

DM

A Nossa
Universidade

Colégio dos Jesuítas
Rua dos Ferreiros - 9000-082, Funchal

Tel: +351 291 209400
Fax: +351 291 209410
Email: gabinetedareitoria@uma.pt

Estudo da Incidência de Doença Celíaca na
Região Autónoma da Madeira
Fabiana José de Abreu Gonçalves



Estudo da Incidência de Doença Celíaca na Região Autónoma da Madeira

DISSERTAÇÃO DE Mestrado

Fabiana José de Abreu Gonçalves

Mestrado em Bioquímica Aplicada


UNIVERSIDADE da MADEIRA
A Nossa Universidade
www.uma.pt

Julho | 2012

DIMENSÕES: 45 X 29,7 cm

PAPEL: COUCHÊ MATE 350 GRAMAS

IMPRESSÃO: 4 CORES (CMYK)

ACABAMENTO: LAMINAÇÃO MATE

NOTA*

Caso a lombada tenha um tamanho inferior a 2 cm de largura, o logótipo institucional da Uma terá de rodar 90°, para que não perca a sua legibilidade/identidade.

Caso a lombada tenha menos de 1,5 cm até 0,7 cm de largura o layout da mesma passa a ser aquele que consta no lado direito da folha.



**Estudo da Incidência de Doença Celíaca na
Região Autónoma da Madeira**
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Fabiana José de Abreu Gonçalves
MESTRADO EM BIOQUÍMICA APLICADA

ORIENTAÇÃO
Irene Gomes Câmara Camacho

CO-ORIENTAÇÃO
Maria Teresa Jardim Fernandes

Estudo da Incidência de Doença Celíaca na Região Autónoma da Madeira

FICHA CATALOGRÁFICA

Gonçalves, Fabiana José de Abreu

Estudo da Incidência de Doença Celíaca na Região Autónoma da Madeira. 94 pp.

Doença celíaca, marcadores sorológicos, incidência, prevalência, transglutaminase tecidual, gliadina.

Dissertação de Mestrado – Programa de Mestrado em Bioquímica Aplicada – Universidade da Madeira – Funchal, Portugal

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Gonçalves FJA. Estudo da Incidência de Doença Celíaca na Região Autónoma da Madeira. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Aplicada), Universidade da Madeira, Portugal, 2012; 94 pp.

Dissertação realizada sob a orientação da Professora Doutora Irene Gomes Câmara Camacho, docente do Centro de Competências das Ciências da Vida da Universidade da Madeira e da co-orientação da Dra. Maria Teresa Jardim Fernandes, Técnica Superior de Saúde no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Dr. Nélio Mendonça.

Índice

Agradecimentos-----	10
Abreviaturas-----	12
Resumo -----	13
Abstract -----	14
Objectivos -----	15
Objectivos específicos-----	15
1. Introdução-----	16
1.1. Etiologia de doença celíaca-----	16
1.2. Epidemiologia-----	18
1.2.1. Prevalência e incidência -----	19
1.2.2. Factores de Risco-----	21
1.3. Patogénese -----	22
1.4. Fisiopatologia -----	25
1.4.1. Classificação -----	27
1.4.2. Condições associadas-----	30
1.5. Diagnóstico-----	32
1.5.1. Marcadores sorológicos na doença celíaca -----	34
1.5.2. Deficiência de IgA-----	39
1.6. Antígenos leucocitários humanos (HLA) -----	41
1.7. Biópsia e histologia-----	41
1.7.1. Classificação de Marsh-----	43
1.8. Tratamento -----	44
1.8.1. Acompanhamento -----	46
2. Materiais e Métodos -----	47
2.1. Amostragem -----	47
2.2. Recolha de dados -----	47
2.3. Procedimento experimental -----	49
2.3.1. Processamento -----	51
2.4. Tratamento Estatístico -----	53
3. Resultados -----	54

3.1. Caracterização da população estudada -----	54
3.1.1. Caracterização demográfica -----	54
3.1.2. Género e idade -----	55
3.1.3. Prevalência -----	59
3.1.4. Incidência -----	60
3.2. Comparação de metodologias de diagnóstico de DC -----	61
3.2.1. Prevalência -----	61
3.2.2. Sensibilidade e especificidade dos marcadores sorológicos -----	62
3.2.3. Concordância entre os marcadores sorológicos para o diagnóstico de doença celíaca. -----	64
4. Discussão -----	67
4.1. Caracterização da população estudada -----	67
4.2. Comparação de metodologias de diagnóstico de DC -----	70
5. Conclusão -----	78
6. Perspectivas futuras -----	80
7. Bibliografia -----	81
8. Anexos -----	90

Índice das figuras

Figura 1 - O iceberg celíaco [5].....	18
Figura 2 - Factores patogénicos na doença celíaca [18].	22
Figura 3 - Interação entre factores ambientais, genéticos e imunológicos na patogénese da doença celíaca (Green [31], Adaptado por Samões [32]).....	24
Figura 4 - Analisador automático ImmunoCAP 250.	49
Figura 5 - Princípio de um teste ELiA, técnica Fluoro-Enzyme ImmunoAssay (FEIA)	50

Índice dos gráficos

Gráfico 1 - Distribuição dos pedidos de análises para marcadores de DC por serviço de origem.....	54
Gráfico 2 - Diagnóstico associado aos pedidos de análises sorológicas para DC.	55
Gráfico 3 - Distribuição dos indivíduos com doença celíaca, diagnosticada por biópsia, segundo o género.	56
Gráfico 4- Distribuição da frequência de pedidos de marcadores sorológicos para DC de acordo com a faixa etária dos utentes.	57
Gráfico 5 - Distribuição da frequência de doentes celíacos segundo a faixa etária.	58
Gráfico 6 - Taxa de incidência de casos novos de Doença Celíaca, na Região Autónoma da Madeira no período de 2002 a 2010.....	60
Gráfico 7 - Concordância entre os resultados dos marcadores sorológicos para a DC e os resultados obtidos pela biópsia, para criança com idades inferior e superior a 2 anos.....	66

