

La diagnosi di laboratorio di malattia celiaca: commento alle linee guida

Nel numero 4/2001 della *Rivista di Medicina di Laboratorio* è stata pubblicata una proposta di linee guida per la diagnosi di laboratorio della malattia celiaca¹. Vorrei fare alcune osservazioni a proposito dello screening delle persone asintomatiche e sull'uso dei test autoanticorpali.

La proposta dà per scontato che sia opportuno cercare i markers sierologici della malattia celiaca anche nelle persone asintomatiche, se appartengono ad uno dei gruppi a rischio, ma secondo me questa presa di posizione merita qualche riflessione.

Epidemiologicamente si distinguono due tipi differenti di screening: lo *screening* propriamente detto e il *case finding*². Lo screening è la procedura in cui un test viene praticato alla popolazione generale asintomatica in campagne organizzate da agenzie sanitarie (mammografia, Pap test, ricerca del sangue occulto...). L'iniziativa parte da chi esegue il test, non dalle persone che sono per definizione asintomatiche, e ha l'implicita promessa che chi si sottopone allo screening avrà dei benefici per la sua salute, in quanto la malattia scoperta in fase asintomatica sarà più facilmente curabile della malattia di cui la persona si accorge per i sintomi che provoca.

Il case finding invece è la situazione in cui è il paziente a rivolgersi al medico per problemi di salute (cattiva digestione, astenia, mal di testa, ecc.), e il medico approfitta dell'incontro per valutare lo stato generale di salute, facendo test non correlati al sintomo o alla malattia sospettata (misura della pressione arteriosa, del colesterolo, ecc.). Questa attività viene detta anche screening opportunistico, e dal punto di vista etico può essere considerata in una posizione intermedia tra lo screening di una popolazione asintomatica e l'attività diagnostica determinata da sintomi. In questo caso sembra logico pensare che spetti al medico spiegare al paziente quali sono i rischi e i vantaggi delle procedure che gli propone per cercare malattie di cui il paziente non ha i sintomi, assumendosi personalmente la responsabilità di garantire che il paziente ne avrà dei benefici. Tutte e due le forme di screening non corrispondono all'etica tradizionale del medico, che non è quella di garantire un miglioramento della salute, ma quella di assicurare il proprio impegno nel trattamento della malattia che ha provocato i sintomi.

La proposta invita a praticare degli esami a persone che hanno solo dei fattori di rischio, senza specifica-

re quali sarebbero i vantaggi possibili per queste persone. Questo atteggiamento è scontato per i medici, che pensano che ogni loro atto sia a beneficio del paziente. Ma se questo poteva essere giustificabile decenni fa, quando al medico si presentavano persone con sintomi dovuti a malattie gravi, lo è meno oggi, quando è spesso il medico a fare la prima mossa e a cercare segni di una possibile malattia non correlata ai sintomi del paziente.

La malattia celiaca asintomatica non provoca un aumento della mortalità³ ed inoltre, se e quando si manifesta, i suoi sintomi sono largamente reversibili con la dieta, per cui sembra uno sforzo inutile ricercarla nelle persone senza sintomi.

Un recente articolo⁴ sul primo numero di *Lancet Oncology* ironizzava sulla nostra abilità nell'eradicare dalla faccia della terra la malattia "cancro della prostata asintomatico", facendola diventare sintomatica per mezzo dello screening di laboratorio col dosaggio del PSA, che provoca il sintomo PSA-dinia. Se usiamo lo stesso criterio, faremo diventare pazienti celiaci sintomatici anche quelle persone che non hanno sintomi (e che non li avranno per oltre il 90% dei casi), dando un altro notevole contributo alla medicalizzazione delle persone sane, con conseguenze che non sono ora facilmente prevedibili.

30 anni fa i laboratoristi offrirono ai clinici la possibilità di fare un pannello fisso di esami di biochimica (lo SMAC) ai loro clienti. I medici curanti scoprirono con meraviglia che questo pannello evidenziava un numero insospettabile di casi di ipercalcemia, e di conseguenza permetteva di fare diagnosi di iperparatiroidismo ad un numero di persone 5 volte superiore⁵. Lo scorso anno un gruppo di autori svedesi⁶ ha pubblicato i risultati di un follow-up durato 25 anni su persone cui era stato riscontrato casualmente un calcio sierico alto: pochi erano stati operati per una malattia delle paratiroidi, e nel 70% dei casi il calcio era tornato da solo a valori normali (regressione alla media). Il fatto più interessante è risultato completamente inaspettato: nel gruppo che aveva il calcio alto all'inizio ma in cui non erano stata trovata alcuna malattia la mortalità cardiovascolare era significativamente aumentata rispetto ad un gruppo di controllo col calcio normale dall'inizio.

