

# Proyecto **PRODIGGEST**

Protocolos Asistenciales para mejorar la Gestión interdisciplinar  
de las enfermedades Digestivas en el ámbito hospitalario



[www.aeg-escuelavirtual.com](http://www.aeg-escuelavirtual.com)

## **DIRECCIÓN Y COORDINACIÓN**

Francesc Balaguer, Barcelona

Luis Bujanda, San Sebastián

## **SECRETARIO DE REDACCIÓN**

Miguel Montoro, Huesca

## **COMITÉ CIENTÍFICO**

Ángeles P. Aisa, Marbella

Javier Alcedo, Zaragoza

Joaquín Cubiella, Orense

Leticia Moreira, Barcelona

José Carlos Marín, Madrid

Pilar Nos, Valencia

Antonia Perelló, Barcelona

Begoña González, Barcelona

Emma Martínez Moneo, Bilbao

Óscar Murcia, Alicante

© De los textos 2020 - AEG (Asociación Española de Gastroenterología).

© Diseño y maquetación: Eva Cepeda.

Queda totalmente prohibida la reproducción total o parcial de los datos, textos y fotografías, sin autorización expresa de AEG.

# Proyecto **PRODIGGEST**



Evaluación diagnóstica del paciente  
con sospecha clínica de enfermedad  
celíaca y atrofia vellositaria  
seronegativa



## Coordinador del Grupo de trabajo

### **Miguel Montoro**

Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición. Hospital San Jorge. Huesca.  
Coordinador de Docencia y Formación de AEG.

## Colaboradores

### **Eduardo Arranz**

Servicio de Inmunología.  
Hospital Universitario Río Ortega. Valladolid.

### **Patricia Camo**

Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición.  
Hospital San Jorge. Huesca.

### **Pablo Cañamares**

Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición.  
Hospital San Jorge. Huesca

### **Claudia de Filippi**

Hospital Clínico. Universidad de Chile.

### **Carme Farré Masip**

Bioquímica Clínica.  
Hospital Universitari Sant Joan de Déu.

### **Fernando Fernández Bañares**

Servicio de Aparato Digestivo.  
Hospital Universitario Mutua de Terrasa.  
Barcelona.

### **Carme Ferrer Cassadó**

Servei Anatomia Patològica.  
Hospital Universitari Mútua Terrassa.  
Barcelona.

### **Carlos Gómez**

Servicio de Anatomía Patológica.  
Hospital General San Jorge. Huesca.

### **Concepción Núñez**

Instituto de Investigación Sanitaria.  
Hospital Clínico San Carlos.  
Madrid.

### **Eva Tristán**

Hospital Universitari Mútua Terrassa.  
Barcelona.

### **Laura Lacalle**

Servicio de Hematología.  
Hospital San Jorge. Huesca.

### **Mercedes Hernando**

Servicio de Anatomía Patológica.  
Hospital Universitario de León.

### **Garbiñe Roy**

Servicio de Inmunología.  
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

### **Silvia Izquierdo**

Laboratorio de Genética.  
Servicio de Bioquímica.  
Hospital Universitario Miguel Servet.  
Zaragoza.

**Javier Molina Infante**

Servicio de Aparato Digestivo.  
Hospital Universitario San Pedro de Alcántara. Cáceres.

**Carolina Olano**

Clínica de Gastroenterología "Prof. Henry Cohen".  
Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina.  
Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

**Ángeles P. Aisa**

Servicio de Aparato Digestivo.  
Hospital Universitario de Marbella.

**Ángeles Pizarro**

Servicio de Aparato Digestivo.  
Hospital Universitario Virgen del Rocío.  
Sevilla.

**Carlos Prieto**

Servicio de Bioquímica  
Hospital Universitario Miguel Servet.  
Zaragoza

**Arnoldo Riquelme**

Servicio de Aparato Digestivo.  
Hospital Universitario. Universidad Católica de Chile. Santiago. Chile.

**Santos Santolaria**

Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición.  
Hospital San Jorge. Huesca

**Elena Verdú**

Farncombe Family Digestive Health Research Institute, McMaster University, Hamilton, ON, L8N 3Z5 Canada.

**Santiago Vivas**

Servicio de Aparato Digestivo.  
Hospital Universitario de León.

## Secretario de redacción

**Miguel Montoro**

Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición. Hospital San Jorge. Huesca.  
Coordinador de Docencia y Formación de AEG.

## Ámbito de aplicación

- ✗ Atención primaria
- ✗ Atención hospitalaria

Unicéntrico

- ✗ Multicéntrico

Implica a una única Unidad o Servicio

- ✗ Multinacional

## Actividad a protocolizar

Promoción de la salud

Prevención de la enfermedad

- ✗ Diagnóstico

- ✗ Tratamiento

Rehabilitación

Cuidados paliativos

## Profesionales implicados

- ✗ Médicos de familia

- ✗ Gastroenterólogos

- ✗ Hematólogos

- ✗ Bioquímicos

- ✗ Inmunólogos

- ✗ Genetistas

- ✗ Endoscopistas

- ✗ Anatomopatólogos

- ✗ Radiólogos

- ✗ Dietistas-nutricionistas

- ✗ Asociaciones de pacientes

## Índice

Definición del problema .....	5	RASGOS QUE AYUDAN AL CLÍNICO AL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL, ADEMÁS DE LOS HAPLOTIPOS HLA Y EL PATRÓN DE AUTOANTICUERPOS.....	29
Población diana .....	7	TABLA 4. RIESGOS ATRIBUIDOS A LAS DISTINTAS COMBINACIONES DE HAPLOTIPOS. ....	35
Criterios de exclusión .....	7	TABLA 5. PROCEDIMIENTO OPTIMIZADO PARA LA RECOGIDA, TRANSPORTE E INTERPRETACIÓN DE LA BIOPSIA DUODENAL.....	36
Definición de la actividad a realizar.....	7	TABLA 6. CONDICIONES CLÍNICAS ASOCIADAS A LA ENFERMEDAD CELÍACA QUE PUEDEN EXPLICAR LA PERSISTENCIA DE LOS SÍNTOMAS A PESAR DE UNA DIETA SIN GLUTEN. ....	39
Fuentes de consulta principales .....	8	Recursos necesarios .....	40
Documento teórico o conceptual.....	9	LOCAL.....	41
INTRODUCCIÓN .....	9	MATERIAL CLÍNICO-DIAGNÓSTICO Y TERAPÉUTICO .....	41
DIAGNÓSTICO DE LA EC.....	9	RECURSOS ECONÓMICOS .....	42
Documentos operativos .....	18	Sistema de registro .....	42
Protocolo de manejo del paciente con sospecha clínica de EC y AVSN.....	18	Evaluación del protocolo .....	44
TABLA 1. SÍNTOMAS, SIGNOS Y/O CONDICIONES CLÍNICAS EN LOS QUE SE RECOMIENDA FIRMEMENTE INVESTIGAR UNA POSIBLE ENFERMEDAD CELÍACA. ....	27	ALGORITMO 1. AVSN + SOSPECHA CLÍNICA DE EC.....	45
TABLA 2. SÍNTOMAS, SIGNOS Y/O CONDICIONES CLÍNICAS EN LOS QUE SE RECOMIENDA CONSIDERAR LA NECESIDAD DE INVESTIGAR UNA POSIBLE ENFERMEDAD CELÍACA. ....	28	Bibliografía .....	48
TABLA 3. PRINCIPALES CAUSAS DE ENTERITIS LINFOCÍTICA Y DE ATROFIA VELLOSIARIA ADEMÁS DE LA EC Y			

## Definición del problema

La prevalencia de enfermedad celíaca (EC) ha experimentado un crecimiento notable a lo largo de las últimas décadas, multiplicándose por cinco de forma global en los últimos 50 años<sup>1-4</sup>. Ello obedece probablemente a una combinación de factores ambientales y a un mejor reconocimiento y conciencia por parte de los clínicos de los diferentes patrones de presentación de la enfermedad ([tabla 1](#) y [tabla 2](#))<sup>5</sup>.

El concepto «clásico» de que la EC se acompaña mayoritariamente de la presencia de autoanticuerpos específicos y que esta condición resulta obligada para solicitar una biopsia duodenal ha cambiado en los últimos años, tras reconocer que un porcentaje variable de pacientes con EC (2-15%) presentan una atrofia vellositaria seronegativa (AVSN)<sup>5-8</sup> y que hasta un 10% de los pacientes con enteritis linfocítica son verdaderos celíacos (Van de Voort JL, et al, 2016)<sup>9</sup>. Con independencia de las razones que pueden explicar este fenómeno (ver más adelante) y a pesar de las numerosas Guías Internacionales publicadas en los últimos años<sup>10-14</sup> no existe actualmente un consenso sobre el protocolo a seguir para asegurar el diagnóstico de EC en pacientes con sospecha clínica y AVSN, concepto que denominaremos «enfermedad celíaca seronegativa» (ECSN).

Algunos pacientes con sospecha clínica bien fundada de EC dejan de ser investigados por el hecho de presentar un resultado negativo en el cribado serológico, con el riesgo consiguiente de «infradiagnóstico». Estos pacientes quedan condenados a un largo recorrido por numerosas consultas, frecuentes cambios de facultativo y un considerable consumo de recursos. En el otro extremo, pacientes con AVSN po-

drían ser erróneamente diagnosticados de ECSN, sin tener en consideración que la atrofia vellositaria es una lesión morfológica compartida por muy numerosas entidades clínico-patológicas ([tabla 3](#))<sup>15-17</sup> y que la presencia de AVSN en un individuo con un test genético positivo, tampoco asegura el diagnóstico ya que hasta el 40% de la población de Norteamérica, Europa y del Sudeste asiático, presentan los haplotipos DQ2-DQ8 del sistema HLA, estimando que su presencia es necesaria, pero no suficiente para el desarrollo de la enfermedad<sup>18,19</sup>.

Un estudio del grupo de Aziz I, et al<sup>20</sup> realizado sobre una serie de 200 pacientes diagnosticados de AVSN en el Reino Unido, a lo largo de un periodo de 15 años, encontró 62 casos (31%) de ECSN. El 69% restante fueron catalogados como AVSN no celíaca (AVSN-NC). De ellos, un 27% presentaban una causa infecciosa, un 17,5% padecían una condición inflamatoria mediada por un mecanismo inmune, un 6,5% una causa farmacológica (por ej. olmesartán), y ninguna causa identificable en el 18% restante. Cabe destacar que el 72% de los pacientes en quienes no se logró identificar una causa de la AVSN, normalizaron las lesiones histológicas, sin ningún tipo de restricción dietética, hecho de gran interés y que alerta sobre la posibilidad de establecer un diagnóstico erróneo de ECSN en pacientes con AVSN por el mero hecho de tener un test genético positivo, y una respuesta histológica aparente a la dieta sin gluten (DSG). Algunos de estos pacientes hubiesen podido presentar una regresión espontánea de estas lesiones, sin restringir el aporte de gluten en su dieta habitual. Se discute, por tanto, si los pacientes con AVSN con una respuesta inicial a la DSG y curación de las lesiones no deberían ser sometidos a una prueba de provocación, y establecer de este modo una relación causa-efecto «razonable» entre la ingesta de gluten y la AVSN<sup>15</sup>.



En España no existen datos fidedignos sobre la verdadera prevalencia de EC entre las personas que presentan AVSN, y los resultados obtenidos en el Reino Unido<sup>20</sup> podrían no ser extrapolables a nuestro país, entre otros factores por la elevada prevalencia de pacientes de etnia no blanca incluidos en el estudio<sup>20</sup> y la frecuencia de causas infecciosas registradas en este subgrupo<sup>20</sup>. Fernández Bañares y cols publican su experiencia en el hospital Mutua de Terrasa, en colaboración con otros 3 centros españoles informando que el empleo de técnicas avanzadas de diagnóstico, como el inmunofenotipaje de poblaciones linfocitarias duodenales por citometría de flujo (linfogramas intrepiteliales) permite establecer el diagnóstico de ECSN hasta en un 55,22% de los pacientes con AVSN (sensibilidad del 87% (IC: 73,7-95) y especificidad del 96,7% (82,7-99,9) cuando el linfograma cumple la doble condición de un aumento de los linfocitos que expresan receptores gammadelta y una disminución de los CD3-, en tanto que si solo se observa un aumento de los primeros, la sensibilidad alcanza el 91,3% (79,2-97,6) y la especificidad el 83,3% (65,3-94,3), reforzando con ello la recomendación del Ministerio de Sanidad de implementar estas técnicas si se desea evitar tanto el infradiagnóstico como el error de diagnóstico (mal denominado sobrediagnóstico) de EC entre la población con sospecha clínica bien fundada de EC, resultados negativos de la serología y atrofia vellositaria<sup>21</sup>.

Un protocolo asistencial para el manejo de los pacientes con sospecha clínica de EC y AVSN requiere tener en consideración una serie de postulados o principios básicos, sin los cuales, la posibilidad de error es alta, propiciando un consumo inapropiado de recursos y a menudo un diagnóstico equívoco, con las consiguientes repercusiones sobre el paciente, su poder adquisitivo (la dieta sin gluten comporta un sobre-

coste), su calidad de vida y la sostenibilidad de las Unidades y Servicios que participan del proceso.

Existen al menos 5 factores que deberían ser tenidos en consideración, antes de establecer un diagnóstico fiable de AVSN:

- Considerar la posibilidad de un déficit selectivo de IgA ya que ello puede explicar algunos de los resultados «falsos negativos» de la serología. Ello obliga a cuantificar niveles plasmáticos de IgA a la vez que se solicita la determinación de anti-transglutaminasa tisular-IgA (ATG2). En caso de déficit se debería repetir la serología basada en IgG.
- En el supuesto de que el paciente hubiese retirado o reducido la ingesta de gluten de la dieta, es primordial explicar al paciente el sesgo que representa esta decisión en la interpretación de los resultados de la serología y de la biopsia. En estas circunstancias es pertinente considerar la posibilidad de una prueba de provocación y restaurar las condiciones idóneas para la investigación.
- La infección por *H. pylori* es una causa de duodenitis péptica, ferropenia y lesiones histológicas duodenales que se solapan con formas histológicamente leves de EC. Investigar, y en su caso tratar la infección elimina potencialmente este sesgo y contribuye a reducir el espectro etiológico de las lesiones identificadas en la biopsia.
- Un resultado negativo en la determinación de la genética DQ2-DQ8 del sistema HLA, elimina prácticamente la posibilidad de una EC. Este hecho es importante para evitar pruebas avanzadas que en

este contexto no serían coste-efectivas (por ej. investigar depósitos subendoteliales de transglutaminasa IgA o linfogramas intraepiteliales por citometría de flujo en pacientes seronegativos) salvo en casos muy seleccionados. La [tabla 4](#) muestra la estratificación del riesgo en función de las diferentes combinaciones de haplotipos.

- El procedimiento de la biopsia, el procesamiento de las muestras y la interpretación de los hallazgos por un patólogo experto son elementos claves para establecer un diagnóstico confiable de AVSN y deberían llevarse a cabo siguiendo un protocolo normalizado ([tabla 5](#)).

Cualquier registro prospectivo de casos de pacientes con sospecha clínica de EC y AVSN debería respetar estos postulados, si se desea obtener información fiable y fidedigna de la verdadera prevalencia de casos de ECSN.

## Población diana

Población adulta que es investigada por presentar síntomas, signos o condiciones clínicas asociadas a un mayor riesgo de EC y muestran AVSN en la biopsia.

## Criterios de exclusión

- Población pediátrica.

- Pacientes en quienes el diagnóstico de AVSN se ha realizado sin cumplir los postulados 1, 2 y 5 enumerados en el apartado «Definición del problema»; es decir:

- Pacientes con un resultado negativo en la determinación de ATG2, sin haber cuantificado niveles plasmáticos de IgA.
- Pacientes en quienes las investigaciones serológicas y/o la biopsia se han llevado a cabo un tiempo después de haber retirado el gluten de la dieta habitual, sin haber sometido al paciente a una prueba de provocación.
- Pacientes en quienes el diagnóstico de AVSN se ha realizado sin respetar un procedimiento normalizado en la toma, procesamiento e interpretación de las muestras ([tabla 5](#)).

## Definición de la actividad a realizar

- Revisar el estado actual de los diferentes procedimientos disponibles para el diagnóstico de la EC, incluyendo síntomas y signos que permiten sospechar la enfermedad, utilidad de la serología, rendimiento del test genético y estudio anatomopatológico.
- Revisar la información disponible en la literatura acerca de la prevalencia descrita de ECSN.
- Proporcionar un listado de entidades clínico-patológicas diferentes de la EC capaces de inducir lesiones histológicas similares, así

como de los rasgos clínicos y morfológicos que ayudan al clínico a establecer un diagnóstico diferencial.

