

# Anticuerpo antitransglutaminasa: utilidad en el diagnóstico de la enfermedad celíaca

M. Palacios Sarrasqueta<sup>a</sup>, A. Rivero Marcotegui<sup>a</sup>, F. Sánchez-Valverde Visus<sup>b</sup>, E. Feijoo Blanco<sup>c</sup>, M.A. Ramos Arroyo<sup>c</sup>, J.E. Olivera Olmedo<sup>b</sup> y S. García Merlo<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital de Navarra. Servicios de <sup>b</sup>Pediatría y <sup>c</sup>Genética. Hospital Virgen del Camino. Pamplona.

(*An Esp Pediatr* 2000; 53: 542-546)

## Objetivo

Hasta ahora los anticuerpos de clase IgA antiendomiso (AEm-IgA) y antigliadina (AAG-IgA) se consideraban unos marcadores sensibles y específicos de enfermedad celíaca. Recientemente se ha identificado un nuevo anticuerpo, el antitransglutaminasa (TGt-IgA), como un marcador si no mejor, sí más práctico en el cribado de dicha enfermedad, sobre todo como una prueba muy útil de detección en grandes poblaciones.

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la utilidad del TGt-IgA como prueba de diagnóstico y cribado de la enfermedad celíaca y observar la relación existente entre este anticuerpo y los otros más conocidos y sobradamente utilizados como el AAG-IgA y el anticuerpo antiendomiso (AEm-IgA).

## Pacientes y métodos

El estudio se ha realizado en 115 niños divididos en 3 grupos: 31 pacientes diagnosticados de enfermedad celíaca según los criterios de la ESPGAN, 21 pacientes celíacos en fase de dieta libre de gluten y 63 considerados grupo control. Se emplearon dos métodos inmunoenzimáticos comerciales (ELISA para detectar los AAG-IgA e IgA-TGt, respectivamente). Los AEm-IgA se cuantificaron mediante un método de fluorescencia indirecta utilizando porción distal de esófago de mono como antígeno.

## Resultados

En el grupo global de 115 pacientes, el TGt-IgA presentó una concordancia del 91% con el AEm-IgA y del 85% con el AAG-IgA. Cuando el grupo estudiado era el de enfermos celíacos esta concordancia era del 84 y 61%, respectivamente. Por otra parte, el TGt-IgA presentó una sensibilidad de 83 frente al 94% de los AEm-IgA y el 74% de los AAG-IgA. Los tres anticuerpos presentaron una especificidad similar.

## Conclusiones

El uso de un método ELISA para determinar los TGt-IgA muestra una buena correlación con las determinaciones de AAG y AEm y podría representar una nueva prueba de detección en la enfermedad celíaca. La técnica es sencilla, presenta una buena especificidad y sensibilidad respecto a los clásicos AAG y AEm, no está sometida a la subjetividad de la persona que evalúa la prueba, es barata y muy práctica en programas de cribado generalizado.

## Palabras clave:

*Enfermedad celíaca. Anticuerpos antigliadina. Anticuerpos antiendomiso. Anticuerpos antitransglutaminasa.*

## THE TISSUE TRANSGLUTAMINASE ANTIBODY: USEFULNESS IN THE DIAGNOSIS OF CELIAC DISEASE

### Objective

Until now IgA-EmA and IgA-AGA antibodies have been considered to be specific and sensitive markers of celiac disease. A new antibody, the tissue transglutaminase (IgA-tTG), antibody has recently been identified, which is believed to be if not a better marker then a more practical one in screening for celiac disease, especially in large populations.

To evaluate the usefulness of the IgA-tTG antibody in the diagnosis and screening of celiac disease and to determine the relationship between this antibody and other better-known and overused antibodies, antigliadin (IgA-AGA) and anti-endomysial (IgA-EmA).

### Patients and methods

The study was performed in 115 children divided into three groups: 31 patients diagnosed with the celiac disease.

