

Capítulo 8

Utilidad de la serología en el cribado, diagnóstico y seguimiento de los pacientes con enfermedad celíaca

Carme Farré

Hospital Universitario Sant Joan de Déu

farre@hsjdbcn.org

Doi: <http://www.dx.doi.org/10.3926/oms.21>

Referenciar este capítulo

Farré C. *Utilidad de la serología en el cribado, diagnóstico y seguimiento de los pacientes con enfermedad celíaca*. En Rodrigo L y Peña AS, editores. *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca*. Barcelona, España: OmniaScience; 2013. p. 151-170.

Resumen

Los marcadores serológicos son fundamentales en el engranaje diagnóstico de la enfermedad celíaca. Se pueden detectar a cualquier edad bajo formas clínicas diversas en individuos genéticamente susceptibles que consumen gluten.

Los anticuerpos anti-transglutaminasa tisular de clase IgA son los marcadores recomendados para la detección serológica de la enfermedad, representando la forma cuantitativa y automatizada de los clásicos anticuerpos antiendomiso determinados por inmunofluorescencia indirecta. Los anticuerpos anti-péptido-deaminados de gliadina mejoran la especificidad de los desaconsejados anticuerpos antigliadina, sin alcanzar la eficacia diagnóstica de los anticuerpos antitransglutaminasa.

Los anticuerpos antitransglutaminasa se deben determinar en pacientes con sospecha clínica, en grupos de riesgo y en pacientes con enfermedades asociadas a la EC.

El laboratorio debe garantizar: 1.- La participación en programas de control de calidad. 2.- El uso de valores de referencia adecuados. 3.- Resultados cuantitativos que faciliten el seguimiento serológico de la dieta sin gluten. 4.- La transferibilidad con resultados de otros tests comerciales, dada la inexistencia de un patrón de calibración.

La elección de un test comercial debe tener en consideración: La naturaleza del antígeno/s, el tipo de calibración, la imprecisión, los límites de linealidad y detección, así como las posibles interferencias.

En la práctica asistencial, desaconsejamos el uso de tests mixtos que determinan simultáneamente anticuerpos y/o isotipos con significado y cinéticas diferentes, así como los tests rápidos por inmuno cromatografía, dada la confusión diagnóstica que pueden generar.

Finalmente, constatar la utilidad limitada de los anticuerpos antitransglutaminasa en adultos, así como en pacientes con lesiones parciales de la histología intestinal.

Abstract

Serological markers are essential in the diagnosis algorithm of coeliac patients. Celiac disease (CD) can be diagnosed at any age under various clinical forms in genetically predisposed individuals when consuming a gluten containing diet.

At present, the quantitative and automated IgA anti-tissue transglutaminase antibodies tests are the serological marker recommended to detect CD. This marker replaces its homologous anti-endomysial antibodies test (anti-EMA), obtained by manual and qualitative indirect immunofluorescence tests. Antibodies directed against deaminated gluten peptides improve the specificity of the classical anti-gliadin antibodies. However, they are as screening test slightly inferior to the presence of anti-tissue transglutaminase antibodies.

Anti-tissue transglutaminase antibodies should be determined in patients with clinical suspicion to suffer from CD, in well-known risk groups, and in patients with diseases known to be associated with CD. Laboratories performing these tests must ensure: 1. - Participation in quality assurance programs. 2. - The use of appropriate reference values. 3. - Quantitative results that allow the follow-up of gluten-free diet. 4. - Transferability studies between commercial tests, because of the lack of a universal calibration pattern.

The criteria to be considered for the selection of commercial test should include: Definition of the nature of antigen or antigens, the type of calibration, the degree of imprecision, linearity and detection limits as well as the interferences studies.

In clinical practice, we discourage to use screening test detecting simultaneously various antibodies or isotypes, due to different significance and kinetics. We also discourage the use of rapid point-of-care tests, since they can generate confusion.

Finally, it needs to be remarked that anti-tissue transglutaminase antibodies utility is limited both in adults and in patients with partial intestinal lesions.

1. Introducción

Los autoanticuerpos específicos o marcadores serológicos son una pieza fundamental del engranaje para el diagnóstico de la enfermedad celíaca (EC), que se obtiene por una valoración conjunta de la serología, los síntomas clínicos, los estudios en biopsia intestinal, los factores de riesgo y la predisposición genética. Cada vez más, la solicitud de estos marcadores no solo procede de los consultorios de pediatría y de gastroenterología, sino también de los de endocrino, hematología, reumatología, neurología y otras especialidades médicas.

La EC se diferencia de otras enfermedades autoinmunes específicas de órgano por tener identificado el gluten como desencadenante, por la característica gradación reversible de la lesión inflamatoria intestinal y por disponer de unos marcadores serológicos excelentes. La celiaquía se puede manifestar a cualquier edad en individuos genéticamente susceptibles, el carácter DQ2 positivo y el consumo de gluten son condiciones necesarias, pero no suficientes, para la actividad clínica de la enfermedad, de la que se desconocen aspectos tan importantes como: 1.- Las bases moleculares que regulan la respuesta inmune; 2.- Los mecanismos relacionados con la gravedad de la presentación clínica y 3.- El curso natural de la EC clínicamente asintomática no tratada.

Los marcadores serológicos son útiles para la detección y el seguimiento de la EC, mientras que el diagnóstico de certeza se obtiene por estudio histológico intestinal. La biopsia intestinal se solicita cuando hay una sospecha clínica y/o cuando los marcadores serológicos son positivos. La respuesta clínica, serológica y/o histológica al tratamiento con dieta sin gluten (DSG) confirman el diagnóstico, que viene reforzado por la presencia de los marcadores de susceptibilidad genética HLA-DQ2 (o DQ8).

Los marcadores serológicos han sido de gran utilidad para poner de manifiesto la heterogeneidad de las formas de presentación clínica y han sido la base de los estudios de prevalencia en la población general. Además, han permitido identificar las poblaciones de riesgo y las enfermedades asociadas a la celiaquía.

2. Evolución de los marcadores serológicos

La EC se descubre en los años 50, cuando el pediatra holandés Dike¹ relaciona la “diarrea intratable” con la presencia de harina de trigo en la dieta infantil. A partir de ahí identifica la atrofia intestinal reversible y el gluten como componente de las proteínas de reserva de algunos cereales y antígeno desencadenante de la enfermedad.

El año 1970, la Sociedad Europea de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica (ESPGAN) publica los primeros criterios² diagnósticos que implican la realización de un mínimo de tres biopsias intestinales, al inicio, tras retirada del gluten y tras su reintroducción como prueba de provocación.