4. Investigar la utilidad de pruebas avanzadas que añaden sensibilidad y especificidad al diagnóstico de EC en presencia de AVSN: depósitos subepiteliales de transglutaminasa IgA y/o determinación del inmunofenotipo característico de la EC mediante linfogramas intraepiteliales obtenidos por citometría de flujo.
5. Desarrollar un protocolo asistencial y un algoritmo de manejo del paciente con sospecha clínica de EC y AVSN que permita identificar a pacientes con ECSN, a la vez que evitar diagnósticos erróneos, siguiendo un modelo centrado en la seguridad del paciente (evitar pruebas superfluas que añadan riesgos innecesarios) y que resulte coste-efectivo (lograr el objetivo propuesto al menor coste posible).

## Fuentes de consulta principales

1. Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabo IR, Laurila K, Partanen J, Huh-tala H, et al. Endomysial antibody-negative coeliac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits. *Gut*. 2006; 55:1746-53.
2. Downey L, Houten R, Murch S, Longson D, for the Guideline Development Group. Recognition, assessment, and management of coeliac disease: summary of updated NICE guidance. *BMJ*. 2015; 351: h4513.
3. Volta U, Caio G, Boschetti E, Giancola F, Rhoden KJ, Ruggeri E, et al. Seronegative celiac disease: shedding light on an obscure clinical entity. *Dig Liver Dis*. 2016;48:1018-22.
4. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA, for the American College of Gastroenterology. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:656-76.
5. Ludvigsson JF, Bai JC, Biagi F, Card TR, Ciacci C, Ciclitira PJ, et al, for the BSG Coeliac Disease Guidelines Development Group, British Society of Gastroenterology. Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology. *Gut*. 2014;63:1210-28.
6. Catassi C, Fasano A. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms. *Am J Med*. 2010;123:691-3.
7. DeGaetani M, Tennyson CA, Lebwohl B, Lewis SK, Abu Daya H, Arguelles-Grande C, et al. Villous atrophy and negative celiac serology: a diagnostic and therapeutic dilemma. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:647-53.
8. Luca E, Branchi F, Sidhu R, Guandalini S, Assiri A, Rinawi F, et al. Small bowel villous atrophy: celiac disease and beyond. *Expert Rev Gastroenterol & Hepatol*. 2017;125-138.
9. Gasbarrini G, Miele L, Malandrino N, Grieco A, Addolorato G, Gasbarrini A, et al. Celiac disease in the 21st century: issues of under- and over-diagnosis. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2009;22: 1-7.

10. Aziz I, Peerally MF, Barnes JH, Kandasamy V, Whiteley JC, Partridge D, et al. The clinical and phenotypical assessment of seronegative villous atrophy; a prospective UK centre experience evaluating 200 adult cases over a 15-year period (2000-2015). *Gut*. 2016;66:1563-72.
11. Pallav K, Leffler DA, Tariq S, Kabbani T, Hansen J, Peer A, et al. Noncoeliac enteropathy: the differential diagnosis of villous atrophy in contemporary clinical practice. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35:380-90.
12. Walker MM, Murray JA. An update in the diagnosis of coeliac disease. *Histopathology* 2011;59:166-79.
13. Lindfors K, Kaukinen K, Mäki M. A role for anti-transglutaminase 2 autoantibodies in the pathogenesis of coeliac disease? *Amino Acids*. 2009;36:685-91.

## Documento teórico o conceptual

### INTRODUCCIÓN

La enfermedad celíaca (EC) es una condición clínica desencadenada por factores ambientales no bien conocidos, que condiciona una respuesta inflamatoria de origen inmune tras la ingestión de gluten en un huésped genéticamente predispuesto. Su prevalencia se ha multiplicado por cinco en las últimas décadas y afecta de forma global al 1% de la población<sup>1-3, 22-23</sup>. El creciente número de casos y el conocimiento

de que hasta un 15% de los nuevos casos diagnosticados son seronegativos<sup>5,7</sup>, ha promovido el desarrollo de numerosas Guías y Consensos con diferentes propuestas y criterios para asegurar el diagnóstico<sup>10-14</sup> y evitar diagnósticos equívocos<sup>15-17</sup>. El presente Documento revisa el estado actual de los diferentes procedimientos disponibles para el diagnóstico de la EC, incluyendo síntomas y signos que permiten sospechar la enfermedad, utilidad de la serología, rendimiento del test genético y estudio anatomopatológico y un informe actualizado sobre la prevalencia de ECSN y de las dificultades que comporta el diagnóstico en estas circunstancias.

### DIAGNÓSTICO DE LA EC

#### ¿A QUIÉN INVESTIGAR?

La cuestión de a quién investigar es un tema de controversia. La Guía publicada por *The National Institute for Health and Care Excellence* (NICE)<sup>13</sup> define un conjunto de entidades clínicas que serían subsidiarias de una investigación específica (**tabla 1**) y otras en las que el diagnóstico debería ser considerado (**tabla 2**). La cuestión a debate es ¿en qué punto deben detenerse las investigaciones, antes de descartar una EC de un modo razonable y coste-efectivo? Por ejemplo, pacientes con síntomas abdominales o gastrointestinales que no pueden ser explicados por otra causa (incluidos en la **tabla 1-Nice**), constituyen un contingente importante de sujetos que deberían ser investigados. Limitar la investigación a una determinación de ATG2 en estos pacientes comporta el riesgo de infradiagnosticar a personas en quienes una biopsia duodenal hubiese podido detectar lesiones histológicas compatibles en pacientes seronegativos. En el otro extremo, la presencia

de un test genético positivo y atrofia vellositaria podría condenar a algunas personas a una dieta sin gluten de por vida, sin haber tenido en consideración que algunos pacientes con AVSN (quizá de origen infeccioso) pueden experimentar una regresión espontánea de las lesiones sin restricción dietética alguna<sup>20</sup> o tras un tratamiento médico ajustado a la verdadera etiología de sus lesiones (tabla 3). En todo caso, las entidades clínicas especificadas en la Guía Nice<sup>13</sup> deben ser tenidas en cuenta para desenmascarar la ingente cantidad de casos que permanecen sin diagnóstico (teoría del iceberg). Indudablemente, el valor de una anamnesis detallada es incalculable, y es capaz de recabar información que solo un clínico, con formación, interés y tiempo está en condiciones de realizar. Este es un punto que pocas veces se menciona en las Guías, y es un hecho incuestionable que la falta de concienciación, de interés y/o el tiempo limitado de las consultas médicas, constituyen un hándicap importante para mejorar la sospecha clínica.

## PROCEDIMIENTOS DIAGNÓSTICOS

### Diagnóstico serológico

#### **Anticuerpos anti-transglutaminasa tisular 2 (anti-Tg2) isotipo Ig A (IgA-tTG)**

Son los más comúnmente utilizados para el despistaje. Su sensibilidad para el diagnóstico es alta (>95%), pero su especificidad (90%) algo menor que la de los antiendomiso, porque pueden estar presentes a títulos bajos en enfermedades autoinmunes, enfermedades hepáticas e infecciones. Se realizan por ELISA, una técnica objetiva y cuantitativa.

#### **Anticuerpos anti-endomiso isotipo IgA (EMA)**

Su sensibilidad es más baja (80-90%) que la de los IgA-tTG, pero su especificidad es próxima al 100%, pues solo reconocen epítomos de Tg2 relacionados con EC. Se realizan mediante inmunofluorescencia, una técnica subjetiva y semicuantitativa. Por ello, en la mayoría de los centros se reservan para confirmar resultados positivos de IgA-tTG, especialmente en niños menores de dos años y cuando los títulos de IgA-tTG son débilmente positivos.

#### **Anticuerpos anti-péptidos de gliadina desamidada (anti-DGP) isotipos Ig G e IgA**

Son anticuerpos dirigidos frente a péptidos inmunodominantes producidos durante la digestión de la gliadina y desamidados en la submucosa intestinal por Tg2. Se determinan por técnicas objetivas y cuantitativas (ELISA). Tanto los IgG como los IgA presentan una sensibilidad diagnóstica del 80-95% y una especificidad del 80-90%. En casos de déficit de IgA puede ser de utilidad la determinación de IgG-anti-DGP.

Actualmente, la recomendación en individuos asintomáticos es realizar cribado mediante serología sólo en aquellos que pertenezcan a grupos de riesgo: individuos con familiares de 1ª generación con EC, diabetes tipo 1, Síndrome de Down, Síndrome de Turner y Enfermedades tiroideas autoinmunes<sup>24</sup>.

Respecto a los pacientes con sospecha clínica, actualmente, los IgA-tTG y IgA-EMA tienen una utilidad equivalente y el mayor valor predictivo positivo para el diagnóstico<sup>25,26</sup>. En la mayoría de los centros se

realizan solo los primeros, por la mayor complejidad técnica y coste de los segundos.

Un punto importante es que las investigaciones inmunoserológicas deberían llevarse a cabo antes de haber retirado el gluten de la dieta. Hoy en día, muchos pacientes han retirado el gluten antes de haber sido sometidos a una evaluación médica y este hecho podría enmascarar los resultados tanto de la serología como del análisis histológico. Para tales casos se recomienda ofrecer al paciente una reexposición al gluten durante un corto periodo de tiempo antes de realizar esas exploraciones. 10 g de gluten (equivalente a 4 rebanadas de pan tipo baguette/24 h), durante al menos 4 semanas, constituye una exposición suficiente, si bien algunos estudios sugieren que cantidades tan bajas como 3 g y/o periodos de exposición más cortos podrían ser de utilidad en pacientes con muy mala tolerancia<sup>27,28</sup>.

Existen otras tres situaciones en las que los anticuerpos IgA-tTG pueden ofrecer resultados falsos negativos:

- Pacientes con déficit selectivo de IgA; en estos casos la determinación de IgA-tTG, IgA-EMA e IgA-DGP pueden ofrecer un resultado falso negativo. Para tales casos, la determinación de anti-DGP-IgG aumenta la eficiencia diagnóstica <sup>29,30</sup>. Un metaanálisis publicado en 2012 mostró que los anti-DGP IgG presentaban una sensibilidad global del 80,1% al 98,6%<sup>31</sup>.
- Niños menores de 2 años; la determinación de IgA-EMA aumenta sensibilidad y especificidad.

- Niños y adultos con lesión histológica sin atrofia vellositaria (Marsh I y II). Tales pacientes pueden presentar una serología negativa para IgA-tTG e IgA EMA, pero en ocasiones los anti-DGP IgG e IgA son positivos<sup>32</sup>. En todos estos casos la valoración de la presencia de linfocitos intraepiteliales gammadelta + y/o de depósitos mucosos de transglutaminasa-IgA es de gran ayuda para esclarecer el diagnóstico.

Los tres anticuerpos mencionados son dependientes de gluten y desaparecen tras la dieta, pero ninguno se correlaciona bien con la clínica ni con la histología. Tampoco son útiles para valorar la adherencia a la dieta ni la detección de transgresiones dietéticas. Estudios recientes sugieren que la determinación en heces u orina de péptidos inmunogénicos de gliadina, podrían ser de utilidad para valorar transgresiones<sup>33</sup>. En pacientes con buena adherencia a la dieta y que no evolucionan bien esta técnica también podría ser útil en el diagnóstico de celíaca refractaria.

### Diagnóstico genético

Más del 90% de los pacientes con EC son portadores del heterodímero HLA-DQ2 (codificado por los alelos HLA-DQB1\*02 y DQA1\*05), ya sea en homocigosis y asociados a DR3 (DQ2.5), o en heterocigosis, mayoritariamente en individuos DR11/DR7 (DQ7.5/DQ2.2). El resto muestra un segundo heterodímero: DQ8 (codificado por los alelos DQA1\*03 y DQB1\*03:02); o son portadores de uno de los alelos del DQ2 por separado: DQB1\*02 (como parte de la molécula DQ2.2) o DQA1\*05 (en la molécula DQ7.5).<sup>34</sup>.

El estudio genético puede realizarse mediante el genotipado de los loci HLA- DQA1 y HLA-DQB1, o la determinación de los alelos HLA-DQB1\*02 y DQA1\*05 (DQ2.5) y HLA-DQB1\*03 y HLA-DQB1\*03:02 (DQ8), y tiene

interés conocer la carga genética (presencia de una o dos copias) de los alelos HLA-DQB1\*02 y HLA-DQB1\*03:02<sup>35</sup>. La prueba puede emplearse como apoyo al diagnóstico de la EC y tiene un alto valor predictivo negativo, permitiendo su exclusión con un 99% de certeza.

Estos alelos son los únicos marcadores genéticos de riesgo con utilidad clínica, considerados siempre en el contexto de la expresión clínica de la EC y de la evolución histopatológica de la lesión intestinal. La interpretación de los resultados del estudio genético en un individuo permite establecer varios grupos de riesgo para este caso índice, aunque las clasificaciones de riesgo asociadas a los distintos genotipos deberían ser calculadas para cada población. Se atribuye el riesgo mayor a los portadores del DQ2.5 con dos copias del alelo DQB1\*02, como en los homocigotos DQ2.5/DQ2.5 y heterocigotos DQ2.5/DQ2.2; disminuyendo en los que tienen una sola copia del DQB1\*02 (DQ2.5/DQ8, DQ2.5/DQ7.5, DQ2.5/otro, DQ2.2/DQ7.5) y los homocigotos HLA-DQ8 (DQ8/DQ8). La presencia aislada del alelo DQA1\*05 no permite descartar la EC, que sí puede excluirse en aquellos individuos sin ningún alelo de riesgo<sup>36</sup>.

El estudio genético no es considerado en el cribado inicial de un paciente con sospecha clínica de EC, pero puede ser útil en los siguientes escenarios<sup>37</sup>:

- En presencia de sospecha clínica y serología negativa. En tales casos, un estudio genético negativo obliga a considerar un diagnóstico alternativo.
- Identificación de individuos con riesgo elevado, entre familiares de primer grado y/o pacientes con enfermedades asociadas con sero-

logía positiva y biopsia normal. Estos casos son subsidiarios de seguimiento.

- Pacientes que han retirado voluntariamente el gluten de la dieta y no desean ser sometidos a una prueba de provocación o rechazan la realización de una gastroscopia. En tales casos, un test genético negativo es prácticamente incompatible con el diagnóstico de EC y no sería necesaria una biopsia. Si los síntomas del paciente mejoran tras la retirada del «gluten», entrarían en la categoría de «sensibilidad al trigo no celíaca». Si no mejoran, una biopsia duodenal podría descubrir lesiones histológicas propias de una condición clínico-patológica distinta de la EC como responsable de los síntomas.
- En los niños con sospecha clínica fundada y anticuerpos anti-tTG IgA muy elevados (>10 LSN), hasta 2020 era necesario para realizar el diagnóstico sin necesidad de biopsia intestinal (requiere además confirmación de serología positiva para antiendomiso, en una muestra de sangre diferente).
- Pacientes con clínica sugestiva, serología negativa y lesiones histológicas compatibles con enteritis linfocítica (Marsh 1) o atrofia vellositaria leve (Marsh 3a). En tales casos, el conocimiento de un test genético negativo evitaría pruebas avanzadas, tales como la medición de depósitos subepiteliales de transglutaminasa -IgA o la realización de un linfograma intraepitelial (tales procedimientos no serían coste-efectivos en este escenario salvo en casos muy seleccionados).

### Diagnóstico histopatológico

La realización de biopsias del intestino delgado es parte fundamental del proceso diagnóstico de la EC. Un hándicap reconocido por los pro-

pios patológicos es la variabilidad intra e interobservador. Se describen a continuación una serie de consideraciones para evitar errores y optimizar la interpretación de los hallazgos:

### 1. Antes de la endoscopia:

- La toma de biopsias para el diagnóstico de EC debe de realizarse mientras el paciente sigue una dieta con gluten. Si el paciente ha iniciado una dieta sin gluten, debería de reintroducirse el gluten (8-10 g durante un periodo de tiempo no inferior a 3-4 semanas) antes de realizar la biopsia intestinal. En casos de manifiesta intolerancia, podrían ser suficientes cantidades tan bajas como 3-5 g durante 1 semana).
- Disponer de información acerca de la existencia de una infección por *H. pylori*. La duodenitis péptica asociada a infección por *H. pylori* es una causa reconocida de cambios histológicos, especialmente en el bulbo y porciones más proximales del duodeno<sup>38-40</sup>. El desconocimiento de este diagnóstico podría ser una causa de error, especialmente para patólogos no experimentados.
- Otros aspectos que el patólogo debería conocer son la toma de fármacos capaces de inducir duodenosis linfocítica (por ej. AINE) o atrofia vellositaria, especialmente olmesartán<sup>41-44</sup> y/o cualquier información que pueda orientar al patólogo<sup>38,45</sup>.

