

Université 
de Montréal

Évaluation comparative de la fiabilité des tests de dépistage de type
anti-transglutaminase et anti-endomysium chez les enfants
à risque pour la maladie cœliaque

par

Katerie Leclerc

Département de nutrition

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de maîtrise
en nutrition

Août 2005

© Katerie Leclerc, 2005



00

145

U58

0.006

V.007

Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

*Évaluation comparative de la fiabilité des tests de dépistage de type
anti-transglutaminase et anti-endomysium chez les enfants
à risque pour la maladie cœliaque*

présenté par :

Katerie Leclerc

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Émile Levy

président-rapporteur

Dr Ernest Seidman

directeur de recherche

Dr Christophe Faure

membre du jury

RÉSUMÉ

La maladie cœliaque est une entéropathie auto-immune causée par l'ingestion de gluten chez les personnes prédisposées génétiquement. L'inflammation de l'intestin et l'atrophie villositaire causent une malabsorption des nutriments, amenant des carences nutritionnelles. Certaines personnes, comme les diabétiques et les parents proches des patients cœliaques, présentent un risque plus élevé de développer la maladie. Il est donc important d'avoir des tests performants, simples et moins invasifs que la biopsie duodénale pour les identifier.

Dans cette étude, nous avons évalué la fiabilité des tests de dépistage de type anti-transglutaminase tissulaire et anti-endomysium dans une population pédiatrique référée à la clinique de gastro-entérologie de l'hôpital Ste-Justine, à Montréal. Nous avons porté une attention particulière à la performance des tests chez les enfants de deux ans et moins, ainsi qu'aux enfants atteints de diabète mellitus de type I.

Nous résultats indiquent que les différentes trousse disponibles sur le marché sont d'une efficacité comparable (95-97%). Leur performance n'est pas affectée chez les enfants plus jeunes, mais les trousse évaluées sont moins efficaces chez les enfants diabétiques.

Mots clés :

Entéropathie au gluten, diabète, malabsorption, pédiatrie, sérologie, tests diagnostiques

SUMMARY

Celiac disease is an autoimmune enteropathy caused by the ingestion of gluten in genetically susceptible persons. The intestinal inflammation, as well as the villous atrophy, leads to malabsorption, thus causing nutritional deficiencies. At-risk groups for celiac disease include those with type 1 diabetes and relatives of celiac patients. Celiac disease is ultimately diagnosed with an intestinal biopsy, during an oesophagogastroduodenoscopy. Consequently, it is important to have accurate non-invasive screening tests to select those for biopsy who are most likely to have confirmation of the diagnosis, while detecting the vast majority of those affected.

In this study, we have compared the reliability of anti-tissue transglutaminase and anti-endomysium screening tests in a pediatric population from a gastroenterology reference centre at the Hôpital Ste-Justine, Montréal. We focused on the performance of the different tests for children under two years of age, as well as children with type I diabetes mellitus, as these groups were reported to have lower test precision in the past.

Our results conclude that the reliability of the tissue transglutaminase and anti-endomysium antibody screening tests available commercially are similar (95-97%). Their performance wasn't reduced in children under the age of two, but the tests were less reliable in diabetic patients.

Keywords:

Anti-endomysium, anti-transglutaminase, celiac disease, gluten enteropathy, diabetes, diagnostic, paediatric, screening test

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	I
<i>Mots clés</i> :	<i>i</i>
SUMMARY	II
<i>Keywords</i> :	<i>ii</i>
TABLE DES MATIÈRES	III
LISTE DES TABLEAUX	VI
LISTE DES FIGURES	VII
SIGLES ET ABBRÉVIATIONS	VIII
DÉDICACE	X
REMERCIEMENTS	XI
AVANT-PROPOS	XII
CHAPITRE I : INTRODUCTION	1
But de l'étude.....	2
Hypothèses de travail.....	3
CHAPITRE II : RECENSION DE LA LITTÉRATURE	4
Définition.....	5
Historique	5
Le gluten	6
<i>Les sources</i>	6
<i>Aspect moléculaire</i>	6
Pathologie	7
<i>Aspect immunogénétique</i>	7
<i>Aspect histologique</i>	12
Présentation de la maladie	14
<i>Présentation classique</i>	14
<i>Présentation atypique</i>	15
<i>Présentation silencieuse</i>	15
<i>Maladie cœliaque latente</i>	15
Épidémiologie.....	16
<i>Prévalence</i>	16
<i>Groupes à risque</i>	18

Dépistage	21
<i>AAG</i>	21
<i>EMA</i>	21
<i>Anti-tTG</i>	24
Diagnostic	25
<i>Évolution des critères diagnostiques</i>	25
<i>Biopsie duodénale</i>	25
Traitement.....	28
<i>Diète sans gluten (DSG)</i>	28
<i>Nouvelles avenues</i>	33
Complications	34
<i>En absence de traitement</i>	34
<i>Risques associés au traitement</i>	36
CHAPITRE III : MÉTHODOLOGIE.....	37
Patients.....	38
<i>Sélection des patients</i>	38
<i>Étude des dossiers</i>	39
Tests sérologiques.....	40
<i>Anti-gliadine</i>	40
<i>Anti-transglutaminase</i>	40
<i>Anti-endomysium</i>	43
Analyses statistiques.....	45
CHAPITRE IV : RÉSULTATS	46
Patients.....	47
<i>Aspect démographique</i>	47
<i>Résultats de biopsie</i>	49
<i>Signes et symptômes</i>	53
Tests sérologiques.....	58
CHAPITRE V : DISCUSSION	67
Patients.....	68
<i>Aspects démographiques</i>	68
<i>Signes et symptômes</i>	68
Résultats d'analyses.....	70
<i>Précision des trousse de dépistage</i>	70

CHAPITRE VI : CONCLUSION.....	74
CHAPITRE VII : BIBLIOGRAPHIE.....	76
CHAPITRE VIII : ANNEXES	XIII
Annexe I : Contribution de l'étudiant à l'article soumis.....	xiv
Annexe II : Déclaration des coauteurs d'un article	xv
Annexe III : Manuscrit à soumettre.....	xvi

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I :	TROUSSES UTILISÉES POUR LES TESTS ANTI-TRANSGLUTAMINASE	42
TABLEAU II :	TROUSSES UTILISÉES POUR LES TESTS ANTI-ENDOMYSIUM	44
TABLEAU III :	DONNÉES DÉMOGRAPHIQUES SUR LES PATIENTS DE L'ÉTUDE	48
TABLEAU IV :	RÉPARTITION DES PATIENTS SELON LA CLASSIFICATION HISTOPATHOLOGIQUE MODIFIÉE DE MARSH	50
TABLEAU V :	SIGNES ET SYMPTÔMES	54
TABLEAU VI :	TAUX SÉROLOGIQUE MOYEN POUR LES TESTS ANTI-GLIADINE ET ANTI- TRANSGLUTAMINASE.....	59
TABLEAU VII :	COMPARAISON DE LA PRÉCISION DES TROUSSES SÉROLOGIQUES	63
TABLEAU VIII:	DEGRÉ DE SIGNIFICATION DES TROUSSES ANTI-TRANSGLUTAMINASE ET ANTI-ENDOMYSIUM CHEZ LES ENFANTS DIABÉTIQUES	64
TABLEAU IX :	PRÉCISION ET AUTRES VALEURS STATISTIQUES DES TROUSSES SÉROLOGIQUES UTILISÉES	66

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 :	RÉSULTATS DE TESTS ANTI-ENDOMYSIUM.....	23
FIGURE 2 :	BIOPSIE DUODÉNALE	27
FIGURE 3 :	DISTRIBUTION DU GRADE DE MARSH CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE LA MALADIE CÉLIAQUE.....	52
FIGURE 4 :	SIGNES ET SYMPTÔMES PRÉSENTÉS CHEZ LES PATIENTS CÉLIAQUES ET NON-CÉLIAQUES	56
FIGURE 5 :	SIGNES ET SYMPTÔMES PRÉSENTS DANS LES SOUS-GROUPES ÉTUDIÉS....	57
FIGURE 6 :	COURBES DE ROC COMPARANT LA SENSIBILITÉ / SPÉCIFICITÉ DES TESTS ANTI-TTG ET AAG	61
FIGURE 7 :	TAUX SÉROLOGIQUE D'ANTI-TTG MOYEN CHEZ LES PATIENTS CÉLIAQUES SELON LES TROUSSES ÉVALUÉES	73

SIGLES ET ABBRÉVIATIONS

AAG :	Anticorps anti-gliadine
AG :	Anti-gliadine
BSA :	<i>Bovine serum albumin</i>
CD :	<i>Cluster of differentiation</i>
CMH :	Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA :	Cellule présentatrice d'antigène
CTLA :	<i>Cytotoxic T lymphocyte associated</i>
DM I :	Diabète mellitus type I
DQ2 :	HLA-DQA1*0501-DQB1*0201
DQ8 :	HLA-DQA1*0301-DQB1*0302
DSG :	Diète sans gluten
ELISA :	<i>Enzyme linked immunosorbent assay</i>
EMA :	Anticorps anti-endomysium
ESPGHAN :	Société européenne de gastro-entérologie, hépatologie et nutrition pédiatrique
gpTG :	Transglutaminase de cobaye
HLA :	<i>Human leukocyte antigen</i>
hTG :	Transglutaminase humaine
IFI :	Immunofluorescence indirecte
IgA :	Immunoglobuline A
IgE :	Immunoglobuline E

IgG :	Immunoglobuline G
LIE :	Lymphocyte intra épithélial
MC :	Maladie cœliaque
NASPGHAN :	Société nord-américaine de gastro-entérologie, hépatologie et nutrition pédiatrique
PBS :	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PTPN22 :	<i>Protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22</i>
RIA :	<i>Radio-immuno assay</i>
ROC :	<i>Receiver operating characteristic</i>
TG :	Transglutaminase
TGF β :	<i>Transforming growth factor β</i>
T _H :	<i>Helper T cell</i>
tTG :	Transglutaminase tissulaire
U :	Unité
UA :	Unité arbitraire
UE :	Unité ELISA
VPN :	Valeur prédictive négative
VPP :	Valeur prédictive positive

*À tous ceux et celles
qui m'ont aidé
à garder confiance...*

Merci!

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier mon directeur de recherche, Dr Ernest Seidman, pour son support dans la réalisation de ce projet d'étude.

Plusieurs personnes ont également permis à ce projet de se dérouler beaucoup plus agréablement. Dr Martha Dirks, qui a su m'assister dans la préparation de diverses présentations. Dr Devendra Amre, pour qui les statistiques n'ont pas le moindre secret. Dr Luc Oigny, chef pathologiste, pour sa collaboration dans la transmission d'informations sur les patients ayant subi une biopsie à l'hôpital Ste-Justine. Rachel Fisher, qui m'a beaucoup aidé lors de la révision des dossiers. Et naturellement, Anne Duhaime, pour son aide et pour les heures passées au laboratoire. Je vous suis très reconnaissante.

Je tiens également à remercier mes parents et ma famille, qui ont su vivre avec mes sautes d'humeur, et qui n'ont jamais cessé de m'encourager.

Ces remerciements ne seraient pas complets si je ne mentionnais pas le support constant de mes amies et amis. Votre appui, malgré la distance qui pouvait nous séparer, fut toujours extrêmement apprécié.

À tous ceux que j'ai bien pu oublier, merci infiniment!

Katerie

AVANT-PROPOS

Il y a six ans, l'« intolérance au gluten » n'était pour moi qu'une sorte d'allergie alimentaire particulièrement contraignante qui forçait une de mes amies à trimbaler une énorme boîte à lunch à chaque fois que nous faisons une activité. Un an plus tard, la maladie cœliaque devenait pourtant quelque chose de très concret : mon médecin m'annonçait que c'était la cause de mes problèmes de santé.

Curieuse de nature, j'ai voulu tout savoir sur cette maladie qui transformait mon existence. Malgré mes cours d'immunologie, je n'arrivais pas à comprendre le mécanisme de cette « allergie ». Finalement, un concours de circonstances m'a permis d'approfondir le sujet, faisant de la maladie cœliaque le sujet de ma maîtrise et me permettant d'en découvrir presque tous les secrets.

Il est déjà très valorisant de terminer des études supérieures, mais quand elles nous permettent d'en découvrir un peu plus sur soi-même, le résultat n'en est que plus satisfaisant.

CHAPITRE I :
INTRODUCTION

BUT DE L'ÉTUDE

Bien qu'elle fut considérée rare durant plusieurs décennies, la maladie cœliaque est maintenant reconnue beaucoup plus fréquemment par les médecins en Amérique du Nord. Ses symptômes variés, parfois imprécis et même souvent absents, la rendent cependant difficile à identifier. Il a été démontré que certains groupes de personnes présentaient un risque relatif de développer cette maladie plus élevé que la population en général. Puisque l'ignorance ou le non-traitement de cette maladie entraîne des carences nutritionnelles importantes et d'autres manifestations et complications cliniques potentiellement sérieuses, il faut s'assurer d'avoir en main des tests de dépistage performants et peu dispendieux, afin d'identifier le plus rapidement possible les personnes atteintes.

Afin de progresser dans notre étude, nous nous sommes donc fixé certains objectifs. Le but principal de notre projet était de comparer la précision des trousse de dépistage de la maladie cœliaque disponibles sur le marché.

Ensuite, puisqu'il existe différents types de tests de dépistage pour la maladie cœliaque, nous avons décidé de comparer séparément les trousse anti-transglutaminase et les trousse anti-endomysium, avant de les comparer avec le test à base d'anti-gliadine, puisqu'il s'agit d'une des premières méthodes de dépistage élaborée.

Une fois les comparaisons effectuées dans notre population pédiatrique globale, nous avons évalué la précision des trousse de dépistage chez les enfants de moins de deux ans, ainsi que chez les enfants atteints de diabète mellitus de type I.

HYPOTHÈSES DE TRAVAIL

Plusieurs études comparatives ont déjà été effectuées, mais très peu concernaient des sujets pédiatriques, ce qui rend la nôtre particulièrement intéressante. La littérature nous permet de poser nos hypothèses de travail, en se basant sur les résultats obtenus par le passé.

Nous croyons donc que les tests anti-endomysium seront équivalents entre eux. Nous pensons également que les tests anti-transglutaminase humains seront d'une précision équivalente entre eux, et qu'il seront plus performants que les tests à base d'antigènes de cobaye.

Nous croyons aussi que, chez nos sujets pédiatriques, les tests anti-transglutaminase et anti-endomysium seront plus performants que le test anti-gliadine.

Par contre, en nous basant sur la littérature existante, nous nous attendons à ce que les tests de dépistage soient moins efficaces chez les enfants de moins de deux ans, ainsi que chez les enfants atteints de diabète mellitus de type I.

CHAPITRE II :
RECENSION DE LA LITTÉRATURE

DÉFINITION

La maladie cœliaque (MC) est une entéropathie auto-immune causant une inflammation de la muqueuse, ainsi que l'atrophie des villosités du petit intestin. Elle est causée par l'ingestion de gluten, chez les personnes prédisposées génétiquement^(47, 67, 76).

HISTORIQUE

La MC fut décrite pour la première fois en 1888 par Samuel Gee⁽⁶¹⁾. En plus d'en spécifier les principaux symptômes, il a laissé entendre que le traitement se trouvait possiblement dans une diète spéciale⁽³⁰⁾.

Durant la deuxième guerre mondiale, en 1941, WK Dicke a observé la toxicité potentielle de certaines céréales telles que le blé, l'orge, l'avoine et le seigle. Il a constaté qu'aux Pays-Bas, en l'absence de ces céréales, les patients identifiés comme étant atteints de la MC ont vu leur état s'améliorer⁽²⁴⁾. En 1953, il a finalement démontré la toxicité clinique de la gliadine, une protéine provenant du blé⁽⁶¹⁾.

En 1954, Paulley a soumis la première description précise des lésions histopathologiques caractéristiques de la MC, à l'aide de biopsies duodénales effectuées par laparotomie sur un patient atteint⁽³⁰⁾.

LE GLUTEN

Les sources

Le gluten est une protéine insoluble dans l'eau, qui est présente dans certaines céréales. On le retrouve dans le blé, l'orge, le seigle et le triticale^(22, 85). Certaines études mentionnent l'avoine comme étant une source de gluten^(67, 76, 102), mais sa toxicité est maintenant remise en cause^(22, 38, 61).

Aspect moléculaire

Tel que mentionné précédemment, le gluten est le complexe moléculaire insoluble que l'on obtient lors du lavage à l'eau des farines de céréales. Il se divise en deux fractions protéiniques : la gliadine et la gluténine. Seule la première est soluble dans l'alcool, et elle est désignée sous le nom générique de prolamine. Pour le blé, on l'appellera *gliadine*; pour le seigle, *sécaline*; pour l'orge, *hordénine*; et pour l'avoine, *avénine*⁽⁶¹⁾. Une des caractéristiques principales de ces protéines est la présence de séquences peptidiques répétitives, en plus de compter sur une forte concentration en proline, en glutamine et en acides aminés hydrophobes⁽⁶¹⁾.

Shan et al. ont étudié la base moléculaire du gluten⁽⁸⁵⁾. À l'aide d'enzymes gastriques et pancréatiques, ils ont hydrolysé une région stable de la gliadine, la $\alpha 2$ -gliadine recombinante. Après analyse, ils ont récupéré un fragment relativement imposant, un polymère riche en proline et en glutamine composé de 33 acides aminés. En soumettant ce polymère aux enzymes de la membrane en brosse de l'intestin grêle, ils ont observé qu'il avait une demi-vie supérieure à 20 heures, confirmant ainsi qu'il restait intact durant tout le processus de la digestion. De ce fait, il devenait un antigène potentiel pouvant stimuler une réponse immunitaire, et ainsi causer une toxicité intestinale chez les sujets prédisposés.

Il est intéressant de noter que des homologues de ce polymère ont été identifiés dans la gliadine, l'hordénine et la sécaline. Sa présence n'a pu être confirmée dans l'avénine, ni dans les autres céréales non toxiques pour la MC⁽⁸⁵⁾.

Au cours d'une étude plus récente⁽⁸⁶⁾, Shan et al. ont poursuivi leurs investigations sur certains peptides susceptibles d'être responsables de la réponse immunitaire déclenchée par l'ingestion de gluten chez les patients à risques de MC. En créant des mutations au niveau de la séquence immunogénétique de l' α 2-gliadine pour éliminer le polymère de 33 acides aminés, la réponse des cellules T de lignée polyclonale était quasi inexistante chez les patients cœliaques. Ces résultats suggèrent donc que ce polymère serait la seule source de toxicité de l' α 2-gliadine.

PATHOLOGIE

La MC est une maladie auto-immune qui affecte plusieurs systèmes dans le corps humain. Ses manifestations pathologiques sont observées tant au niveau sanguin que dans les tissus de l'intestin grêle.

Aspect immunogénétique

LES FACTEURS PRINCIPAUX

Dans les années 1980, il fut démontré que certains anticorps circulants facilitaient le diagnostic de MC chez les enfants grâce à leur sensibilité et leur spécificité élevées pour la maladie⁽¹⁰²⁾. Ces anticorps, dont l'association avec la MC a été démontrée dans le passé, permettent de mieux cibler les patients chez qui la biopsie est indiquée, en plus d'assurer le suivi de la diète sans gluten (DSG)⁽⁵³⁾.

ANTICORPS ANTI-GLIADINE (AAG)

L' α -gliadine est reconnue pour induire une inflammation intestinale chez les sujets atteints de MC⁽⁵⁾.

Comme leur nom l'indique, les AAG sont des anticorps dirigés vers une des fractions protéiniques du gluten, la gliadine. On en retrouve deux isotypes, les immunoglobulines A et G (IgA et IgG)⁽⁵³⁾.

ANTICORPS ANTI-TRANSGLUTAMINASE TISSULAIRE (ANTI-tTG)

La transglutaminase (TG) fait partie d'une famille d'enzymes ubiquistes⁽⁸⁴⁾ calcium dépendantes⁽⁸¹⁾ qui catalysent des réactions de transamidation pour produire des protéines pontées, polyaminées ou désaminées⁽⁵⁰⁾. Au moins sept TG différentes se trouveraient dans les cellules humaines⁽²⁾. Plus spécifiquement, la transglutaminase tissulaire (tTG) aurait une grande affinité avec le gluten, parce que la gliadine serait composée de 30 à 50% de glutamine, qui constitue son substrat par excellence^(53, 67, 84).

La TG extracellulaire serait impliquée, entre autres, dans la coagulation des liquides séminaux, mais la fonction de la TG intracellulaire est encore imprécise⁽⁸¹⁾. Des études ont permis de découvrir que la tTG pouvait convertir la glutamine en glutamate, ou si un donneur d'amine était présent, en glutamyl- ϵ -lysine⁽⁵⁾. La tTG serait également indispensable pour l'activation d'un facteur de croissance (TGF β), qui est une cytokine nécessaire à la différenciation de l'épithélium intestinal. De son côté, la TG 2 permettrait la modification de gliadine riche en glutamine chez les cœliaques⁽⁸⁸⁾.

Quant à eux, les anti-tTG sont des anticorps circulants qui reconnaissent la tTG. Encore une fois, on retrouve deux isotypes, IgA et IgG, mais la littérature s'est surtout penchée sur les premiers⁽⁵³⁾.

ANTICORPS ANTI-ENDOMYSIUM (EMA)

L'endomysium représente l'ensemble du tissu conjonctif qui enveloppe chacune des fibres dans un fuseau musculaire⁽²³⁾. On pourrait donc s'attendre à ce que les EMA soient simplement des anticorps dirigés vers l'endomysium, mais il a été démontré que l'antigène ciblé par les EMA était plutôt la tTG⁽¹⁰²⁾, ce qui nous ramène à son utilité lors de la détection de la MC.

Les EMA ont été décrits pour la première fois par Chorzelski, en 1983⁽⁵³⁾. Il existe également deux isotypes pour cet anticorps, IgA et IgG, même si le second serait surtout utilisé en cas de déficience en IgA⁽⁵³⁾.

AUTRES ANTICORPS

D'autres anticorps ont été identifiés chez les personnes atteintes de MC, même s'ils sont originellement dirigés vers d'autres maladies. Plus particulièrement, on retrouverait au moins un des anticorps suivants chez 25% des patients : anti-microsomes thyroïdiens, anti-nucléaires et anti-cellules pariétales gastriques ⁽²⁷⁾.

COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ (CMH)

Une importante région génétique a pour tâche d'encoder les protéines qui permettront de présenter les antigènes aux différentes cellules du système immunitaire : il s'agit du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ⁽¹⁾. Chez l'humain, ces molécules portent le nom de HLA (pour *human leukocyte antigens*), parce qu'il s'agit de leucocytes humains qui expriment des alloantigènes.

Les gènes HLA se divisent en deux catégories. Dans la première, on retrouve les gènes de CMH de classe I (HLA-A, HLA-B et HLA-C) qui encodent des protéines qui seront reconnues par les cellules T CD8⁺, alors que les gènes de CMH de classe II (HLA-DR, HLA-DQ et HLA-DP) encodent les protéines qui présenteront les peptides aux cellules T CD4⁺.

De tous les gènes reliés aux maladies auto-immunes, ce sont les gènes du CMH qui représentent les plus fortes associations. Au moins une étude a remarqué une association entre certains HLA de classe I (HLA-A1 et HLA-B8) et la MC ⁽⁸²⁾, mais habituellement, ce sont plus spécialement les gènes du CMH de classe II qui sont impliqués ^(47, 84, 98, 102, 104).

Dans le cas de la MC, deux gènes sont particulièrement présents : HLA-DQA1*0501-DQB1*0201 (DQ2) et HLA-DQA1*0301-DQB1*0302 (DQ8). Près de 30% de la population occidentale présente les gènes DQ2 et/ou DQ8 ^(47, 76), ce qui en fait un gène relativement fréquent, mais on ne rencontrerait la MC que chez un porteur sur 50 ⁽⁸⁴⁾. À l'opposé, près de 90% des patients atteints de MC seraient porteurs du gène DQ2, tandis que la majorité des patients ne présentant pas DQ2 seraient alors porteurs de DQ8 ^(24, 47, 54, 98, 102, 104). Même si la présence de DQ2 et/ou

DQ8 n'est pas un indicateur précis de MC, son absence indique un risque très faible de développer la maladie ^(24, 76, 102).

