



# Serologické markery celiakie - aktuální přehled

## Kocna Petr





Assay	sensitivity	specificity	npv	ppv	AUC
tTg IgG	13,13	98,99	53,26	92,86	0,56
mTg neo IgA	64,65	98,99	73,68	98,46	0,82
Gliadin IgA	37,37	98,99	61,25	97,37	0,68
DGP IgA	66,67	98,99	74,81	98,51	0,83
Glia Check	57,58	98,99	70	98,28	0,78
tTg IgA	60,61	98,99	71,53	98,36	0,80
DGP IgG	70,71	98,99	77,17	98,59	0,85
mTg neo Check	90,91	87,88	90,62	88,24	0,89
Gliadin IgG	84,85	98,99	86,73	98,82	0,92
tTg neo IgG	77,78	98	81,67	97,47	0,88
mTg neo IgG	95,96	93,94	95,88	94,06	0,95
DGP Check	82,83	98,99	85,22	98,78	0,91
EMA IgG	55,7	99,3	N.D.	N.D.	0,78
tTg Check	79,8	98,99	83,05	98,75	0,89
tTg neo IgA	88,89	98,99	89,91	98,88	0,94
tTg neo check	97,98	98,99	98	98,98	0,98
EMA IgA	90,2	94,1	N.D.	N.D.	0,94

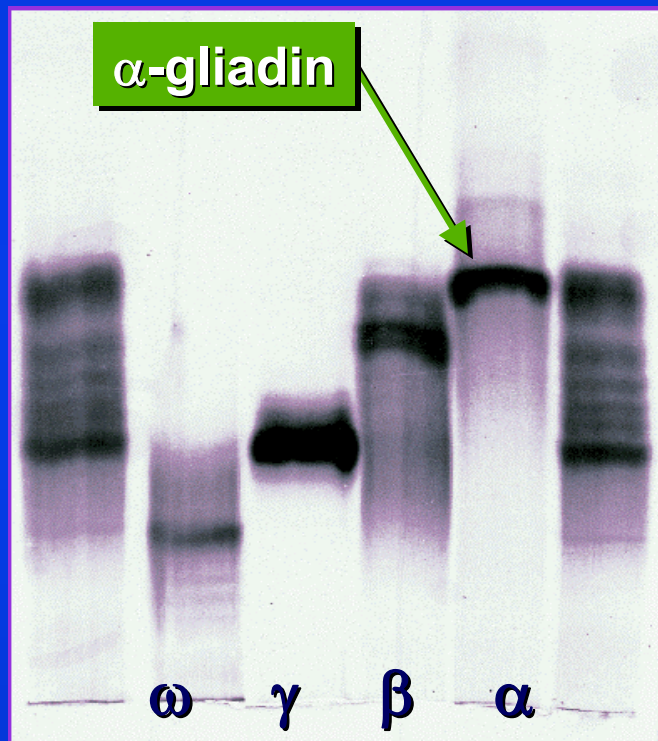
**Lerner A, Jeremias P, Neidhöfer S, Matthias T: Comparison of the Reliability of 17 Celiac Disease Associated Bio-Markers to Reflect Intestinal Damage. J Clin Cell Immunol. 2017; 8: 486**



## PROTILÁTKY KE GLUTENU - GLIADINU

1958

*Berger E. Zur allergischen pathogenese der Coliakie, mit Versuchen über die Spaltung pathogener Antigene durch Fermente. Bibliotheca Paediatrica. 1958 (Suppl.) 67:1*



GAb - GLUTEN ANTIBODIES  
Berger 1958

AGA / AGG - GLIADIN ANTIBODIES  
Stern 1979

AAGA / AAGG -  $\alpha$ -GLIADIN ANTIBODIES  
O'Farrelly 1983

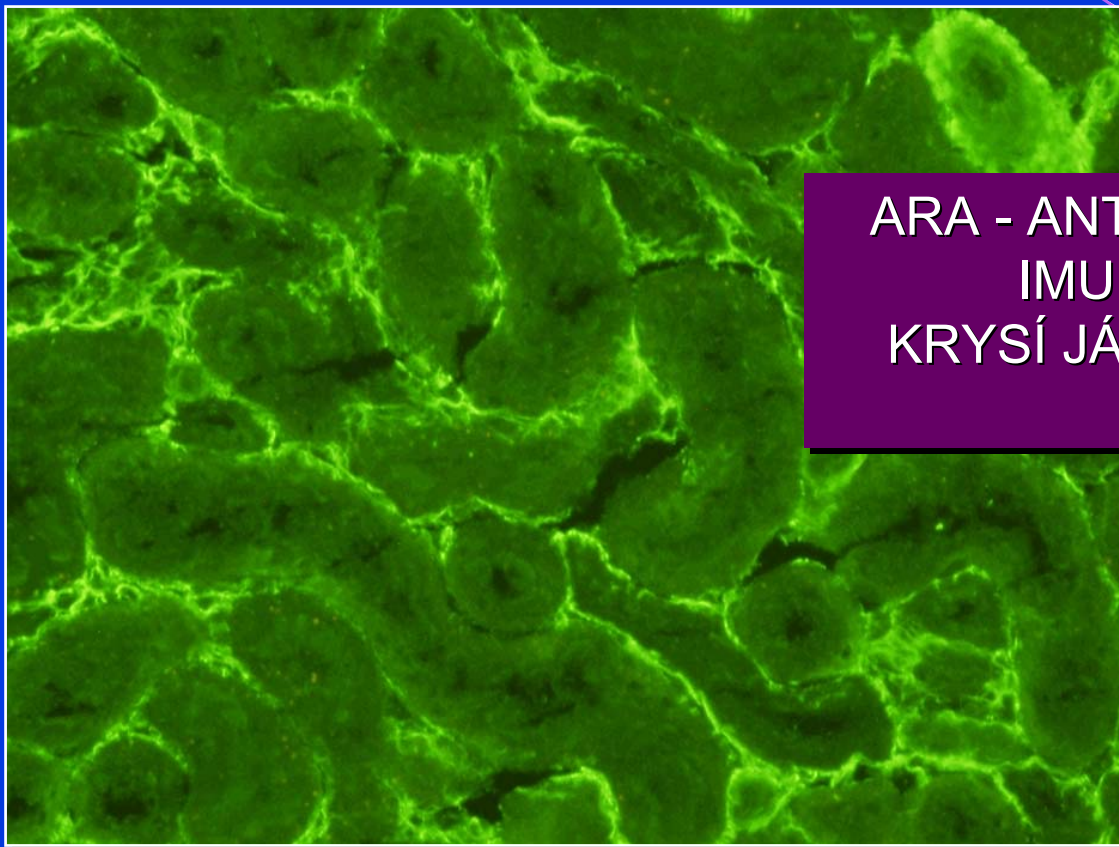
DGP - DEAMIDATED GLIADIN  
Aleansi 2001

*Kocna P, Frič P, Kočová-Holáková M. et al.: Isolation and analysis of peptidic fragments of alpha-gliadin using reversed-phase high-performance liquid chromatography. J Chromatogr. 1988; 434(2): 429-438*



