

# Malattie autoimmuni nei primi anni di vita: dai sintomi alla diagnosi di laboratorio

R. Tozzoli<sup>a</sup>, R. Perini<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio Analisi, Dipartimento dei Servizi Diagnostici, Ospedale Civile, Latisana (UD)

<sup>b</sup>Pediatria, Dipartimento Materno-Infantile, Ospedale Civile, Latisana (UD)

## Riassunto

Le malattie autoimmuni, in significativo incremento nella popolazione mondiale, hanno attualmente una prevalenza stimabile attorno al 3% nell'infanzia e nell'adolescenza: i quadri clinici che più frequentemente si presentano all'osservazione (costituendo circa il 75% dei casi totali) sono rappresentati dalle tireopatie autoimmuni (TAI), dalla malattia celiaca (MC) e dalle artriti idiopatiche giovanili (JIA).

La forma più comune di TAI, la tiroidite di Hashimoto, mostra una frequenza nella popolazione pediatrica dell'1.3% e colpisce prevalentemente il sesso femminile. La diagnosi di malattia si basa sull'ecografia tiroidea e sul dosaggio degli anticorpi anti-tireoperossidasi, sempre presenti nel siero dei pazienti affetti.

La MC ha una prevalenza dell'1% nelle età pediatriche e risulta spesso misconosciuta. Un fondamentale contributo alla diagnosi è fornito dal dosaggio degli anticorpi anti-trasglutaminasi di classe IgA, che assieme al dosaggio delle IgA totali, costituiscono i test di laboratorio di prima istanza, secondo un algoritmo diagnostico ormai condiviso, specifico a seconda dell'età del paziente.

Con i suoi numerosi sottotipi, la JIA è la patologia reumatica più diffusa dell'età pediatrica. Oltre agli anticorpi anti-nucleo, altri test autoanticorpali (fattori reumatoidi e anticorpi anti-proteine citrullinate) rappresentano i marcatori sierologici del sottotipo poliarticolare, che è considerato la forma pediatrica dell'artrite reumatoide dell'adulto.

Il sempre più importante ruolo predittivo assunto dagli autoanticorpi e l'introduzione recente di nuove tecnologie multiplex fanno prevedere la possibilità di screening sierologici della popolazione, anche pediatrica, con l'obiettivo di ottenere diagnosi precliniche e di instaurare terapie precoci in grado di modificare l'evoluzione delle patologie autoimmuni.

## Summary

**Autoimmune diseases among children and adolescents: from symptoms to laboratory diagnosis**

Autoimmune diseases are increasing worldwide and nowadays show a prevalence of about 3% in childhood and adolescence; autoimmune thyroid diseases (AITD), celiac disease (CD) and juvenile idiopathic arthritides (JIA) are the commonest pathologies, constituting about 75% of all autoimmune diseases of these ages.

Hashimoto's thyroiditis (HT), the most frequent form of AITD, affects up to 3% of the pediatric population, with reported 10-fold frequency in females. Juvenile TH is diagnosed by thyroid ultrasonography and measurement of thyroid peroxidase antibodies, always found at moderate-high concentration in sera of affected children.

Celiac disease is a chronic disorder caused by an inflammatory T-cell response to gluten and frequently unrecognized, with an estimated prevalence of 1% in pediatric age. Measurements of IgA tissue transglutaminase antibody levels, together with total IgA concentrations, represent the first-line serological tests, according to a shared diagnostic algorithm, related to the patient's age.

Divided into seven subtypes, JIA is the most widespread rheumatic disease of childhood. The diagnosis depends primarily on clinical manifestations of the disease, but antinuclear antibodies, rheumatoid factors and recently anti-citrullinated proteins antibodies are useful serological tests, which select for a specific polyarticular subtype, considered the pediatric form of adult rheumatoid arthritis.

The growing evidence of the predictive role of autoantibodies and the recent introduction of updated multiplex technologies might give the chance of serological screening of pediatric population, with the goal to diagnose in preclinical phase and make early therapies, in order to modify the ongoing of autoimmune diseases.