Bao et al. ont remarqué que le tiers des patients diabétiques homozygotes pour le gène DQ2 exprimaient des anti-tTG, contre seulement 2% des patients ne présentant pas ce gène ⁽⁷⁾. Une étude finlandaise a quant à elle observé que parmi les 389 membres de leur cohorte qui étaient porteurs du gène DQ2, 65% étaient atteints de MC ⁽⁵⁴⁾.

En plus de DQ2 et DQ8, certaines études associent également les gènes HLA-DR3 et DR4 avec la MC ^(67, 79, 82), alors qu'ils sont aussi reliés au diabète mellitus de type I (DM I).

HLA-DQ2 et DQ8 partageraient également des similarités génétiques. Une étude américaine a observé que sur 13 peptides qui pouvaient se lier soit à DQ2, soit à DQ8, neuf pouvaient se lier aux deux molécules, confirmant ainsi une région de chevauchement pour des liaisons peptidiques, tel qu'observé dans des molécules de type HLA-DR ⁽⁸⁹⁾.

D'AUTRES FACTEURS GÉNÉTIQUES

Plusieurs gènes candidats ont été étudiés pour examiner leur possible association avec diverses maladies auto-immunes. Une région du chromosome 2q33 contient le gène codant pour un régulateur important pour l'auto-immunité, *cytotoxic T lymphocyte associated*, communément appelé CTLA-4 ⁽⁵¹⁾. Des études ont établi que CTLA-4 était associé avec la MC ^(24, 51) et le DM I ⁽⁶⁸⁾. Une étude française à même observé qu'un allèle de CTLA-4 était présent chez 82% des patients cœliaques, alors qu'ils ne l'ont observé que chez 65% des patients du groupe contrôle ⁽³²⁾.

Un autre gène, *protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22* (ou PTPN22) aurait été récemment associé avec certaines maladies auto-immunes, dont le DM I et la MC ⁽⁹⁹⁾. Ce gène pourrait jouer un rôle chez les patients cœliaques présentant une manifestation clinique hâtive ⁽¹⁰³⁾, mais une étude espagnole n'a observé que très peu d'effets sur la susceptibilité à la MC ⁽⁷⁷⁾.

MÉCANISMES D'ACTION

Contrairement aux allergies alimentaires qui sont déclenchées par des IgE, ce sont principalement les IgA et les IgG qui caractérisent la réaction immunitaire de la MC⁽⁶⁷⁾. Normalement, les plaques de Peyer sont le site d'échantillonnage immunologique du petit intestin⁽⁶⁷⁾. Les antigènes de la lumière intestinale sont transportés par les cellules M vers la couche sous-épithéliale des plaques de Peyer, où les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) les apprêtent. Les cellules B ainsi stimulées voyagent vers les ganglions lymphatiques mésentériques avant de retourner vers la muqueuse du jéjunum pour y être différenciées en IgA spécifiques pour l'antigène rencontré initialement⁽⁶⁷⁾.

En cas de MC, la perméabilité intestinale est généralement augmentée, laissant croire que les plaques de Peyer ne sont pas le seul site où la gliadine entre en contact avec le système immunitaire⁽⁶⁷⁾. Les peptides du gluten ingéré traversent l'épithélium intestinal pour rejoindre le tissu connectif sous-épithélial (lamina propria), le processus étant habituellement facilité par l'inflammation des tissus⁽⁸⁴⁾. La tTG est très présente dans les cellules sous-épithéliales de l'intestin, où elle est emmagasinée dans une forme intracellulaire inactive⁽³⁹⁾. Elle peut être relâchée par un stress mécanique ou inflammatoire, et elle est activée par des taux de calcium extracellulaire élevés⁽⁸⁴⁾.

En présence de pH acide ou en l'absence d'accepteurs de glutamine, le gluten est désaminé par la tTG, pour produire de l'acide glutamique^(39, 84). Chez les personnes prédisposées, ces peptides sont apprêtés par les CPA, plus particulièrement les cellules dendritiques, et présentés de façon préférentielle par les molécules HLA-DQ2 ou DQ8 aux cellules T CD4⁺ spécifiques, potentialisant ainsi la réaction immunitaire⁽³⁹⁾. On obtient une réponse de type T_H1 (inflammation et modification de la structure des tissus) et T_H2 (production d'anticorps, AAG et anti-tTG dans le cas présent)⁽⁸⁴⁾. De plus, la production d'anti-tTG pourrait limiter l'action de la tTG, et ainsi favoriser l'atrophie villositaire⁽⁵³⁾.

Plusieurs facteurs externes peuvent influencer ce mécanisme d'action. Plus spécifiquement, l'acidité gastrique, l'activité des protéases pancréatiques et intestinales, ainsi que la microflore, qui peut influencer la perméabilité intestinale, peuvent expliquer les variations dans la présentation de la MC chez les patients⁽⁸⁴⁾.

Aspect histologique

La MC porte également le nom d'entéropathie au gluten, exprimant bien ainsi l'atteinte intestinale qui survient lors de l'ingestion d'aliments contenant de la gliadine. Une biopsie duodénale ou jéjunale permet d'observer les anomalies de la muqueuse intestinale. En cas de MC, on retrouve habituellement un aplatissement de la muqueuse, mais son épaisseur totale peut cependant augmenter à cause de l'hyperplasie des cryptes et de l'infiltration de la lamina propria par des lymphocytes et des cellules plasmiques⁽²⁴⁾. Lors de l'analyse du spécimen sous microscope, il faut porter une attention particulière aux lymphocytes intra épithéliaux (LIE), à l'atrophie des villosités intestinales et à l'hyperplasie des cryptes. Ces indications permettent de catégoriser les échantillons selon la classification histopathologique modifiée de Marsh⁽⁶⁴⁾.

CLASSIFICATION HISTOPATHOLOGIQUE MODIFIÉE DE MARSH^(64, 70)

TYPE 0

Il s'agit d'une muqueuse normale avec moins de 40 LIE par 100 entérocytes^(64, 70). Les villosités et les cryptes sont normales. Le ratio 'hauteur des villosités / profondeur des cryptes' varie entre 3 : 1 et 5 : 1⁽²⁴⁾.

TYPE I

On observe une infiltration lymphocytaire, avec plus de 40 LIE par 100 entérocytes. Les villosités et les cryptes sont toujours normales^(64, 70).

TYPE II

L'infiltration lymphocytaire est toujours présente. Par contre, on note maintenant une hyperplasie des cryptes, sans atteinte aux villosités, ce qui est caractéristique du type hyperplastique. Le ratio 'hauteur des villosités / profondeur des cryptes' sera inférieur aux valeurs normales⁽³⁰⁾.

TYPE IIIA

Le type III indique habituellement un type de lésions de MC appelées « destructrices ». IIIa est caractérisé par un léger aplatissement des villosités, ce qui ramène le ratio 'hauteur des villosités / profondeur des cryptes' à une valeur inférieurs à 1 : 1⁽³⁰⁾. L'hypertrophie des cryptes est toujours présente, tout comme l'infiltration lymphocytaire.

TYPE IIIB

Cette fois, l'aplatissement des villosités est plus marqué. Tout comme pour le type précédent, l'hypertrophie des cryptes est toujours présente et on compte encore une augmentation des LIE^(30, 64, 70).

TYPE IIIC

Dans cette catégorie, les villosités sont absentes, complètement atrophiées. Les cryptes sont toujours hyperplastiques, et les LIE sont présents à plus de 40 par 100 entérocytes^(30, 64, 70).

TYPE IV

Ce type est très rare. Il se caractérise par des cryptes revenues à l'état normal, et à un nombre de lymphocytes également normal (moins de 40 LIE par 100 entérocytes). Par contre, les villosités sont complètement atrophiées^(30, 64, 70).

PRÉSENTATION DE LA MALADIE

Les manifestations cliniques de la MC, ainsi que les signes et symptômes varient grandement d'un individu à l'autre. L'âge du patient, la durée de la maladie avant son diagnostic, l'étendue des lésions, ainsi que la présence de pathologies extra intestinales, permettent de diviser la MC en trois formes cliniques distinctes ⁽³⁸⁾.

Présentation classique

La première présentation historiquement associée avec la MC représente maintenant une plus faible proportion des patients ⁽⁵³⁾. Elle est habituellement décrite par une diarrhée chronique, une perte de poids ou des problèmes de croissance, une distension abdominale, des flatulences et diverses carences nutritionnelles ⁽⁶⁷⁾.

Les manifestations diffèrent souvent chez l'enfant et chez l'adulte.

SPÉCIFIQUEMENT CHEZ L'ENFANT

Les signes et symptômes apparaissent habituellement vers l'âge de 6 à 24 mois, quand le gluten est introduit dans l'alimentation ⁽³⁷⁾. On note alors des retards de croissance, une diarrhée chronique, de la distension abdominale, une hypotonie musculaire et un caractère irritable. Les selles du nourrisson sont volumineuses et nauséabondes à cause de la malabsorption des graisses ⁽⁶⁾. L'enfant sera souvent pâle et visiblement maigre, avec une diminution des couches adipeuses sous-cutanées ⁽³⁸⁾.

SPÉCIFIQUEMENT CHEZ L'ADULTE

La MC peut se présenter chez les adultes de tous âges, mais on la diagnostique habituellement entre 20 et 60 ans. Le signe principal reste la diarrhée, présente dans près de 85% des cas chez les patients symptomatiques ⁽⁴⁴⁾. On observe aussi de la fatigue, des bruits intestinaux et des crampes abdominales ⁽⁶⁾.

Présentation atypique

La présentation atypique représente maintenant la majorité des patients de plus de deux ans⁽³⁸⁾. Elle est caractérisée par des inconforts abdominaux non spécifiques et des symptômes extra intestinaux⁽⁷³⁾. Elle serait représentative de l'apparition plus tardive des symptômes chez les enfants un peu plus vieux (5-7 ans)⁽³⁷⁾. On est alors en présence de douleurs abdominales, nausées, vomissements, ballonnement et constipation^(37, 53).

Les symptômes extra intestinaux sont encore plus nombreux et comptent, entre autres : dermatite herpétiforme (quoique rare chez les enfants), anémie ferriprive, hépatite, petite stature, puberté tardive, défauts de l'émail des dents, symptômes dépressifs et ataxie cérébelleuse^(38, 53, 73).

Présentation silencieuse

La forme silencieuse est plus difficile à diagnostiquer, puisqu'elle se définit par l'absence de symptômes. Elle pourrait représenter jusqu'à 10 fois le nombre de patients réellement diagnostiqués⁽³⁰⁾. Les patients sont apparemment asymptomatiques, malgré une atrophie villositaire et un taux élevé d'AAG, d'anti-tTG et/ou d'EMA. On les détecte souvent lors de dépistages de masse dans les populations à risque et dans les familles des patients atteints^(37, 38). L'aspect asymptomatique est cependant remis en cause. Plusieurs patients réalisent rétroactivement que l'inconfort ou l'irritabilité accrue auxquels ils s'étaient habitués étaient en fait des symptômes de la MC⁽⁴⁹⁾.

Maladie cœliaque latente

Plusieurs auteurs mentionnent une forme latente de la MC. Certains utilisent cette expression pour exprimer une MC traitée avec succès par la DSG⁽⁷³⁾, alors que la majorité l'emploie pour les patients présentant des anticorps circulants marqueurs de MC, comme les AAG, les anti-tTG et les EMA, mais sans atteinte histopathologique de la muqueuse de l'intestin^(37, 53). La plupart de ces patients sont considérés à fort risque de développer la MC dans l'avenir.

ÉPIDÉMIOLOGIE

Prévalence

Une des plus anciennes études épidémiologiques sur la MC a été effectuée en 1950, en Europe⁽³⁸⁾. On estimait alors que la maladie était présente chez une personne sur 8000 en Angleterre, et une sur 4000 en Écosse.

Il faut cependant être prudent lors de la comparaison de la prévalence de la MC parce que la définition de la maladie peut varier d'une étude à l'autre⁽⁷³⁾. Certains vont inclure tous les patients dont les résultats sérologiques sont positifs, alors que d'autres vont seulement considérer les patients dont la MC est confirmée par une biopsie. Les résultats varient également en fonction du groupe de personnes échantillonnées. Les résultats différeront grandement s'il s'agit de la population en générale, de personnes suspectées de MC, ou de groupes à risque. Le dernier cas sera discuté un peu plus loin.

Une première façon de calculer la prévalence de la MC est de l'évaluer en fonction de la population non-sélectionnée, lors de dépistages de masse. Dans le cadre d'une revue de littérature exhaustive, une étude canadienne⁽⁷⁶⁾ a recensé une prévalence nord-américaine variant entre 1 : 320 et 1 : 105, avec des extrêmes à 1 : 658 et 1 : 53. Cela correspond à la prévalence européenne, qui varie entre 1 : 300 et 1 : 130^(34, 38, 63). Des études spécifiquement menées chez les enfants présentent des résultats variant entre 1 : 285 et 1 : 67⁽⁷³⁾. De façon plus conservatrice, la société nord-américaine de gastro-entérologie, hépatologie et nutrition pédiatrique (NASPGHAN) estime que la prévalence de la MC chez les enfants entre 2,5 et 15 ans se situe entre 1 : 300 et 1 : 80⁽⁴⁷⁾.

Une autre façon de calculer la prévalence est de ne tenir compte que des sujets suspectés de MC, lorsque adressés dans des centres de référence pour des symptômes digestifs, par exemple. Dans ce cas, la prévalence est beaucoup plus élevée. Selon Dubé et al⁽³⁴⁾, 3 études italiennes dans des centres de référence auraient obtenu une prévalence située entre 1 : 8 et 1 : 2, mais ces résultats sont anormalement élevés.

Dans la population adulte américaine sensible, elle serait plutôt de 1 : 67⁽³⁴⁾. Chez les enfants suspectés de MC, la prévalence se situerait entre 1 : 22 et 1 : 6^(34, 76).

Plusieurs études ont évalué la prévalence de la MC dans leur population locale. Peu de données sont disponibles au Canada, mais une étude sur les populations occidentales à risque en Europe et en Amérique du Nord a rapporté une prévalence de 1 : 90 pour des enfants chez qui on suspectait une MC⁽³⁴⁾. Aux États-Unis, une étude a obtenu des résultats anormalement élevés chez une population à risque de MC, avec une prévalence de 1 : 57⁽⁴⁸⁾. Une étude effectuée à La Plata, en Argentine, sur des couples subissant les examens prénuptiaux obligatoires a permis d'évaluer la prévalence de la MC à 1 : 167, pour une région dont les caractéristiques ethniques représentaient 90% de la population du pays⁽⁴²⁾.

Une étude italienne a noté une prévalence de 1 : 204 dans la population générale en tenant compte des cas confirmés par biopsie, et de 1 : 175 en incluant les cas potentiels ayant seulement une sérologie positive⁽¹⁰⁰⁾. En Turquie, une étude effectuée chez 2000 donneurs de sang sains a obtenu une prévalence de 1,3%, ce qui correspond à environ 1 : 77, en se basant sur les résultats d'anti-tTG⁽⁹²⁾. Des études ont également été effectuées au Moyen Orient chez des donneurs de sang sains. En Iran, la prévalence pour la MC était de 1 : 164, en Israël, 1 : 157 et en Syrie, aussi élevée que 1 : 66⁽⁵⁶⁾.

Une étude suédoise mentionne que la prévalence de la MC a augmenté au cours des 24 dernières années, en laissant supposer que cette augmentation serait principalement due à l'amélioration des tests de dépistage⁽⁵²⁾.

Une autre étude compile les résultats obtenus par différentes équipes de chercheurs⁽⁶³⁾. On note alors que la prévalence varie entre 1 : 389 et 1 : 87 en Europe, et qu'elle peut même atteindre le niveau record de 1 : 18 chez les populations sahariennes du nord de l'Afrique⁽⁵⁶⁾.

Il est intéressant de noter que certains chercheurs affirment que pour chaque patient diagnostiqué pour la MC, il y en aurait entre 3 et 7 qui ne le seraient pas^(17, 38, 73).

Groupes à risque

Certains groupes de personnes sont plus à risque de développer la MC, parce qu'ils souffrent d'un problème médical associé à la MC, ou encore pour des raisons génétiques. La prévalence plus élevée de MC chez les diabétiques était justement la raison pour laquelle nous les avons inclus dans notre projet d'étude. Le dépistage de masse dans la population générale étant encore contesté⁽⁶³⁾, il faut s'assurer de bien cibler les groupes à risque.

FAMILLE PROCHE

L'hérédité a un rôle très important dans la MC, particulièrement avec l'implication des gènes HLA. Il faut donc s'attendre à une prévalence supérieure chez les membres de la famille proche. Certaines études évaluent la prévalence de la MC chez les parents au premier degré à environ 1 : 25 – 1 : 20⁽⁴⁷⁾, d'autres études, à 1 : 10⁽⁵⁴⁾, et certaines vont même jusqu'à 1 : 5⁽³⁴⁾. Des chercheurs américains étudiant des familles chez qui au moins deux enfants étaient atteints de MC ont observé une prévalence de près de 1 : 7 chez les parents des patients, près de 1 : 5 chez leurs autres frères et sœurs, près de 1 : 7 pour leurs enfants, et 1 : 5 pour la parenté au deuxième degré⁽¹⁶⁾. On a également rapporté un taux de concordance supérieur à 70% chez des jumeaux monozygotes⁽⁵⁴⁾.

MALADIES AUTO-IMMUNES

D'autres maladies auto-immunes seraient reliées à la MC. Dans certains cas, il est cependant difficile de dire si elles sont concomitantes, ou si le non-traitement de l'une entraîne l'apparition de l'autre.

DMI

Une sensibilité particulière au gluten a été observée chez des patients diabétiques⁽⁹⁵⁾. Plusieurs études ont démontré que les gènes HLA-DQ2 et DQ8 étaient également présents chez les personnes diabétiques^(7, 82, 104). Le polymorphisme des gènes immuno-régulateurs CTLA-4 ainsi que de PTPN22 pourrait également expliquer la prévalence plus élevée de MC chez les patients atteints de DM I^(68, 99).

Certaines études européennes récentes citées par Fasano⁽³⁷⁾ situent la prévalence de la MC chez les enfants atteints de DM I entre 1 : 33 et 1 : 10, alors qu'elle se situerait entre 1 : 23 et 1 : 13 en Amérique du Nord. Une autre étude⁽⁴⁹⁾ a compilé les résultats de plusieurs chercheurs et a noté une prévalence variant entre 1 : 103 et 1 : 6, pour une moyenne de 1 : 22. Une étude autrichienne a quant à elle obtenu des résultats semblables avec environ 1 : 10⁽²⁶⁾, alors qu'une étude anglaise estime qu'un patient diabétique sur 22 développera la MC⁽²⁰⁾. Une étude franco-canadienne a obtenu une prévalence de 1 : 26⁽⁷¹⁾, tandis qu'une étude réalisée en Arabie Saoudite a obtenu 1 : 20⁽³⁾.

Quelques études ont démontré des résultats inférieurs. En Autriche, des chercheurs ont obtenu une prévalence de 1 : 67⁽⁸³⁾, en Tunisie, 1 : 43⁽¹⁹⁾, et en France, 1 : 42⁽¹³⁾.

THYROÏDITES AUTO-IMMUNES

On retrouve ici la thyroïdite d'Hashimoto⁽⁵³⁾ ainsi que la maladie de Graves. Cette dernière serait associée avec les gènes HLA-DR3 et HLA-DQA1, tandis que la thyroïdite d'Hashimoto serait surtout associée avec CTLA-4^(33,93), des gènes également impliqués chez les patients atteints de MC.

DERMATITE HERPÉTIFORME

70% à 100% des patients affligés de dermatite herpétiforme seraient atteints de MC, bien que très peu de patients cœliaques souffriraient de la dermatite⁽⁵³⁾.

SCLÉROSE EN PLAQUES

La sclérose en plaques a également été étudiée pour évaluer la possibilité d'une prévalence plus élevée en comparaison avec la population générale⁽⁸⁰⁾. Même si certains patients voient leurs symptômes diminuer lorsqu'ils suivent une DSG, la MC ne serait pas plus fréquente chez les personnes atteintes de sclérose en plaques⁽⁸⁰⁾.

DÉFICIT SÉLECTIF EN IGA

2,5% des patients atteints de MC souffriraient de déficit sélectif en IgA, ce qui est de 10 à 15 fois plus élevé que la prévalence dans la population en général^(47, 53). C'est un problème à considérer, surtout que plusieurs trousse de dépistage pour la MC sont à base d'IgA.

GENRE

Certaines études ont observé une présence de MC plus élevée chez les femmes. Une étude argentine a même observé que les femmes étaient deux fois plus atteintes que les hommes⁽⁴²⁾, tandis qu'une étude américaine obtenait une prédominance féminine de 2,9 : 1⁽⁴⁴⁾. Il faut cependant être prudent avec cette affirmation, parce que les femmes se présentent plus souvent chez les spécialistes pour des troubles fonctionnels divers. Elles subissent donc plus de tests de dépistage, permettant ainsi d'identifier plus facilement la forme atypique de la MC.

MOINS DE DEUX ANS

Sans être spécifiquement un groupe à risque, très peu d'études ont été réalisées sur des enfants de moins de deux ans. Par contre, les études effectuées identifient un manque de précision important pour ce qui est des tests de dépistage⁽⁴⁰⁾.

PROBLÈMES GÉNÉTIQUES

SYNDROME DE DOWN

Plusieurs études ont observé une prévalence variant entre 1 : 31 et 1 : 10 chez les patients souffrant de syndrome de Down^(37, 38, 47, 53).

AUTRES

Parmi les anomalies génétiques rencontrées chez des patients cœliaques, notons le syndrome de Turner^(38, 47, 53), le syndrome de Williams^(47, 54), ainsi que le syndrome de Sjögren⁽³⁸⁾.

DÉPISTAGE

Tel que vu précédemment, la MC est une affection assez fréquente, et il est nécessaire d'avoir des tests de dépistage performants pour l'identifier. Les tests sur les anticorps circulants sont non-invasifs et plus simples à effectuer que la prise de biopsie par endoscopie. Trois types de tests sanguins sont principalement utilisés, chacun ayant ses forces et ses faiblesses.

AAG

Le test AAG est un des premiers à avoir été développé. Il est habituellement effectué par la méthode ELISA. Des études ont démontré que sa sensibilité variait entre 52% et 100%, alors que la spécificité allait de 47% à 100%^(9, 21, 46, 47, 53, 71, 75). À quelques exceptions près, les résultats étaient plus élevés pour les AAG IgA que pour les IgG^(21, 46, 71).

Ce type de test serait particulièrement intéressant pour les enfants symptomatiques de moins de deux ans, parce que le test à base de EMA manque de sensibilité⁽⁵³⁾. De plus, le test par IgG permettrait de dépister efficacement les patients souffrant de la MC associée à une déficience en IgA⁽⁵³⁾. Par contre, le nombre très élevé de diabétiques présentant un taux d'AAG IgA supérieur à la normal sans présenter d'atteinte histopathologique laisse à penser qu'il ne s'agirait pas de faux positifs, suggérant plutôt une association pathologique entre le DM I et la MC⁽⁶⁰⁾. De plus, son association avec les lésions mineures de l'intestin est très faible chez les patients avec la présentation atypique ou silencieuse de la MC (0% pour le type I, et 30% pour le type II, chez les patients avec présentation atypique, et 0% dans les deux cas pour la présentation silencieuse)⁽⁹⁶⁾.

EMA

Les tests à base d'EMA sont effectués par immunofluorescence indirecte (IFI) sur des coupes de tissus (*Figure 1*, page 23). Il s'agit d'une méthode plus coûteuse, demandant beaucoup plus de temps de manipulation, peu adaptée au dépistage de

masse⁽³⁸⁾. La lecture est délicate, semi-quantitative (positif ou négatif), subjective et demande un personnel expérimenté⁽⁵³⁾.