### 2. Durante la endoscopia:

- La endoscopia permite la observación directa de cambios macroscópicos característicos en la mucosa duodenal, incluyendo

el patrón festoneado, la reducción de pliegues y la nodularidad. Aunque estos cambios son de ayuda para dirigir la toma de biopsias, no son suficientemente sensibles ni específicos para el diagnóstico<sup>46,47</sup>.

- Los cambios histológicos asociados a la EC son parcheados, por lo que se recomienda tomar biopsias duodenales múltiples para realizar el diagnóstico de EC. Aunque existe controversia respecto al número y localización de las muestras, se aconseja obtener al menos 4 biopsias del duodeno y 2 bulbares. Un estudio reciente demostró que obtener biopsias del bulbo, sin embargo, no es totalmente coste-efectivo, cuando la probabilidad pre-test es baja<sup>48</sup>.
- Las pinzas Jumbo no conllevan ventajas significativas sobre las pinzas de biopsia desechables de cuchara radial, utilizadas de rutina<sup>49</sup>. Las pinzas de biopsia modelo Radial Jaw 4 poseen un diámetro similar a las convencionales (2,2 mm), pero con copas más largas, lo que permite obtener muestras de tejido más profundas.
- Las biopsias se toman sobre un pliegue circular para evitar el aplastamiento del espécimen y artefactar la muestra<sup>50</sup>.
- Clásicamente, las muestras se han orientado sobre un medio de soporte, como papel de filtro, o materia vegetal (por ej. pepino)<sup>51</sup>. Sin embargo, la mayoría de los laboratorios de anatomía patológica confían en una buena orientación de las biopsias, sin necesidad de que sean remitidas en un medio de soporte, siempre que las biopsias se hayan tomado de una en una y sin



sacudir la pinza en el interior del recipiente. Esta práctica, muy común, favorece la rotura y desprendimiento del epitelio.

- En algunos contextos, puede ser necesario la toma de muestras de antro para un test rápido o ultrarrápido de ureasa, si no se dispone de información acerca de una infección por *H. pylori* y muestras de cuerpo y antro para investigar una posible gastritis crónica atrófica autoinmune (especialmente cuando se detectan niveles bajos de vitamina B12) o una gastritis linfocítica, entidad que está presente en el 18-33% de los pacientes diagnosticados de EC<sup>52-54</sup>.
- Las muestras deben ser depositadas con cuidado en solución de formol. Si se desean obtener linfogranas intraepiteliales las muestras deben enviarse en medio de cultivo (ver más adelante) y si se desea medir depósitos mucosos de tTG-IgA es imprescindible la congelación inmediata en nitrógeno líquido, usando tubo Eppendorf con medio OCT, y almacenamiento a -80 °C.
- En determinados casos puede ser útil enviar muestras de jugo duodenal para investigar la presencia de parásitos, tales como *Giardia lamblia*<sup>45</sup>.

### 3. En el laboratorio de Anatomía Patológica:

- Arquitectura vellositaria: una evaluación adecuada de la biopsia requiere una orientación correcta de tres a cuatro vellosidades. En ausencia de vellosidades, se aconseja realizar la orientación mediante la identificación de criptas paralelas que se extienden desde la muscularis mucosa hasta la superficie luminal<sup>55</sup>.

- La atrofia (vellosidades ensanchadas, acortadas y aplanadas) es una característica principal en la enfermedad celíaca establecida<sup>56-58</sup>, pero lo que se considera una relación vellosidad:cripta normal es muy variable y varía de 3:1 a 5:1<sup>59</sup>, pero incluso 2:1<sup>60</sup>, 1,82:1<sup>61</sup> y 1:1<sup>62</sup> se han descrito como normales.
- La atrofia viene precedida por hiperplasia compensatoria de las criptas, donde son frecuentes las mitosis desde la profundidad de las criptas hasta la superficie y está aumentado el recambio de enterocitos<sup>45</sup>.

### 4. Recuento de linfocitos intraepiteliales (LIEs).

- Un aumento en el recuento de LIEs/100 enterocitos a lo largo de las vellosidades es un rasgo cardinal dentro del espectro de lesiones histopatológicas características de la EC. Sin embargo, la frontera entre lo que constituye un recuento “normal” y “anormal” ha sido objeto de debate y controversia<sup>45</sup>.
- En la práctica, el recuento de LIEs debe realizarse de una manera efectiva y a la vez eficiente. Un simple recuento de LIEs por cada 20 enterocitos en la punta de cinco vellosidades resulta eficiente, sensible y específico<sup>63,64</sup>. A su vez, un recuento de LIE por cada 50 enterocitos en dos vellosidades y su suma posterior también es eficiente y fiable<sup>65</sup>.
- El valor de referencia para el recuento de LIEs se situó en un principio en  $\leq 40\%$ . Esto, sin embargo, ocurrió en un momento en que las biopsias se tomaban con cápsula de Crosby en el yeyuno, segmento del intestino donde existe una mayor densi-

dad de LIEs. Actualmente existe acuerdo en que para biopsias duodenales un recuento de LIEs se considera normal por debajo de 25%<sup>55,65</sup> y algunos sugieren una cifra inferior a 20%<sup>66</sup>. En cualquier caso, la duodenosis linfocítica es un rasgo morfológico inespecífico con un espectro etiológico amplio, incluyendo la toma de AINE, la infección por *H. pylori*, el sobrecrecimiento bacteriano intestinal, la giardiasis, la gastroenteritis vírica y la enfermedad de Crohn, entre otros.

- Se ha señalado que la distribución de LIEs dentro de la vellosidad es importante. Si bien se ha descrito un incremento de los LIEs en el extremo apical de vellosidades arquitectónicamente normales en la EC, una distribución uniforme a lo largo de toda la vellosidad es aún más común (75% de los casos de EC probada vs 4% en no celíacos y 0% en controles). El signo del “decreciendo” caracterizado por un incremento en la densidad de linfocitos intraepiteliales en la base de las vellosidades a costa de un descenso en su parte más alta o apical debería hacer considerar una entidad distinta a la EC<sup>67</sup>.
- El empleo de inmunohistoquímica para el recuento de LIEs no se realiza de rutina<sup>68</sup>, pero puede ser útil en casos difíciles en los que el número es dudoso<sup>69</sup>. En biopsias con arquitectura normal, la distribución de linfocitos CD3+ con un patrón de localización predominante en la zona apical es sugestivo de EC; el uso de CD8 como marcador es menos útil, mostrando un patrón de predominio apical en todos los casos de EC, pero también en el 56% de los que no tienen la enfermedad. Esto se explica por el hecho de que el incremento de LIEs observado en la EC corresponden a lin-

focitos T que expresan TCR gammadelta (CD3+TCR gammadelta+) y un descenso concomitante de linfocitos T CD3 negativos. Estas son células T citotóxicas, responsables del daño de la mucosa que se observa en la EC, están presentes en la mayoría de los enfermos celíacos y ausentes en otras condiciones<sup>21,70</sup>.

## 5. Elementos clave en el informe histopatológico

- El informe sobre una biopsia duodenal debe contener al menos una descripción de la arquitectura vellositaria, recuento de LIEs (normal o si > 25, número real), presencia de inflamación activa (neutrófilos) si está presente, patógenos y, si está disponible, comparación con una biopsia previa<sup>45</sup>.
- Respecto a la clasificación a utilizar, sigue siendo objeto de debate entre clínicos y patólogos si resulta preferible una buena descripción de los hallazgos histopatológicos informados por un patólogo experto o concretar los hallazgos en un informe breve basado en una de las clasificaciones bien conocidas por todos los patólogos (Marsh<sup>71</sup>, Marsh-Oberhuber<sup>72</sup>, Corazza<sup>55</sup>, Ensari<sup>68</sup>). De acuerdo con Corazza, et al, a la hora de clasificar el grado de lesión, se ha de considerar siempre que “cuanto mayor es el número de categorías diagnósticas de un método, menor es el acuerdo interobservador e intraobservador, con la consiguiente reducción de su reproducibilidad diagnóstica”<sup>55</sup>. Existen excelentes revisiones sobre las bondades de estas clasificaciones, para patólogos<sup>72-74</sup>.
- Con frecuencia, el patólogo hará una alusión en su informe del tipo “las características descritas están en consonancia con una

EC si bien estos hallazgos deben ser cotejados con las características clínicas, serológicas y genéticas del paciente y en un contexto apropiado".

- La prudencia de esta aseveración, viene a corroborar que el diagnóstico de una EC requiere el cumplimiento de unos criterios clínico-patológicos, ya que ninguno de los hallazgos descritos son patognomónicos para la enfermedad. De hecho, no es infrecuente que el propio patólogo emita en su informe una advertencia acerca de otras patologías que pueden exhibir rasgos similares, entre ellas infecciones bacterianas como la infección por *H. pylori* que pueden mostrar daño vellositario con un marcado infiltrado inflamatorio activo<sup>38-40</sup> o el propio síndrome de sobrecrecimiento bacteriano intestinal. Otros agentes microbianos implicados son *Tropheryma whipplei* (macrófagos PAS+), infecciones oportunistas en estados de inmunosupresión y, raramente, *Giardia lamblia*<sup>68</sup>. Otras entidades bien reconocidas que pueden imitar los rasgos morfológicos de la EC son los estados de grave deficiencia proteica (kwashiorkor) y el esprúe tropical<sup>57</sup>. La [tabla 3](#) muestra un amplio listado de entidades clínico-patológicas causantes de atrofia vellositaria y la [tabla 4](#) una lista de comprobación para verificar la calidad del procedimiento antes, durante y después de realizar la biopsia duodenal.

### Investigaciones avanzadas

#### **Linfogramas intraepiteliales por citometría de flujo**

La citometría de flujo de la biopsia duodenal permite el estudio de las subpoblaciones de linfocitos intraepiteliales (LIEs) en la mucosa. Se ha

descrito un patrón celíaco (aumento de LIEs con TCR  $\gamma\delta$ + y disminución de LIEs CD3neg) que muestra una elevada precisión diagnóstica para EC<sup>73-81</sup>. Esta técnica complementaria es de utilidad en el diagnóstico de la EC seronegativa, en pacientes con EC sin atrofia (Marsh 1 y 2) y en casos dudosos. El recuento de LIEs  $\gamma\delta$ + se mantiene elevado tras iniciar la dieta sin gluten, por lo que se considera un marcador de EC en aquellos pacientes que han iniciado una dieta sin gluten por cuenta propia y no quieren realizarse una prueba de provocación.

Para su determinación debe de tomarse 1 biopsia de D2, introducirla en un medio de cultivo estándar (ver composición del medio de cultivo más adelante), y remitirla para ser procesada de forma inmediata (en unas 2-4 horas). Todos los hospitales que poseen citómetro de flujo (para estudio de subpoblaciones linfocitarias en linfomas, etc) tienen el utillaje necesario para realizar esta prueba. Es una prueba objetiva, estandarizada, que proporciona un resultado cuantitativo en pocas horas.

La citometría de flujo de la biopsia duodenal es igualmente necesaria para diagnosticar las poblaciones aberrantes de linfocitos en la ECR tipo 2.

#### **Depósitos subepiteliales de transglutaminasa IgA**

En pacientes con EC no tratada es posible detectar depósitos de IgA tTG subepiteliales y alrededor de los vasos en la lámina propia. Para su determinación es necesario obtener 1 biopsia de duodeno (D2) y congelarla inmediatamente en nitrógeno líquido en un tubo Eppendorf con medio OCT. Luego se almacena a -80°C hasta el análisis mediante inmunofluorescencia y microscopía confocal. La valoración de las inmunotinciones es subjetiva, proporciona un resultado cualitativo (-/+ /++)

y requiere experiencia. En alrededor de un 15% de las muestras los resultados son no concluyentes. Es de destacar que estos depósitos pueden detectarse en pacientes EMA+ y sin atrofia de vellosidades e incluso en pacientes con serología negativa y lesiones tipo Marsh 1 a 3. Por tanto, la detección de los mismos puede ser útil para el diagnóstico de la EC potencial y la EC seronegativa y refuerza el diagnóstico de EC en casos dudosos<sup>82-86</sup>. En manos experimentadas, ha mostrado tener una sensibilidad y especificidad del 100% y 82%, respectivamente, para el diagnóstico de EC<sup>82</sup>.

#### Test de IFN- $\gamma$ ELISPOT y test de tetrámeros HLA-DQ2.5-Gliadina

Estas dos técnicas permiten diagnosticar EC en pacientes que han iniciado una dieta sin gluten, tras una provocación con gluten durante 3 días. El IFN- $\gamma$  ELISPOT posee una sensibilidad del 85% y una especificidad del 100% para detectar EC HLA-DQ2.5+ en estos casos<sup>87</sup>. La sangre para citocinas se extrae de forma basal y después de 6 días de la provocación con gluten.

El test de tetrámeros permite detectar células T DQ2.5+ epítipo-específicas en sangre periférica, tres días después de la provocación con gluten. Se ha descrito una sensibilidad del 85% y una especificidad del 100% para diagnosticar la EC HLA-DQ2.5+. Esta prueba puede ser incluso más sensible que la histología tras la provocación con gluten<sup>87-89</sup>.

#### ENFERMEDAD CELÍACA CON ATROFIA VELLOSIARIA SERONEGATIVA (EC-AVSN)

El resultado de una serología negativa en un paciente con sospecha clínica de EC y atrofia vellositaria representa un verdadero desafío

diagnóstico. Se ha comunicado que entre un 2 y un 20% de los pacientes con EC presentan AVSN<sup>5,7,8,15,20,26,89-92</sup>. Por tanto, clínicos y patólogos deben tener conciencia de esta entidad clínica. Algunos estudios revelan que pacientes con EC con serología negativa para EMA, presentan depósitos mucosos de IgA frente a tTG<sup>5</sup>. Diversas razones pueden explicar la presencia de AVSN:

- Déficit selectivo de IgA: constituye la inmunodeficiencia primaria más común, afecta a uno de cada 400-600 personas de la población general, y una proporción no despreciable de los que se someten a pruebas de enfermedad celíaca (uno de cada 131 de los pacientes evaluados para EC y uno de cada seis, de los que son evaluados apropiadamente)<sup>93</sup>. La investigación para la deficiencia de IgA debe llevarse a cabo si se encuentra una baja densidad óptica en la prueba de IgA-tTG y cuando se obtienen resultados de IgA-tTG muy bajos (< 0,07 mg/dL).
- Inmunodeficiencia común variable.
- Uso de inmunosupresores (por ej. micofenolato mofetil).
- Fases precoces de la enfermedad<sup>26</sup>.
- Fases tardías de la enfermedad: enteropatía asociada a linfoma de células T.
- Pacientes que han suprimido de forma voluntaria el gluten de la dieta.

Contrariamente a lo comunicado por otros autores<sup>9</sup>, un estudio que comparó las características clínicas de pacientes con EC seropositiva

y seronegativa, encontró que los seronegativos presentaban en general mayor edad en el momento del diagnóstico (49 años vs 36 años;  $p < 0,005$ ) y mayor prevalencia de diarrea, atrofia vellositaria más grave y mayor frecuencia de enfermedades autoinmunes<sup>8</sup>. De acuerdo con Salmi et al<sup>6</sup>, se podría hipotetizar que en casos de mayor gravedad histológica, los anticuerpos de tipo IgA quedarían retenidos en la mucosa duodenal por una mayor avidéz por la tTG, impidiendo su incorporación a la circulación para causar seropositividad. La hipótesis de que la ECSN se asocia con formas crónicas y más graves de enfermedad celíaca necesita ser validada en estudios prospectivos metodológicamente bien diseñados. En el estudio prospectivo más largo realizado hasta el momento, Aziz et al<sup>20</sup>, analizaron 200 casos de pacientes con AVSN, encontrando un 31% de casos de ECSN, 27% respondían a un origen infeccioso, y 18% eran idiopáticas. Nótese, que más de 2/3 de estas formas idiopáticas se resolvieron de forma espontánea sin intervención dietética alguna. Este hecho adquiere una importancia singular ya que demuestra cómo pacientes con AVSN, muchos de los cuales son DQ2 o DQ8 positivos (presentes hasta en el 40% de la población occidental) podrían ser erróneamente etiquetados de celíacos por el hecho de responder clínica e histológicamente a la DSG, y plantea el debate de si estos pacientes precisarían de una prueba de provocación para confirmar el diagnóstico. Este camino es largo (3 biopsias en diferentes momentos evolutivos), difícilmente coste-efectivo y pone el acento en la necesidad de aplicar técnicas avanzadas que añadan especificidad al diagnóstico ya en la primera biopsia en las formas seronegativas (ver punto 6). Respecto al porcentaje de casos de ECSN (31%) observado en este estudio, cabe considerar que una proporción alta de casos pertenecían a una

etnia no blanca, con una elevada prevalencia de infecciones detectadas en este grupo (66%). En nuestro país no se dispone de información en este punto y es probable que esta proporción pudiese variar en un registro prospectivo de una larga serie de casos. Datos obtenidos de un estudio reciente de Fernández Bañares y cols han informado una tasa de ECSN del 55% en una serie de casos de AVSN estudiados mediante linfogramas mucosos aplicando citometría de flujo<sup>21</sup>.