**Tabella I.** Epidemiologia delle malattie autoimmuni pediatriche.

Patologia	Prevalenza ( $\times 100.000$ )	
	Media	Range
Tiroidite autoimmune	1.300	300-3.000
Malattia celiaca	1.000	500-1.300
Artrite idiopatica giovanile	200	10-400
Diabete di tipo 1	190	20-500
Malattie reumatiche autoimmuni (LES, DM, SSc, SS)	170	90-300
Rettocolite ulcerosa	150	100-200
Morbo di Crohn	70	30-100
Morbo di Graves	45	10-100
Epatite autoimmune	15	10-20
Morbo di Addison	8	4-10
Vasculiti ANCA-associate	7	3-10
Malattia di Werlhof	5	3-10
Altre	100	50-300
Totale	3.300	1.130-6.250

### Le malattie autoimmuni dell'infanzia e dell'adolescenza

Le malattie autoimmuni sono patologie sempre più diffuse nella popolazione mondiale, sia per un loro effettivo incremento, sia per le sempre più avanzate possibilità diagnostiche, nell'ambito delle quali il laboratorio svolge un ruolo fondamentale: i test autoanticorpali hanno infatti assunto negli ultimi anni un'importanza diagnostica decisiva, fino al punto da rappresentare criteri diagnostici internazionali di classificazione-diagnosi<sup>1</sup>.

L'aumento della frequenza delle malattie autoimmuni è un fenomeno che coinvolge tutte le età ed entrambi i sessi, anche se esse continuano ad interessare prevalentemente la popolazione femminile, con rapporti F/M che variano da 1:1 a 30:1 a seconda delle diverse tipologie, dalle forme organo-specifiche a quelle sistemiche<sup>2</sup>.

La prevalenza globale delle patologie autoimmuni nell'infanzia e nell'adolescenza è rilevante e può essere stimata tra l'1% e il 6%, con una media del 3% (Tab. I); tale dato risulta inferiore a quello della popolazione adulta, che viene stimato attorno al 15%.

Dato che una trattazione sistematica di tutte le patologie autoimmuni di interesse pediatrico esula dai limiti della presente rassegna, si restringe il campo ai principali quadri clinici, che comunemente si presentano all'osservazione dei centri di pediatria territoriali.

La più frequente sintomatologia interessa gli organi indicati nella Tabella II, cioè intestino, fegato, vasi, sangue, articolazioni, tiroide: si farà riferimento in particolare alle Tiroiditi Autoimmuni (TAI), alla Malattia Celiaca (MC) e all'Artrite Idiopatica Giovanile (JIA), che da sole costituiscono circa il 75% delle malattie autoimmuni dei primi anni di vita.

### Le tiroiditi autoimmuni

La frequenza delle TAI nella popolazione generale è

difficile da stabilire, perché esse hanno espressioni cliniche variabili (con/senza gozzo e/o con/senza ipotiroidismo): la variante con gozzo si manifesta come tiroidite diffusa (di Hashimoto-TH) o focale, mentre la variante senza gozzo è rappresentata dalla tiroidite atrofica.

La TH è la più comune forma di tiroidite, costituendo attualmente negli Stati Uniti ed in Europa la più frequente causa di ipotiroidismo<sup>3</sup>. In passato la più diffusa malattia della tiroide nell'infanzia e nell'adolescenza era rappresentata dal gozzo endemico da deficienza di iodio; a seguito dell'introduzione su vasta scala di programmi di profilassi iodica, in tutto il mondo è stato segnalato un importante decremento di questa patologia ed un significativo incremento delle malattie autoimmuni della tiroide (in particolare le TAI), che sono diventate la principale causa di gozzo nella popolazione pediatrica<sup>4,5</sup>. La TH presenta una frequenza oscillante tra 0,3% e 3,3% nei bambini e negli adolescenti, con un valore mediano di 1,3%<sup>6</sup>, colpisce prevalentemente il sesso femminile, con un rapporto oscillante tra 4:1 e 7:1; può raramente interessare le età inferiori ai 3 anni, ma diventa più frequente dopo i 6 anni e raggiunge il picco di incidenza durante l'adolescenza.

I familiari di bambini affetti da TH presentano una frequenza elevata di TAI (fino al 25%); inoltre la tiroidite diffusa mostra una prevalenza elevata nei bambini affetti da sindrome di Turner, malattia celiaca e diabete di tipo 1<sup>7</sup>.

Come negli adulti, i soggetti colpiti da TH possono manifestare tutto lo spettro sintomatologico delle malattie della tiroide, con frequenza decrescente dall'eutiroidismo, all'ipotiroidismo, all'ipertiroidismo.