Selon la littérature, ce test présente un manque de sensibilité chez les enfants de moins de deux ans^(24, 38, 53). Sa sensibilité augmenterait cependant en fonction de l'âge des patients⁽⁴⁰⁾. De plus, sa sensibilité est remise en cause avec les lésions intestinales de type IIIa et moins^(53, 69, 75), ainsi que pour les formes atypiques et silencieuses de la MC^(53, 96). Par contre, d'autres études ont observé une très grande efficacité chez les adultes, avec une sensibilité entre 85 et 100%, une spécificité supérieure à 95%, atteignant même 100%, une valeur prédictive positive (VPP) supérieure à 70% et une valeur prédictive négative (VPN) supérieure à 85% (approchant même 100% dans plusieurs cas)^(9, 40, 46, 47, 53, 71, 101). Certains avancent même que l'EMA permettrait d'identifier les formes latentes de MC⁽⁴¹⁾.

Deux techniques sont présentement utilisées, les lames préparées avec des coupes d'œsophage de singe, et celles préparées à partir de sections de cordon ombilical humain.

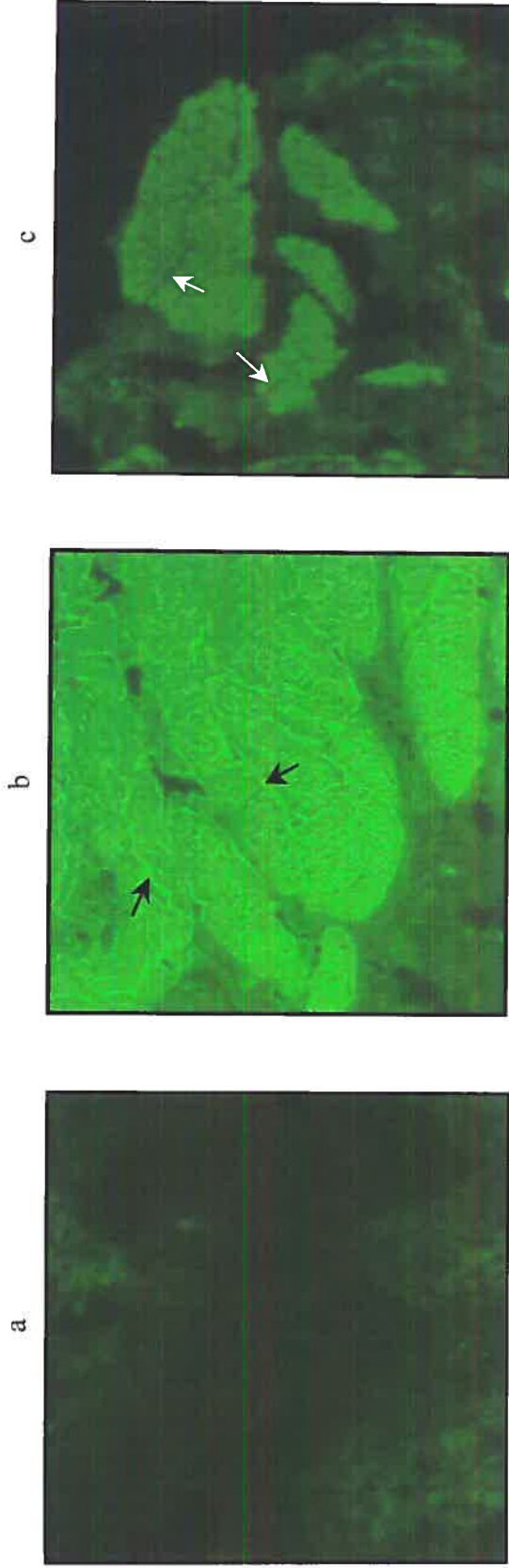
ŒSOPHAGE DE SINGE

Le coût de production est élevé, et il requiert le sacrifice d'espèces animales⁽⁵³⁾. La sensibilité et la spécificité sont bonnes (75-100% et 88-100% respectivement)^(75, 78).

CORDON OMBILICAL HUMAIN

Technique plus récente, certaines études lui octroient une sensibilité, une VPP et une VPN entre 87% et 100%^(41, 69, 75). La spécificité, quant à elle, varie entre 96% et 100%⁽⁷⁵⁾. Le test effectué sur la veine du cordon ombilical humain pourrait donc avantageusement remplacer le substrat de singe, pour une économie substantielle⁽⁶⁹⁾.

Figure 1 : Résultats de tests anti-endomysium.



Photomicrographies gracieuseté du Dr Ernest Seidman

- a) Test négatif. Aucune réaction d'immunofluorescence.
- b) Test positif. On observe bien la réaction du sérum avec l'endomysium (voir les flèches).
- c) Test négatif. Il s'agit de l'échantillon d'un patient présentant des anticorps contre le muscle lisse. L'absence de réaction au niveau de l'endomysium permet de confirmer le résultat du test.

Anti-tTG

Le test d'anti-tTG s'effectue par ELISA. La technique est rapide, semi-automatisée et s'adapte bien au dépistage de masse. Les études effectuées après l'an 2000 obtiennent une sensibilité entre 87% et 100%, et une spécificité entre 91% et 100%^(9, 38, 46, 71). Les tests de première génération étaient préparés à partir de tTG de cobaye (gpTG)⁽⁹⁷⁾, mais une seconde génération a rapidement pris le dessus avec des tTG d'origine humaine (hTG)⁽⁹⁷⁾.

Une étude australienne⁽¹⁰¹⁾ a comparé l'efficacité de sept trousse anti-gpTG. La sensibilité des trousse se situait entre 88% et 94%, alors que la spécificité était de 82-97%. Une étude française aurait observé que le test gpTG serait plus sensible que les EMA, mais moins spécifique⁽⁹⁴⁾.

HUMAIN

Une étude française aurait obtenu une sensibilité aussi élevée avec des hTG qu'avec des gpTG, mais la spécificité serait beaucoup plus élevée avec les premiers⁽⁹⁴⁾. Deux études récentes ont comparé l'efficacité des trousse commerciales chez des populations composées principalement d'adultes. La première⁽¹⁰¹⁾ a obtenu une sensibilité supérieure à 96% pour toutes les trousse, avec une spécificité variant entre 94% et 100%. La deuxième⁽⁹⁷⁾ a obtenu une sensibilité de 91-99%, et une spécificité supérieure ou égale à 99%.

Une étude anglaise mentionne qu'en présence d'EMA négatifs, un second test sérologique (anti-tTG, par exemple), ne permet pas de dépister beaucoup plus de cas⁽²⁸⁾, alors que certains auteurs affirment que les anti-tTG remplaceraient avantageusement les EMA⁽³⁵⁾. Il y aurait une concordance presque absolue entre les tests EMA et anti-tTG (98,7%)⁽³¹⁾, permettant une bonne corrélation entre les anti-tTG et les EMA, même si un test peut être positif alors que l'autre est négatif, et vice-versa⁽⁴⁾.

De nouvelles techniques sont également mises au point. Une équipe italienne a développé une méthode de *radio-immuno assay* (RIA) pour évaluer la présence d'anti-tTG dans la salive⁽¹⁴⁾.

DIAGNOSTIC

Comme leur nom l'indique, les tests de dépistage permettent d'identifier les sujets susceptibles d'être atteints de MC. Pour confirmer le diagnostic, il faut effectuer une biopsie duodénale.

Évolution des critères diagnostiques

En 1970, la société européenne de gastro-entérologie, hépatologie et nutrition pédiatrique (ESPGHAN) a émis des directives pour identifier les trois phases du diagnostic de la MC ⁽³⁸⁾. Premièrement, le résultat de la biopsie intestinale devait présenter une évidence d'aplatissement de la muqueuse. Ensuite, les signes cliniques devaient disparaître lorsque le patient suivait une DSG (à confirmer par biopsie, idéalement). Finalement, après avoir réintroduit une certaine quantité de gluten dans l'alimentation, les signes et symptômes devaient réapparaître, tout comme les anomalies pathologiques observées lors d'une nouvelle biopsie.

Les nouvelles lignes directrices émises en janvier 2005 ⁽⁴⁷⁾ diffèrent de celles datant de 1970. Premièrement, les individus susceptibles sont identifiés par des tests sérologiques. Ensuite, la présence des gènes HLA-DQ2 et DQ8 peut être confirmée. Un simple test permet ensuite de s'assurer que le patient ne souffre pas de déficience en IgA, ce qui pourrait fausser plusieurs tests de dépistage. En suivant les modifications apportées en 1990, les enfants de plus de deux ans ayant eu une biopsie positive et qui répondent bien à la DSG n'ont pas à subir de second biopsie .

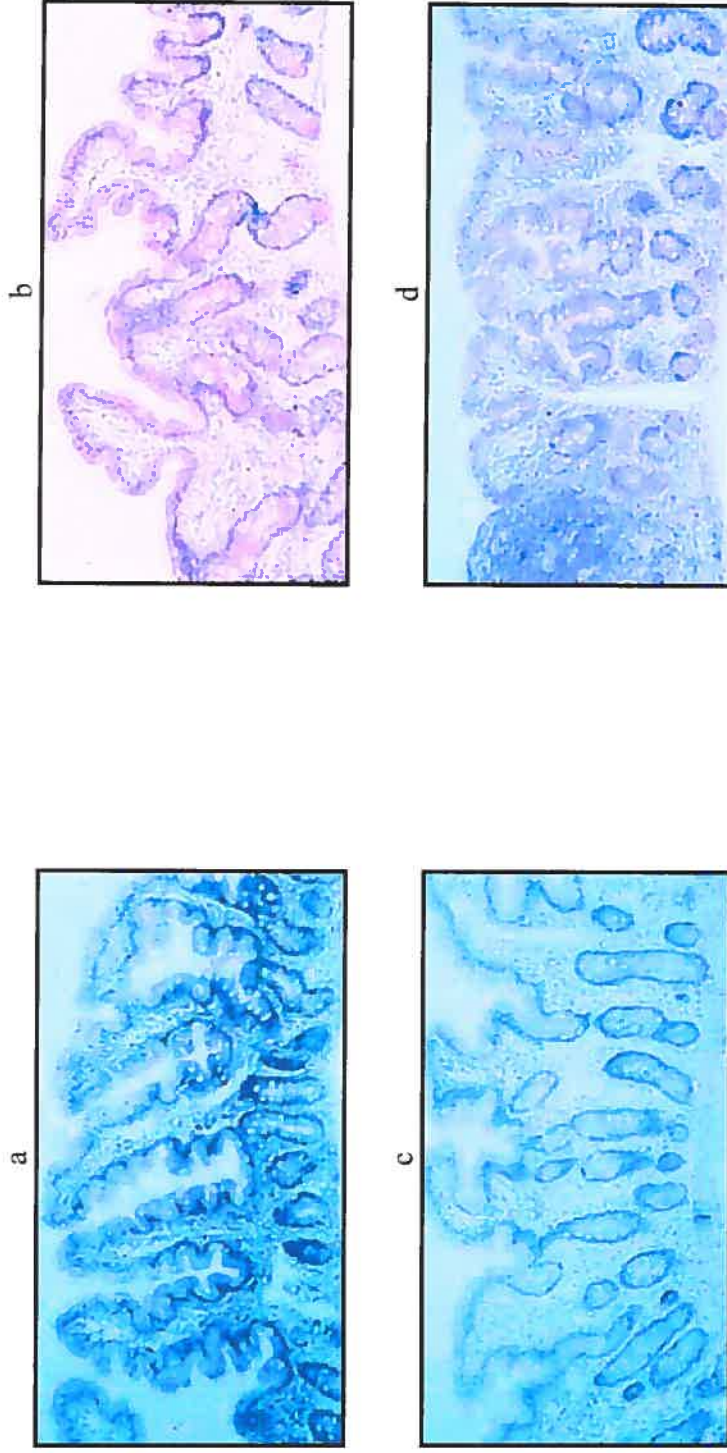
Biopsie duodénale

La biopsie duodénale est effectuée par endoscopie ou à l'aide d'une capsule à succion. Le patient pouvant présenter une atrophie villositaire multi-focale, il est important de récupérer plusieurs échantillons à divers endroits du duodénum ⁽¹⁵⁾.

Les échantillons recueillis sont observés pour déterminer le type de la lésion, selon la classification histopathologique modifiée de Marsh ^(64, 70). Les biopsies

devraient être évaluées par un pathologiste expérimenté capable de bien reconnaître les lésions gastro-intestinales, qui ne confondra pas une mauvaise orientation du fragment de biopsie avec un aplatissement de la muqueuse⁽⁴⁵⁾. Une biopsie présentant un type III est une caractéristique claire de MC, alors qu'un type II n'est pas aussi précis (*Figure 2*, page 27). La présence de type I n'est pas spécifique à la MC⁽⁴⁷⁾.

Figure 2 : Biopsie duodénale.



Photomicrographies gracieuseté du Dr Ernest Seidman

a) Muqueuse intestinale normale. b) Marsh Type IIIa : infiltration lymphocytaire et léger aplatissement des villosités.

c) Marsh Type IIIb : infiltration lymphocytaire et aplatissement marqué des villosités. d) Marsh Type IIIc : les villosités sont complètement atrophiées.

TRAITEMENT

Le seul traitement actuellement disponible est l'application d'une DSG à vie ^(38, 47, 61, 67, 76). Il est toujours souhaitable d'instaurer cette diète le plus rapidement possible après le diagnostic de la MC, mais amorcer ce type d'alimentation avant la biopsie risque de compromettre le résultat du test ⁽⁴⁷⁾. L'objectif de la DSG est d'éliminer les anomalies cliniques, biologiques et histologiques de la MC, en plus de réduire les risques de complications, telles que le lymphome malin non hodgkinien ⁽⁶¹⁾.

Au début de la DSG, il peut être nécessaire de suggérer au patient de prendre des suppléments de lactase, puisque les aliments qui contiennent du lactose peuvent aggraver les symptômes intestinaux déjà présents. Cette mesure est cependant temporaire, puisque la majorité des patients retrouveront une tolérance normale aux produits laitiers quelques jours ou quelques semaines après l'adhésion à la DSG ^(61, 67).

Diète sans gluten (DSG)

Pour bien comprendre les subtilités de cette nouvelle alimentation à adopter, il faut rencontrer un (ou une) professionnel (professionnelle) de la nutrition ⁽⁶⁷⁾. La DSG est un réel défi pour le médecin, le ou la nutritionniste et le patient, et la collaboration étroite de tous les intervenants est très importante ⁽⁶¹⁾.

ALIMENTS À ÉVITER

La règle d'or dit clairement que tout aliment contenant du gluten doit être évité. Ce qui paraît simple devient très vite extrêmement compliqué, puisque le gluten est presque omniprésent dans l'alimentation nord-américaine. En plus des sources évidentes telles que le blé, l'orge, le seigle et le triticale, il faut éviter leurs dérivés et tout aliment ou ingrédient qui peut avoir été contaminé ^(61, 67). Cela inclut, sans y être limité, la farine, l'amidon (même si la présence de gluten dans l'amidon de blé est contesté ⁽²²⁾), les produits céréaliers, les pâtes alimentaires, les charcuteries,

les mono- et diglycérides, les protéines végétales hydrolysées, le malt, les arômes et les épices^(61, 67, 87). De plus, certaines farines sont dérivées des céréales toxiques pour le patient cœliaque, ou elles ont probablement été contaminées lors de leur préparation. On retrouve le kamut, la semoule, l'épeautre, le quinoa, le millet et le sarrasin dans cette catégorie. Les produits à base d'avoine, bien qu'en principe sans gluten, sont souvent contaminés durant le processus (mouture, emballage, etc).

ALIMENTS À PRIVILÉGIER

Tout aliment ne contenant pas de gluten est inclus dans cette catégorie, c'est-à-dire le lait, la crème, le fromage, les viandes fraîches non assaisonnées commercialement, les pommes de terre, le maïs, le riz, le soya et leurs dérivés (à condition de ne pas être contaminés), les fruits et les légumes. Tout mets préparé à partir de ces aliments sera sécuritaire. Les épices pures, ainsi que les fines herbes non mélangées peuvent être utilisées pour assaisonner les plats^(61, 87).

Le point le plus important est de s'assurer de consommer tous les groupes d'aliments, selon les portions proposées par le guide alimentaire canadien. Il ne faut pas tout simplement éliminer les aliments fautifs, mais également les remplacer adéquatement pour éviter les carences nutritionnelles. Un (ou une) professionnel (professionnelle) en nutrition qui a de l'expérience avec la DSG est la personne désignée pour aider le patient.

SUPPLÉMENTS ALIMENTAIRES

Des suppléments alimentaires peuvent être suggérés ou prescrits au patient atteint de MC afin de rétablir sa balance nutritionnelle. Les plus fréquemment rencontrés sont : le fer, l'acide folique, le calcium et les vitamines liposolubles (A, D, E et K)^(61, 67). Cette supplémentation est habituellement temporaire, puisqu'une fois l'inflammation intestinale résorbée, l'absorption des nutriments se fait normalement, diminuant ainsi les risques de carence.

ASPECT TECHNIQUE

Il faut également éliminer tout contact avec des aliments contenant du gluten, pour éviter la contamination des aliments sains. Par exemple, si certains membres de la famille n'ont pas à se plier à une DSG, il faudrait utiliser deux contenants de condiments différents pour le beurre, la mayonnaise, le beurre d'arachides, etc. Se procurer un deuxième grille-pain qui sera utilisé uniquement pour les produits sans gluten est aussi nécessaire. Les surfaces de cuisson doivent être bien nettoyées, et l'huile à friture ne doit pas servir pour les aliments qui contiennent du gluten ⁽³⁸⁾.

Malheureusement pour les personnes atteintes de MC, il n'y a pas que les aliments qui peuvent contenir du gluten. La colle sur les timbres-poste et les enveloppes peut être une source de gluten, les hosties pour la communion, certaines marques de gomme à mâcher et aussi certains breuvages comme le lait malté, la bière et le whiskey ^(61, 87). De plus, certains médicaments contiennent de l'amidon de source non-spécifiée, donc contenant possiblement du gluten ^(61, 67, 87). Il est donc impératif de bien lire les étiquettes et de ne pas hésiter à questionner le pharmacien en cas de doute; il existe des listes de médicaments sans gluten, entièrement sécuritaires pour les personnes cœliaques, dans le Compendium des Produits Pharmaceutiques.

COMPLIANCE

La DSG devant être suivie à vie, il faut s'assurer que les patients respectent les recommandations. Il est souvent difficile d'accepter qu'un composant alimentaire aussi commun que le gluten puisse causer autant de dommage. Par contre, même si la baisse des taux sérologiques d'anticorps et la guérison de la muqueuse intestinale peut prendre jusqu'à un an, une amélioration clinique peut être observée en moins de 15 jours ^(61, 67, 87), ce qui encourage habituellement les patients symptomatiques à poursuivre la DSG.

Plusieurs études ont été menées pour évaluer l'observance de la diète par les patients, phénomène communément appelé compliance. Selon une étude effectuée chez 306 patients par le biais d'un questionnaire, 73% respecteraient la DSG à la lettre, 15% consommeraient du gluten occasionnellement, alors que 12%

continueraient à consommer une diète normale⁽⁴³⁾. Différents facteurs vont influencer la compliance chez les patients⁽²⁵⁾. La méthode de dépistage est très importante. Les patients qui ont été diagnostiqués lors d'un dépistage de masse (donc présentant peu ou pas de symptômes) ont une compliance plus faible que ceux qui souffraient d'une présentation classique de la MC⁽³⁶⁾. Certains jeunes ont de la difficulté à accepter les restrictions alimentaires imposées par la DSG, surtout parce que les symptômes peuvent disparaître momentanément durant l'adolescence⁽⁶⁷⁾. De plus, il arrive qu'une faible quantité de gluten ingérée ne cause pas l'apparition de symptômes⁽⁶²⁾, encourageant alors le patient à continuer de consommer certains aliments interdits.

Une bonne connaissance et compréhension de la DSG et des risques de complications en son absence assurent une compliance plus élevée⁽⁵⁵⁾. On observe également une meilleure observance du régime chez les filles et les enfants plus jeunes^(43,55). Une mauvaise connaissance de la DSG peut causer l'ingestion de gluten, bien involontaire, lorsque le patient ne sait pas que les aliments qu'il consomme en contiennent.

Les résultats d'études de compliance sont parfois trompeurs. Il a été démontré que certains jeunes ne peuvent se rappeler avec précision de ce qu'ils ont mangé la veille⁽¹²⁾. Même si certaines différences entre l'apport observé et celui rapporté sont intentionnelles, la plupart du temps, elles sont simplement fortuites. Le fait de questionner directement un enfant n'apporte pas nécessairement de meilleurs résultats⁽¹¹⁾. Par contre, certains patients vont faire des écarts avec leur DSG sans l'admettre ouvertement aux spécialistes de la santé. Les études sur la compliance, basées sur les résultats de biopsies seraient donc plus fiables.

ASPECT PSYCHOSOCIAL

L'exclusion d'aliments aussi communs que les produits de boulangerie ainsi que tous les autres aliments contenant du gluten peut entraîner plusieurs effets indésirables chez les patients : perte de convivialité parce que les choix alimentaires

doivent être différents et exclusion sociale parce que les autres peuvent trouver ce régime trop contraignant ⁽⁶¹⁾.

Certains adolescents vont délibérément laisser la DSG de côté pour continuer à manger comme leurs pairs, ou encore pour défier l'autorité parentale et médicale ⁽¹⁸⁾. Il est également difficile d'observer une DSG lors de sorties au restaurant, durant les repas d'affaire et en voyages ⁽⁶⁶⁾.

ASPECT FINANCIER

En considérant que la majorité des produits de boulangerie contiennent du gluten, il est facile de démontrer à quel point c'est un aliment qui fait partie de la vie de tous les jours. En 2002, il s'est vendu pour plus de 828 M\$ de produits de boulangerie dans les supermarchés du Québec ⁽⁵⁷⁾. Au cours de la même année, les canadiens ont consommé en moyenne 53 kg de farine de blé. En 1996, les dépenses annuelles moyennes par habitant pour le pain étaient de 54,21\$, alors qu'elles se situaient autour de 250\$ pour les produits de boulangerie divers ⁽⁹⁰⁾.

À cause de toutes les précautions nécessaires à leur préparation, les aliments sans gluten coûtent beaucoup plus cher que les aliments réguliers ⁽⁶¹⁾. Par exemple, durant la saison estivale, une douzaine de pains à hamburger réguliers peut coûter près de 1\$, alors qu'un seul pain sans gluten revient au même prix, lorsqu'il est acheté en paquet de six. Contrairement au Canada, le système de santé italien prend en charge les aliments sans gluten, ce qui correspond à environ 200\$ CAN par mois, pour un total de 2400\$ par année ⁽⁴³⁾.

En raison des coûts élevés de la nourriture sans gluten, certaines familles à revenu modeste ne peuvent fournir à leurs enfants les aliments requis par leur état de santé. Les frais demandés lors des rencontres avec les nutritionnistes et les frais d'adhésion aux associations de malades cœliaques peuvent également empêcher certains patients de jouir de ces services.

Nouvelles avenues

De nouvelles possibilités sont étudiées pour le traitement de la MC. Les biopsies duodénales étant plus accessibles, des thérapies immuno-modulatrices peuvent être vérifiées⁽⁸⁴⁾. Certains chercheurs essaient de modifier les gènes du blé pour le rendre sans gluten, ou suggèrent un traitement à base d'inhibiteurs de la tTG⁽⁸⁴⁾.

Il est aussi envisageable de pouvoir éliminer la toxicité du gluten par une thérapie à base de peptidases⁽⁸⁵⁾, puisque la prolyl endopeptidase produite par *Flavobacterium* permettrait la détoxification de l' α 2-gliadine de manière dose-dépendante⁽⁸⁶⁾. De plus, il serait possible de réduire les réactions immunitaires en identifiant les épitopes responsables de l'activation des cellules T reliées aux molécules HLA-DQ et DR⁽⁸⁹⁾.

COMPLICATIONS

Comme n'importe quelle affliction pathologique chronique, la MC sans traitement approprié n'est pas à l'abri des complications.

