

LA DIAGNOSI DI CELIACHIA IN PUNTA DI DITA DI QUA E DI LÀ DAL MARE

“**A**lcuni anni fa difficilmente avrei pensato di poter inserire nel mio protocollo mentale, relativo al sospetto diagnostico di malattia celiaca, un test che con poche gocce di sangue mi avrebbe permesso un approccio iniziale (decisamente poco invasivo e particolarmente semplice da eseguire) a una patologia così importante e multiforme. Ora che il test esiste, è in commercio, facilmente reperibile in tutte le farmacie, a un costo abbordabile, ovviamente l'incredulità cerca e vuole conferme nelle varie possibili applicazioni (Screening? Esame al sospetto clinico? Esame ai soggetti a rischio?)”.

Questa è l'introduzione di Lamberto Reggiani al suo vissuto, come esperienza sul campo, sul test rapido e dice molto su cosa significa oggi pensare alla celiachia avendo a portata di mano una possibile diagnosi eseguibile in 10

minuti. Troverete altri spunti di riflessione nell'editoriale che accompagna questo focus.

Il focus nasce da un incontro di lavoro, molto internazionale, su tutte le esperienze prodotte sul test rapido, che si è tenuto a Trieste il 25 gennaio 2008. I risultati che avrete modo di leggere (anche sulla Pagina verde e per esteso sulle Pagine elettroniche di questo numero) sono di grande rilevanza, per le firme degli Autori, per l'esperienza prodotta così estesa, al di qua e al di là del mare.

L'invito per il momento è quello di digerirne i contenuti (nell'interesse che hanno anche per il metodo di lavoro seguito), senza facili entusiasmi, con molta riflessione, pensando che, come tutte le indagini di self help, è opportuno ragionare in termini di opportunità, convenienza, rischio e beneficio, sempre con una partecipe informazione della famiglia.

Il test rapido spiegato da un esperto del self help

LAMBERTO REGGIANI

Pediatra di famiglia, Pediatria di gruppo, Imola

MAKING A CORRECT DIAGNOSIS ON FINGERTIPS
(Medico e Bambino 2008;27:361-363)

Key words

Coeliac disease, IgA anti-tTG antibodies, Whole blood, IgA deficiency

Summary

It is hard to imagine that a simple test of "self help diagnostic" can be helpful for diagnosing coeliac disease using only a few drops of whole blood. But today this test exists and it can be purchased at any pharmacy. This test, called Xeliac test or Eu-tTG Quick test, is based on detection of IgA anti-tTG antibodies in a few drops of whole blood and it is performable in 5-6 minutes. This test has incredible theoretical basis, but the literature on its possible practical use is still poor.

COME SI CHIAMA

In Italia Xeliac test o Eu-tTG Quick.

DOVE LO POSSO ACQUISTARE

Qualsiasi farmacia può procurare lo Xeliac test in confezione singola. Lo stesso articolo, con il nome Eu-tTG Quick, si ordina direttamente alla stessa azienda produttrice (Eurospital) in confezioni da 10 o 20 test. Il costo dello Xeliac test singolo è di circa 30 euro.

COME FUNZIONA

È un test immunocromatografico per la determinazione degli anticorpi di classe IgA anti-transglutaminasi tissutale, associati alla malattia celiaca, presenti in un campione di sangue umano. Se nel campione di sangue del paziente vi sono tali anticorpi, questi si legheranno agli anti-

corpi marcati con oro, con la transglutaminasi degli eritrociti e con i reagenti presenti nella membrana del test, dando origine a una linea rossa. Il test contiene anche un sistema integrato di controllo e la presenza di un'ulteriore linea rossa dimostra la correttezza del test. Il test richiede solo 10 µl di sangue (1-2 gocce) e può essere eseguito e letto in circa 6-7 minuti. Il valore di cut-off del test è 5 U/ml.

COME SI PRESENTA

Nella confezione singola sono compresi: lo stick reattivo in sacchetto di alluminio con essiccante, una lancetta sterile per il prelievo, un contenitore con il capillare per raccogliere il sangue, 1 flacone con 0,5 ml di diluente, 1 salvietta disinfettante, le istruzioni per l'uso.

COME SI FA (Figure 1-10)

La diagnostica sierologica relativa alla malattia celiaca, negli ultimi anni, ha subito evoluzioni importanti e significative. Per quanto riguarda gli anticorpi anti-transglutaminasi, sono apparsi numerosi lavori sul loro impiego sia nell'adulto che nel bambino. Complessivamente i risultati dimostrano che attualmente la determinazione degli anti-tTG rappresenta il miglior ausilio diagnostico per la diagnosi sierologica dei casi sintomatici e dei soggetti a rischio, nello screening di popolazione e nella sorveglianza di una adeguata aderenza alla dieta priva di glutine. Da non dimenticare che tale test di laboratorio presenta il vantaggio del costo relativamente contenuto e dell'assenza di problemi etici per l'ottenimento del substrato (gli EMA richiedono, ad esempio, l'esofago di scimmia).

Sulla validità del test rapido su sangue capillare, la letteratura non è troppo abbondante, ma assolutamente concorde, e permette di concludere in maniera abbastanza categorica: in mani professionali (laboratorio) il test ha una specificità e una sensibilità ottimali, entrambe sul 95% (se non si considerano i casi con concomitante deficit di IgA). Tuttavia, in mani non professionali (infermieri) o comunque non abbastanza esperte, la sensibilità scende all'80%, mentre la specificità resta assoluta. Allungando un po' il tempo di osservazione, la sensibilità risulta miglio-



Figura 1. Come per tutti i test che richiedono sangue capillare è necessario massaggiare diverse volte il dito per aumentare visibilmente l'afflusso ematico alla porzione più periferica del polpastrello.



Figura 2. Il dito andrà disinfettato, lasciandolo asciugare qualche secondo all'aria.



Figura 3. Si deciderà quindi la profondità di puntura del pungidito indolore di cui è sempre meglio dotarsi. Le lancette già previste nella confezione dello Xeliac test permettono solo marginalmente una simile calibratura e sarebbe meglio utilizzarle solo in caso di pazienti adulti o di emergenza. Vista la modesta quantità di sangue necessaria (10 µl), è sufficiente impostare il pungidito su una profondità di 1,5-2 mm. La puntura andrà eseguita sempre sulla porzione mediale o laterale preferibilmente del terzo dito.



Figura 4. Asciugata la prima goccia, si comprimerà il polpastrello per ottenerne altre e si appoggerà il capillare sulla goccia stessa. Il sangue riempirà spontaneamente e velocemente il piccolo capillare da 10 µl. Per maneggiare meglio il capillare, viste le sue ridotte dimensioni, si può utilizzare una pinzetta da laboratorio.



Figura 5. Il capillare andrà inserito all'interno della provetta contenente il reattivo predosato.