## PROTILÁTKY K RETIKULINU - ARA

1971



ARA - ANTI RETICULIN ANTIBODIES  
IMUNOFLUORESCENCE  
KRYŠÍ JÁTRA, LEDVINY, ŽALUDEK  
Seah 1971

*Seah PP, Fry L, Hoffbrand AV, Holborow EJ.:  
Tissue antibodies in dermatitis herpetiformis and adult coeliac disease.  
Lancet 1971; 297/7704: 834-836*



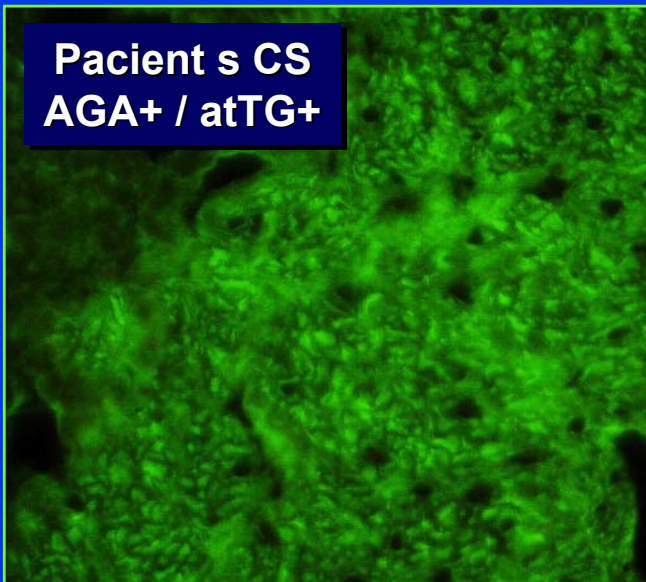


## PROTILÁTKY K ENDOMYSIU - EMA

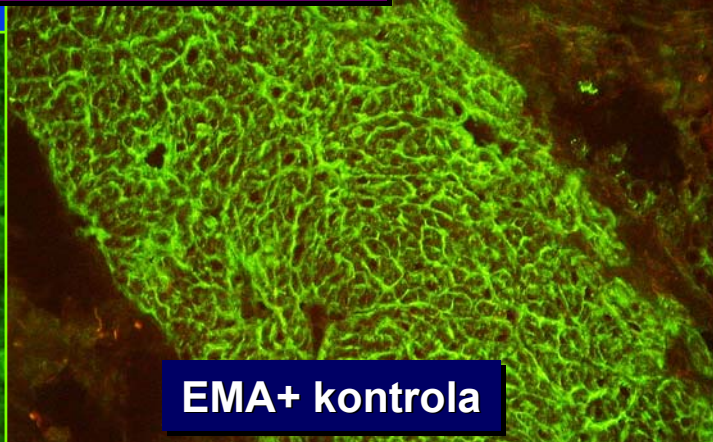
1983

EMA - ENDOMYSIUM ANTIBODIES  
IMUNOFLUORESCENCE  
OPIČÍ JÍCEN, LIDSKÝ PUPEČNÍK  
Chorzelski 1983

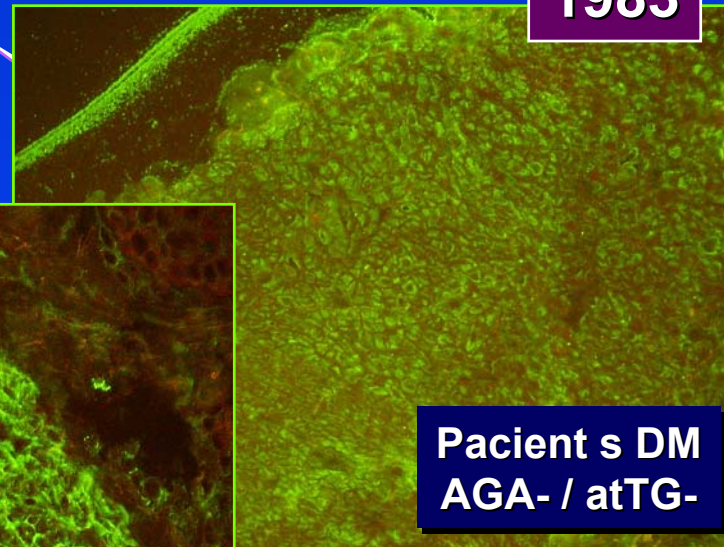
Pacient s CS  
AGA+ / atTG+



EMA+ kontrola



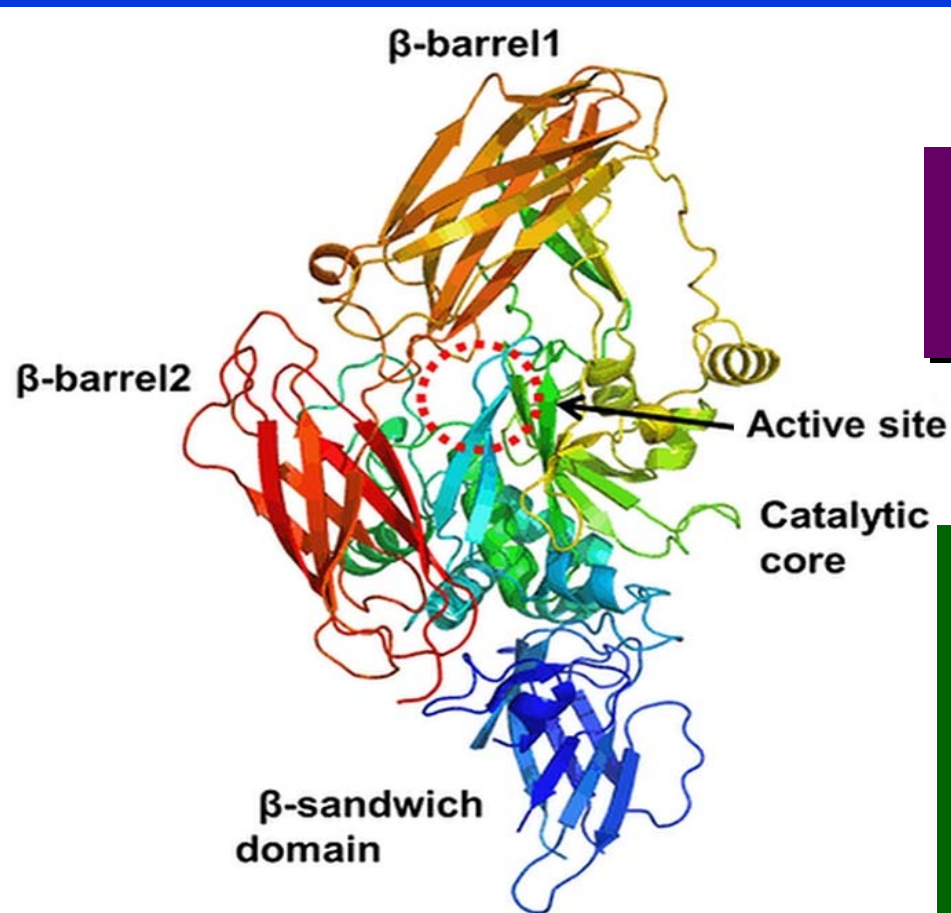
Pacient s DM  
AGA- / atTG-



*Chorzelski TP, Sulej J, Tchorzewski H. et al.:*  
*IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and coeliac disease.*  
*Ann N Y Acad Sci. 1983;420:325-34.*

# PROTILÁTKY KE TKÁŇOVÉ TRANSGLUTAMINÁZE - atTG

1997



TKÁŇOVÁ TRANSGLUTAMINÁZA  
JE ANTIGENEM ENDOMYSIA  
Dieterich 1997

ELISA antigen:  
rekombinantní - lidská (rh-tTG)  
lidská purifikovaná (ph-tTG)  
morčecí (gp-tTG)  
senzitivita / specificita testů: 53 - 100%  
cut-off hodnota rozdílná mezi výrobci

Dieterich W, Ehnis T, Bauer M. et al.: Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat. Med.* 1997; 3: 797 - 801





