



L'aderenza alla dieta priva di glutine: validazione prospettica del "Questionario di Pavia"

Davide Balduzzi¹, Sandro Sferrazza¹, Catherine Klersy²,
Federico Biagi¹, Gino Roberto Corazza

¹Clinica Medica I, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, e ²Unità di Biometria ed Epidemiologia Clinica, Direzione Scientifica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

L'aderenza alla dieta priva di glutine: validazione prospettica del "Questionario di Pavia"

L'attuale *gold standard* per valutare se un paziente affetto da malattia celiaca segua una rigorosa dieta priva di glutine è rappresentato da un'intervista dietologica effettuata da personale esperto. Questo è però un metodo non standardizzato e inevitabilmente soggettivo. Per cercare una soluzione a tale problema abbiamo sviluppato un questionario basato su quattro domande, veloci e semplici, che può essere somministrato anche da personale non esperto. Questo permette di ottenere un risultato numerico (da 0 a 4) e può essere proposto in meno di un minuto. Da marzo 2008 a settembre 2010 lo abbiamo somministrato a 120 pazienti celiaci adulti (85 femmine, età media 35±15 anni) in dieta priva di glutine (mediana 25 mesi; 25°-75° percentile 15-63, range 11-254) al momento della loro prima rivalutazione clinica. Per evitare ogni possibile condizionamento, il questionario è stato somministrato prima che le indagini clinico strumentali venissero effettuate. Il punteggio ottenuto è stato poi comparato alla persistenza sia dell'atrofia dei villi che degli anticorpi anti-endomisio. I risultati ci hanno mostrato che pazienti con persistente atrofia dei villi e positività agli anticorpi anti-endomisio erano soprattutto quelli con avevano ottenuto un punteggio più basso al nostro questionario. Questi risultati ci hanno permesso di affermare quindi che il nostro questionario è un metodo semplice ed attendibile per verificare la *compliance* alla dieta priva di glutine.

The gluten-free diet adherence: prospective validation of the "Survey of Pavia"

A dietary interview performed by expert personnel is the current gold standard to check whether patients with coeliac disease follow a strict gluten-free diet. However, a straightforward and objective method to perform such a dietary interview is currently lacking. We previously developed a questionnaire based on four fast and simple questions, that can be administered even by non expert personnel. The questionnaire results on five level score (0 to 4). From March 2008 to September 2010, the questionnaire was administered to 120 adult patients (85 females, mean age 35±15 yrs) on a gluten free diet (median 25 months, 25th-75th percentile 15-63, range 11-254), who were undergoing their first routine clinical re-evaluation. To avoid any influence, both on patient and doctor, the questionnaire was administered by an operator, who was not aware of the results of the clinical re-evaluation. The score obtained was compared with persistence of both villous atrophy and endomysial antibodies tested on monkey oesophagus. The questionnaire was fulfilled in less than one minute. The results show that patients scoring the lowest results were more frequent among the patients with persistence of villous atrophy and

endomysial antibodies. A patient scoring 0 died because of refractory coeliac disease. So we can sustain that our questionnaire is than a reliable and simple method to verify compliance to a gluten free diet.

Introduzione

Sebbene la dieta priva di glutine (DPG) sia di estrema importanza per i pazienti affetti da malattia celiaca (MC) [1,2], è noto che non tutti i pazienti riescono ad attenersi in modo adeguato. Secondo alcune casistiche addirittura il 30-40% di essi non segue una rigorosa DPG [3]. Se questo è comprensibile per alcune categorie, quali bambini e adolescenti [4-5], bisogna sottolineare che anche i pazienti adulti più attenti possono essere messi in difficoltà dall'iniziale confusione generata da un nuovo tipo di alimentazione, soprattutto se vengono loro fornite informazioni carenti [3]. Bisogna inoltre considerare che il mantenimento di una rigorosa DPG è reso difficile non solo dalla scarsa conoscenza del problema da parte di cuochi ed altri operatori del settore ristorativo [6], ma anche dal fatto che il glutine può essere presente in alimenti confezionati considerati privi di glutine [7-8]. Sulla base di queste osservazioni Collin e coll. ritengono che una DPG assoluta e completa sia in pratica impossibile da ottenere [8].