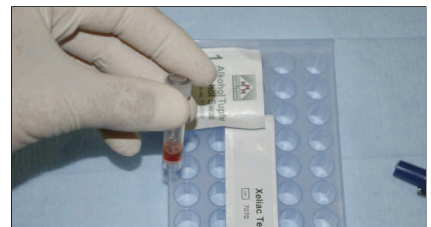


Figura 6. Una volta chiusa la provetta, sarà necessario agitarla per permettere al sangue contenuto nel capillare di mescolarsi al reattivo.

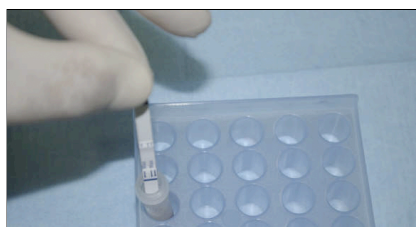


Figura 7. Se si fosse formata una certa quantità di schiuma in superficie, si attenderà qualche secondo affinché si riduca spontaneamente. Si inserirà quindi la striscia reattiva all'interno della provetta, ponendo attenzione al giusto verso di inserimento. La striscia presenta anche un indicatore di livello massimo del liquido nel quale sarà immersa.



Figura 8. Si attenderanno 5 minuti. Utilizzare un contaminuti è una procedura indispensabile per qualsiasi test diagnostico si voglia realizzare in ambulatorio. L'osservanza precisa dei tempi previsti per ogni kit è fondamentale per una lettura corretta dell'esito.

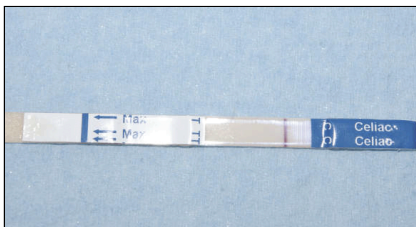


Figura 9. La colorazione della banda di controllo indica che il test è stato eseguito correttamente. Se non si colora la banda relativa all'esito del test, questo è da considerarsi negativo.

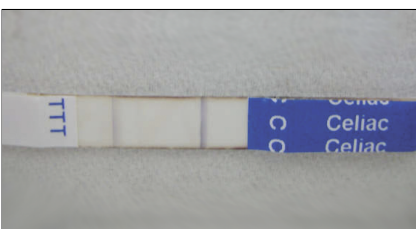


Figura 10. La colorazione della seconda banda (anche se di intensità minore di quella di controllo) identifica il test come positivo e quindi sono presenti nel campione in esame anticorpi anti-transglutaminasi di classe IgA. Ecco come si presenta un test positivo. Il test conferma il risultato di laboratorio positivo di una bambina di 6 anni con valori antropometrici superiori al 75° percentile e affetta unicamente da una moderata piastrinopenia (100-120.000/mm³).

rabile. Il test, comunque, manca i pazienti celiaci con difetto di IgA.

CONCLUSIONI

Abbiamo a disposizione due tipi di test rapido: uno su siero, che dà praticamente gli stessi risultati di un test classico, ma che richiede il prelievo venoso e una separazione dalle emazie; uno su sangue intero, comodo e quasi perfetto. Ma ahimè, solo quasi.

La non trascurabile probabilità di trovarsi di fronte a un difetto di IgA non è nulla; un occhio non esercitato può perdere qualche caso, sicché da una parte non è pensabile effettuare il test a tutti i propri pazienti (il costo non è minimo), e dall'altra un test negativo, di fronte a un caso con sospetto clinico, non permette di assumersi la responsabilità di negare la diagnosi, quanto meno per la necessità di dosare le IgA.

Forse potrebbe essere ragionevole svolgere in prima battuta una sperimentazione strutturata e coordinata, policen-

trica sul campo, effettuata da pediatri (e medici) di famiglia, così da valutare la soddisfazione del medico e dei pazienti; oppure attendere un miglioramento del test che minimizzi la possibilità di perdere un soggetto con deficit di IgA.

Indirizzo per corrispondenza:

Lamberto Reggiani
e-mail: pegaso@fastmail.it

Bibliografia di riferimento

• Colostro F, Ferretti F, Francalanci P, Diamanti A, Muraca M, Castro M. La diagnosi di laboratorio della malattia celiaca. *Ospe-*

dale Pediatrico Bambino Gesù, Formazione Continua in Pediatria 2006;2:89-96.

• Korponay-Szabó IR, Raivio T, Laurila K, et al. Coeliac disease case finding and diet monitoring by point-of-care testing. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:729-37.

• Korponay-Szabó IR, Szabados K, Pusztai J, et al. Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study. *BMJ* 2007;335:1244-7.

• Nemeč G, Ventura A, Martellosi S, et al. Looking for coeliac disease: diagnostic accuracy of two rapid commercial assays. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1597.



Il test rapido nell'esperienza di chi l'ha inventato

MARKKU MÄKI, ILMA KORPONAY-SZABÓ

Paediatric Research Centre, Tampere University Hospital, Tampere, Finlandia

THE RAPID TEST FOR COELIAC DISEASE IN THE EXPERIENCE OF ITS INVENTORS
(*Medico e Bambino* 2008;27:363-365)

Key words

Coeliac disease, Tissue transglutaminase, Rapid test

Summary

Coeliac disease is an autoimmune enteropathy triggered by the ingestion of gluten in genetically susceptible individuals. The diagnosis is suspected upon the presence of typical autoantibodies in the serum of patients, and confirmed by intestinal biopsy. For a long time, these serologic tests were only performable in laboratories. The availability of a rapid test, that can be performed on a large scale, in any setting has significantly simplified the diagnosis of coeliac disease. The Authors of the article explain the way the test functions, the clinical implications and the literature that proved the test as an effective addition to the previously available diagnostic tools for the diagnosis of coeliac disease.

La celiachia è una enteropatia autoimmune, scatenata dall'ingestione di glutine in soggetti geneticamente predisposti. È una patologia molto comune, con una prevalenza stimata di circa 1:100 (150) individui nella popolazione generale e una maggiore frequenza in alcuni gruppi a rischio, come soggetti con malattie autoimmuni e familiari di soggetti celiaci. La sintomatologia clinica è molto variabile. Meno di un terzo dei casi si

presenta con i "classici" sintomi di malassorbimento gastrointestinale: oggi sono soprattutto i sintomi atipici (anemia, stanchezza cronica, bassa statura, infertilità, osteoporosi, atassia, diabete di tipo 1, tiroidite) ad essere la più frequente manifestazione clinica della celiachia.

La diagnosi della malattia si basa sulla presenza a livello sierico di alcuni autoanticorpi specifici, tra cui gli anticorpi anti-transglutaminasi tissutale (tTG) e gli

anticorpi anti-endomisio (EMA). Il gold standard per la diagnosi è rappresentato dalla biopsia.