En absence de traitement

L'inflammation de la muqueuse intestinale associée à l'atrophie villositaire qui caractérise la MC empêchent l'absorption optimale des nutriments alimentaires. En l'absence de traitement adéquat, le patient cœliaque voit les risques de développer d'autres problèmes médicaux augmenter. Par contre, en suivant une DSG assidûment, les risques diminuent.

CARENCES NUTRITIONNELLES

ÉLÉMENTS CONSTITUTIFS DU CORPS HUMAIN

Chez l'enfant cœliaque non-traité, on observe un poids inférieur à la moyenne. De plus, la masse maigre des membres, tout comme la masse grasseuse et le pourcentage de masse grasseuse, est inférieure à celle des autres enfants du même âge^(10,25). Après l'instauration d'une DSG, les résultats redeviennent normaux. Chez l'adulte non-traité, on remarque une diminution significative du poids, de l'indice de masse corporelle et de l'apport énergétique, autant pour les hommes cœliaques que pour les femmes atteintes. De plus, les patients masculins sont de plus petite taille que les personnes ne souffrant pas de MC⁽⁸⁾.

OSTÉOPOROSE

L'ostéoporose étant fréquente chez les adultes cœliaques, une étude s'est penchée sur la densité osseuse des enfants et adolescents atteints de MC⁽⁶⁵⁾. Ils ont observé que la densité minérale osseuse (DMO), était significativement inférieure au niveau de la colonne vertébrale lombaire et pour le corps entier chez les enfants cœliaques, comparativement aux enfants sains. Une DSG permettrait un

rétablissement rapide de la DMO. L'absence de traitement de la MC pourrait par contre augmenter le risque de fractures jusqu'à 7 fois ⁽²⁵⁾.

VITAMINES ET MINÉRAUX

L'absorption du fer étant normalement concentrée dans l'intestin grêle proximal, il n'est pas étonnant que l'anémie ferriprive constitue l'anomalie la plus fréquemment rencontrée chez les patients non traités, jusqu'à 8% des patients selon une étude américaine ⁽⁴⁴⁾. Le taux de ferritine sérique, tout comme le folate érythrocytaire et le niveau de vitamine B₁₂, serait associé de façon significative avec l'atrophie totale des villosités ⁽²⁵⁾. Certains patients présenteraient également des taux plus bas de protéines, de zinc et de vitamine A ⁽²⁵⁾.

GROSSESSE

Le risque de bébé de faible poids à la naissance est presque six fois plus grand chez les femmes cœliaques non traitées, comparativement aux groupes contrôles et aux femmes suivant la DSG ⁽²⁵⁾. Les risques de fausses couches sont plus élevés, mais ils reviennent dans la normale si la patiente suit une DSG ⁽⁵⁸⁾. L'infertilité est plus fréquente chez les personnes atteintes de MC, mais quelques études la considère comme un facteur de risque plutôt qu'une complication ⁽⁷⁶⁾.

TUMEURS

Des tumeurs gastro-intestinales, principalement le lymphome, ont été identifiées chez des patients adultes ne suivant pas une DSG ^(18, 36, 44). On relie plus spécifiquement le lymphome malin non hodgkinien et le lymphome intestinal T à la non adhérence au régime sans gluten ⁽⁶¹⁾. Une étude de revue ⁽⁷⁶⁾ a bien évalué qu'il existait un risque accru de développer un lymphome en cas de non respect de la DSG, mais elle n'a pas été en mesure de le quantifier.

Risques associés au traitement

Bien que cela semble étrange, il existe également quelques risques associés au régime strict sans gluten. L'implication des professionnels en nutrition permet de diminuer ces risques au minimum.

GAIN DE POIDS

La muqueuse d'un patient atteint de MC n'absorbe pas les nutriments de façon optimale. Pour contrebalancer cette carence, certains patients augmenteront leur apport calorique journalier. Par contre, lors du traitement, la muqueuse guérira, permettant une meilleure absorption des nutriments de source alimentaire. Il est donc possible de noter un gain de poids parfois important chez les patients en rémission, si les habitudes alimentaires ne sont pas modifiées ⁽⁶⁷⁾.

CARENCES NUTRITIONNELLES

Les patients ne saisissant pas toutes les subtilités de la DSG peuvent rendre leur diète beaucoup trop restrictive, se privant ainsi d'un apport énergétique suffisant, en plus de créer des carences en macro- et micronutriments ⁽⁶⁷⁾.

CHAPITRE III :
MÉTHODOLOGIE

PATIENTS

Cette étude nécessitant la participation de sujets humains, même sans interaction directe, a été approuvée par le comité d'éthique à la recherche de l'hôpital Ste-Justine le 10 avril 2003.

Sélection des patients

Nous avons généré la liste de tous patients ayant subi une biopsie duodénale à l'hôpital Ste-Justine entre janvier 1997 et mai 2002, en utilisant la banque de données du département de pathologie. Cela représentait environ 2000 patients.

Ensuite, nous avons comparé cette liste avec la base de données du département de gastro-entérologie de l'hôpital, pour ne conserver que les patients ayant subi une biopsie dans le but de valider une suspicion de MC. Notre liste se trouvait ainsi donc réduite à environ 750 patients.

Dans un troisième temps, une vérification a été faite avec le laboratoire diagnostique de gastro-entérologie pour s'assurer que les sérums collectés lors de différents tests de dépistage avaient bien été conservés. Seuls les patients chez qui les échantillons sanguins avaient été prélevés au moment de la biopsie, ou au maximum trois mois auparavant, ont été inclus dans l'étude. Un échantillon collecté après la biopsie pourrait avoir été faussé par une DSG, et un échantillon prélevé trop longtemps avant la biopsie pourrait ne pas présenter les caractéristiques immunologiques recherchées. La taille de notre cohorte était donc de 236 patients.

Pour s'assurer de la fiabilité des résultats sérologiques, le même échantillon sanguin a été utilisé pour réaliser les tests avec chacune des trousse. Cependant, chez certains patients, la quantité de sérum a été insuffisante pour compléter la série de tests. Nous avons donc dû les exclure de l'étude, même si certains résultats avaient déjà été amassés. De cette façon, nous avons conservé une cohorte de 230 patients ayant subi tous les tests de dépistage, permettant ainsi une comparaison statistique valable.

Notre étude prospective se base donc sur une cohorte de 230 sujets d'un centre de référence tertiaire en gastro-entérologie pour les patients pédiatriques au Québec. Tous les patients présentaient au moins un signe et/ou symptôme caractéristique de la MC, ou faisaient partie d'un groupe à fort risque de développer la maladie. Chaque patient avait subi une biopsie duodénale pour confirmer ou informer le diagnostic de MC, et un échantillon sanguin avait été prélevé avant la biopsie pour effectuer des tests sérologiques de dépistage.

Étude des dossiers

Le dossier de chaque patient a été étudié. Pour chaque sujet, nous avons consigné le sexe, la date de naissance, la date de la biopsie ainsi que celle du prélèvement du sérum utilisé, les résultats de pathologie, la présence ou l'absence de DM I, ainsi que les signes et symptômes ayant mené à l'évaluation possible de MC.

Certains sujets avaient subi plus d'une biopsie duodénale. Lorsque la situation se présentait, nous récupérions tous les rapports de pathologie, consignnant à notre étude celui qui indiquait la présence de MC, ou le plus récent, si toutes les biopsies étaient négatives.

En tout temps, lorsque la biopsie suggérait la présence de MC, une attention plus particulière était portée au suivi du patient. Cela permettait de confirmer si les anomalies pathologiques détectées lors de l'intervention étaient bien causées par la MC. Une réponse positive à la DSG et une vérification avec le médecin traitant permettaient de confirmer le diagnostic.

Dans le but de conserver l'anonymat des patients, et aussi pour ne pas biaiser les résultats, chaque sujet était identifié par un code unique qui avait été apposé sur les tubes de sérum. Une liste distincte, permettant de relier les codes uniques d'identification aux informations personnelles des patients, avait été conservée, afin de valider certaines données en cas de besoin, tout au long de l'étude. Par contre, cette liste confidentielle n'accompagnait pas les résultats.

TESTS SÉROLOGIQUES

Anti-gliadine

Le niveau d'anticorps IgA anti-gliadine a été mesuré par ELISA. Il s'agit d'une méthode ayant fait ses preuves dans le passé⁽²¹⁾ et utilisée depuis de nombreuses années dans le laboratoire de gastro-entérologie de l'hôpital Ste-Justine. Cependant, quelques modifications mineures ont été apportées à la méthode originale, décrite par Chartrand et al. en 1997⁽²¹⁾. Premièrement, pour une meilleure réactivité, les sérums étudiés ont été dilués à 1 : 50 au lieu de 1 : 100 dans une solution de PBS-BSA 1% Tween (solution saline tampon phosphate [PBS; Gibco, Grand Island, NY], albumine de sérum bovin [BSA; Sigma Chemical Company, St.Louis, MO] et Tween 20 [Sigma]). Ensuite, la variation des résultats entre les échantillons d'un même spécimen étant négligeable, les sérums ont été testés en duplicata, au lieu des quatre exemplaires utilisés lors de l'étude de référence. Les autres réactifs utilisés pour les manipulations, tout comme les temps et températures d'incubation, sont demeurés identiques à la méthode de référence.

La densité optique a été mesurée à 490 nm, en utilisant un lecteur automatisé pour ELISA. Nous avons conservé le seuil de positivité de 0,25 unités ELISA (UE) suggéré par l'étude de référence puisqu'il permettait d'obtenir la meilleure sensibilité, tout en limitant les faux positifs pour l'échantillon étudié.

Anti-transglutaminase

Six trousse pour le dépistage d'anti-tTG de type ELISA, disponibles commercialement, ont été évaluées. Une trousse utilisait des tTG provenant de cobayes (gpTG), alors que les cinq autres ensembles testés recouraient à des tTG de source humaine (hTG). Les détails techniques pour chacune des trousse sont présentés dans le *Tableau I*, à la page 42.

Les indications du fabricant, fournies avec chacune des trousse utilisées, ont été respectées en tout temps. Les tests ont tous été effectués en duplicata, en respectant les contrôles négatifs et positifs demandés sur chaque plaque. Tous les

résultats de densité optique ont été mesurés à 490 nm, par un lecteur automatisé pour ELISA. Les résultats ont premièrement été analysés en prenant en considération le seuil de positivité suggéré par le manufacturier, mais les tests manquaient de spécificité. Nous avons donc ajusté le seuil de positivité de chacun des tests en fonction de la population de notre étude, pour obtenir une sensibilité et une spécificité supérieure ou égale à 95%.

Tableau I : Trousses utilisées pour les tests anti-transglutaminase

Trousse	Nom du produit	Source TG	Type d'anticorps	Code d'identification (manufacturier)	Numéro de lot	Manufacturier	Origine	Seuil positivité suggéré	Seuil positivité utilisé
IMMCO	ImmuLisa™	Cobaye	IgA	1157	210067	IMMCO Diagnostics, Inc	Buffalo, NY (USA)	20 - 25	30
INOVA	QUANTA Lite™	Humain	IgA	708760	270157	INOVA Diagnostics, Inc	San Diego, CA (USA)	20 - 30	30
IMMCO	ImmuLisa™	Humain	IgA + IgG	1144	121302	IMMCO Diagnostics, Inc	Buffalo, NY (USA)	20 - 25	30
IMMCO (2)	ImmuLisa™	Humain	IgA + IgG	1144	305009	IMMCO Diagnostics, Inc	Buffalo, NY (USA)	20 - 25	30
Pharmacia	Celikey™	Humain	IgA	181 96	BG20	Pharmacia Diagnostics GmbH & Co	Freiburg, Germany	1,0 - 1,4	1,4
The Binding Site	Bindazime™	Humain	IgA	MK038	95384	The Binding Site Ltd	Birmingham, UK	4 - 10	10

Anti-endomysium

Deux trousse de dépistage des EMA par immunofluorescence indirecte (IFI) disponibles commercialement ont été évaluées. Les détails techniques pour chacune des trousse sont présentés dans le *Tableau II*, à la page 44.

Les indications du fabricant, fournies avec chacune des trousse, ont été respectées en tout temps, cependant, le laboratoire de gastro-entérologie ayant obtenu plusieurs faux positifs avec la trousse *IMMCO* en utilisant la dilution des sérums suggérée de 1 : 2,5, nous avons plutôt utilisé la dilution 1 : 5. Chaque test a été effectué à l'aide d'un exemplaire du sérum, avec les contrôles négatifs et positifs appropriés.

Les lames ont été lues par deux observateurs. En seulement trois occasions, sur un total de 460 échantillons lors de la vérification des deux trousse utilisées, les résultats obtenus par les observateurs différaient, pour une variabilité inter-observateurs inférieure à 0,7%. À chaque fois, une seconde observation a permis une décision par consensus pour identifier l'échantillon comme étant négatif ou positif.

Tableau II : Trousses utilisées pour les tests anti-endomysium

Trousse	Nom du produit	Source EMA	Type d'anticorps	Code d'identification (manufacturier)	Numéro de lot	Manufacturier	Origine	Dilution suggérée	Dilution utilisée
IMMCO	ImmuGlo	Muscle lisse primate	IgA + IgG	1114	304072	IMMCO Diagnostics, Inc	Buffalo, NY (USA)	1 : 2,5	1 : 1,5
The Binding Site	Monkey Oesophagus IFA kit/slides	Oesophage singe	IgA	FS208.2	100130	The Binding Site Ltd	Birmingham, UK	1 : 10	1 : 10

ANALYSES STATISTIQUES

Nous avons utilisé le logiciel SPSS version 11.5 pour Windows afin de présenter les courbes de ROC (*receiver operating characteristic*) pour les trousse de dépistage à base d'AAG et de tTG utilisées. Nous avons également utilisé ces courbes afin d'établir le seuil de positivité de ces mêmes tests, en évaluant la valeur du test qui nous permettait d'obtenir le meilleur rapport 'sensibilité / spécificité'.

Dans cette étude, nous avons utilisé certaines définitions, basées sur le schéma suivant:

		Résultats du test sérologique	
		Positif	Négatif
Résultat de la biopsie	Positif	a	b
	Négatif	c	d

n =
a+b+c+d

- a) Précision : pourcentage des résultats corrects $[(a+d)/n]$,
- b) Sensibilité : proportion des patients positifs détectés par rapport au nombre total de patients positifs $[a/(a+b)]$,
- c) Spécificité : proportion des patients négatifs détectés par rapport au nombre total de patients négatifs $[d/(c+d)]$,
- d) VPP : proportion des vrais positifs parmi les positifs du test évalué $[a/(a+c)]$,
- e) VPN : proportion des vrais négatifs parmi les négatifs du test évalué $[d/(b+d)]$.

Afin de comparer la précision des trousse entre elles, nous avons utilisé la méthode non-paramétrique de DeLong et al. pour estimer l'aire sous la courbe⁽²⁹⁾. Notre choix a été justifié par la taille de notre échantillon et la nature semi-quantitative de nos données. Les aires sous la courbe étaient ensuite comparées à l'aide d'un test de khi carré classique, avec le logiciel statistique STATA, pour évaluer si les différents résultats obtenus avec chacune des trousse, pour la population générale et les sous-groupes étudiés, étaient significatives.

CHAPITRE IV :
RÉSULTATS

PATIENTS

Aspect démographique

L'hôpital Ste-Justine étant un établissement pédiatrique, tous les patients de l'étude avaient moins de 19 ans au moment de la biopsie.

En plus de vouloir identifier le test de dépistage de la MC le plus efficace en pédiatrie, notre étude avait également pour but de comparer la précision des tests chez deux sous-populations distinctes – les enfants de deux ans et moins et ceux atteints de DM I. Pour mieux observer les particularités de ces sous-groupes, nous avons comparé ces patients aux autres qui ne représentaient pas ces caractéristiques, au lieu de les comparer à la population générale étudiée.

Le *tableau III*, à la page 48, résume les informations démographiques pertinentes quant à la taille de l'échantillon étudié, l'âge des patients, leur sexe ainsi que la présence ou l'absence de MC confirmée par biopsie.

Tableau III : Données démographiques sur les patients de l'étude

	Population			
	Générale	Enfants 2 ans et moins	Enfants plus de 2 ans	Sans DM I
Nombre	230	60	170	204
Sexe (garçons/filles)	123 / 107	32 / 29	91 / 79	111 / 93
Cœliaques / Non-cœliaques	31 / 199	9 / 51	22 / 148	20 / 184
Âge moyen à la biopsie (années)	7,06	1,34	9,08	6,38
Écart (années)	0,53 - 18,47	0,53 - 2,00	2,03 - 18,47	0,53 - 18,47
				DM I
				26
				12 / 14
				11 / 15

Résultats de biopsie

Puisque notre étude consistait à valider la fiabilité des tests de dépistage disponibles, il fallait premièrement déterminer si les patients dont nous évaluons les sérums étaient ou non atteints de MC. La référence en ce domaine étant toujours la biopsie duodénale, nous avons récupéré les rapports de pathologie rédigés à la suite des biopsies afin de noter les lésions observées sur les spécimens récupérés lors de l'intervention.

Les biopsies ont été évaluées selon les critères de la classification histopathologique modifiée de Marsh ^(64, 70). Dans le cadre de notre étude, un patient était considéré négatif si la biopsie était de type 0 ou I, conformément aux recommandations récentes de l'association de gastro-entérologie pédiatrique de l'Amérique du Nord ⁽⁴⁷⁾. À l'opposé, si la biopsie était de type égal ou supérieur à II, ce patient était déclaré positif pour la MC.

Le *tableau IV*, page 50, expose la répartition – en nombres absolus et en proportions - des patients selon les différents types de la classification modifiée de Marsh. Puisque aucun sujet ne présentait de lésion de type IV, nous n'avons pas inclus cette catégorie dans le tableau.

Tableau IV : Répartition des patients selon la classification histopathologique modifiée de Marsh

	n	Degré de Marsh n %											
		0	I	II	IIIa	IIIb	IIIc						
Tous les patients	230	126	54,78	65	28,26	8	3,48	2	0,87	18	7,83	11	4,78
Négatifs	199	126	63,32	65	32,66	7	3,52	0	0,00	1	0,50	0	0,00
Positifs	31	0	0,00	0	0,00	1	3,23	2	6,45	17	54,84	11	35,48
Enfants 2 ans et moins	60	33	55,00	16	26,67	2	3,33	0	0,00	5	8,33	4	6,67
Négatifs	51	33	64,71	16	31,37	2	3,92	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Positifs	9	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	5	55,56	4	44,44
Enfants plus de 2 ans	170	93	54,71	49	28,82	6	3,53	2	1,18	13	7,65	7	4,12
Négatifs	148	93	62,84	49	33,11	5	3,38	0	0,00	1	0,68	0	0,00
Positifs	22	0	0,00	0	0,00	1	4,55	2	9,09	12	54,55	7	31,82
DM I	26	8	30,77	7	26,92	0	0,00	2	7,69	6	23,08	3	11,54
Négatifs	15	8	53,33	7	46,67	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Positifs	11	0	0,00	0	0,00	0	0,00	2	18,18	6	54,55	3	27,27
Sans DM I	204	118	57,84	58	28,43	8	3,92	0	0,00	12	5,88	8	3,92
Négatifs	184	118	64,13	58	31,52	7	3,80	0	0,00	1	0,54	0	0,00
Positifs	20	0	0,00	0	0,00	1	5,00	0	0,00	11	55,00	8	40,00

La proportion des patients cœliaques dans les différents sous-groupes n'étant pas toujours semblable à celle de la population globale étudiée (42% chez les diabétiques, contre 13% dans l'ensemble de la cohorte), nous avons préféré comparer la distribution des grades en ne conservant que les patients positifs, qui nous intéressent plus particulièrement. La *figure 3*, à la page 52, nous montre cette répartition pour les enfants de deux ans et moins (*figure 3a*) et les patients atteints de DM I (*figure 3b*).

Le nombre restreint de patients positifs dans ces sous-groupes empêche la généralisation des résultats, mais les données semblent indiquer que les patients de moins de deux ans présentent des lésions plus sévères, alors que les patients diabétiques souffrent de lésions moins importantes. Il serait cependant risqué d'étendre cette observation à la population pédiatrique en général.

Figure 3 : Distribution du grade de Marsh chez les patients atteints de la maladie cœliaque

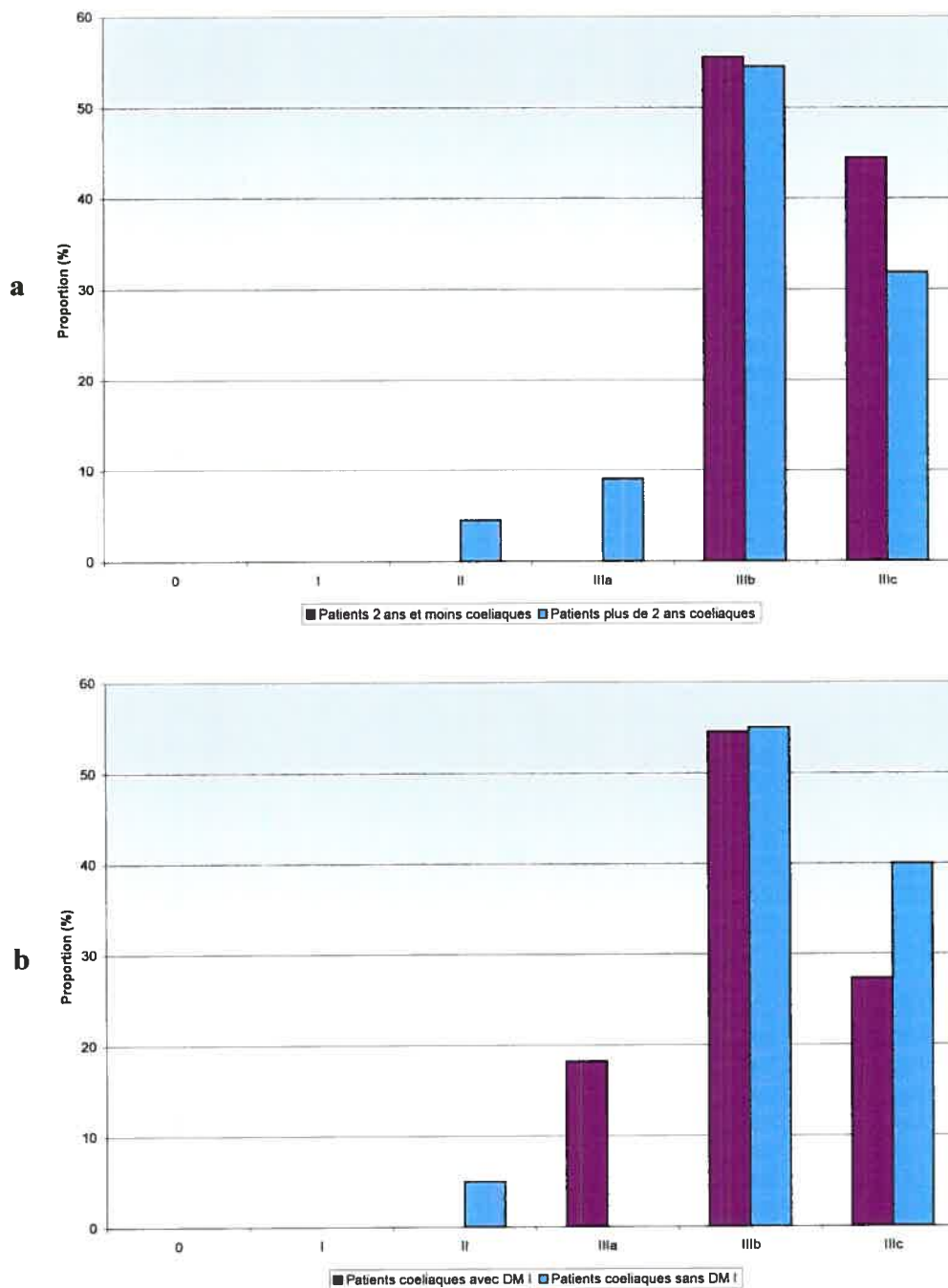


Figure 3a: Distribution du grade de Marsh pour les patients de deux ans et moins, en les comparant à ceux de plus de deux ans.