Los Anticuerpos Antigliadina de clase IgA (AAG-IgA) se describen³ a principios de los años 80. Son los primeros marcadores serológicos de la EC y su disponibilidad permite un cribado serológico previo a la biopsia intestinal, facilitando la detección de formas clínicas de la EC, diferentes a la clásica diarrea con distensión abdominal. Los AAG-IgA no son específicos de la EC,

son anticuerpos contra componentes del gluten de la dieta, que reflejan probablemente un aumento de la permeabilidad intestinal ya que también aparecen en otras enteropatías.

La sensibilidad y la especificidad⁴ de los AAG-IgA oscila alrededor del 70-80%. En la práctica clínica, la falta de sensibilidad, o riesgo de falsos negativos, es más temida que la falta de especificidad. Los AAG-IgA fueron falsamente negativos en 10 de los 31 casos diagnosticados de EC entre familiares de primer grado⁵ de pacientes celíacos, así como en 4 de los 15 casos diagnosticados de EC en una serie de pacientes con Síndrome de Down⁶, todos ellos con EC asintomática, en coherencia con una mayor relación entre los AAG-IgA y la clínica digestiva.

Los AAG-IgA, por sus ventajas técnicas como el inmunoensayo cuantitativo, han sido ampliamente usados en estudios serológicos de la EC y en la práctica clínica. De hecho, están en la oferta de firmas comerciales y forman parte del perfil de marcadores serológicos de la EC usado en algunos laboratorios.

En pacientes con déficit aislado de IgA (DAIgA), se determinan los marcadores de clase IgG, siendo conocida la inespecificidad de los AAG de clase IgG, muy frecuentes entre la población general.

Los Anticuerpos Antiendomiso (AEm-IgA), se identifican⁷ a través de su relación con la dermatitis herpetiforme. Los AEm-IgA, con una sensibilidad y especificidad superior al 95%, revolucionan la detección serológica de la EC, facilitando estudios epidemiológicos que demuestran la alta prevalencia de la EC en población general y la diversidad de sus formas de presentación clínica. El protocolo diagnóstico con tres biopsias intestinales de los años 70, se simplifica a una sola biopsia inicial según los criterios revisados de la ESPGAN⁸ de los 90.

Los AEm-IgA se determinan por Inmuno fluorescencia Indirecta (IFI), técnica utilizada para determinar anticuerpos de los que se desconoce el antígeno. La reacción inmunológica tiene lugar sobre un porta que tiene fijados cortes de tejido que contiene el antígeno. El tejido más usado es el esófago distal de mono, también se han usado cortes de cordón umbilical humano (HUC), de yeyuno (AYA, anticuerpos antiyeyuno), o de riñón de rata (ARA, anticuerpos antireticulina). La IFI es una técnica cualitativa o semicuantitativa con diluciones progresivas del suero, de procesamiento manual o semiautomatizado, con una lectura final al microscopio de fluorescencia, que es dependiente del observador entrenado. Los portas de esófago distal de mono tienen un coste económico y ecológico considerable, siendo una alternativa razonable, el uso de portas de cordón umbilical humano comerciales o preparados en el mismo laboratorio, aunque el patrón fluorescente sobre cordón umbilical es más difícil de visualizar.

En pacientes con DAIgA, se determinan los AEm de clase IgG, cuya imagen al microscopio suele presentar fluorescencia inespecífica, ofreciendo un patrón más difícil de interpretar que el de los de clase IgA.

Los anticuerpos antitransglutaminasa (ATGT-IgA) aparecen el año 1997, cuando Dieterich⁹ identifica la transglutaminasa tisular (TG2) como el autoantígeno reconocido por los AEm.

La TG2 es una proteína enzimática que modifica los péptidos no digeribles del gluten de la dieta en la lámina propia intestinal, de forma que son reconocidos por la molécula HLA-DQ2 y presentados a la célula T CD4+, activando una respuesta inflamatoria y humoral, con la producción de autoanticuerpos específicos en pacientes con EC.

Con el antígeno TG2 disponible, los AEm se pueden determinar como ATGT usando técnicas de inmunoanálisis cuantitativo y automatizable, resolviendo los problemas técnicos de la IFI.

Los ATGT-IgA cuantitativos facilitan el seguimiento serológico de la DSG y la detección de concentraciones pequeñas de anticuerpos, indetectables por IFI, útiles en población adulta, como veremos mas adelante. Se han descrito casos aislados de ATGT-IgA falsamente elevados en pacientes con enfermedades agudas o graves^{10,11}, así como pequeñas elevaciones independientes del gluten de la dieta en pacientes con enfermedades autoinmunes¹², consideradas inespecíficas y achacadas a impurezas del antígeno TG2.

El año 2005, las sociedades científicas¹³ recomiendan los ATGT y/o AEm de clase IgA (con IgA total) para la detección sérica de la EC, desaconsejando por primera vez el uso de los AAG.

Los anticuerpos antipéptido deamidado de gliadina (APDG-IgA) surgen con el objetivo de mejorar la eficiencia de los clásicos AAG, usando como antígeno péptidos de gliadina modificados, que emulan los péptidos de gluten de la lámina propia intestinal. Los APDG de clase IgA discriminan mejor que los AAG entre pacientes con EC y controles en población pediátrica¹⁴, por lo que crecen las expectativas¹⁵ sobre la utilidad de estos nuevos marcadores.

El año 2008, el documento de consenso¹⁶ de las Sociedades de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátricas, no incorpora los APDG-IgA, en el protocolo para la detección serológica de la EC y propone estudiar mejor su especificidad.

Los APDG-IgA pueden ser positivos en niños menores de 2 años con sospecha clínica de EC cuyos ATGT-IgA son negativos. Analizando la historia natural de los ATGT-IgA y los APDG-IgA en la primera infancia¹⁷, se observa que los marcadores APDG-IgA y ATGT-IgA tienen cinéticas diferentes, los APDG-IgA aparecen antes que los ATGT-IgA, y también desaparecen antes con la instauración de la DSG.

La sensibilidad de los APDG-IgA en la primera infancia contrasta con su inespecificidad; así, los APDG-IgA desaparecen¹⁸ espontáneamente tomando gluten en la mayoría de niños sospechosos de EC de menos de 2 años de edad, cuyos ATGT-IgA fueron negativos, siendo finalmente la sospecha clínica lo que conducirá al estudio histológico intestinal. Por otro lado, se publica un estudio¹⁹ que sorprendentemente, equipara el rendimiento diagnóstico de los APDG de clase IgG con el de los ATGT de clase IgA.