## PROTILÁTKY atTG - VARIABILITA TESTŮ / VÝROBCŮ

● Aesku	135	9.0
● Binding Site	33.3	8.3
● BMD Luminex	43	
● DiaSorin	57	
● Euroimmun	200	10.0
▲ Eurospital*	95	13.6
● Generic Assays	89	4.5
○ Genesis	69	9.9
● Immco	48.3	2.4
△ Inova*	95.5	4.8
○ Orgentec	65.5	9.9
● Phadia ELIA	69.0	9.9
● Phadia ImmunoCAP	73.9	10.6
○ Phadia Varelisa	30.1	10.0

pozitivní  
vzorek

násobek  
ULN

UKNEQAS - 2009  
externí kontrola kvality  
306 laboratoří v Evropě  
14 nejčastějších testů  
median atTG  
vysoké - pozitivní kontroly  
násobek cut-off kriteriá (ULN)

Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR. et al.: European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012; 54(1):136-160



## PROTILÁTKY atTG - VARIABILITA TESTŮ / VÝROBCŮ

cut-off kriterium atTG

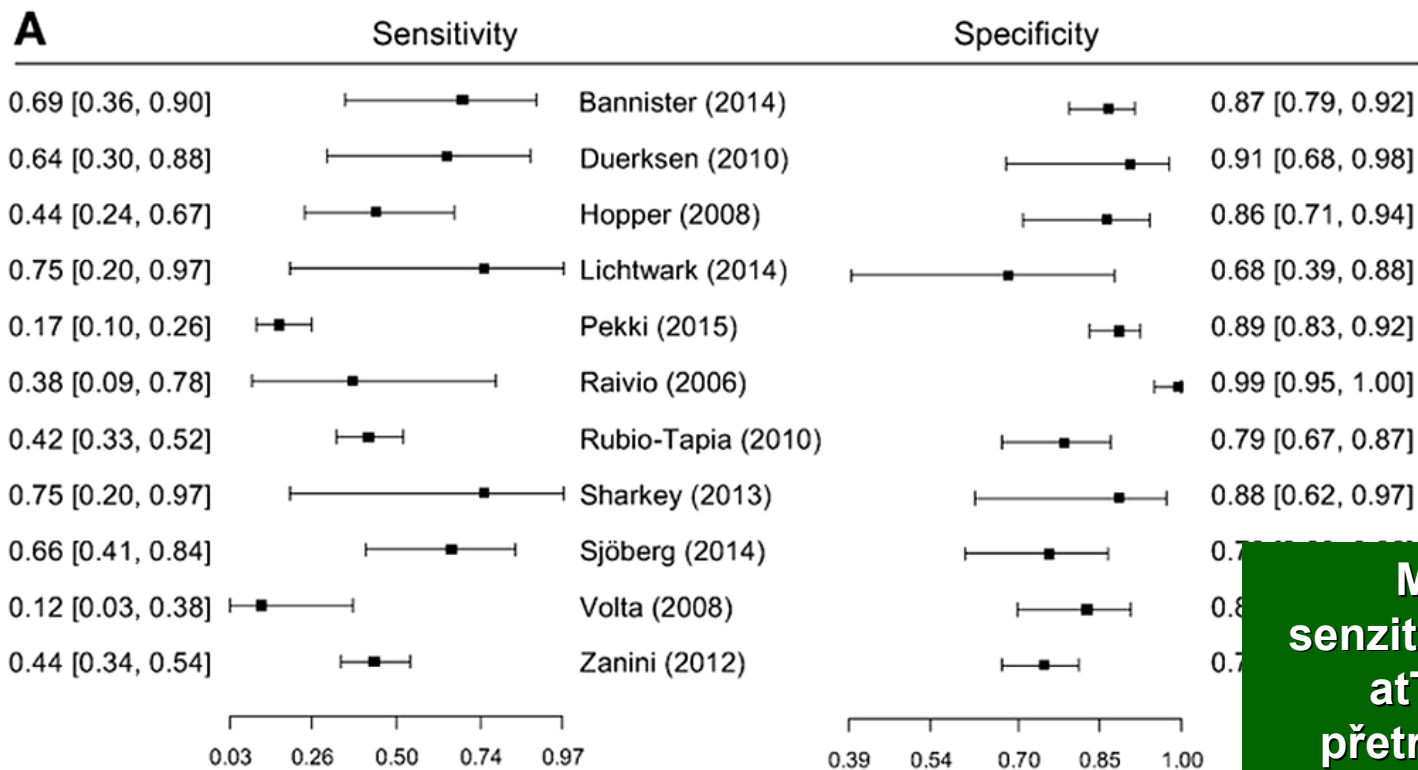
Naples	Anti-Tissue Transglutaminase IgA (Delta Biologicals)	7 U/mL
Spain	Elia Celikey IgA (Phadia, Thermofisher)	7 U/mL
Messina	Transglutaminasi Umana IgA (IPR - Immuno Pharmacology Research s.r.l)	3 U/mL
Albania	Celiac Ttg IgA (Immco Diagnostic, Hague Netherlands)	25 EU/mL
Slovenia	Eu-Ttg IgA (Eurospital)	16 U/mL
Tunisia	Quanta Lite <sup>®</sup> R H-Ttg Elisa (Inova Diagnostics)	10 U/mL
Turkey	Anti-Tissue Transglutaminase IgA (Orgentec)	10 U/mL
Greece	Quanta Lite <sup>®</sup> H-Ttg Elisa (Inova Diagnostics)	20 U/mL

