

Proposta di linee guida per la diagnosi di laboratorio della malattia celiaca

E. Tonutti*, **D. Visentini¹**, **N. Bizzaro^{2*}**, **D. Villalta^{3*}**, **R. Tozzoli^{4*}**, **M. Bagnasco^{5*}**, **F. Manoni^{6*}**, **M. Tampoia^{7*}**, **D. Bassetti^{8*}**, **A. Piazza^{9*}**, **M. Pradella^{10*}**, **L. Camogliano^{11*}**, **P. Rizzotti^{12*}**

¹ *Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio, A.O. S. Maria della Misericordia Udine*

² *Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Civile, S. Donà di Piave (VE)*

³ *Dipartimento di Medicina di Laboratorio, A.O. S. Maria degli Angeli, Pordenone.*

⁴ *Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Ospedale Civile, Latisana (UD)*

⁵ *Dipartimento di Medicina Interna, Laboratorio di Allergologia e Immunologia Clinica, Università di Genova.*

⁶ *Dipartimento di Patologia Clinica, Ospedale Civile, Chioggia (VE)*

⁷ *Laboratorio di Patologia Clinica, Policlinico Bari*

⁸ *Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Ospedale S. Chiara, Trento*

⁹ *Laboratorio di Patologia Clinica, Ospedale Geriatrico, Padova*

¹⁰ *Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Ospedale Civile, Castelfranco Veneto (TV)*

¹¹ *Dipartimento di Diagnostica, Ospedale S. Giacomo, Novi Ligure (AL)*

¹² *Direzione Sanitaria, Ospedale di Borgo Trento, Verona*

* *Gruppo di Studio in Autoimmunologia della Società Italiana di Medicina di Laboratorio*

Introduzione

La malattia celiaca (MC) è una delle patologie autoimmuni più comuni nei paesi occidentali ed è una condizione clinica che persiste (con rare eccezioni) lungo tutto l'arco della vita. In Europa la prevalenza varia dallo 0.3% al 1% della popolazione generale, con oscillazioni che sembrano essere condizionate più dai modelli degli studi epidemiologici che da reali condizioni ambientali o genetiche (1-3). Percentuali simili di prevalenza a quelle europee sono riportate nelle popolazioni nord-americane e australiane (4); recenti studi hanno evidenziato un'alta prevalenza anche nelle popolazioni nord-africane, con punte del 5-6% nelle popolazioni del Sahara occidentale (5).

La MC è caratterizzata da un danno immunomediato della mucosa intestinale innescato dalla alimentazione con cereali quali frumento, orzo e segale. Anche se in passato l'avena è stata considerata potenzialmente patogena per i celiaci, recenti studi hanno dimostrato che la reintroduzione nella dieta di questo cereale in soggetti celiaci non è in grado di provocare il danno istologico alla mucosa intestinale (6).

Lo spettro clinico di questa patologia è estremamente eterogeneo con quadri che vanno da drammatiche condizioni generali dovute al malassorbimento (rare), a sintomi clinici sfumati (frequenti) e spesso

con assenza dei classici sintomi gastrointestinali (7). A differenza di altre patologie autoimmuni, la celiachia è curabile nella quasi totalità dei casi adottando una alimentazione appropriata, qualora non si siano già instaurate complicanze irreversibili.

I test di laboratorio sono fondamentali per l'inquadramento della MC e spesso sono in grado di individuare soggetti celiaci con segni clinici subdoli e di non facile interpretazione; permettono inoltre il monitoraggio dei pazienti in dieta priva di glutine.

La biopsia duodeno-digiunale è l'approccio diagnostico conclusivo e deve essere eseguita sulla base delle indicazioni fornite dai test di laboratorio (8).

Studi epidemiologici eseguiti su vasta scala hanno dimostrato che solo il 10-20% dei casi di celiachia vengono identificati sulla base dei dati clinici (1,2,9); negli ultimi anni le conoscenze di base e l'utilizzo di test diagnostici accurati e affidabili hanno notevolmente migliorato le possibilità di identificare i soggetti celiaci.

La recente scoperta che l'enzima transglutaminasi tissutale (EC 2.3.2.13, tTG) (10) è il bersaglio di autoanticorpi presenti nel siero dei soggetti celiaci, ha aperto nuovi orizzonti nella comprensione dei meccanismi fisiopatologici. L'enzima agisce infatti deamidando la gliadina che, così modificata e associata agli antigeni HLA di classe II DQ2 o DQ8, viene presentata ai linfociti T della lamina propria (11-

13); la cronica stimolazione di queste cellule porta ad una attivazione immunologica persistente e ad una trasformazione mucosale (infiltrazione linfocitaria, iperplasia delle cripte, atrofia dei microvilli) da parte dei fibroblasti intestinali attivati (14,15).