I metodi proposti in letteratura per verificare la compliance alla DPG sono numerosi [9]. Tuttavia, l'impossibilità di conoscere esattamente cosa una persona mangia e, soprattutto quanto ne mangia, complica inevitabilmente tale valutazione [3]. L'attuale *gold standard* è una raccolta di dati da parte del paziente che viene poi discussa nell'ambito di un'intervista dietetica, alla fine della quale il medico o il dietologo esperto esprimono un giudizio soggettivo sull'aderenza del paziente alla DPG [9]. Tale raccolta di dati può avere la forma o di un diario dietetico (DD) o di un questionario alimentare (QA) [10]. Il DD consiste nella registrazione giornaliera da parte del paziente di tutti i cibi e le bevande che consuma in un lasso di tempo stabilito. Il QA, invece, valuta a posteriori quante volte un determinato alimento è stato consumato nell'arco di tempo stabilito, indipendentemente dalle quantità.

Analizzando tredici articoli in cui questi sistemi di valutazione dietetica sono stati applicati in pazienti affetti da MC, abbiamo però osservato come manchi completamente una standardizzazione del metodo [4-6, 10-19]. I dati sono stati infatti raccolti in almeno otto modalità diverse e solo due di questi articoli riportano le domande poste al paziente [10-11]. Il DD e il QA soffrono poi di numerosi limiti: per il paziente non è facile tenere un diario alimentare e può farlo solo per qualche giorno, cosa di scarsa utilità nell'ambito di una patologia che richiede di seguire una dieta per tutta la vita; il paziente è portato ad essere più attento e quindi meno spontaneo nella propria alimentazione nei giorni in cui tiene il diario; il diario mira a valutare la frequenza di ingestione di glutine senza poterne dare una valutazione quantitativa, a meno di non far pesare gli alimenti assunti - procedura difficilmente praticabile e poco rispondente alla dieta abituale. Infine sia il DD che il QA necessitano dell'analisi da parte di personale esperto e con lo stesso *background* culinario del paziente. Pertanto, questi potrà sì formulare un giudizio attendibile sull'aderenza alla DPG del paziente, ma tale giudizio sarà inevitabilmente soggettivo e non confrontabile tra diversi centri.

Un altro problema che ostacola la valutazione di come un paziente segue la DPG è rappresentato dalla possibilità che il cibo sia stato contaminato da glutine. Il problema della contaminazione con glutine di cibi che ne sono apparentemente privi ha portato all'esecuzione di una serie di studi volti a capire quale sia la minima quantità di glutine in grado di provocare un danno della mucosa intestinale [8, 20-24]. Recentemente, uno studio italiano ha dimostrato che l'ingestione di 50 mg al giorno di glutine per 90 giorni è in grado di esercitare un effetto tossico sulla mucosa intestinale dei pazienti affetti da MC [24]. Sebbene questo risultato possa sembrare allarmante, se lo traduciamo in termini di quantità di alimenti consumati normalmente, si osserva che 50 mg di glutine sono contenuti in un pezzo di pane o pasta di dimensioni tali che noi riteniamo non possa essere ingerito per errore da una persona coscien-

ziosa e attenta alla propria salute (Campioni A, B, C e D in Figura 1). Viceversa, la quantità di glutine presente in una briciola di pane di dimensioni tali da poter essere ingerita per errore (Campione E in Figura 1) è 20 volte minore di quei 10 mg di glutine che, verosimilmente, non sono tossici [25].