**Smarrazzo A, Magazzù G, Ben-Hariz M.et al.: Variability of anti-human transglutaminase testing in celiac disease across Mediterranean countries. World J Gastroenterol. 2017; 23(24): 4437 - 4443**





## PROTILÁTKY atTG - VARIABILITA TESTŮ / VÝROBCŮ



**Meta analýza  
senzitivita - specificita  
atTG protilátky  
přetrvávající atrofie  
celiakie na GFD**

**Silvester JA, Kurada S, Szwajcer A. et al.: Tests for Serum Transglutaminase and Endomysial Antibodies Do Not Detect Most Patients With Celiac Disease and Persistent Villous Atrophy on Gluten-free Diets: a Meta-analysis. *Gastroenterology*. 2017; 153(3): 689 - 701**

# PROTILÁTKY K DEAMIDOVANÝM GLIADINŮM - DGP

2001

LQPFPPQ**Q**LPY

IC<sub>50</sub>: 103 μM

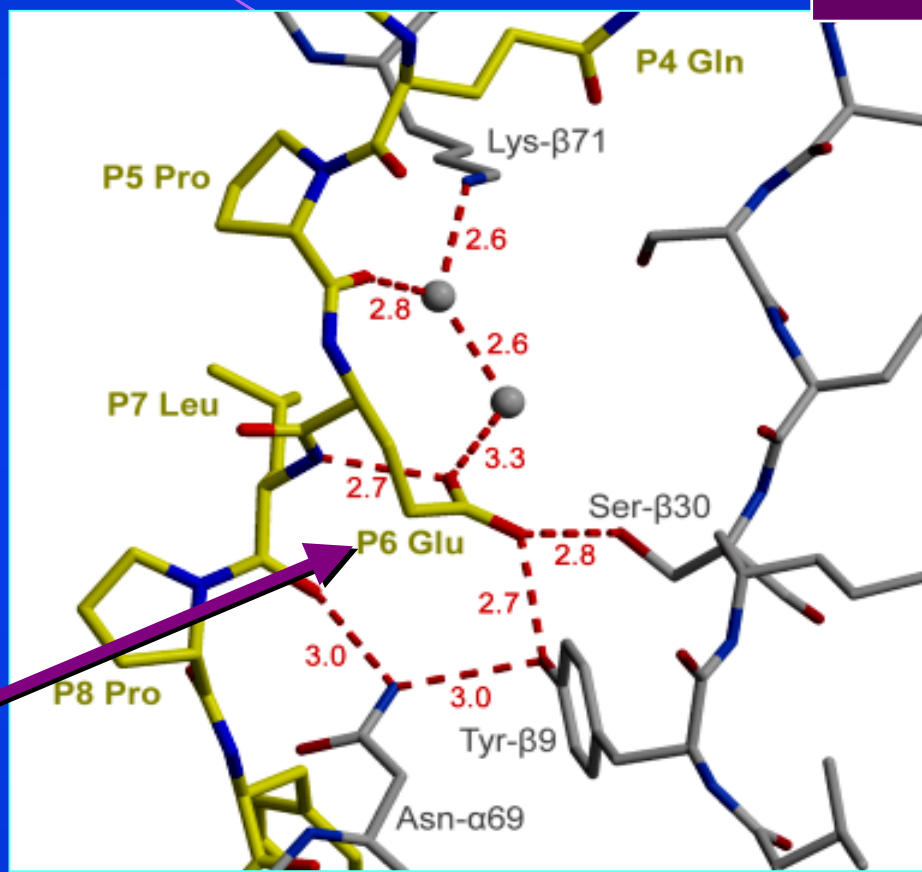
DEAMIDACE - TG2

TKÁŇOVOU TRANSGLUTAMINÁZOU

LQPFPPQ**E**LPY

IC<sub>50</sub>: 4 μM

25x ZVÝŠENÍ AFINITY  
VAZBY NA POZICI P6



Kim CY, Quarsten H, Bergseng E. et al.: Structural basis for HLA-DQ2-mediated presentation of gluten epitopes in celiac disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101(12): 4175 - 4179