Entre tanto, el diagnóstico de ECSN requeriría de la presencia de una clínica compatible, un test genético positivo, la presencia de atrofia vellositaria en cualquiera de sus grados, la exclusión de otras entidades clínico-patológicas capaces de provocar atrofia vellositaria<sup>94</sup> y en algunos casos una prueba de provocación.

## DOCUMENTOS OPERATIVOS

### PROTOCOLO DE MANEJO DEL PACIENTE CON SOSPECHA CLÍNICA DE EC Y AVSN

Se describen de forma sinóptica los pasos a seguir en el paciente con sospecha clínica de EC y AVSN. Debe tenerse en consideración que el protocolo se circunscribe a pacientes que presentan síntomas, signos o condiciones clínicas de riesgo que por su naturaleza obligan a considerar a la EC como una opción diagnóstica plausible. Por consiguiente, el punto de partida es el escenario clínico que permite establecer la presunción diagnóstica y no la lesión morfológica en sí misma. El protocolo contempla tres fases bien diferenciadas:

1. Registro de las variables clínicas que justifican la indicación de la biopsia duodenal.
2. Registro de las variables relacionadas con el procedimiento de la biopsia y la interpretación de los hallazgos morfológicos.
3. Registro del curso evolutivo del paciente hasta concretar el diagnóstico etiológico de la AVSN.

## 1. REGISTRO DE VARIABLES CLÍNICAS, ANTES DE PROCEDER A LA BIOPSIA DUODENAL

### 1.1. Historia clínica

- 1.1.1. Registrar síntomas y signos que obligan a considerar el diagnóstico de EC. Puede ser útil disponer de una lista de comprobación (*check list*) basado en la información de las recomendaciones NICE (tablas 1 y 2)<sup>6</sup>.
- 1.1.2. Registrar cualquier medicación que pudiese contribuir al desarrollo de lesiones histológicas duodenales:
  - 1.1.2.1. AINE.
  - 1.1.2.2. Azatioprina.
  - 1.1.2.3. Metotrexato.
  - 1.1.2.4. Micofenolato-mofetil.
  - 1.1.2.5. Antagonistas de los receptores AT1 de la angiotensina: olmesartán, candesartán...

- 1.1.3. Verificar que en la anamnesis realizada consta la siguiente información:

- 1.1.3.1. Viajes recientes a regiones endémicas de parasitosis.
- 1.1.3.2. Episodio reciente de gastroenteritis.
- 1.1.3.3. Procedencia del paciente de un área tropical.

- 1.1.4. Constatar cualquier antecedente de enfermedad autoinmune, así como la presencia de antecedentes familiares de trastornos relacionados con el gluten.

- 1.1.5. Antecedentes clínicos bien documentados que puedan explicar la presencia de AVSN:

- 1.1.5.1. Duodenitis péptica ± *Helicobacter pylori*.
- 1.1.5.2. Alergias alimentarias inmunomediadas por IgE.
- 1.1.5.3. Factores de riesgo de sobrecrecimiento bacteriano intestinal, tales como:
  - 1.1.5.3.1. Inmunodeficiencia (incluida la inmunosenescencia).
  - 1.1.5.3.2. Inhibición potente y sostenida de la secreción gástrica ácida.
  - 1.1.5.3.3. Enfermedades que comprometen el aclaramiento intestinal, tales como diabetes, hipotiroidismo, Parkinson o esclerodermia.

- 1.1.6. Trasplante de órganos (“enfermedad del injerto contra el huésped”).

- 1.1.7. Radioterapia (“enteritis actínica”).

- 1.1.8. Enfermedad de Crohn.
- 1.1.9. Antecedentes o contexto clínico claramente sugestivo de infección por VIH, *Mycobacterium tuberculosis* o *Mycobacterium avium intracellulare*.
- 1.1.10. Sospecha de infección por *Tropheryma whipplei* (dolor abdominal, fiebre, linfadenopatía, hiperpigmentación, artritis, síntomas neuropsiquiátricos...).
- 1.1.11. Otros antecedentes de enfermedad conocida y bien documentada como:
  - 1.1.11.1. Enfermedad de Crohn.
  - 1.1.11.2. Gastroenteritis eosinofílica.
  - 1.1.11.3. Mastocitosis.
  - 1.1.11.4. Vasculitis.
  - 1.1.11.5. Amiloidosis.

## 1.2. LABORATORIO

- 1.2.1. Hematimetría y bioquímica.
  - 1.2.1.1. Hemograma completo (incluir volumen corpuscular medio [VCM], hemoglobina corpuscular media [HBCM] y amplitud de distribución de glóbulos rojos (A.D.E.)).
  - 1.2.1.2. Velocidad de sedimentación globular (VSG).
  - 1.2.1.3. Proteinograma.
  - 1.2.1.4. Glucosa, albúmina, triglicéridos, colesterol, enzimas hepáticos (AST, ALT, F. alcalina y GGT).

1.2.1.5. Niveles plasmáticos de vitamina B<sub>12</sub>, folato, metabolismo del hierro (incluir al menos índice de saturación de transferrina y ferritina) y vitamina D<sub>3</sub>.

1.2.1.6. Calcemia.

1.2.1.7. Hormonas tiroideas.

## 1.2.2. Inmunología.

1.2.2.1. Proteína C reactiva (si existe una probabilidad razonable de enfermedad inflamatoria intestinal).

1.2.2.2. Cuantificación de inmunoglobulinas séricas.

1.2.2.3. ATG2-IgA. Si existe déficit selectivo de IgA (niveles no detectables), solicitar IgG-EMA, IgG-ATG2 o IgG-APDG.

1.2.2.4. Repetir ATG2 tras provocación con gluten si el paciente había suprimido o restringido la ingesta de gluten (8-10 g de gluten, equivalente a 3-4 rebanadas de pan tipo baguette).

1.2.2.5. Comprobar estatus VIH, si existe contexto epidemiológico de riesgo.

1.2.2.6. Investigar contagio por *Mycobacterium tuberculosis*, especialmente si el paciente procede de determinadas áreas, con alta prevalencia de TBC, incluyendo países de América Latina y el Caribe, África, Asia, Europa Oriental y Rusia, así como en pacientes que consumen drogas ilícitas o viven en condiciones de pobre higiene.

Se aconseja el test IGRA en sangre si el paciente refiere haber sido vacunado y presenta una prueba cutánea positiva (Mantoux); si recibe tratamiento inmunosupre-

sor o cuando existen pocas garantías de que el paciente acuda una 2ª visita para la lectura de la prueba cutánea.

1.2.2.7. Considerar la solicitud de anticuerpos antienterocito y anticélulas caliciformes si concurren en el mismo paciente varias enfermedades autoinmunes (su positividad apoyaría enteropatía autoinmune).

### 1.2.3. Test genético.

1.2.3.1. Investigar genética DQ2/DQ8 del sistema HLA, considerando las distintas combinaciones alélicas (estratificación del riesgo) ([tabla 4](#)).

1.2.3.2. Se considera un estudio genético positivo, la presencia de al menos uno de los siguientes haplotipos:

- ⊙ DQ2.5
- ⊙ DQ8
- ⊙ DQ2.2
- ⊙ DQ7.5

### 1.2.4. Heces.

1.2.4.1. Antígeno de *Giardia lamblia* si el paciente ha realizado viajes o procede de una zona endémica.

1.2.4.2. Parásitos en heces (ídem), especialmente si el paciente procede de una zona tropical.

1.2.4.3. Calprotectina fecal y estudio de sangre oculta en heces (SOH) si el contexto clínico sugiere la posibilidad de una

enfermedad inflamatoria (dolor abdominal recurrente, diarrea, fiebre, pérdida de peso, enfermedad perianal, PCR elevada).

### 1.2.5. Pruebas respiratorias (test de aliento).

1.2.5.1. Test del aliento (<sup>13</sup>C-urea BT) o determinación del antígeno en heces para investigar, y en su caso tratar, una infección por *H. pylori* si no se ha realizado antes (goza de mayor sensibilidad que el test rápido o ultrarrápido de ureasa).

Idealmente, la detección de *H. pylori* debería realizarse antes de las biopsias duodenales, para evitar un sesgo de confusión en la interpretación de los hallazgos histopatológicos asociados a la duodenitis péptica (una causa reconocida de enteritis linfocítica, ferropenia e incluso de atrofia vellositaria leve en bulbo).

1.2.5.2. Test del aliento espirado con glucosa para explorar posible sobrecrecimiento bacteriano intestinal, especialmente si concurren cualquiera de los siguientes factores predisponentes:

1.2.5.2.1. Hipogammaglobulinemia.

1.2.5.2.2. Tratamiento con inmunosupresores.

1.2.5.2.3. Comorbilidades que comprometen el aclaramiento intestinal (diabetes, hipotiroidismo, Parkinson, esclerodermia), inhibición potente y sostenida de la secreción ácida gástrica y/o



ancianos que reciben tratamiento antibiótico de forma recurrente.

- 1.2.5.2.4. Episodio reciente de gastroenteritis de curso prolongado o subagudo y cultivo de heces negativo.

Preferiblemente incorporar la determinación de H<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> ya que una proporción variable de personas no producen H<sub>2</sub> debido a que este es transformado por bacterias metanogénicas en CH<sub>4</sub>. En caso positivo, valorar la posibilidad de un tratamiento con rifaximina (400 mg cada 8 h v.o. o doxiciclina (100 mg cada 12 h v.o), durante 10-14 días y ponderar la respuesta clínica, antes de decidir la pertinencia de biopsia duodenal.

## 2. BIOPSIA DUODENAL

- 2.1. Verificar que el paciente no había restringido la ingesta de gluten antes de la biopsia duodenal. En tal caso, se debe ofrecer al paciente repetir la determinación tras un *gluten-challenge* (ver punto 1.2.2.4).
- 2.2. El procedimiento de la biopsia endoscópica, la manipulación de las muestras y la interpretación de los hallazgos deben seguir un protocolo optimizado (tabla 5).
- 2.3. En el supuesto de que el paciente no haya sido testado para *H. pylori* por procedimientos no invasivos antes de la biopsia duodenal es preceptivo realizar una prueba invasiva (test rápido o ultrarrápido de ureasa) y en caso positivo informar al patólogo.

- 2.4. En presencia de una serología negativa, el protocolo varía en función de que el hospital disponga (A) o no (B) de la posibilidad de realizar un linfograma intraepitelial por citometría de flujo o de medir depósitos subepiteliales de transglutaminasa IgA (ver punto 3).

### 2.4.1. Condiciones para la determinación de depósitos subendoteliales de transglutaminasa IgA

Los depósitos subepiteliales de transglutaminasa IgA pueden ser positivos en pacientes con serología negativa. Para su determinación es necesario obtener 1 biopsia de duodeno (D2) y congelarla inmediatamente en nitrógeno líquido en un tubo Eppendorf con medio OCT. Luego se almacena a -80 °C hasta el análisis mediante inmunofluorescencia y microscopía confocal. La valoración de las inmunotinciones es subjetiva, proporciona un resultado cualitativo (-/+ /++) y requiere experiencia. En alrededor de un 15% de las muestras los resultados son no concluyentes.

### 2.4.2. Linfograma intraepitelial por citometría de flujo

El estudio de las subpoblaciones linfocitarias intraepiteliales en muestras de biopsias duodenales se realiza mediante citometría de flujo. Se ha descrito un linfograma celíaco que consiste en un aumento de linfocitos T que expresan TCR gammadelta (CD3+TCRgammadelta+) y un descenso concomitante de linfocitos T CD3 negativo. El aumento de los linfocitos gammadelta+ de forma aislada se asocia a una elevada sensibilidad para EC, con o sin serología positiva. El descenso de CD3 neg, que se produce conjuntamente con el aumento de gammadelta+ en un 80% de los casos, aumenta la especi-

ficidad del linfograma celíaco para EC. Para su determinación debe de tomarse 1 biopsia de D2, introducirla en suero fisiológico, y remitirla para ser procesada de forma inmediata (en 1-2h); si su procesamiento se va a efectuar más tarde (hasta un máximo de 24h), introducirla en un medio de cultivo estándar y mantenerla a 4 °C. Las muestras permiten el envío a otro centro siempre y cuando este se haga de manera controlada y según las condiciones antes especificadas (muestra refrigerada en medio de cultivo y sin superar las 24 h desde su extracción). Todos los hospitales que poseen citómetro de flujo (para estudio de subpoblaciones linfocitarias en linfomas, etc) tienen el utillaje necesario para realizar esta prueba. Es una prueba objetiva, estandarizada, que proporciona un resultado cuantitativo en pocas horas. A continuación se describen las condiciones de este medio de cultivo:

⊙ **Opción 1:**

PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO (MC)	
REACTIVOS	INSTRUMENTOS
Fetal Bovine Serum (FBS) Gibco/10500-064	Cabina clase II NUAIRE/NU-437-400E
antibiótico-antimicótico Gibco/11570486	
L-Glutamina Gibco/11500626	
Advanced RPMI 1640 Gibco/12633-020	

Procedimiento:

1. El día anterior a la preparación del MC:
  - Sacar del congelador una alícuota de FBS de 10 ml, una alícuota de L-Glutamina de 5,5 ml y una alícuota de antibiótico-antimicótico de 5,5 ml.
  - Dejar las tres alícuotas descongelándose en la nevera.
2. Encender la cabina, según el protocolo Preparación de la cabina.
3. Añadir a la botella de 500 ml de Advanced RPMI 1640:
  - 5 ml de antibiótico-antimicótico (1%).
  - 5 ml de L-Glutamina (1%).
  - 10 ml de FBS (2%).
4. Cerrar la botella de Advanced RPMI 1640 con parafilm. Mezclar por inversión.
  - La caducidad del MC es de 1 mes aproximadamente, o hasta que el medio cambie de color.
5. Preparar botecitos de 50 ml con 20 ml de MC y sellar con parafilm. Estos botes servirán para la recogida de las biopsias.
6. Apagar la cabina, según el protocolo Preparación de la cabina.

## ○ Opción 2:

**Medio de cultivo completo (500 ml)**

440 ml RPMI 1640 1x.

5 ml Penicilina (10 000 U/ml) estreptomicina (10 000 U/ml).

5 ml Glutamina.

50 ml Suero fetal descomplementado (FBS) (si no viene descomplementado, mantenerlo 1 hora a 56 °C).

**Medio completo**

Preparación de 50 ml: 44 ml de RPMI, 500 ml de antibióticos, 500 ml de glutamina 200 mM, quedando a 2 mM, 5 ml de FBS (10%).

El medio de cultivo completo se ha de preparar en cabina de flujo laminar y una vez preparado mantener a 4°C.

### 3. SEGUIMIENTO DEL PACIENTE TRAS LA REALIZACIÓN DE LA BIOPSIA DUODENAL

A. La medición de depósitos subepiteliales de transglutaminasa IgA o la realización de linfogramas intraepiteliales por citometría de flujo es apropiada en pacientes con AVSN y un test genético positivo. Si el test genético es negativo, la aplicación de estas técnicas no resulta coste-efectiva ya que el diagnóstico de EC queda prácticamente excluido. Del resultado de estos procedimientos resultan dos situaciones posibles:

1. Presencia de un linfograma celíaco o depósitos subepiteliales de transglutaminasa IgA: permite establecer el diagnóstico de ECSN y justifica la retirada del gluten de la dieta sin necesidad de nuevas exploraciones.
  2. Ausencia de un inmunofenotipo celíaco o depósitos subepiteliales de transglutaminasa IgA: el diagnóstico de ECSN queda excluido y debe realizarse un diagnóstico diferencial de otras causas de AVSN ([tabla 3](#)).
- B. Si el hospital no dispone de la posibilidad de medir depósitos subepiteliales de transglutaminasa IgA o de linfogramas intraepiteliales, es apropiado ofrecer al paciente una DSG si se cumplen las siguientes condiciones:
1. Existe una sospecha clínica razonablemente alta de EC ([tabla 1 y tabla 2](#)).
  2. La seronegatividad no responde a un resultado falso negativo explicable por un déficit selectivo de IgA, inmunodeficiencia común variable, tratamiento inmunosupresor o supresión del gluten de la dieta, antes de la evaluación.
  3. Se ha excluido la infección por *H. pylori* (especialmente si la atrofia vellositaria queda limitada al bulbo).
  4. El test genético es positivo ([tabla 4](#)).
  5. El diagnóstico de AVSN ha sido realizado por 1-2 patólogos expertos y existe concordancia entre ellos.