La diagnosi di TH è resa agevole dall'ecografia tiroidea e dal dosaggio degli autoanticorpi tiroidei, cioè gli anticorpi anti-tireoperossidasi (TPOAb), anti-tireoglobulina (TgAb) ed anti-recettore del TSH (TRAb).

Negli ultimi anni l'introduzione di metodi immuno-

**Tabella II.** Quadri sintomatologici pediatrici e malattie autoimmuni associate.

Organo	Sintomi	Malattie autoimmuni
Intestino	Diarrea, Vomito, Gonfiore	Malattia celiaca Malattie infiammatorie croniche (rettocolite ulcerosa, m. di Crohn) Vasculiti
Fegato	Ittero	Epatopatie autoimmuni
Vasi	Petecchie	Vasculiti, Porpora trombocitopenica autoimmune
Sangue	Pallore	Anemia emolitica autoimmune
Articolazioni	Artralgia, Febbre	Artrite idiopatica giovanile
Tiroide	Gozzo	Tiroidite cronica linfocitaria (di Hashimoto), Ipertiroidismo autoimmune (morbo di Graves)

**Tabella III.** Frequenza di positività degli anticorpi anti-tireoperossidasi (TPOAb) ed anti-tireoglobulina (TgAb) nelle età pediatrica ed adulta<sup>11</sup>.

Età		Pazienti	TPOAb		TgAb		TgAb+/TPOAb- (%)
Media (anni)	Range (anni)	Numero	Media (kIU/L)	Sensibilità (%)	Media (kIU/L)	Sensibilità (%)	
46.4	19-86	279	741	91.5	512	66.2	5.0
14.8	9-18	17	876	100	583	76.4	0.0

metrici ad alta sensibilità per il dosaggio degli autoanticorpi tiroidei ha profondamente modificato la diagnostica delle tireopatie autoimmuni, consentendo di meglio definire le caratteristiche dell'autoimmunità tiroidea<sup>8</sup>, pur in presenza di una spiccata variabilità analitica tra metodi<sup>9</sup>. Per molto tempo si è ritenuto che i TgAb fossero i marcatori più sensibili della TH nell'infanzia e nell'adolescenza e che questo test fosse utile per la diagnosi della TH giovanile. Da alcuni anni crescenti evidenze hanno dimostrato invece che sono i TPOAb i marcatori principali della TH in tutte le età della vita<sup>10</sup>; in una nostra recente esperienza<sup>11</sup>, volta ad evidenziare i casi di positività isolata a TgAb in una vasta casistica di pazienti affetti da TH (Tab. III), abbiamo rilevato che:

- la sensibilità diagnostica di TPOAb è sempre superiore a quella di TgAb, e raggiunge il 100% nelle forme giovanili;
- tra gli adulti è presente una percentuale non irrilevante (5%) di soggetti con isolata positività a TgAb, mentre questa condizione non è presente nelle prime età di vita;
- i TRAb sono presenti in circa il 10% dei casi, in particolare nella forma atrofica.

Il dosaggio di TPOAb deve quindi essere considerato il test fondamentale per la diagnosi di laboratorio delle tiroiditi autoimmuni in età pediatrica.

### La malattia celiaca

La MC è il modello di patologia autoimmune più studiata negli ultimi dieci anni, dal punto di vista epidemiologico, patogenetico e clinico, dato che si tratta della sola condizione clinica in cui sia noto il trigger dell'at-

tacco autoimmune (il glutine).

E' particolarmente presente nelle popolazioni del Nord Europa, ma è diffusa in tutto il mondo. Il più comune periodo di presentazione nelle età pediatriche è compreso tra i 6 mesi ed i 2 anni di età. La patologia è più frequente nel sesso femminile con un rapporto F/M di 2-3:1.

Studi di screening sierologico della popolazione hanno dimostrato che la celiachia presenta una prevalenza variabile tra 0,5% e 1,3% nelle popolazioni bianche, sia nei bambini che negli adulti<sup>12,13</sup>. Assumendo una prevalenza dell'1%, quale appare evidente negli studi sierologici di popolazione più recenti, sia nei bambini come negli adulti<sup>14</sup>, si può stimare che vi siano circa 5 milioni di casi in Europa e 600.000 in Italia. Di questi l'85% non viene diagnosticato, dato che la patologia può presentarsi con quadri clinici diversi, che costituiscono il classico *iceberg*: la forma clinicamente attiva, la forma silente e la forma potenziale.