Fattori di rischio

Genetica. La MC è una patologia a forte predisposizione genetica: nei gemelli omozigoti la concordanza per la malattia è del 70%, mentre il 5-10% dei familiari di primo grado è affetto. La MC è strettamente associata alla presenza dell'antigene HLA di classe II DQ2 e più del 90% dei soggetti celiaci esprime questo marcatore; i pochi pazienti DQ2 negativi sono DQ8 positivi (16). La predisposizione genetica legata al sistema HLA spiega solo parzialmente il modo di estrinsecazione di questa patologia; infatti, benchè nei paesi europei la prevalenza dell'antigene DQ2 nella popolazione sia intorno al 25-30%, solo una piccola parte di questi individui è affetta da MC. La stretta correlazione atipica permette tuttavia di utilizzare la determinazione degli antigeni HLA di classe II per scopi diagnostici o per la identificazione dei soggetti a rischio.

Sesso. La prevalenza del morbo celiaco è più elevata, anche se di poco, nel sesso femminile, con un rapporto maschi/femmine di 1/2 (17,18).

Dieta. La malattia si manifesta in seguito all'assunzione del glutine con gli alimenti; esso comprende

una famiglia di proteine vegetali, le prolamine, contenute nel frumento (gliadine), nell'orzo (ordeine), e nella segale (secaline) (13). Dubbia rimane invece la tossicità delle prolamine presenti nell'avena (avenine) (6). Anche nei soggetti geneticamente suscettibili la non assunzione di glutine evita l'instaurarsi del danno alla mucosa e nei soggetti identificati come celiaci una rigorosa dieta priva di glutine è in grado di far ripristinare la normale architettura dei villi nell'arco di 6-12 mesi (19).

Altri fattori di rischio. Il rischio di sviluppare la malattia celiaca è superiore, rispetto alla popolazione normale, nei pazienti con le seguenti condizioni: diabete mellito tipo 1 (5% dei pazienti affetti), sindrome di Down (4-5% dei pazienti affetti), deficit di IgA (rischio aumentato di 10 volte), familiari di 1° grado di celiaci (20,21). In letteratura vengono inoltre descritte numerose altre condizioni cliniche associate a MC, che possono essere genericamente considerate come fattori di rischio, anche se i dati attualmente disponibili non sono ancora univoci.

Manifestazioni cliniche

I segni e sintomi che si manifestano nei soggetti celiaci sono estremamente eterogenei, riconoscono differenti meccanismi fisiopatologici (malassorbimento, attivazione immunologica, tossicità diretta dei peptidi gliadinici, alterata permeabilità intestinale) e possono comparire in tempi diversi (17,18). Il medico deve in ogni caso essere a conoscenza del-

Tabella I. Segni e sintomi che possono essere presenti in soggetti affetti da malattia celiaca.

Generali	Gastrointestinali	Neurologici-Psichiatrici
Bassa statura	Dispepsia	Neuropatia periferica
Perdita di peso	Nausea	Atassia
Ritardo puberale	Vomito	Epilessia
Astenia	Diarrea	Parestesie
Apatia	Stipsi	Ansietà
Malessere	Distensione addominale	Depressione
Edema	Flatulenza	Irritabilità
	Glossite	
	Ulcere cavo orale	
	Difetto smalto dentario	
Ematologici	Osteoarticol./muscol.	Altri
Anemia	Artrite	Dermatite erpetiforme
Carenza di ferro	Osteoporosi	Alopecia
Carenza di folati	Osteomalacia	Diuresi notturna
Emorragie	Crampi	Infertilità
Ecchimosi	Miopia	Poliabortività
		Ipertransaminasemia
		Coilonichia
		Ippocratismo digitale

l'estremo polimorfismo clinico della MC la cui diagnosi viene spesso formulata solo attraverso la collaborazione di diversi specialisti. Nella Tabella I vengono riportati segni e sintomi che devono suggerire al medico curante la prescrizione dei test sierologici. L'esecuzione dei test è inoltre consigliata, indipendentemente dal quadro clinico, in tutti i soggetti che appartengono ai gruppi a rischio (diabetici, deficit di IgA, familiari di primo grado di celiaci, Down) (20,21) ed eventualmente in soggetti affetti da patologie celiachia-associate come le tiroiditi autoimmuni, le patologie infiammatorie croniche dell'intestino, le connettiviti, il morbo di Addison, etc. (Tabella II).

E' doveroso inoltre ricordare che i soggetti celiaci non trattati possono sviluppare patologie croniche o degenerative, tra cui il linfoma intestinale T, il carcinoma dell'esofago e del digiuno, l'ileite ulcerativa, l'osteoporosi e problemi legati alla fertilità (20,22-28); l'adozione di una rigorosa dieta priva di glutine può avere efficacia preventiva nei confronti di queste ed altre complicanze (29).