6. Se han excluido otras causas conocidas de AVSN, de acuerdo con un modelo centrado en la seguridad del paciente (evitar exploraciones superfluas que comporten riesgo) y coste-efectivo.

Si se cumplen las condiciones establecidas en el protocolo para iniciar una DSG, es conveniente que la dieta sea asesorada por un dietista-nutricionista y reciba información periódica por parte de una Asociación de Pacientes. El Ministerio de Sanidad establece directrices concretas sobre el modo correcto de llevar a cabo la DSG en su Documento de Diagnóstico Precoz de la EC en España, elaborado por un grupo de Expertos (Copyright, 2018). Es aconsejable que al menos en los primeros meses, el paciente prescinda de alimentos con una carga importante de lactosa (especialmente la leche), especialmente si presenta diarrea, flatulencia y meteorismo.

#### 4. TIPOS DE RESPUESTA A LA DSG. PROTOCOLO DE ACTUACIÓN

##### 4.1. Respuesta sintomática e histológica

La resolución de los síntomas, signos y pruebas de laboratorio, así como la regresión de las lesiones histológicas (biopsia de control a los 12-18 meses) en un paciente con AVSN no es un signo inequívoco de ECSN, si bien es altamente probable en pacientes con un test genético positivo que además cumple con los requerimientos nombrados en el apartado 3B1. No obstante, en series largas de pacientes con AVSN se han comunicado casos de regresión espontánea de la atrofia vellositaria sin restricción de gluten en la dieta. Ofrecer al paciente una prue-

ba de provocación y verificar la respuesta sintomática e histológica, refuerza el diagnóstico de presunción de ECSN y el paciente debería, tal vez, participar de esta decisión. A efectos de un registro de casos, deberían diferenciarse ambas situaciones.

- 4.1.1. Recidiva de síntomas y lesiones histológicas tras prueba de provocación: diagnóstico de ECSN confirmado.
- 4.1.2. No recidiva de síntomas ni de lesiones tras prueba de provocación: reconsiderar el diagnóstico de ECSN.
- 4.1.3. El paciente no acepta una prueba de provocación pero mantiene la remisión sintomática tras verificar la resolución de las lesiones histológicas: diagnóstico probable de ECSN.

##### 4.2. Persistencia de síntomas tras instaurar DSG

- 4.2.1. Considerar en primer lugar la ingesta inintencionada o voluntaria de gluten en la dieta:
  - 4.2.1.1. Entrevista con dietista-nutricionista.
  - 4.2.1.2. Monitorización de la adherencia mediante determinación de inmunopéptidos frente al gluten, preferentemente en las heces.
- 4.2.2. Si la adherencia a la dieta es razonablemente correcta, existen dos posibilidades que pueden explicar la persistencia de los síntomas:
  - 4.2.2.1. El paciente tiene una ECSN, pero existe una entidad clínica asociada que justifica la persistencia de los síntomas ([tabla 6](#)).

4.2.2.2. La persistencia de los síntomas está justificada porque el paciente padece una enfermedad distinta de la EC como causa de su atrofia vellositaria ([tabla 3](#)).

Discernir ambas situaciones y abordar el problema de un modo coste-efectivo no es fácil dada la heterogeneidad de escenarios clínicos posibles y el juicio clínico del gastroenterólogo es primordial en este punto. Algunos textos clásicos (por ej. Sleisenger-Fordtran)<sup>95</sup> recomiendan repetir la biopsia en un intervalo razonable (6 meses). Dos situaciones son posibles:

4.2.2.2.1. Las lesiones morfológicas se han atenuado de forma considerable o incluso han revertido: en tal caso, considerar que existe una entidad clínica asociada a la ECSN que justifica la persistencia de síntomas (especialmente la diarrea). La [tabla 6](#) expone cuáles son estas condi-

ciones y las pruebas a realizar para confirmar la presunción diagnóstica de cualquiera de ellas.

4.2.2.2.2. La atrofia vellositaria persiste en el mismo grado o incluso ha empeorado a pesar de la DSG:

- Considerar la posibilidad de una entidad clínico-patológica diferente como causa de los síntomas. La [tabla 3](#) muestra el conjunto de estas entidades y los rasgos clínico-patológicos que ayudan al clínico para establecer el diagnóstico diferencial.
- Si se descarta una entidad clínico-patológica diferente de la EC como causa de la AVSN y los síntomas y lesiones persisten a pesar de una DSG correctamente llevada a cabo: considerar la opción diagnóstica de una EC refractaria.

### **TABLA 1. SÍNTOMAS, SIGNOS Y/O ENTIDADES CLÍNICAS EN LOS QUE SE RECOMIENDA FIRMEMENTE INVESTIGAR UNA POSIBLE ENFERMEDAD CELÍACA.**

Síntomas gastrointestinales o abdominales persistentes que no pueden explicarse por otra causa<sup>1</sup>.

Retraso de crecimiento.

Astenia prolongada.

Pérdida de peso no explicable por otra causa.

Aftas orales significativas o persistentes.

Déficit de hierro, vitamina B<sub>12</sub>, folato o vitamina D no explicables por otra razón.

Coexistencia de enfermedades autoinmunes<sup>2</sup>, especialmente:

- Diabetes tipo 1.
- Hipotiroidismo autoinmune.

Familiares de primer grado con EC.

Síndrome de intestino irritable (SII)<sup>3</sup>

\*Downey L, Houten R, Murch S, Longson D, for the Guideline Development Group. Recognition, assessment, and management of coeliac disease: summary of updated NICE guidance. *BMJ*. 2015; 351:h4513.

<sup>1</sup> Incluye no solamente el patrón «clásico» de presentación (diarrea crónica con malabsorción florida, emaciación y pérdida de peso progresiva), sino síntomas gastrointestinales inespecíficos tales como:

- pirosis (especialmente si es refractaria a los antisecretores)
- dispepsia, “hinchazón”

- cambios frecuentes o persistentes en la frecuencia y/o consistencia de las deposiciones (tanto estreñimiento como diarrea)

<sup>2</sup> Se han descrito otras enfermedades autoinmunes asociadas (Síndrome de Sjögren, trombocitopenia autoinmune, etc.)

<sup>3</sup> Existen datos que demuestran que la prevalencia de EC es más elevada entre la población diagnosticada de SII.

EC: enfermedad celíaca.

**TABLA 2. SÍNTOMAS, SIGNOS Y/O ENTIDADES CLÍNICAS EN LOS QUE SE RECOMIENDA CONSIDERAR LA NECESIDAD DE INVESTIGAR UNA POSIBLE ENFERMEDAD CELÍACA.**

Enfermedad metabólica ósea (densidad mineral ósea reducida u osteomalacia) no explicada por otra causa.

Síntomas neurológicos no explicables por otra causa (especialmente neuropatía periférica o ataxia).

Infertilidad o abortos recurrentes no explicables por otra causa.

Elevación persistente e inexplicable de enzimas hepáticas.

Defectos de esmalte dental.

Síndrome de Down

Síndrome de Turner.

\*Downey L, Houten R, Murch S, Longson D, for the Guideline Development Group. Recognition, assessment, and management of coeliac disease: summary of updated NICE guidance. BMJ. 2015; 351:h4513.

**TABLA 3. PRINCIPALES CAUSAS DE ENTERITIS LINFOCÍTICA Y DE ATROFIA VELLOSIARIA ADEMÁS DE LA EC Y RASGOS QUE AYUDAN AL CLÍNICO AL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL, ADEMÁS DE LOS HAPLOTIPOS HLA Y EL PATRÓN DE AUTOANTICUERPOS.**

Entidad clínico-patológica	Rasgos clínico-patológicos que ayudan en el diagnóstico diferencial
<b>Inmunomediadas</b>	
Enfermedad de Crohn	<p>Apariencia endoscópica: fisuras, aftas, úlceras y estenosis.                      Distribución salteada de las lesiones.                      Afectación del mesenterio en la radiología.                      Anticuerpos circulantes (ASCA o ANCA).                      Presencia histológica de neutrófilos, eosinófilos y granulomas.</p>
Alergias alimentarias	<p>Relación entre síntomas y alimentos específicos.                      Concomitancia con otras alergias.                      Positividad de test serológicos-IgE o test cutáneos.                      Predominio de eosinófilos en el examen histopatológico.</p>
Enteritis eosinofílica	<p>Recuento de eosinófilos aumentado en sangre (no siempre).                      Los síntomas no se relacionan con alimentos específicos.                      Densa infiltración de eosinófilos en otras localizaciones del tubo digestivo, además del intestino delgado.</p>
Enteritis autoinmune	<p>Historia de otras enfermedades autoinmunes.                      Presencia de anticuerpos anti células caliciformes y anti-enterocito.                      El examen histológico muestra un patrón heterogéneo en la distribución y tipo de infiltración linfocitaria.</p>





**TABLA 3. PRINCIPALES CAUSAS DE ENTERITIS LINFOCÍTICA Y DE ATROFIA VELLOSIARIA ADEMÁS DE LA EC Y RASGOS QUE AYUDAN AL CLÍNICO AL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL, ADEMÁS DE LOS HAPLOTIPOS HLA Y EL PATRÓN DE AUTOANTICUERPOS (CONTINUACIÓN).**

Entidad clínico-patológica	Rasgos clínico-patológicos que ayudan en el diagnóstico diferencial
Enfermedad del injerto frente al huésped	Historia de trasplante de órganos. Presencia de abundantes células mononucleares en la mucosa, criptitis linfocítica, pérdida de criptas, aumento de cuerpos apoptóticos en el epitelio de las criptas.
Inmunodeficiencia común variable	Niveles bajos de inmunoglobulinas. Infecciones respiratorias y en otros sistemas. Ausencia de células plasmáticas en la lámina propia.
<b>Microbianas</b>	
Esprúe tropical	El esprúe tropical ocurre principalmente en el Caribe, el sur de la India y el sudeste de Asia. Tanto los nativos como los visitantes (que pasan por lo menos 1 mes en la zona) pueden desarrollar la enfermedad.
Giardiasis	Historia de viajes o procedencia de zonas endémicas. Presencia de <i>Giardia</i> incrustada en el epitelio. Demostración de <i>Giardia</i> en el cultivo de aspirado de jugo duodenal o en el estudio de parásitos en heces.
Sobrecrecimiento bacteriano intestinal	Comorbilidades predisponentes (diabetes, hipotiroidismo, Parkinson, esclerodermia, fármacos antiseoretos). Test de H <sub>2</sub> -CH <sub>4</sub> espirado o cultivo de aspirado duodenal positivo.



**TABLA 3. PRINCIPALES CAUSAS DE ENTERITIS LINFOCÍTICA Y DE ATROFIA VELLOSETARIA ADEMÁS DE LA EC Y RASGOS QUE AYUDAN AL CLÍNICO AL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL, ADEMÁS DE LOS HAPLOTIPOS HLA Y EL PATRÓN DE AUTOANTICUERPOS (CONTINUACIÓN).**

Infecciones virales	Por lo general la enteritis viral sigue un curso agudo.
Infecciones fúngicas y parasitarias	Inciden generalmente en pacientes debilitados o inmunodeprimidos. Infección frecuente por VIH. Demostración histológica del cuerpo del parásito (criptosporidiasis luminal, inclusiones intracitoplasmáticas: pueden requerirse tinciones específicas).
<i>Tropherima whipplei</i> (Tw)	Macrófagos PAS positivos +. Demostración del DNA de Tw por PCR.
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Granulomas en la mucosa. Quantiferon positivo.
<i>Mycobacterium avium</i>	En huésped inmunodeprimido. Macrófagos PAS positivos en la mucosa. Demostración de estructuras bacilares ácido alcohol resistentes en la mucosa intestinal con tinción de Ziehl-Neelsen positiva.
<i>Helicobacter pylori</i>	Pruebas de detección de <i>H. pylori</i> positivas (Antígeno en heces, test del aliento con <sup>13</sup> C o test rápido o ultrarrápido de ureasa). El daño se circunscribe usualmente al bulbo. Presencia de neutrófilos en la mucosa.



**TABLA 3. PRINCIPALES CAUSAS DE ENTERITIS LINFOCÍTICA Y DE ATROFIA VELLOSETARIA ADEMÁS DE LA EC Y RASGOS QUE AYUDAN AL CLÍNICO AL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL, ADEMÁS DE LOS HAPLOTIPOS HLA Y EL PATRÓN DE AUTOANTICUERPOS (CONTINUACIÓN).**

**Fármacos**

AINE

Historia de consumo de AINE.  
Usualmente se trata de ancianos con comorbilidades y lesiones visibles en la endoscopia.  
El examen histológico muestra denudación de la mucosa, congestión de capilares submucosos y hemorragia mucosa.

Olmesartán, Candesartán

Historia de hipertensión con consumo de olmesartán (al menos 1 año).  
Usualmente ancianos con comorbilidades.  
Pueden apreciarse lesiones en la mucosa.

**Neoplasias**

Enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado (EIPID)

Condición preneoplásica.  
Más frecuente en poblaciones con estatus socioeconómicos bajos.  
Identificación de cadenas pesadas alfa en sangre, saliva, orina y jugo duodenal.  
Densa infiltración de células plasmáticas en la lámina propia.  
Presencia de linfocitos aberrantes en el estadio de linfoma.

Linfoma

Síntomas sistémicos.  
Lesiones histológicas compatibles con linfoma en el examen histológico.



**TABLA 3. PRINCIPALES CAUSAS DE ENTERITIS LINFOCÍTICA Y DE ATROFIA VELLOSIARIA ADEMÁS DE LA EC Y RASGOS QUE AYUDAN AL CLÍNICO AL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL, ADEMÁS DE LOS HAPLOTIPOS HLA Y EL PATRÓN DE AUTOANTICUERPOS (CONTINUACIÓN).**

**Metabólicas y degenerativas**

Abetalipoproteinemia	Limitada prácticamente a la infancia. Mutación de la proteína responsable de la transferencia de triglicérido microsómico (MTP). Acantocitosis, déficit neurológico, hipolipoproteinemia y esteatorrea. Demostración histológica de vacuolas intracitoplasmáticas.
Linfangiesctasia	Esteatorrea, creatorrea y linfopenia. Velloidades intestinales algo más ensanchadas de lo normal. Presencia de una masa acelular, debida a la dilatación de los conductos linfáticos, que desplaza todo el componente celular de la lámina propia.
Amiloidosis	Depósito de amiloide en la mucosa (tinción con rojo Congo).
Mastocitosis	Densa infiltración de mastocitos en la mucosa (azul de toluidina).
Déficit de Zn	La deficiencia de Zn se ha relacionado con casos de diarrea grave en pacientes con pérdidas por ileostomía, siendo una causa de atrofia vellositaria y acrodermatitis enteropática.
Kwashiorkor	Síndrome clínico resultado de una malnutrición proteico-calórica grave, caracterizado por edema, alteración del crecimiento, anemia, lesiones en piel y mucosas atribuidas a las deficiencias de vitaminas.



**TABLA 3. PRINCIPALES CAUSAS DE ENTERITIS LINFOCÍTICA Y DE ATROFIA VELLOSETARIA ADEMÁS DE LA EC Y RASGOS QUE AYUDAN AL CLÍNICO AL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL, ADEMÁS DE LOS HAPLOTIPOS HLA Y EL PATRÓN DE AUTOANTICUERPOS (CONTINUACIÓN).**

**Trauma**

Enteritis por radiación

Antecedentes de radioterapia.  
Presencia de degeneración de las células epiteliales con parches de fibrina, “células grandes en espuma” en la íntima (patognomónico). Fibrosis submucosa, obliteración de pequeños vasos con isquemia progresiva e irreversible.  
La isquemia afecta en primera instancia a la mucosa, progresando a la submucosa, muscular y serosa, con necrosis y ulceración, que pueden concluir en la perforación o el desarrollo de fístulas.

Isquemia mesentérica crónica

El aporte disminuido de oxígeno durante la fase postprandial se ha relacionado con casos de atrofia vellositaria.

**Otras**

Esprúe colágeno

Patología infrecuente del intestino delgado caracterizada por atrofia de la mucosa y depósito excesivo de colágeno a nivel subepitelial.

Modificado de: Luca E, et al. Small bowel villous atrophy: celiac disease and beyond. Expert Rev Gastroenterol & Hepatol 2017;11:125-138.