La diagnosi della malattia è definita dai criteri proposti dalla Società Europea di Gastroenterologia Pediatrica che si basano sul rilievo delle alterazioni istologiche della mucosa intestinale, ottenuta mediante biopsia<sup>15</sup>, ma si avvale ormai prevalentemente dell'impiego di marcatori sierologici, costituiti dagli anticorpi anti-gliadina (AGA), degli anticorpi anti-transglutaminasi (tTGAb) ed anti-endomisio (EMA) di classe IgA e IgG<sup>16,17</sup>.

Gli AGA, primi marcatori sierologici utilizzati, presentano sensibilità e specificità diagnostiche ampiamente variabili nelle casistiche degli ultimi 15 anni e comprese tra 50% e 100% sia per IgA che per IgG<sup>17</sup> (Tab. IV).

Sulla base delle numerose esperienze condotte negli ultimi 10 anni, vi è ormai generale accordo nell'affer-

**Tabella IV.** Sensibilità e specificità dei test sierologici per la diagnosi di celiachia<sup>16-18</sup>.

<i>Analisi</i>	<i>Numero studi in letteratura</i>	<i>Sensibilità media (%)</i>	<i>Specificità media (%)</i>
AGA	26	76.0	73.5
EMA	34	93.0	99.7
tTGAb	42	92.8	98.1
rtTGAb	19	93.8	98.7

mare che il dosaggio di tTGAb, effettuato con tecnica immunometrica con l'impiego di antigene ricombinante, evidenzia una sensibilità lievemente superiore ed una specificità lievemente inferiore rispetto alla determinazione degli EMA (Tab. IV), ma che esso costituisce ormai il test di prima scelta per la diagnosi<sup>12,16,18</sup>, a causa delle intrinseche limitazioni metodologiche della ricerca degli EMA in immunofluorescenza indiretta.

Il Gruppo di Studio in Autoimmunologia della Società Italiana di Medicina di Laboratorio ha recentemente proposto un algoritmo per la diagnosi di MC<sup>16,17,19</sup>, che distingue due differenti iter diagnostici a seconda dell'età del paziente: nei pazienti con età superiore a 5 anni vanno eseguiti come test di ingresso il dosaggio di tTGAb di classe IgA e delle IgA totali, riservando il dosaggio di EMA IgA quale test di conferma; nei pazienti con età inferiore a 5 anni ai primi due test va aggiunto il dosaggio di AGA IgG e IgA.

Del tutto recentemente una nuova variante metodologica, rappresentata da una tecnica immunoenzimatica che si basa sull'impiego di peptici sintetici deaminati, ha dimostrato di elevare significativamente le caratteristiche analitiche del test AGA IgA e IgG, con risultati decisamente superiori a quelle del test classico<sup>20,21</sup>. Tale test è risultato positivo in una percentuale rilevante dei casi di soggetti celiaci con età inferiore a 5 anni, negativi alla ricerca di tTGAb ed EMA<sup>21</sup>.

### L'artrite idiopatica giovanile

La JIA è una malattia autoimmune sistemica di origine sconosciuta, caratterizzata da una infiammazione cronica delle articolazioni, simile a quella dell'artrite reumatoide dell'adulto; è la patologia reumatica autoimmune più comune dell'età pediatrica, con un'incidenza di 5-18/100.000 ed una prevalenza media di 200/100.000. Essa è caratterizzata dalla presenza di un'artrite cronica che colpisce pazienti con età inferiore a 16 anni e persiste per almeno 6 settimane ed è suddivisa in 7 sottogruppi, i principali dei quali sono rappresentati dalla forma oligoarticolare (OJIA), dalla forma poliarticolare, rispettivamente fattore reumatoide positiva (PIJA RF+) o negativa (PIJA RF-), e dalla forma sistemica (SJIA). Ciascun sottotipo presenta peculiari caratteristiche cliniche, immunologiche e genetiche<sup>22</sup>.

La diagnosi di malattia è essenzialmente clinica, anche se un numero limitato di test autoanticorpali è utile per la classificazione e per la diagnosi: tra questi il fattore reumatoide (RF), gli anticorpi anti-nucleo (ANA)

e gli anticorpi anti-peptidi citrullinati (anti-CP o ACPA).