**Correspondencia:** Dra. M. Palacios Sarrasqueta.  
Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital Virgen del Camino. 31008 Pamplona.  
Correo electrónico: mpalacis@cfnavarra.es

Recibido en abril de 2000.  
Aceptado para su publicación en julio de 2000.

se, according to the ESPGAN criteria; 21 patients with celiac disease following a gluten-free diet, and 63 considered as control group. Two enzyme linked immunoabsorbent assays (ELISA) were used to detect AGA and tTG antibodies, respectively. EmA antibodies were determined by using an indirect immunofluorescence technique with commercial sections of distal monkey oesophagus as antigen.

### Results

In the 115 patients taken as a whole, the tTG antibody showed 91% agreement with the EmA antibody and 85% agreement with the AGA antibody. In the celiac group, agreement was 84% and 61% respectively. Sensitivity of the tTG antibody was 83% compared with 94% for EmA and 74% for AGA. Specificity was similar in all three tests.

### Conclusions

The ELISA test for tTG correlates well with the traditional AGA and EmA tests and could be used as a new test for celiac disease. The procedure is simple and shows high specificity and sensitivity compared with classical EmA and AGA tests and does not involve subjective scoring. It is cheap and very well suited for large-scale screening for celiac disease.

### Key words:

*Celiac disease. Antigliadin antibodies. Antiendomysial antibodies. Anti-transglutaminase antibodies.*

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad celíaca es una enteropatía motivada por una especial sensibilidad al gluten<sup>1</sup>, de carácter permanente, que se manifiesta con una lesión importante de la mucosa del intestino delgado, no patognomónica, habitualmente asociada a signos clínicos y/o funcionales de malabsorción. Sólo representa entre el 30 y el 40% del espectro total de individuos sensibles al gluten, ya que en la gran mayoría de pacientes la enfermedad cursa sin síntomas aparentes o al menos sin los clásicos conocidos<sup>2,3</sup>.

Los anticuerpos de la clase IgA, antirreticulina (ARA-IgA), antigliadina (AAG-IgA) y sobre todo los antiendomysio (AEm-IgA), se han mostrado muy útiles para el diagnóstico de la enfermedad celíaca y han revelado la existencia de una serie de formas ocultas de enfermedad celíaca llamadas silente, latente y potencial, según las lesiones vellositarias características y las manifestaciones clínicas evidentes<sup>4,5</sup>.

Actualmente, el criterio del ESPGAN revisado<sup>6</sup> requiere la realización de una sola biopsia intestinal y la demostración de al menos dos de los tres anticuerpos mencionados, y reserva la práctica de más biopsias para casos concretos.

Diversos estudios atribuyen a los AEm-IgA cerca del 99% de la especificidad para la enfermedad celíaca y ma-

yor sensibilidad que los otros dos anticuerpos<sup>5-12</sup>. Sin embargo, la detección de los AEm-IgA por inmunofluorescencia indirecta (utilizando esófago distal de mono o cordón umbilical humano) resulta laboriosa y se encuentra sometida a la subjetividad de quien examina la prueba. Actualmente, algunos autores<sup>13</sup> han identificado un nuevo anticuerpo llamado transglutaminasa tisular (TGt-IgA) con una sensibilidad de entre el 95 y el 98% y una especificidad del 94 al 95%, que no presenta esta dificultad, ya que éste es susceptible de medirse por técnica de radioinmunoanálisis (ELISA) y permite la realización de estudios a gran escala.

## PACIENTES Y MÉTODOS

### Pacientes

Se examinaron 115 sueros procedentes de una población de niños (47 varones y 68 mujeres), con edades comprendidas entre 1 y 16 años, 28 de ellos menores de 2 años, que se dividieron en 3 grupos:

*Grupo 1.* Se incluyeron 31 casos (12 varones y 19 mujeres) con enfermedad celíaca diagnosticada en el momento de obtención de la muestra y siguiendo los criterios de la ESPGAN<sup>6</sup>.

