

Adottata dal Direttore Generale in data 27 OTT. 2016Deliberazione 1956

Oggetto: Contributo per lo Studio delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino anno 2015  
Responsabile scientifico Prof. Paolo Moi. Approvazione Rendicontazione scientifica ed economica conclusiva.

Publicata all'Albo Pretorio dell'Azienda a partire dal 28 OTT. 2016 per 15 giorni consecutivi e posta a disposizione per la consultazione. *Il Direttore Amministrativo*

Il Direttore Generale Dott.ssa Graziella Pintus  
*Coadiuvato da:*  
Direttore Amministrativo Dott.ssa Laura Balata  
Direttore Sanitario Dott. Vinicio Atzeni

Su Proposta del Servizio Economico e Finanziario

- PREMESSO che la Regione Sardegna con provvedimento sul BURAS n.20 del 05 Luglio 2011 ha assegnato, a decorrere dall'anno 2011, il contributo di cui all'art. 13, comma 15, lettera a), della Legge Regionale n.7 del 2005, e successive modifiche ed integrazioni a favore della ASL n.8 di Cagliari;
- VISTA la deliberazione ASL n. 452 del 21.04.2015, con la quale si approvava il progetto scientifico e il relativo piano finanziario dell'annualità 2015 relativamente al contributo suddetto;
- DATO ATTO che con delibera ASL 802 del 29/06/2015 si è provveduto alla incorporazione nell'Azienda Ospedaliera "G. Brotzu" del P.O. Pediatrico-Microcitemico e che l'erogazione in argomento è elencata nell'Allegato 9 (Progetti di Ricerca Sanitaria Finalizzata), quale credito per la AO Brotzu, nonché nell'All.1 all'All.9 (Crediti e Debiti al 30/06/2015 )
- VISTA l'allegata nota n180 del giorno 27/10/2016 del Responsabile Scientifico Prof. Paolo Moi con la quale si propone la rendicontazione scientifica ed economica conclusiva del progetto annualità 2015 intitolato "Studio delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino: "Studio delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino in Sardegna: Screening Neonatale, Mucopolisaccaridosi, Malattia di Wilson e Malattia Celiaca",
- ACCERTATA la completezza della documentazione e verificato che risulta spesa la somma complessiva di €.201.896 così come da allegato;

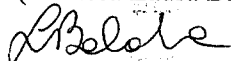
### DELIBERA

Per i motivi espressi in premessa:

- di approvare la relazione scientifica conclusiva del Contributo per lo Studio delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino- 2015 intitolato "Studio delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino in Sardegna: Screening Neonatale, Mucopolisaccaridosi, Malattia di Wilson e Malattia Celiaca" e il relativo rendiconto economico-finanziario.

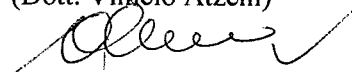
**IL DIRETTORE AMMINISTRATIVO**

(Dott.ssa Laura Balata)



**IL DIRETTORE SANITARIO**

(Dott. Vinicio Atzeni)



**IL DIRETTORE GENERALE**

(Dott.ssa Graziella Pintus)



## RENDICONTO FINANZIARIO

Struttura di riferimento

Clinica Pediatrica, Talassemie e Malattie Rare, P.O. Microcitemico - ASL8 Cagliari/AOBrotzu Cagliari

Anno di riferimento

2015

Importo erogato

180.000,00

Importo rendicontato

201.896,00

Importo assegnato

200.000,00

Progetto:

Contributo per lo Studio delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino

PROSPETTO RIEPILOGATIVO DI CONFRONTO			
VOCI DI COSTO	SPESA PREVISTA	SPESA SOSTENUTA	
COSTI PER IL PERSONALE	150.000,00	199.152,22	
COSTI PER ACQUISTO DI STRUMENTI E ATTREZZATURE	0	€ 2.743,78	
COSTI PER GESTIONE LABORATORIO (servizi e m.consumabili)	50.000,00	€ 0,00	
COSTI PER MISSIONI	0	€ 0,00	
<b>TOTALE</b>	<b>€ 200.000,00</b>	<b>€ 201.896,00</b>	

## RENDICONTO FINANZIARIO

Struttura di riferimento Clinica Pediatrica, Talassemie e Malattie Rare, P.O. Microcitemico - ASL8 Cagliari/AOBrotzu Cagliari

Anno di riferimento 2015

Importo erogato 180.000,00

Importo rendicontato 201.896,00

Importo assegnato 200.000,00

Progetto: Contributo per lo Studio delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino

### COSTI PER ACQUISTO STRUMENTI E ATTREZZATURE

Descrizione del bene acquistato	Estremi fatture (ditta-data-numero)	Importo fattura	n. mandato di pagamento	Importo pagato
piccole attrezzature di laboratorio rif. Det. AOB n.9 del 07/01/2016	Technical Project Service, fatt. n. 15/16E del 19/02/16	€ 1.454,24	N. 4102 del 24/08/2016	€ 2.743,78
<b>TOTALE</b>				<b>€ 2.743,78</b>

## Struttura di riferimento

Clinica Pediatrica, Talassemie e Malattie Rare, P.O. Microcitemico - ASL8 Cagliari/AO Brotzu Cagliari

Anno di riferimento

2015

Importo erogato

180.000,00

Importo rendicontato

201.896,00

Importo assegnato

200.000,00

Contributo per lo Studio delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino

## COSTI PER IL PERSONALE

Dati anagrafici	Tipologia contratto	Estremi contratto	Periodo di riferimento	Estremi Mandato di pagamento	del	Importo Pagato
<b>Cotza Simona</b>						€ 1.833,81
Balloi Roberta						€ 2.815,20
Lampis Rosanna	Co.co.co.	Delibera ASL n.517 del 29/04/2015 Delibera ASL n.724 del 18/06/2015 Delibera ASL n.882 del 15/07/2015	Luglio '15	n.5520	26/10/16	€ 2.815,20 € 2.815,20 € 2.815,20
Lepori Maria Barbara						€ 2.815,20
Macis Maria Doretta						€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio	Co.co.co.	Del ASL 1018 -22/07/15 e Del ASL 882	Agosto '15			€ 1.775,24
<b>SETTEMBRE 2015</b>						
<b>Cotza Simona</b>						€ 1.833,81
Balloi Roberta						€ 2.815,20
Lampis Rosanna	Co.co.co.	Delibera ASL n.517 del 29/04/2015 Delibera ASL n.724 del 18/06/2015 Delibera ASL n.882 del 15/07/2015	Settembre '15	n. 5237	23/09/2015	€ 2.815,20 € 2.815,20 € 2.815,20
Lepori Maria Barbara						€ 2.815,20
Macis Maria Doretta						€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio						€ 1.775,24
<b>OTTOBRE 2015</b>						
<b>Cotza Simona</b>						€ 1.833,81
Balloi Roberta						€ 2.815,20
Lampis Rosanna	Co.co.co.	Delibera ASL n.517 del 29/04/2015 Delibera ASL n.724 del 18/06/2015 Delibera ASL n.882 del 15/07/2015	ottobre '15	N. 5634	22/10/2015	€ 2.815,20 € 2.815,20 € 2.815,20
Lepori Maria Barbara						€ 2.815,20
Macis Maria Doretta						€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio						€ 1.775,24
<b>NOVEMBRE 2015</b>						
<b>Cotza Simona</b>						€ 1.833,81
Balloi Roberta						€ 2.815,20
Lampis Rosanna	Co.co.co.	Delibera ASL n.517 del 29/04/2015 Delibera ASL n.724 del 18/06/2015 Delibera ASL n.882 del 15/07/2015	novembre '15	N. 5987	24/11/2015	€ 2.815,20 € 2.815,20 € 2.815,20
Lepori Maria Barbara						€ 2.815,20
Macis Maria Doretta						€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio						€ 1.775,24
<b>DICEMBRE 2015</b>						
<b>Cotza Simona</b>						€ 1.833,81