Gli ANA sono presenti in percentuale oscillante tra 75 e 85% nella forma oligoarticolare e tra 40% e 50% nella forma poliarticolare, sono rari nelle altre forme e sono associati con la presenza di uveite cronica. Danno luogo a quadri fluoroscopici di tipo granulare o omogeneo<sup>23</sup>, con frequente positività agli autoanticorpi anti-istoni: la loro positività non è tuttavia caratteristica della malattia<sup>24</sup>, essendo presenti in tutte le altre malattie reumatiche autoimmuni (lupus eritematoso sistemico, sclerosi sistemica, sindrome di Sjogren, dermatomiosite), che possono interessare la popolazione pediatrica, sebbene con bassa frequenza.

I RF, ad alta concentrazione, risultano prevalentemente e persistentemente associati alla forma poliarticolare: la loro positività consente di identificare il sottogruppo RF positivo (PJIA RF+), che costituisce il 7-9% dei pazienti con JIA, colpisce le età adolescenziali e si associa alla presenza di noduli reumatoidi e ad una peggior prognosi, analogamente all'artrite reumatoide dell'adulto<sup>25</sup>.

Gli ACPA sono stati studiati solo recentemente nella JIA, a partire dal primo studio di Bizzaro<sup>26</sup>. Una meta-analisi della letteratura recente (Tab. V) evidenzia che essi sono presenti in una percentuale media complessiva del 6% nei pazienti affetti da JIA, con particolare riferimento alla forma poliarticolare RF positiva (43.1%): questa sembra quindi costituire la forma pediatrica dell'artrite reumatoide dell'adulto. Esiste tuttavia una grande variabilità di risultati nelle varie casistiche, che dipendono dalla diversa selezione dei pazienti e dalla variabilità analitica dei metodi di dosaggio degli ACPA<sup>27</sup>.

### Valore predittivo degli anticorpi e loro impiego in programmi di screening

Negli ultimi 10 anni numerosi studi prospettici o retrospettivi hanno dimostrato che molti autoanticorpi possono essere identificati precocemente nel siero di soggetti asintomatici o paucisintomatici che in seguito svilupperanno una malattia autoimmune<sup>28</sup>. Questi autoanticorpi hanno la capacità di precedere anche di anni le manifestazioni cliniche della malattia ed è stato ipotizzato un loro impiego a scopo diagnostico e prognostico anche in studi di screening, dato che sono già oggi disponibili metodi a determinazione autoanticorpale multipla, che possono consentire di misurare contemporaneamente alcune decine/centinaia di autoanti-

**Tabella V.** Positività ad ACPA nei 7 sottotipi di artrite idiopatica giovanile (PJIA: artrite idiopatica giovanile poliarticolare, SJIA: artrite idiopatica giovanile sistemica, OJIA: artrite idiopatica giovanile oligoarticolare, EOJIA: artrite idiopatica giovanile oligoarticolare estesa, artrite idiopatica correlata ad enterite, JPA: artrite psoriasica giovanile, JIA: artrite idiopatica giovanile, RF: fattore reumatoide).

PJIA RF-	PJIA RF+	SJIA	OJIA	EOJIA	ERA	JPA	Altre	JIA totali	Riferimento
								0/3	Bizzaro, 2001
1/51	0/1	0/6	1/52					2/109	Avcin, 2002
3/52	2/18				1/15		1/5	7/140	Hromadnikova, 2002
								6/21	Lee, 2003
0/24	8/11	0/10	1/11	0/6	0/2	0/3	1/4	10/71	Van Rossum, 2003
0/36	5/12	0/28	0/33	0/3	1/7	0/3		6/122	Kasapcopur, 2004
5/63	8/14		0/14		3/139			16/230	Ferucci, 2005
0/5	2/2	0/3	0/25		0/2	0/6	0/2	2/44	Brunner, 2006
1/23			0/38				2/9	1/61	Dewint, 2006
10/254 (3.9%)	25/58 (43.1%)	0/5 (0%)	15/298 (1.7%)	0/11 (0%)	2/30 (6.7%)	0/8 (0%)	4/18 (2.2%)	50/801 (6.2%)	Totale

corpi<sup>29</sup>.

