

- mild hypercalcemia followed up for 25 years. *Surgery* 2001; 130: 978-85.
7. Koivumaa-Honkanen H, Honkanen R, Viinamaki H, Heikkila K, Kaprio J, Koskenvuo M. Self-reported life satisfaction and 20-year mortality in healthy Finnish adults. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 983-91.
 8. Schmidt JG. The epidemiology of mass breast cancer screening - a plea for a valid measure of benefit. *J Clin Epidemiol* 1990; 43: 215-25.
 9. Edwards CQ, Griffen LM, Ajioka RS, Kushner JP. Screening for hemochromatosis: phenotype versus genotype. *Semin Hematol* 1998; 35: 22-76.
 10. Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho NJ, Gelbart T. Penetrance of 845G → A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA. *Lancet* 2002; 359: 211-18.
 11. Bürgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic S, Uber H, Lentze MJ, Nussle D, et al. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Arch Dis Child* 1991; 66: 941-47.
 12. Dieterich W, Laag E, Schopper H, Volta U, Ferguson A, Gillett H, et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of coeliac disease. *Gastroenterology* 1998; 115: 1317-21.
 13. Plebani M, Bernardi D, Basso D, Borghesan F, Faggian D. Measurement of specific immunoglobulin E: intermethod comparison and standardization. *Clin Chem* 1998; 44: 1974-9.
 14. Martini S, Mengozzi G, Aimo G, Pagni R, Sategna-Guidetti C. Diagnostic accuracy for coeliac disease of four tissue transglutaminase antibody tests using human antigen. *Clin Chem* 2001; 47: 1722-5.
 15. Macartney FJ. Diagnostic logic. In: Phillips CI (editor). *Logic in medicine*. London: BMJ Publishing Group. 1995.
 16. Martin J. The idea is more important than the experiment. *Lancet* 2000; 356: 934-7.
 17. Werner M, Steinberg WM, Pauley C. Strategic use of individual and combined enzyme indicators for acute pancreatitis analyzed by Receiver-Operator characteristics. *Clin Chem* 1989; 35: 967-71.
 18. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *Br Med J* 1988; 297: 883-7.
 19. Vacek PM. The effect of conditional dependence on the evaluation of diagnostic tests. *Biometrics* 1985; 41: 959-68.
 20. Lagerqvist C, Ivarsson A, Juto P, Persson LA, Hernell O. Screening for adult coeliac disease - which serological marker(s) to use? *J Intern Med* 2001; 250: 241-8.
 21. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated coeliac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 888-94.
 22. Dahele A, Kingstone K, Bode J, Anderson D, Ghosh S. Anti-endomysial antibody negative coeliac disease: does additional serological testing help? *Dig Dis Sci* 2001; 46: 214-21.
 23. Kaukinen K, Sulkanen S, Maki M, Collin P. IgA-class transglutaminase antibodies in evaluating the efficacy of gluten-free diet in coeliac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 311-5.
 24. Valentini RA, Andreani ML, Corazza GR, Gasbarrini G. IgA endomysium antibody: a valuable tool in the screening of coeliac disease but not its follow-up. *Ital J Gastroenterol* 1994; 26: 279-82.
 25. Teofilo Folengo. *Baldus*, XV, 120. Torino: Einaudi. 1989.
 26. Bardella MT, Trovato C, Cesana BM, Pagliari C, Gebbia C, Peracchi M. Serological markers for coeliac disease: is it time to change? *Dig Liver Dis* 2001; 33: 426-31.
 27. Bürgin-Wolff A, Hadziselimovic F. Screening test for coeliac disease. *Lancet* 1997; 349: 1843-4.
 28. Kaukinen K, Partanen J, Mäki M, Collin P. HLA-DQ typing in the diagnosis of coeliac disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 695-9.

Gli autori rispondono:

La lettera del dott. Alfonsi apre molti temi di discussione, alcuni dei quali (significato degli screening, etica del medico) meriterebbero articolate argomentazioni, forse più adatte a spazi editoriali di tipo generalista. Tuttavia costituisce una preziosa opportunità per approfondire e chiarire alcuni aspetti della nostra proposta di linee guida per la diagnosi della malattia celiaca¹, delle quali è prevista la revisione non appena completata la raccolta delle osservazioni che stanno pervenendo sull'apposito spazio all'interno del sito web della SIMeL.