Lampis Rosanna		Delibera ASL n.724 del 18/06/2015					€ 2.815,20
Lepori Maria Barbara	Co.co.co.	Delibera ASL n.882 del 15/07/2015	dicembre '15	N. 6641	22/12/2015		€ 2.815,20
Macis Maria Doloretta							€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio		Del.ASL 1018 -22/07/15 e Del ASL 882					€ 1.775,24
<b>GENNAIO 2016</b>							
Cotza Simona							€ 1.833,81
Balloi Roberta		Delibera ASL n.517 del 29/04/2015					€ 2.815,20
Lampis Rosanna	Co.co.co.	Delibera ASL n.724 del 18/06/2015	Gennaio '16	N. 364	26/01/2016		€ 2.815,20
Lepori Maria Barbara		Delibera ASL n.882 del 15/07/2015					€ 2.815,20
Macis Maria Doloretta							€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio		Del.ASL 1018 -22/07/15 e Del ASL 882					€ 1.775,24
<b>FEBBRAIO 2016</b>							
Cotza Simona							€ 1.833,81
Balloi Roberta		Delibera ASL n.517 del 29/04/2015					€ 2.815,20
Lampis Rosanna	Co.co.co.	Delibera ASL n.724 del 18/06/2015	Febbraio '16	N. 967	24/02/2016		€ 2.815,20
Lepori Maria Barbara		Delibera ASL n.882 del 15/07/2015					€ 2.815,20
Macis Maria Doloretta							€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio		Delibera AOB n. 24 del 13/01/2016					€ 1.775,24
<b>MARZO 2016</b>							
Cotza Simona							€ 1.833,81
Balloi Roberta		Delibera ASL n.517 del 29/04/2015					€ 2.815,20
Lampis Rosanna	Co.co.co.	Delibera ASL n.724 del 18/06/2015	Marzo '16	N. 1369	24/03/2016		€ 2.815,20
Lepori Maria Barbara		Delibera ASL n.882 del 15/07/2015					€ 2.815,20
Macis Maria Doloretta							€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio		Delibera AOB n. 24 del 13/01/2016					€ 1.775,24
<b>APRILE 2016</b>							
Cotza Simona							€ 1.833,81
Balloi Roberta		Delibera ASL n.517 del 29/04/2015					€ 2.815,20
Lampis Rosanna	Co.co.co.	Delibera ASL n.724 del 18/06/2015	Aprile '16	N. 1795	22/04/2016		€ 2.815,20
Lepori Maria Barbara		Delibera ASL n.882 del 15/07/2015					€ 2.815,20
Macis Maria Doloretta							€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio		Delibera AOB n. 24 del 13/01/2016					€ 1.775,24
<b>MAGGIO 2016</b>							
Cotza Simona							€ 1.833,81
Balloi Roberta		Delibera ASL n.517 del 29/04/2015					€ 2.815,20
Lampis Rosanna	Co.co.co.	Delibera ASL n.724 del 18/06/2015	Maggio '16	N. 2238	25/05/2016		€ 2.815,20
Lepori Maria Barbara		Delibera ASL n.882 del 15/07/2015					€ 2.815,20
Macis Maria Doloretta							€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio		Delibera AOB n. 24 del 13/01/2016					€ 1.775,24
<b>GIUGNO 2016</b>							

Ballio Roberta		Delibera ASL n.517 del 29/04/2015				€ 2.815,20
Lampis Rosanna		Delibera ASL n.724 del 18/06/2015				€ 2.815,20
Lepori Maria Barbara	Co.co.co.	Delibera ASL n.882 del 15/07/2015	Giugno '16	N. 2842	23/06/2016	€ 2.815,20
Macis Maria Doloretta		Delibera AOB n. 24 del 13/01/2016				€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio						€ 1.775,24
<b>LUGLIO 2016</b>						
Cotza Simona						€ 1.833,81
Ballio Roberta						€ 2.815,20
Lampis Rosanna						€ 2.815,20
Lepori Maria Barbara	Co.co.co.	Delibera ASL n.517 del 29/04/2015 Delibera ASL n.724 del 18/06/2015 Delibera ASL n.882 del 15/07/2015	Luglio '16	N. 3550	26/07/2016	€ 2.815,20
Macis Maria Doloretta		Delibera AOB n. 24 del 13/01/2016				€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio						€ 1.775,24
<b>AGOSTO 2016</b>						
Cotza Simona						€ 1.833,81
Ballio Roberta						€ 2.815,20
Lampis Rosanna						€ 2.815,20
Lepori Maria Barbara	Co.co.co.	Delibera ASL n.517 del 29/04/2015 Delibera ASL n.724 del 18/06/2015 Delibera ASL n.882 del 15/07/2015	Agosto '16	N. 4118	25/08/2016	€ 2.815,20
Macis Maria Doloretta		Delibera AOB n. 24 del 13/01/2016				€ 2.815,20
Gaviano Fabrizio						€ 1.775,24
<b>SETTEMBRE 2016</b>						
Cotza Simona						€ 611,27
Ballio Roberta						€ 938,40
Lampis Rosanna						€ 938,40
Lepori Maria Barbara	Co.co.co.	Delibera ASL n.724 del 18/06/2015 Delibera ASL n.882 del 15/07/2015	Settembre '16	N. 4624	24/09/2016	€ 938,40
Macis Maria Doloretta		Delibera AOB n. 24 del 13/01/2016				€ 938,40
Gaviano Fabrizio						€ 1.479,36
<b>TOTALE</b>						<b>€ 199.152,22</b>

Note:

Si segnala che per i collaboratori : Cotza S., Ballio R, Macis MD, Lampis R., Lepori MB la mensilità di agosto è stata pagata con il mandato n.1186 del 24/08/2015 (vedi rendiconto anno 2014, Deliberazione AOB n. 1709 del 30/09/2015)

Gli importi indicati si riferiscono al lordo onnicomprensivo di oneri a carico del collaboratore e dell'azienda.



AO Brotzu

**Ospedale Pediatrico  
Microcitemico Antonio Cao**



Sistema Sanitario  
Regione Sardegna

CONTRIBUTO PER LO STUDIO DELLE  
MALATTIE EREDITARIE DEL METABOLISMO NEL BAMBINO

RENDICONTO ECONOMICO ANNO 2015

***“Studio delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino: Screening Neonatale,  
Mucopolisaccaridosi, Malattia di Wilson e Malattia Celiaca.”***

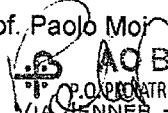
**Note:**

Si fa presente che per motivazioni burocratiche e scientifiche la rendicontazione economica del progetto (i cui tempi di attuazione si sono protratti a settembre 2016) presenta una variazione (inferiore al 25 %) rispetto al piano finanziario iniziale. Il rendiconto finanziario del contributo per lo studio delle malattie ereditarie del metabolismo nel bambino – anno 2015, come da dettagli allegati, è pertanto così strutturato:

Spese per il Personale: .....	199.152,22
Spese di gestione e laboratorio: .....	2.743,78
Totale complessivo .....	€201.896,00

Il Responsabile del Progetto .....