Índice das tabelas

Tabela 1 - Possíveis Manifestações Clínicas da DC [25].....	26
Tabela 2 - Total de indivíduos distintos amostrados segundo o género no período de Janeiro de 2002 a Dezembro de 2010.....	55
Tabela 3 - Proporção de indivíduos por género na população total e doença celíaca.....	57
Tabela 4 - Frequência de doentes celíacos para indivíduos maiores ou menores de 2 e 18 anos de idade.....	58
Tabela 5 - Teste da variação da proporção, para maiores e menores de 18 anos para os doentes celíacos.....	59
Tabela 6 - Prevalência de exames sorológicos positivos para DC.....	61
Tabela 7 - Sensibilidade e especificidade dos marcadores sorológicos para a doença celíaca.....	62
Tabela 8 - Sensibilidade e especificidade dos marcadores sorológicos para a doença celíaca para crianças menores de 2 anos.....	64
Tabela 9 - Análise da concordância entre os resultados dos marcadores sorológicos para a DC e os resultados obtidos pela biópsia.....	65
Tabela 10 - Percentagem de resultados coincidentes entre as várias metodologias (resultados dos marcadores sorológicos para a DC e as biópsias).....	65
Tabela 11 - Doentes celíacos amostrados segundo o género no período de janeiro de 2002 a Dezembro de 2010.....	90
Tabela 12 - Frequência dos indivíduos distintos segundo a faixa etária.....	90
Tabela 13 - Frequência dos doentes celíacos segundo a faixa etária.....	90
Tabela 14 - Prevalência de exames sorológicos positivos para DC, nos dados totais.....	91
Tabela 15 - Taxa de incidência de casos novos de Doença Celíaca, de acordo com os resultados das biópsias, com pelo menos um marcador positivo (PV) e com pelo menos um marcador positivo e duvidoso (PV+PD), na Região autónoma da Madeira.....	91
Tabela 16 - Cálculo da sensibilidade e especificidade para os marcadores (n=1004).....	92
Tabela 17 - Cálculo da sensibilidade e especificidade para as crianças (menores de 18 anos).....	92

Tabela 18 - Cálculo da sensibilidade e especificidade para os adultos (maiores 18 anos).	93
Tabela 19 - Cálculo da sensibilidade e especificidade para Crianças menores de 2 anos.....	93
Tabela 20 - Cálculos de concordância entre os marcadores sorológicos com base no índice Kappa de Cohen, para a população com idade inferior a 2 anos.	94
Tabela 21 - Cálculos de concordância entre os marcadores sorológicos com base no índice Kappa de Cohen, para a população com idade superior a 2 anos.	94

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todas as pessoas, que de algum modo, contribuíram para a execução do presente trabalho. A todas dirijo uma palavra de apreço e gratidão, nomeadamente:

À Professora Doutora Irene Gomes Câmara Camacho, orientador interno, pela atenção dispensada na orientação do texto e pela cooperação e conselhos durante o estágio.

À Dra. Graça Andrade, Directora do serviço de patologia clínica do hospital Dr. Nélio Mendonça, pelo fornecimento de dados, bem como, o seu apoio, simpatia, compreensão e pela disponibilização das condições necessárias ao desenvolvimento e conclusão do trabalho.

Ao Dr. Roberto Camacho pela execução da análise estatística deste estudo, pela disponibilidade no esclarecimento de dúvidas e por todo o seu apoio.

À Dra. Rute Gonçalves e à Dra. Joana Oliveira do Serviço de Pediatria, pela cooperação, conselhos e facultade de dados fulcrais à realização do estudo.

À Dra. Maria Teresa Jardim Fernandes, pelo acolhimento e aceitação da orientação externa e sua disponibilidade.

Aos meus colegas de trabalho, em particular ao Dr. Ilídio Ornelas, à Dra. Liliana Cardoso e à Dra. Dulce Silva, pelo apoio e palavra amiga.

Ao Filipe Martins e familiares mais próximos, pelo seu constante apoio e compreensão durante a elaboração do trabalho.

A todos o meu muito Obrigada!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

Abreviaturas

AAE	Anticorpo anti-endomísio
AAEA	Anticorpo anti-endomísio IgA
AAG	Anticorpo anti-gliadina
AAGA	Anticorpo anti-gliadina IgA
AAGG	Anticorpo anti-gliadina IgG
AAT	Anticorpo anti-transglutaminase tecidual
AATA	Anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA
AATG	Anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgG
AGA	American Gastroenterological Association (Associação Americana de Gastroenterologia)
APC	Associação Portuguesa de Celíacos
Celikey	Anticorpo anti-transglutaminase tecidual
DC	Doença Celíaca
DLG	Dieta livre de glúten
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ESPGHAN	European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica)
FEIA	<i>Fluoro-Enzyme ImmunoAssay</i>
HLA	Human Leukocyte Antigen (Antígenos leucocitários humanos)
HDNM	Hospital Dr. Nélio Mendonça
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucinas
LIE	linfócitos intra-epiteliais
PGD	Peptídeo gliadina desamidado
NASPGHAN	North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (Sociedade Norte Americana de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica)
NIH	National Institutes of Health
tTG	Transglutaminase tecidual
WGO	World Gastroenterology Organisation (Organização Mundial de Gastroenterologia)

Resumo

A doença celíaca (DC) é um distúrbio de má absorção intestinal, causada pela ingestão de glúten e tem como único tratamento uma dieta livre de glúten (DLG).

Este estudo teve como objectivo determinar a prevalência, a incidência e os melhores marcadores sorológicos de DC na Região Autónoma da Madeira (RAM), através da análise dos pedidos no serviço de Patologia Clínica do Hospital Dr. Nélio Mendonça, com marcadores de DC durante o período de Janeiro de 2002 a Dezembro de 2010.