La disponibilità di un test rapido, basato sulla dimostrazione di specifici anticorpi contro l'enzima transglutaminasi nel sangue del malato, applicabile in qualunque ambulatorio, o direttamente al letto del paziente, ha reso molto più semplice e rapida la diagnosi di questa condizione clinica^{1,2}.

COME FUNZIONA IL TEST RAPIDO?

Il test rapido utilizza la transglutaminasi contenuta nei globuli rossi del campione di sangue prelevato (Figura 1). È importante sottolineare che questo tipo di test non funziona con il siero, poiché in esso non vi è transglutaminasi. Quando si emolizza un campione di sangue, la transglutaminasi viene liberata e può essere utilizzata come antigene per legare gli anticorpi. Gli anticorpi e la transglutaminasi formano complessi, e questi complessi si legano alla membrana presente nel test, che è ricoperta di proteine che riconoscono la transglutaminasi. Poi i complessi vengono colorati con anticorpi an-

ti-IgA. Nell'eventualità di un risultato positivo compaiono due linee, la linea di positività delle tTG e la linea di controllo. Il risultato è invece negativo, se compare solo la linea di controllo.

Il test rapido utilizza la transglutaminasi nello stesso modo del test endomisio³: l'antigene viene esposto agli anticorpi nella forma legata alla fibronectina, come nelle sezioni di tessuti utilizzati per il test endomisio. Perciò un test rapido fornisce risultati molto simili a quelli del test tradizionale. Questa somiglianza spiega perché il test rapido ha un'alta specificità. Inoltre, l'antigene è sempre "fresco" perché proviene direttamente dal paziente, e si suppone quindi che la conformazione sia corretta. In questo modo la validità del test è generalmente lunga.

Il test rapido non fornisce però una diagnosi definitiva (è sempre necessario fare la biopsia per formalizzare la diagnosi). I vantaggi del test rapido sono la semplicità, la possibilità di ottenere risultati in tempo reale e il fatto che non necessita della presenza di un laboratorio. Di conseguenza, tutti possono eseguire un test rapido, compresi i pazienti a domicilio, nonché il personale non medico come un infermiere o un dietista.

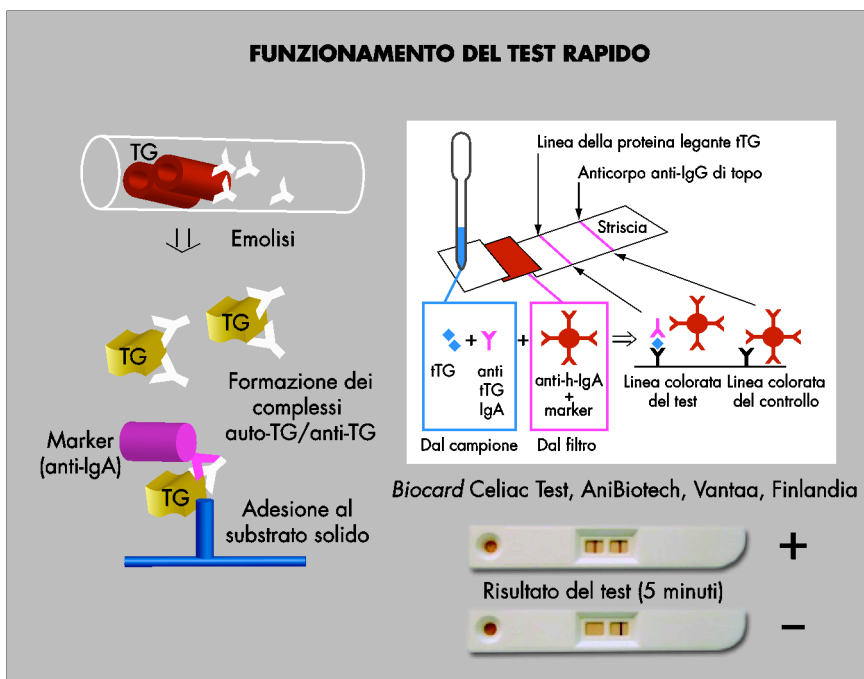


Figura 1. Il funzionamento del test rapido si basa sull'impiego delle transglutaminasi contenute nei globuli rossi del soggetto testato, che a seguito dell'emolisi vengono liberate e utilizzate come antigeni per legare gli anticorpi. I complessi così formati si legano alla membrana presente nel test e colorati con anticorpi specifici.

QUANDO SERVE IL TEST RAPIDO?

Il test rapido trova particolare impiego nei casi in cui esiste una elevata possibilità che un soggetto sia celiaco, senza però averne la certezza. Ne sono esempio i casi di familiari con malattia o lo screening di popolazione. È inoltre particolarmente utile, in caso di pazienti gravi, confermare subito la presenza degli anticorpi contro la transglutaminasi; permette un rapido proseguimento dell'iter diagnostico con l'endoscopia. L'uso di un test rapido può anche accelerare la diagnosi nei casi di routine.

EVIDENZE DI UTILITÀ

Il test rapido paragonato ai test sierologici standard

Uno studio del 2007³ ha studiato la validità del test rapido in pazienti adulti. Lo studio ha coinvolto 51 pazienti con diagnosi bioptica di celiachia, non ancora in dieta senza glutine, e 36 controlli. Lo studio si è articolato in due tempi: una prima fase in cui la sierologia standard (EMA e tTG in laboratorio) dei 51 pazienti non ancora in dieta è stata paragonata al test rapido (Biacard), e una seconda fase in cui 48 dei 51 pazienti celiaci che avevano intrapreso la dieta sono stati sottoposti agli stessi esami dopo un anno di dieta senza glutine. I risultati hanno dimostrato una elevata sensibilità del test rapido nell'identificazione dei pazienti celiaci non trattati, sensibilità e specificità pressoché sovrapponibili a quelle degli anticorpi anti-endomisio (82% vs 80%), mentre la sensibilità degli anticorpi anti-tTG era superiore (88%). La specificità del test rapido è invece risultata essere del 100%.

Nel 90% dei pazienti celiaci il test rapido si è negativizzato, o è comunque risultato meno positivo a distanza di un anno dall'avvio della dieta.

Il test rapido si è quindi dimostrato valido sia nell'identificazione di nuovi pazienti celiaci che nel monitoraggio della dieta.

Studio dell'utilizzo del test rapido nel controllo della dieta senza glutine

Questo studio è stato realizzato con pazienti celiaci, che seguivano la dieta senza glutine da oltre un anno, in occasione di un controllo ambulatoriale. Un gruppo è stato valutato esclusivamente in laborato-

PREVALENZA DELLA CELIACHIA ALL'ETÀ DI 6 ANNI

	N°	Prevalenza	
Celiaci con diagnosi bioptica prima dello screening	5	0,186%	1:540
Celiaci con diagnosi bioptica dopo lo screening	5 + 32	1,375%	1:73
Positività sierologica per celiachia	5 + 43	1,784%	1:56

Tabella I

rio, con test convenzionali, misurando i livelli degli anticorpi anti-transglutaminasi, e i risultati sono stati inviati al paziente per posta. Nell'altro gruppo il test rapido è stato eseguito in presenza del paziente¹. Se il test rapido diventava positivo, il paziente veniva istruito a seguire meglio la dieta. Il test rapido ha mostrato una sensibilità del 97% e una specificità del 97% nei pazienti celiaci non diagnosticati. La maggior parte di coloro che erano risultati positivi al test rapido aveva modificato la dieta e al colloquio seguente ha dimostrato un abbassamento significativo dei livelli degli anticorpi. Nel caso di coloro i cui i risultati positivi sono stati inviati per posta, i risultati sono stati meno incoraggianti.