En este contexto, un metanálisis²⁰ que incluye 11 estudios con un total de 937 pacientes y 1328 controles publicados entre 1998 y 2008, pone de manifiesto el mayor poder discriminatorio y la mejor eficiencia diagnóstica de los ATGT-IgA respecto a los APDG-IgA.

3. Criterios para la elección de un reactivo comercial

La oferta de test comerciales para determinar los marcadores serológicos de la EC es amplia y variada, tanto por el anticuerpo analizado (AAG, AEm, ATGT, APDG, mixto ATGT/APDG, etc.), como por el isotipo de cada anticuerpo (IgA, IgG, polivalente IgA/IgG), como por la tecnología utilizada (IFI, ELISA, Fluoroenzimoinmunoensayo, Quimioluminiscencia, etc.).

La elección del test debe ser coherente con las recomendaciones internacionales y con la literatura reciente basada en la evidencia científica. Cada laboratorio debe elegir el test más eficaz en función del contexto asistencial (adultos, niños, solo detección, detección y seguimiento, etc.) con un coste razonable, evitando imposiciones por razones puramente presupuestarias.

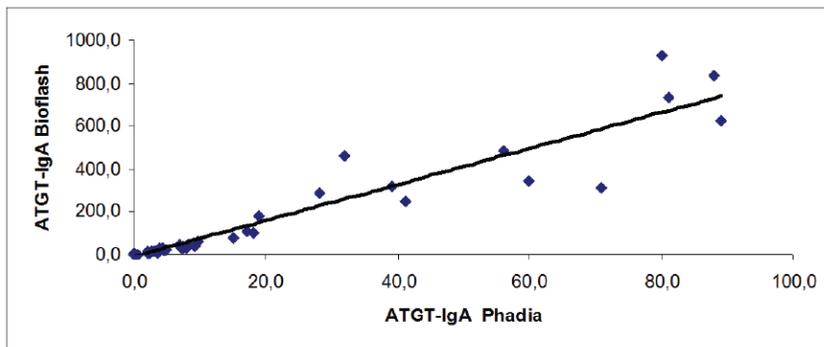
El laboratorio debe consensuar con los clínicos cualquier mejora en el protocolo serológico en la EC; en este sentido, un cambio de test o la incorporación de uno nuevo debe estar justificado, ya que supone un tiempo de adaptación y un cambio de valores de referencia.

La concentración de anticuerpos en suero se determina mediante técnicas de inmunoanálisis cuantitativas o cualitativas, manuales o automatizadas, en analizadores generalmente conectados *on-line* al sistema informático del laboratorio. Son técnicas de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) con lectura final espectrofotométrica o a las que se han adaptado sistemas de amplificación de señal con fluorescencia (Ej: fluoroenzimoinmunoensayo en ATGT EliA™ de Phadia) o luminiscencia (Ej: quimioluminiscencia en ATGT Bioflash[®]) para aumentar la sensibilidad.

Técnicamente, para la elección de un test es importante conocer:

- La naturaleza del antígeno o antígenos del inmunoensayo; el tipo de calibración (con 2, 3 o 6 puntos)
- Los valores de referencia establecidos por el fabricante (*cut-off*)
- La zona de indeterminación ó concentraciones dudosas, si las tiene definidas
- La sensibilidad y la especificidad, respecto a la histología y en población general, respectivamente
- La imprecisión de la técnica a distintas concentraciones (CV% intraserie e interserie), sobre todo a bajas concentraciones
- El límite de linealidad y el de detección, así como las posibles interferencias o limitaciones del test.

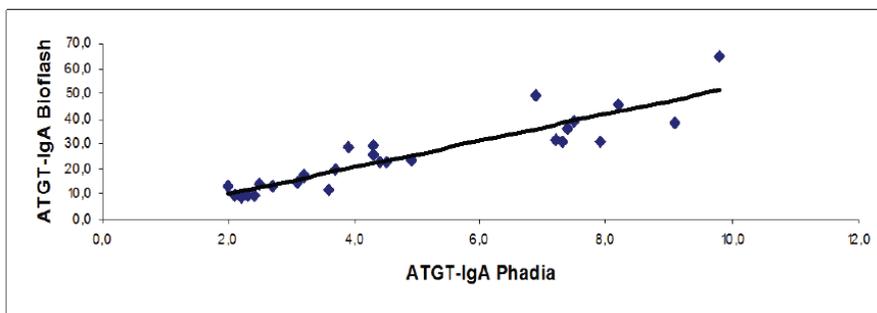
El tipo de presentación comercial (Ej: test para 50 o test para 500 determinaciones) y la estabilidad de los reactivos deben ser coherentes con la carga asistencial, dado que el laboratorio debe ofrecer un tiempo de respuesta razonable con un coste asumible. Si el test requiere una calibración para cada serie analítica, será conveniente agrupar muestras para reducir costes de calibración, en cambio, si la calibración esta almacenada en la memoria del analizador, se pueden determinar muestras aisladas sin coste adicional. Los controles de calidad deben estar incluidos en cada serie analítica.



La incorporación de un nuevo test debe ir precedida de un estudio de la imprecisión (CV% intra e interserie) y de la transferibilidad de resultados con otro test bien establecido para el mismo anticuerpo. La falta de un patrón universal de calibración es una limitación considerable dado que cada fabricante establece sus propios patrones con unidades arbitrarias.

La figura 1 ilustra los resultados de la concentraciones séricas de ATGT-IgA en 70 muestras de pacientes con EC activa o con DSG, obtenidos con dos tests comerciales automatizados de última generación: Un fluoroenzimoinmunoensayo (EliA™ de Phadia) y una quimioluminiscencia (Bioflash^R). El test de Passing-Bablok utilizado para el estudio de transferibilidad de resultados muestra que entre los tests no hay un error constante [intercept: -0,15 (-0,45 to 0.12)] pero si un error proporcional [slope: 6.190 (5.537 to 7.010)]. Los resultados obtenidos por ambas técnicas mantienen una buena correlación ($r=0.952$), a pesar de mantener una diferencia proporcional, justificada por las diferencias entre calibradores de cada firma comercial.

La figura 2 focaliza la misma comparación en la zona de concentraciones dudosas (entre 2 y 10 U/ml fluoroenzimoinmunoensayo ATGR-IgA Phadia tomado como referencia; $n=27$). En este rango de concentraciones, los test se relacionan con la recta de regresión: [ATGT Bioflash] = 5.2846 [ATGT Phadia] - 0.4173 con la que se podría estimar un rango de concentraciones dudosas para el test de quimioluminiscencia entre 10-60 U/ml aproximadamente [Passing-Bablok. slope: 6.000 (4.923 to 7.527); intercept: -3.40 (-8.53 to 0.85)] . En la práctica asistencial, es importante que el laboratorio tenga bien identificado este rango de concentraciones dudosas y que la imprecisión analítica a estas concentraciones sea la adecuada.