Inoltre, se consideriamo il limite di 20 ppm richiesto da numerose associazioni di pazienti celiaci [27,28], cioè 20 mg di glutine/kg di prodotto, ne deriva che, per avere un danno istologico, il paziente celiaco dovrebbe consumare 2.5 Kg di prodotto contaminato tutti i giorni per 90 giorni. Tale quantità è chiaramente impossibile da ingerire inavvertitamente. Anche se consideriamo il limite di 100 ppm considerato sicuro da Collin e coll. [8], per arrivare alla dose tossica il paziente celiaco dovrebbe consumare 500 g di prodotto contaminato al giorno per 90 giorni. Ci sembra ragionevole ritenere improbabile un errore involontario di questo tipo. Inoltre, è stata recentemente emanata dall'Unione Europea una direttiva che regola l'etichettatura degli alimenti [27, 29]: tale direttiva, simile ad analoghe in vigore in Australia e negli Stati Uniti [30,31], stabilisce l'obbligo di indicare in tutti i prodotti confezionati la presenza di glutine, indipendentemente dalla quantità. Anche se l'applicazione di tale direttiva potrebbe comportare nuove difficoltà organizzative per i pazienti affetti da MC, i quali potrebbero dover evitare il consumo anche di prodotti confezionati sicuri (in quanto contengono sì glutine ma al di sotto della soglia di 20 ppm), rappresenta un'ulteriore innegabile tutela per la salute dei celiaci.

Sulla base di queste evidenze, riteniamo che l'ingestione involontaria di glutine in un paziente attento alla DPG ed alla propria salute sia minima e non possa arrecare rischi significativi.

Sulla base di tali considerazioni abbiamo realizzato un questionario basato sulla valutazione non della quantità di glutine ingerita ma sulle strategie che il paziente mette in atto per evitarne l'ingestione involontaria [32].

Il "questionario di Pavia" (Tabella 1) è un questionario semplice, basato su poche domande, eseguibile in pochi minuti anche da personale non esperto e che fornisce un risultato numerico, in maniera tale da monitorare la rigorosità della DPG nel tempo e di poterla confrontare tra diversi gruppi di pazienti, indipendentemente dalla nazionalità. Il questionario è stato elaborato, sotto forma di algoritmo, sulla base della nostra esperienza clinica; tuttavia, l'importanza dei punti da noi indagati è stata sottolineata anche da altri Autori [33].

Il questionario fornisce un risultato finale in cinque livelli (0-IV), che da un punto di vista clinico possono essere raggruppati in tre: a) i pazienti con *score* 0 o I sono soggetti che non seguono una DPG adeguata; b) i pazienti con *score* II seguono invece la DPG ma con importanti errori che devono essere corretti; c) i pazienti con *score* III-IV, invece, seguono una DPG rigorosa.

La capacità del "questionario di Pavia" di valutare l'aderenza alla DPG è già stata verificata mediante uno studio longitudinale retrospettivo condotto su 168 pazienti celiaci (126 femmine, età media 42.4 ± 12.9 anni) nei quali la persistenza di atrofia dei villi e degli anticorpi antiendomizio (EMA) positivi al momento della biopsia duodenale di controllo è stata confrontata con lo *score* ottenuto.

I risultati di questo studio sono stati estremamente incoraggianti. La correlazione tra lo *score* e i parametri considerati per ciascun paziente è riportata nella Tabella 2. La persistenza della positività degli EMA, della atrofia della mucosa duodenale in DPG e la presenza di complicanze sono state tutte associate con lo *score* (*Fisher exact test* <0.01); inoltre, abbiamo dimostrato che a *score* più bassi corrispondevano più frequentemente la persistenza di EMA positivi e di atrofia mucosale.