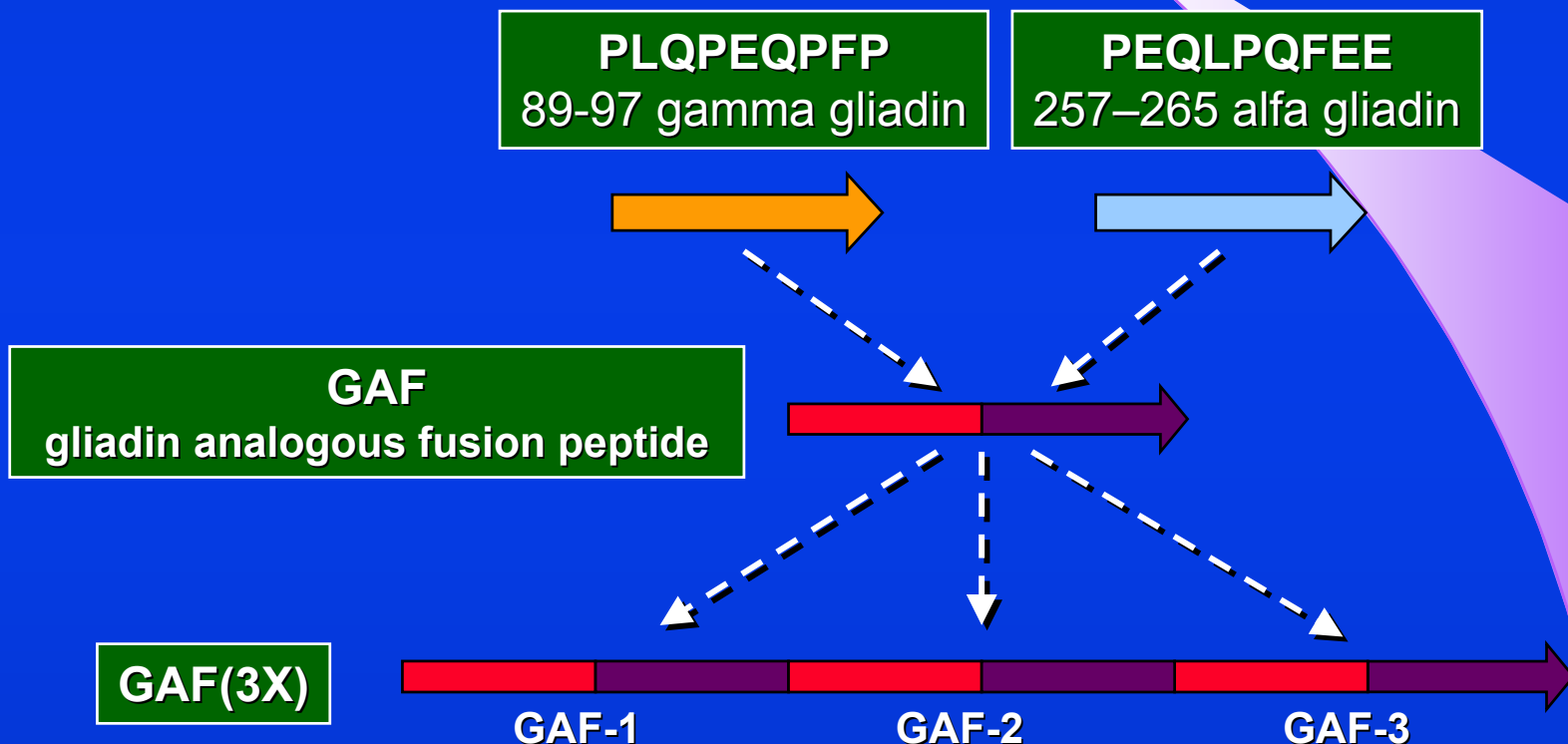
## PROTILÁTKY K DGP - VARIABILITA ANTIGENU / VÝROBCŮ

Art. No.	Name	
G051	26mer gliadin peptide	
G052	33mer gliadin peptide	
G055	Carrier protein control	
G007	DGPx1 (26mer DGP)	
G054	33mer DGP	
G006	DGPx2	
G005	DGPx4	

***DGPx1 (deamidated gliadin peptide) - Product Data Sheet No.G007,  
Zedira GmbH, Germany, Release date 04 December 2018***

## PROTILÁTKY K DGP - VARIABILITA ANTIGENU / VÝROBCŮ

DVA ROZDÍLNÉ ELISA TESTY - EUROIMMUN a INOVA  
EUROIMMUN DEFINUJE ANTIGEN - PEPTID: GAF(3X)



*Schwartz E, Kahlenberg F, Sack U. et al.: Serologic assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. Clin Chem. 2004; 50(12): 2370 - 2375*





## PROTILÁTKY K DGP - VARIABILITA ANTIGENU / VÝROBCŮ

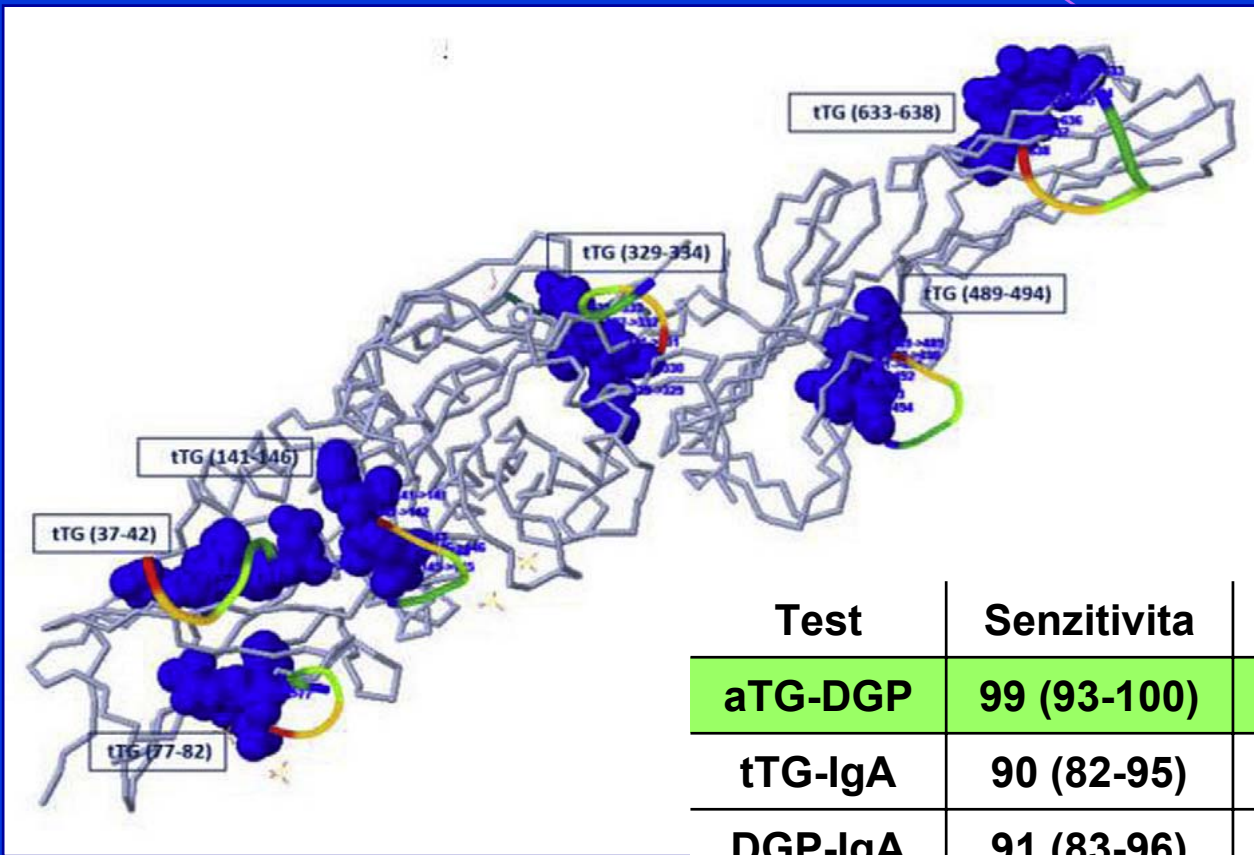
DVA ROZDÍLNÉ ELISA TESTY - EUROIMMUN a INOVA  
EUROIMMUN DEFINUJE ANTIGEN - PEPTID: GAF(3X)