Con el objetivo de comparar la sensibilidad (S) y la especificidad (E) de tests representativos de distintas estrategias serológicas para la detección de la EC, se analizan dos colecciones de muestras expresamente seleccionadas por su riesgo de dar resultados falsamente negativos (S) o falsamente positivos (E), según experiencias anteriores. Son 23 sueros con ATGT-IgA elevados de pacientes con EC asintomática diagnosticada por biopsia intestinal (S) y 22 sueros con ATGT-IgA negativos de niños de 1-2 años de edad con diarrea resuelta con tratamiento convencional (E).

Los antígenos de los test evaluados son:

- 1.- TG2 humana recombinante (test usado como referencia);
- 2.- Gliadina nativa
- 3.- Péptido de gliadina sintético

4.- Mixto de TG2 purificada de hematíes y PDG (Screen)

5.- TG2 recombinante humana ligada a PDG

6 y 7.- Péptido GAF3F obtenido por clonación que emula PDG

La tabla 1 ilustra los resultados de los tests en cada grupo. Mostrando como efectivamente, los AAG y los APDG son menos sensibles que los ATGT para la detección de la EC asintomática. Los AAG y los APDG también son más inespecíficos que los ATGT en este seleccionado grupo de niños con diarrea que se resuelve con tratamiento convencional.

	EC asintomática Marsh III n = 23		Niños de 1-2 a. con diarrea n = 22	
	Positivo	Falso Negativo	Falso Positivo	Negativo
ATGT-IgA	n=23	-	-	n=22
AAG-IgA	n=12	n=11	n=3	n=19
APDG-IgA	n=17	n=6	n=1	n=21
Screen ATGT/APDG-A/IgG	n=23	-	n=1	n=21
Anti-neo ATGT-PDG -IgA	n=23	-	n=2	n=20
Anti GAF3X-IgA	n=19	n=4	n=1	n=21
Anti GAF3X-IgG	n=17	n=6	n=2	n=20

Tabla 1. Resultados de distintas estrategias serológicas para la detección de la EC en casos seleccionados

Los tests mixtos (Screen) con más de un antígeno (TG2 y PDG) y conjugados polivalentes detectan simultáneamente ATGT y APDG de clase IgA y IgG, son tests sensibles para la detección de la EC pero no son útiles como punto de partida para el seguimiento serológico de la DSG, ya que suman anticuerpos y isotipos con cinéticas diferentes. En esta línea, debe tomarse precaución con los tests para ATGT a cuyo antígeno TG2 se le ha añadido péptidos de gliadina, pueden dar falsos positivos por la inespecificidad de los AAG o de los APDG.

Los marcadores de la EC se pueden determinar también mediante tests rápidos (POC “*point of care*”), también llamados APC (análisis a la cabecera del paciente). Son tests inmunocromatográficos diseñados en formato individual, generalmente disponibles en farmacias, para la detección rápida de ATGT y/o APDG de clase IgA y/o IgG en una gota de sangre obtenida por punción en el dedo. Estos tests, eventualmente ofertados directamente a los usuarios, facilitan un primer acercamiento a la detección de la EC con la comodidad de la inmediatez del resultado, pudiendo efectuarse en la consulta médica o en el domicilio. El mayor inconveniente es que siempre debe ser sucedido por un análisis convencional, dado que si el resultado es positivo se debe confirmar por la vía clásica y si es negativo pero la sospecha clínica persevera, también. Además, son tests que tienen un coste económico elevado y conllevan el riesgo implícito de ejercer un posible autotratamiento que enmascararía un posterior diagnóstico de certeza.

4. Recomendaciones para el uso de los marcadores serológicos

Son candidatos a marcadores serológicos de la EC las personas de cualquier edad con los signos o síntomas resumidos en la tabla 2 confeccionada²¹ en base al documento del Grupo de Trabajo sobre “Diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca”. Publicado el año 2008 por el Ministerio de Sanidad y Consumo.

Grupo de edad	Síntomas	Signos
Niños	Diarrea crónica Dolores abdominales Vómitos Anorexia Apatía Mal humor	Malnutrición Distensión abdominal Retraso pondero-estatural Hipotrofia muscular Ferropenia Hipoproteïnemia
Preadolescentes y adolescentes	Oligosintomáticos Dolor abdominal Diarrea-estreñimiento Retraso desarrollo puberal Alteraciones menstruales Cefaleas Altralgias	Talla baja Ferropenia Aftas orales Debilidad muscular Osteopenia Alteraciones de piel y de la dentición
Adultos	Sintomatología digestiva inespecífica: Dispepsia Diarrea Estreñimiento Vómitos Pérdida de peso Sintomatología osteomuscular Infertilidad-abortos de repetición Alteraciones neurológicas: Parestesias Tetania Ataxia Epilepsia Alteraciones psiquiátricas: Depresión Irritabilidad Astenia	Malnutrición Ferropenia Hipoalbuminemia Alteraciones de la coagulación Déficits vitamínicos Hipertransaminasemias Neuropatía periférica Miopatías Hipoesplenismo Aftas bucales Osteoporosis y osteopenia

Basada en el documento del Grupo de Trabajo sobre “Diagnóstico precoz de la enfermedad celíaca”. Ministerio de Sanidad y Consumo. Abril 2008.

Tabla 2. Síntomas y signos de la enfermedad celíaca

También son candidatos a marcadores serológicos los individuos pertenecientes a poblaciones de riesgo. Son de riesgo aquellos grupos de personas con una frecuencia de EC superior a la que le correspondería por azar, considerando que la prevalencia estimada de EC en la población general oscila alrededor del 1%. Entre los grupos de riesgo se destacan²² los familiares de primer

grado (10 -20%) de pacientes con EC, y los pacientes con enfermedades asociadas a la EC, como²²: diabetes tipo1 (DM1) (2-12%), Síndrome de Down (5-12%), tiroiditis autoinmune (hasta un 7%), Síndrome de Turner (2-5%), Síndrome de Williams (hasta un 9%), déficit selectivo de IgA (DAIgA) (2-8%) o pacientes con hepatitis autoinmune (12-13%).