I marcatori anticorpali

Anticorpi anti-gliadina (AGA)

Gli anticorpi anti-gliadina sono stati il primo marker sierologico ad essere utilizzato nella pratica clinica. I primi test sono stati introdotti all'inizio degli anni '80 e sono ancora attualmente in uso anche se, alla luce delle nuove acquisizioni, il loro utilizzo verrà probabilmente ridimensionato. Abitualmente si dosano sia gli AGA di classe IgG che di classe IgA con metodiche immunoenzimatiche (ELISA); sensibilità e specificità degli AGA IgG sono rispettivamente 82-87% e 67-80%, e 85-90% e 83-91% per gli AGA IgA. La determinazione degli AGA IgG può essere utile nei soggetti con deficit di IgA e nei bambini sotto i due anni nei quali la classe IgA è poco rappresentata per deficit maturativi transitori nella sintesi di immunoglobuline, anche se la recente introduzione di metodi per la determinazione di anti-tTG IgG, oggetto al momento di valutazione clinica, potrebbe ridurre ulteriormente l'impiego clinico degli AGA IgG. La variabilità analitica dei test commer-

ciali per gli AGA è molto elevata; non sono infatti disponibili standard internazionali di riferimento per cui è esperienza diffusa il riscontro di risultati anche molto diversi da un laboratorio all'altro (30).

Gli AGA vengono richiesti inoltre per monitorare la compliance dei pazienti in dieta priva di glutine; normalmente dopo 3-6 mesi di dieta, si assiste ad una scomparsa degli AGA IgA, mentre più tardivamente (12-18 mesi) si riducono gli AGA IgG.

Anticorpi anti-reticolina (ARA)

Questi autoanticorpi, che identificano strutture connettivali extracellulari, si evidenziano con la metodica dell'immunofluorescenza indiretta (IFI) utilizzando come substrato fegato e rene di ratto. Gli ARA si suddividono in 5 sottotipi (R1, R2, Rs, R3, R4), ma solamente gli anti-R1 correlano significativamente con la MC e proprio questo sottotipo può essere identificato in IFI per la caratteristica fluorescenza peritubulare e periglomerulare. Si possono evidenziare anticorpi sia di classe IgA che di classe IgG; la sensibilità del metodo non è molto elevata in particolare per gli anticorpi di classe IgG, mentre la specificità varia ma viene ritenuta discretamente buona per gli anticorpi di tipo R1. Recenti lavori hanno dimostrato che gli ARA corrispondono agli EMA e agli a-tTG (31).

Anticorpi anti-endomisio (EMA)

Sono autoanticorpi diretti contro antigeni della matrice del collagene evidenziabili con la metodica di IFI su sezioni di esofago (terzo inferiore) o di vescica di scimmia, o su sezioni di cordone ombelicale umano (32). La specificità degli EMA IgA è molto elevata (99.8%) e i rari falsi positivi sono probabilmente imputabili più a errori interpretativi che alle caratteristiche dei metodi impiegati; la sensibilità è anch'essa elevata (circa 95%); queste caratteristiche fanno sì che la ricerca di EMA IgA sia il test più utilizzato nei laboratori clinici per la diagnosi di MC. I negativi sono per lo più dovuti ad un concomitante deficit di IgA o si verificano più frequentemente nei bambini sotto i due anni. Sono stati recentemente introdotti test in IFI per la determinazione di EMA di classe IgG le cui performances sono ancora in fase di valutazione (33). La ricerca degli EMA viene uti-

Tabella II. Condizioni cliniche nelle quali la malattia celiaca risulta avere una elevata prevalenza.

Tiroiditi
Connettiviti
Miocardipatia dilatativa
Morbo di Addison
Patologie infiammatorie intestinali
Miastenia gravis
Sclerosi multipla
Diabete mellito tipo 1
Sindrome di Down
Deficit di IgA

lizzata sia nella diagnosi sia nel monitoraggio dei pazienti in dieta, nel qual caso si assiste ad una progressiva scomparsa degli autoanticorpi circolanti nell'arco di 4-12 mesi (34).

Le problematiche intrinseche a questo test risiedono negli elevati costi del substrato, nella crescente difficoltà nel reperire tessuti di primate e negli aspetti interpretativi della metodica, particolarmente quando il substrato è costituito da sezioni di cordone ombelicale.