*Grupo 2.* Estuvo compuesto por 21 casos (8 varones y 13 mujeres) de pacientes celíacos en fase de dieta sin gluten desde 6-12 semanas antes del estudio.

*Grupo 3.* Lo formaban 63 controles (27 varones y 36 mujeres) procedentes de la consulta de gastroenterología, de los que se excluyeron los casos de enfermedades autoinmunes y procesos diarreicos agudos, sin síntomas indicativos de enfermedad celíaca.

Se realizó biopsia intestinal en todos los pacientes de los grupos 1 y 2, y los hallazgos fueron compatibles con enfermedad celíaca. En el grupo 3 sólo se practicó biopsia a un paciente que presentaba anticuerpos positivos, cuyo resultado fue el de mucosa dentro de la normalidad.

En todos los casos se solicitó el consentimiento informado y la investigación se realizó según las normas del Comité Ético del Servicio Navarro de Salud.

### Métodos

Los AEm-IgA se cuantificaron por fluorescencia indirecta utilizando como sustrato antigénico la porción distal de esófago de mono (Medical Diagnostics, Carlsbad, CA, EE.UU.). Los sueros se diluyeron al 1:5 en tampón fosfato 50 mM pH 7,8 y se consideró un valor positivo por encima de esta dilución (U/ml).

Los AAG-IgA se cuantificaron por un método inmunoenzimático utilizando un equipo comercial (Medical Innovations Limited, Artarmon, NSW, Australia), estableciéndose los valores positivos por encima de 20 unidades arbitrarias (UA).

Los TGt-IgA se evaluaron siguiendo las instrucciones aconsejadas por el fabricante (Genesis Diagnostica, Littleport, Reino Unido). La imprecisión intraensayo e interensayo fue siempre inferior al 12%. Todos los sueros se analizaron por duplicado tomando el título como valor promedio resultante. Se consideró un valor positivo cuando éste se situaba por encima de 10 U/ml.

Se llevó a cabo un estudio de sensibilidad y especificidad para los tres métodos. La sensibilidad se calculó como la frecuencia de TGt positivos en pacientes celíacos con biopsia probada que seguían una dieta normal y la especificidad como la frecuencia de títulos negativos para TGt en pacientes no celíacos, considerando un título de corte de 10 U/ml para la TGt que excluía el 95% de los pacientes no celíacos.

A todos se les analizaron los niveles de IgA séricos por nefelometría cinética (Beckman, Instruments, Inc., Brea, CA, EE.UU.). En aquellos que presentaban cifras inferiores a los valores de referencia se les determinaba además la presencia de IgG-AAG, IgG-AEm e IgG-TGt.

### Estudio estadístico

Se empleó el estudio de correlación analizándose la concordancia bruta y el índice kappa ( $\kappa$ ) con intervalo de confianza del 95% (IC 95%)<sup>14</sup> que analiza la coincidencia o grado de acuerdo entre 2 métodos diagnósticos teniendo en cuenta el grado de concordancia que se hubiera obtenido aleatoriamente. El valor puede oscilar entre 0 y 1. Se considera un grado de concordancia aceptable entre 0,5-0,75 y un buen grado el superior a 0,75.

### RESULTADOS

Los resultados de los 115 sueros estudiados se exponen en la tabla 1, así como también los correspondientes a los 31 enfermos celíacos y los de los pacientes en dieta sin gluten. En la misma tabla pueden observarse los resultados de los 63 sueros referencia.

Con un valor de corte de 10 U/ml para el TGt-IgA se consiguió una concordancia con el AEm-IgA del 91% y con el AAG-IgA del 85% en el grupo global. Cuando el grupo en estudio era el de los enfermos celíacos ésta fue

del 84 y 61%, respectivamente. En el grupo que estaba en dieta sin gluten la concordancia fue del 76% con el AEm-IgA y del 81% con el AAG-IgA y en el considerado grupo control, del 91 y 85%.