Los marcadores de la EC no son análisis de carácter urgente en el laboratorio clínico. La EC es una patología que se instaura y retrocede gradual y progresivamente, por lo que el laboratorio puede procesar el análisis con un tiempo de respuesta razonable de 1 a 7 días, en función de la organización de las consultas médicas o las expectativas de los clínicos solicitantes. Los resultados deben ser valorados en su contexto clínico-dietético-histórico, y el responsable del laboratorio puede añadir comentarios o contactar con el clínico, si fuera necesario. Es recomendable que desde el laboratorio se realice una cierta regularización de la demanda, a la vez que se registren los casos con ATGT positivos en una base de datos.

Los ATGT y/o AEm de clase IgA (si la IgA sérica total es normal) se consolidan como marcadores de elección para la EC en las últimas recomendaciones de la ESPGHAN²², mientras que los APDG-IgA son considerados marcadores adicionales de posible utilidad en niños menores de 2 años de edad con sospecha de EC en los que los ATGT-IgA son negativos. Los niños con EC diagnosticados antes de los 2 años de edad, son candidatos al test de provocación con gluten, dado el desconocimiento del curso natural de la intolerancia en esta fase precoz de la enfermedad.

Para un buen funcionamiento²², el laboratorio asistencial debe ofrecer garantías de:

- 1.- La participación en programas de Control de Calidad interno y externo.
- 2.- Usar tests validados frente a *reference estándar of EMA* o frente a la histología, con una concordancia superior al 95%
- 3.- Usar tests cuyo *cut-off* o LSN (límite superior de normalidad) establecido por el fabricante se ha adaptado según la experiencia personal o en función de la población estudiada.
- 4.- Expresar los resultados con cifras numéricas indicando la clase de inmunoglobulina, siendo insuficiente informar “positivo” o “negativo”, desperdiciando el potencial informativo de la cifra numérica como punto de partida para monitorizar el seguimiento serológico de la DSG.
- 5.- Los informes de AEm indiquen la clase de inmunoglobulina i la dilución sérica, presentandoo el resultado como negativo o positivo acompañado de la dilución.
- 6.- No malinterpretar un resultado negativo en casos como: Pacientes con déficit de IgA, niños de menos de 2 años de edad, pacientes con dieta pobre o exenta de gluten considerando que unas semanas sin gluten invalidan un resultado negativo, y en pacientes con tratamiento inmunosupresor.

Los marcadores serológicos de la EC presentan cifras y unidades diferentes en función del test utilizado. Los estudios de transferibilidad son útiles para conocer la intercambiabilidad de resultados entre distintos tests, que pueden estar expresados como múltiplos del LSM (límite superior de normalidad) o acompañados de sus respectivos *cut-off* .

El establecimiento de una colaboración activa entre la clínica y el laboratorio mejora, sin duda, la calidad asistencial. En esta línea, resulta útil la creación y mantenimiento de una base de datos que contenga la información demográfica, clínica, serológica, genética, histológica y familiar. Esta base de datos puede estar creada a partir de los pacientes con ATGT-IgA elevados, como

primer motivo de inclusión. La explotación de la información acumulada en esta base de datos puede ser interesante para el conocimiento de la EC y la mejora de protocolos asistenciales.

El laboratorio debe ocuparse de responder a la solicitud de “marcadores serológicos de la EC” con el mejor autoanticuerpos/s disponible, evitando que esta solicitud se traduzca en la determinación de una batería de anticuerpos e isotipos que no aportan información adicional soportada por evidencia científica, y que suponen una inversión importante de recursos.

La serología es un paso previo a la histología en todos los algoritmos para el diagnóstico de la EC. Las últimas recomendaciones de la ESPGHAN²² incorporan, como principal novedad, la posibilidad de diagnosticar la EC sin necesidad de biopsia intestinal, en niños con clínica compatible y susceptibilidad genética, cuyas concentraciones séricas de ATGT-IgA sean 10 diez veces el *cut-off* o LSN.

La aceptación de este protocolo es controvertida^{23,24} y, entre los opositores, se exponen argumentos como el interés por conocer la lesión intestinal de partida ante un eventual curso imprevisto de la enfermedad, así como las posibles discordancias entre la serología y la histología. Entre los inconvenientes de tipo técnico, destaca la falta de estudios de transferibilidad de resultados entre tests comerciales, la ya explicitada falta de un patrón universal de calibración y la consideración de que el valor predictivo positivo (VPP) de los ATGT-IgA depende de la prevalencia de la EC en la población de origen.

5. La relación entre la serología y la histología

Aunque la concentración de autoanticuerpos específicos en sangre se interpreta globalmente como un reflejo del grado de lesión histológica intestinal, la serología no siempre esta en consonancia con la histología.

La sensibilidad de los marcadores ATGT/AEm-IgA disminuye en pacientes con alteraciones parciales de la pared intestinal, así, se ha observado que los marcadores ATGT y AEm-IgA pueden ser negativos en el 60% de pacientes con lesiones Marsh IIIa^{25,26}. Además, la negativización de los ATGT/AEm-IgA con la DSG no implica necesariamente la recuperación histológica de la pared intestinal, sobre todo en adultos^{27,28}.

La respuesta serológica a la DSG es particular para cada paciente, el tiempo de DSG estimado como necesario para la desaparición de los autoanticuerpos específicos es de 12 meses (ESPGHAN), pudiendo oscilar entre 3 meses y 3 o 4 años, en función del grado de sensibilidad al gluten. De la misma manera, el tiempo de provocación con gluten (unos 15 gr. diarios en niños) necesario para una respuesta serológica es muy variable, estableciéndose controles cada 3-6 meses si no hay una respuesta clínica clara, siendo la recaída serológica generalmente suficiente para la confirmación diagnóstica.

En la práctica asistencial, la detección serológica de las transgresiones dietéticas consiste muchas veces en la detección de una elevación, mas o menos importante, de los ATGT-IgA, en pacientes con DSG establecida que disponen de sucesivos controles serológicos previos con marcadores indetectables. Es un hallazgo frecuente en adolescentes y se atribuye a transgresiones de la dieta voluntarias o involuntarias y reconocidas o no. Los AEm determinados por IFI son menos sensibles a estas pequeñas variaciones serológicas. Los APDG-IgA han sido

recomendados²⁹ para la detección de transgresiones dietéticas, aunque su inespecificidad lo convierte en un marcador con un balance coste/beneficio desfavorable.

6. Los marcadores serológicos en la EC del adulto

La EC se puede manifestar en la edad adulta de individuos genéticamente susceptibles bajo dieta con gluten. En estos casos, el hallazgo de unos ATGT-IgA elevados puede confirmar la sospecha clínica previa al diagnóstico histológico. En algunos casos, esta activación tardía de la enfermedad se relaciona con desencadenantes como el embarazo, infecciones, traumatismos o situaciones de estrés, pudiendo suceder también en la tercera edad.