A determinação dos marcadores sorológicos (anticorpos anti-transglutaminase tecidual IgA (AATA) e IgG (AATG), anticorpos anti-gliadina IgA (AAGA) e IgG (AAGG)) foi realizada no analisador automático ImmunoCAP 250, que utiliza a técnica *Fluoro-Enzyme ImmunoAssay* (FEIA).

Dos 1004 pedidos que requereram marcadores sorológicos para a DC, 214 obtiveram um ou mais marcadores positivos, que pertencem a 130 indivíduos distintos. Quarenta e quatro (44) indivíduos realizaram biópsia intestinal e 38 foram positivas com aspectos morfológicos compatíveis com o diagnóstico de doença celíaca.

A doença atingiu mais as crianças que os adultos e foi mais frequente no sexo feminino do que no masculino. A prevalência de DC na RAM de acordo com os resultados das biópsias foi de 15,3 casos por 100.000 habitantes e a incidência foi de 1,9/100.000 habitantes, com uma tendência crescente nos últimos anos.

O anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA foi o marcador mais sensível (95,5%), correspondendo ao melhor marcador na detecção inicial de DC. Todas as amostras de crianças com idade inferior a 2 anos devem ser adicionalmente testados para anticorpos anti-gliadina, devido à sua maior sensibilidade (92,3%) em relação aos anticorpos anti-transglutaminase tecidual IgA (84,6%).

Este trabalho procurou contribuir para um melhor conhecimento do perfil de doença celíaca da população da RAM.

Palavras-chave: doença celíaca, marcadores sorológicos, incidência, prevalência, transglutaminase tecidual, gliadina.

Abstract

Celiac disease (CD) is a disorder of intestinal malabsorption, caused by ingestion of gluten and is the only treatment a gluten-free diet (GFD).

This study aimed to determine the prevalence, incidence and the best serological markers of CD in the Autonomous Region of Madeira (ARM), through the examination of applications in the service of Clinical Pathology, Hospital Dr. Nélio Mendonça, with markers of CD during period January 2002 to December 2010.

The determination of serum markers (anti-tissue transglutaminase antibodies IgA (AATA) and IgG (AATG), anti-gliadin antibodies IgA (AAGA) and IgG (AAGG)) was performed on an automated analyzer ImmunoCAP 250, which uses the technique Fluoro-Enzyme immunoassay (FEIA).

Of the 1004 applications that required serological markers for CD, 214 had one or more markers positive, belonging to 130 different individuals. Forty-four (44) individuals underwent intestinal biopsy and 38 were positive with morphological features consistent with the diagnosis of celiac disease.

The disease reached more children than adults and was more common in females than in males. The prevalence of CD in ARM according to the results of the biopsies was 15.3 cases per 100,000 population and the incidence was 1.9 / 100,000, with an increasing trend in recent years.

The anti-tissue transglutaminase IgA was the most sensitive marker (95.5%), corresponding to the best marker in early detection of DC. All samples from children younger than two years should be further tested for anti-gliadin antibodies, due to its higher sensitivity (92.3%) compared to anti-tissue transglutaminase IgA (84.6%).

This work has contributed to a better understanding of celiac disease profile of the population of the Autonomous Region of Madeira.

Keywords: celiac disease, serological markers, incidence, prevalence, tissue transglutaminase, gliadin.

Objectivos

Esta tese teve como principal objectivo a rentabilização dos testes laboratoriais, para o estudo de doença celíaca, através da sensibilização dos clínicos relativamente ao pedido mais assertivo dos marcadores sorológicos, que poderão levar à redução de custos inerentes ao diagnóstico de doença celíaca.

Objectivos específicos

- Caracterizar uma população de indivíduos que realizou marcadores sorológicos para a doença celíaca no laboratório de Patologia Clínica do Hospital Dr. Nélio Mendonça (HDNM) entre Janeiro de 2002 e Dezembro de 2010.

- Determinar a incidência e a prevalência de doença celíaca na RAM, entre Janeiro de 2002 e Dezembro de 2010.

- Avaliar o desempenho dos marcadores sorológicos para o diagnóstico de doença celíaca, através da sensibilidade e especificidade.

- Determinar os melhores marcadores sorológicos de doença celíaca na população da Madeira.

- Avaliar o grau de concordância dos resultados obtidos entre os marcadores sorológicos e biópsia para aferição dos marcadores mais fiáveis para o diagnóstico de DC.

1. Introdução

1.1. Etiologia de doença celíaca

A doença celíaca é uma desordem auto-imune intestinal que é encontrada em indivíduos geneticamente susceptíveis. O factor externo para o seu desenvolvimento é o glúten, um complexo grupo de proteínas presentes no trigo, cevada, centeio e (raramente) aveia [3], [11]. Assim, a doença resulta do desencadeamento de uma resposta imunológica humoral (células B) ou celular (células T) à presença do glúten (prolaminas e gluteninas) [3], [7].

Segundo Burtis [11], esta doença pode ser também designada enteropatia sensível ao glúten, espru não-tropical, esteatorréia idiopática e espru celíaco.

A susceptibilidade genética é sugerida por uma alta concordância entre gémeos monozigóticos de cerca de 70 por cento, e uma associação com certos antígenos leucocitários humanos (HLA-DQ2 ou HLA-DQ8) [3]. Aproximadamente 95% dos indivíduos com doença celíaca expressa HLA-DQ2, mas apenas uma pequena percentagem vai desenvolver a doença celíaca [3], [11].

Segundo Hill [2] e Bai [3], a prevalência de DC é de 1 % na população mundial, com maior frequência entre os caucasianos e no género feminino. O único estudo de prevalência de doença celíaca em Portugal foi efectuado na região de Braga e obteve uma prevalência de 1:134 [4]. Um estudo publicado em 1990 encontrou uma incidência de 1:3648 nas unidades de gastroenterologia pediátrica em Portugal [4].