Tale studio ha mostrato, tuttavia, anche dei limiti. Innanzitutto, si tratta di uno studio con una numerosità campionaria relativamente piccola. Inoltre, è uno studio di tipo longitudinale retrospettivo che, sebbene effettuato in modo esaustivo ed in cieco, ha come suo principale punto di debolezza il tempo trascorso tra l'esecuzione delle indagini biotiche e sierologiche di controllo e l'acquisizione dello *score* (mediana 53 mesi, 25°-75° percentile 29-72 mesi). Si aggiunge anche il limite legato al fatto che i pazienti a cui è stato proposto il questionario erano stati ovviamente informati del risultato della biopsia duodenale e degli EMA ottenuti al momento della rivalutazione clinica. Questo può aver introdotto un *bias* di informazione: i pazienti con persistenza di atrofia o EMA positivi sono sicuramente stati

richiamati circa la *compliance* alla dieta ed è pertanto possibile che abbiano avuto più probabilità di riconoscere eventuali errori riportandoli poi nel nostro score. Lo *score* stesso ha poi dei limiti intrinseci, quali la necessità che il paziente sia stato adeguatamente istruito da un dietologo esperto su cosa significhi una DPG ed il fatto, non sempre scontato, che il paziente sia sincero. Nonostante ciò, abbiamo ritenuto che i nostri risultati fossero comunque soddisfacenti e che ponessero le basi per una validazione longitudinale prospettica. È proprio scopo del presente lavoro la validazione prospettica del “questionario di Pavia”.

Pazienti e metodi

Il nostro studio è stato condotto in modo longitudinale prospettico su pazienti che si sono presentati consecutivamente al nostro ed agli altri centri di riferimento per MC da Marzo 2008 a Settembre 2010 per esecuzione di biopsia duodenale e ricerca degli EMA dopo un adeguato periodo di DPG. Nel nostro Centro, infatti, siamo soliti consigliare ai pazienti celiaci un controllo clinico-strumentale ad almeno un anno dall’inizio della DPG comprendente la riesecuzione di un pannello bioumorale completo, degli EMA e delle biopsie duodenali per endoscopiche. In tale modo, possiamo valutare l’effetto della DPG non soltanto nei pazienti sintomatici, con un miglioramento clinico in DPG, ma anche dei molti pazienti asintomatici alla diagnosi.

La diagnosi iniziale di MC doveva rispondere ai seguenti criteri: diagnosi basata su evidenze di atrofia alla biopsia duodenale ed EMA/anticorpi antitransglutaminasi (TTA) positivi. I pazienti celiaci con lesioni intestinali minime non sono stati presi in considerazione così come i pazienti che si presentavano alla prima valutazione come sospetti per malattia celiaca refrattaria. Per i limiti intrinseci del questionario, sono anche stati esclusi quei pazienti affetti da gravi patologie neuro-psichiatriche che li rendevano non autonomi o non attendibili nelle risposte.

Abbiamo così individuato 120 pazienti adulti (85 femmine, età media 35 ± 15 anni) in DPG (mediana 25 mesi; 25°-75° percentile 15-63, *range* 11-254). Per essere assolutamente in cieco il questionario è stato somministrato prima dell’esecuzione degli esami strumentali di rivalutazione (biopsie duodenali ed EMA).

Come già detto precedentemente il “questionario di Pavia” permette di ottenere una valutazione della *compliance* del paziente alla DPG catalogando questa in uno tra 5 livelli (da 0 a 4) (Tabella 1). Lo *score* ottenuto è stato poi confrontato sia con la persistenza dell’atrofia dei villi all’esame istologico delle biopsie duodenali, sia con quella degli EMA testati su esofago di scimmia.

Il protocollo di questo studio è stato sottoposto alla valutazione ed approvato dal Comitato Etico della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia. Il consenso dei pazienti partecipanti allo studio è stato acquisito per iscritto, dopo aver loro fornito le informazioni necessarie sia direttamente che mediante apposita documentazione.

I dati sono stati descritti come mediana e 25°-75° percentile o media \pm deviazione standard (DS) se continui e come unità discrete e percentuali se categorici. L’associazione tra lo *score* e le caratteristiche dei pazienti è stata calcolata tramite il Fisher’s exact test e il test per la *trend*. Per i calcoli è stato usato Stata 10 (StataCorp, College Station, TX, USA). Tutti i test erano a due code. Un *p-value* < 0.05 è stato considerato statisticamente significativo.