Screening di popolazione o di gruppi a rischio sono stati condotti anche nelle popolazioni pediatriche, in particolare per diagnosticare precocemente il diabete autoimmune<sup>30</sup>, il morbo di Addison<sup>31</sup> o la malattia celiaca<sup>32</sup>.

Non è tuttavia ancora chiarito se la cinetica anticorpale e il meccanismo evolutivo dell'attacco autoimmune presentino un andamento parallelo per tutti i tipi di autoanticorpi (per molti dei quali non è ancora accertato un ruolo patogenetico) ed in tutte le malattie autoimmuni. Tale aspetto risulta di centrale importanza per attribuire valore predittivo alla presenza di un anticorpo. Dato che nessun dosaggio autoanticorpale presenta il 100% di specificità e che i risultati positivi sono fortemente dipendenti dal metodo con cui gli autoanticorpi vengono misurati<sup>29</sup>, l'introduzione di programmi di screening della popolazione potrebbe indurre problemi complessi di natura clinico-metodologica (distinzione tra veri positivi e falsi positivi analitici) ed etica (corretta gestione e *counselling* del paziente)<sup>33</sup>, considerando che ancora non sono disponibili strumenti terapeutici in grado di modificare il decorso della malattia, anche quando utilizzati in fasi molto precoci.

La nostra opinione<sup>34</sup> è che, data la non elevata prevalenza delle patologie autoimmuni nella popolazione pediatrica (circa 3%), non è ancora utile o produttivo lo screening autoanticorpale della popolazione pediatrica generale, quanto invece di soggetti a rischio (ad es. consanguinei di pazienti affetti da malattie autoimmuni, pazienti con aplotipo significativamente correlato ad una malattia autoimmune, etc), o di soggetti asintomatici casualmente dimostrati positivi ad un autoanticorpo considerato marcatore di malattia o infine di soggetti che soffrono di una malattia autoimmune che può associarsi ad altre patologie autoimmuni (ad es. le poliendocrinopatie autoimmuni, il diabete, la celiachia, le tiroiditi, ecc).

## Bibliografia

- Tozzoli R, Bizzaro N. Novel diagnostic methods for autoantibody detection. In: Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL, eds. Autoantibodies. Amsterdam: Elsevier; 2006. p. 77-82.
- Brogan PA, Dillon MJ. Autoimmune diseases in children. *Current Paediatrics* 2005; 15:23-31.
- Pearce EN, Farwell AP, Braverman LE. Thyroiditis. *N Engl J Med* 2003; 348:2646-55.
- Bastenir M, Emral R, Erdogan G, Gullu S. High prevalence of thyroid dysfunction and autoimmune thyroiditis in adolescents after elimination of iodine deficiency in the Eastern Black Sea Region of Turkey. *Thyroid* 2006; 16: 1265-71.
- Teng W, Shan Z, Teng X, Guan H, Li Y, Teng D, et al. Effect of iodine intake on thyroid diseases in China. *N Engl J Med* 2006; 354:2783-93.
- LaFranchi S. Thyroiditis. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, eds. Nelson textbook of pediatrics. Saunders: Philadelphia; 2004. p. 1879-81.
- Radetti G, Gottardi E, Bona G, Corrias A, Saraldi S, Loche S. The natural history of euthyroid Hashimoto's thyroiditis in children. *J Pediatr* 2006; 149:827-32.
- Tozzoli R, Villalta D, Bizzaro N, Tonutti E, Manoni F. Laboratory diagnosis of autoimmune thyroid disease. *Recenti Prog Med* 2001; 92:609-17.
- Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Pradella M, Manoni F, Villalta D, et al. Immunoassay of anti-thyroid autoantibodies: high analytical variability in second generation methods. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40:568-73.
- McLachlan S, Rapoport B. Autoimmune response to the thyroid in humans: thyroid peroxidase-the common autoantigenic denominator. *Int Rev Immunol* 2000; 19:587-618.
- Tozzoli R, Villalta D, Kodermaz G, Bagnasco M, Tonutti E, Bizzaro N. Autoantibody profiling of patients with autoimmune thyroid disease using a new multiplexed immunoassay method. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44: 837-42.
- Mearin ML. Celiac disease among children and adolescents. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2007; 37:86-105.

