

**SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LOS ANTICUERPOS ANTIGLIADINA Y ANTIENDOMISIO
REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE INMUNOLOGÍA DEL CENTRO HOSPITALARIO PEREIRA
ROSSELL#**

†Dr. Winston Lozano. Jefe de Servicio. MSP.

Dra. Virginia Méndez. Profesora Agregada Clínica Pediátrica "A".

Dra. María Inés Ferreira. Pediatra. Ex Residente Clínica Pediátrica "A".

Dra. Carmen Gutiérrez. Patóloga Pediátrica. Jefe de Servicio. MSP.

Laboratorio Central, Sección Inmunología. Clínica Pediátrica "A". Laboratorio de Patología Pediátrica. Centro Hospitalario Pereira Rossell. Bulevar Artigas 1550. Montevideo-Uruguay.

Autor responsable: María Inés Ferreira.

Dirección: Rafael Pastoriza 1478, apto 01.

Teléfono: 6288655.

e-mail: mifer@montevideo.com.uy

Publicado en: Arch Pediatr Urug 2002;73:71-75

RESUMEN

La enfermedad celíaca se presenta con una gran heterogeneidad: formas sintomáticas, silentes y latentes. La determinación de anticuerpos antigliadina y antiendomiso es útil para definir a qué pacientes realizar biopsia de intestino delgado y para el seguimiento de los celíacos ya conocidos. Estas técnicas fueron incorporadas en 1994 en el Centro Hospitalario Pereira Rossell. Objetivo: conocer la sensibilidad y especificidad de los anticuerpos antigliadina (IgG) y antiendomiso (IgA) para el diagnóstico de enfermedad celíaca, determinados por técnica de inmunofluorescencia en la Sección de Inmunología del Laboratorio Central del Centro Hospitalario Pereira Rossell y aplicados a población hospitalaria.

Se evaluaron los resultados de la serología tomando como patrón de oro la anatomía patológica de la biopsia de intestino delgado. Para el diagnóstico de enfermedad celíaca se siguieron los criterios de 1990 de la Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica y Nutrición. Se evaluó la serología de 65 niños que recibían gluten al momento de la extracción de sangre: 50 celíacos y 15 no celíacos (con biopsia normal).

La sensibilidad y la especificidad fueron de 94 % y 80 % para los anticuerpos antigliadina y de 94 % y 93 % para los antiendomiso respectivamente. Estos resultados son similares a los comunicados por los mejores laboratorios a nivel internacional.

PALABRAS CLAVE

Enfermedad celíaca. Anticuerpos antigliadina y antiendomiso.

Sensibilidad y especificidad.

ABSTRACT

Celiac disease presents a wide variety of patterns: active, silent, and latent. Antigliadin and antiendomysium antibodies are useful to select patients for small bowel biopsy and to follow up patients in whom celiac disease has already been diagnosed. Since 1994 laboratory techniques for these antibodies are being performed in the Centro Hospitalario Pereira Rossell. Objective: to establish the sensitivity and specificity of antigliadin (IgG) and antiendomysium (IgA) antibodies performed by immunofluorescence techniques in the Immunology Section of the Central Laboratory of Centro Hospitalario Pereira Rossell, for the diagnosis of celiac disease in hospital patients.

Small bowel biopsy was used as gold standard. Diagnosis of celiac disease was based on European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition criteria established in 1990. Antibodies were performed in 65 children fed with gluten, 50 celiac and 15 non celiac-children (i.e., with a normal small bowel biopsy).

Sensitivity and specificity were 94% and 80% for antigliadin and 94% and 93% for antiendomysium antibodies, respectively. These findings are similar to those published by major international laboratories.

Key Words:

Celiac disease. Antigliadin and antiendomysium antibodies.

Sensitivity and specificity.

INTRODUCCION

Los pacientes con enfermedad celíaca clínicamente manifiesta representan solo una pequeña proporción del total de la población con esta enfermedad, quedando sin diagnóstico la mayoría de los portadores de la enfermedad. Se describe una relación celíacos sintomáticos/ celíacos asintomáticos de 1:5 a 1:7 (1).