Figure 3b: Distribution du grade de Marsh selon la présence ou l'absence de DM I

Signes et symptômes

Les signes et symptômes caractéristiques de la MC étaient recherchés et notés lors de la revue des dossiers. Quelques patients étaient identifiés comme étant asymptomatiques, souvent parce qu'ils avaient été testés lors de programmes de dépistage massif, parce qu'ils faisaient partie d'un groupe à risque.

Le *tableau V*, à la page suivante, fait état de la fréquence des signes et symptômes répertoriés. Puisque la plupart des patients présentaient plus d'un signe et/ou symptôme, la somme des données se trouve à être supérieure à 100%. Le nombre de signes et symptômes présentés en moyenne pour chaque catégorie de patients y est aussi indiqué.

Tableau V : Signes et symptômes

	n	Fréquence des symptômes (%)										Nombre de symptômes présentés
		Diarrhée chronique	Constipation	Retard Staturo-pondéral	Douleurs abdominales	Anémie	Distension abdominale	Nausée et reflux	Asymptomatique			
Tous les patients	230	39,6	10,4	47,0	46,5	19,6	17,8	38,7	4,8	2,2		
Négatifs	199	39,7	9,1	48,7	49,3	17,6	16,1	41,7	3,0	2,2		
Positifs	31	38,7	19,4	35,5	29,0	32,3	29,0	19,4	16,1	2,0		
Enfants 2 ans et moins	60	38,3	11,7	81,7	5,0	23,3	11,7	40,0	3,3	2,1		
Négatifs	51	33,3	9,8	84,3	5,9	19,7	7,8	39,2	3,9	2,0		
Positifs	9	66,7	22,2	66,7	0,0	55,6	33,3	44,4	0,0	2,9		
Enfants plus de 2 ans	170	40,0	10,0	34,7	61,2	18,2	20,0	38,2	5,3	2,2		
Négatifs	148	41,9	8,8	36,5	64,2	17,6	18,9	42,6	2,7	2,3		
Positifs	22	27,3	18,2	22,7	40,9	22,7	27,3	9,1	22,7	1,7		
DM I	26	11,5	7,7	7,7	61,5	3,9	11,5	34,6	26,9	1,4		
Négatifs	15	6,7	13,3	0,0	80,0	0,0	6,7	53,3	13,3	1,6		
Positifs	11	18,2	0,0	18,2	36,4	9,1	18,2	9,1	45,5	1,1		
Sans DM I	204	43,1	10,8	52,0	44,6	21,6	18,6	39,2	2,0	2,3		
Négatifs	184	42,4	8,7	52,7	46,7	19,0	16,9	40,8	2,2	2,3		
Positifs	20	50,0	30,0	45,0	25,0	45,0	35,0	25,0	0,0	2,6		

En portant notre attention sur le dernier tableau, nous pouvons observer des différences dans la présentation des symptômes sur trois plans différents. Premièrement, il est intéressant de noter à quel point les symptômes diffèrent chez les patients cœliaques et ceux qui ne le sont pas (*figure 4*). Deuxièmement, on observe une différence importante quant à la fréquence des douleurs abdominales et du retard staturo-pondéral chez les enfants de deux ans et moins, par rapport aux enfants plus âgés (*figure 5a*, page 57). Finalement, les symptômes qui amènent un enfant diabétique à subir un dépistage pour la maladie cœliaque sont différents de ceux présentés par les jeunes non-diabétiques. En particulier, il y a plus de patients souffrant de DM I qui sont asymptomatiques en comparaison avec les non-diabétiques, alors que le retard staturo-pondéral est une caractéristique beaucoup moins importante (*figure 5b*, page 57).

Figure 4 : Signes et symptômes présentés chez les patients cœliaques et non-cœliaques

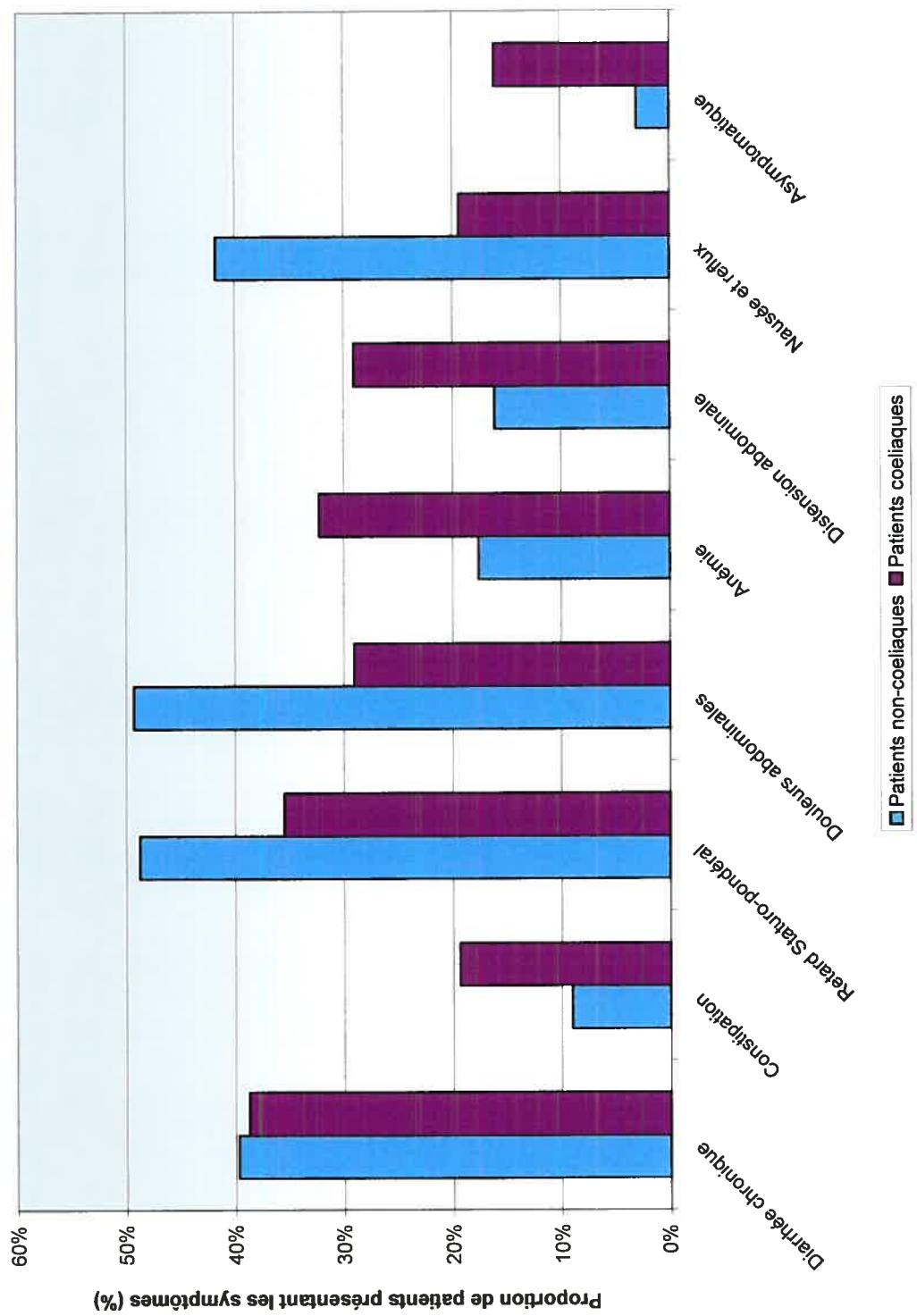


Figure 5 : Signes et symptômes présents dans les sous-groupes étudiés

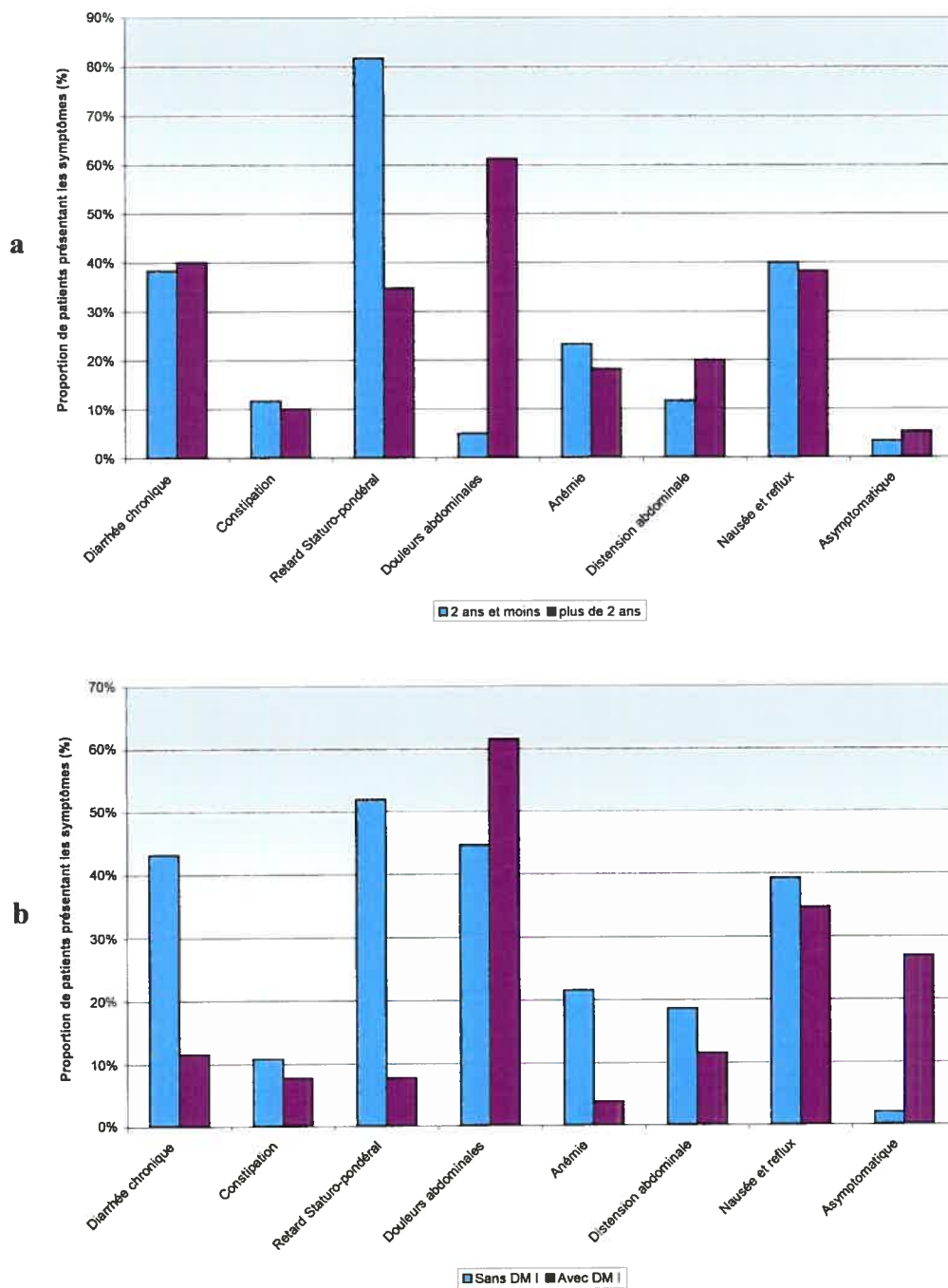


Figure 5a: Distribution comparative des signes et symptômes chez les enfants de deux ans et moins, ainsi que chez les enfants de plus de deux ans.

Figure 5b: Distribution comparative des signes et symptômes chez les enfants diabétiques, et ceux qui ne le sont pas.

TESTS SÉROLOGIQUES

L'étendue des données variait pour chaque test évalué. Pour les AAG, les valeurs allaient de 0,04 à 1,21 UE, avec un seuil de positivité de 0,25 UE.

Pour les tests anti-tTG, gpTG *IMMCO* s'étendait de 1,78 à 125,01 UE/mL. Pour hTG *INOVA*, c'était de 1,29 à 60,68 unités (U). Pour hTG *IMMCO*, les valeurs s'étendaient de 1,77 à 104,78 UE/mL pour la première tentative, et de 1,89 à 106,08 UE/mL pour la seconde. Pour hTG *Pharmacia*, les données variaient entre 0 et 5,80 U/mL, tandis que pour *The Binding Site*, les valeurs se situaient entre 1,44 et 18,02 U/mL.

Le *tableau VI*, à la page 59, présente une compilation des valeurs moyennes des anticorps dans les sérums testés, avec le seuil de positivité utilisé, que le patient soit cœliaque ou non, et aussi en fonction du sous-groupe étudié.

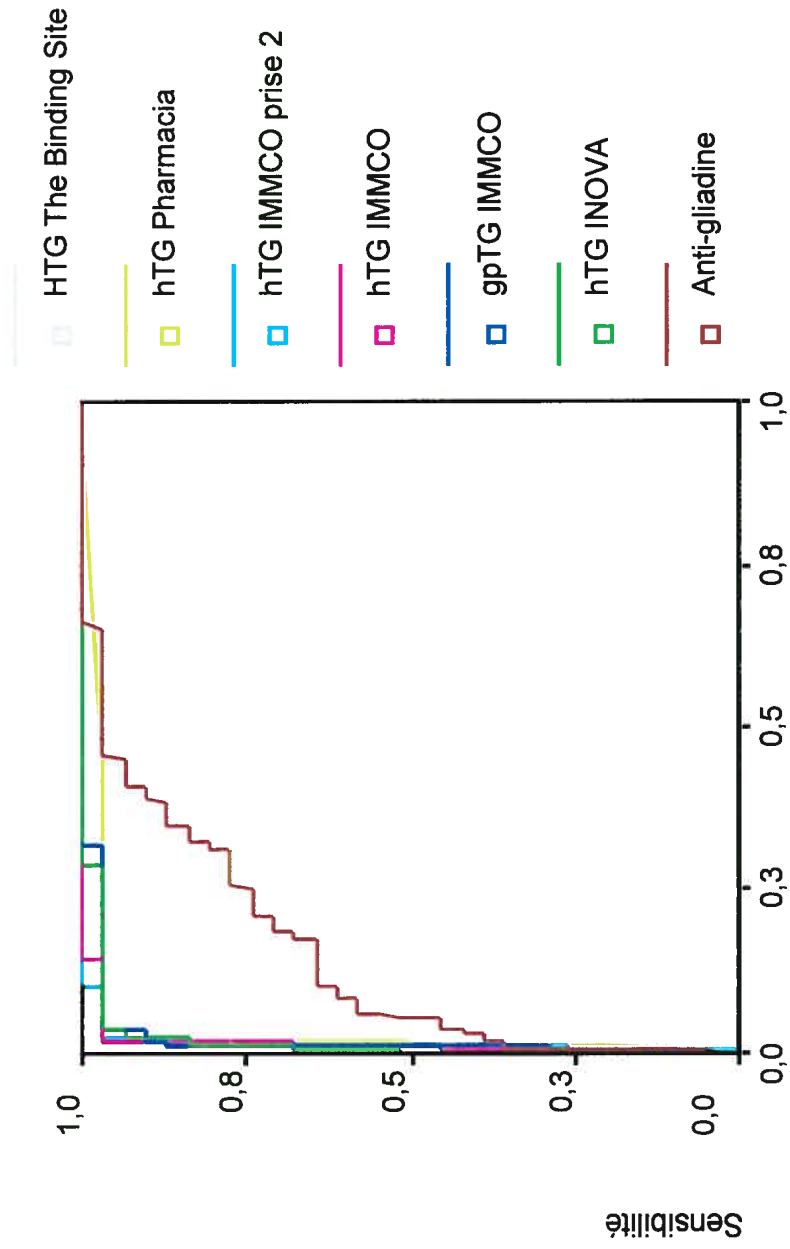
Tableau VI : Taux sérologique moyen pour les tests anti-gliadine et anti-transglutaminase

	n	AG Trousse Maison (UE)	Taux sérologique moyen							hTG The Binding Site (U/mL)
			gpTG IMMCO (UE/mL)	hTG INOVA (U)	hTG IMMCO (UE/mL)	hTG IMMCO prise 2 (UE/mL)	hTG Pharmacia (U/mL)	hTG		
Seuil de positivité utilisé		0,25	30	30	30	30	30	1,4	10	
Tous les patients	230	0,29	20,54	11,62	20,65	19,01	0,88	4,67		
Négatifs	199	0,22	9,85	6,07	11,08	9,12	0,28	2,96		
Positifs	31	0,70	89,17	47,21	82,08	82,44	4,76	15,61		
Enfants 2 ans et moins	60	0,34	19,61	11,10	18,95	17,22	0,81	4,48		
Négatifs	51	0,22	5,42	4,00	6,53	5,28	0,10	2,40		
Positifs	9	0,99	100,03	51,35	89,35	84,92	4,87	16,26		
Enfants plus de 2 ans	170	0,27	20,86	11,80	21,25	19,63	0,91	4,73		
Négatifs	148	0,22	11,37	6,79	12,65	10,45	0,34	3,15		
Positifs	22	0,58	84,72	45,52	79,11	81,42	4,71	15,34		
DM I	26	0,51	53,19	30,12	51,83	50,80	2,64	10,05		
Négatifs	15	0,39	22,58	17,18	27,44	21,86	0,87	5,60		
Positifs	11	0,68	94,93	47,78	85,09	90,27	5,05	16,12		
Sans DM I	204	0,26	16,38	9,26	16,68	14,95	0,66	3,98		
Négatifs	184	0,21	8,81	5,17	9,75	8,09	0,23	2,75		
Positifs	20	0,71	85,99	46,90	80,43	78,13	4,60	15,33		

Une fois les résultats sérologiques compilés, nous avons tracé les courbes de ROC à l'aide du logiciel SPSS version 11.5 pour Windows, pour les trouses à base d'AAG et d'anti-tTG. Les résultats pour les EMA ne pouvant être que soit négatifs, soit positifs, il était impossible de tracer une telle courbe pour cette catégorie de tests.

En combinant les courbes des tests anti-tTG, nous avons pu observer à quel point les trouses sont similaires à l'intérieur d'une même catégorie. La *figure 6* (page 61) compare les courbes pour les anti-tTG, tout en incorporant la courbe des AAG, pour mettre en contraste les résultats obtenus pour ce test.

Figure 6 : Courbes de ROC comparant la sensibilité / spécificité des tests anti-tTG et AAG



1 - Spécificité

À la page suivante, le *tableau VII* présente la précision (qui correspond également à l'aire sous la courbe calculée avec la méthode de DeLong⁽²⁹⁾) pour chacune des trousse testées, en fonction des sous-groupes étudiés.

Il n'y a pas de différence statistiquement significative si on compare les différentes trousse anti-tTG (incluant la trousse gpTG) entre elles, même chose pour les trousse EMA.

On n'obtient toujours pas d'écart significatif si on compare les trousse anti-tTG avec les EMA ($p > 0,2$), mais par contre, il y a une différence importante entre les anti-tTG et les AAG, ainsi qu'entre les EMA et les AAG ($p < 0,001$ dans les deux cas).

Puisque le test AAG est clairement moins performant que les anti-tTG et les EMA, nous allons limiter nos observations à ces deux derniers.

Même si les résultats semblent un peu plus précis chez les enfants de deux ans et moins, la différence n'est pas significative ($p > 0,11$ pour les anti-tTG et $p > 0,14$ pour les EMA).

Il y a une disparité plus marquée pour les patients atteints de DM I. Les six trousse anti-tTG sont moins précises chez les diabétiques, et cinq le sont de façon significative (*Tableau VIII*, à la page 64). La précision plus élevée de la deuxième trousse hTG *IMMCO* a rendu l'écart dans la précision entre les diabétiques et les non-diabétiques non-significative.

Pour les trousse EMA chez les patients atteints de DM I, on remarque que la trousse *The Binding Site* est moins précise, mais que la trousse *IMMCO* ne présente pas de différence significative.

De plus, il n'y a pas de différence significative entre la précision chez les patients cœliaques et ceux qui ne le sont pas dans la population générale étudiée. Par contre, il nous est impossible de faire le même constat au sein des sous-groupes de l'étude, le nombre de patients cœliaques étant trop restreint.

Tableau VIII : Degré de signification des troussees anti-transglutaminase et anti-endomysium chez les enfants diabétiques

	n	Précision (% de résultats véridiques)								Degré de signification (p-value)	0,05	< 0,001	0,27 *	0,007	< 0,001	0,08 *	0,007	
		gpTG IMMCO	hTG INOVA	hTG IMMCO	hTG IMMCO prise 2	hTG Pharmacia	hTG The Binding Site	EMA IMMCO	EMA The Binding Site									
DM I	26	88,46	84,62	80,77	92,31	88,46	84,62	92,31	88,46									
Sans DM I	204	96,57	98,04	97,06	96,57	98,04	98,04	98,04	98,04									
Degré de signification (p-value)																		

* = valeur non significative

En calculant la *précision* (faculté d'identifier correctement si le patient est bel et bien cœliaque, ou au contraire, confirmer qu'il n'est pas atteint), la *sensibilité* (s'assurer de dépister le plus de patients possible), la *spécificité* (limiter le nombre de faux positifs), la *valeur prédictive positive* (être en mesure de dire qu'un test positif est une prédiction fiable d'une biopsie positive) et la *valeur prédictive négative* (diminuer les probabilités qu'un test sérologique négatif cache une biopsie positive), nous pouvons estimer la valeur réelle d'une trousse de dépistage. Le *tableau IX*, présenté à la page 66), expose les données pour la population de l'étude, ainsi que pour les sous-groupes qui nous intéressent.

Encore une fois, les résultats sont semblables à l'intérieur d'une même classe de tests. La seule donnée qui paraît varier plus fortement est la VPP.

Tout comme la précision, la sensibilité, la spécificité, la VPP et la VPN sont légèrement plus élevées chez les enfants de deux ans et moins. Chez les diabétiques, seules la précision, la spécificité et la VPP sont sensiblement plus faibles, les autres valeurs étant un peu plus élevées par rapport aux autres enfants.

Tableau IX : Précision et autres valeurs statistiques des troussees sérologiques utilisées

	Précision (%)		sensibilité (%)		spécificité (%)		VPP (%)		VPN (%)	
	< 2 ans	> 2 ans	< 2 ans	> 2 ans	< 2 ans	> 2 ans	< 2 ans	> 2 ans	< 2 ans	> 2 ans
Tous les patients										
AG Trousse Maison	74,35		77,42		73,87		31,58		95,45	
gpTG IMMCO	95,65		96,77		95,48		76,92		99,48	
hTG INOVA	96,52		96,77		96,48		81,08		99,48	
hTG IMMCO	95,22		96,77		94,97		75,00		99,47	
hTG IMMCO prise 2	96,09		96,77		95,98		78,95		99,48	
hTG Pharmacia	96,96		96,77		96,98		83,33		99,48	
hTG The Binding Site	96,52		96,77		96,48		81,08		99,48	
EMA IMMCO	97,39		96,77		97,49		85,71		99,49	
EMA The Binding Site	96,96		93,55				85,29		98,98	
Patients 2 ans et moins										
AG Trousse Maison	75,00	74,12	100,00	68,18	70,59	75,00	37,50	28,85	100,00	94,07
gpTG IMMCO	98,33	94,71	100,00	95,45	98,04	94,59	90,00	72,41	100,00	99,29
hTG INOVA	98,33	95,88	100,00	95,45	98,04	95,95	90,00	77,78	100,00	99,30
hTG IMMCO	98,33	94,12	100,00	95,45	98,04	93,92	90,00	70,00	100,00	99,29
hTG IMMCO prise 2	98,33	95,29	100,00	95,45	98,11	95,27	90,00	75,00	100,00	99,30
hTG Pharmacia	100,00	95,88	100,00	95,45	100,00	95,95	100,00	77,78	100,00	99,30
hTG The Binding Site	98,33	95,88	100,00	95,45	98,04	95,95	90,00	77,78	100,00	99,30
EMA IMMCO	100,00	96,47	100,00	95,45	100,00	96,62	100,00	80,77	100,00	99,31
EMA The Binding Site	98,33	96,47	88,89	95,45	100,00	96,62	100,00	80,77	98,08	99,31
DM I										
AG Trousse Maison	53,85	76,96	72,73	80,00	40,00	76,63	47,06	27,12	66,67	97,24
gpTG IMMCO	88,46	96,57	100,00	95,00	80,00	96,74	78,57	76,00	100,00	99,44
hTG INOVA	84,62	98,04	100,00	95,00	73,33	98,37	73,33	86,36	100,00	99,45
hTG IMMCO	80,77	97,06	100,00	95,00	66,67	97,28	68,75	79,17	100,00	98,44
hTG IMMCO prise 2	92,31	96,57	100,00	95,00	86,67	96,74	84,62	76,00	100,00	99,44
hTG Pharmacia	88,46	98,04	100,00	95,00	80,00	98,37	78,57	86,36	100,00	99,45
hTG The Binding Site	84,62	98,04	100,00	95,00	73,33	98,37	73,33	86,36	100,00	99,45
EMA IMMCO	92,31	98,04	100,00	95,00	86,67	98,37	84,62	86,36	100,00	99,46
EMA The Binding Site	88,46	98,04	100,00	90,00	80,00	98,91	78,57	90,00	100,00	98,91

CHAPITRE V :
DISCUSSION

PATIENTS

Aspects démographiques

Pour bien apprécier les résultats démographiques de notre étude, il faut garder en tête que tous les patients évalués avaient été référés à la clinique de gastro-entérologie de l'hôpital Ste-Justine pour une suspicion de MC, ou parce qu'ils faisaient partie d'un groupe d'enfants à risque plus élevé de développer la maladie.