Screening di popolazione eseguito da infermieri locali

Questo studio è stato realizzato in una provincia ungherese (Szolnok) e ha coinvolto bambini di 6 anni di età, giunti all'attenzione del medico in occasione della visita pediatrica prescolare⁴. Il test rapido è stato eseguito dagli infermieri mediante il prelievo di una goccia di sangue prelevata dal dito di ciascun bambino, e tutti i soggetti risultati positivi sono stati inviati, dagli stessi infermieri, direttamente alla biopsia. Parte del sangue prelevato è stato raccolto per confrontare i risultati letti dagli infermieri con quelli degli EMA e anti-tTG eseguiti dal laboratorio. Tra i 2676 bambini (76% della popolazione totale di bambini di 6 anni) che vi hanno partecipato, 28 sono risultati positivi al test rapido. La biopsia intestinale ha confermato la diagnosi di celiachia nei 25 casi nei quali i genitori hanno consentito l'indagine endoscopica. Lo studio ha dimostrato che la prevalenza della malattia all'età di 6 anni, confermata con la biopsia, era di 1,4%, mentre la positività per gli anticorpi era 1,8% (Tabella I). Gli infermieri hanno identificato e indirizzato alla biopsia l'80% di coloro che sono risultati positivi anche al controllo laboratoristico, ma la specificità dei risultati del

test rapido era del 100%. Una sensibilità superiore al 70% è accettabile per un'indagine sul posto, cioè per un *point-of-care test*⁵. Inoltre, l'infermiere doveva decidere da solo se indirizzare o meno il bambino all'ospedale per la biopsia. Il test rapido eseguito in laboratorio dimostrava che nei casi elusivi la linea del test era spesso debole. Non è stato riscontrato alcun soggetto con deficit di IgA, il che è importante alla luce del fatto che il test rapido riconosce solo anticorpi di classe IgA, per cui dà un risultato falsamente negativo in soggetti con deficit di IgA.

Quattro su cinque dei celiaci diagnosticati avevano i sintomi clinici caratteristici della malattia: diarrea, stipsi o altri disturbi dell'alvo, anemia, stanchezza, mal di testa o di pancia, ritardo di crescita. Però nessuno di questi era stato scoperto dai pediatri durante la visita prescolare. I bambini celiaci, soprattutto i maschi, erano più piccoli ed erano sottopeso rispetto ai bambini sani della stessa età e della stessa popolazione.

Dopo essere stati in dieta senza glutine per sei mesi, gli anticorpi si sono negativizzati. Inoltre, i livelli di emoglobina aumentavano anche nei bambini che presentavano un'anemia grave, così come migliorava anche la crescita ponderale. Interessante notare che anche i bambini con livelli normali di emoglobina prima dello screening presentavano un incremento di questa. Anche dal punto di vista clinico i pazienti riferivano un miglioramento dei sintomi.

Il dolore addominale era molto più frequente nei celiaci prima di cominciare la dieta senza glutine. In dieta, la frequenza di questo sintomo diminuiva, così come aumentava la fiducia in sé. In altre parole, la terapia aveva un effetto chiaramente benefico sulla salute di questi bambini.

Sei bambini erano risultati negativi al test rapido, ma positivi al controllo laboratoristico. Questi bambini non avevano una mucosa piatta, ma sono risultati HLA DQ2 positivi, con numeri dei linfociti in-

traepiteliali elevati, e gli anticorpi anti-tTG erano già presenti nei tessuti. Questi bambini potrebbero sviluppare la celiachia in futuro, e attualmente non vi è certezza sull'utilità o meno di una dieta senza glutine in questi soggetti.

Nel 2007 lo screening è stato ripetuto anche in altre parti dell'Ungheria e un gruppo di bambini è stato esaminato con una versione aggiornata del test rapido che elimina il problema del difetto di IgA. Questo nuovo test contiene una linea di controllo che mostra anche un dosaggio delle IgA totali, così in caso della doppia negatività si ipotizza un difetto di IgA. In occasione di questo screening è stato identificato un bambino con difetto di IgA.

In conclusione, gli infermieri si sono dimostrati abili nell'identificare molti nuovi casi di celiachia mediante l'uso del test rapido, anche senza l'aiuto del medico. L'altro importante messaggio è che un risultato positivo al test rapido può anche nascondersi dietro una linea debole o particolarmente pallida. L'identificazione di questi casi richiede una certa dimestichezza con l'uso del test rapido.

Lo screening con il test rapido è molto semplice, costa poco, è ripetibile, e potrebbe dare un contributo importante nel mantenere la salute nella società.

Bibliografia

1. Korponay-Szabó IR, Raivio T, Laurila K, et al. Coeliac disease case finding and diet monitoring by point-of-care testing. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:729-37.
2. Raivio T, Kaukinen K, Nemes E, et al. Self transglutaminase-based rapid coeliac disease antibody detection by a lateral flow method. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24:147-54.
3. Raivio T, Korponay-Szabó IR, Collin P, et al. Performance of a new rapid whole blood coeliac test in adult patients with low prevalence of endomysial antibodies. *Dig Liv Dis* 2007;39:1057-63.
4. Korponay-Szabó IR, Szabados K, Pusztai J, et al. Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study. *BMJ* 2007;335:1244-7.
5. von Lode P. Point-of-care immunotesting: approaching the analytical performance of central laboratory methods. *Clin Biochem* 2005;38:591-606.



Test rapidi: screening di massa o case finding?

L'esperienza preliminare in Emilia Romagna

SANDRA BRUSA¹, BARBARA BATTISTINI², MARILÙ CAPELLI³,
DEBORAH SILVESTRINI¹, SIMONETTA STANZANI⁴, MARCELLO LANARI¹

¹Divisione di Pediatria e Neonatologia, Ospedale S. Maria della Scaletta, Imola

²Scuola di Specializzazione in Pediatria, Policlinico Universitario S. Orsola-Malpighi, Bologna

³Dottorato di Ricerca in Medicina Materno-Infantile e dell'Età Evolutiva, Università di Bologna

⁴Direzione Sanitaria, Ospedale S. Maria della Scaletta, Imola

RAPID TEST FOR COELIAC DISEASE: SCREENING OR CASE FINDING?