Prof. Paolo Mori

  
 AO Brotzu - Cagliari  
 P.O. OSPEDALIERO MICROCITEMICO "A. CAO"  
 VIA JENNER - 09121 CAGLIARI  
 U.O.C. Clinica Pediatrica Talassemie e Malattie Rare  
 Direttore: Prof. Paolo Mori  
 Tel. 070.52965656 - Fax 070.52965558

Azienda Ospedaliera G. Brotzu  
P.le Ricchi, 1 - 09134 - Cagliari  
P.iva: 02315520920  
www.aobrotzu.it

Clinica Pediatrica Talassemie  
e Malattie Rare  
tel. 070 5296.55656/5660  
fax. 070 5296.5558

Ospedale Pediatrico  
Microcitemico A.Cao  
Via Jenner snc  
09121 - Cagliari



AO Brotzu

**Ospedale Pediatrico  
Microcitemico Antonio Cao**




Sistema Sanitario  
Regione Sardegna

CONTRIBUTO PER LO STUDIO DELLE  
MALATTIE EREDITARIE DEL METABOLISMO NEL BAMBINO

***"Studio delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino in Sardegna:***

***Screening Neonatale, Mucopolisaccaridosi, Malattia di Wilson e Malattia Celiaca"***

Relazione Conclusiva Anno 2015

 **AO Brotzu Cagliari**  
P.O. PEDIATRICO MICROCITEMICO "A. CAO"  
VIA JENNER - 09121 CAGLIARI  
U.O.C. Clinica Pediatrica Talassemie e Malattie Rare  
**Direzione: Prof. Paolo Moi**  
Tel. 070.52965558 - Fax 070.52965558

Azienda Ospedaliera G. Brotzu  
P.le Ricchi, 1 - 09134 - Cagliari  
P.iva: 02315520920  
www.aobrotzu.it

Clinica Pediatrica Talassemie  
e Malattie Rare  
tel. 070 5296.55656/5660  
fax. 070 5296.5558

Ospedale Pediatrico  
Microcitemico A.Cao  
Via Jenner snc  
09121 - Cagliari



***Screening Neonatale, Mucopolisaccaridosi***Premessa

Obiettivo dell'U.O. Malattie Metaboliche e Screening Neonatale è stato lo studio della frequenza in Sardegna di alcune delle Malattie Ereditarie del Metabolismo nel Bambino e l'approfondimento delle conoscenze in termini prognostici di aspetti ad esse legate; nello specifico l'U.O. Malattie Metaboliche e Screening Neonatale, Centro di Riferimento per la Sardegna, esegue lo Screening Neonatale della Fenilchetonuria, della Biotinidasi, lo Screening Neonatale Metabolico Esteso la attività diagnostica delle Mucopolisaccaridosi.

Recentemente con la Deliberazione n. 712 del 20/04/2016 dell'Azienda Ospedaliera Brotzu è stato istituito il Centro Regionale Screening Neonatale nel quale è confluita l'U.O. Malattie Metaboliche e Screening Neonatale con il personale che si occupava delle malattie metaboliche ereditarie e screening neonatale presso la Clinica Pediatrica Talassemie e Malattie Rare". La presente relazione conclusiva sull'attività svolta è in parte condizionata dal contesto di riorganizzazione sanitaria in corso.

Screening Neonatale della Fenilchetonuria e Biotinidasi, malattie metaboliche ereditarie, diagnosi delle Mucopolisaccaridosi

La fenilchetonuria è una malattia metabolica ereditaria. I soggetti affetti da fenilchetonuria non riescono a metabolizzare la fenilalanina, un aminoacido presente nelle proteine naturali. Questa si accumula nel sangue fino a provocare danni al cervello e al sistema nervoso. Se la malattia non è diagnosticata nel periodo neonatale, i danni si manifestano fin dalle prime settimane di vita. Questi sono irreversibili determinando un deficit delle funzioni cognitive e ritardo mentale.

Il deficit di biotinidasi (BTD) è invece un difetto ereditario del metabolismo della biotina che, in assenza di trattamento, è caratterizzato da convulsioni, disturbi respiratori, ipotonia, rash cutaneo, alopecia, perdita dell'udito e ritardo dello sviluppo. Le malattie metaboliche ereditarie sono, similmente alla fenilchetonuria dei difetti enzimatici che impediscono l'utilizzo adeguato di aminoacidi e acido organici con accumulo di quest'ultimi in vari organi e tessuti e conseguente danno.

Lo studio eseguito ha permesso di identificare le seguenti patologie:

Isovalerico acidemia, glutarico aciduria di tipo I, difetto della ossidazione degli acidi grassi a



media catena (MCAD), arginino-succinico aciduria, fenilchetonuria classica, iperfenilalaninemia, metilmalonico aciduria da difetto di vitamina B12, difetto parziale di biotinidasi. In particolare alcune di queste patologie, difetto della ossidazione degli acidi grassi a media catena (MCAD), non erano mai state diagnosticate in Sardegna. Questo fa evidentemente sospettare che le patologie, pur essendo presenti nella popolazione sarda, fossero "non-diagnosticate". Data la gravità prognostica di queste patologie senza adeguata terapia una possibile ipotesi prognostica, nei casi non diagnosticati, può essere anche la morte improvvisa del neonato, ove evidentemente la reale causa rimane sconosciuta.

In tutti questi neonati diagnosticati verrà valutato al follow-up l'evoluzione clinica e questa confrontata con l'evoluzione clinica in pazienti diagnosticati al di fuori dello screening neonatale ossia in età successive alla comparsa clinica dei primi sintomi.

Lo scopo del nostro studio per quanto concerne le Mucopolisaccaridosi è stato quello di studiare la frequenza della patologia in Sardegna e di utilizzare una metodica che permettesse di identificare il tipo di glicosaminoglicano (GAG) accumulato e poi eliminato con le urine. Infatti, oltre alla valutazione quantitativa preliminare di GAGs totali sui campioni di urina raccolti, che viene eseguita unicamente in Sardegna dalla nostra UO dal 2014, si intendeva attuare una determinazione in elettroforesi su acetato di cellulosa in Bario-acetato per l'identificazione del pattern di escrezione che permette appunto di definire il tipo di mucopolisaccaridosi diagnosticata. Abbiamo diagnosticato due pazienti affetti da mucopolisaccaridosi

#### Conclusioni:

Lo studio ha dimostrato la presenza tra la popolazione sarda di malattie ereditarie del metabolismo "sconosciute". In realtà, in termini statistici, è facile immaginare come queste malattie fossero semplicemente "non diagnosticate" pur essendo presenti.

L'ampio gruppo di malattie rare che riguardano il metabolismo degli aminoacidi, degli acidi organici, della beta-ossidazione e delle mucopolisaccaridosi, possono essere trattate in modo adeguato solo se diagnosticate precocemente.

La nuova organizzazione regionale e aziendale che ha reso possibile l'individuazione del Centro Regionale di Screening Neonatale, assieme alla istituenda normativa nazionale sullo screening neonatale esteso delle malattie metaboliche ereditarie, agevolerà senza dubbio il proseguimento delle attività e delle ricerche in questo importante ambito diagnostico, ove evidentemente la prevenzione di danni irreversibili è più efficace della terapia tardiva.



## Malattia Celiaca

### La Tipizzazione HLA nella Celiachia

La celiachia (CD) è una malattia autoimmune con una forte componente genetica ad ereditarietà multifattoriale nella quali recenti studi GWAS hanno identificato circa 40 regioni coinvolte nel determinare l'insorgenza della malattia. A dispetto di un così elevato numero di regioni genetiche coinvolte nella CD la regione responsabile maggiormente del rischio genetico per la CD è il sistema maggiore di istocompatibilità (MHC) che nell'uomo è denominato HLA.