Anticorpi anti-transglutaminasi tissutale (anti-tTG)

La recente identificazione dell'enzima transglutaminasi tissutale quale bersaglio di autoanticorpi presenti nei soggetti celiaci (10) ha aperto nuovi orizzonti nella comprensione dei meccanismi fisiopatologici e nell'approccio diagnostico a questa patologia (35-37). Il riconoscimento della proteina bersaglio ha permesso di sviluppare test immunoenzimatici (38) e radioimmunologici (39) ad elevata sensibilità e specificità. I test commerciali attualmente disponibili per la ricerca di anti-tTG offrono ottime garanzie di qualità analitica; il substrato utilizzato può essere costituito da antigene estrattivo (fegato di cavia-guinea pig, eritrociti umani) o ricombinante umano (40), e proprio quest'ultimo sembra possedere le migliori caratteristiche di sensibilità e specificità (41,42). Possono essere determinate entrambe le classi anticorpali IgA e IgG e questo aspetto è molto importante sia per la diagnosi nei soggetti con deficit di IgA sia perché sono stati riportati casi di soggetti celiaci senza deficit di IgA con positività per la sola classe IgG (43,44). Pur non essendo ancora esaustivi i dati in letteratura e in attesa di una più precisa definizione del loro valore diagnostico, gli anti-tTG IgG sembrano poter rivestire un ruolo non secondario tra i marker sierologici. La letteratura più recente riporta una superiore sensibilità degli anticorpi anti-tTG nei confronti degli EMA sia nella diagnosi che nel monitoraggio; la specificità invece risulterebbe leggermente inferiore agli EMA qualora si utilizzasse un antigene estrattivo, ma i metodi ELISA che utilizzano antigene ricombinante umano sembrano dotati di una specificità equivalente a quella degli EMA.

I marcatori genetici

L'identificazione che i soggetti affetti da MC esprimono selettivamente gli antigeni HLA di classe II DQ2 o DQ8 ha permesso di introdurre questo test nella pratica clinica. La determinazione degli antigeni HLA può essere effettuata con metodiche sierologiche o con tecniche di biologia molecolare, oggi rese disponibili da più fonti commerciali, con riduzione dei tempi e dei costi di esecuzione. A questo proposito, è opportuno sottolineare che è sufficiente che venga richiesta al laboratorio la determinazione dei soli alleli DQ2 e DQ8 e non la mappatura completa

degli antigeni HLA classe I e II, la cui identificazione, in tali circostanze, non è di alcuna utilità pratica.

Proposta di linee guida per la diagnosi di laboratorio di celiachia

Queste linee guida vogliono offrire una base pratica per l'inquadramento diagnostico e il monitoraggio del paziente celiaco tenendo presente l'ampia offerta di test diagnostici attualmente disponibili sul mercato. È essenziale che, al di fuori di studi epidemiologici e di programmi di screening che si pongono obiettivi diversi, gli esami di laboratorio vengano richiesti solo in soggetti sintomatici o che presentino fattori di rischio. Pertanto,

I test di laboratorio per la malattia celiaca devono essere richiesti qualora il paziente presenti uno o più sintomi indicativi di malattia celiaca o appartenga ad uno dei gruppi a rischio.

Proprio in relazione alla migliore scelta dei test è utile che al laboratorio venga proposto un quesito diagnostico più che un elenco di esami spesso inutili, obsoleti o poco appropriati; la condivisione di questi aspetti con il clinico è fondamentale per poter offrire una appropriata griglia diagnostica in rapporto alle diverse situazioni cliniche. L'iter diagnostico è infatti diverso a seconda che i test vengono richiesti a scopo diagnostico in pazienti sintomatici di età inferiore o superiore ai 2 anni, per la diagnosi in soggetti appartenenti a gruppi a rischio o per il monitoraggio della dieta priva di glutine. Pertanto,

La richiesta dovrebbe essere accompagnata dalla descrizione dei segni e/o sintomi, o dalla indicazione della eventuale appartenenza a gruppi a rischio; sarebbe inoltre opportuno indicare se il test viene prescritto a scopo diagnostico o per il monitoraggio della dieta priva di glutine.

1 - Procedura diagnostica in soggetti con manifestazioni cliniche ed età > 2 anni

La recente introduzione di metodi analitici per la determinazione degli anticorpi anti-tTG, con caratteristiche di elevata sensibilità e specificità, ha posto in discussione il significato della determinazione di test diagnostici quali AGA, ARA ed EMA, che nel tempo sono andati ad aggiungersi l'uno all'altro. Alla luce infatti delle conoscenze fisiopatologiche e dell'identificazione degli epitopi antigenici bersaglio, i dati della letteratura più recente sembrano indicare ormai obsoleto l'utilizzo degli AGA, a causa della non elevata sensibilità e specificità, nonché priva di significato, come primo step diagnostico, la ricerca con metodi diversi di quello che appare sempre più essere lo stesso autoanticorpo (ARA, EMA e anti-tTG).