El estudio de la especificidad y sensibilidad para los tres anticuerpos demostró que el TGt-IgA tiene una sensibilidad del 83% y una especificidad del 95%; el AEm-IgA, del 94 y del 95% y, por último, el AAG-IgA las presentó del 74 y del 96%, respectivamente. Se encontró un déficit de IgA con títulos TGt-IgA e AEm-IgA negativos, pero con presencia de positividad frente a AEm-IgA y TGt-IgA.

### DISCUSIÓN

Los TGt-IgA mostraron una buena correlación con los AEm-IgA. Sólo 3 casos del total presentaron títulos positivos para TGt-IgA y negativos para AEm-IgA: dos de estos sueros pertenecían a pacientes en dieta sin gluten desde hacía 3 años, aunque en el momento del análisis estaban en transgresión dietética, lo que podría indicar que los TGt-IgA tienden a aparecer antes que los AEm-IgA ante una transgresión de la dieta<sup>8</sup>. El otro suero pertenecía a un enfermo celíaco en fase dieta sin gluten desde 6 meses antes, en el que se habían negativizado los AEm-IgA pero persistían con TGt-IgA ligeramente positiva.

De los 7 sueros que presentaban TGt-IgA negativo con AEm-IgA positivo, cuatro correspondían a enfermos celíacos, tres de ellos en dieta sin gluten con títulos AEm-IgA positivos 1:5, lo cual puede indicar que el TGt-IgA tiende a desaparecer antes que el AEm-IgA en dieta sin gluten y que probablemente la elevación del AEm-IgA está relacionada con la lesión de la mucosa intestinal y con la valoración subjetiva de éste, con la actual metodología existente.

Tras la exclusión de la dieta los AEm-IgA tardan entre 3 y 6 meses en normalizarse, y en la mayoría de los casos desaparecen antes de los 12 meses de tratamiento dietético<sup>15-17</sup>.

El otro caso era un síndrome de Down con un título AAG-IgA de 46 UA, que se encontraban en dieta sin gluten desde hacía 5 meses. Aunque el número de estudios publicados que utilizaron la determinación de marcado-

TABLA 1. Comparación de los resultados de anticuerpos de clase IgA antitransglutaminasa, antiendomiso y antigliadina en los diversos grupos estudiados

	Total* (n = 115)		Enfermedad celíaca (n = 31)		Dieta sin gluten (n = 21)		Control (n = 63)	
	TGt (+)	TGt (-)	TGt (+)	TGt (-)	TGt (+)	TGt (-)	TGt (+)	TGt (-)
AEm-IgA (+)	28	7	24	4	1	3	2	1
AEm-IgA (-)	3	77	1	2	2	15	0	60
AAG-IgA (+)	19	6	20	4	0	3	1	1
AAG-IgA (-)	11	79	7	0	1	17	2	59

\*Número total de sueros analizados.

TGt-IgA: anticuerpos antitransglutaminasa de clase IgA; AEm-IgA: anticuerpos antiendomiso de clase IgA; AAG-IgA: anticuerpos antigliadina de clase IgA.

res serológicos para el cribado de enfermedad celíaca en pacientes con síndrome de Down es muy reducido, se encuentran prevalencias del 2,9%. Casi todos se refieren a los AAG-IgA y AEm-IgA como marcadores, sin referencias a la TGt<sup>17,18</sup>, y también debe recordarse que existe cierto número de casos de síndrome de Down que presentan falsos AAG-IgA positivos<sup>19</sup>.

De los otros 3 casos TGt negativos y AEm-IgA positivos (todos ellos con títulos 1:5 U/ml) el primero correspondía a un hermano de enfermo celíaco con AAG-IgA negativo. El segundo era un paciente diagnosticado de colitis ulcerosa, con título AAG-IgA de 51 UA. En la bibliografía se han descrito casos de AAG-IgA con títulos elevados en pacientes con enfermedades gastrointestinales diferentes a la celíaca<sup>20</sup>.