Basandoci sui risultati da noi ottenuti nello studio retrospettivo e considerando che in questo studio il rapporto tra i pazienti senza atrofia e quelli con atrofia è di 25:1, abbiamo calcolato che sarà necessaria una numerosità campionaria totale di 333 pazienti (attesi 13 con atrofia e 320 senza atrofia). Questa numerosità permetterà di evidenziare una differenza significativa al 1.7% tra una proporzione di *score* elevato (3 e 4) pari a 83.6% nel gruppo senza atrofia e pari a 33.3% nel gruppo con atrofia, con una potenza del 90% (test di Fisher) che ad oggi non abbiamo ancora soddisfatto.

Risultati

Il questionario è stato somministrato in meno di un minuto.

L'associazione tra lo score ed i parametri considerati per ciascun paziente è stata riportata nella tabella 3. La tabella mostra che i pazienti con uno score più basso sono più frequentemente quelli con persistenza di atrofia dei villi (test esatto di Fisher, $p < 0.001$, test per il trend, $p < 0.001$). I pazienti con uno score più basso sono anche più frequentemente quelli con persistenza di EMA positivi (test esatto di Fisher, $p = 0.005$, test per trend, $p = 0.024$).

Segnaliamo infine l'avvenuto decesso di un solo paziente durante lo svolgimento dello studio per il quale si era calcolato uno score 0. Tale decesso è avvenuto a causa di un quadro di grave malnutrizione globale complicante la malattia celiaca stessa.

Discussione

Questo lavoro rappresenta il primo studio prospettico per la validazione del "questionario di Pavia" che, come esposto in precedenza, abbiamo già studiato in maniera retrospettiva [32]. Lo studio retrospettivo ha mostrato, come già precisato, alcuni limiti ai quali abbiamo voluto ovviare con il lavoro oggetto della tesi presente. In particolare, il principale punto di debolezza riguardava il tempo trascorso tra l'esecuzione delle indagini biotiche e sierologiche di controllo e l'acquisizione dello score (mediana 53 mesi, 25°-75° percentile 29-72). Questo *bias* è stato totalmente superato dallo studio prospettico, in cui valutazione strumentale e somministrazione del questionario venivano effettuate sostanzialmente in contemporanea. Inoltre, in questo caso è stato possibile effettuare l'acquisizione dei dati sempre mediante somministrazione diretta del questionario al paziente, anziché attraverso raccolta da terze persone o da annotazioni cliniche.

Con questo lavoro riteniamo di essere riusciti ad ottenere un sistema standardizzato che valuta l'aderenza alla DPG dei pazienti affetti da MC mediante uno score numerico estremamente rapido e semplice da ottenere, anche da parte di personale senza un'esperienza specifica. Il risultato numerico permette inoltre di monitorare la compliance del paziente alla DPG nel tempo e di effettuare confronti tra gruppi di pazienti anche di diverse nazionalità e cultura. Ciò è possibile soprattutto grazie al fatto che il nostro score non si basa sulla valutazione di cosa il paziente mangia, ma delle strategie che il paziente mette in atto per evitare l'ingestione del glutine, indipendentemente dagli alimenti consumati. Per la sua validazione, il questionario è stato confrontato sia con la risposta istologica, il metodo più valido, sia con la risposta sierologica, il metodo più utilizzato per valutare la *compliance* alla DPG [34]. Non è stato possibile fare un confronto anche con la sopravvivenza dato che, fortunatamente, abbiamo registrato un solo decesso allo stato attuale dello studio prospettico. Appare opportuno però riportare che tale decesso ha riguardato un paziente con valore delle *score* da noi calcolato pari a zero. L'aver dimostrato che il nostro *score* correla in modo statisticamente significativo con questi parametri indipendenti tra loro (risposta istologica e risposta sierologica) e che la persistenza di EMA positivi e di atrofia mucosale sono associate a score bassi ci ha convinto che esso sia effettivamente in grado di misurare l'aderenza alla DPG.