La determinazione con metodo EIA degli anti-tTG

di classe IgA, è un test molto sensibile e specifico, quantitativo e automatizzabile, anche se al momento non sono disponibili standard internazionali. L'utilizzo anche di un marcatore anticorpale di classe IgG come test di ingresso da affiancare alla determinazione degli anti-tTG IgA, è opportuno perchè la ricerca degli anti-tTG di classe IgG consentirebbe di identificare anche i soggetti celiaci con sola positività per IgG, siano essi o no portatori di deficit di IgA. Pertanto,

La ricerca con metodo EIA degli anti-tTG sia di classe IgA che IgG rappresenta il test di primo livello per la diagnosi di malattia celiaca.

- a) **In caso di negatività per entrambe le classi anticorpali vi è un'elevata probabilità che il paziente non sia affetto da MC.**
- b) **In caso di positività per anti-tTG IgA (associate o meno a positività per anti-tTG IgG) si consiglia la ricerca degli EMA IgA con metodo IFI su sezione di terzo inferiore di esofago di scimmia o sezione di cordone ombelicale umano.**

In questo caso: **qualora gli EMA risultino positivi, la diagnosi di celiachia è praticamente certa e al paziente deve essere proposta la biopsia duodeno-digiunale. Qualora invece gli EMA risultino negativi, è consigliata l'esecuzione dell'aplotipo HLA per la identificazione degli alleli DQ2 o DQ8.**

- **Nei soggetti che risultano DQ2 o DQ8 positivi, è consigliata l'esecuzione della biopsia duodeno-digiunale.**
- **E' sconsigliata invece l'esecuzione della biopsia duodeno-digiunale nei soggetti anti-tTG IgA positivi, EMA IgA e DQ2 o DQ8 negativi, a meno che non siano presenti manifestazioni cliniche fortemente suggestive per MC.**

La negatività per EMA IgA di un siero risultato anti-tTG IgA positivo è un evento non raro quando si utilizza un test EIA per anti-tTG con antigene ottenuto da fegato di cavia. Nella maggior parte dei casi si tratta di una falsa positività del test anti-tTG che dovrebbe comunque essere confermata utilizzando un substrato diverso (antigene ricombinante o estrattivo umano per gli anti-tTG, o un altro substrato per gli EMA) o facendo riferimento ad un altro laboratorio. Si deve tuttavia ricordare che sono stati descritti rari casi di soggetti celiaci anti-tTG IgA positivi ma EMA IgA negativi. In ogni caso è utile ricontrollare a distanza di tempo i soggetti che presentano risultati non concordanti tra EMA e anti-tTG.

- c) **In caso di positività solo per anti-tTG di classe IgG, è necessario eseguire il dosaggio quantitativo delle IgA totali.**

- **In presenza di deficit di IgA è consigliata l'esecuzione della biopsia intestinale.**

Per deficit di IgA si intende un valore < 5 mg/dL di IgA sieriche; anche i deficit transitori di IgA nei bambini possono creare problemi nella determinazione di anticorpi o autoanticorpi di classe IgA. L'alta prevalenza di MC nei soggetti con deficit di IgA consiglia l'esecuzione della biopsia indipendentemente dalla presenza di altri marcatori sierologici.

- **In presenza di normali livelli di IgA sieriche è consigliata l'esecuzione dell'aplotipo HLA.**
- **In presenza di normali livelli di IgA sieriche e positività per gli antigeni DQ2 o DQ8, è consigliata l'esecuzione della biopsia duodeno-digiunale.**
- **In presenza di normali livelli di IgA sieriche e assenza degli antigeni DQ2 o DQ8, non è consigliata l'esecuzione della biopsia duodeno-digiunale.**

In tutti i casi di positività per la sola classe IgG può essere utile eseguire un secondo test anticorpale (AGA) o autoanticorpale (EMA o ARA) di classe IgG per eventuale conferma.