Nessuno conosce le vere cause di questo aumento della mortalità, ma è lecito formulare un sospetto: la preoccupazione per una non-malattia trovata con uno screening non richiesto potrebbe aver influito sui processi psicologici che rendono la vita piacevole, accelerando la normale usura degli organi.

Questa ipotesi è suffragata da altri dati: uno studio finlandese ha trovato che l'insoddisfazione per la vita è associata con un aumento della mortalità generale e per malattia⁷; i dati di alcuni programmi di screening mammografico dimostrano che la riduzione del numero delle donne che muoiono per cancro della mammella⁸ è più che bilanciata dall'aumento del numero di quelle che muoiono per malattie cardiovascolari (e questo è il motivo per cui la mortalità totale non diminuisce nonostante l'anticipo della diagnosi di cancro e la riduzione della mortalità specifica per tumore).

Visti questi precedenti, forse sarebbe meglio aspettare altri dati di efficacia, prima di iniziare un programma di ricerca di malattia in una popolazione potenzialmente molto vasta. Se è vero che i celiaci sono circa uno su duecento, i loro parenti stretti saranno -ipotizzando due genitori, un fratello, qualche figlio- circa tre volte tanti: 15 per mille, o 750.000 per 50 milioni. A queste persone inoculeremo il germe del dubbio, senza garantire un futuro migliore se non ai pochi destinati a diventare sintomatici. Un esempio può chiarire questa affermazione. I sostenitori dello screening genetico per l'emocromatosi hanno basato la loro posizione sulla credenza che prima o poi quasi tutti i portatori del gene alterato diventano sintomatici⁹: ebbene, uno studio recente ha dimostrato che, tra i 152 omozigoti identificati con lo screening genetico tra 41.000 persone, solo una persona aveva sintomi o segni che avrebbero suggerito la diagnosi di emocromatosi¹⁰.

Uso degli anticorpi anti-gliadina (AGA) per la diagnosi

La proposta prevede l'uso degli AGA di classe IgG solo per i bambini di età inferiore a 2 anni. Mentre sono d'accordo che l'uso degli AGA (IgA e IgG) per la diagnosi negli adulti possa essere abbandonato, non sono d'accordo sulla scelta di suggerire nei bambini la ricerca dei soli AGA di classe IgG. Questa scelta è basata su una ipotesi infondata, cioè che la mancanza di sierconversione per anticorpi anti-endomisio (EMA) e anticorpi anti-transglutaminasi (tTG) sia dovuta soltanto ad una carenza congenita di immunoglobuline A (IgA). In realtà, si sa da tempo¹¹ che esistono casi di malattia celiaca in cui sono presenti AGA di classe IgA e mancano i corrispondenti anticorpi EMA e tTG. La spiegazione è che gli AGA (IgA e IgG) compaiono mesi prima della comparsa degli EMA (e, presumibilmente, dei tTG), quando i bambini predisposti cominciano a mangiare cereali contenenti gliadina: se si esegue il test EMA in questa finestra, può risultare negativo.

Scelta della tTG come primo test e sequenza diagnostica dei test anticorpali.

Il test anti-tTG presenta 2 problemi: il più banale è

che è un test ancora molto giovane, il più serio è che dal punto di vista fisiopatologico è sovrapponibile al test anti-EMA: gli anticorpi individuano lo stesso antigene, tanto è vero che la correlazione tra il dosaggio degli EMA e quello degli anti-tTG è molto alta ($r=0,86$)¹². Per dare un'idea degli ordini di grandezza, gli indici di correlazione tra metodi di diversi produttori¹³ per determinare la concentrazione delle IgE specifiche contro uno stesso allergene variano tra 0,72 e 0,98. Il fatto che gli EMA siano propagandati come più specifici deriva dalla scelta di diversi punti di cut-off nelle curve ROC: è facile vedere, esaminando i risultati di 4 differenti kit per il dosaggio degli anticorpi tTG¹⁴, che anche per questo esame la specificità può essere aumentata facilmente a 100% se si abbassa la sensibilità al livello di quella degli EMA.

Se il ragionamento diagnostico è di tipo probabilistico (come deve essere se i test non hanno una contemporanea sensibilità e specificità del 100%), allora è necessario che tra i vari test ci sia "indipendenza condizionale". Cosa vuol dire? Che se due test forniscono più o meno la stessa informazione (non sono cioè indipendenti), una volta che ne abbiamo usato uno quello che rimane non contiene più abbastanza informazione per poter essere utilizzato in uno schema Bayesiano¹⁵.