Por otro lado, la EC del adulto puede pasar desapercibida por la heterogeneidad de sus signos y síntomas. Los marcadores serológicos son poco sensibles debido a que la lesión histológica intestinal puede ser parcial. Un interesante estudio³⁰ de casos consecutivos diagnosticados de EC de todas las edades, pone de manifiesto que la EC en la población adulta tiene una clínica, una serología y una lesión histológica intestinal, atenuada respecto a la observada en la edad pediátrica. Estos hechos alargan el tiempo requerido conseguir el diagnóstico definitivo en la población adulta respecto a la población infantil.

Mientras que una lesión intestinal de bajo grado se asocia con una sintomatología clínica leve, un estudio de búsqueda activa de EC en familiares³¹ de pacientes celíacos demuestra que los síntomas clínicos (anemia, dolor o distensión abdominal o alteraciones de la densidad ósea) son tan importantes en pacientes Marsh I como en pacientes Marsh III. Son los resultados de un estudio en familiares de celíacos cuyo protocolo propone la biopsia intestinal a todos los familiares DQ2 positivos, al margen de la serología. El estudio demuestra que de haber adoptado un protocolo basado en un cribado serológico convencional (ATGT y/o AEm de clase IgA con *cut-off* habitual), se hubieran detectado el 15.6% de los casos con lesión Marsh I y el 84.6% de los casos con lesión Marsh III. Confirmándose la poca sensibilidad de los ATGT-IgA en celíacos adultos con lesión intestinal de bajo grado, donde la elevación de los ATGT-IgA puede estar por debajo del *cut-off* establecido.

Con estos resultados y con el objetivo de aumentar la sensibilidad de los ATGT-IgA en la población adulta, se busca un nuevo *cut-off* a la baja, en base a la concentración de ATGT-IgA por debajo de la cual se encuentran el 98% de los resultados de la población general adulta³², resultando un *cut-off* para adultos cuatro veces inferior al pediátrico.

Aplicando este nuevo *cut-off* para adultos en una búsqueda activa de EC en población laboral³², la sensibilidad de los ATGT-IgA es del 89% en pacientes con lesión intestinal Marsh I, mientras que la de los AEm-IgA es del 11%, siendo ambos 100% sensibles en pacientes con lesión Marsh III.

La lesión Marsh I no es específica de la EC, pudiendo encontrarse en otras patologías como la infección por *Helicobacter pylori*, en cuadros de parasitosis u otras enteropatías. La idoneidad de la DSG en pacientes con lesión Marsh I en ausencia de síntomas clínicos es controvertida³³, en estos casos, tienen especial interés los estudios de inmunocitometría en mucosa intestinal capaces de detectar patrones compatibles con EC al margen de los cambios histológicos.

7. Los marcadores serológicos en poblaciones de riesgo

El cribado serológico para la detección de la EC asintomática en poblaciones de riesgo, se puede optimizar con una previa selección de los casos DQ2 positivos. El valor predictivo negativo del DQ2 (VPN > 99%) hace prácticamente imposible el diagnóstico de EC en individuos DQ2 negativos.

Por otro lado, son DQ2 positivos³⁴ el 64% de los familiares de primer grado de pacientes celíacos, el 57% de los pacientes con DM1 o el 29% de los pacientes con Síndrome de Down, así como el 25% de la población general. Así, en un paciente DQ2 positivo con Síndrome de Down (6% prevalencia EC), la probabilidad de serología positiva es de 1/5, mientras que en un individuo DQ2 positivo de la población general (1% prevalencia EC), esta probabilidad es de 1/25. Por tanto, el DQ2 es útil para la selección de candidatos a vigilancia serológica en poblaciones de riesgo. En estos casos, la frecuencia con la que se debería aplicar el cribado serológico en ausencia de síntomas no está protocolizada y, en el mejor de los casos, los marcadores serológicos se determinan con una periodicidad anual.

7.1. Los ATGT-IgA en pacientes con DM1

Para la búsqueda activa de la EC asintomática en la población DM1, se determinan los ATGT-IgA en el debut con controles serológicos anuales en los negativos. Con esta estrategia³⁵, se diagnosticó la EC en el 6.4% (13/202) de los pacientes que debutaron con DM1 durante 6 años consecutivos. Según este estudio, la EC se asocia preferentemente con los pacientes DM1 de debut más precoz y el orden en que aparecen ambas enfermedades es aleatorio, de forma que, en la mitad de los casos, la EC (asintomática) se detecta por serología en el debut diabético, mientras que en la otra mitad, la EC se detecta en los controles serológicos de los tres primeros años. El hallazgo de una serología dudosa o débilmente positiva en el debut diabético, debe ser interpretado con precaución a la espera de ver su evolución.

7.2. Los ATGT-IgA en pacientes con DAIGa

La EC está asociada al déficit aislado de IgA (DAIGa). El DAIGa (IgA sérica < 10 mg/L) es la inmunodeficiencia primaria más frecuente, afectando al 0.2% de la población general y de curso generalmente asintomático.

Ante el hallazgo inesperado de un déficit sérico de IgA, el laboratorio puede analizar sistemáticamente los ATGT de clase IgG. Con esta estrategia³⁶, se ha diagnosticado el 6.6% (22/330) de los pacientes pediátricos con una deficiencia total, parcial o transitoria de IgA sérica (IgA < 50 mg/L).

Analizando el comportamiento serológico de esta población³⁷, se observa que en el 70% de los casos, el DAIGa es total y los ATGT son exclusivamente de clase IgG. En cambio, en el 30% restante, el déficit de IgA es parcial o transitorio y coexisten los ATGT de clase IgA con los de clase IgG en el 80% de los casos.

Es conocido que los anticuerpos de clase IgG tienen una vida media más larga que los IgA, y por tanto, desaparecen más lentamente con la DSG. Así, los ATGT de clase IgG siguen positivos tras 2-11 años de DSG en el 75% de los casos, mientras que los ATGT de clase IgA desaparecen tras 1-4 años de DSG en el 100% de los casos.

8. Los marcadores serológicos en la población general

La EC es una alteración frecuente, que puede pasar inadvertida por la heterogeneidad de sus formas de presentación clínica, que dispone de unos excelentes marcadores serológicos, que tiene un tratamiento eficaz y libre de efectos secundarios, y que la falta de tratamiento se relaciona con efectos adversos.