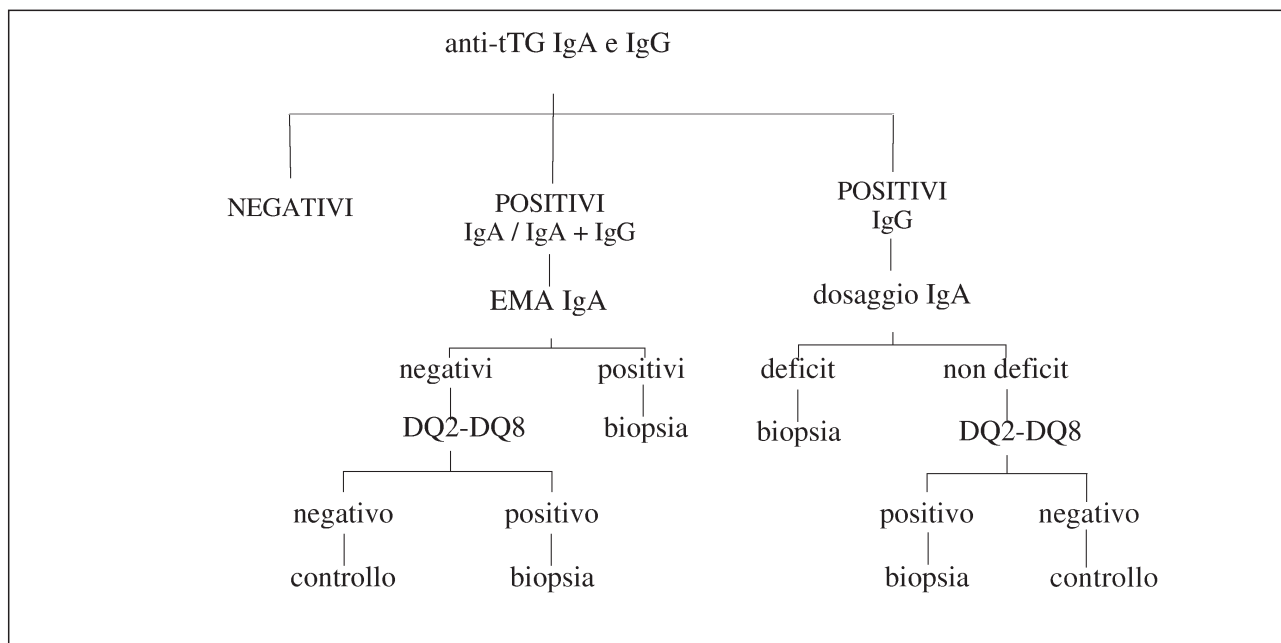
La refertazione deve includere un commento esplicativo con la indicazione degli eventuali esami diagnostici necessari per il completamento dell'iter diagnostico.

2 - Procedura diagnostica in soggetti con manifestazioni cliniche ed età < 2 anni

E' noto che nei bambini il sistema immunitario è in fase di maturazione per cui può essere utile, allo stato attuale delle conoscenze, prevedere un iter diagnostico differenziato nei soggetti con età inferiore ai due anni; in particolare, considerata la maggiore sensibilità in quella fascia di età degli anticorpi di classe IgG, rispetto a quelli di classe IgA, è indicata l'esecuzione del test AGA IgG in associazione ai test anti-tTG IgA e IgG; questo approccio tiene inoltre in considerazione il diverso ruolo degli anticorpi (AGA) dagli autoanticorpi (anti-tTG). Pertanto, in attesa di verificare sul campo la possibilità di utilizzare il medesimo iter diagnostico in tutte le fasce d'età,

Nei soggetti di età inferiore ai 2 anni è consigliata la ricerca con metodi EIA degli anticorpi anti-tTG di classe IgA e IgG e degli AGA di classe IgG.

In caso di positività per anti-tTG IgA o anti-tTG IgG, si adatterà la medesima strategia proposta per i soggetti con età superiore ai due anni.

Figura 1. Algoritmo per l'utilizzo dei test diagnostici in soggetti con segni/sintomi di malattia celiaca.

In caso di positività isolata per AGA IgG è consigliabile il dosaggio delle IgA totali e, qualora queste risultassero normali, data la scarsa specificità del test AGA IgG, la decisione di sottoporre il paziente alla determinazione dell'aplotipo HLA o alla biopsia intestinale, non può prescindere da un'accurata valutazione clinica.

3 - Procedura diagnostica in soggetti appartenenti a gruppi a rischio

Non è chiaro quando la MC possa insorgere nei soggetti geneticamente predisposti; questo aspetto risulta importante in quanto non è detto che l'esecuzione dei test sierologici con esito negativo possa di fatto escludere che in futuro si possa comunque sviluppare la patologia. Questo aspetto è ancora più rilevante nei soggetti appartenenti a gruppi a rischio dove la presenza di una condizione predisponente aumenta in maniera significativa l'incidenza di MC. In questi soggetti un risultato sierologico negativo dovrebbe essere approfondito con la determinazione degli antigeni HLA di classe II. Pertanto,

Nei soggetti appartenenti a gruppi a rischio (familiari di primo grado di celiaci, soggetti con deficit di IgA, diabetici tipo 1, Down) è consigliata l'esecuzione degli anti-tTG sia di classe IgA che di classe IgG, anche se asintomatici.