13. Green PHR, Jabri B. Coeliac disease. *Lancet* 2003; 362: 382-91.
14. van Heel DA, West J. Recent advances in celiac disease. *Gut* 2006; 55:1037-46.
15. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Schmerling DH, Visakorpi JK. Revised criteria for the diagnosis of coeliac disease. Report of the working group of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Arch Dis Child* 1990; 65:909-11.
16. Tonutti E, Bizzaro N. Anti-tissue transglutaminase and anti-endomysial antibodies. In: Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL, eds. *Autoantibodies*. Amsterdam: Elsevier; 2006. p. 443-50.
17. Bizzaro N, Tonutti E. Anti-gliadin antibodies. In: Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL, eds. *Autoantibodies*. Amsterdam: Elsevier; 2006. p. 451-6.
18. Lewis NR, Scott BB. Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of the endomysial and tissue transglutaminase antibody tests). *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24:47-54.
19. Tonutti E, Visentini D, Bizzaro N, Villalta D, Bagnasco M, Tozzoli R, et al. Linee guida per la diagnosi di laboratorio ed istologica della malattia celiaca: RIMeL/IJLab 2005; 2:110-22.
20. Sugai E, Vazquez H, Nachman F, Moreno ML, Mazure R, Smecuol E, et al. Accuracy of testing for antibodies to synthetic gliadin-related peptides in celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4:1112-7.
21. Tonutti E, Visentini D, Picierno A, Bizzaro N, Villalta D, Tozzoli R, et al. Antibodies to synthetic gliadin peptides: a highly sensitive and specific assay to identify IgA anti-transglutaminase negative celiac patients. (Proceedings of 5<sup>th</sup> International congress on autoimmunity, Sorrento, Italy, November 29 - December 3, *Autoimmun Rev* 2006). p. 359-60.
22. Petty RE, Southwood TR, Baum J, Bhattay E, Glass DN, Manners P, et al. Revision of the proposed classification criteria for juvenile rheumatoid arthritis: Durban 1997. *J Rheumatol* 1998; 25:1991-4.
23. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F, et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol* 2002; 117:316-24.
24. Villalta D. Gli anticorpi anti-antigeni cromatinici. In: Tozzoli R, Bizzaro N, Villalta D, Tonutti E, eds. *Il laboratorio nelle malattie reumatiche autoimmuni*. Bologna: Esculapio; 2007. p. 159-73.
25. Villalta D, Tozzoli R. I fattori reumatoidi. In: Tozzoli R, Bizzaro N, Villalta D, Tonutti E, eds. *Il laboratorio nelle malattie reumatiche autoimmuni*. Bologna: Esculapio; 2007. p. 247-56-73.
26. Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, Villalta D, Tozzoli R. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2001; 47:1089-93.
27. Bizzaro N, Tonutti E, Tozzoli R, Villalta D. A comparative evaluation of the analytical and diagnostic characteristics of 11 second- and third-generation immunoenzymatic methods for the detection of antibodies to citrullinated proteins. *Clin Chem* 2007 (in press).
28. Bizzaro N. Autoantibodies as predictors of disease: the clinical and experimental evidence. *Autoimmun Rev* 2007 (in press).
29. Tozzoli R. Recent advances in diagnostic technologies and their impact in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 2007 (in press).
30. Barker JM, Barriga KJ, Yu L, Miao D, Ehrlich HA, Norris JM, et al. Prediction of autoantibody positivity and progression to type 1 diabetes: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:3896-902.
31. Betterle C, Volpato M, Rees-Smith B, Furmaniak J, Chen S, Zanchetta R, et al. Adrenal cortex and steroid 21-hydroxylase autoantibodies in children with organ-specific autoimmune disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 939-42.
32. Simell S, Kupila A, Hoppu S, Hekkala A, Simell T, Stahlberg MR, et al. Natural history of transglutaminase autoantibodies and mucosal changes in children carrying HLA-conferred celiac disease susceptibility. *Scan J Gastroenterol* 2005; 40:1182-91.
33. Bagnasco M, Grassia L, Pesce G. The management of the patient with unexpected autoantibody positivity. *Autoimmun Rev* 2007 (in press).
34. Bizzaro N, Tozzoli R, Shoenfeld Y. Are we at a stage to predict autoimmune rheumatic diseases? *Arthritis Rheum* 2007 (in press).