La tipizzazione HLA nei pazienti affetti da CD e nei familiari è effettuata dall' U.O. di Gastroenterologia Pediatrica e Autoimmunità Epatica sin dagli anni 90. Inizialmente tale tipizzazione è stata utilizzata per la ricerca genetica in studi di associazione malattia celiaca HLA di classe II. Recentemente, le nuove linee guida ESPGHAN del 2012 la inseriscono tra i criteri indispensabili per poter eseguire la diagnosi della malattia celiaca senza necessariamente effettuare la biopsia duodenale nel bambino e nell'adolescente. Quindi, oltre a rappresentare un vantaggio per il piccolo paziente, che non deve più essere obbligatoriamente sottoposto a biopsia duodenale e alla necessaria procedura anestesiologicala ed endoscopica invasive, la tipizzazione HLA, consentendo la formulazione della diagnosi ambulatoriamente e con soli esami ematologici, determina un risparmio delle spese sanitarie legate all'ospedalizzazione.

La tipizzazione HLA ha quindi assunto oggi un ruolo ben definito nell'iter diagnostico della celiachia oltre ad essere continuo oggetto di ricerca.

Il corretto impiego di questa analisi genetica molecolare grazie alla applicazione dei nuovi criteri ESPGHAN consente un ulteriore risparmio della spesa sanitaria in quanto potendosi stabilire il rischio genetico dei familiari del probando, solo quelli geneticamente suscettibili dovranno essere periodicamente controllati.

L'U.O. Gastroenterologia Pediatrica e Autoimmunità Epatica sta applicando i nuovi criteri ESPGHAN sin dal gennaio 2012 e ha cercato nel corso di questi ultimi anni di generare un algoritmo migliorativo perchè più predittivo rispetto alle linee guida ESPGHAN.

L'obiettivo del nostro studio riguardava la determinazione del numero di pazienti che sono stati dispensati dall'eseguire la biopsia duodenale sin dalla pubblicazione delle nuove linee guida del 2012.



Gli obiettivi secondari riguardavano lo studio delle differenze cliniche tra pazienti che hanno eseguito la biopsia e pazienti non biopsiati.

I risultati ottenuti sono stati riportati in una recente pubblicazione scientifica che si allega per conoscenza. In sintesi abbiamo scoperto che l'aggiunta della determinazione degli anticorpi anti actina filamentosa ai criteri ESPGHAN a pazienti positivi per anticorpi antitransglutaminasi in un range compreso tra 4 e 10 volte i valori normali consente di estendere ad un altro 13% la diagnosi di malattia celiaca senza eseguire la biopsia duodenale. Lo studio non ha inoltre rilevato alcuna differenza clinica tra pazienti che avevano praticato la biopsia duodenale e quelli nei quali la diagnosi è stata formulata senza.

### **La Malattia di Wilson**

La malattia di Wilson è una malattia rara la cui prevalenza non è facilmente stimabile universalmente (1:40-100000) mentre lo è nella popolazione sarda dove negli ultimi anni attraverso 2 studi genetici abbiamo calcolato essere di 1: 2707 individui. Lo studio genetico negli ultimi anni ha dato un enorme contributo nella diagnosi di nuovi casi soprattutto quelli atipici dove gli esami biochimici associati alla biopsia non hanno chiarito il quesito diagnostico. Addirittura in alcuni casi ha permesso di non ricorrere alla biopsia epatica, un esame invasivo. Quindi la diagnosi genetica ha contribuito nel chiarire meglio gli aspetti anche meno comuni con i quali si presenta la malattia. Lo studio genetico è un procedimento complesso, laborioso, lungo e richiede una continua applicazione e grande competenza specifica per tutte le malattie e quindi i geni che le provocano. Lo stesso vale per la malattia di Wilson e il gene ATP7B che è un gene di grandi dimensioni. Inoltre si è visto che le mutazioni che causano la malattia sono prevalentemente rare, possono essere localizzate su tutte le regioni, e sono mutazioni missenso. Questo rende lo studio complesso, articolato e richiede il lavoro da parte di operatori competenti e specializzati attraverso l'esperienza di anni di lavoro nella ricerca e interpretazioni delle mutazioni causali. Durante l'anno 2015 sono stati analizzati 112 individui sospetti di essere affetti dalla malattia di Wilson o familiari di pazienti.. Un gruppo di 65 proveniva dalla Sardegna mentre 47 di questi venivano da strutture sanitarie Italiane. I pazienti sono stati analizzati per il gene ATP7B con il metodo di sequenziamento diretto alla ricerca di mutazioni puntiformi e in casi indicati con il metodo di MLPA alla ricerca di grandi delezioni. Anche in questo anno circa il 42% dei campioni provengono da strutture fuori dalla Sardegna, dato che indica che in questi anni si sono formati degli esperti biologi con una grande esperienza e conoscenza delle problematiche riguardanti la genetica molecolare e la consulenza



AO Brotzu

**Ospedale Pediatrico  
Microcitemico Antonio Cao**



Sistema Sanitario  
Regione Sardegna

genetica della malattia di Wilson. Inoltre si sono sviluppate una grande confidenza ed una manualità molto fine sulle metodiche riguardanti la diagnosi genetica della malattia ed una grande esperienza nell'interpretazione dei risultati ottenuti. Le conseguenze immediate sono state il riconoscimento del laboratorio come centro di riferimento per l'alta specializzazione e qualità nelle performance.

Alcune pubblicazioni a supporto di quanto riportato nel progetto sulla malattia di Wilson.

Zappu A, Magli O, Dessì V, Diana S, Lepori MB, Kanavakis E, Nicolaidou P, Fretzayas A, De Virgiliis S, Cao A, Loudianos G. (2008). High incidence and allelic homogeneity of Wilson's disease in two isolated populations. A prerequisite for efficient disease prevention programs. *JPGN* 47:334-338.

Gialluisi A, Incollu S, Pippucci T, Lepori MB, Zappu A, Loudianos G, Romeo G. (2013). The Homozygosity Index (HI) approach reveals high allele frequency for Wilson Disease in the Sardinian population. *Eur J Hum Genet* 21(11):1308-11.

Mameli E, Lepori MB, Chiappe F, Ranucci G, Di Dato F, Iorio R, Loudianos G. (2015). Wilson's disease caused by alternative splicing and Alu exonization due to a homozygous 3039-bp deletion spanning from intron 1 to exon 2 of the ATP7B gene. *Gene* 569:276-279.

## Research Article

# Anti-Actin IgA Antibodies Identify Celiac Disease Patients with a Marsh 3 Intestinal Damage among Subjects with Moderate Anti-TG2 Levels

Enrico Schirru,<sup>1</sup> Fabrice Danjou,<sup>1</sup> Lucia Cicotto,<sup>2</sup> Rossano Rossino,<sup>1</sup>  
Maria Doloretta Macis,<sup>1</sup> Rosanna Lampis,<sup>1</sup> Rita-Désirée Jores,<sup>1</sup> and Mauro Congia<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Public Health, University of Cagliari, Cittadella Universitaria, Monserrato, 09045 Cagliari, Italy

<sup>2</sup> Gastroenterology Unit, Microcitemico Hospital, ASL8 Cagliari, Via Jenner, 09121 Cagliari, Italy

Correspondence should be addressed to Mauro Congia; [maurocongia@asl8cagliari.it](mailto:maurocongia@asl8cagliari.it)

Received 30 April 2013; Revised 6 August 2013; Accepted 7 August 2013

Academic Editor: Mikihiro Fujiya

Copyright © 2013 Enrico Schirru et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