Segundo Sdepanian [27], estudos de triagem têm evidenciado a alta prevalência da doença em crianças e adultos aparentemente saudáveis. Devido à carga genética do indivíduo, os parentes de primeiro grau de indivíduos com doença celíaca estão em maior risco de contrair a doença. Um estudo publicado por Fasano [12] revelou que a prevalência de DC em parentes de primeiro grau foi de 1:10 e em parentes de segundo grau foi de 1:39.

Outras doenças possuem uma elevada prevalência para a DC, nomeadamente anemia por deficiência ferro inexplicada, osteoporose, síndrome de Down, diabetes mellitus tipo 1, doença auto-imune da tiróide, síndrome de Sjögren, perda fetal de repetição inexplicável, atraso da puberdade, deficiência da imunoglobulina IgA, síndrome do intestino irritável, síndrome de Turner, neuropatia periférica, dermatite herpetiforme, defeitos do esmalte dentário, entre outras [2], [7], [9].

A DC pode apresentar sintomas gastrointestinais e não gastrointestinais, e estão descritas várias formas de apresentação: clássica, atípica, silenciosa, latente e refractária [2], [7]. A doença pode ter implicações graves para a saúde devido à má absorção de nutrientes. Actualmente, o único tratamento disponível é a adesão ao longo da vida a uma dieta livre de glúten (DLG) [2].

Segundo Bai [3], o diagnóstico pode ser estabelecido por marcadores sorológicos e biópsia intestinal característicos, mas o diagnóstico definitivo só é possível quando as manifestações clínicas revertem com DLG e é restaurada a morfologia normal da mucosa.

Têm sido descritos vários anticorpos sorológicos associados à DC: anticorpos anti-gliadina (AAG), anticorpos anti-transglutaminase tecidual (AAT) e anticorpos anti-endomísio (AAE). Segundo Antunes [4], a pesquisa destes anticorpos auxilia no diagnóstico e possibilita a selecção dos indivíduos que necessitam de biópsia.

Uma biópsia intestinal é considerada o padrão por excelência para o diagnóstico de doença celíaca [9], [13]. Existe uma variedade de padrões histológicos da mucosa identificados, que são dependentes do estágio da doença do paciente. As principais características da mucosa do intestino delgado variam entre atrofia total ou parcial das vilosidades, aumento no comprimento das criptas e no número de linfócitos intra-epiteliais (LIE) [14].

Quando a DC não é tratada, uma série de complicações podem sugerir, como por exemplo: osteoporose, infertilidade, endocrinopatias, artrite e artralgia, doenças hepáticas, deficiências nutricionais, distúrbios neurológicos, doenças do sistema conjuntivo, doenças auto-imunes, entre outras. Em relação à população em geral, estes pacientes estão em maior risco de desenvolver enteropatia associada ao linfoma de célula T, carcinoma de faringe e esófago, adenocarcinoma de intestino delgado, sendo o mais grave a neoplasia maligna do intestino delgado (linfoma ou carcinoma) [14], [15], [16].

Segundo Green [17], a taxa de mortalidade em indivíduos com DC é maior em relação à população em geral por um factor de 1.9-3.8, sobretudo, devido à neoplasia maligna do intestino delgado. O mesmo estudo demonstrou que uma DLG durante 1 a 5 anos reduz a taxa de mortalidade, revelando que uma DLG é protectora contra a doença maligna nos indivíduos com DC [17].

1.2. Epidemiologia

Na Europa, a DC ocorre em aproximadamente 1% da população, ou seja, um em cada 100 ou 300 indivíduos manifesta DC [2], [3].

A doença pode ocorrer em qualquer idade, em ambos os sexos e em uma ampla variedade de circunstâncias clínicas e ocorre frequentemente sem sintomas gastrointestinais [3], [6]. Segundo Nobre [34], alguns autores relatam que a incidência é maior no sexo feminino, numa proporção de 2:1, enquanto outros citam frequências semelhantes. Antunes [4] obteve uma incidência maior no sexo feminino, com uma relação de 3:1 numa população portuguesa. Recentemente, Cataldo [20] mostrou que a DC afecta da mesma maneira os povos de origem europeia e os países em desenvolvimento.

De acordo com as guidelines da Organização Mundial de Gastroenterologia (WGO) [3], a epidemiologia da DC tem características de iceberg, onde a maioria dos casos permanece não diagnosticados (abaixo da linha de água) do que diagnosticados (acima da linha de água). A forma clássica de DC, na qual há sintomas gastrointestinais, é a ponta do iceberg, enquanto a parte abaixo da linha de água é os que manifestam DC nas formas silenciosa e atípica, ou seja, DC não diagnosticada [5].

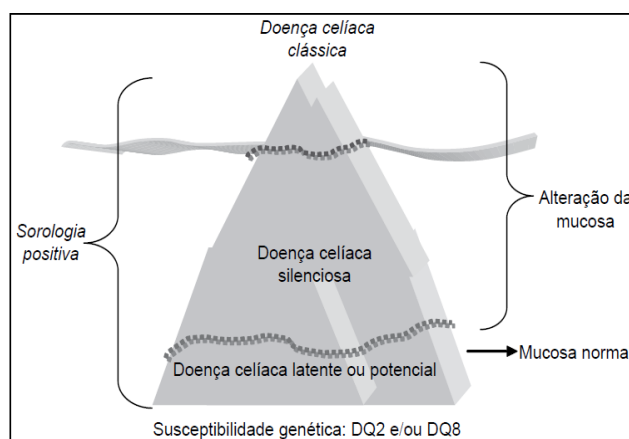


Figura 1 - O iceberg celíaco [5].

A Figura 1 mostra o quanto a DC é subdiagnosticada, evidenciando que o número de casos diagnosticados é significativamente menor do que os não diagnosticados [3], [18], [19], [21].