(Medico e Bambino 2008;27:366-368)

Key words

Coeliac disease, Rapid test, Screening, Case finding

Summary

The Authors report an epidemiologic prospective screening study that aimed at evaluating the clinical prevalence of coeliac disease in Emilia Romagna region using the rapid test for coeliac disease (Eu-tTG Quick). 4,414 asymptomatic patients, recruited in the elementary schools of the region, were involved in the study. So far, data regarding 1,074 patients are available. The Authors discuss the usefulness of the rapid coeliac test in identifying asymptomatic patients and the organization issue that arose during the study. Giving the high number of asymptomatic patients, the Authors suggest that a screening approach should be preferred to the case finding in coeliac disease.

Negli ultimi dieci anni la malattia celiaca (MC) ha subito una radicale rivisitazione dal punto di vista della patogenesi, dell'epidemiologia e delle conoscenze patogenetiche. Oggi si sa che la celiachia è forse la patologia più frequente fra quelle a predisposizione genetica, con una prevalenza nella popolazione generale di 1:150¹.

Nel 2004 è stata condotta un'indagine epidemiologica nelle 11 Aziende Sanitarie della Regione Emilia Romagna, al fine di conoscere la prevalenza clinica di malattia valutando il numero delle richieste di esenzione dalla spesa per i prodotti privi di glutine giunta al SSN. In base alla prevalenza attesa (preclinica) di malattia di 1:150, l'indagine regionale ha evidenziato che in età pediatrica, media-

mente, per ogni celiaco diagnosticato vi è un paziente senza diagnosi, mentre in età adulta il rapporto è di 1:6. In particolare, nel comprensorio di Imola risulta diagnosticato un bambino ogni tre e un adulto ogni sei presunti celiaci².

Sempre nel 2004 si è tenuto a Imola un convegno rivolto a operatori sanitari, personale delle mense scolastiche e aziendali, della grande ristorazione e distribuzione alimentare, che ha determinato una larga sensibilizzazione al problema e ha comportato un marcato aumento di diagnosi di MC nei mesi successivi.

Incrementare la cultura in merito alla MC e di conseguenza alla diagnosi di malattia è il principale obiettivo che si propone la Legge Nazionale n° 123 del 4 luglio 2005, che riconosce la MC come ma-

lattia sociale e orienta "gli interventi nazionali e regionali in termini di diagnosi precoce e prevenzione delle complicanze, miglioramento delle cure per il paziente celiaco, accesso equo e sicuro ai servizi di ristorazione collettiva, educazione sanitaria della popolazione, del celiaco e della sua famiglia, formazione e aggiornamento professionale del personale sanitario in tema di celiachia"³.

L'opportunità di eseguire uno screening di massa per la MC nella popolazione pediatrica è ancora un argomento dibattuto; uno studio di tipo *case finding*, testando solo i soggetti a rischio, comporterebbe costi inferiori, un valore predittivo positivo (VPP) più alto e una migliore compliance, ma necessiterebbe di un addestramento preliminare e un contributo partecipativo da parte degli operatori sanitari coinvolti e non consentirebbe la diagnosi nei soggetti asintomatici, che sono molti.

In seguito a tali premesse, nel 2005, si è ipotizzato di intraprendere un'indagine epidemiologica mediante test rapido per la diagnosi precoce di celiachia nella popolazione pediatrica residente nell'Azienda Sanitaria di Imola, la quale, dopo una prima fase ideativa e organizzativa e approvazione del Comitato Etico del Policlinico S. Orsola-Malpighi di Bologna, ha preso avvio nel maggio 2007^{4,7}.

MATERIALI E METODI

Abbiamo denominato lo studio con la sigla CE.R.E.R.E (CEliachia Regione Emilia Romagna E Imola) dal nome della divinità romana nume tutelare dei raccolti. Si tratta di uno studio di screening di popolazione, osservazionale, prospettico, che si propone una serie di obiettivi oltre a quello principale della diagnosi precoce e prevenzione delle complicanze della MC: l'educazione sanitaria della popolazione, la formazione/aggiornamento del personale sanitario in tema di MC, l'analisi dei costi e valutazione del rischio/beneficio dello screening stesso, la definizione della prevalenza della MC sintomatica e clinicamente silente l'individuazione della fascia di età ottimale per lo screening, la valutazione delle conseguenze dello stesso nel lungo periodo.

Sono state indagate le fasce di popolazione pediatrica indicate dalla letteratura a maggior rischio di insorgenza di malattia (bambini di 3, 5, 7 e 11 anni). Il test ra-

pido (*Eu-tTG Quick*) per la determinazione delle IgA anti-transglutaminasi (tTG-IgA) su goccia di sangue intero prelevato dal dito è stato ad oggi eseguito su 4414 bambini convocati presso gli ambulatori territoriali della Pediatria di comunità. I genitori dei bambini convocati sono stati invitati a compilare, insieme al consenso informato, una scheda di raccolta dati con informazioni su eventuali malattie familiari (per lo più autoimmuni), alimentazione nel primo anno di vita e sintomi presentati dal bambino, soprattutto quelli suggestivi di celiachia. Inoltre, in occasione del test, sono stati rilevati peso e altezza. Il personale presente a ogni seduta era costituito da un pediatra con competenze gastroenterologiche, due infermieri professionali, un volontario dell'Associazione Italiana Celiachia, e dagli animatori di una Associazione di volontariato che collabora con la Pediatria dell'Ospedale di Imola, per attività ludiche e "clown therapy".

I soggetti risultati positivi al test rapido sono stati invitati a sottoporsi a prelievo venoso per la determinazione delle tTG con metodica ELISA e a biopsia intestinale: la dieta priva di glutine è stata consigliata solo ai soggetti con biopsia positiva.

Il progetto ha previsto anche una fase longitudinale: i bambini negativi allo screening saranno sottoposti nuovamente al test dopo 2 e 4 anni; i celiaci sintomatici e asintomatici (anche se rifiutano la dieta) e i celiaci latenti (sierologia positiva e biopsia negativa) saranno sottoposti a controlli periodici (ogni 6-12 mesi). Infine, saranno valutate tramite questionari, sia nei sintomatici che negli asintomatici, la compliance alla dieta senza glutine e la qualità di vita percepita da loro e dalle loro famiglie.

RISULTATI

Attualmente disponiamo di dati parziali al 31/12/2007, relativi a 1074 bambini, residenti in 5 comuni limitrofi, con una adesione pari al 53,7% (*Tabella I*).

L'adesione per classi di età è risultata maggiore per le fasce di 3 e 5 anni: a tali classi appartengono i 4 soggetti risultati positivi allo screening.