Dans l'échantillon de notre étude, la prévalence de MC était de 31 patients sur un total de 230, ce qui correspond à 13,5%. La prévalence dans notre cohorte est conforme à la fréquence habituellement remarquée pour une population à risque de MC étudiée dans les autres centres de référence⁽⁷⁶⁾. L'hôpital Ste-Justine est un centre tertiaire de référence pour des patients pédiatriques au Québec.

Chez les enfants de moins de deux ans, 9 patients étaient atteints de MC, sur un total de 60, ce qui correspond à 15%. Encore une fois, cette prévalence correspond à ce que l'on serait en droit d'espérer selon la littérature, toujours en se comparant à d'autres populations suspectées de MC dans un centre de référence.

Parmi la population atteinte, nous avons 14 garçons et 17 filles. Cela représente une prévalence de 11,4% chez les patients masculins, et 15,9% chez les patientes. Cependant, notre cohorte est trop restreinte pour conclure que la MC est plus fréquente chez les filles que chez les garçons, comme l'ont fait deux études précédentes^(42, 44).

Signes et symptômes

Premièrement, il est normal de noter que très peu de patients non atteints de MC sont asymptomatiques, puisque notre cohorte était composée de patients référés à la clinique de gastro-entérologie pour une suspicion de MC. Chez les enfants de deux ans et moins, on note une fréquence beaucoup plus élevée pour le retard staturo-pondéral, mais seulement 5% des patients se plaignaient de douleurs abdominales,

contre 61% des enfants plus vieux. La dernière observation peut s'expliquer par le fait que les enfants plus jeunes expriment leur douleur de façon moins précise, alors que les enfants de plus de deux ans peuvent décrire avec plus de détails les douleurs ressenties. Pour ce qui est du retard staturo-pondéral, il pourrait s'expliquer par le fait que les enfants plus âgés ne présentent pas d'atteintes au niveau du grêle, permettant une meilleure assimilation des nutriments. Par contre, la malabsorption est plus fréquemment rencontrée chez les enfants de deux ans et moins.

Les patients diabétiques présentaient en moyenne moins de signes et symptômes que les patients non atteints de DM I (1,38 contre 2,30). Parmi les 11 patients diabétiques atteints de MC, 5 ne présentaient aucun signe et/ou symptôme particulier, alors que tous les autres patients cœliaques présentaient au moins un signe ou symptôme. Le dépistage de la MC étant suggéré de façon systématique chez les enfants diabétiques à l'hôpital Ste-Justine, il est normal d'obtenir une proportion plus élevée de patients asymptomatiques.

RÉSULTATS D'ANALYSES

Nous avons tenté de vérifier s'il existait une corrélation entre le taux sérologique moyen, pour chacune des trousses évaluées, et la sévérité des lésions selon la classification modifiée de Marsh. En conservant les patients négatifs et positifs, on observait naturellement une relation entre les deux, expliquée par le fait que la majorité des sujets non atteints (Marsh type 0 et I) présentaient une sérologie négative, alors que tous les patients cœliaques (Marsh type II et plus), à l'exception d'un seul, présentaient un taux sérologique d'anti-tTG supérieur au seuil recherché. En ne retenant que les patients donc la MC était confirmée, nous n'étions plus en mesure d'établir une corrélation significative, puisque seulement trois patients présentaient des lésions intestinales moins sévères (type II et IIIa) (*Figure 7*, à la page 73).

Précision des trousses de dépistage

Tel que prévu, la précision du test AAG est très inférieure à celle des anti-tTG et des EMA⁽⁷⁶⁾. Alors que les tests gpTG sont considérés comme étant moins précis que les hTG dans certaines études^(38, 101), nos résultats n'ont relevé aucune différence au niveau de la précision de tous les tests anti-tTG. La précision n'était pas influencée par la présence ou l'absence de MC.

Tel que suggéré par les manufacturiers, nous avons utilisé un seuil de positivité propre à la population de notre étude, en sélectionnant le meilleur rapport sensibilité / spécificité à l'aide de courbes de ROC. Les valeurs seuils choisies se situaient à la limite supérieure des valeurs suggérées par les fabricants, elles étaient même parfois un peu plus élevées. D'autres études^(59, 97, 101) ont mentionné des différences entre les seuils suggérés et ceux donnant les meilleurs résultats pour une cohorte en particulier. Pour ces trois études, les seuils utilisés pouvaient être plus élevés ou plus bas que ceux suggérés par le manufacturier, certains en étant particulièrement éloignés.

ENFANTS DE DEUX ANS ET MOINS

Contrairement aux résultats rapportés par une étude tunisienne publiée en 2001 ⁽⁴⁰⁾, la précision des tests anti-tTG et EMA était semblable chez les enfants de deux ans et moins, en comparant leurs résultats avec ceux des patients plus âgés. À l'exception de la trousse de dépistage EMA de la compagnie *The Binding Site*, la sensibilité des deux types de tests était de 100%, ce qui contredit les résultats de plusieurs études considérant ces tests moins sensibles chez les moins de deux ans ^(38, 47, 53). Même si les résultats au niveau de la précision semblaient plus élevés, la différence n'était cependant pas significative ($p > 0,11$).

Un plus grand échantillon permettrait peut-être de confirmer cette tendance, mais pour l'instant, nous pouvons associer ce résultat avec d'autres observations réalisées chez ce groupe de patients. Toutes proportions gardées, dans notre petit échantillon, les enfants de moins de deux ans étaient plus nombreux à avoir des lésions intestinales de type IIIc. De plus, le taux sérologique moyen d'anti-tTG était plus faible (jusqu'à 50%) pour les enfants de deux ans et moins négatifs pour la MC, et plus élevé (jusqu'à 20%) pour les jeunes cœliaques, comparativement aux enfants de plus de deux ans, pour chacune des catégories. Ces observations pourraient être expliquées en supposant que les enfants de deux ans et moins référés à l'hôpital Ste-Justine en étaient à un stade plus sévère de la maladie, permettant ainsi une grande précision dans le dépistage et le diagnostic de la MC.

ENFANTS AVEC DM I

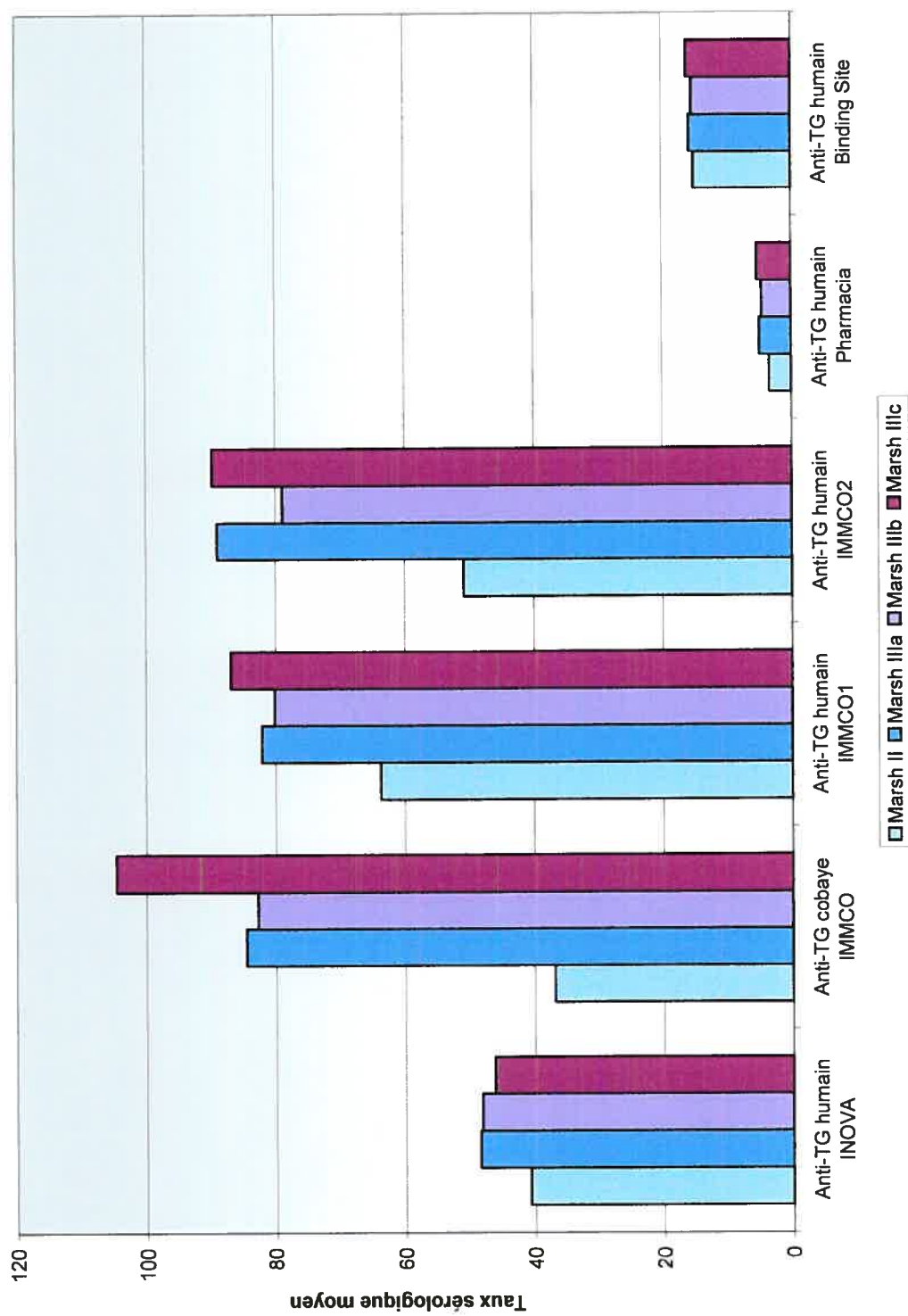
Peu d'études comparent l'efficacité des trousse de dépistage chez la population diabétique pédiatrique. Selon nos résultats, toutes les trousse (anti-tTG et EMA) sont significativement moins précises chez les patients atteints de DM I, à l'exception des trousse hTG *IMMCO 2* et EMA *IMMCO* (résultats plus précis rendant la différence avec les patients non-diabétiques non significative).

Encore une fois, la petite taille de notre échantillon limite l'interprétation de nos résultats, mais une plus grande proportion des patients diabétiques atteints de MC semblait présenter des lésions histopathologiques moins sévères. Ces patients

présentaient également moins de symptômes correspondant à la MC. Par contre, le taux sérologique moyen pour les tests anti-tTG était de 2 à 15% plus élevé chez les patients cœliaques avec DM I que chez les autres patients cœliaques non-diabétiques. Les patients diabétiques non atteints de MC présentaient même un taux sérologique moyen deux à trois fois plus élevé que les patients négatifs non-diabétiques, s'approchant parfois du seuil de positivité. Alors, qu'est-ce qui pourrait expliquer ce manque de précision pour les trousse de dépistage?

Il pourrait s'agir de MC latente. Puisque le dépistage de la MC chez les diabétiques à l'hôpital Ste-Justine se fait de façon systématique, il est possible que les taux sérologiques élevés soient des indicateurs d'un risque plus élevé pour le patient de développer la MC dans un proche avenir⁽⁷²⁾. Cette explication justifierait également les lésions moins sévères chez les patients diabétiques. De plus, la présence d'anticorps comme les anti-tTG pourrait être un signe d'auto-immunité, mais pas nécessairement de MC⁽²⁷⁾.

Figure 7 : Taux sérologique d'anti-tTG moyen chez les patients cœliaques selon les trousses évaluées



CHAPITRE VI :
CONCLUSION

En conclusion, il est clair que l'efficacité des tests de dépistage de la maladie cœliaque à base d'anticorps anti-gliadine est nettement inférieure à celle des tests à base d'anticorps anti-transglutaminase tissulaire (anti-tTG) ou anti-endomysium (EMA). Nous pouvons également affirmer que la performance des trousse commerciales testées pour l'anti-tTG est équivalente, même dans le cas de celle dont les antigènes proviennent de cobayes. Les trousse pour les EMA sont aussi équivalentes entre elles, et elles sont également équivalentes aux trousse pour l'anti-tTG.

Les résultats obtenus dans la population de notre étude, des enfants référés pour une suspicion de maladie cœliaque, démontrent que les différents tests de dépistage ne sont pas moins performants chez les enfants de deux ans et moins, contrairement à ce que la littérature a pu énoncer. Par contre, nous avons noté une perte d'efficacité parfois importante chez les patients diabétiques de notre étude.

Les anti-tTG et les EMA se sont donc avéré être des outils très intéressants pour le dépistage de la maladie cœliaque. Par contre, les écarts dans les taux sérologiques d'anticorps pour les différentes trousse, ainsi que la variation au niveau du seuil de positivité, confirment les conclusions d'un groupe européen qui annonçait qu'une standardisation des méthodes de dépistage était nécessaire pour améliorer la fiabilité des tests sérologiques ⁽⁹¹⁾.

Bien que limités par la taille de notre échantillon, principalement par le nombre de patients cœliaques de moins de deux ans, il est intéressant d'observer la fiabilité de ces tests pour la population pédiatrique. Par contre, des recherches à plus grande échelle seront nécessaires pour prouver les observations notées au cours de cette étude.

Pour terminer, l'utilisation de tests de dépistage efficaces facilitera le diagnostic de la maladie cœliaque, permettant ainsi de limiter les dommages causés par l'ingestion de gluten, améliorant de la sorte le statut nutritionnel et la qualité de vie des patients souffrant de cette maladie.

CHAPITRE VII :
BIBLIOGRAPHIE

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and Molecular Immunology, Fourth edition (2000). *W.B. Saunders Company* A Hancourt Health Sciences Company : 63-78.
2. Agneta Ganemo. Hereditary ichthyosis. *Uppsala University, Tryck & Medier* Uppsala, 2002 : 2-11.
3. Al-Ashwal AA, Shabib SM, Sakati NA, Attia NA. Prevalence and characteristics of celiac disease in type 1 diabetes mellitus in Saudi Arabia. *Saudi Med J* 2003;24(10) : 1113-1115.
4. Amin M, Eckhardt T, Kapitza S, Fleckenstein B, Jung G, Seissler J, Weichert H, Richter T, Stern M, Mothes T. Correlation between tissue transglutaminase antibodies and endomysium antibodies as diagnostic markers of coeliac disease. *Clin Chim Acta* 1999;282 : 219-225.
5. Anderson RP, Degano P, Godkin AJ, Jewell DP, Hill AVS. In vivo antigen challenge in celiac disease identifies a single transglutaminase-modified peptide as the dominant A-gliadin T-cell epitope. *Nat Med* 2000;6(3) : 337-342.
6. Archambault A, Beaudry R, Paré P, Thomson ABR, Shaffer EA. Principes fondamentaux de gastro-entérologie - États pathologiques et démarches thérapeutiques, Troisième édition. *Association canadienne de gastro-entérologie* 1997 Astra Pharma Inc : 274-281.
7. Bao F, Yu L, Babu S, Wang T, Hoffenberg EJ, Revers M, Eisenbarth GS. One Third of HLA DQ2 Homozygous Patients with Type 1 Diabetes Express Celiac Disease-Associated Transglutaminase Autoantibodies. *J Autoimmunity* 1999;13 : 143-148.
8. Bardella MT, Fredella C, Prampolini L, Molteni N, Giunta AM, Bianchi PA. Body composition and dietary intakes in adults celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. *Am J Clin Nutr* 2000;72 : 937-939.
9. Bardella MT, Trovato C, Cesana BM, Pagliari C, Gebbia C, Peracchi M. Serological markers for coeliac disease: is it time to change? *Dig Liver Dis* 2001;33(5) : 426-431.
10. Barera G, Mora S, Brambilla P, Ricotti A, Menni L, Beccio S, Bianchi C. Body composition in children with celiac disease and the effects of a gluten-free diet: a prospective case-control study. *Am J Clin Nutr* 2000;72 : 71-75.
11. Baxter SD, Thompson WO, Davis HC. Prompting methods affect the accuracy of children's school lunch recalls. *J Am Diet Assoc* 2000;100(8) : 911-918.
12. Baxter SD, Thompson WO, Litaker MS, Frye FH, Guinn CH. Low accuracy and low consistency of fourth-graders' school breakfast and school lunch recalls. *J Am Diet Assoc* 2002;102(3) : 386-395.

13. Beltran S, Bony-Trifunovic H, Gouilleux-Gruart V, Djeddi D, Dadamessi I, Dupas JL, Boudailliez B. Prevalence of celiac disease markers in a French cohort of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Ann Endocrinol (Paris)* 2004;65(2) : 131-135.
14. Bonamico M, Ferri M, Nenna R, Verrienti A, Di Mario U, Tiberti C. Tissue transglutaminase autoantibody detection in human saliva: a powerful method for celiac disease screening. *J Pediatr* 2004;144 : 632-636.
15. Bonamico M, Mariani O, Thanasi E, Ferri M, Nenna R, Tiberti C, Mora B, Mazzilli MC, Magliocca FM. Patchy villous atrophy of the duodenum in childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;38(2) : 204-207.
16. Book L, Zone JJ, Neuhausen SL. Prevalence of Celiac Disease Among Relatives of Sib Pairs With Celiac Disease in U.S. Families. *Am J Gastroenterol* 2003;98(2) : 379-381.
17. Book LS. Diagnosing Celiac Disease in 2002: Who, Why, and How? *Pediatrics* 2002;109(5) : 952-954.
18. Booth IW. The nutritional consequences of gastrointestinal disease in adolescence. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1991;373 : 91-102.
19. Bouguerra R, Ben Salem L, Chaabouni H, Laadhar L, Essais O, Zitouni M, Haouet S, Ben Slama C, Ben Ammar A, Zouari B, Makni S. Celiac disease in adult patients with type 1 diabetes mellitus in Tunisia. *Diabetes Metab* 2005;31(1) : 83-86.
20. Brogan PA, Dillon MJ. Autoimmune diseases in children. *Curr Paediatr* 2005;15 : 23-31.
21. Chartrand LJ, Agulnik J, Vanounou T, Russo PA, Baehler P, Seidman EG. Effectiveness of antigliadin antibodies as a screening test for celiac disease in children. *Can Med Assoc J* 1997;157(5) : 527-533.
22. Chartrand LJ, Russo PA, Duhaime AG, Seidman EG. Wheat starch intolerance in patients with celiac disease. *J Am Diet Assoc* 1997;97(6) : 612-618.
23. Christel P, de Labareyre H, Thelen P, de Lecluse J. Pathologie traumatique du muscle strié squelettique. *EMC Rhumatol Ortho* 2005;2 : 173-195.
24. Ciclitira PJ, Moodie SJ. Celiac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003;17(2) : 181-195.
25. Cranney A, Rostom A, Sy R, Dubé C, Saloojee N, Garritty C, Moher D, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, MacNeil J. Consequences of Testing for Celiac Disease. *Gastroenterology* 2005;128 : S109-S120.
26. Crone J, Rami B, Huber WD, Granditsch, Schober E. Prevalence of Celiac Disease and Follow-up of EMA in Children and Adolescents With Type 1 Diabetes Mellitus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;37 : 67-71.

27. da Rosa Utiyama SR, da Silva Kotze LM, Nisihara RM, Carvalho RF, de Carvalho EG, de Sena MG, de Messias Reason IJ. Spectrum of autoantibodies in celiac patients and relatives. *Dig Dis Sci* 2001;46(12) : 2624-2630.
28. Dahele A, Kingstone K, Bode J, Anderson D, Ghosh S. Anti-endomysial antibody negative celiac disease: does additional serological testing help? *Dig Dis Sci* 2001;46(1) : 214-221.
29. DeLong, ER, DeLong DM and Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating curves: A nonparametric approach. *Biometrics* 1988;44(3) : 837-845.
30. Dewar DH, Ciclitira PJ. Clinical Features and Diagnosis of Celiac Disease. *Gastroenterology* 2005;128 : S19-S24.
31. Di Domenico MR, Annaluisa S, Pluvio R, Iovine C, Rea F. The role of anti-endomysium and anti-transglutaminase antibodies in the diagnosis and follow-up of celiac disease. *Pediatr Med Chir* 2002;24(3) : 208-212.
32. Djilali-Saiah I, Schmitz J, Harfouch-Hammoud E, Mougnot JF, Bach JF, Caillat-Zucman S. CTLA-4 gene polymorphism is associated with predisposition to coeliac disease. *Gut* 1998;43 : 187-189.
33. Donner H, Braun J, Seidl C, Rau H, Finke R, Ventz M, Walfish PG, Usadel KH, Badenhop K. Codon 17 Polymorphism of the Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4 Gene in Hashimoto's Thyroiditis and Addison's Disease. *J Clin Endocrin Metab* 1997;82(12) : 4130-4132.
34. Dubé C, Rostom A, Sy R, Cranney A, Saloojee N, Garritty C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, MacNeil J, Mack D, Patel D, Moher D. The Prevalence of Celiac Disease in Average-Risk and At-Risk Western European Populations: A Systematic Review. *Gastroenterology* 2005;128 : S57-S67.
35. Fabiani E, Catassi C, International Working Group on Eu-tTG. The serum IgA class anti-tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis and follow-up of coeliac disease. Results of an international multi-centre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13(8) : 659-665.
36. Fabiani E, Taccari LM, Rättsch IM, Di Giuseppe, Coppa GV, Catassi C. Compliance with gluten-free diet in adolescents with screening-detected celiac disease: A 5-year follow-up study. *J Pediatr* 2000;136 : 841-843.
37. Fasano A. Clinical Presentation of Celiac Disease in the Pediatric Population. *Gastroenterology* 2005;128 : S68-S73.
38. Fasano A, Catassi C. Current Approaches to Diagnosis and Treatment of Celiac Disease: An Evolving Spectrum. *Gastroenterology* 2001;120 : 636-651.