**TABLA 4. RIESGOS ATRIBUIDOS A LAS DISTINTAS COMBINACIONES DE HAPLOTIPOS.**

Haplotipos	DRB1*03-DQB1*02:01-DQA1*05:01 (DQ2.5)	DRB1*07-DQB1*02:02-DQA1*02:01 (DQ2.2)	DRB1*11-DQB1*03:01-DQA1*05:05 (DQ7.5)	DRB1*04-DQB1*03:02-DQA1*03 (DQ8)	Otros
DRB1*03-DQB1*02:01-DQA1*05:01 (DQ2.5)	Muy alto	Muy alto	Alto	Alto	Alto
DRB1*07-DQB1*02:02-DQA1*02:01 (DQ2.2)		Moderado	Alto	Moderado	Moderado
DRB1*11-DQB1*03:01-DQA1*05:05 (DQ7.5)				Moderado	Bajo
DRB1*04-DQB1*03:02-DQA1*03 (DQ8)				Moderado-Alto	Moderado
Otros					Sin riesgo

Fuente: recomendaciones para la elaboración e interpretación de informes genéticos en enfermedad celíaca. C. Núñez y JA. Garrote, en nombre del Grupo de trabajo "Inmunología y Genética" de la Sociedad Española de Enfermedad Celíaca (SEEC). Rev Esp Enferm Dig. 2018;110:458-61.

**TABLA 5. PROCEDIMIENTO OPTIMIZADO PARA LA RECOGIDA, TRANSPORTE E INTERPRETACIÓN DE LA BIOPSIA DUODENAL.**

**Recogida de las muestras**

Utillaje	Pinzas de biopsia modelo Radial Jaw 4.
Número y localización de las muestras	<p>1 de bulbo y 4 de 2ª porción duodenal.</p> <p>Las biopsias se toman sobre un pliegue circular para evitar el aplastamiento del espécimen y artefactar la muestra.</p> <p>La muestra de bulbo debería remitirse de forma separada en un frasco con formalina, para que el patólogo interprete de forma adecuada los hallazgos en un segmento anatómico que es diferente (presencia de glándulas de Brunner, mucosa gástrica heterotópica o recuentos más bajos de LIEs).</p> <p>Biopsias de antro para test rápido o ultrarrápido de ureasa si no existe test del aliento previo.</p> <p>Biopsias de cuerpo y antro si se desea obtener información acerca de la presencia y tipo de gastritis (por ej. gastritis crónica atrófica autoinmune o de gastritis linfocítica).</p>

**Manipulación y transporte**

Forma en que se deposita el espécimen en el frasco	<p>Tomarlas de una en una.</p> <p>Depositarlas en solución de formol con cuidado y sin sacudidas.</p> <p>En suero fisiológico si se desea cultivar la muestra.</p>
Transporte al Laboratorio de Anatomía Patológica	Imprescindible que las muestras se envíen en medio de cultivo si se desea realizar linfogramas intraepiteliales <sup>1</sup> .
Congelación inmediata	Imprescindible congelación inmediata en nitrógeno líquido, usando tubo Eppendorf con medio OCT, y almacenamiento a -80°C para evaluar depósitos mucosos de tTG-IgA.



## TABLA 5. PROCEDIMIENTO OPTIMIZADO PARA LA RECOGIDA, TRANSPORTE E INTERPRETACIÓN DE LA BIOPSIA DUODENAL (CONTINUACIÓN).

### Aspirado de jugo duodenal

Valorar si se desea obtener información fiable sobre infestación por *Giardia lamblia*.

Obligado si se desea 2ª biopsia ante la falta de respuesta sintomática a la DSG.

### Evaluación de la arquitectura vellositaria

Una evaluación adecuada de la biopsia requiere una orientación correcta de tres a cuatro vellosidades.

En ausencia de vellosidades, la orientación puede realizarse mediante la identificación de criptas paralelas desde la muscularis mucosa hasta la superficie luminal.

La atrofia (vellosidades ensanchadas, acortadas y aplanadas) es una característica principal en la enfermedad celíaca establecida, pero la relación vellosidad: cripta normal es muy variable.

Una hiperplasia compensatoria de las criptas suele preceder a la atrofia y con frecuencia es un evento transitorio.

### Linfocitos intraepiteliales (LIEs)

Actualmente existe acuerdo en que para biopsias duodenales un recuento de LIEs se considera normal por debajo de 25%.

Para simplificar el método y hacerlo eficiente basta el conteo de LIES en 20 enterocitos de la punta de cinco vellosidades o de 50 enterocitos en dos vellosidades y su suma posterior. Ambos procedimientos son eficientes y fiables.

El signo del “decrecendo” caracterizado por un incremento en la densidad de linfocitos intraepiteliales en la base de las vellosidades a costa de un descenso en su parte más alta o apical debería hacer considerar una entidad distinta a la EC.





## TABLA 5. PROCEDIMIENTO OPTIMIZADO PARA LA RECOGIDA, TRANSPORTE E INTERPRETACIÓN DE LA BIOPSIA DUODENAL (CONTINUACIÓN).

El empleo de inmunohistoquímica para el recuento de LIEs no se realiza de rutina, pero puede ser útil en casos difíciles en los que el número es dudoso.

En biopsias con arquitectura normal, la distribución de linfocitos CD3 + con un patrón de localización predominante en la zona apical es sugestivo de EC; el uso de CD8 como marcador es menos útil, mostrando un patrón de predominio apical en todos los casos de EC, pero también en el 56% de los que no tienen la enfermedad.

### Elementos clave en el informe histopatológico

El informe de una biopsia duodenal debe contener al menos una descripción de la arquitectura vellositaria, recuento de LIEs (normal o si > 25, número real), inflamación activa (neutrófilos) si está presente, patógenos y, si está disponible, una valoración comparativa con una biopsia previa.

Sigue siendo objeto de debate entre clínicos y patólogos si resulta preferible una buena descripción de los hallazgos histopatológicos informados por un patólogo experto o concretar los hallazgos en un informe breve basado en una de las clasificaciones conocidas (Marsh, Marsh-Oberhuber, Corazza, Ensari).

A la hora de clasificar el grado de lesión, se ha de considerar que "cuanto mayor es el número de categorías diagnósticas de un método, menor es el acuerdo interobservador e intraobservador, con la consiguiente reducción de su reproducibilidad diagnóstica".

La correlación clínico-patológica es muy importante. Si el patólogo informa "los hallazgos descritos son compatibles o característicos con una EC", debe añadir una advertencia en el sentido de que otras patologías pueden cursar con hallazgos similares (tabla 3).

Walker MM, Murray JA. An update in the diagnosis of coeliac disease. *Histopathology*. 2011;59:166-79.

<sup>1</sup> Si se desea obtener linfogranas intraepiteliales por citometría de flujo y no se dispone de la técnica, es preciso enviar al paciente para la realización de gastroscopia en el centro receptor. No se útil enviar los cristales, ya que las muestras deben remitirse en fresco.

**TABLA 6. CONDICIONES CLÍNICAS ASOCIADAS A LA ENFERMEDAD CELÍACA QUE PUEDEN EXPLICAR LA PERSISTENCIA DE LOS SÍNTOMAS A PESAR DE UNA DIETA SIN GLUTEN.**

Entidad clínica	Prueba diagnóstica
Intolerancia a azúcares Lactosa Fructosa Sorbitol	Test de H <sub>2</sub> espirado.
Sobrecrecimiento bacteriano intestinal	Test de H <sub>2</sub> espirado (glucosa).
Malabsorción de sales biliares	Test de SeHCAT. Ensayo terapéutico con resincolestiramina: 8 g durante 10 días.
Colitis microscópica <sup>1</sup>	Biopsias escalonadas del colon.
Insuficiencia exocrina del páncreas	Test de triglicéridos marcados con <sup>13</sup> C. Elastasa 1 fecal.
Enfermedad de Crohn	Biomarcadores de inflamación: PCR, VSG, calprotectina fecal. Enterografía por RMN. Prueba con cápsula endoscópica. Enteroscopia. Gammagrafía con leucocitos marcados.
Síndrome de intestino irritable	Criterios Roma IV. Exclusión de otras patologías.

## Recursos necesarios

Se trata de un protocolo destinado a guiar la asistencia clínica y a estructurar la toma de decisiones relacionadas con el manejo clínico del paciente con síntomas y/o condiciones clínicas que despiertan una sospecha clínica razonable de EC, existe una atrofia vellositaria en el examen histológico y la serología es negativa. Los centros hospitalarios que se adhieran al protocolo deberían contar con los siguientes recursos:

1. Gastroenterólogos, pediatras, bioquímicos, inmunólogos, genetistas<sup>1</sup> y patólogos familiarizados en el proceso diagnóstico de la EC.
2. Técnicas de laboratorio:
  - Hematimetría básica y bioquímica elemental.
  - Metabolismo del hierro y niveles plasmáticos de folato, vitamina D<sub>3</sub> y vitamina B<sub>12</sub>.
  - Biomarcadores de inflamación: proteína C reactiva y calprotectina fecal<sup>1</sup>.
  - IgA-tTG e IgG-anti-tTG en caso de déficit selectivo de IgA.
  - IgA e IgG EMA y anticuerpos frente a PDG, en casos especiales.
  - Test inmunológico para la detección de sangre oculta en heces.

- Determinación de péptidos de la gliadina en heces como método de monitorizar la adherencia a la dieta sin gluten.
- Detección de elastasa fecal<sup>1</sup>.
- Anticuerpos anticélulas parietales, anti-factor intrínseco y gastrinemia (ante la sospecha de gastritis atrófica autoinmune) y anti-enterocito y anti-células caliciformes (ante la sospecha de enteropatía autoinmune)<sup>1</sup>.
- Laboratorio de Microbiología para la identificación de virus, bacterias, hongos y parásitos capaces de provocar atrofia vellositaria, así como del VIH e infección por micobacterias y *Cryptosporidium*.
- Laboratorio de exploraciones funcionales digestivas con posibilidad de llevar a cabo las siguientes técnicas<sup>1</sup>:
  - Test del aliento para investigar infección por *H. pylori*.
  - Test respiratorio de H<sub>2</sub>-CH<sub>4</sub> para investigar:
    - Intolerancia a lactosa.
    - Intolerancia a fructosa.
    - Sobrecrecimiento bacteriano intestinal.
  - Test respiratorio de <sup>13</sup>C-triglicéridos, para el diagnóstico de insuficiencia exocrina del páncreas.

<sup>1</sup>Pueden derivarse a centros de referencia.

<sup>2</sup>Para la medición de depósitos de IgA-tTG se requiere nevera a -80°C; para la realización de linfogramas intraepiteliales se requiere citometría de flujo. Las muestras deben ser idealmente remitidas en fresco, de ahí que no se puedan trasladar a otros centros. La lectura debe de hacerse en las horas siguientes a la toma de las muestras (idealmente < 24 h. Máximo 24 h).

3. Técnicas avanzadas<sup>2</sup>:
  - ⊙ Linfogramas intraepiteliales por citometría de flujo.
  - ⊙ Medición de depósitos mucosos de IgA-transglutaminasa tisular.
4. Unidad de Endoscopia Digestiva con el equipamiento adecuado para:
  - ⊙ Biopsias de estómago, bulbo y duodeno, así como test rápido o ultrarrápido de ureasa y obtención de jugo duodenal para identificación de parásitos (por ej. *Giardia lamblia*)<sup>1</sup>.
  - ⊙ Biopsias escalonadas de colon para el diagnóstico de colitis microscópica.
  - ⊙ Exploración con cápsula endoscópica para la detección de lesiones mucosas asociadas a enfermedad inflamatoria intestinal (por ej. enfermedad de Crohn, como causa de atrofia vellositaria)<sup>1</sup>.
  - ⊙ Enteroscopia, con la finalidad de tomar muestras de lesiones sospechosas de proceso linfoproliferativo<sup>1</sup>.
5. Laboratorio de Anatomía Patológica con patólogos expertos en la identificación y clasificación de lesiones histológicas asociadas a la EC y otras entidades clínico-patológicas diferentes de la EC causantes de atrofia vellositaria.
6. Servicio de Radiodiagnóstico con posibilidad de llevar a cabo:
  - ⊙ Ecografía abdominal.
  - ⊙ TC abdominal.
  - ⊙ RM abdominal y enterorresonancia<sup>1</sup>.
7. Conexión con Asociación de enfermos celíacos donde poder remitir a los pacientes para recibir consejo y asesoramiento.
8. Posibilidad de derivar al paciente a dietistas-nutricionistas familiarizados con el consejo dietético, fuentes de contaminación y confección de dietas nutricionalmente correctas<sup>3</sup>.

## LOCAL

La asistencia a pacientes con síntomas o signos sospechosos de padecer una EC se realiza inicialmente en los Centros de Salud, desde donde son derivados a consultas de gastroenterología general o consultas monográficas especialmente orientadas al manejo clínico de pacientes con EC y otros trastornos relacionados con el gluten (intolerancia al trigo no celíaca o ataxia relacionada con el gluten). Esta atención se presta en centros sanitarios del ámbito público o privado, con las garantías de seguridad que comporta la legislación vigente.

## MATERIAL CLÍNICO-DIAGNÓSTICO Y TERAPÉUTICO

La aplicación del protocolo únicamente precisa de:

1. Infraestructura adecuada para la realización de determinaciones mencionadas y en las condiciones de seguridad estipuladas por la legislación.

2. Material ordinario de laboratorio para estudios básicos:
  - Hematimetría.
  - Bioquímica.
  - Hemostasia.
  - Inmunología.
  - Genética.
  - Microbiología.
  - Anatomía Patológica.
3. Unidad de Endoscopias Digestivas con videogastroscopio, video-colonoscopia y otras prestaciones avanzadas: cápsula endoscópica, enteroscopia<sup>1</sup>.
4. Nevera a  $-80^{\circ}\text{C}$  (si se desea congelar la muestra para la medición de depósitos mucosos de IgA-tTG).
5. Servicio de Radiodiagnóstico con equipamiento adecuado para radiología baritada convencional, tomografía computerizada y resonancia magnética nuclear.

## RECURSOS ECONÓMICOS

El manejo clínico diagnóstico y terapéutico del paciente con sospecha de EC y atrofia vellositaria seronegativa puede realizarse en centros públicos o privados con los recursos humanos (básicamente, personal facultativo y de enfermería y técnicos de laboratorio y radiodiagnós-

tico) propios de hospitales o clínicas que incorporan las prestaciones mencionadas en su cartera de servicios, sin necesidad de costes adicionales.

Para la creación de un registro de casos en REDcap se precisa una financiación adicional para cubrir los siguientes objetivos:

1. Diseño del registro con las variables mencionadas en el anexo correspondiente (ver registro que incorpora el protocolo).
2. Coste del alojamiento y gestión de la plataforma en REDcap.
3. Logística y organización de una Reunión de los investigadores principales (clínicos y patólogos) de los centros que se adhieran al protocolo.
4. Costes de un seminario de consenso para la definición de criterios para la correcta identificación y clasificación de las lesiones morfológicas características de la EC y su posible grabación para su difusión *on line* entre clínicos y patólogos y interesados en este campo.
5. Costes derivados de un posible envío de biopsias de duodeno a 1-2 patólogos centrales para evitar la variabilidad intra e interobservador.

## Sistema de registro

El protocolo incorpora un registro en REDcap orientado al diseño de estudios clínico-epidemiológicos y básicos sobre casos de enfermedad

celíaca seronegativa con el objetivo de generar de evidencia científica de excelencia en este campo, sustentada en series largas de pacientes. Se adjunta en documento anexo el 1º borrador del registro donde las variables se han agrupado en 10 bloques de información:

1. Antes de la biopsia duodenal:
  - ⦿ Antecedentes.
  - ⦿ Presentación clínica.
  - ⦿ Investigaciones previas a la indicación de biopsia duodenal.
2. Calidad del procedimiento de la biopsia duodenal.
3. Resultados de la biopsia duodenal
  - ⦿ Arquitectura vellositaria.
  - ⦿ Linfocitos intraepiteliales.
  - ⦿ Presencia de inflamación activa.
  - ⦿ Patógenos.
  - ⦿ Calidad del informe histopatológico.
  - ⦿ Clasificación de las lesiones.
4. Seguimiento del paciente (1): Criterios para iniciar la dieta sin gluten.
  - ⦿ Si el centro dispone de recursos para realizar linfogramas o medición de depósitos mucosos de IgA-tTG.
5. Seguimiento del paciente (2): responde adecuadamente a la dieta sin gluten.
  - ⦿ Respuesta sintomática: métodos para la medición de la respuesta.
  - ⦿ Respuesta histológica: total o parcial.
6. Seguimiento del paciente (3): persiste sintomático a pesar de la dieta.

