 20 |
| 1.3.1. PUCAI Score (paediatric ulcerative colitis index) | 22 |
| 1.3.2. wPCDAI Score (weighted paediatric Crohn's disease activity index) | 22 |
| 1.4. Patient evaluation | 23 |
| 1.4.1. Serum markers of inflammation | 23 |
| 1.4.1.1. C reactive protein and erythrocyte sedimentation rate | 23 |
| 1.4.1.2. p-ANCA and ASCA antibodies | 24 |
| 1.4.1.3. B-cell activating factor | 25 |
| 1.4.2. Fecal Calprotectin | 27 |
| 1.4.3. Colonoscopy, biopsy and histologic examination | 27 |
| 1.4.4. Magnetic resonance imaging | 30 |
| 1.4.5. Abdominal ultrasonography | 30 |
| PERSONAL CONTRIBUTION | |
| 1. Working hypothesis/objectives | 35 |
| 2. Study 1 – The utility of ESR, CRP and fecal calprotectin in following up patients with IBD | 37 |
| 2.1. Introduction | 37 |
| 2.2. Working hypothesis | 38 |
| 2.3. Material and methods | 38 |
| 2.4. Results | 39 |
| 2.5. Discussion | 42 |
| 2.6. Conclusions | 43 |
| 3. Study 2 - B cell-activating factor (BAFF) in children with inflammatory bowel disease | 45 |
| 3.1. Introduction | 45 |
| 3.2. Work hypothesis | 46 |
| 3.3. Material and methods | 46 |
| 3.4. Results | 49 |
| 3.5. Discussion | 54 |
| 3.6. Conclusions | 56 |
| 4. Study 3 – The value of abdominal ultrasonography compared to colonoscopy and faecal calprotectin in following up paediatric patients with | 57 |

| | |
|--|----|
| ulcerative colitis | |
| 4.1. Introduction | 57 |
| 4.2. Work hypothesis | 58 |
| 4.3. Material and methods | 59 |
| 4.4. Results | 63 |
| 4.5. Discussion | 67 |
| 4.6. Conclusions | 68 |
| 5. Study 4 –The value of abdominal ultrasonography in following up paediatric patients with Crohn disease | 69 |
| 5.1. Introduction | 69 |
| 5.2. Work hypotheis | 70 |
| 5.3. Material and methods | 70 |
| 5.4. Results | 74 |
| 5.5. Discussion | 76 |
| 5.6. Conclusions | 78 |
| 7. General discussion | 79 |
| 8. Originality and innovative contribution of the thesis | 81 |
| REFERENCES | 83 |

Cuvinte cheie: Inflammatory bowel disease, pediatric patients, ultrasonography, markers of inflammation

INTRODUCTION

Inflammatory bowel diseases (IBD) include two distinct entities, Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC), with an incompletely understood etiology. One characteristic of IBD is represented by frequent exacerbations and relapse periods.

UC and CD are frequently diagnosed during childhood and adolescence, recent studies showing an increase in incidence throughout Europe. The European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) revised Porto criteria for IBD diagnosis include typical clinical manifestations, anamnesis, disease activity score (the *Pediatric Crohn's Disease activity Index* and *Paediatric ulcerative colitis activity index*) and the confirmation of chronic active inflammation by colonoscopy with multiple biopsies. Among the imaging techniques, Magnetic Resonance Enterography (MRE) has high accuracy in identifying the bowel wall modifications and the disease complications. Abdominal ultrasound (US) is a non-invasive, low cost, accessible, reproducible and easily accepted by children imaging technique, used more and more frequently in the recent years in assessing bowel inflammation.

Given the increasing incidence of IBD among pediatric population and the limited data in literature regarding the use of imaging techniques and inflammatory markers (fecal and serum) for the follow up, we conducted a research of intestinal inflammation. The need for new non-invasive biomarkers for the diagnosis and monitoring of IBD is stringent in children.

PERSONAL CONTRIBUTION

The personal contribution part includes 4 studies on pediatric patients with IBD (CD or UC), IBS and healthy subjects in the records of our department. All studies were approved by the Ethics Committee of the University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hatieganu", Cluj-Napoca (151/2.04.2018) and were conducted in accordance with the principles of the Helsinki Declaration. This research has resulted in three articles published in ISI journals: *World Journal of Clinical Cases*, *Pediatric Research și Medical Ultrasonography*.

Study 1. The utility of ESR, CRP and fecal calprotectin in following up patients with IBD

Objectives: Inflammatory markers that have proven to be of the highest utility in clinical practice for the follow up of patients with IBD are the erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP) and fecal calprotectin (FC). In this retrospective study we analysed the use of the classical inflammatory markers for the follow up of patients with IBD.

Material and method: We enrolled pediatric patients previously diagnosed with IBD and two groups of control patients (a group of patients diagnosed with IBS and a group of apparently healthy patients) from our department's database. After applying the exclusion criteria, we enrolled in the study 68 patients: 32 IBD (16 CD and 16 UC), 10 IBS and 26 healthy subjects.

Results: ESR and CRP values did not have a statistically significant difference between the groups (all $p > 0.05$). Higher FC level was observed in the IBD group compared to healthy subjects and IBS group (all $p < 0.05$).

Conclusions: For the monitoring of pediatric patients with IBD, it is important to use non-invasive procedures. Our results, regarding FC, complement the published studies on the usefulness of its routine determination for discriminating organic gastrointestinal diseases from functional ones. FC is a fecal marker with increased utility for monitoring microscopic intestinal inflammation. ESR and CRP were not statistically significant differences between the enrolled groups.