Con estos antecedentes, la EC reuniría las condiciones para ser estudiada en la población general^{38,39}. Los inconvenientes para el estudio masivo de la EC son principalmente, el desconocimiento del curso natural de la EC asintomática no tratada, la falta de motivación por el cumplimiento de la dieta en pacientes asintomáticos, la posible manifestación de la EC a cualquier edad que obligaría a repetir el cribado serológico periódicamente, y la falta de estudios coste/beneficio.

Por las mismas razones, se desestima la inclusión de los ATGT-IgA a los perfiles de análisis aplicados a grupos de población general presuntamente sana, como los controles de salud laboral, los de donantes de sangre o los perfiles preoperatorios de cirugía menor. En cambio, ante el hallazgo inesperado de una anemia microcítica o de un leve aumento de la actividad sérica ALT⁴⁰ en los resultados de estos análisis, la determinación sistemática de ATGT-IgA facilita la detección de EC asintomática. La anemia y la hipertransaminasemia sin causa aparente, son conocidas manifestaciones extradigestivas de la EC asintomática.

La prevalencia de la EC aceptada en la población general oscila alrededor del 1:100, a pesar de ello, existe la percepción de que es una alteración más propia de la edad pediátrica. Los estudios epidemiológicos realizados en población española de distintas edades, muestran prevalencias que van desde 1:118 en niños menores de 3 años⁴¹, a 1:220 en escolares⁴² hasta 1:389 en población general⁴³ de 35 años de edad media. Esta aparente caída de la prevalencia con la edad, ha sido recientemente confirmada en un estudio epidemiológico⁴⁴ que incluye 4230 personas de 1 a 90 años de la población general de Cataluña. Los resultados de este estudio demuestran que la EC es 5 veces más frecuente en niños que en adultos y, que este aumento, es a costa de los más pequeños. Esta evidente caída de la prevalencia con la edad es difícil de explicar si se considera el carácter permanente de la enfermedad. La hipótesis de una evolución espontánea a la latencia solo puede investigarse mediante estudios longitudinales de historia natural.

Referencias

1. Dicke WK. Coeliac disease. *Investigation of the harmful effects of certain types of cereal on patients suffering from coeliac disease*. MD thesis. Utrecht: University of Utrecht, 1950.
2. Meeuwisse G. *Diagnosis criteria in coeliac disease*. Acta Paediatr Scand 1970; 59: 461-3.
3. Savilahty E, Viander M, Perkkio M, Vainio E, Kalimo K, Reunala T. *IgA antigliadin antibodies: a marker of mucosal damage in childhood coeliac disease*. Lancet. 1983; 1(8320): 320-2. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(83\)91627-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(83)91627-6)
4. Rostom A, Dube C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garrity C, et al. *The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review*. Gastroenterology. 2005; 128: S38-46. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15825125>
5. Farré C, Humbert P, Vilar P, Varea V, Carballo M, Aldeguer X, Carnicer J, Gasull MA and Catalanian Coeliac Disease Study Group. *Serological Markers and HLA-DQ2 Haplotype Among First-Degree relatives of Celiac Patients*. Dig Dis Sci. 1999; 44(11): 2344-49. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1026685527228>
6. Carnicer J, Farré C, Varea V, Vilar P, Moreno J, Artigas J. *Prevalence of coeliac disease in Down's syndrome*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2001; 13: 263-7. <http://dx.doi.org/10.1097/00042737-200103000-00008>
7. Chorzelsky TP, Beutner EH, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Kumar V, et al. *IgA anti-endomysium antibody. A new immunological marker of dermatitis herpetiformis and coeliac disease*. Br J Dermatol. 1984; 111(4): 395-402. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.1984.tb06601.x>
8. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Arch Dis Child. 1990; 65(8): 909-11. <http://dx.doi.org/10.1136/adc.65.8.909>
9. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. *Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease*. Nat Med. 1997; 3(7): 797-801. <http://dx.doi.org/10.1038/nm0797-797>
10. Bizzaro N, Tampoia M, Villalta, D, Platzgummer S, Liguori, M, Tozzoli, R, Tonutti, E. *Low Specificity of Anti-Tissue Transglutaminase Antibodies in Patients With Primary Biliary Cirrhosis*. J Clin Lab Anal. 2006; 20: 184–9. <http://dx.doi.org/10.1002/jcla.20130>
11. Ferrara, F, Quaglia S, Caputo I, Esposito, C, Lepretti, M, Pastore, S, Giorgi, R, Martelossi, S, Dal Molin G, Di Toro M, Ventura, A, Not, T. *Anti-transglutaminase antibodies in non-coeliac children suffering from infectious diseases* Clin Exp Immunol. 2010; 159(2): 217–23. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.04054.x>
12. Sárdy M, Csikós M, Geisen C, Preisz K, Kornseé Z, Tomsits E, Töx U, Hunzelmann N, Wieslander J, Kárpáti S, Paulsson M, Smyth N. *Tissue transglutaminase ELISA positivity in autoimmune disease independent of gluten-sensitive disease*. Clinica Chimica Acta. 2007; 376: 126–35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2006.08.006>
13. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, et al. North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2005 Jan; 40(1): 1-19. <http://dx.doi.org/10.1097/00005176-200501000-00001>