A Organização Mundial de Gastroenterologia explica que a razão entre casos diagnosticados e não diagnosticados é dependente do nível de atenção em

relação à DC, da disponibilidade de recursos de diagnósticos e das variações na manifestação clínica (como, por exemplo, dieta local) [3]. Segundo a Associação Portuguesa de Celíacos (APC) [23], a proporção de indivíduos diagnosticados para não diagnosticados situa-se entre 1:5 e 1:13.

1.2.1. Prevalência e incidência

A prevalência de DC é o número de casos presentes em determinada população em um período específico e é parecido em diferentes regiões do mundo. A incidência é número de casos novos encontrados num período específico em determinada população, e não se sabe, se está a aumentar local ou globalmente [3].

O único estudo em Portugal, realizado na região de Braga obteve uma prevalência de 1:134 (0,7%) [4] pelo que se estima que 1 a 3% da população portuguesa seja celíaca. Dados da APC indiciam que existem apenas cerca de 10.000 celíacos diagnosticados em Portugal, o que indica que a DC é uma doença largamente subdiagnosticada que precisa ser rastreada caso a pessoa revele alguns dos sintomas característicos. Estimam que exista entre 70.000 a 100.000 celíacos por diagnosticar em Portugal [23].

Em Portugal, prevêem que a prevalência da doença seja semelhante ao resto da Europa (1/130-300), através de publicações por algumas instituições, provenientes dos serviços de pediatria, mas também de doença celíaca no adulto, com referência particular para as formas silenciosas da doença [19].

Estudos de Paulo Ramalho publicado em 1990 encontraram uma incidência de 1:3648, através do número de casos diagnosticados por gastroenterologistas pediátricos portugueses [4].

Segundo Rostom [7], a Espanha tem tido igualmente um aumento da incidência de DC nos últimos 25 anos, de 6,87 casos/100.000/ano em 1981-90 para 16,04 casos/100.000/ano em 1991-1999, correlacionado com um aumento na apresentação de DC nas formas silenciosas ou atípicas no momento do diagnóstico.

Tal como nas crianças, a incidência de DC em adultos parece ter aumentado nos últimos 20 anos. Este aumento parece ter resultado das mudanças nos padrões de prática, com maior consciencialização da doença pelos clínicos, das suas manifestações atípicas, populações de risco, condições associadas, da

realização rotineira de biópsias intestinais em pacientes submetidos a endoscopia e marcadores sorológicos disponíveis como forma de triagem [7].

No Reino Unido, recomendações sobre alimentação infantil, promoção do aleitamento materno (mais prolongado) e a introdução tardia do glúten na dieta, foram publicadas em 1974. Na sequência destas recomendações, houve uma queda na incidência de DC nas crianças [5], [7]. Como consequência, é hoje evidente que a doença celíaca na infância está a se tornar progressivamente menos comum e alguns autores [19] defendem que crianças com susceptibilidade para desenvolver a doença celíaca, poderão apenas desenvolver esta doença numa altura mais tardia da vida, após exposição a factores desencadeantes.

Ao contrário das guidelines da WGO, Rostom [24] revelou que os estudos de prevalência de DC variam muito nos diferentes países. Esta variabilidade é reflexo das diferenças nas populações de risco de doença celíaca, bem como diferenças no estudo e estratégias de triagem, incluindo a escolha dos marcadores sorológicos, e se a confirmação da biópsia foi realizada ou não [24].

Num estudo italiano de triagem sorológica envolvendo mais de 17.000 crianças em idade escolar, a prevalência de DC foi de 1 em 184 e a proporção de casos conhecidos e não diagnosticados foi 1:7 [25]. A experiência da União Europeia mostrou que, apesar da genética comum e factores ambientais, a apresentação clínica de DC em países vizinhos podem variar muito [27]. Um exemplo típico desse fenómeno é o caso epidemiológico dinamarquês [7], [25]. Até poucos anos atrás, a DC foi considerada rara na Dinamarca, com uma incidência estimada com base na presença de sintomas clássicos de 1/10,000. Ao mesmo tempo, a incidência de doença em países vizinhos (incluindo a Suécia e Finlândia) que partilham origens genéticas semelhantes aumentou após uma diminuição na prática da amamentação e aumento do consumo de glúten durante a infância. Estudos posteriores sugeriram que a triagem sorológica de DC era tão frequente na Dinamarca, na Suécia, com uma prevalência relatada de 1/500 [7], [25].

Estes resultados sugeriram que na Dinamarca a maioria dos casos de DC não foram previamente diagnosticados, provavelmente devido à falta de sintomas gastrointestinais típicos. Factores como, tipo de fórmulas de leite de vaca, aleitamento materno, idade de introdução do glúten, quantidade de glúten e qualidade dos cereais, podem influenciar a apresentação clínica da doença [7], [25], [27].

1.2.2. Factores de Risco

Os familiares de pacientes com DC são os indivíduos de maior risco para desenvolver a DC devido à partilha de factores de risco genéticos e ambientais. Os riscos são muito maiores em parentes de primeiro grau, até 10% e menos aumentados em parentes de segundo grau (2,6% a 5,5%) [6].

No relatório de Rostom [7], a prevalência variou entre 2,8% e 17,2% nos parentes de primeiro grau e entre 2,6% e 19,5% em parentes de segundo grau. Segundo Fasano [12], a prevalência de DC em parentes de primeiro grau é de 4,55% e 2,59% em parentes de segundo grau. Verificaram que a prevalência de DC era tão alta em parentes de primeiro e segundo grau sem sintomas como em parentes com sintomas, ressaltando a importância da predisposição genética como factor de risco para a DC. Por esse motivo, é recomendado a realização de marcadores sorológicos nestes indivíduos para o diagnóstico precoce, evitando complicações da doença, mesmo naqueles que se dizem assintomáticos [2], [9].