A new diagnostic tool (algorithm-1) for coeliac disease (CD) permitting the diagnosis without performing the duodenal biopsy has been recently proposed by the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN). It combines symptoms associated with CD, high anti-transglutaminase type 2 antibody (anti-TG2) levels, anti-endomysium-IgA antibodies (EMA), and at-risk HLA. Our aims were (i) to evaluate retrospectively in 227 individuals (149 CD patients and 78 controls) the algorithm-1, (ii) to reduce the number of duodenal biopsies among CD patients for whom algorithm-1 is not applicable through the addition of antiactin IgA antibodies (AAA-IgA), and (iii) to evaluate prospectively algorithm-1 and AAA-IgA in 50 patients with suspected CD. Algorithm-1 identified 70 out of 149 CD patients with Marsh 3 lesions. Adding AAA-IgA to the remaining patients with anti-TG2 levels comprised between 4 and 10 times upper limit of normal (ULN) allowed the detection of further 20 patients with a Marsh 3 damage. In our prospective study, algorithm-1 identified 23 out of 50 patients, whilst further 7 were recognized adding AAA-IgA. We confirm that algorithm-1 may avoid the duodenal biopsy in many CD patients and underscores the usefulness of AAA-IgA in reducing the number of duodenal biopsies in patients with moderate anti-TG2 levels.

## 1. Introduction

Coeliac disease (CD) is an immune-mediated systemic disease, triggered and maintained by dietary gluten in genetically predisposed individuals, characterized by a variable small intestinal villous damage and by different clinical manifestations [1].

Recently, a synopsis summarizing some of the evidence statements and recommendations of the guidelines in CD diagnosis for use in clinical practice has been formulated by a working group within the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN) [2].

An important statement of these guidelines is the development of two new algorithms for CD diagnosis based on (i) the presence of symptoms and signs suggestive of CD in children and adolescents (algorithm-1) and (ii) the absence of

symptoms and signs in persons at genetic risk for developing CD (algorithm-2).

We have considered in the present work the most interesting of the two new algorithms, algorithm-1. It allows diagnosis of CD without performing the duodenal biopsy in children and adolescents with symptoms and signs suggestive of CD, anti-transglutaminase type 2 antibody (anti-TG2) levels >10 times upper limit of normal (ULN), and positive confirmation tests of anti-endomysium-IgA antibodies (EMA) and with the presence of at-risk HLA-DQ2 or -DQ8. If all these requirements are fulfilled, the diagnosis of CD is confirmed, gluten-free diet is started, and the patient is studied for improvement of symptoms and decline of autoantibodies. A later gluten challenge in these patients is not required [2].

However, it has been established that symptomatic CD patients with elevated degrees of intestinal damage may also have anti-TG2 levels lower than 10 times ULN [3, 4].

Therefore, a high number of symptomatic CD patients with anti-TG2 levels lower than 10 times ULN, and to whom algorithm-1 cannot be applied, still necessitate a duodenal biopsy.

Since anti-actin IgA antibodies (AAA-IgA) directed against actin filaments are strongly correlated with total or subtotal intestinal atrophy [5, 6], we hypothesized that serum measurement of this autoantibody may contribute in increasing the number of patients who can avoid a duodenal biopsy.

Aims of this study were (i) to evaluate retrospectively in 227 individuals (149 CD patients and 78 controls) the performance of algorithm-1, (ii) to reduce further the number of duodenal biopsies among CD patients in whom algorithm-1 cannot be applied with the addition of AAA-IgA, and (iii) to evaluate also prospectively the performance of algorithm-1 combined with AAA-IgA levels in 50 individuals with symptoms suggestive of CD.

## 2. Material and Methods

**2.1. Patients.** Our group consisted of 163 consecutive Sardinian CD patients (121 females, 42 males, ratio females/males 2.9, mean age at diagnosis 8 years, and range from 2 to 18 years); 149 presented symptoms suggestive of CD (Table 1), whilst 11 were not included in the study because they were asymptomatic and, for this reason, not belonging to the algorithm-1. Also, three patients with IgA deficiency, a well-known condition complicating the interpretation of the serological pattern of CD, were excluded. All patients were diagnosed according to ESPGHAN criteria [7] and were recruited from subjects attending the ambulatory of the Pediatric Gastroenterological Unit in Cagliari, Italy, between 2005 and 2012. A further group of 78 individuals with persistent significant gastrointestinal symptoms, already characterized by upper digestive endoscopy and small bowel biopsy [6], were used as non-CD subjects. All 227 individuals were characterized for histopathology, anti-TG2, EMA, HLA typing, and AAA-IgA.

An additional group of 50 patients with symptoms suggestive of CD according to the new ESPGHAN criteria [2] were prospectively diagnosed to evaluate the ability of the combination of algorithm-1 plus AAA-IgA to further reduce the number of intestinal biopsies (Table 1).

Informed consent was obtained from subjects (or from their parents if minor) participating in the prospective study.

**2.2. Anti-TG2.** Anti-TG2 was dosed using the ELIA commercial kit-ImmunoCAP (Phadia, Milan, Italy) after serum dilution when necessary. Results were expressed in times upper limit of normal with a cutoff of 7 U/mL.

**2.3. EMA.** EMA was determined by immunofluorescence (Delta Biologicals, Rome, Italy). Results were expressed by intensity of immunofluorescence from 0 to 4. With the aim of reducing false positives, only a strong intensity of immunofluorescence (2 or higher) was considered positive.

**2.4. HLA Typing.** To type for HLA-DRB1 and DQB1 alleles [8], HLA Olerup SSP Molecular Typing Kits (Roche, Sweden) were used according to the manufacturer's instructions. The identification of the various DRB1, DQA1, and DQB1 haplotypes in CD patients was performed following the segregation of HLA haplotypes in families [9]. In this study, the two forms of HLA-DQ2, termed DQ2.5 and DQ2.2, respectively, were considered separate because the risk of coeliac disease conferred by DQ2.2 is lower than that conferred by DQ2.5, unless it is expressed together with DQ2.5 [10, 11].

**2.5. AAA-IgA.** AAA-IgA is an immunofluorescence serological test developed in our laboratory that has been validated in a multicenter study [5, 6] as a useful marker of an elevated grade of intestinal damage associated with CD. Results were expressed by intensity of immunofluorescence from 0 to 4. With the aim of reducing false positives, only a strong intensity of immunofluorescence (2 or higher) was considered positive.

**2.6. Histopathology.** For each patient, 2 or more biopsies were taken from the second/third portion of the duodenum (at least a minimum number of 4 samples), and at least 1 or more biopsies were taken from the duodenal bulb [2, 12]. Intestinal villous atrophy has been graded according to the Marsh classification [13], modified by Oberhuber in types 3c, 3b, and 3a, 2, 1, and 0 [14], always by the same board-certified pathologists.

**2.7. Statistical Analysis.** The frequencies of outcomes were analyzed using the chi-square test where appropriate. A *P* value < 0.05 was considered significant.

## 3. Results

The one hundred and forty-nine CD patients and 78 controls were classified in 3 different Subgroups according to algorithm-1 based on the presence of symptoms and signs suggestive of CD, anti-TG2 levels, positivity for EMA and for HLA-DQ2 (in *cis* or in *trans*), or -DQ8 (Figure 1).

We found that all patients with symptoms and signs suggestive of CD, anti-TG2 levels >10 times ULN, positivity for EMA and for HLA-DQ2 (in *cis* or in *trans*), or -DQ8 had coeliac disease with a Marsh 3 atrophy (Subgroup 1 of Figure 1). This Subgroup consisted of 70 of the 227 subjects.