14. Schwertz E, Kahlenberg F, Sack U, Richter T, Stern M, Conrad K, Zimmer KP, Mothes T. *Serologic Assay Based on Gliadin-Related Nonapeptides as a Highly Sensitive and Specific Diagnostic Aid in Celiac Disease*. *Clinical Chemistry*. 2004; 50(12): 2370–5. <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2004.036111>
15. Kaukinen K, Collin P, Laurila K, Kaartinen T, Partanen J, Mäki M. *Resurrection of gliadin antibodies in coeliac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit*. *Scand J Gastroenterol*. 2007; 42(12): 1428-33. <http://dx.doi.org/10.1080/00365520701452217>
16. Fasano A, Araya M, Bhatnagar S, et al. Consensus guidelines. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008; 47(2):214-9. <http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e318181afed>
17. Edwin Liu et al. *Natural History of Antibodies to Deaminated Gliadin Peptides and Transglutaminase in Early Childhood Celiac Disease*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007; 45: 293-300. <http://dx.doi.org/10.1097/MPG.0b013e31806c7b34>
18. Parizade M, Shainberg B. *Positive Deamidated Gliadin Peptide Antibodies and Negative Tissue Transglutaminase IgA Antibodies in a Pediatric Population: To Biopsy or Not To Biopsy*. *Clin Vaccine Immunol*. 2010; 17(5): 884–6. <http://dx.doi.org/10.1128/CVI.00425-09>
19. Vermeersch P, Geboes K, Mariën G, Hoffman I, Hiele M, Bossuyt X. *Diagnostic performance of IgG anti-deamidated gliadin peptide antibody assays is comparable to IgA anti-tTG in celiac disease*. *Clinica Chimica Acta*. 2010; 411: 931–5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2010.02.060>
20. Levis 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. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19664074>
21. Garrote Adrados JA, Fernandez Salazar L. Protocolos de diagnóstico. Cribado de enfermedad celíaca y grupos de riesgo. *Enfermedad Celíaca*. (Cap 10, pp 145). Ergon 2011. ISBN: 978-8473-958-6.
22. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. *For the ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis*, on behalf of the ESPGHAN Gastroenterology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012; 54: 136–60. <http://dx.doi.org/10.1097/mpg.0b013e31821a23d0>
23. Evans KE, Sanders DS. *What is the use of biopsy and antibodies in coeliac disease diagnosis?* *J Intern Med*. 2011; 269(6): 572-81. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2011.02380.x>
24. Fernández-Bañares F, Rosinach M, Esteve M. *Comment to "High tissue-transglutaminase antibody level predicts small intestinal villous atrophy in adult patients at high risk of coeliac disease"*. *Dig Liver Dis*. 2012 Oct; 44(10): 885-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2012.04.025>
25. Rostami K, Kerckhaert JP, Tiemessen R, Meijer JW, Mulder CJ. *The relationship between anti-endomysium antibodies and villous atrophy in celiac disease using both monkey and human substrate*. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1999; 11(4): 439-42. <http://dx.doi.org/10.1097/00042737-199904000-00013>
26. Abrams JA, Brar P, Diamond B, Rotterdam H, Green PH. *Utility in clinical practice of immunoglobulin a anti-tissue transglutaminase antibody for the diagnosis of celiac disease*. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006; 4(6): 726-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2006.02.010>
27. Wahab PJ, Meijer J, Mulder J. *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. <http://dx.doi.org/10.1309/EVXT-851X-WHLC-RLX9>

28. Dickey W, Hughes DF, McMillan SA. *Disappearance of endomysial antibodies in treated celiac disease does not indicate histological recovery*. Am J Gastroenterol. 2000; 95(3): 712-4. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2000.01838.x>
29. Agardh D. *Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides and tissue transglutaminase for the identification of childhood celiac disease*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2007; 5: 1276–81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2007.05.024>
30. Vivas S, Ruiz de Morales JM, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J, Gutierrez S. *Age-Related Clinical, Serological, and Histopathological Features of Celiac Disease*. Am J Gastroenterol. 2008; 103(9): 2360-5. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2008.01977.x>
31. Esteve M, Rosinach M, Fernández-Bañares F, Farré C, Salas A, Alsina M, Vilar P, Abad-Lacruz A, Forné M, Mariné M, Santaolalla R, Espinós JC, Viver JM. *Barcelona Coeliac Disease Study Group. Spectrum of gluten-sensitive enteropathy in first degree relatives of patients with coeliac disease: clinical relevance of lymphocytic enteritis*. Gut. 2006; 55: 1739–45. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2006.095299>
32. Mariné M, Fernández-Bañares F, Alsina M, Farré C, Cortijo M, Santaolalla R, Salas A, Tomàs M, Abugattas E, Loras C, Ordás I, Viver JM, Esteve M. *Impact of mass screening for gluten sensitive enteropathy in a working population*. World J Gastroenterol. 2009; 15 (11): 1331-8. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.15.1331>
33. Esteve M, Carrasco A, Fernandez-Bañares F. *Is a gluten-free diet necessary in Marsh I intestinal lesions in patients with HLA-DQ2, DQ8 genotype and without gastrointestinal symptoms?* Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2012; 15: 505–10. <http://dx.doi.org/10.1097/MCO.0b013e3283566643>
34. Farré C. *Malaltia Celíaca: marcadors serològics i de predisposició genètica, aspectes clínics i poblacions de risc*. Tesis Doctoral. Universitat de Barcelona 2002.
35. Marquès T, Molero M, Tondo M, Hernández M, Vilar P, Cusi V, et al. *Asociación entre la diabetes mellitus de tipo 1 y la enfermedad celíaca: 6 años de cribado serológico sistemático*. Rev Lab Clin. 2009; 2(2): 65–72.
36. Domínguez O, Giner MT, Alsina L, Martín MA, Lozano J, Plaza AM. *Fenotipos clínicos asociados a la deficiencia selectiva de IgA: revisión de 330 casos y propuesta de un protocolo de seguimiento*. An Pediatr. 2012; 76(5): 261-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anpedi.2011.11.006>
37. Altimira L, Marquès T, Molero M, Tondo M, Hernández M, Farré C. *¿Como se comportan los pacientes celíacos con déficit aislado de IgA?* V Congreso Nacional del Laboratorio Clínico. SEQC. Malaga 2011.
38. Fasano A. *European and North American populations should be screened for coeliac disease*. Gut. 2003; 52(2): 168-9. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.52.2.168>
39. Kumar PJ. *European and North American populations should be screened for coeliac disease*. Gut. 2003; 52(2): 170-1. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.52.2.170>
40. Farré C, Esteve M, Curcoy A, Cabre E, Arranz E, Amat, LI, et al. *Hypertransaminasemia in Pediatric Celiac Disease Patients and Its Prevalence as a Diagnostic Clue*. Am J Gastroenterol. 2002; 97: 3176–81. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2002.07127.x>
41. Castaño L, Blarduni E, Ortiz L, et al. *Prospective population screening for celiac disease: high prevalence in the first 3 years of life*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2004; 39: 80–4. <http://dx.doi.org/10.1097/00005176-200407000-00016>

42. Cilleruelo Pascual ML, Román Riechmann E, Jiménez Jiménez J, et al. *Silent celiac disease: exploring the iceberg in the school-aged population*. An Esp Pediatr. 2002; 57: 321–6.
http://www.unboundmedicine.com/evidence/ub/citation/12392666/Silent_celiac_disease_exploring_the_iceberg_in_the_school_aged_population
43. Riestra S, Fernández E, Rodrigo L, et al. *Prevalence of coeliac disease in the general population of northern Spain. Strategies of serologic screening*. Scand J Gastroenterol. 2000; 35: 398–402. <http://dx.doi.org/10.1080/003655200750023967>
44. Marine M, Farré C, Alsina M, Vilar P, Cortijo M, Salas A, et al. *The prevalence of coeliac disease is significantly higher in children compared with adults*. Aliment Pharmacol Ther. 2011; 33: 477–486. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04543.x>