O risco é também maior em portadores de osteoporose, infertilidade, diabetes mellitus tipo I e outras doenças auto-imunes, nomeadamente síndrome de Down, Turner e Williams e deficiência de IgA, entre outras associações [3], [6], [12]. Os médicos devem estar informados destes grupos de risco e associações e considerar a suspeita de DC, mesmo na ausência de sintomas gastrointestinais.

De acordo com o relatório de Rostom [6], a prevalência de doença celíaca para os grupos de risco variou entre 1,5% e 3% para pacientes com osteoporose, especialmente naqueles com osteoporose precoce ou osteomalacia. Na diabetes mellitus tipo 1 a prevalência variou de 2% a 5% em adultos e de 3% para 8% em crianças.

A prevalência de DC variou de 1,5% para 9,0% em pacientes com elevados níveis de transaminases de causa desconhecida, entre 2,9% - 6,4% em pacientes com hepatite auto-imune, e até 6,0% com cirrose biliar primária.

Em pacientes com síndrome de Down a prevalência variou de 3% para 12%, com um risco de pelo menos 5 vezes maior do que a população em geral. A DC em pacientes com síndrome de Down e Turner é restrita a pessoas com HLA-DQ2 ou DQ8 [6]. A prevalência de DC em pacientes com síndrome Turner foi de 2% - 10%, variou entre 1,5% a 6,7% na doença auto-imune da tiróide e entre 2,1% e 4,1% em mulheres com infertilidade inexplicada.

A DC está igualmente associada a outras doenças e distúrbios, incluindo a doença de Addison, a nefropatia imunoglobulina A (IgA), epilepsia idiopática, calcificações occipitais e ataxia [6]. Segundo Hill [2], a prevalência da deficiência de Imunoglobulina A (IgA) da DC é 10-16 vezes superior à da população em geral.

Devido à alta prevalência, a DC pode ser encarada mundialmente como um problema de saúde pública, com morbidade variável e não específica e com maior possibilidade de desenvolvimento de complicações graves e doenças malignas do tracto gastrointestinal [90].

1.3. Patogénese

A DC resulta da activação de uma resposta imunológica humoral (células B) e celular (células T) à presença do glúten (prolaminas e gluteninas) do trigo, cevada, centeio e (raramente) aveia, num indivíduo geneticamente susceptível [3]. Além da presença do glúten na dieta, para a expressão da DC é preciso interacção entre factores ambientais, genéticos e imunológicos [27].

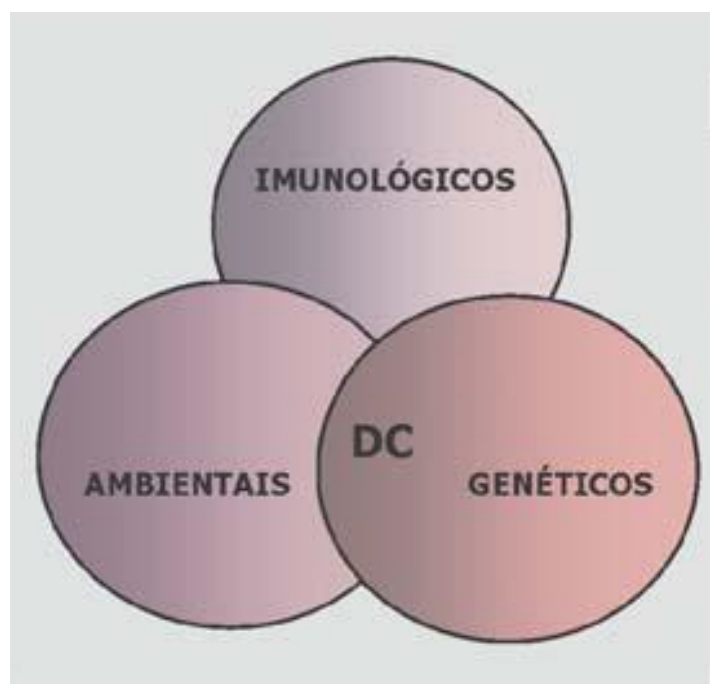


Figura 2 - Factores patogénicos na doença celíaca [18].

A predisposição genética desempenha um papel chave na DC e diversas investigações têm identificado genes que são responsáveis pela predisposição da

DC. A susceptibilidade genética é sugerida pela alta concordância entre gémeos homocigóticos, cerca de 70% e pela associação com determinados antígenos leucocitários humanos (HLA). Os antígenos leucocitários humanos expressos pela DC são o HLA-DQ2 e HLA-DQ8 localizado no cromossomo 6p21. O HLA-DQ2 é encontrado em até 95% dos pacientes com DC, e 5% tem HLA-DQ8 [3], [6], [7], [9].

No entanto, o alelo HLA-DQ2 está também presente na população em geral e é carregado por aproximadamente 30% dos indivíduos caucasianos. Assim, HLA-DQ2 ou HLA-DQ8 são necessários na expressão da doença, mas não são suficientes para o desenvolvimento da doença, seu efeito risco estimado é de apenas 36-53% [3].

Segundo a Sociedade Norte Americana de Gastreenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica (NASPGHAN) [2], os alelos DQ2 e DQ8 têm alta sensibilidade, mas baixa especificidade, um baixo valor preditivo positivo, mas um elevado valor preditivo negativo para a DC. Ou seja, a ausência desses alelos fornece um valor preditivo negativo perto de 100%, ou seja, a doença celíaca é praticamente excluída [2], [6].

De acordo com Kotze [18], a tipagem HLA é utilizada como marcador genético e é utilizada principalmente na triagem de familiares de alto risco para a DC, porém, não é determinação de rotina.

Actualmente sabe-se que a presença de auto-anticorpos contra o elemento do tecido conjuntivo que reveste a musculatura lisa conhecido como endomísio é altamente específico para a DC [3]. O glúten é o factor ambiental desencadeante e a enzima transglutaminase tecidual (tTG) é o principal antígeno endomysial alvo para estes auto-anticorpos [3].