Questo è quello che si verifica, per esempio, se una malattia si manifesta con i sintomi *cianosi* e *dita a bacchetta di tamburo*: la base fisiopatologica dei due segni è la stessa¹⁶, ed è lo stesso anche il loro significato diagnostico. Di conseguenza, se so che un paziente è cianotico, e questa informazione porta la probabilità di una malattia ad un certo livello, l'informazione che ha anche le dita a bacchetta di tamburo non mi permette di dire che la probabilità di malattia è più alta. Allo stesso modo, se una persona con l'itterizia mi offre l'informazione che ha le urine scure, sapere che ha anche le feci chiare aggiunge poco o niente alla probabilità che l'ittero sia di natura ostruttiva. Sembra perciò ingiustificato inserire un esame non indipendente ad un secondo livello diagnostico, e ne abbiamo un esempio molto chiaro proprio in una coppia di test di laboratorio, i dosaggi di lipasi ed amilasi nella diagnosi di pancreatite acuta: se si dosano insieme i due enzimi nel siero, la capacità combinata di discriminare la pancreatite da altre malattie non aumenta in modo sensibile rispetto al dosaggio della sola lipasi¹⁷. Invece, per esempio, proprio la mancanza di correlazione tra vari test sierologici usati per lo screening prenatale della sindrome di Down¹⁸ permette di ritenerli indipendenti e di usarli in modo sequenziale.

Quali sono le implicazioni della sovrapponibilità tra i test EMA e tTG? Che non è giustificato usare un test EMA per aumentare (o diminuire) la probabilità di malattia se abbiamo già a disposizione il risultato del test tTG, e viceversa. Parlando della mancanza

di indipendenza condizionale Vacek cita proprio il fatto che "...if both tests are based on a particular antibody reaction, something that inhibits the reaction or causes a false reaction for one of the tests may have a similar effect on the other"¹⁹. Al contrario, il test AGA non è sovrapponibile ai due test EMA e tTG, perché il suo significato fisiopatologico è differente (l'antigene individuato è diverso rispetto a quello degli EMA): perciò il suo inserimento nell'iter diagnostico attuale è giustificato.

La domanda che ogni medico si pone quando deve scegliere una strategia diagnostica è sempre la stessa: che livello di errore siamo disposti ad accettare adottando una strategia o un'altra? Teniamo presente che gli esami sierologici su pazienti con sintomi sospetti per celiachia non sono utilizzati per la diagnosi definitiva, ma per selezionare chi avviare alla biopsia: in questo caso la misura dell'errore è costituita dal numero di biopsie che non faremmo rispetto al numero di celiaci esistenti. La risposta alla domanda è possibile esaminando le probabilità di malattia dopo l'applicazione di un test ad una popolazione simile a quella che vedremmo nella nostra attività.

Bürgin-Wolff¹¹ ha trovato che, se almeno due dei tre test classici (AGA IgA, AGA IgG, EMA) sono positivi in bambini e adolescenti sintomatici, la probabilità a posteriori di avere veramente la malattia (biopsia patologica) va dal 68% al 97%. Lagerqvist²⁰, studiando una popolazione in modalità screening, ha calcolato che se la probabilità a priori di malattia fosse stata del 10% (cioè quanto potremmo aspettarci di ottenere dopo una storia clinica sospetta), la probabilità a posteriori per il solo test AGA IgA positivo (Valore Predittivo Positivo) sarebbe stata 70%. Prendiamo questo valore (70% = probabilità di celiachia in una persona sintomatica con AGA IgA positivo) per fare un esempio: la misura di quanto si riduce la probabilità di malattia se un successivo test EMA (oppure tTG) risulta negativo. Basta applicare la formula di Bayes ai dati di Lagerqvist e ai dati medi della letteratura per AGA ed EMA, e cioè:

0,70: probabilità di celiachia prima di fare un test EMA o tTG

0,10: Falsi Negativi di test EMA (o tTG)

0,30: probabilità di non malattia prima di fare un test EMA o tTG

0,98: Veri Negativi di test EMA (o tTG).