Essendo 5 i celiaci già diagnosticati prima dello screening in quei Comuni e fasce di età, sommando questi ai celiaci individuati dallo screening e tenuto conto

RISULTATI PARZIALI DELLO SCREENING

	Convocati	Presentati	Positivi
Mordano	167	100 (59%)	0
Vallata Santerno	364	144 (39%)	1
Medicina	625	309 (49,4%)	2
C.S. Pietro	678	424 (62,5%)	1
C. Guelfo	166	97 (58,4%)	0
Totale	2000	1074 (53,7%)	4

Tabella I

FAMILIARITÀ, CRESCITA E SINTOMI NEI POSITIVI ALLO SCREENING

	Età (anni)	Familiarità	Parametri auxologici	Sintomi
F.M. (F)	5	No	w 50°; h 75°	No
C.L. (M)	5	No	w 75°; h 75°	Pallore, stipsi
C.R. (M)	5	No	w 97°; h 75°	Glomerulonefrite
R.F. (F)	3	No	w 50°; h 50°	Stipsi

Tabella II

LABORATORIO E ISTOLOGIA NEI POSITIVI ALLO SCREENING

	tTG IgA (ELISA)	EMA	Istologia (Marsh-Oberhuber)
F.M. (F)	205 U/ml	++++	3 c
C.L. (M)	498 U/ml	++++	3 c
C.R. (M)	306 U/ml	++++	3 c
R.F. (F)	440 U/ml	++++	3 c

Tabella III

che circa il 50% del campione non si è presentato (altri 4 potenziali celiaci), risulta una prevalenza della celiachia sovrapponibile all'atteso di 1:150.

Le caratteristiche dei 4 bambini positivi al test rapido sono illustrate nelle *Tabelle II e III*.

DISCUSSIONE

La nostra esperienza offre alcuni spunti di riflessione sulle problematiche finora emerse:

- difficoltà organizzative notevoli, dovute agli alti carichi di lavoro e ai costi, ai rapporti a volte problematici con istituzioni scolastiche, Comuni e pediatri di famiglia;
- compliance variabile e a volte scarsa, in rapporto ai mezzi di informazione utilizzati, alla presenza di etnie diverse

(difficoltà di comunicazione e comprensione), e infine alla sovrapposizione delle sedute con periodi di vacanze scolastiche.

Pur consapevoli dei possibili effetti negativi e dei rischi che lo screening di massa può comportare nei soggetti esposti (ansia per la famiglia, frustrazione per il soggetto diagnosticato celiaco e la sua famiglia a causa delle limitazioni dietetiche, scarsa motivazione alla dieta negli asintomatici, aumento dei costi per l'aumentato numero di prelievi e biopsie e per l'aumentato consumo di prodotti senza glutine, complicanze legate alle procedure endoscopiche e relativa sedazione), riteniamo che i vantaggi potenziali derivanti dall'intervento (miglioramento/risoluzione dei sintomi, prevenzione delle complicanze, riduzione del tasso di mortalità, miglioramento della qualità di

vita, riduzione dei costi legati alle patologie glutine-dipendenti del celiaco non diagnosticato) siano tali da giustificare un intervento di prevenzione rivolto alla collettività⁸.

Il *case finding* per la diagnosi precoce di celiachia è sicuramente indispensabile, ma non sufficiente, dato l'elevato numero di casi asintomatici; pertanto sarebbe auspicabile uno screening di massa istituzionalizzato, a età prefissata, da eseguirsi con test rapido in occasione di un bilancio di salute, probabilmente quello prima dell'entrata alla scuola dell'obbligo, negli ambulatori di prevenzione o del pediatra di famiglia.

Bibliografia

1. NASPGHAN. Guideline for the diagnosis and treatment of coeliac disease in children: recommendation of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol*

Nutr 2005;40:1-19.

2. Brusa S, Marani M, Lambertini A, et al. The coeliac iceberg in the Emilia Romagna Region. *Atti International Coeliac Disease, Meeting Maribor*, 13-16 Sept 2007.

3. Norme per la protezione dei soggetti malati di celiachia. Legge 4 luglio 2005, n.123 GU 7 luglio 2005, n.156.

4. Korponay-Szabó IR, Raivio T, Laurila K, et al. Coeliac disease case finding and diet monitoring by point-of-care testing. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:729-37.

5. Raivio T, Kaukinen K, Nemes E, et al. Self transglutaminase-based rapid celiac disease antibody detection by a lateral flow method. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24:147-54.

6. Nemeč G, Ventura A, Martelossi S, et al. Looking for Coeliac Disease: diagnostic accuracy of two rapid commercial assays. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1597-600.

7. Korponay-Szabó IR, Szabados K, Pusztai J, et al. Population screening for coeliac disease in primary care by district nurses using a rapid antibody test: diagnostic accuracy and feasibility study. *BMJ* 2007; 335:1244-7.

8. Tommasini A, Not T, Kiren V, et al. Mass screening for coeliac disease using antihuman transglutaminase antibody assay. *Arch Dis Child* 2004;89:512-5.

Le prime segnalazioni di celiachia in India risalgono agli anni '60, e riguardano bambini che dalle regioni nord indiane e del Pakistan, dove la dieta è ricca di grano, emigrarono in Inghilterra¹⁹. Da allora, la celiachia viene segnalata soprattutto nei centri specializzati di gastroenterologia¹⁰⁻¹⁴, ma ci sono pochissimi studi su popolazione che stimano la prevalenza della malattia in queste aree. Nonostante ciò, vi sono sempre maggiori segnalazioni di casi di celiachia¹⁵, e la malattia viene oggi considerata relativamente frequente nel Paese.

Una diagnosi corretta di celiachia è fondamentale, poiché comporta e richiede una rigorosa compliance alla dieta senza glutine per tutta la vita. Altrettanto fondamentale la precocità della diagnosi, in quanto al ritardo diagnostico si associa un maggior rischio di altre condizioni autoimmuni¹⁶, mortalità^{17,18} e un aumentato rischio di osteoporosi e malignità¹⁹. È quindi imperativo disporre di protocolli diagnostici efficaci.

I criteri fondamentali per la diagnosi di celiachia sono la presenza di un'alterazione della mucosa intestinale e la remissione clinica a seguito della dieta. La presenza di un profilo autoanticorpale tipico, che si negativizza a seguito della dieta, supporta ulteriormente la diagnosi e dovrebbe far parte integrante della valutazione diagnostica. Questi aspetti, associati a un'aumentata consapevolezza della variabilità dei sintomi propri della celiachia, hanno dimostrato che la prevalenza della malattia in India è in realtà di molto superiore a quanto ritenuto in passato. Nonostante ciò, la diagnosi di celiachia nei Paesi in via di sviluppo pone notevoli difficoltà, poiché la consapevolezza dell'esistenza della patologia nonché la disponibilità dei centri dove eseguire la sierologia e l'endoscopia sono molto limitati.