O glúten é uma proteína presente no trigo, centeio, cevada e aveia. Os fragmentos polipeptídicos do glúten, que constituem a fracção do glúten solúvel em álcool, são chamados de prolaminas - fracção tóxica (gliadina no trigo, secalina no centeio, hordeína na cevada e avenina na aveia) e o outro componente insolúvel em etanol, são as gluteninas [27], [28], [29], [30].

Evidências recentes indicam que a aveia não desencadeia uma resposta imune-mediada, nem lesão da mucosa em indivíduos com doença celíaca. No entanto, se a aveia for introduzida na dieta devem ser de uma fonte confiável para garantir que não haja contaminação por trigo, cevada, centeio ou proteínas em qualquer fase do processo desde a colheita até a embalagem [11].

Quer as prolaminas, quer as gluteninas, contêm elevada percentagem de resíduos de prolina (15%) e glutamina (35%), o que as torna resistentes à acção proteolítica da maioria das enzimas entéricas. Das proteínas do trigo, 80% é composta de gliadina e glutenina [18]. Estas proteínas são resistentes à digestão pelas enzimas gástricas e pancreáticas e atingem a lâmina própria do intestino delgado, provavelmente, devido ao aumento da permeabilidade intestinal.

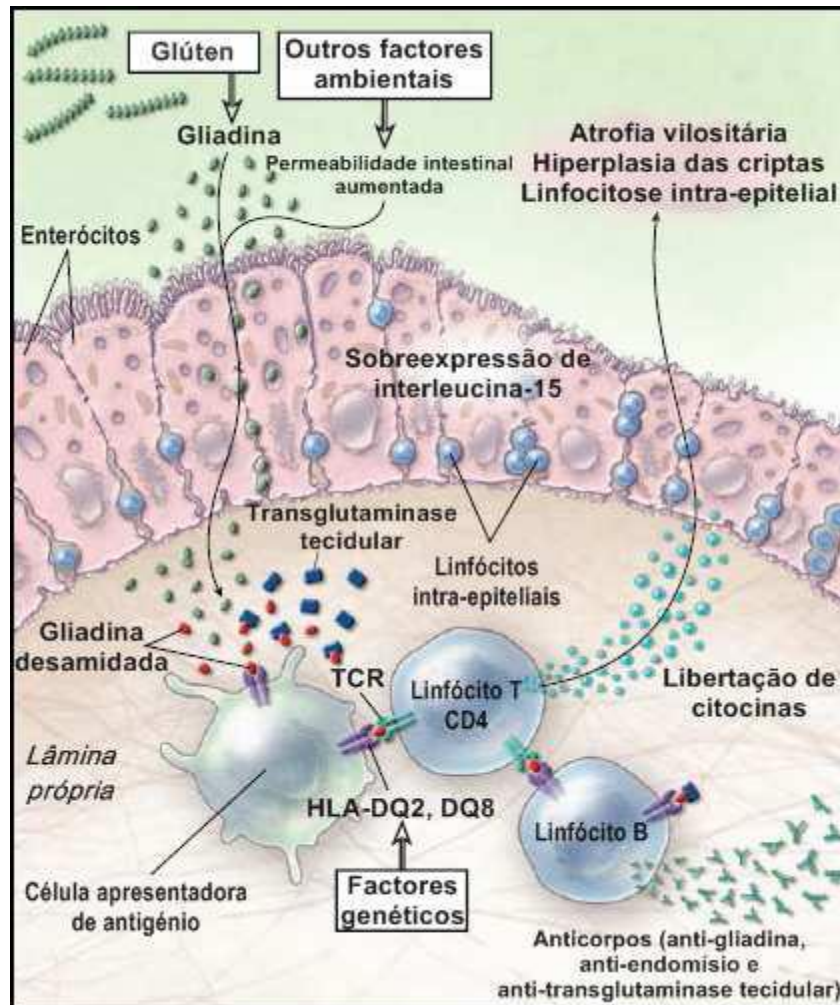


Figura 3 - Interação entre factores ambientais, genéticos e imunológicos na patogénese de doença celíaca (Green [31], Adaptado por Samões [32]).

O glúten, sendo mal digerido pelas enzimas do intestino delgado, é hidrolisado em peptídeos de 10 a 50 aminoácidos de comprimento, ricos em glutamina. Estudos demonstraram que uma sequência de 33 aminoácidos (33-mer) se mantém intacta durante o processo digestivo [19]. São transportadas através da barreira epitelial como polipeptídeos e são expostos à tTG, funcionando como substrato. Essa enzima é libertada em pequenas quantidades principalmente

por células mononucleares, fibroblastos e células endoteliais que residem na matriz subepitelial do intestino delgado [18], que modifica os peptídeos do glúten, transformando os resíduos de glutamina do glúten em ácido glutâmico, por desamidação.

O ácido glutâmico sendo rico em cargas negativas, é mais facilmente reconhecido pelas moléculas de HLA-DQ2 e HLA-DQ8 na superfície das células apresentadoras de antígenos [6], [19], [33].

Na lâmina própria da mucosa do intestino delgado encontram-se uma população de linfócitos T CD4+ que reconhece estes peptídeos quimicamente modificados por meio de receptores de célula T complementar (TCR) e emitem resposta do tipo Th1 e/ou do tipo Th2 com libertação de citocinas, responsáveis pela lesão intestinal [18].

Os linfócitos activados se proliferam e produzem diversas citocinas pró-inflamatórias, interferon-gama em altas concentrações, e alguns deles também secretam uma ou várias das citocinas interleucinas (IL)-4, IL-5, IL-6, IL-10 e factor de necrose tumoral, as quais são responsáveis pela estimulação de células T citotóxicas, a promoção do infiltrado celular e a produção de metaloproteinases que lesam a matriz extracelular e outros mediadores de dano tecidual. Desta forma, inicia-se uma cascata de reacções imunológicas que conduzem, às alterações histológicas e humorais observadas na doença (aumento do número de linfócitos intra-epiteliais, hiperplasia das criptas, atrofia das vilosidades) [5], [6], [8], [18], [27], [31], [34].