Además de aquellos pacientes con enfermedad celíaca clínica o activa, se describen celíacos silentes y latentes (2). Los celíacos silentes son aquellos pacientes asintomáticos con enteropatía inducida por gluten. Según Ferguson (3) y otros autores el término latente describe el estado de una persona sin síntomas ni signos de enfermedad celíaca y con mucosa normal ingiriendo gluten, pero que tuvo la enfermedad o la desarrollará más tarde y a menudo tiene marcadores positivos de la enfermedad. Es un diagnóstico evolutivo, que implica la realización de dos biopsias. Se proponen como marcadores de latencia el aumento de los linfocitos

intraepiteliales, aumento de los linfocitos intraepiteliales con receptores gamma delta, presencia de anticuerpos antiendomiso, aumento de anticuerpos antigliadina IgM en intestino y otros (2).

De lo expuesto anteriormente surge la dificultad en el diagnóstico de esta enfermedad, y la necesidad de perfeccionar métodos no invasivos de screening para detectar a los individuos que ameriten la realización de biopsia de intestino delgado. Estos estudios se aplican en poblaciones de riesgo: familiares de celíacos y sujetos con síntomas no habituales o con enfermedades frecuentemente asociadas. Se destaca que los celíacos no diagnosticados y por lo tanto no tratados, tienen riesgo de padecer las mismas complicaciones que los celíacos con síntomas (ej.: tumores malignos), lo que justifica que se diagnostiquen y traten aunque sean asintomáticos (2).

Los métodos habituales de screening son: determinación de anticuerpos antigliadina de tipo inmunoglobulina G (IgG) e inmunoglobulina A (IgA) , anticuerpos antireticulina y anticuerpos antiendomiso de tipo IgA. Recientemente se han desarrollado técnicas para determinación de anticuerpos antitransglutaminasa, la que se ha identificado como el autoantígeno a nivel del endomiso (4,5).

Las reacciones inmunes contra la gliadina juegan un rol en la patogénesis de la enfermedad. Los anticuerpos antigliadina no son específicos ya que se han detectado altos niveles en otras enfermedades (6,7). Para antigliadina (IgA más IgG), la sensibilidad varía entre 82 % y 100 % (6) y la especificidad oscila entre 74% y 98% (6). Para antigliadina IgG, la sensibilidad varía entre 55 % y 100 % (6) y la especificidad entre 42 % y 100% (6).

Los anticuerpos antiendomiso de tipo IgA, son más específicos para detectar enfermedad celíaca; son autoanticuerpos inducidos por el gluten dirigidos contra proteínas de la matriz del tejido conectivo. Su sensibilidad y especificidad varía entre 91% y 100% (5,6,7).

En nuestro país se comenzaron a utilizar anticuerpos antireticulina en 1979 (10) y antigliadina en 1989 (11). Se publicó una sensibilidad y especificidad para antigliadina, detectando anticuerpos de tipo IgA, IgG e IgM, de 100% y 85.7% respectivamente (11).

Desde 1994 el Dr. W. Lozano incorporó en forma rutinaria en el Centro Hospitalario Pereira Rossell la dosificación de anticuerpos antigliadina y antiendomiso por técnica de inmunofluorescencia, con fines de orientación diagnóstica, seguimiento de pacientes celíacos, y como test de screening en familiares de celíacos.

OBJETIVO

Conocer la sensibilidad y especificidad de los anticuerpos antigliadina (IgG) y antiendomiso (IgA) para el diagnóstico de enfermedad celíaca, determinados por técnica de inmunofluorescencia en el laboratorio de

Inmunología del Centro Hospitalario Pereira Rossell, aplicados a población hospitalaria y comparar estos resultados con resultados internacionales.