Il dott. Alfonsi critica in primo luogo la proposta di eseguire test diagnostici per malattia celiaca nei soggetti asintomatici appartenenti a gruppi a rischio (fa-

miliari di primo grado, diabete tipo I, deficit di IgA, etc.) in quanto mette in dubbio che questo atteggiamento possa portare reale beneficio ai pazienti e che anzi provocherebbe una condizione di disagio "inoculando il germe del dubbio". Noi riteniamo che, a differenza di altre condizioni cliniche (neoplasie, disfunzioni metaboliche, etc.), la possibilità di avere test sierologici con elevatissima sensibilità e specificità ci offra una chiave di lettura della malattia celiaca estremamente peculiare:

- l'esecuzione di anti-tTG in un familiare di primo grado permette di confermare o escludere la malattia celiaca al momento della esecuzione del prelievo.

- “il germe del dubbio” risulterebbe più devastante nel caso in cui il medico pur avendo spiegato l'aumentato rischio di celiachia nei familiari di primo grado si astenesse dal richiedere i test sierologici nei familiari stessi.
- l'esecuzione dell'aplotipo DQ2/DQ8 in questi soggetti deve essere utilizzato con il criterio del test ad altissimo valore predittivo negativo.

Il secondo punto di discussione è relativo alla nostra scelta di eseguire gli AGA IgG (oltre che gli anti-tTG IgA e IgG) nei soggetti con età inferiore ai due anni; ci viene chiesto se non sia opportuna anche la determinazione degli AGA IgA. Questa scelta da parte nostra ha diverse motivazioni:

- la maturazione del sistema immunitario e in particolare dei linfociti B avviene nei primi mesi dopo la nascita; lo switching isotipico porta ad una progressiva sintesi delle diverse classi di immunoglobuline e in questo processo le IgA sono le ultime a comparire; ci è sembrato corretto aggiungere il test anticorpale AGA di classe IgG piuttosto che IgA in modo da aumentare la sensibilità diagnostica in caso di deficit transitorio o assoluto di IgA e consensualmente di evidenziare una risposta anti-gliadina in assenza di una risposta autoanticorpale.
- recentemente abbiamo evidenziato che in 74 soggetti celiaci di età inferiore ai due anni la positività di AGA IgG era del 95.9% mentre AGA IgA risultava del 82.4%². Questo risultato conferma altri dati della letteratura che dimostrano una più elevata sensibilità di AGA IgG piuttosto che di AGA IgA in questa fascia d'età³.

Nel terzo punto in discussione ci si chiede se sia corretto eseguire gli anti-tTG come test di accesso e se sia utile eseguire gli EMA come test di conferma visto che anti-tTG ed EMA “vedono” lo stesso antigene.

Esistono almeno 5 punti a favore di tale approccio:

- Il test anti-tTG è un test giovane ma è stato utilizzato in un numero talmente elevato di studi epidemiologici e di confronto tra metodi che ci hanno permesso di comprendere che questo metodo è il più sensibile tra quelli in uso; che è un test molto specifico in particolare se si usa antigene umano; che tra anti-tTG ed EMA non vi è dubbio quale test sia di primo accesso se non altro per la automazione del metodo e per la oggettività del test ELISA⁴.
- anti-tTG ed EMA vedono indubbiamente lo stesso antigene; gli epitopi identificati da questi autoanticorpi sono epitopi conformazionali dell'enzima transglutaminasi tissutale. È probabile che i substrati impiegati nei due metodi ELISA e di immunofluorescenza indiretta non siano in grado di esporre in maniera assolutamente paritetica gli stessi epitopi (è noto che il coating e il fissaggio possono modificare gli epitopi conformazionali)

ed è proprio per questo che una associazione positiva tra i due metodi dà più forza al dato di laboratorio. Dobbiamo per altro ricordare che esistono dei sieri con falsa positività per anti-tTG (negativi per EMA e che riconoscono epitopi non conformazionali di tTG)⁵ ma esistono anche casi di celiachia con vera positività per anti-tTG e negatività per EMA (in alcuni di questi sieri gli EMA presentano una fluorescenza actino-simile in assenza della classica fluorescenza a nido d'ape)².