39. Freitag T, Schuppan D. Screening for coeliac disease Antigen source and performance of the anti-tissue transglutaminase ELISA. *Dig Liver Dis* 2004;36 : 658-660.
40. Ghedira I, Sghiri R, Ayadi A, Sfar MT, Harbi A, Essoussi AS, Amri F, Korbi S, Jeddi M. Anticorps anti-endomysium, anti-réticuline et anti-gliadine, intérêt dans le diagnostic de la maladie cœliaque chez l'enfant. *Pathol Biol (Paris)* 2001;49(1) : 47-52.
41. Ghedira I, Sghiri R, Yacoubi MT, Korbi S, Jeddi M. Intérêts des anticorps anti-endomysium, anti-réticuline et anti-gliadine dans le diagnostic de la maladie cœliaque chez l'adulte. *Ann Biol Clin (Paris)* 1999;57(6) : 717-719.
42. Gomez JC, Selvaggio GS, Viola M, Pizarro B, la Motta G, de Barrio S, Castelletto R, Echeverria R, Sugai E, Vazquez H, Maurino E, Bai JC. Prevalence of celiac disease in Argentina: screening of an adult population in the La Plata area. *Am J Gastroenterol* 2001;96(9) : 2700-2701.
43. Greco L, Mayer M, Ciccarelli G, Troncione R, Auricchio S. Compliance to a gluten-free diet in adolescents, or "what do 300 coeliac adolescents eat every day?" *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1997;29(4) : 305-310.
44. Green PHR. The Many Faces of Celiac Disease: Clinical Presentation of Celiac Disease in the Adult Population. *Gastroenterology* 2005;128 : S74-S78.
45. Green PHR, Rostami K, Marsh MN. Diagnosis of coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;19(3) : 389-400.
46. Hill ID. What Are the Sensitivity and Specificity of Serologic Tests for Celiac Disease? Do Sensitivity and Specificity Vary in Different Populations? *Gastroenterology* 2005;128 : S25-S32.
47. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, Hoffenberg EJ, Horvath K, Murray JA, Pivor M, Seidman EG, North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40(1) : 1-19.
48. Hill, I, Fasano A, Schwartz R, Counts D, Glock M, Horvath K. The prevalence of celiac disease in at-risk groups of children in the United States. *J Pediatr* 2000;136(1) : 86-90.
49. Holmes GKT. Screening for coeliac disease in type 1 diabetes. *Arch Dis Child* 2002;87 : 495-499.
50. Jeon JH, Jang GY, Kim CW, Shin DM, Cho SY, Kwon JC, Lee HJ, Choi KH, Kim IG. Cell-Based assay for monitoring transglutaminase activity. *Anal Biochem* 2004;333 : 399-401.

51. King AL, Moodie SJ, Fraser JS, Curtis D, Reid E, Dearlove AM, Ellis H, Ciclitira PJ. CTLA-4/CD28 gene region is associated with genetic susceptibility to coeliac disease in UK families. *J Med Genet* 2002;39 : 51-54.
52. Laurin P, Stenhammar L, Falth-Magnusson K. Increasing prevalence of coeliac disease in Swedish children: influence of feeding recommendations, serological screening and small intestinal biopsy activity. *Scand J Gastroenterol* 2004;39(10) : 946-952.
53. Lepers S, Couignoux S, Colombel JF, Dubucquoi S. La maladie cœliaque de l'adulte: aspects nouveaux. *Rev Med Int* 2004;25 : 22-34.
54. Liu J, Juo SH, Holopainen P, Terwilliger J, Tong X, Grunn A, Brito M, Green P, Mustalahti K, Mäki M, Gilliam TC, Partanen J. Genomewide Linkage Analysis of Celiac Disease in Finnish Families. *Am J Hum Genet* 2002;70(1) : 51-59.
55. Ljungman G, Myrdal U. Compliance in teenagers with coeliac disease - a Swedish follow-up study. *Acta Paediatr* 1993;82(3) : 235-238.
56. Malekzadeh R, Sachdev A, Fahid Ali A. Coeliac disease in developing countries: Middle East, India and North Africa. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;19(3) : 351-358.
57. Marquis M, Simard S. Bottin statistique de l'alimentation - Édition 2004. *Gouvernement du Québec* 2004 : 55; 59-60.
58. Martinelli P, Troncone R, Paparo F, Torre P, Trapanese E, Fasano C, Lamberti A, Budillon G, Nardone G, Greco L. Coeliac disease and unfavourable outcome of pregnancy. *Gut* 2000;46 : 332-335.
59. Martini S, Mengozzi G, Aimo G, Giorda L, Pagni R, Guidetti CS. Comparative Evaluation of Serologic Tests for Celiac Disease Diagnosis and Follow-Up. *Clin Chem* 2002;48(6) : 960-063.
60. Matteucci E, Cinapri V, Quilici S, Lucchetti A, Mugnaini P, Giampietro O. Screening for coeliac disease in families of adults with Type 1 diabetes based on serological markers. *Diabetes Nutr Metab* 2001;14(1) : 37-42.
61. Matuchansky C, Vahedi K, Morin MC, Bouhnik Y. Régime sans gluten et maladie cœliaque chez l'adulte. *Gastroenterol Clin Biol* 1999;23 : B115-B123.
62. Mayer M, Greco L, Troncone R, Auricchio S, Marsh MN. Compliance of adolescents with coeliac disease with a gluten free diet. *Gut* 1991;32(8) : 881-885.
63. Mearin ML, Ivarsson A, Dickey W. Coeliac disease: is it time for mass screening?. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;19(3) : 441-452.
64. Mino-Kenudson M, Brown I, Lauwers GY. Histopathological diagnosis of gluten-sensitive enteropathy. *Curr Diag Patho* 2005;11 : 274-283.

65. Mora S, Barera G, Riccotti A, Weber G, Bianchi C, Chiumello G. Reversal of low bone density with a gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease. *Am J Clin Nutr* 1998;67 : 477-481.
66. Mulder CJJ, Cellier C. Coeliac disease: changing views. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2005;19(3) : 313-321.
67. Murray JA. The widening spectrum of celiac disease. *Am J Clin Nutr* 1999;69 : 354-365.
68. Nisticò L, Buzzetti R, Pritchard LE, Van der Auwera B, Giovannini C, Bosi E, Larrad MTM, Rios MS, Chow CC, Cockram CS, Jacobs K, Mijovic C, Bain SC, Barnett AH, Vandewalle CL, Schuit F, Gorus FK, Belgium Diabetes Registry, Tosi R, Pozzilli P, Tood JA. The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. *H Mol Genet* 1996;5(7) : 1075-1080.
69. Not T, Citta A, Lucchesi A, Torre G, Martelossi S, Ventura A. Anti-endomysium antibody on human umbilical cord vein tissue: an inexpensive and sensitive diagnostic tool for screening of coeliac disease. *Eur J Pediatr* 1997;156(8) : 616-618.
70. Oberhuber G. Histopathology of celiac disease. *Biomed Pharmacother* 2000;54 : 368-72.
71. Peretti N, Bienvenu F, Bouvet C, Fabien N, Tixier F, Thivolet C, Levy E, Chatelain PG, Lachaux A, Nicolino M. The Temporal Relationship Between the Onset of Type 1 Diabetes and Celiac Disease: A Study Based on Immunoglobulin A Antitransglutaminase Screening. *Pediatrics* 2004; 113 : 418-422.
72. Prázný M, Skrha J, Límanová Z, Vanícková Z, Hilgertová J, Prázná J, Jaresová M, Stríz I. Screening for Associated Autoimmunity in Type 1 Diabetes Mellitus With Respect to Diabetes Control. *Physiol Res* 2005;54 : 41-48.
73. Rewers M. Epidemiology of Celiac Disease: What Are the Prevalence, Incidence, and Progression of Celiac Disease? *Gastroenterology* 2005;128 : S47-S51.
74. Rostami K, Kerckhaert JP6, Tiemessen R, Meijer JW, Mulder CJ. The relationship between anti-endomysium and villous atrophy in coeliac disease using both monkey and human substrate. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11(4) : 439-442.
75. Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, MacNeil J, Mack D, Patel D, Moher D. The Diagnostic Accuracy of Serologic Tests for Celiac Disease: A Systematic Review. *Gastroenterology* 2005;128 : S38-S46.

76. Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, McNeil J, Moher D, Mack D, Patel D. Celiac Disease. Evidence Report/Technology Assessment: Number 104. *AHRQ Publication Number 04-E029-2* September 2004. Agency for Healthcare Research and Quality, Rockville, MD 20850.
77. Rueda B, Núñez C, Orozco G, López-Nevot MA, de la Concha EG, Martin J, Urcelay E. C1858T Functional Variant of PTPN22 Gene Is Not Associated With Celiac Disease Genetic Predisposition. *H Immun* 2005;66 : 848-852.
78. Russo PA, Chartrand LJ, Seidman E. Comparative Analysis of Serologic Screening Tests for the Initial Diagnosis of Celiac Disease. *Pediatrics* 1999;104(1) : 75-78.
79. Sacchetti L, Tinto N, Calcagno G, Improta P, Salvatore F. Multiplex PCR typing of the three most frequent HLA alleles in celiac disease. *Clin Chim Acta* 2001;310 : 205-207.
80. Salvatore S, Finazzi S, Ghezzi A, Tosi A, Barassi A, Luini C, Bettini B, Zibetti A, Nespoli L, Melzi d'Eril GV. Multiple sclerosis and celiac disease: is there an increased risk? *Multiple Sclerosis* 2004;10 : 711-712.
81. Sato N, Abe S, Yamada T, Iwasaki K, Ohtake Y, Ohkubo Y. Relationship between Liver Injury and Transglutaminase Activities in Guinea Pigs and Rats. *Biol Pharm Bull* 2004;27(2) : 236-238.
82. Schilling I, Conrad K, Füssel M, Henkel J. Prävalenz Typ 1-Diabetes-spezifischer Autoantikörper und bestimmter HLA-Muster bei Zöliakie. *Dtsch Med Wochenschr* 2003;128 : 185-189.
83. Schober E, Bittmann B, Granditsch G, Huber WD, Huppe A, Jager A, Oberhuber G, Rami B, Reichel G. Screening by anti-endomysium antibody for celiac disease in diabetic children and adolescents in Austria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30(4) : 391-396.
84. Schuppan D, Hahn EG. Gluten and the Gut - Lessons for Immune Regulation. *Science* 2002;297 : 2218-2220.
85. Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C. Structural Basis for Gluten Intolerance in Celiac Sprue. *Science* 2002;297 : 2275-2279.
86. Shan L, Qiao SW, Arentz-Hansen H, Molberg O, Gray GM, Sollid LM, Khosla C. Identification and Analysis of Multivalent Proteolytically Resistant Peptides from Gluten : Implications for Celiac Sprue. *J Proteome Res* 2005;4(5) : 1732-1741.
87. Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC. Modern Nutrition in Health and Disease, ninth edition. *Lippincott, Williams & Wilkins* A Wolters Kluwer Company 1999 : 1163-1168; A189-A193.

88. Shin DM, Jeon JH, Kim CW, Cho SY, Kwon JC, Lee HJ, Choi KH, Park SC, Kim IG. Cell type-specific activation of intracellular transglutaminase 2 by oxidative stress or ultraviolet irradiation: implication of transglutaminase 2 in age-related cataractogenesis. *J Biol Chem* 2004;279(15) : 15032-15039.
89. Sidney J, del Guercio MF, Southwood S, Sette A. The HLA Molecules DQA1*0501/B1*0201 and DQA1*0301/B1*0302 Share an Extensive Overlap in Peptide Binding Specificity. *J Immunol* 2002;169(9) : 5098-5108.
90. Statistique Canada (Division de l'agriculture). Dépenses alimentaires annuelles détaillées par habitant, consommateurs urbains, 1982-1996. *Statistiques sur les aliments du Canada* 2002.
91. Stern M, Working Group on Serologic Screening for Celiac Disease. Comparative evaluation of serologic tests for celiac disease: a European initiative toward standardization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31(5) : 513-519.
92. Tatar G, Elsurur R, Simsek H, Balaban YH, Hascelik G, Ozcebe OI, Buyukasik Y, Sokmensuer C. Screening of tissue transglutaminase antibody in healthy blood donors for celiac disease screening in the Turkish population. *Dig Dis Sci* 2004;49(9) : 1479-1484.
93. Tomer Y, Barbesino G, Greenberg DA, Concepcion E, Davies TF. Mapping the Major Susceptibility Loci for Familial Graves' and Hashimoto's Diseases: Evidences for Genetic Heterogeneity and Gene Interactions. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(12) : 4656-4664.
94. Tonutti E, Visentini D, Bizarro N, Caradonna M, Cerni L, Villalta D, Tozzoli R, French-Italian Laboratory Study Group on Coeliac Disease. The role of antitissue transglutaminase assay for the diagnosis and monitoring of coeliac disease: a French-Italian multicentre study. *J Clin Pathol* 2003;56(5) : 389-393.
95. Troncone R, Franzese A, Mazzarella G, Paparo F, Auricchio R, Coto I, Mayer M, Greco L. Gluten Sensitivity in a Subset of Children With Insulin Dependent Diabetes Mellitus. *Am J Gastroenterol* 2003; 98(3) : 590-595.
96. Tursi A, Brandimarte G, Giorgetti GM, Gigliobianco A, Lombardi D, Gasbarrini G. Low Prevalence of Antigliadin and Anti-Endomysium Antibodies in Subclinical/Silent Celiac Disease. *Am J Gastroenterol* 2001;96(5) : 1507-1510.
97. Van Meensel B, Hiele M, Hoffman I, Vermeire S, Rutgeerts P, Geboes K, Bossuyt X. Diagnostic Accuracy of Ten Second-Generation (Human) Tissue Transglutaminase Antibody Assays in Celiac disease. *Clin Chem* 2004;50(11) : 2125-2135.

98. Van Belzen MJ, Koeleman BP, Crusius JB, Meijer JW, Bardeel AF, Pearson PL, Sandkuijl LA, Houwen RH, Wijmenga C. Defining the contribution of the HLA region to cis DQ2-positive coeliac disease patients. *Genes Immun* 2004;5(3) : 215-220.
99. Viken MK, Amundsen SS, Kvien TK, Boberg KM, Gilboe IM, Lilleby V, Sollid LM, Forre OT, Thorsby E, Smerdel A, Lie BA. Association analysis of the 1858C>T polymorphism in the PTPN22 gene in juvenile idiopathic arthritis and other autoimmune diseases. *Genes Immun* 2005;6(3) : 271-273.
100. Volta U, Bellentani S, Bianchi FB, Brandi G, De Franceschi L, Miglioli L, Granito A, Balli F, Tiribelli C. High prevalence of celiac disease in Italian general population. *Dig Dis Sci* 2001;46(7) : 1500-1505.
101. Wong RCW, Wilson RJ, Steele RH, Radford-Smith G, Adelstein S. A comparison of 13 guinea pig and human anti-tissue transglutaminase antibody ELISA kits. *J Clin Pathol* 2002;55 : 488-494.
102. Working group of the United European Gastroenterology Week in Amsterdam, 2001. When is a coeliac a coeliac? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13(9) : 1-6.
103. Zhernakova A, Eerligh P, Wijmenga C, Barrera P, Roep BO, Koeleman BP. Differential association of the PTPN22 coding variant with autoimmune disease in a Dutch population. *Genes Immun* 2005;6(6) : 459-461.
104. Zubillaga P, Vidales MC, Zubillaga I, Ormaechea V, García-Urkía N, Vitoria JC. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 Genetic Markers and Clinical Presentation in Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;34 : 548-554.

CHAPITRE VIII :

ANNEXES

Annexe I

Contribution de l'étudiant à l'article soumis

1. Identification de l'étudiant et du programme

Nom de l'étudiant : Katerie Leclerc
Programme : M.Sc Nutrition, maîtrise avec mémoire (2-320-1-0)

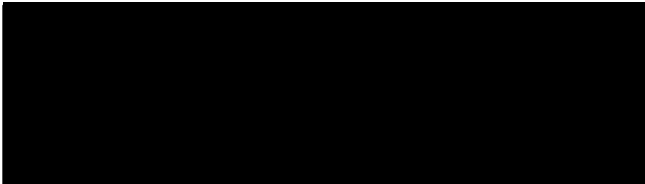
2. Description de l'article

Auteurs : Katerie Leclerc, Ernest G. Seidman, Devendra Amre, Luc Oigny, Idris Saiah, Martha H. Dirks
Titre : *Reliability of Tissue Transglutaminase and Anti-Endomysium Assays in At-Risk Children for Celiac Disease*
Revue ciblée : *Pediatrics*
État : Prêt à être soumis pour publication

3. Contribution de l'étudiant

Par la présente, j'atteste que j'ai participé de façon active à la réalisation des étapes suivantes pour la préparation et la rédaction de l'article mentionné ci-haut :

- a. Recherche de candidats potentiels parmi les patients du département de gastro-entérologie de l'hôpital Ste-Justine
- b. Récupération et révision des dossiers pertinents
- c. Élaboration d'une base de données pour recueillir les résultats de recherche
- d. Récupération du sérum des patients à inclure dans l'étude
- e. Participation aux analyses de laboratoire
- f. Compilation et analyse des résultats obtenus
- g. Préparation et rédaction de l'article à publier



28-08-2005

Date

Annexe II

Déclaration des coauteurs d'un article

a. Identification de l'étudiant et du programme

Nom de l'étudiant : Katerie Leclerc
 Programme : M.Sc Nutrition, maîtrise avec mémoire (2-320-1-0)

b. Description de l'article

Auteurs : Katerie Leclerc, Ernest G. Seidman, Devendra Amre, Luc Oligny, Idris Saiah, Martha H. Dirks
 Titre : *Reliability of Human Tissue Transglutaminase and Anti-Endomysium IgA Assays in At-Risk Children for Celiac Disease*
 Revue ciblée : *Pediatrics*
 État : Prêt à être soumis pour publication

c. Déclaration de tous les coauteurs autres que l'étudiant

À titre de coauteur de l'article identifié ci-dessus, je suis d'accord pour que *Katerie Leclerc* inclue cet article dans son mémoire de maîtrise qui a pour titre « *Évaluation comparative de la fiabilité des tests de dépistage de type anti-transglutaminase et anti-endomysium chez les enfants à risque pour la maladie cœliaque* »

Ernest G. Seidman
 Coauteur

2005-08-30

Date

Devendra Amre
 Coauteur

Aug 31'05

Date

Luc Oligny
 Coauteur

15 Sept 2005

Date

Idris Saiah
 Coauteur

31/08/2005

Date

Martha H. Dirks
 Coauteur

31/8/2005

Date

ANNEXE III : MANUSCRIT À SOUMETTRE**Reliability of Tissue Transglutaminase and Anti-Endomysium Assays in At-Risk Children for Celiac Disease**

Katerie Leclerc, Ernest G. Seidman, Devendra Amre, Luc Oligny,
Idriss Saiah, Martha H. Dirks

From the Division of Pediatric Gastroenterology, Hôpital Ste-Justine, and the
Departments of Nutrition, Pediatrics and Pathology, Université de Montréal,
Montreal, Quebec, Canada

Grant Support: This study was supported in part by an operating grant from the American College of Gastroenterology (to IS, EGS, MHD), and by research scientist awards from the Fonds de Recherche en Santé du Québec (EGS, DA) and by a Research Chair from the Canadian Institutes of Health Research & the Crohn's and Colitis Foundation of Canada (EGS).

Address Correspondence and Requests for Reprints to: Dr. M H Dirks,
Division of Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Centre de Recherche,
Hôpital Ste-Justine, 3175, rue Côte Ste-Catherine, Montréal, QC H3T 1C5 Canada

ABSTRACT

Objective: Reliable screening tests now play a huge role in the diagnosis of celiac disease (CD). However, questions remain as to the reliability of different assays in infants and in patients with type I diabetes mellitus (DM I). We compared the accuracy of commercially available kits for anti-transglutaminase (tTG) and anti-endomysial (EMA) antibodies in at-risk patients in the pediatric age group, including children under the age of two and those with DM I.

Methods: We compared 8 commercially available tTG (both human and guinea pig substrate) and EMA kits to our previously validated anti-gliadin assay (AGA), using the sera of 230 patients who had been referred for possible celiac disease, and in whom an intestinal biopsy had been performed (mean age 7.1 years, range 0.5-18.5). Overall, 31 patients had biopsy-confirmed CD. Among the cohort of 230 children, 60 were under 2 years of age (9 with CD), and 26 had DM I (11 with CD).

Results: The performance of the guinea pig tTG assay was similar to the human recombinant tTG tests in our population referred to a tertiary care gastroenterology unit. The performances of tTG and EMA assays were also similar, in terms of positive and negative predictive values, and overall precision. No reduction in either the tTG or EMA test accuracy was observed in the children under the age of two. Most of the assays were significantly less accurate in children with DM I. The AGA test was globally inferior to both the tTG and EMA, in the population as a whole and in both subsets of children (DM I and age < 2 years) studied.

Conclusion: All the tTG and EMA assays tested were highly reliable for detecting CD in an at-risk pediatric population, and were far superior to the AGA. The tTG and EMA tests were no less reliable in a sub-group of children under the age of two. However, the accuracy of the majority of these kits was significantly lower in children with DM I.

Abbreviations used in this article:

AGA: anti-gliadin antibodies, tTG: anti-tissue transglutaminase antibodies, EMA: anti-endomysium antibodies, CD: celiac disease, DM I: type I diabetes mellitus

INTRODUCTION

Celiac disease (CD), or “gluten sensitive enteropathy”, is a permanent intolerance to gluten and related proteins found in cereal grains, which induces autoimmune inflammation of the small bowel mucosa⁽¹⁻³⁾. It is caused, in genetically susceptible patients, by the ingestion of gluten, a protein found in wheat, barley, rye, triticale and spelt⁽⁴⁻⁶⁾. The gold standard criteria for the diagnosis of this condition specifies the need for a biopsy of the mucosa of the proximal small intestine with confirmation of the characteristic histological abnormalities, whether gastrointestinal symptoms are present or not^(3,7,8). These include villous atrophy with crypt hyperplasia and chronic lymphocytic infiltration of the lamina propria and intraepithelial compartment⁽⁹⁾. In the case of symptomatic CD, resolution of symptoms within six months following adherence to a strict gluten free diet is sufficient to establish the diagnosis without a repeat biopsy.

CD has been associated with a number of potential negative outcomes, including malignancy (primarily small bowel lymphoma), osteoporosis, infertility, depression, epilepsy, primary biliary cirrhosis, growth retardation and a reduced quality of life^(1,3,10,11). Results from mass screening studies in healthy European children suggest that CD is 4-10-fold more common than previously recognized^(12,13). Catassi et al.⁽¹²⁾ reported an incidence of 1:184 derived from the screening of over 17,000 children in 15 Italian centres. Subsequent studies in Sweden, Finland, Ireland, and the United States found a prevalence ranging from 1:50 to 1:250. Of those cases detected by screening, 6 of 7 were asymptomatic (“silent” celiac disease) or had atypical symptoms. Although the specific prevalence of CD in Canada is unknown, it is likely similar to the reported prevalence of 1:133 to 1:250 in the United States^(14,15).

Recent guidelines recommend that CD be an early consideration in the differential diagnosis of children with failure to thrive and persistent diarrhea⁽³⁾. In addition, it should be a diagnostic consideration in children with other persistent intestinal symptoms, such as recurrent abdominal pain, constipation and vomiting.

Testing is furthermore recommended for children with non-gastrointestinal symptoms of CD (dermatitis herpetiformis, dental enamel hypoplasia of permanent teeth, osteoporosis, short stature, delayed puberty and iron-deficient anemia resistant to oral iron)⁽³⁾. Screening is also suggested for asymptomatic children who have conditions associated with CD, including type 1 diabetes mellitus (DM I), autoimmune thyroiditis, Down syndrome, Turner syndrome, Williams syndrome, selective IgA deficiency and first degree relatives of celiac patients. It is recommended that testing of asymptomatic children who belong to at-risk groups begin around 3 years of age, provided they have had an adequate gluten containing diet for at least one year prior to testing. However, the reliability of serological assays for CD in infants and young children has been questioned⁽¹⁶⁾.

Over the past two decades, several serological tests have evolved into routine clinical practice to screen patients susceptible for CD. On the basis of the current evidence as well as considerations of accuracy, reliability and cost, measurement of IgA antibody to human recombinant tissue transglutaminase (tTG) is now recommended for initial testing for CD in the pediatric age group⁽³⁾. Although measurement of IgA antibody to endomysium (EMA) is as accurate as the tTG test, it is a more complicated immunofluorescence assay, and hence observer dependent. Furthermore, inter-laboratory variability of sensitivity between 57-90% for the EMA has been reported for community laboratories⁽³⁷⁾. EMA is therefore more subject to potential interpretation errors and higher cost. Because of the inferior accuracy of the antigliadin antibody tests (AGA)⁽¹⁶⁻²⁰⁾, the use of AGA IgA and AGA IgG tests is no longer recommended⁽³⁾.