	SN	SP	PPV	NPV	ACC
<b>Inova DGP A/G</b>	95.65	97.14	98.51	91.89	96.15
<b>Eurim DGP A/G</b>	82.43	68.57	84.72	64.86	77.98
<b>AGA/G + tTG</b>	97.50	91.43	96.29	94.12	95.65
<b>InoDGP + tTG</b>	97.10	94.29	97.10	94.28	96.15
<b>EurimDGP + tTG</b>	98.75	68.57	87.78	96.00	89.56

*Vanickova Z, Kocna P, Topinkova K, Dvorak M.:  
Deamidated gliadin peptides in coeliac disease diagnostics.  
GUT 2008, 57; suppl.II, A228-P0615*

# KOMPLEX TRANSGLUTAMINÁZY A DEAMIDOVANÉHO GLIADINU

2019



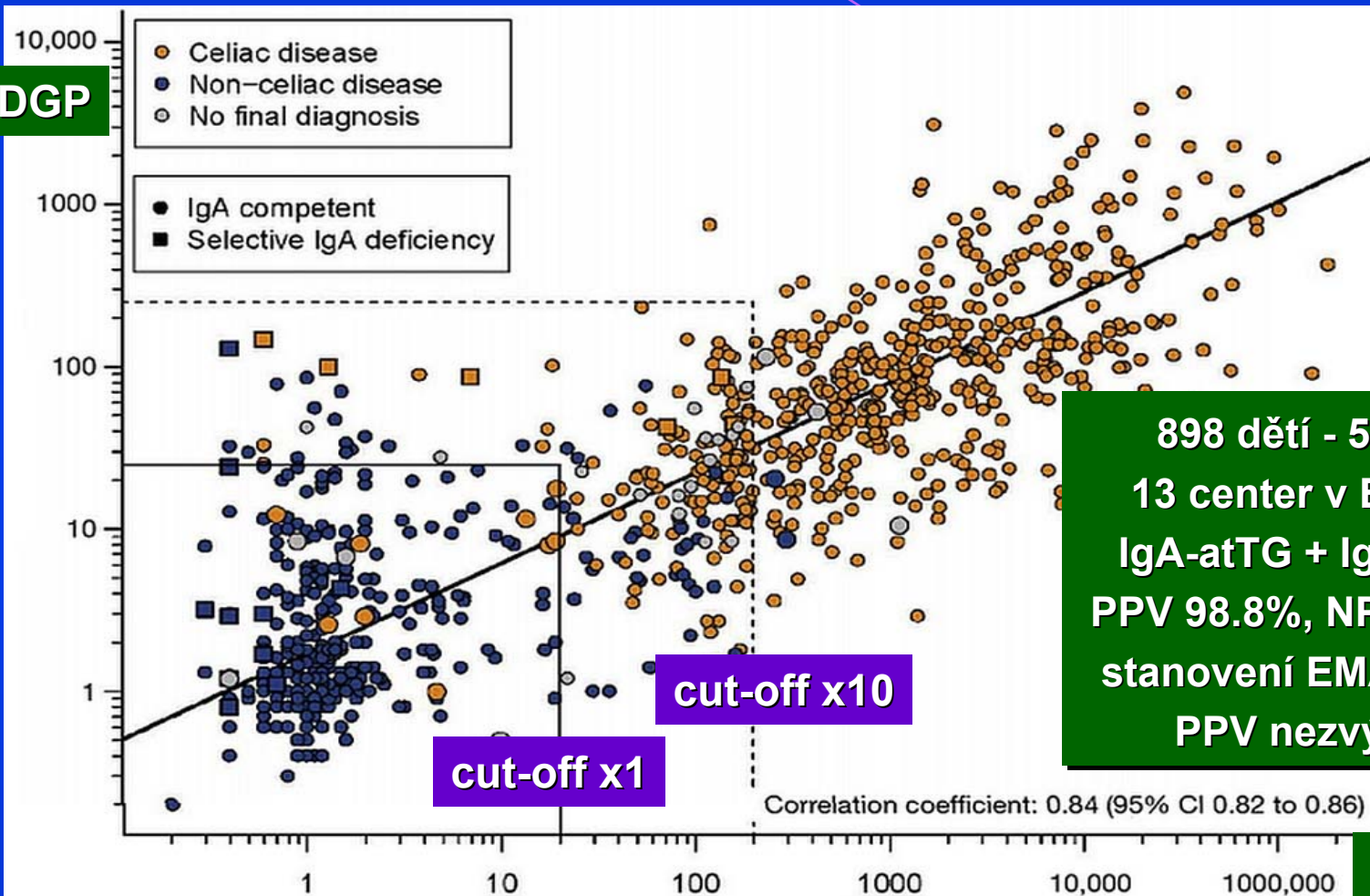
Test	Senzitivita	Specificita	Přesnost
<b>aTG-DGP</b>	<b>99 (93-100)</b>	<b>100 (98-100)</b>	<b>99 (98-100)</b>
tTG-IgA	90 (82-95)	99 (96-100)	97 (94-98)
DGP-IgA	91 (83-96)	97 (94-98)	97 (94-98)