Per ottenere la probabilità a posteriori di una malattia dopo un test negativo

$$P(\text{Celiachia}|\text{EMANegativo}) = \frac{(0,70 \times 0,10)}{(0,70 \times 0,10) + (0,30 \times 0,98)} = 0,19$$

In altri termini, attribuendo al test EMA una specificità (veri negativi) del 98%, e un numero di falsi negativi del 10%, la probabilità di avere la malattia ce-

liaca dopo un test AGA IgA positivo rimane ancora del 19%, anche se il test EMA risulta negativo. Secondo me questo livello dovrebbe essere sufficiente per giustificare la biopsia, se non vogliamo perdere la diagnosi di 2 pazienti sintomatici su 10. Evidentemente, con un livello così alto (0,70) di probabilità di malattia dopo un test AGA IgA positivo in una persona sintomatica, anche un esame ottimo come il dosaggio di EMA o di tTG, se negativo, non può abbassare la probabilità a posteriori a livelli tali da evitare la biopsia; inoltre, e questo è importantissimo, un ulteriore test tTG (o EMA) non può essere usato per modificare la probabilità a posteriori se il primo test (EMA o tTG) è negativo, per la mancanza di indipendenza condizionale. Se proprio insistessimo a fare un secondo test non indipendente, la probabilità a posteriori, se il test fosse negativo, si abbasserebbe al massimo fino al 17% (sarebbe troppo lungo spiegare in una lettera la logica dei calcoli): un guadagno ridicolo, che ci obbligherebbe in ogni caso a passare alla biopsia.

Un discorso analogo può essere fatto riguardo alla strategia consigliata dalla proposta (non fare AGA IgA ma fare solo tTG): se il test tTG fosse positivo sarebbe inutile fare il test EMA, considerata la non indipendenza dei due test.

La conclusione è che il medico curante, per applicare i test sierologici a fini diagnostici, deve essere così bravo da portare la probabilità a priori a livelli non trascurabili: per esempio il 10%. Cosa vuol dire in pratica? Che il medico non deve prescrivere i test sierologici AGA ed EMA/tTG per ogni caso di diarrea iniziato da pochi giorni (la probabilità di trovare un test positivo sarebbe simile a quella della popolazione generale, circa 0,5%). Deve invece selezionare i suoi pazienti in modo da fare il test solo a quelli con i sintomi più sospetti, e aspettarsi che tra 100 pazienti così selezionati solo 10 avranno la malattia celiaca. In queste condizioni, anche un solo test sierologico positivo può essere sufficiente per indurre a fare la biopsia.

Se invece tutti e tre i test classici (AGA IgA e IgG, ed EMA) sono negativi, allora la probabilità per un bambino di avere veramente la malattia è appena del 0,3%¹¹; in questo caso possiamo permetterci di non fare la biopsia. Mi sembra perciò che, se il problema è quello di definire la strategia diagnostica nei casi di sospetta malattia celiaca, la sua soluzione non sia solo quella di raccomandare *quali* esami fare, ma soprattutto *a chi* farli. Di conseguenza, nelle linee guida va indicato quando è che i sintomi dovrebbero indurre a richiedere i test sierologici, e quando no.

E, dovendo raccomandare a chi fare gli esami, non possiamo dimenticare una notevole differenza tra bambini e adulti: mentre nei bambini la negatività di AGA ed EMA garantisce virtualmente l'assenza di celiachia, negli adulti non è così. Rostami²¹ ha dimostrato che la sensibilità combinata di AGA ed EMA è solo di circa 75% in celiaci adulti sintomatici, e

Dahele²² ha confermato questi dati anche per la tTG. Allora, se i test sierologici individuano solo il 75% dei malati, non possono essere usati per *escludere* la malattia in caso di negatività, e perciò l'adulto *sintomatico* va sottoposto a biopsia anche se i test sierologici sono negativi.

Uso dei markers sierologici per il follow up

La proposta raccomanda di usare per il follow up soltanto gli anticorpi tTG della classe positiva alla diagnosi, perché si sarebbe dimostrata più efficace per scoprire un difetto di compliance. Trovo due ostacoli ad accettare questa raccomandazione.

1. Non mi pare che la bibliografia a sostegno sia abbondante; anzi, i pochi studi sul test tTG usato per monitorare la compliance danno indicazioni scoraggianti. Per esempio, Kaukinen²³ ha trovato che ad una endoscopia di controllo dopo l'inizio della dieta, 27 persone su 87 avevano una mucosa patologica, ma il test tTG ne evidenziava soltanto 11 (59% di falsi negativi), mentre i falsi positivi erano il 7%. Questi dati non sorprendono chi considera il test tTG analogo al test EMA dal punto di vista fisiopatologico: infatti anche il test EMA "... *is not a reliable test in the follow up of coeliac patients*"²⁴, essendo negativo fino al 70% dei casi di mucosa patologica all'endoscopia.