El tercer caso de TGt-IgA negativo con AAG-IgA de 24 UA podría ser un falso AEm-IgA positivo o tratarse de un enfermo celíaco latente (sin presencia de enteropatía), pendiente de reanalizar pasado un tiempo y con seguimiento cuidadoso por su potencial celíaco<sup>21,22</sup>, o de un caso de sensibilización al gluten con AEm-IgA positivo y biopsia negativa<sup>5</sup>. No son enfermos celíacos, si bien la exclusión del gluten de la dieta conlleva la negativización del marcador serológico y su recuperación y la reintroducción produce una nueva recaída clínica.

El significado "falso positivo" (presencia de anticuerpos TGt-IgA o AEm-IgA con mucosa aparentemente normal) también debería reconsiderarse, ya que hay pacientes con anticuerpos positivos y mucosa normal que fueron rebiopsiados pasados 1-7 años encontrándose entonces atrofia de vellosidades<sup>21-25</sup>. Hallazgos similares se han observado en un grupo de pacientes diabéticos<sup>26</sup>.

En nuestro estudio a la vista de los resultados discrepantes en algunos sueros entre la TGt-IgA y el AEm-IgA, nos inclinamos a pensar al igual que otros autores<sup>10,13</sup> en diferencias debidas a la especificidad de los métodos, ya que la TGt-IgA emplea un antígeno proveniente de hígado de cobaya, que sólo es homólogo con la forma humana en un 80%<sup>27</sup>, mientras que el antígeno detectado por inmunofluorescencia como es el AEm-IgA, proviene de tejido de primate. Esta falta de concordancia podría atribuirse a las diferencias interespecie, o a la existencia de otros autoantígenos existentes en la matriz. Por otra parte, el método ELISA para el TGt-IgA, podría detectar anticuerpos que no son específicos para la enfermedad celíaca, ya que el antígeno que emplea ni es humano ni es puro<sup>11,12</sup>. Posiblemente en un futuro muy próximo, el empleo de un TGt recombinante de origen humano podría mejorar muchos de los actuales problemas debidos a la técnica<sup>28</sup>.

Para algunos autores<sup>19</sup> la concordancia entre AEm-IgA y TGt-IgA es muy alta, próxima al 95%, habiendo un número limitado de sueros positivos para endomisio (casi invariablemente a títulos bajos) con ausencia de TGt-IgA, lo que corroboraría nuestros resultados<sup>29</sup>.

Los valores obtenidos con los AAG-IgA son similares a los de otros autores en niños y adultos<sup>30-32</sup> y confirman

que son un buen método de detección de la enfermedad celíaca, sobre todo en lo referente a niños menores de 2 años<sup>2,22</sup>. La importancia numérica de los casos de enfermedad celíaca silente y latente<sup>20,21,33-35</sup>, junto con el riesgo inherente a los retrasos y/o fallos en el diagnóstico justificarían programas de escrutinio de la enfermedad en poblaciones de riesgo, siendo en la actualidad el método de elección la determinación de TGt por su simplicidad y bajo coste.

Hay autores que piensan<sup>10,36</sup> que el TGt-IgA es un autoantígeno mayor en la enfermedad celíaca y aunque en alguna instancia es menos sensible que el AEm-IgA, para los estudios a gran escala sería más práctico aplicar una técnica ELISA que una de inmunofluorescencia con toda su carga de subjetividad.

Las cuestiones debatidas son fundamentalmente saber en qué momento y con qué periodicidad deben realizarse estos estudios de cribado y sobre todo cuándo debe indicarse una biopsia en individuos de riesgo, asintomáticos, pero con marcadores positivos.