MATERIAL Y METODO

Se realizó un estudio retrospectivo. Se recabaron datos de las historias y fichas precodificadas de 50 pacientes celíacos y de 15 niños no celíacos en quienes se habían determinado anticuerpos antigliadina y antiendomiso y habían sido sometidos a biopsia de intestino delgado en la Policlínica Gastroenterológica de la Clínica Pediátrica "A", entre diciembre de 1994 y octubre de 1998. Los datos se volcaron en una ficha elaborada a tal efecto.

Los 50 pacientes celíacos tenían entre 16 meses y 14 años de edad (mediana 4 años 2 meses); 17 eran varones y 33 niñas. El diagnóstico de enfermedad celíaca se realizó aplicando los criterios de la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátricas (ESPGAN) de 1990 (12). Se tomó como patrón de oro para el diagnóstico de enfermedad celíaca la existencia de enteropatía severa en la biopsia de intestino delgado y mejoría de los síntomas al retirar el gluten de la dieta. La biopsia se realizó con cápsula de Watson modelo pediátrico a nivel del ángulo duodeno yeyunal. Todos los pacientes ingerían gluten en el momento de la serología y biopsia. Para definir los grados de lesión mucosa se siguieron los criterios de Rubin (13) y se valoró además el porcentaje de linfocitos intraepiteliales (14).

En este grupo hay siete pacientes que por ser menores de 2 años aún están en proceso diagnóstico, pues deberán realizarse tres biopsias para confirmarlo definitivamente.

En aquellos pacientes celíacos en quienes se encontraron anticuerpos antigliadina positivos y antiendomiso negativos, o en quienes los anticuerpos fueron negativos y la biopsia de intestino delgado mostró lesión severa,

se determinó IgA en suero para descartar déficit de IgA. Se consideraron falsos negativos del test aquellos sin déficit de IgA.

Los 15 pacientes no celíacos tenían entre 6 meses y 12 años de edad (mediana 3 años); 9 eran varones y 6 niñas. Todos habían sido sometidos a biopsia para descartar enfermedad celíaca (a pesar de serología negativa) pues la clínica sugería la enfermedad, o para descartar otras enteropatías. En estos pacientes se tomó como patrón de oro para descartar la enfermedad la existencia de mucosa normal, con infiltración de linfocitos intraepiteliales menor del 30 %.

Ambos anticuerpos se investigaron por técnica de inmunofluorescencia indirecta. Para los anticuerpos anti gliadina, la investigación se realizó sobre cortes de riñón de rata a los que previamente se trató con gliadina, la cual se une en la misma zona del riñón donde se encuentra la reticulina. La muestra se diluye 1/40, se incuba sobre el corte y la reacción se revela con una anti IgG humana marcada con isotiocianato de fluoresceína. Una reacción positiva muestra una fluorescencia periglomerular y peritubular.

Para los anticuerpos antiendomiso la investigación se realiza en cortes de esófago de mono. Los anticuerpos antiendomiso se unen a los antígenos correspondientes presentes en los cortes del 1/3 inferior del esófago de mono. Esta reacción antígeno- anticuerpo se hace visible con un antisuero anti Ig A humano marcado con isotiocianato de fluoresceína. Los sueros se consideran positivos cuando originan una fluorescencia en el endomiso alrededor de las fibras musculares a la dilución 1/5.

Se evaluaron los resultados calculando su sensibilidad y especificidad. Se entiende por sensibilidad la proporción de individuos con la enfermedad que presentan un resultado positivo y especificidad la proporción de individuos sin la enfermedad que presentan un resultado negativo.

RESULTADOS

Para los anticuerpos antigliadina la sensibilidad fue de 94% y la especificidad de 80%. Para los anticuerpos antiendomiso la sensibilidad fue de 94% y la especificidad de 93%. Tabla 1.

En el grupo de pacientes celíacos se obtuvieron valores de antigliadina y antiendomiso positivos en 47 de los 50 pacientes.

Tres pacientes presentaron resultados negativos para ambos anticuerpos.

Caso celíaco N°18: En la evolución, se inició dieta sin gluten que cumplió en forma irregular; se reiteraron los anticuerpos que en esta oportunidad fueron positivos.