2. Il secondo ostacolo è che non viene spiegato *a chi e quando* bisogna fare il dosaggio degli anticorpi durante la dieta: secondo me non ci sono molte prove che i test sierologici aiutino nella gestione del malato che si era presentato perché sintomatico. Se i suoi sintomi erano spiacevoli, possiamo essere ragionevolmente sicuri che guarderà pane e pasta, come canta il divino poeta²⁵ "... *ùt guardàre solèt scot-tàntem gàtta menèstram...*" e perciò basterà fare i test se e quando avrà nuovi sintomi dopo un periodo di benessere. Ed a questo punto è meglio ripetere insieme AGA (IgA e IgG) e tTG (o EMA), perché non sappiamo da quanto tempo ha cominciato a mangiare i cibi proibiti, ma sappiamo che²⁶ "... *during follow-up, anti-gliadin retain their value as an early predictor of gluten ingestion.*". Il motivo di questa osservazione è lo stesso per cui il test è indispensabile nei bambini: gli AGA compaiono nel sangue poche settimane dopo l'inizio dell'introduzione (o re-introduzione) del glutine nella dieta²⁷, a differenza di EMA e tTG che compaiono più tardivamente e persistono più a lungo degli AGA. Se invece il "malato" asintomatico è stato trovato con lo screening, la sua compliance sarà probabilmente scarsa: in questo caso il medico che lo ha "diagnosticato" dovrebbe prevedere questa situazione e, sapendo che una recidiva sarebbe altrettanto asintomatica della "malattia", dovrebbe spiegargli l'utilità (?) di fare dei controlli seriali ravvicinati -diciamo ogni tre mesi?- ripetendo insieme AGA (IgA e IgG) e tTG.

HLA

L'utilità della conoscenza dell'aplotipo HLA DQ2 o DQ8 va valutata, come qualsiasi altro test, in base alla probabilità a priori della malattia. Se la probabilità è abbastanza bassa (come nei soggetti a rischio asintomatici), allora un test sierologico e poi la constatazione dell'assenza dell'aplotipo HLA DQ2 o DQ8 permettono di escludere la diagnosi di malattia in atto. Se la probabilità di malattia è abbastanza alta (cioè se i sintomi sono piuttosto suggestivi), allora l'assenza dell'aplotipo non permette di escludere la diagnosi, e va fatta la biopsia. A questo punto, quale è il vantaggio di fare il test ai soggetti a rischio? Se sono asintomatici, bisogna tener presente che il test risulterà falsamente positivo in un terzo dei casi (il 30% della popolazione generale presenta un aplotipo compatibile); se invece sono sintomatici, tanto più se con marker sierologici positivi, la eventuale negatività del test HLA non riduce la probabilità a livelli tali da rendere inutile la biopsia²⁸.

In conclusione, secondo me le raccomandazioni devono essere poche e chiare: se sono complicate nessuno le segue. In particolare, bisogna definire i principi fondamentali (per esempio: *L'utilità dei test sierologici risiede nella loro capacità di evitare il ricorso alla biopsia*) a cui poi conseguono le raccomandazioni pratiche (per esempio: *Nei bambini la biopsia può essere evitata se sono negativi contemporaneamente i test AGA e EMA/tTG, negli adulti sintomatici la negatività dei markers sierologici non basta per evitare la biopsia*).

P. Alfonsi

*Patologia Clinica I
Ospedale S. Chiara, Trento*

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; 2: 44-50.
2. Sackett DL, Holland WH. Controversy in the detection of disease. *Lancet* 1975; ii: 357-9.
3. Corrao G, Corazza GR, Bagnardi V, Brusco G, Ciacci C, Cottone M, et al, for the Club del Tenue Study Group. Mortality in patients with coeliac disease and their relatives: a cohort study. *Lancet* 2001; 358: 356-61.
4. Tannock IF. Eradication of a disease: how we cured asymptomatic prostate cancer. *Lancet Oncology* 2000; May: 17-9.
5. Heath H 3rd, Hodgson SF, Kennedy MA. Primary hyperparathyroidism. Incidence, morbidity, and potential economic impact in a community. *N Eng J Med* 1980; 302: 189-93.
6. Lundgren E, Lind L, Palmer M, Jakobsson S, Ljunghall S, Rastad J. Increased cardiovascular mortality and normalized serum calcium in patients with

- 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 Epidem* 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-digunale⁶. 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.