Questo lavoro preliminare deriva da uno studio attualmente in corso, svolto da "All India Institute of Medical Sciences" di New Delhi dove, su una serie di 259 bambini con diarrea cronica, distensione addominale e ritardo di crescita, il 55% era affetto da celiachia¹³. Questo studio¹³ ha dimostrato l'utilità della sierologia nella diagnosi e ha incoraggiato il presente gruppo di lavoro a intraprendere uno studio sul possibile ruolo e utilità di un test rapido per la diagnosi della celiachia basato sulla ricerca delle tTG. È sta-

Cercare la celiachia con il test rapido: l'esperienza indiana

ALAN PHILLIPS¹, MARKKU MÄKI², TARCISIO NOT³, SHINJINI BHATNAGAR⁴

¹Centre for Paediatric Gastroenterology, Royal Free Hospital, Londra, Regno Unito

²Paediatric Research Centre, Tampere University Hospital, Tampere, Finlandia

³Clinica Pediatrica, IRCCS "Burlo Garofolo", Trieste

⁴All India Institute of Medical Sciences, New Delhi, India

SEARCHING FOR COELIAC DISEASE USING THE RAPID TEST: THE INDIAN EXPERIENCE

(*Medico e Bambino* 2008;27:368-370)

Key words

Coeliac disease, Rapid test, India

Summary

Coeliac disease was first reported in India in the 1960s. Over the last decade, coeliac disease has been increasingly recognized and is considered to have a significant presence in the country. The Authors report from an on-going study where in a series of 231 children with chronic diarrhoea, abdominal distension, and growth failure the rapid test (Biocard POC) was performed. The results were compared to anti-endomysium (EMA) antibodies and duodenal biopsy. The preliminary analysis of the study so far shows that the Biocard POC test has good specificity but it has a high false negative rate. However, it does appear that POC-testing is a useful adjunct to formal diagnostic testing, although it must be used in a setting that has access to specialized facilities where the diagnosis can be confirmed.

to ipotizzato che l'utilità di questo test risiedesse nel suo basso costo, nella possibilità di essere eseguito da personale inesperto e che potesse ottimizzare la diagnosi differenziale in una realtà in cui la diarrea cronica è una evenienza molto frequente. Avrebbe anche permesso uno screening preliminare per massimizzare l'uso efficiente dell'endoscopia centralizzata e le diagnosi immunologiche per la conferma della diagnosi.

MATERIALI E METODI

L'obiettivo del presente studio era di validare il *Biocard test* nella diagnosi della celiachia, usando una biopsia duodenale patologica con un dosaggio degli EMA positivo come gold standard per la diagnosi della celiachia. Il personale che ha svolto lo studio era rappresentato in India, dal dott. Shinjini Bhatnagar (Investigatore principale) con i co-investigatori dott. Nitya Tandon, dott. Shaon Sengupta, dott. Vandana, dott. Nikhil Tandon, dott. Govind e dott. Siddhartha Datagupta.

Sono stati inclusi nello studio tutti i pazienti con un sospetto diagnostico di celiachia; quelli già in dieta senza glutine sono stati esclusi. È stato ottenuto il consenso informato, relativo al *Biocard test*, alla sierologia per EMA e tTG ELISA e alla biopsia duodenale. I soggetti EMA positivi con enteropatia di grado moderato o severo sono stati considerati come affetti da celiachia, e sono stati posti in dieta senza glutine. I pazienti venivano seguiti ogni 15 giorni per i primi 3 mesi, poi mensilmente, e durante il follow-up venivano valutati i sintomi clinici, la crescita e la compliance alla dieta.

RISULTATI

I seguenti sono dei risultati preliminari e l'outcome finale necessita del completamento dello studio.

Attualmente, 231 pazienti (99 femmine) sono stati inclusi nello studio. Un terzo dei casi presentava diarrea cronica, un terzo dei pazienti presentava bassa statura e i restanti pazienti presentavano distensione addominale, dolore addominale, anemia refrattaria, diabete e tiroidite autoimmune.

Prendendo gli EMA come gold standard (*Tabella I*), il *Biocard test* aveva

BIOCARD TEST VS ANTI-EMA

	Anti-EMA +	Anti-EMA -	
<i>Biocard</i> +	75	6	81
<i>Biocard</i> -	9	137	146
	84	143	227

Il Biocard test aveva una sensibilità del 89% e una specificità del 96%.

Tabella I

BIOCARD TEST VS tTG ELISA

	Anti-tTG ELISA +	Anti-tTG ELISA -	
<i>Biocard</i> +	78	0	78
<i>Biocard</i> -	15	124	139
	93	124	217

Il Biocard test non ha dato risultati falsamente positivi, ma non ha riconosciuto 15 dei 93 casi, risultati invece positivi alla ricerca ELISA delle tTG.

Tabella II

una sensibilità dell'89% e una specificità del 96%; in altre parole, ha dato sia falsi positivi che risultati falsamente negativi rispetto agli EMA. Questo fornisce un valore positivo predittivo (PPV) del 93% e un valore negativo predittivo (NPV) del 94%.

Il *Biocard test* si basa sul dosaggio delle tTG, per cui è stato ipotizzato che possa dare risultati sovrapponibili alle tTG ELISA (*Tabella II*). Nel presente studio la sensibilità del *Biocard test* era dell'84% e la specificità del 100%. In altre parole, il *Biocard test* non ha dato risultati falsamente positivi, ma non ha riconosciuto 15 dei 93 casi risultati invece positivi alla ricerca ELISA delle tTG. Questo dà un PPV di 100% e NPV di 89%.

La presenza di un'enteropatia importante su biopsia duodenale (*Tabella III*) non è un predittore infallibile di celiachia a causa dell'esistenza di altre possibili cause di danno intestinale. 20 dei 73 pazienti con una mucosa duodenale anormale avevano un *Biocard test* normale; di conseguenza il 73% di sensibilità e solo il 69% di NPV, assumendo la biopsia come gold standard. In compenso, un solo paziente presentava istologia normale, e un *Biocard test* falsamente positivo (specificità del 98% e PPV 98%). Se questo bam-

BIOCARD TEST VS BIOPSIA DUODENALE

	Biopsia duodenale +	Biopsia duodenale -	
<i>Biocard</i> +	53	1	54
<i>Biocard</i> -	20	44	64
	73	45	118

20 dei 73 pazienti con una mucosa duodenale anormale avevano un Biocard test normale. Un solo paziente presentava istologia normale, e un Biocard test falsamente positivo.

Tabella III

BIOCARD TEST VS BIOPSIA DUODENALE E ANTI-EMA

	Anti-EMA e biopsia duodenale +	Anti-EMA e biopsia duodenale -	
<i>Biocard</i> +	38	0	38
<i>Biocard</i> -	4	56	60
	42	56	98

L'effettivo gold standard usato nel presente studio è la positività per gli EMA in presenza di una biopsia duodenale anomala. In questa situazione, il Biocard test è risultato falsamente negativo in 4 casi su 42.

Tabella IV

bino fosse celiaco o meno, rimane da accertare.