Caso celíaco N°29: Este paciente luego del diagnóstico presentó remisión parcial de su sintomatología, realizaba transgresiones dietéticas, se le realizaron anticuerpos de control los cuales continuaron siendo negativos.

Caso celíaco N°30: Presentó mejoría clínica luego de iniciada la dieta sin gluten, no contamos con anticuerpos de control.

En el grupo de pacientes no celíacos 12 de los 15 pacientes presentaron ambos anticuerpos negativos.

Dos pacientes presentaron anticuerpos antigliadina positivos y antiendomiso negativos, con biopsia normal.

Otro paciente (caso no celíaco N°7) presentó ambos anticuerpos positivos. En este paciente se realizó introducción precoz del gluten a los dos meses. Con ambos anticuerpos positivos con biopsia de intestino delgado normal, fue seguido por posibilidad de tratarse de un celíaco potencial. Sin embargo se le reiteraron los anticuerpos, los cuales fueron negativos, por lo que se trató de un falso positivo.

DISCUSIÓN Y COMENTARIOS

En este estudio se encontró una sensibilidad similar para los anticuerpos antigliadina y antiendomiso, y una especificidad mayor para los anticuerpos antiendomiso. Los resultados obtenidos son comparables a los publicados en centros internacionales de muy buen nivel (6,7,8,9,15,16). La mayoría de estos centros investigan anticuerpos antigliadina por técnica de ELISA, que sería superior a la técnica de inmunofluorescencia utilizada

en el Laboratorio de Inmunología del CHPR. Los excelentes resultados obtenidos en este laboratorio, quizás se expliquen por la gran experiencia con técnica de inmunofluorescencia indirecta que poseen las personas que llevaron adelante este estudio (10,17,18).

Los anticuerpos antigliadina pueden ser positivos en otras enfermedades gastrointestinales (gastroenteritis infecciosa, enfermedad de Crohn, alergia a la leche de vaca) (6) y en enfermedades no gastrointestinales (eccema atópico, síndrome de Sjögren, artritis reumatoidea) (6). También se ha publicado que la sensibilidad de los anticuerpos antigliadina decrece con la edad (8). La primera observación puede explicar los anticuerpos antigliadina positivos que se hallaron en los pacientes no celíacos y la segunda sería una explicación de la sensibilidad alta de los anticuerpos antigliadina en nuestro estudio, ya que la mayoría de los celíacos eran niños pequeños (edad media 4 años).

Los anticuerpos antiendomiso son considerados por algunos autores como los de mayor valor como test de screening (8,16). Otros consideran ideal el uso simultáneo de ambos test, posición a la que nos afiliamos, pues esto aumenta el valor predictivo (8). Por otro lado, como los pacientes celíacos asocian déficit de IgA con mayor frecuencia que la población general, en caso de que se usara exclusivamente antiendomiso (IgA), se debería determinar inmunoglobulina A en todos los casos negativos para descartar este déficit y evitar errores diagnósticos.

Se está ensayando en el laboratorio de Inmunología del Centro Hospitalario Pereira Rossell, la determinación de anticuerpos antiendomiso usando como sustrato cordón umbilical humano, con el que ya se han demostrado resultados similares a los obtenidos cuando se usa como sustrato esófago de mono y que tiene la gran ventaja de su bajo costo (7,9). Cuando la técnica esté disponible disminuirán los costos, lo que permitirá ampliar su uso como test de screening.