Protocolo común a todos los centros, centrado en la adherencia a la dieta.
7. Seguimiento del paciente (4): persistencia de síntomas pese a una correcta adherencia a la dieta en centros con capacidad de aplicar técnicas avanzadas de diagnóstico (linfogramas vs depósitos mucosos de IgA-tTG).
8. Seguimiento del paciente (5): persistencia de síntomas pese a una correcta adherencia a la dieta en centros sin capacidad de aplicar técnicas avanzadas de diagnóstico (linfogramas vs depósitos mucosos de IgA-tTG).
9. Diagnóstico final.
  - ⦿ En centros con capacidad de aplicar técnicas avanzadas de diagnóstico (linfogramas vs depósitos mucosos de IgA-tTG).

- En centros sin capacidad de aplicar técnicas avanzadas de diagnóstico (linfogramas vs depósitos mucosos de IgA-tTG).

10. Tabla de condiciones clínico-patológicas diferentes de la EC responsable de la atrofia vellositaria del paciente.

## Evaluación del protocolo

Los profesionales de Centros de Salud y hospitales públicos o privados que se adhieran a este protocolo asistencial podrán evaluar su cumplimiento mediante el análisis de indicadores apropiados. Existen dos tipos de indicadores: primarios y secundarios. Actualmente se debate el diseño y redacción de los indicadores secundarios.

### 1. Indicadores primarios:

- Porcentaje de pacientes con sospecha clínica de EC que cumplen con todas las premisas establecidas antes de indicar biopsia duodenal ([algoritmo 1](#)).
- Porcentaje de pacientes en quienes se investigó, y en su caso, se erradicó una infección por *H. pylori*, antes de indicar la biopsia duodenal.
- Porcentaje de pacientes en quienes se llevó a cabo una prueba de provocación con gluten (1g durante un tiempo no inferior a 3-4 semanas) antes de la biopsia duodenal, cuando el paciente había iniciado ya una dieta sin gluten por iniciativa propia.

- Porcentaje de pacientes en quienes el procedimiento de la biopsia duodenal se ha realizado de acuerdo con los estándares de calidad definidos en el protocolo (80% de cumplimiento).
- Porcentaje de pacientes en quienes la descripción morfológica de las lesiones cumple con los estándares de calidad definidos en el protocolo (80% de cumplimiento).
- Porcentaje de pacientes que fueron derivados a una Asociación de pacientes para recibir consejo y asesoramiento sobre la dieta sin gluten.
- Porcentaje de pacientes que fueron derivados a dietistas-nutricionistas para recibir consejo y asesoramiento sobre la dieta sin gluten.
- Porcentaje de pacientes en quienes se llevó a cabo una investigación sobre condiciones clínicas asociadas a la EC responsables de síntomas persistentes a pesar de una buena adherencia a la dieta.
- Porcentaje de pacientes en quienes se encontró una condición clínica asociada a la EC que pudo explicar la persistencia de los síntomas a pesar de una buena adherencia a la dieta.
- Porcentaje de pacientes en quienes se estableció un diagnóstico etiológico diferente de la EC que explicó finalmente la presencia de atrofia vellositaria seronegativa.

### 2. Indicadores secundarios.

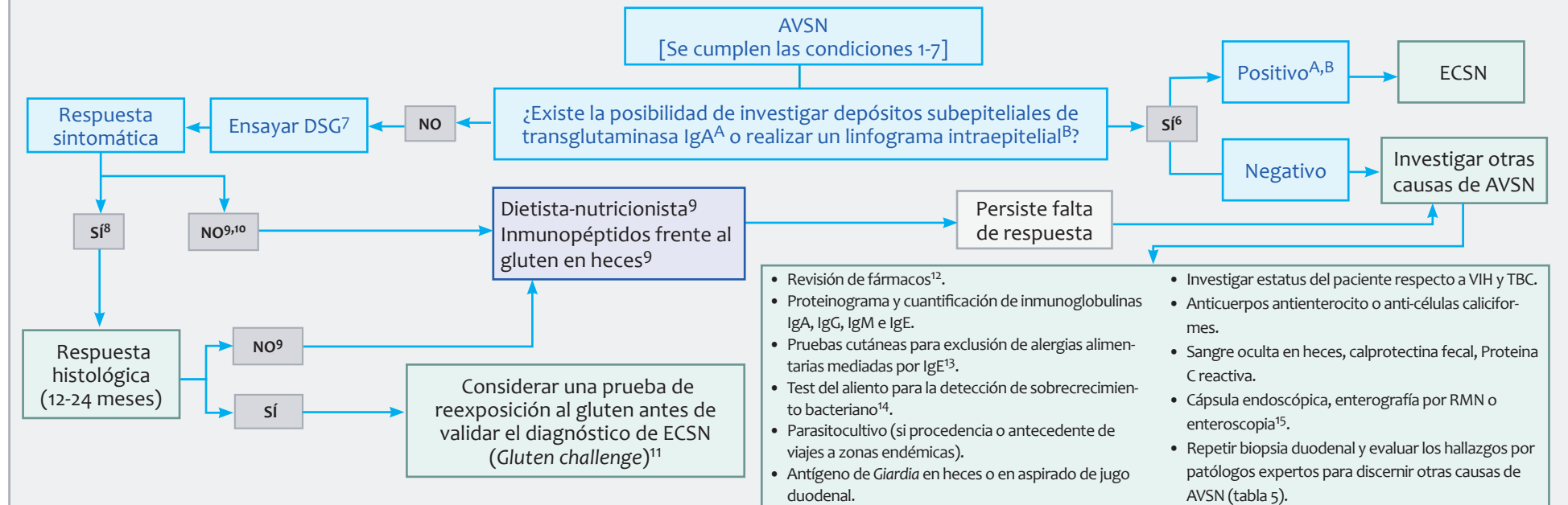
### ALGORITMO 1. AVSN + SOSPECHA CLÍNICA DE EC

Verificar el cumplimiento de los siguientes requerimientos antes de iniciar cualquier investigación:

1. La sospecha clínica de EC responde a los criterios propuestos por la NICE ([tablas 1 y 2](#)).
2. Ante déficit selectivo de IgA se han solicitado pruebas serológicas basadas en IgG<sup>1</sup>.
3. Si el paciente había retirado el gluten de su dieta habitual, se ha realizado una prueba de provocación, antes de proceder con las investigaciones serológicas y la biopsia duodenal<sup>2</sup>.
4. Antes de documentar la presencia de AVSN se ha procedido a investigar y en su caso tratar una infección por *H. pylori*<sup>3</sup>, que como causar lesiones histológicas de bajo grado.
5. Se han solicitado los haplotipos DQ2-DQ8 del sistema HLA y sus combinaciones alélicas<sup>4</sup>.
6. Se ha investigado la posible toma de inhibidores de los receptores AT1 de la angiotensina (por ej. olmesartán, candesartán, así como de AINE y fármacos inmunosupresores: azatioprina, micofenolato)<sup>5</sup>.
7. El procedimiento de la biopsia, el procesamiento de las muestras y la interpretación de los hallazgos se han llevado a cabo siguiendo un protocolo estandarizado ([tabla 5](#)) y la lectura de la biopsia a cargo de patólogos expertos.



### ALGORITMO 1. AVSN + SOSPECHA CLÍNICA DE EC (CONTINUACIÓN)



<sup>A</sup> Los depósitos subepiteliales de transglutaminasa IgA pueden ser positivos en pacientes con serología negativa. Para su determinación es necesario obtener 1 biopsia de duodeno (D2) y congelarla inmediatamente en nitrógeno líquido en un tubo Eppendorf con medio OCT. Luego se almacena a -80°C hasta el análisis mediante inmunofluorescencia y microscopía confocal. La valoración de las inmunotinciones es subjetiva, proporciona un resultado cualitativo (-/+ /++) y requiere experiencia. En alrededor de un 15% de las muestras los resultados son no concluyentes.

<sup>B</sup> El estudio de las subpoblaciones linfocitarias intraepiteliales en muestras de biopsias duodenales se realiza mediante citometría de flujo. Se ha descrito un linfograma celíaco que consiste en un aumento de linfocitos T que expresan TCR gammadelta (CD3+TCR gammadelta+) y un descenso concomitante de linfocitos T CD3 negativo. El aumento de los linfocitos gammadelta+ de forma aislada se asocia a una elevada sensibilidad para EC, con o sin serología positiva. El descenso de CD3 neg, que se produce conjuntamente con el aumento de gammadelta+ en un 80% de los casos, aumenta la especificidad del linfograma celíaco para EC. Para su determinación debe tomarse 1 biopsia de D2, introducirla en un medio de cultivo estándar, y remitirla para ser procesada de forma inmediata (en unas 2-4 horas). Todos los hospitales que poseen citómetro de flujo (para estudio de subpoblaciones linfocitarias en linfomas, etc) tienen el utillaje necesario para realizar esta prueba. Es una prueba objetiva, estandarizada, que proporciona un resultado cuantitativo en pocas horas.

AVSN: atrofia vellositaria seronegativa. EC: enfermedad celíaca. ECSN: enfermedad celíaca seronegativa. DSG: dieta sin gluten. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. TBC: tuberculosis.



## ALGORITMO 1. AVSN + SOSPECHA CLÍNICA DE EC (CONTINUACIÓN)

- <sup>1</sup> IgG anti-transglutaminasa tisular, IgG anti-endomiso o IgG antipeptidos de la gliadina desamidada.
- <sup>2</sup> Se recomienda la administración de 8-10 g de gluten (equivalente a 4 tostadas de pan tipo baguette) durante 3-4 semanas.
- <sup>3</sup> *H. pylori* es una causa de duodenitis péptica, ferropenia y cambios histológicos duodenales. [Pallav K, 2012; Rostami M, 2012].
- <sup>4</sup> Un test genético negativo posee un valor predictivo negativo cercano al 100% para el diagnóstico de EC y evita la necesidad de análisis e investigaciones complejos, tales como la investigación de depósitos subepiteliales de IgA en mucosa duodenal o la realización de un linfograma intraepitelial por citometría de flujo.
- <sup>5</sup> Si el paciente toma olmesartán considerar la retirada del fármaco y la respuesta clínica e histológica a la supresión del fármaco, antes de indicar nuevas exploraciones. [Marthey L, 2014].
- <sup>6</sup> Si el hospital dispone de tecnología para la determinación de depósitos subepiteliales de transglutaminasa tisular IgA o de un linfograma intraepitelial por citometría de flujo, y cumplen los puntos 1-6, las biopsias deberían ser evaluadas en las condiciones referidas en los apartados A y B para realizar una búsqueda intencionada de rasgos morfológicos que proporcionan especificidad al diagnóstico de ECSN.
- <sup>7</sup> No ofrecer dieta sin gluten antes de realizar un *check list* de condiciones mínimas que permiten optimizar el diagnóstico de presunción de ECSN. Si la decisión es retirar el gluten de la dieta, buscar asesoramiento por parte de dietistas-nutricionistas profesionales y el consejo de Asociaciones de pacientes.
- <sup>8</sup> Algunos pacientes no celíacos pueden experimentar una mejoría sintomática tras la retirada del «gluten». Se requieren más criterios para el diagnóstico de ECSN. [Aziz I, 2017].
- <sup>9</sup> Ante la falta de respuesta (sintomática y/o histológica), considerar siempre la posibilidad de una mala adherencia a la DSG (entrevista dietética y determinación de inmunopeptidos frente a la gliadina en heces).
- <sup>10</sup> Una vez asegurada la adherencia a la DSG, existen dos razones que podrían explicar la falta de respuesta sintomática a la DSG aun tratándose de una enfermedad celíaca:  
1) Coexistencia de una condición clínica asociada que es la responsable de la persistencia de síntomas ([tabla 6](#)); 2) Presencia de un enfermedad diferente a la EC como responsable de las lesiones histológicas [Mooney PD, 2012]. Algunos pacientes, siguen presentando atrofia de vellosidades después de 18-24 meses pese a una aparente buena adherencia a la DSG.
- <sup>11</sup> Se han documentado casos de AVSN que han revertido espontáneamente sin necesidad de restricción de gluten. Por tanto, un diagnóstico «certero» de ECSN podría requerir una prueba de provocación, pactada con el paciente, especialmente si la probabilidad pre-test de EC basada en el conjunto de datos clínicos que motivaron la investigación no fue alta ([tabla 1](#) y [tabla 2](#)). [Inram Aziz, 2017].
- <sup>12</sup> AINE, azatioprina, metotrexato, micofenolato mofetil e inhibidores de los receptores AT<sub>1</sub> de la angiotensina (ARA-2) [Marietta DV, 2015].
- <sup>13</sup> Proteína de leche de vaca, clara de huevo, soja, frutos secos, legumbres, pescado y marisco.
- <sup>14</sup> Preferiblemente mediante pruebas respiratorias que incorporan H<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> (metano).
- <sup>15</sup> Exploraciones avanzadas para descartar enfermedad intestinal inflamatoria, enteritis por radiación, yeyunoileitis ulcerativa o linfoma.

## Bibliografía

1. Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F, et al. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology*. 2009; 37:88-93.
2. Catassi C, Kryszak D, Bhatti B, Sturgeon C, Helzlsouer K, Clipp SL, et al. Natural history of celiac disease autoimmunity in a USA cohort followed since 1974. *Ann Med*. 2010;42:530-8.
3. Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, Laurila K, Collin P, Rissanen H, et al. Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;26:1217-25.
4. Myléus A, Ivarsson A, Webb C, Danielsson L, Hernell O, Högberg L, et al. Celiac disease revealed in 3% of Swedish 12-year-olds born during an epidemic. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009;49:170-6.
5. Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabo IR, Laurila K, Partanen J, Huttala H, et al. Endomysial antibody-negative coeliac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits. *Gut*. 2006;55:1746-53.
6. Downey L, Houten R, Murch S, Longson D, for the Guideline Development Group. Recognition, assessment, and management of coeliac disease: summary of updated NICE guidance. *BMJ*. 2015;351:h4513.
7. Collin P, Kaukinen K, Vogelsang H, Korponay-Szabó I, Sommer R, Schreier E, et al. Antiendomysial and antihuman recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicenter study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005;17:85-91.
8. Volta U, Caio G, Boschetti E, Giancola F, Rhoden KJ, Ruggeri E, et al. Seronegative celiac disease: shedding light on an obscure clinical entity. *Dig Liver Dis*. 2016;48:1018-22.
9. Van de Voort JL, Murray JA, Lahr BD, Van Dyke CT, Kroning CM, Moore SB, et al. Lymphocytic duodenitis and the spectrum of celiac disease. *Am J Gastro*. 2009;104:142-8.
10. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA, for the American College of Gastroenterology. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:656-76.
11. Ludvigsson JF, Bai JC, Biagi F, Card TR, Ciacci C, Ciclitira PJ, et al, for the BSG Coeliac Disease Guidelines Development Group, British Society of Gastroenterology. Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology. *Gut*. 2014 63:1210-28.
12. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*. 2013;62:43-52.
13. Catassi C, Fasano A. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms. *Am J Med*. 2010;123:691-3.
14. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al, for the ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease

- se Diagnosis; ESPGHAN Gastroenterology Committee, European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. European Society For Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54:136-60.
15. DeGaetani M, Tennyson CA, Lebwohl B, Lewis SK, Abu Daya H, Arguelles-Grande C, et al. Villous atrophy and negative celiac serology: a diagnostic and therapeutic dilemma. *Am J Gastroenterol.* 2013;108:647-53.
  16. Luca E, Branchi F, Sidhu R, Guandalini S, Assiri A, Rinawi F, et al. Small bowel villous atrophy: celiac disease and beyond. *Expert Rev Gastroenterol & Hepatol.* 2017;125-138.
  17. Gasbarrini G, Miele L, Malandrino N, Grieco A, Addolorato G, Gasbarrini A, et al. Celiac disease in the 21st century: issues of under- and over-diagnosis. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2009;22:1-7.
  18. Gutierrez-Achury J, Zhernakova A, Pulit SL, Trynka G, Hunt KA, Romanos J, et al. Fine mapping in the MHC region accounts for 18% additional genetic risk for celiac disease. *Nat Genet.* 2015;47: 577-8.
  19. Castellanos-Rubio A, Fernandez-Jimenez N, Kratchmarov R, Luo X, Bhagat G, Green PH, et al. A long noncoding RNA associated with susceptibility to celiac disease. *Science.* 2016;352:91-5.
  20. Aziz I, Peerally MF, Barnes JH, Kandasamy V, Whiteley JC, Partridge D, et al. The clinical and phenotypical assessment of seronegative villous atrophy; a prospective UK centre experience evaluating 200 adult cases over a 15-year period (2000–2015). *Gut.* 2016;66:1563-72.
  21. Fernández-Bañares F, Crespo L, Núñez C, López-Palacios N, Tristán E, Vivas S, et al. Gamma delta+ intraepithelial lymphocytes and coeliac lymphogram in a diagnostic approach to coeliac disease in patients with seronegative villous atrophy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020 Feb 12. doi: 10.1111/apt.15663.
  22. Choung RS, Larson SA, Khaleghi S, Rubio-Tapia A, Ovsyannikova IG, King KS, et al. Prevalence and morbidity of undiagnosed celiac disease from a community-based study. *Gastroenterology.* 2017;152:830-9.
  23. Lionetti E, Catassi C. Epidemiología de la enfermedad celiaca. En: Bai J, Olano C, Ciacci C (eds). *Enfermedad celiaca y sensibilidad al gluten. Clínicas Iberoamericanas de Gastroenterología y Hepatología.* 2015;3:27-30.
  24. Ludvigsson JF, Card TR, Kaukinen K, Bai J, Zingone F, Sanders DS, et al. Screening for celiac disease in the general population and in high-risk groups. *United Eur. Gastroenterol J.* 2015;3:106-20.
  25. Lewis NR, Scott BB. Systematic review: the use of serology to exclude or diagnose coeliac disease (a comparison of the endomyisial and tissue transglutaminase antibody tests). *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;24:47-54.
  26. Rostami K, Kerckhaert J, Tiemessen R, von Blomberg BM, Meijer JW, Mulder CJ. Sensitivity of antiendomysium and antigliadin antibodies in untreated celiac disease: disappointing in clinical practice. *Am J Gastroenterol.* 1999;94:888-94.