The tTG assays have sensitivity between 87-100%, and specificity between 91-100%^(16,20-23). EMA has been said to be less sensitive with children under the age of two^(3,19,21), despite the reported specificity in adult cases approaching 100%⁽²²⁾. Some reports based on stored serum from adults with CD have suggested that human tTG based assays performed better (enhanced specificity) than guinea pig tTG based kits⁽²⁴⁾. Comparisons between tTG assays have been made for adults⁽²³⁾. However,

there are insufficient data on the accuracy of currently available commercial tests in children at-risk for CD.

CD is associated with a number of autoimmune conditions, most notably DM I in the pediatric age group⁽²⁵⁻³¹⁾. From about 3 to 8% of patients with DM I are confirmed to have CD on small intestinal biopsy. Although DM I usually manifests years before symptoms related to CD become evident^(25,32), CD may rarely precede onset of DM I⁽³³⁾. Bao et al.⁽³⁴⁾ reported that some tTG positive DM I patients had normal histology on intestinal biopsies and were EMA negative. Given the difficulties inherent in carrying out endoscopy in an insulin-dependent diabetic, this raises doubts as to the best serological screening approach⁽³⁾.

The aims of the present study were thus to: i) compare the diagnostic accuracy of various serological assays to determine the most reliable screening tests in pediatric patients at-risk for CD; ii) examine the reliability of the different assays in infants under the age of two; and iii) in patients with DM I.

METHODS

Patients

A list of all patients who had undergone a duodenal biopsy between January 1997 and May 2002 at Ste-Justine Hospital was obtained from the Pathology Department. This list (n ~2000) was then cross-referenced with the Gastroenterology Division's records of all patients who had undergone diagnostic upper endoscopy to confirm a suspicion of CD over the same time period (n~750). Patients who had never had any serological screening tests carried out at Ste-Justine's Digestive Disease Laboratory were excluded from this study, as were those whose serological testing was either done after, or more than 3 months prior to biopsy.

The final study population consisted of 230 subjects (for demographics, see table 1), of whom 31 had a biopsy-proven CD. All patients' medical records were reviewed for presenting symptoms and signs (Table 2). All duodenal biopsies were

assessed according to established methods and scored using the modified Marsh criteria ⁽⁷⁻⁹⁾, by an expert blinded to both clinical presentation and serological test results. When biopsy results confirmed the presence of CD, the patients' medical files were reviewed at follow-up to confirm the resolution of symptoms on a gluten-free diet.

Serological screening tests

Serum from each patient originated from the same blood sampling, and each patient's sera was used for all assays, using kits from the same lot.

AGA IgA titers were measured by means of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on a method we previously described validated ^(4,16). Sera were tested in duplicate at a 1:50 dilution in PBS-BSA 1% Tween buffer (phosphate-buffered saline [PBS; Gibco, Grand Island, NY], bovine serum albumin [BSA; Sigma Chemical Company, St.Louis, MO] and Tween 20 [Sigma]). Optical density was read at 490 nm using an automated ELISA detector.

We tested six tTG ELISA kits, according to the manufacturer's instructions. Serum specimens were tested in duplicate, and optical density was read at 490 nm. Table 3 presents the relevant characteristics of the individual kits tested. The threshold used to indicate positive results was calculated with a ROC plot analysis to obtain both sensitivity and specificity above 95%.

Both EMA assays were carried out using indirect immunofluorescence according to the manufacturer's instructions. However, we employed a 1:5 dilution of serum for the IMMCO kit, as our previous validation study revealed many false positives using a 1:2.5 dilution. Coded slides were reviewed by two independent observers, and the final result was determined by consensus. Details concerning the EMA kits are presented in Table 4.

Statistical analysis

ROC plot analysis was performed using SPSS v.11.5 for Windows to determine the threshold for positive results and to estimate the area under the

curve (AUC). Comparisons between the AUC for each kit were performed using a non-parametric approach⁽³⁶⁾. For all the AUC comparisons, a p-value ≤ 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

Mean titers for the AGA assay and all 6 tTG kits are shown in Table 5, for the overall study population, as well as for the two sub-groups, with emphasis on the results for both biopsy-positive and negative patients. Table 6 illustrates the precision, sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of all nine assays (AGA, tTG and EMA), comparing the results for the two sub-groups to the overall study population.

The overall precision, sensitivity, specificity and PPV of the AGA test was inferior to both the tTG and EMA assays. We therefore focused our analysis on comparisons of the various tTG and EMA assays (Table 6). For the tTG kits, the overall precision was above 95%. Precision for children under 2 years of age was over 98%, whereas the precision of all kits except one declined significantly ($p \leq 0.05$) for diabetic patients (84-92%). No significant difference between the guinea pig and human recombinant tTG kits was observed in the overall population.

All but one kit (EMA, The Binding Site) had a 100% sensitivity for the children under 2 years of age, and the specificity varied between 98% and 100%. For the children with DM I, all the kits showed a 100% sensitivity, but the specificity was lower, between 67% and 80% for the tTG, and 80-87% for the EMA.

DISCUSSION

In keeping with previous reports⁽¹⁶⁻²⁰⁾, our data reveal that the performance of both the tTG and EMA assays significantly surpassed that of the AGA test ($p < 0.001$ for both). No significant difference was found among the tTG kits, or among the EMA kits. Furthermore, no significant difference was observed between the tTG and

the EMA assays in terms of their precision, sensitivity or specificity for the overall study population.

Although the higher precision among children under 2 years of age wasn't statistically significant for any kit ($p > 0.11$ for tTG, and $p > 0.14$ for EMA), the data are nevertheless reassuring in terms of the doubts in this age group^(16,18,21). In terms of the patients with DM I, most of the assays' precision was significantly lower compared to the non-diabetic subjects (Table 7). The higher precision of the 2nd generation hTG IMMCO kit with the DM I patients made the difference non-significant ($p = 0.27$), compared to the overall population, as it did for the EMA IMMCO kit ($p = 0.08$). In contrast to the literature, we found no difference between the accuracy of the gpTG and the hTG kits^(20,22).

In conclusion, all the tTG and EMA assays tested had a comparable reliability that was far superior to AGA testing. In our study population, the tTG and EMA assays proved to be as accurate with children under the age of two as they were with older children and adolescents. However, the precision of both the tTG and the EMA assays is lower for patients with DM I.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank Anne Duhaime for her technical assistance. We also acknowledge all the distributors of the commercial tTG and EMA assays used in this study for generously supplying the kits employed.

Table 1: Patient demographics.

	Overall	Population			DM I	Without DM I
		Children less than 2 years	Children over 2 years			
Number	230	60	170		26	204
Gender (male/female)	123 / 107	32 / 29	91 / 79		12 / 14	111 / 93
Celiac / Non-celiac	31 / 199	9 / 51	22 / 148		11 / 15	20 / 184
Mean age at biopsy (years)	7.06	1.34	9.08		12.38	6.38
Range (years)	0.53 - 18.47	0.53 - 2.00	2.03 - 18.47		3.26 - 17.78	0.53 - 18.47

Table 2: Clinical manifestations of our patient population.

	n	Frequency of symptoms (%)										Number of Symptoms per patient
		Chronic Diarrhea	Constipation	Failure to thrive	Abdominal pain	Anemia	Bloating	Nausea and reflux	Asymptomatic			
All patients	230	39.6	10.4	47.0	46.5	19.6	17.8	38.7	4.8	2.2		
Negative	199	39.7	9.1	48.7	49.3	17.6	16.1	41.7	3.0	2.2		
Positive	31	38.7	19.4	35.5	29.0	32.3	29.0	19.4	16.1	2.0		
2 years and under	60	38.3	11.7	81.7	5.0	23.3	11.7	40.0	3.3	2.1		
Negative	51	33.3	9.8	84.3	5.9	19.7	7.8	39.2	3.9	2.0		
Positive	9	66.7	22.2	66.7	0.0	55.6	33.3	44.4	0.0	2.9		
Over 2 years	170	40.0	10.0	34.7	61.2	18.2	20.0	38.2	5.3	2.2		
Negative	148	41.9	8.8	36.5	64.2	17.6	18.9	42.6	2.7	2.3		
Positive	22	27.3	18.2	22.7	40.9	22.7	27.3	9.1	22.7	1.7		
With DM I	26	11.5	7.7	7.7	61.5	3.9	11.5	34.6	26.9	1.4		
Negative	15	6.7	13.3	0.0	80.0	0.0	6.7	53.3	13.3	1.6		
Positive	11	18.2	0.0	18.2	36.4	9.1	18.2	9.1	45.5	1.1		
Without DM I	204	43.1	10.8	52.0	44.6	21.6	18.6	39.2	2.0	2.3		
Negative	184	42.4	8.7	52.7	46.7	19.0	16.9	40.8	2.2	2.3		
Positive	20	50.0	30.0	45.0	25.0	45.0	35.0	25.0	0.0	2.6		

Table 3: Technical specifications for anti-tissue transglutaminase (tTG) kits.

Kit	Name of product	Source of tTG	Antibodies	Manufacturer's catalog number	Lot number	Manufacturer	Origine	Manufacturer's Suggested cut-off	ROC plot analysis threshold
IMMCO	Immulin TM	Guinea Pig	IgA	1157	210067	IMMCO Diagnostics, Inc	Buffalo, NY (USA)	20 - 25	30
INOVA	QUANTA Lite TM	Human	IgA	708760	270157	INOVA Diagnostics, Inc	San Diego, CA (USA)	20 - 30	30
IMMCO	Immulin TM	Human	IgA + IgG	1144	121302	IMMCO Diagnostics, Inc	Buffalo, NY (USA)	20 - 25	30
IMMCO (2)	Immulin TM	Human	IgA + IgG	1144	305009	IMMCO Diagnostics, Inc	Buffalo, NY (USA)	20 - 25	30
Pharmacia	Celikey TM	Human	IgA	181 96	BG20	Pharmacia Diagnostics GmbH & Co	Freiburg, Germany	1.0 - 1.4	1.4
The Binding Site	Bindazine TM	Human	IgA	MK038	95384	The Binding Site Ltd	Birmingham, UK	4 - 10	10

Table 4: Technical specifications for anti-endomysium (EMA) kits.

Kit	Name of product	Source of EMA	Antibodies	Manufacturer's catalog number	Lot number	Manufacturer	Origine	Manufacturer's Suggested dilution	Actually used dilution
IMMCO	ImmunoGlo™	Primate smooth muscle	IgA + IgG	1114	304072	IMMCO Diagnostics, Inc	Buffalo, NY (USA)	1 : 2.5	1 : 5
The Binding Site	Monkey Oesophagus IFA kit/slides	Monkey Oesophagus	IgA	FS208.2	100130	The Binding Site Ltd	Birmingham, UK	1 : 10	1 : 10

Table 5: Mean serum titers for anti-gliadin (AGA) and tissue transglutaminase (tTG) tests.

	n	Mean serologic titre							
		AG homemade kit (UE)	gpTG IMMCO (UE/mL)	hTG INOVA (U)	hTG IMMCO (UE/mL)	hTG IMMCO (2) (UE/mL)	hTG Pharmacia (U/mL)	hTG The Binding Site (U/mL)	hTG (U/mL)
ROC plot analysis threshold		0.25	30	30	30	30	30	10	10
All patients	230	0.29	20.54	11.62	20.65	19.01	0.88	4.67	4.67
Negative	199	0.22	9.85	6.07	11.08	9.12	0.28	2.96	2.96
Positive	31	0.70	89.17	47.21	82.08	82.44	4.76	15.61	15.61
2 years and under	60	0.34	19.61	11.10	18.95	17.22	0.81	4.48	4.48
Negative	51	0.22	5.42	4.00	6.53	5.28	0.10	2.40	2.40
Positive	9	0.99	100.03	51.35	89.35	84.92	4.87	16.26	16.26
Over 2 years	170	0.27	20.86	11.80	21.25	19.63	0.91	4.73	4.73
Negative	148	0.22	11.37	6.79	12.65	10.45	0.34	3.15	3.15
Positive	22	0.58	84.72	45.52	79.11	81.42	4.71	15.34	15.34
With DM I	26	0.51	53.19	30.12	51.83	50.80	2.64	10.05	10.05
Negative	15	0.39	22.58	17.18	27.44	21.86	0.87	5.60	5.60
Positive	11	0.68	94.93	47.78	85.09	90.27	5.05	16.12	16.12
Without DM I	204	0.26	16.38	9.26	16.68	14.95	0.66	3.98	3.98
Negative	184	0.21	8.81	5.17	9.75	8.09	0.23	2.75	2.75
Positive	20	0.71	85.99	46.90	80.43	78.13	4.60	15.33	15.33

Table 6: Performance evaluation for the serological assays tested in pediatric patients at-risk for celiac disease.

	Precision (%)		Sensitivity (%)		Specificity (%)		PPV (%)		NPV (%)	
	< 2 years	> 2 years	< 2 years	> 2 years	< 2 years	> 2 years	< 2 years	> 2 years	< 2 years	> 2 years
All patients										
AG Homemade kit	74.35	74.12	100.00	68.18	70.59	75.00	37.50	28.85	100.00	94.07
gpTG IMMCO	95.65	94.71	100.00	95.45	98.04	94.59	90.00	72.41	100.00	89.29
htG INOVA	96.52	95.88	100.00	95.45	98.04	95.95	90.00	77.78	100.00	99.30
htG IMMCO	95.22	94.12	100.00	95.45	98.04	93.92	90.00	70.00	100.00	99.29
htG IMMCO lake 2	96.09	95.29	100.00	95.45	98.11	95.27	90.00	75.00	100.00	99.30
htG Pharmacia	96.96	95.88	100.00	95.45	100.00	95.95	100.00	77.78	100.00	99.30
htG The Binding Site	96.52	95.88	100.00	95.45	98.04	95.95	90.00	77.78	100.00	99.30
EMA IMMCO	97.39	96.47	100.00	95.45	100.00	96.62	100.00	80.77	100.00	99.31
EMA The Binding Site	96.96	96.47	88.89	95.45	100.00	96.62	100.00	80.77	98.08	99.31
2 years and under										
AG Homemade kit	75.00	74.12	100.00	68.18	70.59	75.00	37.50	28.85	100.00	94.07
gpTG IMMCO	98.33	94.71	100.00	95.45	98.04	94.59	90.00	72.41	100.00	89.29
htG INOVA	98.33	95.88	100.00	95.45	98.04	95.95	90.00	77.78	100.00	99.30
htG IMMCO	98.33	94.12	100.00	95.45	98.04	93.92	90.00	70.00	100.00	99.29
htG IMMCO lake 2	98.33	95.29	100.00	95.45	98.11	95.27	90.00	75.00	100.00	99.30
htG Pharmacia	100.00	95.88	100.00	95.45	100.00	95.95	100.00	77.78	100.00	99.30
htG The Binding Site	98.33	95.88	100.00	95.45	98.04	95.95	90.00	77.78	100.00	99.30
EMA IMMCO	100.00	96.47	100.00	95.45	100.00	96.62	100.00	80.77	100.00	99.31
EMA The Binding Site	98.33	96.47	88.89	95.45	100.00	96.62	100.00	80.77	98.08	99.31
DM I										
AG Homemade kit	53.85	76.96	72.73	80.00	40.00	76.63	47.06	27.12	66.67	97.24
gpTG IMMCO	88.46	96.57	100.00	95.00	80.00	96.74	78.57	76.00	100.00	99.44
htG INOVA	84.62	98.04	100.00	95.00	73.33	96.37	73.33	86.36	100.00	99.45
htG IMMCO	80.77	97.06	100.00	95.00	66.67	97.28	68.75	79.17	100.00	99.44
htG IMMCO lake 2	92.31	95.57	100.00	95.00	86.67	96.74	84.62	76.00	100.00	99.44
htG Pharmacia	88.46	98.04	100.00	95.00	80.00	98.37	78.57	86.36	100.00	99.45
htG The Binding Site	84.62	98.04	100.00	95.00	73.33	98.37	73.33	86.36	100.00	99.45
EMA IMMCO	92.31	98.04	100.00	95.00	86.67	98.37	84.62	86.36	100.00	99.46
EMA The Binding Site	88.46	98.04	100.00	90.00	80.00	98.91	78.57	90.00	100.00	98.91

NPV negative predictive value, PPV positive predictive value, w/o without

Table 7: p-values comparing precision for the tTG and EMA kits in patients with DM I.

	n	Precision (% of accurate results)										p-value	
		gpTG IMMCO	hTG INOVA	hTG IMMCO	hTG IMMCO take 2	hTG Pharmacia	hTG The Binding Site	EMA IMMCO	EMA The Binding Site				
DM I	26	88.46	84.62	80.77	92.31	88.46	84.62	92.31	88.46				
Without DM I	204	96.57	98.04	97.06	96.57	98.04	98.04	98.04	98.04				
		0.05	< 0.001	< 0.001	0.27 *	0.007	< 0.001	0.08 *	0.007				

* = non significant result

1. Murray JA. The widening spectrum of celiac disease. *Am J Clin Nutr* 1999;69:354-365.
2. Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. Celiac Disease. Evidence Report/Technology Assessment: Number 104. *AHRQ Publication Number 04-E029-2* September 2004. Agency for Healthcare Research and Quality, Rockville, MD 20850
3. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40(1):1-19.
4. Chartrand LJ, Agulnik J, Vanounou T, Russo PA, Baehler P, Seidman EG. Effectiveness of antigliadin antibodies as a screening test for celiac disease in children. *Can Med Assoc J* 1997;157(5):527-533.
5. Chartrand LJ, Russo PA, Duhaime AG, Seidman EG. Wheat starch intolerance in patients with celiac disease. *J Am Diet Assoc* 1997;97(6):612-618.
6. Working group of the United European Gastroenterology Week in Amsterdam, 2001. When is a coeliac a coeliac? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13(9):1-6.
7. Mino-Kenudson M, Brown I, Lauwers GY. Histopathological diagnosis of gluten-sensitive enteropathy. *Curr Diag Patho* 2005;11:274-283.
8. Ciclitira PJ, Moodie SJ. Celiac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003;17(2):181-195
9. Marsh MN, Crowe PT. Morphology of the mucosal lesion in gluten-sensitivity. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1995;9(2):273-293.
10. Holmes G, Prior P, Lane M, Pope D, Allan R. Malignancy in coeliac disease - effect of a gluten free diet. *Gut* 1989;30(3):333-338.
11. Hadjivassiliou M, Gibson A, Davies-Jones G, Lobo A, Stephenson TJ, Milford-Ward A. Does cryptic gluten sensitivity play a part in neurological illness? *Lancet* 1996;347(8998):369-371.
12. Catassi C, Fabiani E, Ratsch IM, Coppa GV, Giorgi PL, Pierdomenico R, et al. The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta Paediatr Suppl.* 1996;412:29-35.
13. Grodzinsky E. Screening for coeliac disease in apparently healthy blood donors. *Acta Paediatr. Suppl.* 1996;412:36-38.
14. Fasano A, Berti I, Geraduzzi T, Not T, Coletti R et al. Prevalence of celiac disease in at-risk groups and not-at-risk groups in the United States. A large multicentre study. *Arch Intern Med* 2003; 163:286-292.

15. Not T, Horvath K, Hill ID, Partanen J, Hammed A, Magazzu G, Fasano A. Celiac Disease risk in the USA-high prevalence of anti-endomysium antibody in healthy blood donors. *Scand J Gastroenterol* 1998;33(5):494-498.
16. Russo PA, Chartrand LJ, Seidman E. Comparative analysis of serological screening tests for the initial diagnosis of celiac disease. *Pediatrics* 1999; 104:75-78.
17. Bardella MT, Trovato C, Cesana BM, Pagliari C, Gebbia C, Peracchi M. Serological markers for coeliac disease: is it time to change? *Dig Liver Dis* 2001;33(5):426-431.
18. Hill ID. What Are the Sensitivity and Specificity of Serologic Tests for Celiac Disease? Do Sensitivity and Specificity Vary in Different Populations? *Gastroenterology* 2005;128:S25-S32.
19. Lepers S, Couignoux S, Colombel JF, Dubucquoi S. La maladie cœliaque de l'adulte: aspects nouveaux. *Rev Med Int* 2004;25:22-34.
20. Stern M, Teuscher M, Wechmann T. Serological screening for coeliac disease: methodological standards and quality control. *Acta Paediatr* 1996;85 (suppl 412):49-51.
21. Fasano A, Catassi C. Current Approaches to Diagnosis and Treatment of Celiac Disease: An Evolving Spectrum. *Gastroenterology* 2001;120:636-651.
22. Ghedira I, Sghiri R, Yacoubi MT, Korbi S, Jeddi M. Intérêts des anticorps anti-endomysium, anti-réticuline et anti-gliadine dans le diagnostic de la maladie cœliaque chez l'adulte. *Ann Biol Clin (Paris)* 1999;57(6):717-719.
23. Wong RCW, Wilson RJ, Steele RH, Radford-Smith G, Adelstein S. A comparison of 13 guinea pig and human anti-tissue transglutaminase antibody ELISA kits. *J Clin Pathol* 2002;55:488-494.
24. Sblattero D, Berti I, Trevisiol C, et al. Human recombinant tissue transglutaminase ELISA: an innovative diagnostic assay for celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1253-7.
25. Saukkonen T, Savilahti E, Reijonen H, Ilonen I, Tuomilehto-Wolf G, Akerblom HK. Coeliac disease: frequent occurrence after clinical onset of insulin dependent childhood diabetes in Finland Study Group. *Diabet Med* 1996;13:464-470.
26. Cronin CC, Feighery A, Ferriss JB, Liddy C, Shanahan F, Feighery C. High prevalence of celiac disease among patients with insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:2210-2212.
27. Acerini CL, Ahmed ML, Ross KM, Sullivan PB, Bird G, Dungar DB. Coeliac disease in children and adolescents with IDDM: clinical characteristics and response to gluten-free diet. *Diabet Med* 1998; 15:38-44.

28. Fraser-Reynolds K, Butzner J, Stephure D, Trussell R, Scott RB. Use of immunoglobulin-A antiendomysial antibody to screen for celiac disease in North American children with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21:1985-1989.
29. Carlsson A, Axelsson I, Borulf S, et al. Prevalence of IgA-antiendomysium and IgA-anti gliadin autoantibodies at diagnosis of insulin dependent diabetes mellitus in Swedish children and adolescents. *Pediatrics* 1999; 103:1248-1252.
30. Gillett PM, Gillett HR, Israel DM, et al. High prevalence of celiac disease in patients with type 1 diabetes detected by antibodies to endomysium and tissue transglutaminase. *Can J Gastroenterol* 2001;15:297-301.
31. Koletzko S, Burgin-Wolff A, Koletzko B, et al. Prevalence of coeliac disease in diabetic children and adolescents. A multicenter study. *Eur J Pediatr* 1988;148:113-117.
32. Holmes G. Coeliac disease and Type 1 diabetes mellitus: the case for screening. *Diabet Med* 2001;18:169-177.
33. Peretti N, Bienvenu F, Bouvet C, Fabien N, Tixier F, Thivolet C, et al. The Temporal Relationship Between the Onset of Type 1 Diabetes and Celiac Disease: A Study Based on Immunoglobulin A Antitransglutaminase Screening. *Pediatrics* 2004; 113:418-422.
34. Bao F, Yu L, Babu S, et al. One third of HLA DQ2 homozygous patients with type 1 diabetes express celiac disease-associated transglutaminase antibodies. *J Autoimmun* 1999;13:143-148.
35. Ghedira I, Sghiri R, Ayadi A, Sfar MT, Harbi A, Essoussi AS, et al. Anticorps anti-endomysium, anti-réticuline et anti-gliadine, intérêt dans le diagnostic de la maladie cœliaque chez l'enfant. *Pathol Biol (Paris)* 2001;49(1):47-52.
36. DeLong, ER, DeLong DM and Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating curves: A nonparametric approach. *Biometrics* 1988;44(3):837-845
37. Murray JA, Herlein J, Mitros F, Goeken JA. Serologic testing for celiac disease in the United States: results of a multilaboratory comparison study. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000 Jul;7(4):584-587.