- Dai dati della letteratura risulta quindi che una associazione positiva di anti-tTG ed EMA sia assolutamente indicativa di malattia celiaca e che tale riscontro, qualora sia accompagnato da quadri clinici classici o da dermatite erpetiforme, può evitare l'esecuzione della biopsia duodeno-digiunale⁶. Diverso sarà l'atteggiamento in caso di positività isolata di anti-tTG in quanto questo risultato potrebbe essere riscontrato sia in un soggetto celiaco che in un soggetto sano o con altre patologie. Questo diverso atteggiamento nei confronti di un paziente con positività per anti-tTG e negatività o positività per EMA giustifica l'esecuzione di quest'ultimo test come test di secondo livello.
- Ci sembra inoltre non pertinente la comparazione tra sintomi come la cianosi e le dita a bacchetta di tamburo vista la ampia gamma di condizioni cliniche in cui possono riscontrarsi; in ogni caso la cianosi può associarsi a dita a bacchetta di tamburo in patologie cardiache congenite o in patologie polmonari, mentre cianosi in assenza di dita a bacchetta di tamburo si osserva nelle cianosi periferiche o cianosi centrali acutamente insorte; quindi anche in questo caso la presenza di uno o di due sintomi non è la stessa cosa in termini di diagnosi differenziale e approccio terapeutico⁷.
- Alfonsi sostiene che si devono prescrivere i test per la diagnosi di celiachia solo ai soggetti con sintomi evidenti e in questo concordiamo anche se alla luce dei dati di letteratura il panorama sintomatologico del celiaci è veramente esteso e spesso, di fronte ad un dubbio diagnostico, il medico si affida anche agli esami di laboratorio. Dobbiamo inoltre sottolineare che nel panorama dell'autoimmunologia è difficile avere per le mani test o accoppiate di test con una sensibilità e specificità così elevate come quelle di anti-tTG ed EMA. Siamo inoltre d'accordo che in situazioni peculiari la biopsia deve essere eseguita anche in assenza di marcatori sierologici ricordando per altro che una diagnosi di celiachia sieronegativa va posta solo dopo la dimostrazione di una completa guarigione istologica (seconda biopsia dopo dieta priva di glutine) e clinica.

L'esercizio di calcolo delle probabilità sviluppato da Alfonsi è interessante, ma le linee guida riportano dati di partenza diversi, ottenuti da una vasta lettera-

tura. Con questi numeri, il valore predittivo positivo salirebbe dal 30-40% degli AGA al 90-95% di EMA e tTG, mentre il valore predittivo negativo di AGA del 98%, già alto, non migliora di molto con EMA-tTG. È vero che la combinazione di EMA negativo dopo AGA positivo avrebbe, sulla carta, basso valore predittivo (86% con i nostri dati, ossia 14% di falsi negativi), ma va notato che si tratterebbe di una condizione molto rara, quasi anomala (9% dei casi di partenza), quindi questi falsi negativi risulterebbero alla fine meno del 1% (precisamente 0.6%). Anche il caso opposto e cioè, tTG positivo dopo AGA negativo, fornisce risultati apparentemente paradossali, ossia valore predittivo pari a 5%, che però vale per una popolazione ridotta al 2% rispetto a quella originaria. Ma soprattutto va sottolineato come le linee guida non prevedano la sequenza AGA – tTG o AGA – EMA.

Per quanto riguarda il monitoraggio della compliance alla dieta priva di glutine tramite i marcatori sierologici, concordiamo con Alfonsi sulla relativa affidabilità di questo approccio; d'altra parte le linee guida non affermano che un test anti-tTG negativo in un paziente in dieta ha il significato di una perfetta aderenza alla dieta e quindi di un'assoluta guarigione istologica. Il monitoraggio ha d'altra parte due aspetti importanti soprattutto nel riscontro di positività anticorpali:

- il riscontro persistentemente positivo in un soggetto in dieta priva di glutine deve suggerire in primis che il paziente non aderisce alla dieta (volontariamente in alcuni casi, ma più spesso inconsciamente); deve essere perciò intrapresa una rivisitazione del sistema dietetico non fidandosi del quadro clinico in quanto in numerosi pazienti il sintomo è dose dipendente. Ovvero, il paziente pur assumendo costantemente piccole quantità di glutine non presenta i sintomi (anche quelli spiacevoli) che aveva alla diagnosi. Non è vero perciò che basta fare i test solo qualora compaiano dei sintomi.
- un riscontro persistentemente positivo di anti-tTG in un soggetto celiaco in dieta dopo rivalutazione del sistema dietetico deve porre il sospetto diagnostico di sprue refrattaria celiachia associata che sappiamo essere una forma pre-linfomatosa che necessita di terapia appropriata (cortisone, azotio-prina). In questi soggetti, pur in dieta ferrea priva di glutine, la mucosa intestinale si presenta marcatamente infiltrata da linfociti T con caratteristiche fenotipiche e genotipiche pre-linfomatose (CD8+CD3- γ/δ - e riarrangiamento del TCR).

Per quanto concerne l'utilità di determinare l'aplotipo HLA DQ2/DQ8, la risposta è abbastanza chiara e deriva dalle conoscenze epidemiologiche: la possibilità di sviluppare la malattia celiaca in assenza di DQ2/DQ8 è vicina allo zero per cui questo test deve

essere utilizzato come un test ad altissimo valore predittivo negativo e cioè in tutti i casi sierologicamente dubbi o nei gruppi a rischio. Non concordiamo assolutamente con Alfonsi quando afferma che "... se i sintomi sono suggestivi, allora l'assenza dell'aplotipo non permette di escludere la diagnosi e va fatta la biopsia" dal momento che l'assenza dell'aplotipo esclude invece la diagnosi⁸.

Concordiamo infine che le raccomandazioni devono essere poche e chiare e ci dispiace che non lo siano state. Dobbiamo d'altra parte sottolineare che l'obiettivo delle nostre linee guida è di indicare un percorso lineare in mezzo ad una sempre più ricca e caotica offerta di test diagnostici e tutto sommato quello che proponiamo è l'utilizzo di un solo test di ingresso (anti-tTG) e di un test di conferma (EMA) nei pochi casi positivi.

E. Tonutti

*Istituto di Chimica Clinica, Azienda Ospedaliera
"S.Maria della Misericordia", Udine*

M. Pradella

*Laboratorio di Chimica clinica e Microbiologia,
Ospedale Civile di Castelfranco Veneto (TV)*

Bibliografia

1. Tonutti E, Visentini D, Bizzaro N, Villalta D, Tozzoli R, Bagnasco M, et al. Proposta di linee guida per la diagnosi di laboratorio della malattia celiaca. Riv Med Lab 2001; 4:44-51.
2. Tonutti E, Visentini D, Bizzaro N, Caradonna M, Cerni L, Villalta D, et al, for the French-Italian Laboratory Study Group on Coeliac Disease. The role of anti-tissue transglutaminase assay for the diagnosis and monitoring of coeliac disease: A French-Italian multicentre study. J Clin Pathol 2003; 56:389-93.
3. Chartrand LJ, Agulnik J, Vanounou T, Russo PA, Baehler P, Seidman EG. Effectiveness of antigliadin antibodies as a screening test for celiac disease in children. CMAJ 1997; 157:527-33.
4. Sinclair D, Pearce CB, Saas MS, Poller D. A comparative study of tissue transglutaminase antibodies and endomysium antibody immunofluorescence in routine clinical laboratory practice. Ann Clin Biochem 2003; 40:411-6.
5. Sblattero D, Florian F, Azzoni E, Zyla T, Park M, Baldas V, et al. The analysis of the fine specificity of celiac disease antibodies using tissue transglutaminase fragments. Eur J Biochem 2002; 269:5175-81.
6. Scoglio R, Di Pasquale G, Pagano G, Lucanto MC, Magazzù G, Sferlazzas C. Is intestinal biopsy always needed for diagnosis of celiac disease? Am J Gastroenterol 2003; 98:1325-31.
7. Harrison's Principles of Internal Medicine. 10th edition. New York: McGraw & Hill; 1999. p. 164.
8. Kaukinen K, Partanen J, Maki M, Collin P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. Am J Gastroenterol 2002; 97:695-9.