En el Centro Hospitalario Pereira Rossell el uso sistemático de los anticuerpos antigliadina y antiendomiso como test de screening de enfermedad celíaca, así como para el seguimiento de los pacientes, ha mejorado el diagnóstico y la calidad asistencial que se brinda al celíaco y a su familia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Greco L. Epidemiology of Coeliac Disease. In: Collin P. Mäki M, eds. Seventh International Symposium on Coeliac Disease, September 5-7, 1996, Tampere, Finland. Tampere: Lege Artis. 1996: 9-14.
2. Mäki M, Collin P. Coeliac disease. *Lancet* 1997; 349: 1755-9.
3. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease- active, silent, latent, potential. *Gut* 1993; 34: 150-1.
4. Troncone R, Maurano F, Rossi M, Micillo M, Greco L, Auricchio R. IgA antibodies to tissue transglutaminase: An effective diagnostic test for celiac disease. *J Pediatr* . 1999; 134: 166-71.
5. Fasano A. Tissue transglutaminase: The Holy Grail for the diagnosis of celiac disease, at last? *J Pediatr*. 1999; 134: 134-5.
6. Troncone R, Ferguson A. Anti - gliadin antibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991; 12: 150-158.
7. Bottaro G, Volta U, Spina M, Rotolo N, Sciacca A, Masumeci S. Antibody Pattern in Childhood Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1997; 24: 559-562.
8. Cataldo F, Ventura A, Lazzari R, Balli F, Nassimbeni G, Marino V. Antiendomysium antibodies and coeliac disease: Solved and unsolved questions. An Italian multicentre study. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 1995; 84: 1125-1131.
9. Pittschieler K, Ladinser B. Coeliac disease: screened by a new strategy. *Acta Paediatr Suppl*. 1996; 412: 42-5.
10. Siri A M, Méndez V, Lozano W, Alberti M, Montano A, Santurtún P. Anticuerpos antirreticulina en niños con diarrea crónica. *Arch. Pediatr. Urug*. 1979; 50: 238-241.
11. Rodríguez Da Silva M, Jasinski C, Piñeyrúa C, Molina M, Salinas G, Maggi R. Evaluación de los anticuerpos antigliadina en el diagnóstico y seguimiento de los niños celíacos. *Arch. Pediatr. Uruguay*. 1989; 60: 43-48.
12. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Vizakorpi JK. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. *Arch Dis Child* 1990; 65: 909-11.
13. Perera DR, Wenstein WM, Rubin CE. Symposium on pathology of the gastrointestinal tract- Part II. Small intestinal biopsy. *Hum Pathol*. 1975; 6 (2): 157-217.
14. Ferguson A, Arranz E, Kingstone K, Gillett H. Oral Tolerance, Immune Expression and Enteropathy: Relevance to Potential, Latent and Silent Coeliac Disease. In: Collin P. Mäki M, eds. Seventh International Symposium on Coeliac Disease, September 5-7, 1996, Tampere, Finland. Tampere: Lege Artis. 1996: 53-59.
15. Catassi C, Rättsch I M, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet*. 1994; 343: 200-203.
16. Vitoria J C, Arrieta A, Astigarraga I, García-Masdevall D, Rodríguez Soriano J. Use of serological markers as a screening test in family members of patients with celiac disease. *J pediatr Gastroenterol Nutr*. 1994; 19: 304-309. 1994; 19: 304-309.
17. Méndez V, Siri A M, Lozano W, Santurtun P, Montano A, Alberti M. Estudio inmunopatológico de las biopsias intestinales de niños con enfermedad celíaca. *Arch. Pediatr. Urug*. 1979; 50: 96-99.

18. Siri A M, Méndez V, Lozano W, De Anda G, Montano A, Vignale R. Inmunopatología de la piel sana de niños con enfermedad celíaca. Arch. Pediatr. Urug.1984; 55: 145-147.

Tabla 1- Sensibilidad y especificidad de los anticuerpos anti gliadina y anti endomisio.

Anticuerpos anti gliadina

	Celíacos n=50	No celíacos n=15
Posit	47	3
Neg	3	12

$$\text{Sensibilidad} = \frac{47}{50} = 0.94$$

$$\text{Especificidad} = \frac{12}{15} = 0.80$$

Anticuerpos anti endomisio

	Celíacos n=50	No celíacos n=15
Posit	47	1
Neg	3	14

$$\text{Sensibilidad} = \frac{47}{50} = 0.94$$

$$\text{Especificidad} = \frac{14}{15} = 0.93$$

fecha recibido: 30 de abril de 2002

Fecha aprobado 28 de mayo de 2002