As far as the HLA associated risk was concerned, three out of the 227 subjects expressed the DQ2.2 molecule without DQ2.5. One of them had anti-TG2 levels higher than 10 times ULN and showed a Marsh 3c histopathology, whereas the remaining two patients had an anti-TG2 level under 10 times ULN and a Marsh 0. These patients were not considered further because the low number did not consent to draw any conclusion.

Among the 227, seventy-six CD patients were included in Subgroup 2 that differed from Subgroup 1 only for the anti-TG2 levels lower than 10 times ULN (Figure 1). It is important

TABLE 1: Prevalence of the symptoms suggestive of CD in our retrospective (149 CD patients) and prospective (50 CD patients) studies.

Symptoms	Retrospective study	Prospective study
Diarrhoea	23.1%	21.3%
Iron deficiency anaemia	17.0%	16%
Short stature/growth failure	16.5%	12%
Abdominal pain	15.4%	9.3%
Weight loss	8.8%	10.7%
Chronic fatigue	5.5%	9.3%
Constipation	4.9%	6.7%
Vomiting	2.7%	5.3%
Increased level of liver enzymes	2.2%	2.7%
Irritability	1.1%	2.7%
Others	2.7%	4%

TABLE 2: Distribution of the intestinal damage in our prospective study according to AAA-IgA in patients with anti-TG2 levels comprised between 4 and 10 times ULN.

Serological tests	Intestinal atrophy according to Marsh/Oberhuber classification					
	3c	3b	3a	2	1	0
AAA-IgA+ and anti-TG2 4–10 ULN	5	1	1	0	0	0
AAA-IgA– and anti-TG2 4–10 ULN	1	3	2	0	1	1

to note that Subgroup 2 included 17 patients with potential CD since they were positive for CD specific antibodies and at-risk HLA but they did not show the histopathological changes associated with CD [2]. The remaining Subgroup 3 consisted of the seventy-eight control individuals (Figure 1).

Based on these data, the association of AAA-IgA with severe intestinal damage was evaluated in all three Subgroups. As expected since AAA-IgA is a marker of severe intestinal damage, a higher frequency of positive AAA-IgA was found in Subgroups 1 and 2 that included the CD patients compared to Subgroup 3 that included the controls. However, we found that in Subgroup 1, the addition of AAA-IgA to algorithm-1 did not offer any further useful information as only 76.5% of the CD patients, already defined by algorithm-1, had a positive AAA-IgA.

Conversely, the addition of AAA-IgA to Subgroup 2 increased the correlation with Marsh 3 histopathology (OR = 9.5;  $P < 0.05$ ), and it became complete when the range of anti-TG2 comprised between 4 and 10 times ULN values was chosen. On the contrary, for values of anti-TG2 lower than 4 times ULN, a number of AAA-IgA false positives were observed (data not shown). Using this strategy, further 20 CD patients of Subgroup 2 with Marsh 3 histopathology (Figure 2) were identified. Finally, in Subgroup 3, only 3 out of 78 controls were AAA-IgA positive.

In the prospective study, twenty-three out of 50 patients were detected by algorithm-1 and the intestinal biopsy was not performed. For the remaining 27 subjects, the addition of AAA-IgA in those with anti-TG2 values comprised between 4 and 10 times ULN, allowed the detection of further seven CD patients with a Marsh 3 intestinal damage (Table 2). In

patients with anti-TG2 levels lower than 4 times ULN, only an incomplete association between algorithm-1, plus AAA-IgA and Marsh 3 intestinal damage was found.

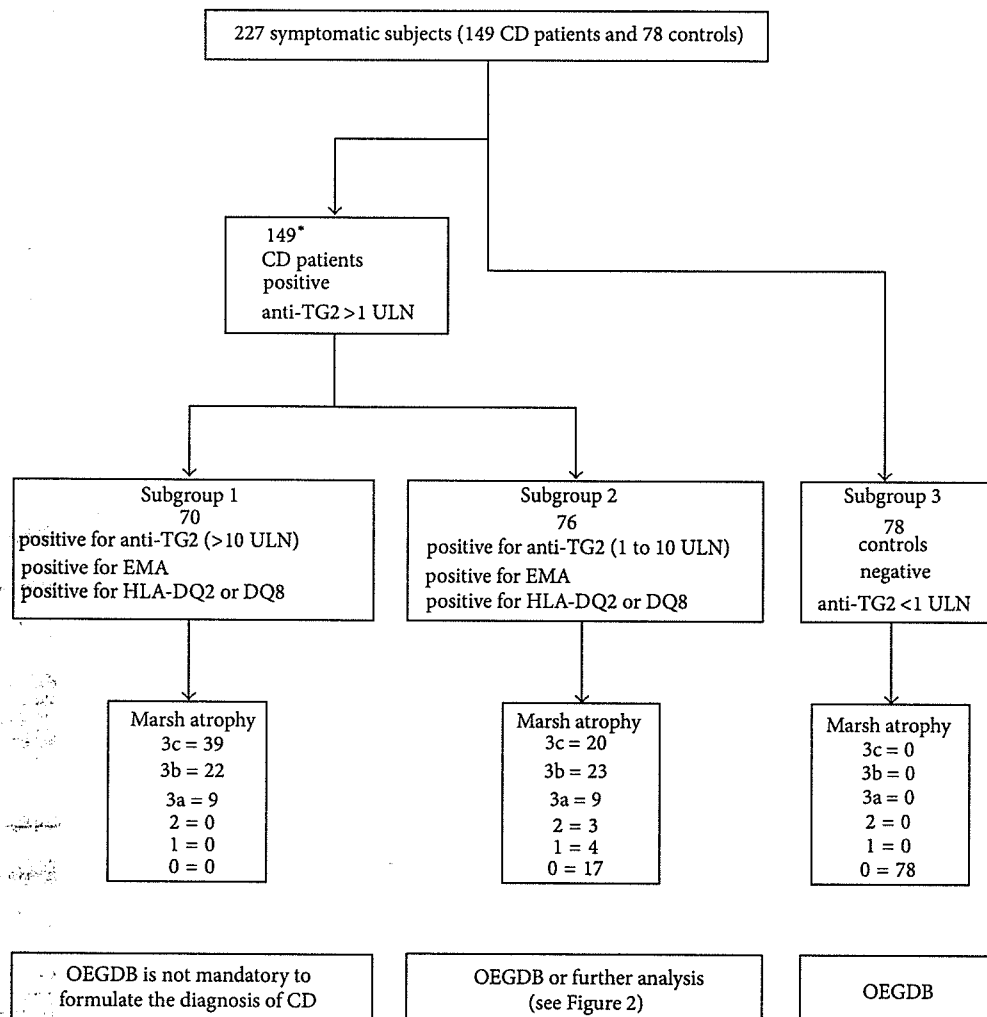
In all 50 patients, including the 23 CD diagnosed with the algorithm-1 and the 7 diagnosed with the addition of the AAA-IgA, gluten-free diet progressively caused a reduction of anti-TG2 levels and disappearance of the symptoms.

#### 4. Discussion

The new algorithm-1 recently reported by ESPGHAN [2] suggested that in the diagnosis of CD, duodenal biopsies could be avoided in children and adolescents with CD associated symptoms, high anti-TG2 levels, and positivity for EMA and at-risk HLA. The aims of the present study were to confirm the reliability of algorithm-1 and to further reduce the number of duodenal biopsies by adding the serum measurement of another marker of intestinal damage (AAA-IgA) [6, 15, 16].