Study 2. B cell-activating factor (BAFF) in children with inflammatory bowel disease

Objectives: The discovery of new biomarkers of intestinal inflammation is very stringent. One of the new biomarkers considered for the evaluation of intestinal inflammation is B-cell activating factor (BAFF), a member of the TNF superfamily, produced mainly by monocytes, macrophages, neutrophils and dendritic cells. As the results of studies in adult patients with IBD are encouraging, we studied the usefulness of serum and faecal BAFF in children with IBD.

Material and method: We determined BAFF in serum and faeces and faecal calprotectin in 32 IBD children—16 Crohn's disease and 16 ulcerative colitis. Twenty-six healthy children and 10 children with irritable bowel syndrome (IBS) were included as controls.

Results: No differences were found in serum BAFF between IBD, IBS, and healthy group: 1037.35, 990.9 and 979.8 pg/ml, respectively, all $p > 0.05$, but faecal BAFF was higher in the IBD group: 15.1, 8.5 and 8.2 pg/ml, respectively, $p < 0.05$, and higher in the UC group (55.975 pg/ml) compared to the CD group (10.95 pg/ml), $p = 0.015$. Splitting the IBD group in relation to the CP level, the serum BAFF had no significantly different values between the subgroups, but the faecal BAFF was significantly higher in the $>250 \mu\text{g/g}$ subgroup. Cut-off values of BAFF were calculated.

Conclusions: In paediatric patients with mild or inactive IBD, faecal BAFF levels could be considered as a potential non-invasive marker for disease monitoring. Larger longitudinal studies are needed in order to establish the real utility of this factor not only for diagnosis but especially for the non-invasive follow-up of the patients.

Study 3. The value of abdominal ultrasonography compared to colonoscopy and faecal calprotectin in following up paediatric patients with ulcerative colitis

Objectives: The majority of the included studies regarded both UC and CD patients (with a smaller number of UC), or only CD patients. Our aim was to analyse the value of US in following up UC paediatric patients, compared to FC and colonoscopy.

Material and method: In this retrospective study we enrolled 30 paediatric patients previously diagnosed with UC, examined by abdominal US and colonoscopy within the same week. FC was also determined during the same week. Disease activity was established using the paediatric ulcerative colitis activity index (PUCAI). The global endoscopic activity was evaluated using the Mayo endoscopic subscore

Results: Endoscopy revealed pathological findings of active disease in 27 out of 30 patients; 3 patients were in endoscopic remission. Only 18 of them had clinical active disease (PUCAI >10), [sensitivity (Se) 66.7% and specificity (Sp) 33% of PUCAI in detecting endoscopic active disease]. Twenty-three (76.7%) patients had FC $>250 \text{ mcg/g}$, but in 2 of these cases the colonoscopy was normal (Se 77.8% and Sp 33.3% in detecting active disease). At US examination, pathological findings (increased bowel wall thickness, hypervascularity, lymphadenopathies, and/or mesenteric inflammatory fat) were found in 27 patients (90%), all with endoscopic active disease (agreement US - colonoscopy, at patient level, $k=1.0$, $p<0.001$, Se 100% and Sp 100%). At a segment level (totally 180 bowel segments examined by US), the overall agreement between US and colonoscopy was $k=0.767$, $p<0.001$, Se 86.5%, Sp 90.1%. Of the 27 patients with US pathological findings in any of colonic segments, 23 had FC $>250 \text{ mcg/g}$ (85.1%). The inter-observer agreement for the US measurements had an overall ICC of 0.926 with $p<0.001$.

Conclusions: Abdominal US findings demonstrate a good to excellent concordance with endoscopic examination and are correlated with elevated FC levels. Therefore, US appears as an accurate technique in assessing activity in patients with UC and might replace colonoscopic evaluation for the follow-up.

Study 4. The value of abdominal ultrasonography in following up paediatric patients with Crohn disease

Objectives: Monitoring IBD patients using US is not yet part of the routine standardized clinical practice, despite the good results of published studies, in both children and adults. Our aim was to analyse the value of US in following up CD paediatric patients, compared to FC, wPCDAI, CRP and ESR.

Material and method: : In this retrospective study we enrolled paediatric patients previously diagnosed with UC, examined by abdominal US. FC, ESR and CRP was also determined during the same week.

Results: US correctly identified 4 of the 7 patients (57.1%) with clinical active disease and did not detect intestinal inflammation in 3 patients (42.9%) classified as clinically active. In addition, US identified a patient with intestinal inflammation, in which the wPCDAI score, FC, ESR, CRP were normal. The concordance between wPCDAI and US for the detection of intestinal inflammation was moderate ($k=0,475$), $p=0,049$. All patients with clinical active disease had an ESR value > 10 mm / h, the concordance between the two being good ($k=0,738$), $p=0,002$. Out of the 7 patients with clinical active disease, 3 (42.9%) had $CRP > 1$ mg/dl, concordance between the two being moderate ($k=0,458$), $p=0,029$. CF identified 4 (57.1%) out of 7 patients with active disease, the concordance being moderate ($k=0,600$), $p=0,009$.

Conclusions: US should be considered as a useful imaging technique to assess and follow-up CD patients. The analysis of serological and fecal inflammatory markers increase the probability of IBD diagnosis and are useful in monitoring the evolution of the disease.