La presencia de TGt positivo en población control puede indicar la necesidad de un estudio genético y de haplotipo en este tipo de pacientes, para descartar enfermedad celíaca latente o silente. En el grupo estudiado por Vitoria, la presencia de TGt positivo en controles fue de 2 en 34 casos estudiados, un 5,8<sup>37</sup>, y en el grupo de Sulkanen fue de 13 en 207 casos lo que suponía un 6%<sup>38</sup>. En nuestro grupo esto representaba el 3,3% y acordamos vigilarlos de forma cuidadosa, ya que una biopsia normal en un sujeto que está consumiendo gluten no excluye de forma definitiva el diagnóstico de enfermedad celíaca.

Los beneficios del diagnóstico de las formas ocultas de enfermedad celíaca aconsejan establecer una actitud que sea asumible en el aspecto económico a la par que razonablemente práctica, sin olvidar el principal objetivo como es el diagnóstico y puesta de manifiesto de la enfermedad, de forma que la sistematología depende fundamentalmente en cada caso, de los medios disponibles y de la población en estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Mars MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine: a molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ("coeliac sprue"). *Gastroenterology* 1992; 102: 330-354.
2. Ribes C. Enfermedad celíaca: presente y futuro. *Revista de la Sociedad Valenciana de Patología Digestiva* 1998; 17: 23-31.
3. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997; 3: 797-801.
4. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ("celiac sprue"). *Gastroenterology* 1992; 102: 330-354.