*Choung RS, Khaleghi Rostamkolaei S, Ju JM. et al.: Synthetic Neopeptides of the Transglutaminase-Deamidated Gliadin Complex as Biomarkers for Diagnosing and Monitoring Celiac Disease. Gastroenterology. 2019;156(3) :582 - 591*



# MARKERY CS - atTG, DGP - DIAGNÓZA BEZ BIOPSIE

IgG-DGP



898 dětí - 592 CS  
13 center v Evropě  
IgA-atTG + IgG-DGP  
PPV 98.8%, NPV 95,8%  
stanovení EMA a HLA  
PPV nezvýšilo

IgA-atTG



## POPULAČNÍ SCREENING CELIAKIE

Současné důkazy nepodporují  
masový screening pro CS,  
i když jsme si vědomi, že  
**většina pacientů s CS**  
při této strategii  
**nebude diagnostikována.**

Screening pro CS je  
doporučen u vysoce rizikových skupin.

***Screening for celiac disease in the general population and in high-risk groups  
Ludvigsson JF., Card TR., Kaukinen K., Bai J., Zingone F., Sanders DS., Murray JA.  
United European Gastroenterology Journal, 2015, Vol. 3(2): 106–120***



## ALGORITMY PRO SCREENING - DIAGNOSTIKU CELIAKIE

### PROTILÁTKY KE TKÁŇOVÉ TRANSGLUTAMINÁZE - atTG

Protilátky ke tkáňové transglutamináze **atTG - IgA** jsou **primárním testem ve všech algoritmech**

Většina algoritmů doporučuje současně **test celkové IgA** vzhledem k riziku IgA deficience

Irské doporučení navrhuje stanovení celkové IgA pouze v případě **negativního výsledku atTG - IgA**

*Diagnosis and Management of Adult Coeliac Disease, 2015; Irish College of General Practitioners, Russell A, Shanahan E, Quigley E. [QRGfeedback@icgp.ie](mailto:QRGfeedback@icgp.ie)*





## ALGORITMY PRO SCREENING - DIAGNOSTIKU CELIAKIE

### PROTILÁTKY KE TKÁŇOVÉ TRANSGLUTAMINÁZE - atTG

Variantou testu celkové IgA  
může být **atTG - IgG** test nebo IgG - DGP test

*Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2017 Mar.*

Při prokázané IgA deficienci je doporučen  
**atTG - IgG** test nebo IgG - DGP test

*Coeliac disease: recognition, assessment and management, NICE guideline  
Published: 2 September 2015 - [nice.org.uk/guidance/ng20](http://nice.org.uk/guidance/ng20)*

*Diagnosis and Management of Adult Coeliac Disease, 2015; Irish College of  
General Practitioners, Russell A, Shanahan E, Quigley E. [QRGfeedback@icgp.ie](mailto:QRGfeedback@icgp.ie)*



# ALGORITMY PRO SCREENING - DIAGNOSTIKU CELIAKIE

## PROTILÁTKY K DEAMIDOVANÝM GLIADINŮM - DGP

**IgG - DGP** test místo testu celkové IgA

*Management of celiac disease: from evidence to clinical practice*  
*Italian J. Medicine 2017;11: 345-359. Attardo TM, Magnani E, Casati C. et al.*

*Adaptive diagnosis of coeliac disease. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2015*  
*Korponay-Szabó IR, Troncone R, Discepolo V.*

Při prokázané IgA deficiency je doporučen  
atTG - IgG test nebo **IgG - DGP** test

*Management of celiac disease: from evidence to clinical practice*  
*Italian J. Medicine 2017;11: 345-359. Attardo TM, Magnani E, Casati C. et al.*

*Coeliac disease: recognition, assessment and management, NICE guideline*  
*Published: 2 September 2015 - nice.org.uk/guidance/ng20*



# ALGORITMY PRO SCREENING - DIAGNOSTIKU CELIAKIE

## PROTILÁTKY K ENDOMYSIU - EMA

Primárním testem mohou být místo atTG - IgA  
protilátky k endomysiu **EmA - IgA** (volba podle laboratoře)

*A Summary from the NASPGHAN, WGO and ACG Guidelines  
Canadian Celiac Association Professional Advisory Council, 25 May 2016*

Při prokázané IgA deficienci je doporučen  
**EmA - IgG** nebo atTG - IgG test nebo IgG - DGP test

*Guideline for the diagnosis and management of coeliac disease Coeliac Working  
Group of BSPGHAN (based on NASPGHAN Celiac Guideline of 2005)  
incorporate ESPGHAN 2012 diagnostic guideline, BSG website [www.bsg.org.uk](http://www.bsg.org.uk)*

*Coeliac disease: recognition, assessment and management, NICE guideline  
Published: 2 September 2015 - [nice.org.uk/guidance/ng20](http://nice.org.uk/guidance/ng20)*





# ALGORITMY PRO SCREENING - DIAGNOSTIKU CELIAKIE

## PROTILÁTKY K ENDOMYSIU - EMA

Protilátky k endomysiu **EmA - IgA**  
jsou indikovány jako sekundární, konfirmační test

*Diagnosis and Management of Adult Coeliac Disease, 2015; Irish College of General Practitioners, Russell A, Shanahan E, Quigley E. [QRGfeedback@icgp.ie](mailto:QRGfeedback@icgp.ie)*

*AGA Clinical Practice Update on Diagnosis and Monitoring of Celiac Disease Gastroenterology 2019, Husby S, Murray JA, Katzka DA.*

*Guideline for the diagnosis and management of coeliac disease Coeliac Working Group of BSPGHAN (based on NASPGHAN Celiac Guideline of 2005) incorporate ESPGHAN 2012 diagnostic guideline, BSG website [www.bsg.org.uk](http://www.bsg.org.uk)*