- In caso di positività per anti-tTG IgA e/o IgG si procede come già descritto per i soggetti con manifestazioni cliniche.**
- In caso di negatività per anti-tTG sia di classe IgA che IgG è consigliata la determinazione degli antigeni HLA di classe II DQ2 o DQ8.**

- In caso di negatività per DQ2 o DQ8 si può escludere la MC, e non è più necessario in futuro eseguire test sierologici per MC.**
- In caso di positività per DQ2 o DQ8 è consigliabile ripetere i test sierologici al minimo sospetto di malassorbimento o di segni clinici celiachia associati.**

4 - Monitoraggio dei soggetti celiaci in dieta priva di glutine

Anche nel monitoraggio dei pazienti in dieta priva di glutine, effettuato allo scopo di verificare la aderenza alla prescrizione dietetica, la determinazione degli anti-tTG si è dimostrata più efficace rispetto a quella degli EMA, AGA e ARA. E' sufficiente che in ciascun paziente vengano dosati solo gli anti-tTG appartenenti alla classe anticorpale (IgA o IgG) che era risultata presente alla diagnosi. Pertanto,

Nel monitoraggio dei soggetti celiaci in dieta priva di glutine è consigliata la sola determinazione degli anticorpi anti-tTG di classe IgA nei celiaci che alla diagnosi avevano una positività per questa classe autoanticorpale, e della sola classe IgG nei celiaci con deficit di IgA o che comunque alla diagnosi erano positivi solamente per anti-tTG IgG.

Conclusioni

Le linee guida e il percorso diagnostico (Figura 1) presentate in questo documento, sono aperte alla discussione e al contributo critico di tutti coloro che

si occupano di malattia celiaca. Come tali non costituiscono un documento definitivo ma, al contrario, una proposta suscettibile di correzioni e miglioramenti.

Bibliografia

- Catassi C, Fabiani E, Ratsch IM, Coppa GV, Giorgi PL, Pierdomenico R, et al. The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta Paediatr Suppl* 1996; Suppl 412: 29-35.
- Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F, et al. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet* 1994; 343:200-3.
- Mitt K, Uibo O. Low cereal intake in Estonia infants: the possible explanation for the low frequency of celiac disease in Estonia. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52:85-8.
- Hill I, Fasano A, Schwartz R, Counts D, Glock M, Horvath K. The prevalence of celiac disease in at-risk groups of children in the United States. *J Pediatr* 2000; 136:86-90.
- Catassi C, Ratsch IM, Gandolfi L, Pratesi R, Fabiani E, El Asmar R, et al. Why is coeliac disease endemic in the people of the Sahara? *Lancet* 1999; 354:647-8.
- Picarelli A, Di Tola M, Sabbatella L, Gabrelli F, Di Cello T, Anania MC, et al. Immunologic evidence of no harmful effect of oats in celiac disease. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:137-40.
- Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of celiac disease. *Gut* 1993; 34:150-1.
- Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JH. Revised criteria for the diagnosis of celiac disease. Report of a working group. *Arch Dis Child* 1990; 65:909-11.
- Swinson CM, Levi AJ. Is celiac disease underdiagnosed? *BMJ* 1980; 281:1258-60.
- Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997; 3:797-801.
- Van de Wal Y, Kooy Y, van Veelen P, Pena S, Mearin L, Papadopoulos G, et al. Cutting edge: Selective deamidation by tissue transglutaminase strongly enhances gliadin-specific T cell reactivity. *J Immunol* 1998; 161:1585-8.
- Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, Jewell DP, Hill AV. In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. *Nat Med* 2000; 6:337-42.
- Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology* 1992; 102:330-54.
- Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KE, Johansen FE, Fausa O, Sollid LM, et al. Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 1998; 115:551-63.
- Godkin A, Jewell D. The pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology* 1998; 115:206-10.
- Sollid LM, Thorsby E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology* 1993; 105:910-22.
- Catassi C, Fabiani E. The spectrum of coeliac disease in children. *Baillière's Clin Gastroenterol* 1997; 11:485-507.
- Corazza GR, Gasbarrini G. Celiac disease in adults. *Baillière's Clin Gastroenterol* 1995; 9:329-50.
- Troncone R, Greco L, Auricchio S. Gluten sensitive enteropathy. *Pediatr Clin North Am* 1996; 43:355-73.
- Collin P, Reunala T, Pukkala E, Laippala P, Keyrilainen O, Pasternack A. Celiac disease: associated disorders and survival. *Gut* 1994; 35:1215-8.
- Page SR, Lloyd CA, Hill PG, Peacock I, Holmes GK. The prevalence of celiac disease in adult diabetes mellitus. *Q J Med* 1994; 87:631-7.
- Ventura A, Neri E, Ughi C, Leopaldi A, Citta A, Not T. Gluten-dependent diabetes-related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. *J Pediatr* 2000; 137:263-5.
- Ventura A, Magazzù G, Greco L, for the SIGEP study group for autoimmune disorders in celiac disease. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 1999; 117:297-303.
- Holmes GKT. Celiac disease and malignancy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 24:20-4.
- Holmes GKT. Non malignant complications of celiac disease. *Acta Paediatr* 1996; 412:68-75.
- Holmes GKT. Neurological and psychiatric complications in celiac disease. In: Gobbi G, Andermann F, Naccarato S, Banchini G. eds. *Epilepsy and other neurological disorders in celiac disease*. London: John Libbey; 1997: 251-64.
- Sigurgeirsson B, Agnarsson BA, Lindelof B. Risk of lymphoma in patients with dermatitis herpetiformis. *BMJ* 1994; 308:13-5.
- Sher KS, Mayberry JF. Female infertility, obstetric and gynecological history in celiac disease. A case control study. *Digestion* 1994; 55:243-6.
- Lewis HM, Reunala TL, Garioch JJ, Leonard JN, Fry JS, Collin P, et al. Protective effect of gluten-free diet against development of lymphoma in dermatitis herpetiformis. *Br J Dermatol* 1996; 135:363-7.
- Berger R, Schmidt G. Evaluation of six anti-gliadin antibody assays. *J Immunol Methods* 1996; 191:77-86.
- Lock RJ, Gilmour JE, Unsworth DJ. Anti-tissue transglutaminase, anti-endomysium and anti-R1-reticulin autoantibodies-the antibody trinity of coeliac disease. *Clin Exp Immunol* 1999; 116:258-62.
- Volta U, Molinaro M, de Franceschi L, Fratangelo D, Bianchi FB. IgA anti-endomysial antibodies on human umbilical cord tissue for celiac disease screening. Save both money and monkeys. *Dig Dis Sci* 1995; 40:1902-5.
- Cataldo F, Lio D, Marino V, Picarelli A, Ventura A, Corazza GR. IgG (1) antiendomysium and IgG anti-tissue transglutaminase (anti-tTG) antibodies in coeliac patients with selective IgA deficiency. Working Groups on Celiac Disease of SIGEP and Club del tenue. *Gut* 2000; 47:366-9.
- Dickey W, Hughes DF, McMillan SA. Disappearance of endomysial antibodies in treated celiac disease does not indicate histological recovery. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:712-4.