5. Troncone R, Greco L, Mayer M, Paparo F, Caputo N, Micillo M et al. Latent and potential coeliac disease. *Acta Paediatr* 1996; 412 Suppl: 10-14.
6. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. *Arch Dis Child* 1990; 65: 909-911.
7. Mäki M, Lahdeaho ML, Hällström O, Viander M, Visakorpi JK. Postpubertal gluten challenge in coeliac disease. *Arch Dis Child* 1989; 64: 1604-1607.
8. Brusco G, Izzi L, Corazza GR. Tissue transglutaminase antibodies for coeliac disease screening. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 30: 496-497.
9. Collin P. Serologic screening for coeliac disease-time for tissue transglutaminase test? [comentario]. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 40: 498-499.
10. Lerner A, Kumar V, Lancu TC. Immunological diagnosis of childhood coeliac disease: comparison between antigliadin, antireticulin and antiendomysial antibodies. *Clin Exp Med* 1994; 95: 78-82.
11. Sollid LM, Molberg O, McAdam S, Lundin KEA. Autoantibodies in coeliac disease:tissue transglutaminase guilt by association? (occasional viewpoint). *Gut* 1997; 41: 851-852.
12. Sollid LM, Scott H. New Tool to predict coeliac disease on its way to the clinics [editorial]. *Gastroenterology* 1998; 115: 1584-1594.
13. Dieterich W, Laag E, Schopper H, Volta U, Ferguson A, Gillett H, EO et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of coeliac disease. (Rapid Communications). *Gastroenterology* 1998; 115: 1317-1321.
14. Kramer MS, Feinstein AR. Clinical Biostatistic. The Biostatistic of Concordance. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 29: 111-123.
15. De Lecea A, Ribes-Koninckx C, Polaco I, Ferrer Calvete J. Serological screening (antigliadin and antiendomysium antibodies) for non-overt coeliac disease in children of short stature *Acta Paediatr* 1996; 412 Suppl: 54-55.
16. Storm W. Prevalence and diagnostic significance of gliadin antibodies in children with Down's Syndrome. *Eur J Pediatr* 1990; 149: 833-834.
17. Calabuig M, Ribes C. Marcadores de enfermedad celíaca. *An Esp Pediatr* 1996; Suppl 76: 34-43.
18. Ascher H, Lanner A, Kristiansson B. A new laboratory kit anti-gliadin IgA at Diagnosis and follow-up of Childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990; 10: 443-450.
19. Troncone R, Maurano F, Iovine G, Petrone E, Paparo F. Diagnostic criteria for coeliac disease. En: Lohiniemi S, Collin P, Mäki M, eds. Changing features of coeliac disease. The Finnish Coeliac Society. Tampere, 1998; 7-12.
20. Troncone R, Ferguson A. Anti-gliadin antibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991; 12: 150-158.
21. Collin P, Helin H, Mäki M, Hällström O, Karvonen A-L. Follow-up of patients positive in reticulín and gliadin antibody tests with normal small bowel biopsy findings. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28: 595-598.
22. Camarero C, Roldán B, Sebastián M, Barrio A, Álvarez I, Eiras P et al. Valor predictivo de los anticuerpos antigliadina, antirreticulina y antiendomiso en el diagnóstico de la enteropatía asociada al gluten. *Rev Esp Pediatr* 1997; 53: 309-314.
23. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony. Definitions and diagnostic criteria of latent and potential coeliac disease. Latent coeliac disease. En: Aurichio S, Visakorpi JK, eds. Common foods intolerances 1: Epidemiology of coeliac disease. Vol. 2. Basilea: Karger, 1992; 119-127.
24. Mäki M, Holm K, Koskimies S, Visakorpi JK. Normal small bowel biopsy followed by coeliac disease. *Arch Dis Child* 1990; 65: 1137-1141.
25. Troncone R and the SIGEP Working Group on Latent Coeliac Disease. Latent coeliac disease in Italy. *Acta Paediatr* 1995; 84: 1252-1257.
26. Mäki M, Huupponen T, Holm K, Hällström O. Seroconversion of reticulín autoantibodies predicts coeliac disease in insulin dependent diabetes mellitus. *Gut* 1995; 36: 239-242.
27. Bazzigaluppi E, Lampasona V, Barera G, Venerando A, Bianchi C, Chiumello G et al. Comparison of tissue transglutaminase-specific antibody assays with established antibody measurements for coeliac disease. *J Autoimmun* 1999; 12: 51-56.
28. Sardy M, Odenthal U, Karpati S, Paulsson M, Smyth N. Recombinant human tissue transglutaminase ELISA for the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy. *Clin Chem* 1999; 45: 2142-2149.
29. Troncone R, Maurano F, Rossi M, Micillo M, Greco L, Auricchio R et al. IgA antibodies to tissue transglutaminase: An effective diagnostic test for celiac disease. *J Pediatr* 1999; 134: 166-171.
30. Grodzinsky E, Jasson G, Skogh T, Stenhammar L, Fälth-Magnusson K. Anti-endomysium and anti-gliadin antibodies as serological markers for coeliac disease in childhood: a clinical study to develop a practical routine. *Acta Paediatr* 1995; 84: 294-298.
31. Ribes-Koninckx C, Gilians JP, Polanco I, Pena AS. IgA antigliadin antibodies in celiac and inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1984; 3: 676-682.
32. Ascher H, Lanner A, Kristiansson B. A new laboratory kit anti-gliadin IgA at Diagnosis and follow-up of childhood celiac disease. *J Pediatr* 1989; 148: 496-502.
33. Mäki M. The humoral immune system in coeliac disease. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1995; 9: 231-249.
34. Mäki M, Collin P. Coeliac disease. *Lancet* 1997; 349: 1755-1759.
35. Mäki M. Changing features of coeliac disease. En: Lohiniemi S, Collin P, Mäki M, eds. Changing features of coeliac disease. Tampere: The Finnish Coeliac Society, 1998; 1-6.
36. Vitoria JC, Zubillaga P, Sojo A. Diagnóstico de la enfermedad celíaca. *An Esp Pediatr* 1999; 51: 602-608.
37. Vitoria JC, Arrieta A, Arranz C, Ayesta A, Sojo A, Maruri N et al. Antibodies to gliadin, endomysium and tissue transglutaminase for the diagnosis of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29: 571-574.
38. Sulkanen S, Halttunen T, Laurila K, Kolho KL, Korponay-Szabo IR, Sarnesto A et al. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology* 1998; 115: 1322-1328.