## POCT TESTY - SCREENING CELIAKIE

**RYCHLÉ, RAPID TESTY  
Z PLNÉ KRVE  
POCT ANALÝZA**



**anti-tTG (IgA & IgG)**



**anti-DGP (IgA & IgG) + celkové IgA**

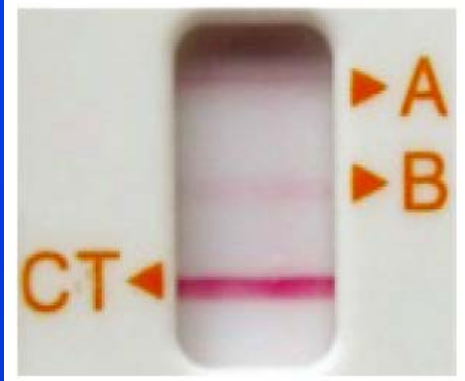


**anti-tTG (IgA) + celkové IgA**



**anti-tTG (IgA, IgG, IgM)**

## POCT TESTY - SCREENING CELIAKIE



*Fingertip rapid point-of-care test in adult case-finding in coeliac disease. Popp A., Jinga M., Jurcut C., Balaban V., Bardas C., Laurila K., Vasilescu F., Ene A., Anca I., Mäki M. BMC Gastroenterology 2013, 13:115*

*Diagnostic accuracy of a new point-of-care screening assay for celiac disease, Benkebil F., Combescure C., Anghel SI., Duvanel CB., Schäppi MG. World J Gastroenterol 2013; 19(31): 5111-5117*

*Evaluation of a DGP point-of-care test for celiac disease in a pediatric population. Marti CO., Fellay B., Bürgin-Wolff A., Magnin JL., Baehler P. International Journal of Celiac Disease, 2015, 3/1*





## POCT TESTY - SCREENING CELIAKIE

Test	Senz.%	Spec.%	PPV %	NPV %
Serum tTG	98.3	34.8	79.5	88.9
Biocard	72.9	65.2	84.3	48.4
Celiac Quick Test	71.2	52.2	79.2	41.4
Simtomax	96.6	30.4	78.1	77.8

*Mooney P, Burden M, Wong S. et al.: Comparison of three commercially available point of care tests for coeliac disease. 16th Inter.Coeliac Disease Symposium, Prague 2015, PO-025*

**Meta analýza v roce 2018 prokazuje  
sdruženou citlivost POCT testů 94.0% (89.9-96.5%)  
a specificitu 94.4% (90.9-96.5%)**

*Singh P, Arora A, Strand TA. et al.: Diagnostic Accuracy of Point of Care Tests for Diagnosing Celiac Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Clin Gastroenterol. 2018 Jun 16. [Epub]*



## DOPORUČENÍ PRO PRAKTICKÉ LÉKAŘE - AUSTRÁLIE

2018

- Pozitivní výsledek serologie, je-li posuzován izolovaně, je nedostatečný pro diagnózu celiakie.
- Čím vyšší je titr sérologie, tím je vyšší pozitivní prediktivní hodnota pro celiakii.
- Falešná negativita serologických testů je 10-15%. Nutná je kontrola, zda pacient není na GFD nebo neužívá imunosupresiva.
- Normální hodnoty atTG se u liší mezi výrobci a neexistuje žádný mezinárodní standard. Srovnání titrů není možné, pokud atTG stanovují různé laboratoře.
- U pacientů s rizikovými faktory celiakie vykazuje negativní sérologie nízkou prediktivní hodnotu, takže další podrobné vyšetření je vyžadováno.
- POCT serologické testy zaměřené na celiakie nebyly dostatečně validovány v primární péči.



## MONITOROVÁNÍ CELIAKIE - FOLLOW UP

- Serologické markery celiakie se běžně používají pro dlouhodobé sledování nemocných s celiakií resp. ke kontrole dodržování bezlepkové diety.
- Signifikantní pokles IgA-atTG při dodržování bezlepkové diety je prokázán po 26 týdnech.
- Metaanalýza porovnávající spolehlivost IgA-atTG a IgA-EMA u pacientů na GFD prokazuje relativně vysokou specificitu pro slizniční atrofii (IgA-atTG: 0,83; IgA-EMA: 0,91), ale nízkou citlivost (IgA-atTG: 0,50; IgA-EMA: 0,45).
- Sérové hladiny I-FABP se snižují poměrně rychle a snížení I-FABP je rychlejší než pokles IgA-atTG, u dětí se hladiny I-FABP normalizovaly během šesti týdnů po zahájení GFD.
- Omezení tradičních metod monitorování GFD u pacientů s celiakií by mohl být řešen detekcí 33-mer gliadinových peptidů ve stolici nebo v moči.





## MONITOROVÁNÍ CELIAKIE - FOLLOW UP

Porovnání GFD léčených celiakii  
bez atrofie (n = 85) proti přetrvávající atrofii (n = 81),  
doba trvání GFD (2,8 x 3,5 roku),  
atTG pozitivita (7 x 27), DGP pozitivita (9 x 48)

Test	Senzitivita	Specifická	Přesnost
aTG-DGP	84 (74-90)	95 (88-98)	90 (84-94)
tTG-IgA	27 (19-38)	93 (85-97)	61 (53-68)
DGP-IgA	48 (39-59)	91 (83-95)	70 (63-76)

*Choung RS, Khaleghi Rostamkolaei S, Ju JM. et al.: Synthetic Neopeptides of the Transglutaminase-Deamidated Gliadin Complex as Biomarkers for Diagnosing and Monitoring Celiac Disease. Gastroenterology. 2019;156(3) :582 - 591*



## TAKE HOME MESSAGE

- ✓ **Protilátky atTG - IgA jsou primárním testem** ve všech algoritmech a většina algoritmů doporučuje současně test celkové IgA. Variantou může být IgG atTG nebo DGP test, indikované také při prokázané IgA deficiency.
- ✓ **Protilátky k endomysiu EmA - IgA** jsou indikovány jako sekundární, konfirmační test.
- ✓ **Normální hodnoty atTG i DGP testů se u liší mezi výrobci**, neexistuje žádný mezinárodní standard, srovnání titrů není možné, pokud testy stanovují různé laboratoře.
- ✓ **Hladiny protilátek klesají při GFD** během měsíců, vyšší senzitivitu než atTG vykazuje DGP, pokles I-FABP je výrazně rychlejší, během 6 týdnů. Nejnovějším markerem je detekce rezistentního Gli-33meru ve stolici nebo v moči.



**DĚKUJI VÁM ZA POZORNOST**