Nella validazione dello *score* non abbiamo potuto, ovviamente, effettuare un confronto con un'intervista dietetica classica in quanto ciò avrebbe inserito un *bias* (togliendo almeno il paziente dalla condizione di cieco rispetto ad una delle due metodiche di indagine). Inoltre, nel progettare questo studio, abbiamo pensato se confrontare lo score anche con la risposta clinica alla DPG. Dato che però il 43% dei pazienti partecipanti al nostro studio presentava alla diagnosi un quadro clinico atipico o silente, e

dato che abbiamo recentemente descritto il caso di una donna in cui l'assunzione di una *low-gluten containing diet* è stata seguita da una risposta clinica e sierologia completa ma da una mancata risposta istologica [35], riteniamo che il confronto con la risposta clinica sia un parametro molto difficile da misurare e abbiamo quindi preferito non prenderlo in considerazione come già fatto nello studio retrospettivo.

Lo *score* stesso mantiene, comunque, dei limiti intrinseci, quali la necessità che il paziente sia stato adeguatamente istruito da un dietologo esperto su cosa significhi una DPG, che sia in grado di rispondere in maniera coerente ed autonoma alle domande, così come che sia autonomo nella gestione della propria alimentazione ed il fatto, non sempre scontato, che il paziente voglia essere sincero con il medico.

Visti i risultati dell'analisi del campione la tesi presente riporta i risultati preliminari di tale lavoro che continueremo a seguire in futuro per soddisfare la potenza calcolata. Tuttavia, mettiamo in evidenza che i risultati ottenuti finora mostrano una prevalenza di persistenza di atrofia dei villi in DPG molto maggiore rispetto a quella attesa (15 su 120 pazienti). Ciò permetterà, probabilmente, di ridimensionare la numerosità necessaria.

Tabelle e figure

Tabella 1. Il "questionario di Pavia".

Domande	Risposte		Score	
1. <i>Mangi glutine volontariamente?</i>	Sì	Una porzione normale	0	
		Solo un assaggio	Spesso	0
			Raramente	I
	No	Vai alla domanda 2		
2. <i>Quando mangi fuori casa, informi chi cucina della tua malattia?</i>	No		II	
	Sì		Vai alla domanda 3	
3. <i>Controlli le etichette dei prodotti confezionati?</i>	No		II	
	Sì		Vai alla domanda 4	
4. <i>Mangi solo prodotti confezionati garantiti dalla Associazione Italiana Celiachia?</i>	No		III	
	Sì		IV	

Tabella 2. Studio retrospettivo. Relazione dello *score* con la persistenza della positività degli EMA e dell'atrofia dei villi durante DPG [32].

PARAMETRI	N (%)	SCORE			Fisher exact test p-value	Test per il trend p-value
		0-I	II	III-IV		
<i>EMA^{pos} in DPG</i>	48 (30%)	12 (63%)	5 (36%)	31 (24%)	0.001	0.001
<i>Atrofia dei villi in DPG</i>	15 (9%)	9 (47%)	1 (6%)	5 (4%)	0.001	0.001

Tabella 3. Studio prospettico Relazione dello score con la persistenza della positività degli EMA e dell'atrofia dei villi durante DPG.

PARAMETRI	N (%)	SCORE			Fisher exact test p-value	Test per il trend p-value
		0-I	II	III-IV		
EMA ^{pos} in DPG	35 (29%)	10/16 (63%)	0/5 (0%)	25/99 (25%)	0.005	0.024
Atrofia dei villi in DPG	15 (13%)	9/16 (56%)	1/5 (20%)	5/99 (5%)	0.001	0.001