35. Sulkanen S, Halttunen T, Laurila K, Kolho KL, Korponay-Szabo IR, Sarnesto A, et al. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology* 1998; 115:1322-8.
36. Lock RJ, Pitcher MCL, Unsworth DJ. IgA anti-tissue transglutaminase as a diagnostic marker of gluten sensitive enteropathy. *J Clin Pathol* 1999; 52:274-7.
37. Collin P. New diagnostic findings in coeliac disease. *Ann Med* 1999; 31:399-405.
38. Salmaso C, Ocmant A, Pesce G, Altrinetti V, Montagna P, Descalzi D, et al. Comparison of ELISA for tissue transglutaminase autoantibodies with anti-endomysium antibodies in pediatric and adult patients with celiac disease. *Allergy* 2001; 56:544-7.
39. Bonamico M, Tiberti C, Picarelli A, Mariani P, Rossi D, Cipolletta E, et al. Radioimmunoassay to detect anti-transglutaminase autoantibodies is the most sensitive and specific screening method for celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:1536-40.
40. Hansson T, Dahlbom I, Hall J, Holtz A, Elfman L, Dannaeus A, et al. Antibody reactivity against human and guinea pig tissue transglutaminase in children with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30:379-84.
41. Martini S, Mengozzi G, Aimo G, Pagni R, Sategna-Guidetti C. Diagnostic accuracies for celiac disease of four tissue transglutaminase autoantibody test using human antigen. *Clin Chem* 2001; 47:1722-5.
42. Sardy M, Odenthal U, Karpati S, Paulsson M, Smyth N. Recombinant human tissue transglutaminase ELISA for the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy. *Clin Chem* 1999; 45:2142-9.
43. Dahele A, Kingstone K, Bode J, Anderson D, Ghosh S. Anti-endomysial antibody negative celiac disease: does additional serological testing help? *Dig Dis Sci* 2001; 46:214-21.
44. Picarelli A, Di Tola M, Sabatella L, Mastracchio A, Trecca A, Gabrielli F, et al. Identification of a new celiac disease subgroup: antiendomysial and anti-transglutaminase antibodies of IgG class in absence of selective IgA deficiency. *J Intern Med* 2001; 249:181-8.