Il gold standard usato in questo studio è la positività per gli EMA in presenza di una biopsia duodenale anomala (*Tabella IV*). In questa situazione il *Biocard test* è risultato falsamente negativo in 4 casi su 42, dando una sensibilità dell'88% e una specificità del 100% (PPV 100% e NPV 90%).

CONCLUSIONI

I risultati preliminari del presente studio mostrano che il *Biocard test* POC mostra una buona specificità, con un basso numero di fasi positivi, ma ha molti falsi negativi. Tale risultato potrebbe essere dovuto a un errore tecnico, ad esempio il tempo di lettura potrebbe essere troppo breve. Ciononostante, sembra che il test rapido rappresenti uno strumento utile nel percorso diagnostico iniziale, anche se la formalizzazione del-

MESSAGGI CHIAVE

□ La diagnosi di celiachia può essere fatta in ambulatorio, da sangue capillare, utilizzando la transglutaminasi degli eritrociti (un substrato dunque sempre "naturalmente" fresco). Il test ha una specificità e una sensibilità del 95%; ha un costo moderato (ma eccessivo per pensare che ogni pediatra faccia uno screening nei suoi pazienti), ma più che ragionevole di fronte a un sospetto diagnostico.

□ La positività del test, effettuato su striscia reattiva, consiste nella colorazione della sottile linea a cui si legano gli immunocomplessi.

□ Il test rapido non riconosce i casi con deficit di IgA.

□ Il test rapido è utile per seguire il paziente nel tempo e per valutare l'aderenza del paziente alla dieta.

□ Anche in mano a personale non professionale, o meglio con professionalità

diversa da quella laboratoristica (infermieri), il test ha dimostrato una buona specificità (25 su 25 test positivi sono stati confermati alla biopsia).

□ La sensibilità, sempre superiore al 95%, è risultata un po' inferiore nella valutazione degli infermieri, ma non del personale di laboratorio: anche una positività lieve e sfumata va considerata significativa, e un tempo d'attesa più protratto per la valutazione del test sembra raccomandabile.

□ La maggior parte dei bambini risultati positivi presentavano sintomi più o meno specifici (diarrea, stipsi, anemia, cefalea, stanchezza, ritardo di crescita). Il più comune è il mal di pancia, che si corregge rapidamente con la dieta, assieme all'astenia e a un difetto di sicurezza, mentre i sintomi "organici" si correggono più lentamente.

□ Uno studio pilota sulla possibilità, le dif-

ficoltà, i costi, i vantaggi di uno screening in Emilia Romagna ha dato una prevalenza dello 0,4% sui pazienti asintomatici. Aggiungendo i celiaci noti, la prevalenza della celiachia in regione risulta di 1/150.

□ Un altro studio sul campo, effettuato in India, su 231 pazienti sintomatici ha dimostrato (come negli altri lavori) una buona specificità (100% se confrontato al gold standard di positività degli anti-EMA + positività della biopsia), ma una sensibilità dell'88%, non pienamente soddisfacente.

□ In conclusione, il valore predittivo positivo (specificità) del test è ottimo, il valore predittivo negativo deve tener conto del possibile deficit di IgA, ed eventualmente di una insufficiente pratica dell'operatore. Il test sembra poter offrire un buon aiuto nella pratica professionale.

la diagnosi di celiachia necessita comunque di ulteriori indagini diagnostiche specialistiche.

Bibliografia

1. Walia BN, Sidhu JK, Tandon BN, Ghai OP, Bhargava S. Celiac disease in North Indian children. *Br Med J* 1966;2:1233-4.
2. Walia BN, Mehta S, Gupte SP. Coeliac disease. *Indian Pediatr* 1972;9:16-9.
3. Romijn JA, Mulder CJ, Erwtman TW, Sauerwein HP, Tytgat GN. Summer disease in Punjab (coeliac disease). *J Indian Med Assoc* 1987;85:54-6.
4. Khoshoo V, Bhan MK, Jain R, et al. Coeliac disease as cause of protracted diarrhoea in Indian children. *Lancet* 1988;1:126-7.
5. Khoshoo V, Bhan MK, Unsworth DJ, Kumar R, Walker Smith JA. Anti-reticulon antibodies: useful adjunct to histopathology in diagnosing coeliac disease, especially in a developing country. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988;7:864-6.
6. Khoshoo V, Bhan MK. Coeliac disease in Indian children. *Indian Pediatr* 1989;26:627-9.
7. Khoshoo V, Bhan MK, Puri S, et al. Serum

anti-gliadin antibody profile in childhood protracted diarrhoea due to coeliac disease and other causes in a developing country. *Scand J Gastroenterol* 1989;24:1212-6.

8. Nelson R, McNeish AS, Anderson CM. Coeliac disease in children of Asian immigrants. *Lancet* 1973;1:348-50.

9. Sher KS, Fraser RC, Wicks AC, Mayberry JF. High risk of coeliac disease in Punjabis. Epidemiological study in the south Asian and European populations of Leicestershire. *Digestion* 1993;54:178-82.

10. Bhatnagar S, Bhan MK. Serological diagnosis of coeliac disease. *Indian J Pediatr* 1999;66(1 Suppl):S26-31.

11. Poddar U, Thapa BR, Nain CK, Prasad A, Singh K. Coeliac disease in India: are they true cases of celiac disease? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;35:508-12.

12. Bhatnagar S, Natchu MU. Coeliac disease in Indian children. *Natl Med J India* 2004;17:124-7.

13. Bhatnagar S, Gupta SD, Mathur M, et al. Coeliac disease with mild to moderate histologic changes is a common cause of chronic diarrhea in Indian children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;41:204-9.

14. Mohindra S, Yachha SK, Srivastava A, et al. Coeliac disease in Indian children: assessment of clinical, nutritional and pathologic characteristics. *J Health Popul Nutr* 2001;19:204-8.

15. Sood A, Midha V, Sood N, Kaushal V, Puri H. Increasing incidence of coeliac disease in India. *Am J Gastroenterol* 2001;96:2804-5.

16. Ventura A, Magazzù G, Greco L. Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with coeliac disease. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Coeliac Disease. *Gastroenterol* 1999;117:297-303.

17. Logan RF, Rifkind EA, Turner ID, Ferguson A. Mortality in coeliac disease. *Gastroenterol* 1989;97:26571.

18. Corrao G, Corazza GR, Bagnardi V, et al. Club del Tenue Study Group. Mortality in patients with coeliac disease and their relatives: a cohort study. *Lancet* 2001;358:356-61.

19. Holmes GK, Prior P, Lane MR, Pope D, Allan RN. Malignancy in coeliac disease: effect of a gluten free diet. *Gut* 1989;30:333-8.

Ringraziamenti

Un sentito ringraziamento alla dott.ssa Nagua Giurici, specializzanda presso la Clinica Pediatrica di Trieste, per l'importante lavoro che ha svolto nella stesura del focus.