27. Leffler D, Schuppan D, Pallav K, Najarian R, Goldsmith JD, Hansen J, et al. Kinetics of the histological, serological and symptomatic responses to gluten challenge in adults with coeliac disease. *Gut*. 2013;62:996-1004.
28. Raju SA, Mooney PD, Aziz I, Kurien M, Sanders DS. Letter: gluten challenge in the era of noncoeliac gluten sensitivity—a change in clinical practice? *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43:656.
29. Lewis NR, Scott BB. Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010;31:73-81.
30. Hoerter NA, Shannahan SE, Suarez J, Lewis SK, Green PHR, Leffler DA, et al. Diagnostic yield of isolated deamidated gliadin peptide antibody elevation for celiac disease. *Dig Dis Sci*. 2017;62:1272-6.
31. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, et al, for the ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54:229-41.
32. Snyder MR, Murray JA. Celiac disease: advances in diagnosis. *Expert Rev. Clin. Immunol*. 2016;12:449-63
33. Comino I, Fernández-Bañares F, Esteve M, Ortigosa L, Castillejo G, Fambuena B, et al. Fecal Gluten Peptides Reveal Limitations of Serological Tests and Food Questionnaires for Monitoring Gluten-Free Diet in Celiac Disease Patients. *Am J Gastroenterol*. 2016;111:1456-65.
34. Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat. Rev. Immunol*. 2002;2:647-55.
35. Ploski R, Ek J, Thorsby E, Sollid LM. On the HLA-DQ (alpha 1\*0501, beta 1\*0201)-associated susceptibility in celiac disease: a possible gene dosage effect of DQB1\*0201. *Tissue Antigens*. 1993;41:173-7.
36. Almeida LM, Gandolfi L, Pratesi R, Uenishi RH, de Almeida FC, Selleski N, et al. Presence of DQ2.2 Associated with DQ2.5 Increases the Risk for Celiac Disease. *Autoimmune Dis*. 2016:5409653.
37. Pallav K, Kabbani T, Tariq S, Vanga R, Kelly CP, Leffler DA. Clinical utility of celiac disease-associated HLA testing. *Dig Dis Sci*. 2016;59:2199-206.
38. Pallav K, Leffler DA, Tariq S, Kabbani T, Hansen J, Peer A, et al. Noncoeliac enteropathy: the differential diagnosis of villous atrophy in contemporary clinical practice. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35:380-90.
39. Rostami Nejad M, Rostami K, Yamaoka Y, Mashayekhi R, Molaei M, Dabiri H, et al. Clinical and histological presentation of Helicobacter pylori and gluten related gastroenteropathy. *Arch Iran Med*. 2011;14:115-8.
40. Lewis S, Stableforth W, Awasthi R, Awasthi A, Pitts N, Ottaway J, et al. An examination of the relationship between the endoscopic appearance of duodenitis and the histological findings in patients with epigastric pain. *Int J Clin Exp Pathol*. 2012;5:581-7.

41. Rubio-Tapia A, Herman ML, Ludvigsson JF, Kelly DG, Mangan TF, Wu TT, et al. Severe spruelike enteropathy associated with olmesartan. *Mayo Clin Proc.* 2012;87:732-8.
42. Marietta EV, Cartee A, Rishi A, Murray JA. Drug-induced enteropathy. *Dig Dis.* 2015;33:215-20.
43. Marthey L, Cadiot G, Seksik P, Poudroux P, Lacroute J, Skinazi F, et al. Olmesartan-associated enteropathy: results of a national survey. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;40:1103-9.
44. Basson M, Mezzarobba M, Weill A, Ricordeau P, Allemand H, Alla F, et al. Severe intestinal malabsorption associated with olmesartan: a French nationwide observational cohort study. *Gut.* 2015;65:1664-9.
45. Walker MM, Murray JA. An update in the diagnosis of coeliac disease. *Histopathology.* 2011;59:166-79.
46. Brocchi E, Corazza GR, Caletti G, Treggiari EA, Barbara L, Gasbarrini G. Endoscopic demonstration of loss of duodenal folds in the diagnosis of celiac disease. *N Engl J Med.* 1988;319:741-4.
47. Shah VH, Rotterdam H, Kotler DP, Fasano A, Green PH. All that scallops is not celiac disease. *Gastrointest Endosc.* 2000;51:717-20.
48. Stoven SA, Choung RS, Rubio-Tapia A, Absah I, Lam-Himlin DM, Harris LA, et al. Analysis of Biopsies From Duodenal Bulbs of All Endoscopy Patients Increases Detection of Abnormalities but has a Minimal Effect on Diagnosis of Celiac Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2016;14:1582-8.
49. Dandalides SM, Carey WD, Petras R Achkar E. Endoscopic small bowel mucosal biopsy: a controlled trial evaluating forceps size and biopsy location in the diagnosis of normal and abnormal mucosal architecture. *Gastrointest Endosc.* 1989; 35:197-200.
50. Babbin BA, Crawford K, Sitaraman SV. Malabsorption workup: utility of small bowel biopsy. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4: 1193-8.
51. Nada R, Duseja A, Sachdev A, Mohan H. Comparative analysis of duodenal biopsy tissue orientation supported on vegetable matrix versus filter paper. *Indian J Gastroenterol.* 2002;21:110-2.
52. Haot J, Hamichi L, Wallez L, Mainguet P. Lymphocytic gastritis: a newly described entity: a retrospective endoscopic and histological study. *Gut.* 1988;29:1258-64.
53. Lynch DA, Sobala GM, Dixon MF, Gledhill A, Jackson P, Crabtree JE, et al. Lymphocytic gastritis and associated small bowel disease: a diffuse lymphocytic gastroenteropathy? *J Clin Pathol.* 1995; 48:939-45.
54. Wu TT, Hamilton SR. Lymphocytic gastritis: association with etiology and topology. *Am J Surg Pathol.* 1999;23:153-8.
55. Corazza GR, Villanacci V. Coeliac disease. *J Clin Pathol.* 2005;58: 573-4.
56. Upton MP. 'Give us this day our daily bread' – evolving concepts in celiac sprue. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132:1594-9.
57. Owens SR, Greenson JK. The pathology of malabsorption: current concepts. *Histopathology* 2007;50:64-82.

58. Serra S, Jani PA. An approach to duodenal biopsies. *J Clin Pathol.* 2006;59:1133-50.
59. Segal HG, Petras RE. Small intestine. In Sternberg SS ed. *Histology for pathologists.* Philadelphia: Lippincott-Raven. 1997;495-518.
60. Collin P, Wahab PJ, Murray JA. Intraepithelial lymphocytes and coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2005;19:341-50.
61. Hayat M, Cairns A, Dixon MF, O'Mahony S. Quantitation of intraepithelial lymphocytes in human duodenum: what is normal? *J Clin Pathol.* 2002;55:393-4.
62. Wahab PJ, Meijer JW, Mulder CJ. Histologic follow-up of people with celiac disease on a gluten-free diet: slow and incomplete recovery. *Am J Clin Pathol.* 2002;118:459-63.
63. Biagi F, Luinetti O, Campanella J, Klersy C, Zambelli C, Villanacci V. et al. Intraepithelial lymphocytes in the villous tip: do they indicate potential coeliac disease? *J Clin Pathol* 2004;57:835-9.
64. Jarvinen TT, Collin P, Rasmussen M, Kyrönpalo S, Mäki M, Partanen J, et al. Villous tip intraepithelial lymphocytes as a marker of early-stage celiac disease. *Scand J Gastroenterol.* 2004;39:428-33.
65. Walker MM, Murray JA, Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, D'Amato M, et al. Detection of celiac disease and lymphocytic enteropathy by parallel serology and histopathology in a population-based study. *Gastroenterology.* 2010;139:112-9.
66. Veress B, Franzen L, Bodin L, Borch K. Duodenal intraepithelial lymphocyte-count revisited. *Scand J Gastroenterol.* 2004;39: 138-44.
67. Goldstein NS, Underhill J. Morphologic features suggestive of gluten sensitivity in architecturally normal duodenal biopsy specimens. *Am J Clin Pathol.* 2001;116:63-71.
68. Ensari A. Gluten-sensitive enteropathy (celiac disease): controversies in diagnosis and classification. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134:826-36.
69. Mino M, Lauwers GY. Role of lymphocytic immunophenotyping in the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy with preserved villous architecture. *Am J Surg Pathol.* 2003 27:1237-42.
70. Maki M, Holm K, Collin P, Savilahti. Increase in gamma/delta T cell receptor bearing lymphocytes in normal small bowel mucosa in latent coeliac disease. *Gut.* 1991;32:1412-4.
71. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex and the small intestine: a molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('coeliac sprue'). *Gastroenterology.* 1992;102:330-54.
72. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1999;11:1185-94.
73. Leon F. Flow cytometry of intestinal intraepithelial lymphocytes in celiac disease. *J Immunol Methods.* 2011;363:177-86.
74. Mino M, Lauwers GY. Role of Lymphocytic Immunophenotyping in the Diagnosis of Gluten-Sensitive Enteropathy With Preserved Villous Architecture. *Am J Surg Pathol.* 2003;27:1237-42.

75. Järvinen TT, Collin P, Rasmussen M, Kyrönpalo S, Mäki M, Partanen J, et al. Villous Tip Intraepithelial Lymphocytes as Markers of Early-Stage Coeliac Disease. *Scand J Gastroenterol.* 2004;39:428-33.
76. Fernández-Bañares F, Carrasco A, García-Puig R, Rosinach M, González C, Alsina M, et al. Flow Cytometry Description of a Novel Intestinal Intraepithelial Lymphocyte Cytometric Pattern Is More Accurate than Subepithelial Deposits of Anti-Tissue Transglutaminase IgA for the Diagnosis of Celiac Disease in Lymphocytic Enteritis. *PLoS ONE.* 2014;9:e101249.
77. Sánchez-Castañón M, Castro BG, Toca M, Santacruz C, Arias-Loste M, Iruzubieta P, et al. Intraepithelial lymphocyte subsets in different forms of celiac disease. *Auto Immun Highlights.* 2016;7(1):14.
78. Remes-Troche JM, Adames K, Castillo-Rodal AI, Ramírez T, Barreto-Zuñiga R, López-Vidal Y, et al. Intraepithelial gammadelta+ lymphocytes: a comparative study between celiac disease, small intestinal bacterial overgrowth, and irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol.* 2007;41:671-6.
79. Leon F, Eiras P, Roy G, Camarero C. Intestinal intraepithelial lymphocytes and anti-transglutaminase in a screening algorithm for coeliac disease. *Gut.* 2002;50:740-2.
80. Cukrowska B, Sowińska A, Bierła JB, Czarnowska E, Rybak A, Grzybowska-Chlebowczyk U. Intestinal epithelium, intraepithelial lymphocytes and the gut microbiota - Key players in the pathogenesis of celiac disease. *World J Gastroenterol.* 2017;23:7505-18.
81. Fernández-Bañares F, Carrasco A, Martín A, Esteve M. Systematic Review and Meta-Analysis: Accuracy of Both Gamma Delta+ Intraepithelial Lymphocytes and Coeliac Lymphogram Evaluated by Flow Cytometry for Coeliac Disease Diagnosis. *Nutrients.* 2019 Aug 23;11(9). pii: E1992. doi: 10.3390/nu11091992.
82. Koskinen O, Collin P, Lindfors K, Laurila K, Mäki M, Kaukinen K. Usefulness of small-bowel mucosal transglutaminase-2 specific autoantibody deposits in the diagnosis and follow-up of celiac disease. *J Clin Gastroenterol.* 2010;44:483-8.
83. Stenman SM, Lindfors K, Korponay-Szabo IR, Lohi O, Saavalainen P, Partanen J, et al. Secretion of celiac disease autoantibodies after in vitro gliadin challenge is dependent on small-bowel mucosal transglutaminase 2-specific IgA deposits. *BMC Immunol.* 2008;29: 9:6.
84. Kaukinen K, Peräaho M, Collin P, Partanen J, Woolley N, Kaartinen T, et al. Small-bowel mucosal transglutaminase 2-specific IgA deposits in coeliac disease without villous atrophy: a prospective and randomized clinical study. *Scand J Gastroenterol.* 2005; 40:564-72.
85. Koskinen O, Collin P, Korponay-Szabo I, Salmi T, Iltanen S, Haimila K, et al. Gluten-dependent small bowel mucosal transglutaminase 2-specific IgA deposits in overt and mild enteropathy coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;47:436-42.
86. Lindfors K, Kaukinen K, Mäki M. A role for anti-transglutaminase 2 autoantibodies in the pathogenesis of coeliac disease? *Amino Acids.* 2009;36:685-91.



87. Ontiveros N, Tye-Din JA, Hardy MY, Anderson RP. Ex-vivo whole blood secretion of interferon (IFN)- $\gamma$  and IFN- $\gamma$ -inducible protein-10 measured by enzyme-linked immunosorbent assay are as sensitive as IFN- $\gamma$  enzyme-linked immunospot for the detection of gluten-reactive T cells in human leucocyte antigen. *HL Clin Exp Immunol*. 2014;175:305-15.
88. Brottveit M, Ráki M, Bergseng E, Fallang L-E, Simonsen B, Løvik A, et al. Assessing possible celiac disease by an HLA-DQ2-gliadin Tetramer Test. *Am J Gastroenterol*. 2011;106:1318-24.
89. Hopper AD, Hadjivassiliou M, Hurlstone DP, Lobo AJ, McAlindon ME, Egner W, et al. What is the role of serologic testing in celiac disease? A prospective, biopsy confirmed study with economic analysis *Clin. Gastroenterol Hepatol*. 2008;6:314-20.
90. Rashtak S, Ettore MW, Homburger HA, Murray JA. Comparative usefulness of deamidated gliadin antibodies in the diagnosis of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6:426-32.
91. Dickey W, Hughes DF, McMillan SA. Reliance on serum endomysial antibody testing underestimates the true prevalence of coeliac disease by one-fifth. *Scand J Gastroenterol*. 2000;35:181-3.
92. Abrams JA, Diamond B, Rotterdam H, Green PH. Seronegative celiac disease: increased prevalence with lesser degrees of villous atrophy. *Dig Dis Sci* 2004;49:546-50.
93. McGowan KE, Lyon ME, Butzner JD. Celiac disease and IgA deficiency: complications of serological testing approaches encountered in the clinic. *Clin Chem* 2008;54:1203-9.
94. Elli L, Branchi F, Sidhu R, Guandalini S, Assiri A, Rinawi F et al. Small bowel villous atrophy: celiac disease and beyond. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;11:125-38.
95. Mooney PD, Evans KE, Singh S, Sanders DS. Treatment failure in coeliac disease: a practical guide to investigation and treatment of non-responsive and refractory coeliac disease. *J Gastrointestin Liver Dis*. 2012;21:197-203.
96. Kelly CP. Celiac disease. In Feldman M, Friedman L & Brandt L (eds) *Gastrointestinal and Liver Disease (Sleisenger & Fordtran)* 10 th Edition. Elsevier Saunders, Philadelphia; 2016:1849-72.