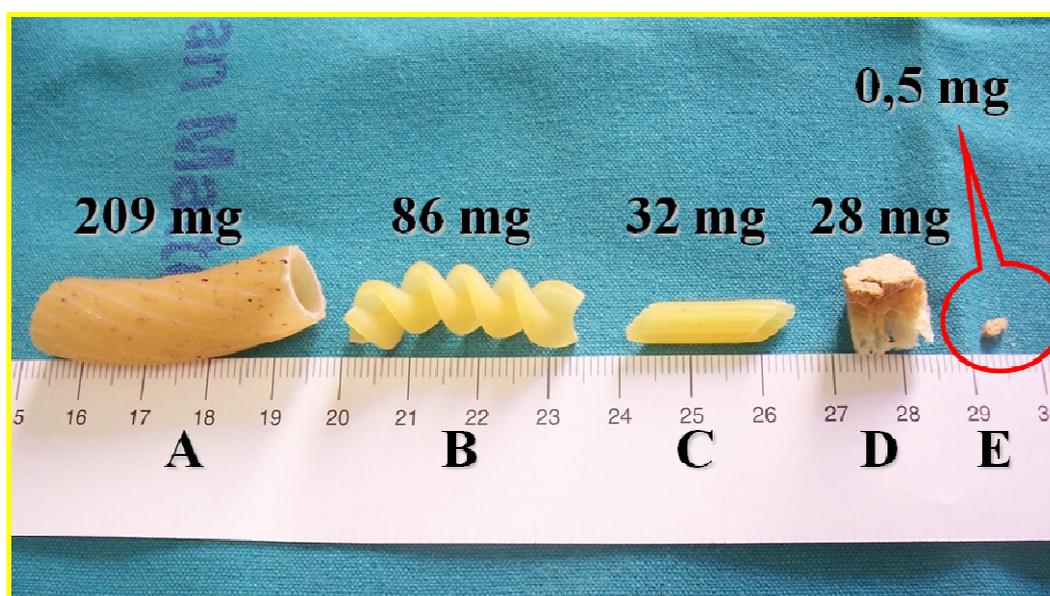


Figura 1. Diversi alimenti comunemente consumati e quantità di glutine presente in essi calcolata in base al loro peso e alla loro quantità di proteine contenute, indicate sulle etichette dai produttori. Il glutine infatti rappresenta il 75% delle proteine del grano [26]. Nel caso dei Campioni A, B, C e D è difficile considerare un'ingestione involontaria. Viceversa il campione E ha una dimensione tale da poter essere ingerita per errore, ma contiene una quantità di glutine 20 volte minore di quei 10 mg di glutine che, verosimilmente, non sono tossici.

Bibliografia

1. Biagi F, Corazza GR. Clinical features of coeliac disease. *Dig Liv Dis* 2002;34:225-228.
2. Corrao G, Corazza GR, Bagnardi V, et al. Mortality in patients with coeliac disease and their relatives: a cohort study. *Lancet* 2001;358:356-361.
3. Case S. The gluten-free diet: how to provide effective education and resources. *Gastroenterology* 2005;128:S128-134.
4. Mayer M, Greco L, Troncione R, et al. Compliance of adolescents with coeliac disease with a gluten free diet. *Gut* 1991;32:881-885.
5. Rashid M, Cranney A, Zarkadas M, et al. Celiac disease: evaluation of the diagnosis and dietary compliance in Canadian children. *Pediatrics* 2005;116:e754-759.
6. Karajeh MA, Hurlstone DP, Patel TM, et al. Chefs' knowledge of coeliac disease (compared to the public): a questionnaire survey from the United Kingdom. *Clin Nutr* 2005;24:206-210.
7. Ciacci C, Mazzacca G. Unintentional gluten ingestion in celiac patients. *Gastroenterology* 1998;115:243.
8. Collin P, Thorell L, Kaukinen K, et al. The safe threshold for gluten contamination in gluten-free products. Can trace amounts be accepted in the treatment of coeliac disease? *Aliment Pharmacol Ther* 2004;19:1277-1283.