In our retrospective study, we found that the algorithm-1 would have avoided the duodenal biopsy in 70 out of 149 CD patients (Subgroup 1 of Figure 1). We also found that all the 70 CD patients had a Marsh 3 grade of intestinal damage. This finding confirms, as previously suggested, that anti-TG2 level >10 times ULN is strongly associated with the most severe intestinal damages [17, 18]. On the other hand, we noticed that algorithm-1 was not able to detect with sufficient accuracy a Marsh 3 damage when the values of anti-TG2 were lower than 10 times ULN. In fact, among the 76 subjects of Subgroup 2, differing from Subgroup 1 only for anti-TG2 levels less than





\*Three patients were not included in this figure because they were not HLA-DQ2 or -DQ8 positive. One of them had an anti-TG2 level higher than 10 times ULN, whilst in the remaining 2 patients, anti-TG2 levels were comprised between 1 and 10 times ULN.

FIGURE 1: Distribution of CD patients and controls according to algorithm-1 in the retrospective study. For each of the 3 Subgroups, the degree of intestinal atrophy is also illustrated. CD: coeliac disease; anti-TG2: anti-transglutaminase type 2 antibody; ULN: upper limit of normal; EMA: anti-endomysial antibodies; HLA: human leukocyte antigen; 3a, 3b, 3c, 2, 1, and 0 indicate the grade of intestinal damage according to the Marsh-Oberhuber classification [13, 14]; OEGDB: oesophagogastrroduodenoscopy and biopsy; and AAA-IgA: anti-actin IgA antibody.

10 times ULN, a variable degree of intestinal damage ranging from Marsh 3 lesions to Marsh 0 was found.

Since numerous studies have reported a strong association of AAA-IgA with severe CD intestinal damage [6, 15, 16] and since the likelihood of CD is unequivocal when a villous atrophy of Marsh 3 is found [13, 14], we measured the AAA-IgA in Subgroups 1, 2, and 3, with the aim of identifying those subjects having Marsh 3 intestinal histopathology.

The most important result was obtained by the measurement of AAA-IgA in Subgroup 2, where positivity for AAA-IgA and a Marsh 3 lesion was restricted to subjects having a level of anti-TG2 antibody comprised between 4 and 10 times ULN (Figure 2). This strategy allowed the identification of 20 additional CD patients with a Marsh 3 lesion (Figure 2) in whom the duodenal biopsies could have been avoided.

Whereas a wide range of sensitivity and specificity values of AAA-IgA have been reported, questioning its utility in the screening for CD [19], our data suggest that the best usage of AAA-IgA measurement in the diagnosis of CD is not as an isolated test, but in association with anti-TG2 values comprised between 4 and 10 times ULN.

When the anti-TG2 antibody titer is higher than 10 times ULN, the association with a Marsh 3 lesion is complete, and no other test should be requested; low values of positivity for anti-TG2 are found also in non-CD patients affected by other autoimmune pathologies as well as infections, tumors, myocardial damage, liver disorders, and psoriasis [20, 21].

Our retrospective results were confirmed by our prospective study, in which a cohort of 50 patients with suspected CD underwent to algorithm-1. Indeed, all 7 AAA-IgA positive

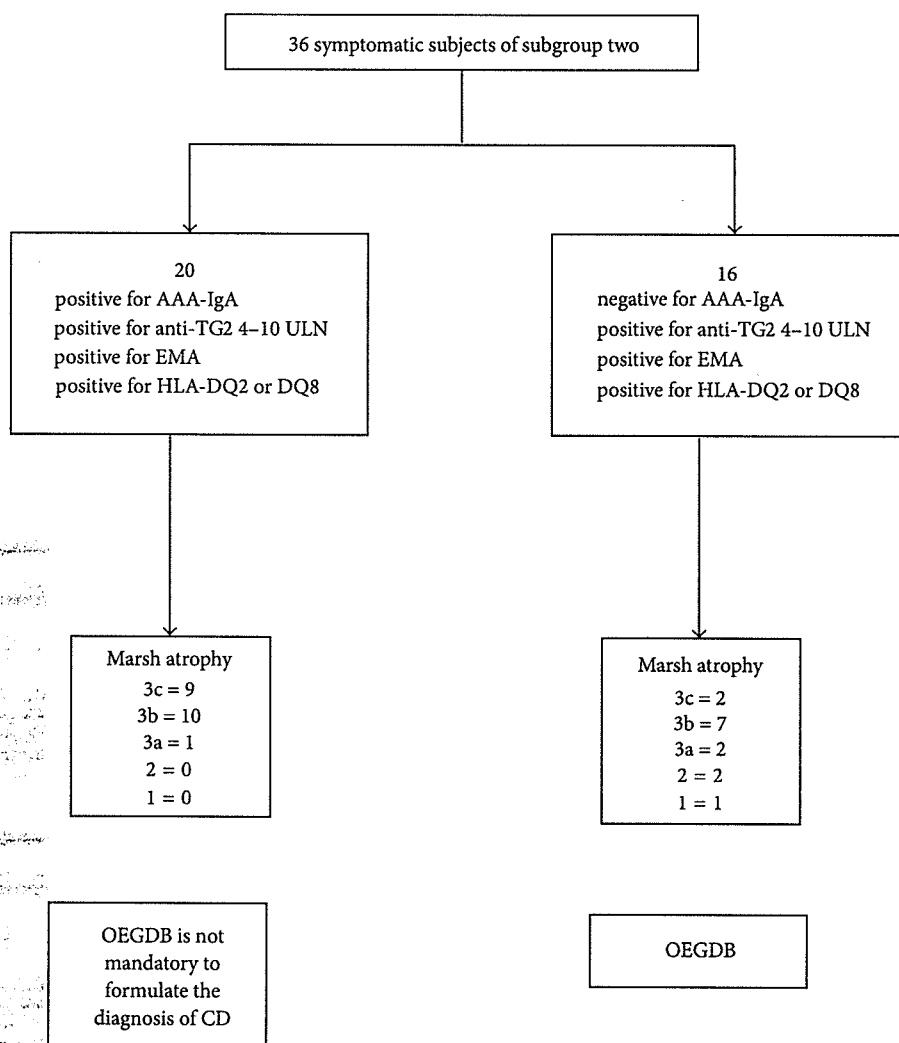


FIGURE 2: AAA-IgA measurement in subjects of Subgroup 2 with anti-TG2 levels comprised between 4 and 10 times ULN. Distribution of AAA-IgA in the 36 subjects of Subgroup 2 with anti-TG2 levels comprised between 4 and 10 times ULN. CD: coeliac disease; anti-TG2: anti-transglutaminase type 2 antibody; ULN: upper limit of normal; EMA: anti-endomysial antibodies; HLA: human leukocyte antigen; 3a, 3b, 3c, 2, 1, and 0 indicate the grade of intestinal damage according to the Marsh-Oberhuber classification [13, 14]; OEGDB: oesophagogastroduodenoscopy and biopsy; and AAA-IgA: anti-actin IgA antibody.

patients who had anti-TG2 values comprised between 4 and 10 times ULN showed a Marsh 3 intestinal damage.

### 5. Conclusions

Our findings confirm that the duodenal biopsy may be omitted in a significant number of CD patients by the application of algorithm-1. In addition, we show that positivity for AAA-IgA in children and adolescents with anti-TG2 antibody levels comprised between 4 and 10 times ULN may further reduce the number of duodenal biopsies.

### Conflict of Interests

The authors declare no conflict of interests.

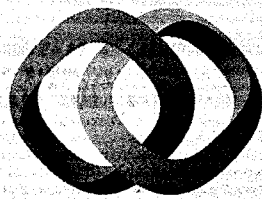
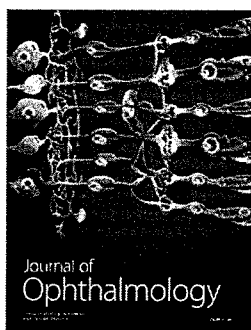
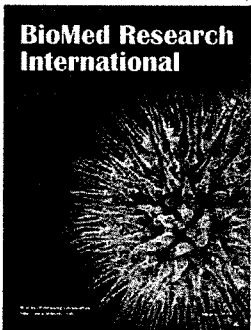
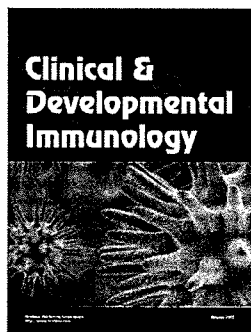
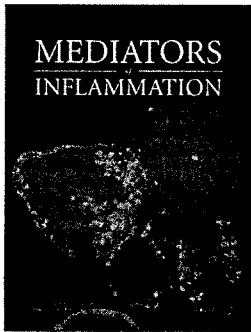
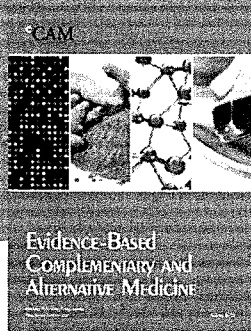
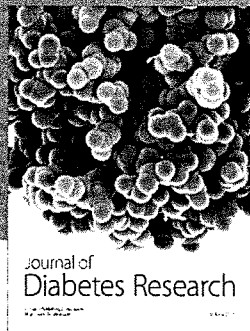
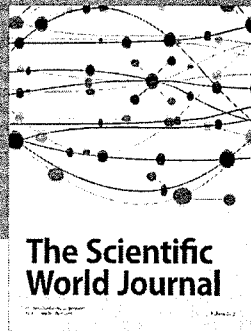
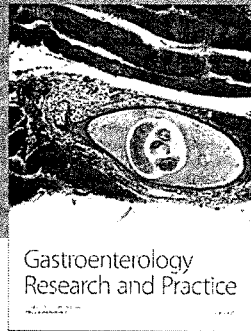
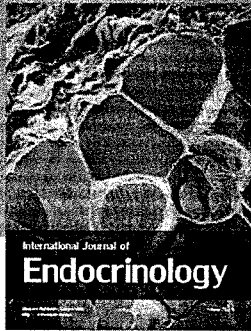
### Acknowledgment

This study was funded in part by ASL8 (deliberazione n° 576 of 13/05/08).

### References

- [1] P. H. R. Green and C. Cellier, "Celiac disease," *The New England Journal of Medicine*, vol. 357, no. 17, pp. 1731-1743, 2007.
- [2] S. Husby, S. Koletzko, I. R. Korponay-Szabó et al., "European society for pediatric gastroenterology, hepatology, and nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease," *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, vol. 54, no. 1, pp. 136-160, 2012.
- [3] M. R. Donaldson, S. D. Firth, H. Wimpee et al., "Correlation of duodenal histology with tissue transglutaminase and endomysial antibody levels in pediatric celiac disease," *Clinical*

- Gastroenterology and Hepatology*, vol. 5, no. 5, pp. 567–573, 2007.
- [4] A. D. Hopper, M. Hadjivassiliou, D. P. Hurlstone et al., “What is the role of serologic testing in celiac disease? A prospective, biopsy-confirmed study with economic analysis,” *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 6, no. 3, pp. 314–320, 2008.
- [5] M. G. Clemente, M. P. Musu, F. Frau et al., “Immune reaction against the cytoskeleton in coeliac disease,” *Gut*, vol. 47, no. 4, pp. 520–526, 2000.
- [6] M. G. Clemente, M. P. Musu, R. Troncone et al., “Enterocyte actin autoantibody detection: a new diagnostic tool in celiac disease diagnosis: results of a multicenter study,” *American Journal of Gastroenterology*, vol. 99, no. 8, pp. 1551–1556, 2004.
- [7] J. A. Walker-Smith, S. Guandalini, J. Schmitz, D. H. Shmerling, and J. K. Visakorpi, “Revised criteria for diagnosis of coeliac disease,” *Archives of Disease in Childhood*, vol. 65, no. 8, pp. 909–911, 1990.
- [8] O. Olerup and H. Zetterquist, “HLA-DRB1\*01 subtyping by allele-specific PCR amplification: a sensitive, specific and rapid technique,” *Tissue Antigens*, vol. 37, no. 5, pp. 197–204, 1991.
- [9] R. Lampis, L. Morelli, S. De Virgiliis, M. Congia, and F. Cucca, “The distribution of HLA class II haplotypes reveals that the Sardinian population is genetically differentiated from the other Caucasian populations,” *Tissue Antigens*, vol. 56, no. 6, pp. 515–521, 2000.
- [10] J. A. Abrams, P. Brar, B. Diamond, H. Rotterdam, and P. H. Green, “Utility in clinical practice of immunoglobulin a anti-tissue transglutaminase antibody for the diagnosis of celiac disease,” *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 4, no. 6, pp. 726–730, 2006.
- [11] W. Vader, D. Stepniak, Y. Kooy et al., “The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 100, no. 21, pp. 12390–12395, 2003.
- [12] W. P. Pais, D. R. Duerksen, N. M. Pettigrew, and C. N. Bernstein, “How many duodenal biopsy specimens are required to make a diagnosis of celiac disease?” *Gastrointestinal Endoscopy*, vol. 67, no. 7, pp. 1082–1087, 2008.
- [13] M. N. Marsh and P. T. Crowe, “Morphology of the mucosal lesion in gluten sensitivity,” *Bailliere's Clinical Gastroenterology*, vol. 9, no. 2, pp. 273–293, 1995.
- [14] G. Oberhuber, “Histopathology of celiac disease,” *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 54, no. 7, pp. 368–372, 2000.
- [15] A. Achour, Y. Thabet, W. Sakly et al., “IgA anti-actin antibodies in celiac disease,” *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, vol. 34, no. 8-9, pp. 483–487, 2010.
- [16] A. Carroccio, I. Brusca, G. Iacono et al., “Anti-actin antibodies in celiac disease: correlation with intestinal mucosa damage and comparison of ELISA with the immunofluorescence assay,” *Clinical Chemistry*, vol. 51, no. 5, pp. 917–920, 2005.
- [17] P. G. Hill and G. K. T. Holmes, “Coeliac disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis,” *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, vol. 27, no. 7, pp. 572–577, 2008.
- [18] I. Dahlbom, I. R. Korponay-Szabó, J. B. Kovács, Z. Szalai, M. Mäki, and T. Hansson, “Prediction of clinical and mucosal severity of coeliac disease and dermatitis herpetiformis by quantification of IgA/IgG serum antibodies to tissue transglutaminase,” *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, vol. 50, no. 2, pp. 140–146, 2010.
- [19] E. Fabbro, L. Rubert, S. Quaglia et al., “Uselessness of anti-actin antibody in celiac disease screening,” *Clinica Chimica Acta*, vol. 390, no. 1-2, pp. 134–137, 2008.
- [20] N. Bizzaro, M. Tampona, D. Villalta et al., “Low specificity of anti-tissue transglutaminase antibodies in patients with primary biliary cirrhosis,” *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, vol. 20, no. 5, pp. 184–189, 2006.
- [21] D. Villalta, N. Bizzaro, E. Tonutti, and R. Tozzoli, “IgG anti-transglutaminase autoantibodies in systemic lupus erythematosus and Sjögren syndrome,” *Clinical Chemistry*, vol. 48, no. 7, article 1133, 2002.



**Hindawi**

Submit your manuscripts at  
<http://www.hindawi.com>