9. Pietzak MM. Follow-up of patients with celiac disease: achieving compliance with treatment. *Gastroenterology* 2005;128:S135-141.
10. Hopman EG, Kiefte-de Jong JC, le Cessie S, et al. Food questionnaire for assessment of infant gluten consumption. *Clin Nutr* 2007;26:264-271.
11. Baker PG, Barry RE, Read AE. Detection of continuing gluten ingestion in treated coeliac patients. *Br Med J* 1975;1:486-488.
12. Faulkner-Hogg KB, Selby WS, Loblay RH. Dietary analysis in symptomatic patients with coeliac disease on a gluten-free diet: the role of trace amounts of gluten and non-gluten food intolerances. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:784-789.
13. Bardella MT, Fredella C, Prampolini L, et al. Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. *Am J Clin Nutr* 2000;72:937-939.
14. van Overbeek FM, Uil-Dieterman IG, Mol IW, et al. The daily gluten intake in relatives of patients with coeliac disease compared with that of the general Dutch population. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997;9:1097-1099.
15. Sollid LM, Khosla C. Future therapeutic options for celiac disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005;2:140-147.
16. Greco L, Mayer M, Ciccarelli G, et al. Compliance to a gluten-free diet in adolescents, or "what do 300 coeliac adolescents eat every day?". *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1997;29:305-310.
17. <http://www.coeliac.co.uk>
18. Mustalahti K, Lohiniemi S, Collin P, et al. Gluten-free diet and quality of life in patients with screen-detected celiac disease. *Eff Clin Pract* 2002;5:105-113.
19. Shewry PR, Halford NG, Belton PS, et al. The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2002;357:133-142.
20. Catassi C, Rossini M, Rättsch IM, et al. Dose dependent effects of protracted ingestion of small amounts of gliadin in coeliac disease children: a clinical and jejunal morphometric study. *Gut* 1993;34:1515-1519.
21. Jansson UH, Guðjónsdóttir AH, Ryd W, et al. Two different doses of gluten show a dose-dependent response of enteropathy but not of serological markers during gluten challenge in children with coeliac disease. *Acta Paediatr* 2001;90:255-259.
22. Mothes T, Stern M. How gluten-free is gluten-free, and what does this mean to coeliac patients?. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:461-463.
23. Hischenhuber C, Crevel R, Jarry B, et al. Review article: safe amounts of gluten for patients with wheat allergy or coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:559-575.
24. Catassi C, Fabiani E, Iacono G, et al. A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *Am J Clin Nutr* 2007;85:160-166.
25. Akobeng AK, Thomas AG. Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 27;1044-1052.
26. Biagi F, Corazza GR. Tissue transglutaminase antibodies: is sensitivity more important than specificity?. *Dig Liver Dis* 2001;33:401-402.
27. Gibert A, Espadaler M, Angel Canela M, et al. Consumption of gluten-free products: should the threshold value for trace amounts of gluten be at 20, 100 or 200 p.p.m.? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18:1187-1195.
28. <http://www.celiachia.it>
29. The European Parliament and the Council of the European Union; for the European Parliament, the president P. Cox; for the Council, the president A. Marzano. Directive 2003/89 EC of the European Parliament and of the Council of 10 November 2003 amending Directive 2000/13/EC as regards indication of the ingredients present in foodstuffs. *Official J Eur Union* L308:15-18.
30. <http://www.csaceliacs.org>
31. <http://www.wa.coeliacsociety.com.au>
32. Biagi F, Andrealli A, Bianchi PI, et al. A gluten-free diet score to evaluate dietary compliance in patients with coeliac disease. *Br J Nutr* 2009;102:882-887.
33. See J, Murray JA. Gluten-free diet: the medical and nutrition management of celiac disease. *Nutr Clin Pract* 2006;21:1-15.
34. Ellis HJ, Rosen-Bronson S, O'Reilley, et al. Measurement of gluten using a monoclonal antibody to a coeliac toxic peptide of A gliadin. *Gut* 1998;43:190-195.
35. Hill ID. What are the sensitivity and specificity of serologic tests for celiac disease? Do sensitivity and specificity vary in different populations? *Gastroenterology* 2005;128:S25-32.