Durante a cascata os linfócitos B produzem anticorpos anti-gliadina, anti-transglutaminase tecidual, anti-endomísio e anticorpos contra vários auto-antígenos, muitas vezes relacionados com outras doenças auto-imunes [35].

1.4. Fisiopatologia

O quadro clínico na DC apresenta muita variabilidade em função de diversos factores, como gravidade e amplitude das lesões e idade do paciente. A doença envolve vários órgãos e sistemas, e está dividido entre manifestações intestinais e sintomas e sinais causados pela mal absorção [19].

De acordo com APC [23], a manifestação da doença pode acontecer em qualquer idade desde que o glúten tenha sido introduzido na alimentação, embora

habitualmente surja pelo segundo ou terceiro semestre de vida (entre os 6 e os 20 meses de idade), algum tempo após a introdução de alimentos com glúten na dieta.

Segundo Hill [2], a variabilidade no início dos sintomas pode ser depende da quantidade de glúten na dieta, da duração do aleitamento materno, e o início da introdução de novos alimentos.

Tabela 1 - Possíveis Manifestações Clínicas de DC [25].

Sintomas típicos	Sintomas atípicos	Condições associadas
Diarreia crónica Défice de crescimento Distensão abdominal	Secundária à má absorção Anemia ferropénica Baixa estatura Osteopenia Abortos de repetição Esteatose hepática Dor abdominal recorrente Independente da má absorção Dermatite herpetiforme Hipoplasia do esmalte dentário Ataxia Alopécia Cirrose biliar primária Hipertransaminasemia isolado Estomatites recorrentes Miastenia gravis Pericardite recorrente Psoríase Polineuropatia Epilepsia (com ou sem calcificações intracranianas) Vasculite Cardiomiopatia Dilatada Hipo/Hipertiroidismo	Possivelmente dependente glúten Diabetes Mellitus tipo 1 Tireoidite auto-imune Hepatite auto-imune Síndrome Sjogren Doença de Addison Gastrite auto-imune Glúten independente Síndrome de Down Síndrome de Turner Síndrome de Williams Cardiopatias congênicas Deficiência de IgA

A DC é uma doença do intestino delgado proximal que resulta muitas vezes em deficiência de ferro, deficiência de folato e redução da densidade óssea [17]. Segundo Green [17], a principal característica de doença celíaca sintomática é a

diarreia, devido à progressão de doença no intestino delgado distal, por isso quando apenas o intestino proximal está envolvido, os pacientes normalmente não se queixam de diarreia, devido a compensação e absorção pelo intestino delgado distal.

Segundo Bai [3] da WGO, os sintomas gastrointestinais nos adultos incluem diarreia crónica, perda de peso, anemia, distensão abdominal, cansaço e mal-estar. Inúmeros estudos demonstram que as crianças com DC, tem sintomas gastrointestinais tais como diarreia, dor abdominal, vómitos, constipação, distensão abdominal, deficiência do desenvolvimento, queda no percentil de altura ou peso, atraso de crescimento, enfraquecimento muscular, intestino irritável, hipoproteinemia, irritabilidade e infelicidade [2], [3], [18], [19]. Os principais sintomas não gastrointestinais nos adultos e crianças são: anemia por deficiência de ferro, dermatite herpetiforme, neuropatia periférica, deficiência de ácido fólico e vitamina B12, redução na densidade óssea, infertilidade não explicada [3]. A DC deve ainda ser considerada quando houver hipoalbuminémia, hipertransaminasémia inexplicada [36], osteoporose, osteomalacia, dor ou distensão abdominal recorrente [2], [3], [17], [18].

1.4.1. Classificação

Dependendo das características no momento da apresentação, em conjunto com a histologia no momento do diagnóstico, a DC pode ser subdividida em várias formas clínicas. Actualmente, a Associação Americana de Gastroenterologia (AGA) [24] divide as formas de apresentação de DC em forma clássica, atípica, silenciosa, latente e refractária.

A forma clássica é a forma mais descrita, que se inicia nos primeiros anos de vida (geralmente ocorre entre 6 e 18 meses de idade [25]), após a introdução do glúten na dieta [27]. Os pacientes apresentam características clássicas de má absorção intestinal, como desnutrição, vómitos, diarreia crónica, défice de crescimento, distensão abdominal, falta de apetite, diminuição do tecido celular subcutâneo, atrofia da musculatura glútea e muitas vezes irritabilidade [27]. As principais alterações histológicas são: atrofia parcial ou total das vilosidades, diminuição da altura das vilosidades em relação à profundidade das criptas, hiperplasia das criptas, infiltração de linfócitos na lâmina própria, e um aumento

acentuado no número de linfócitos intra-epiteliais (LIE). Este grupo também pode ser chamado de doente celíaco sintomático [5], [7], [14], [24], [25], [27].

No exame físico, as crianças são muitas vezes pálidas e visivelmente magras com um abdómen protuberante, com diminuição da gordura subcutânea e redução da massa muscular. Em crianças muito jovens com início precoce dos sintomas, pode haver diarreia com desidratação, desequilíbrio de electrólitos, hipoproteinémia grave e edema, resultando num denominado "crise celíaca" [25].

Na forma atípica, predominam sintomas não gastrointestinais, evidenciada por alterações como anemia por deficiência de ferro sem causa aparente, osteoporose, dermatite herpetiforme, artrite e artralgia, infertilidade, abortos de repetição, etc. A baixa estatura está bem descrito como o único sintoma de DC em algumas crianças mais velhas e adolescentes, onde 9% a 10% têm DC [25]. Segundo Rauén [14], as lesões na mucosa oral ou defeitos no esmalte dentário podem ser os únicos sinais na forma atípica da doença. Se não tratada, estes sinais podem provocar complicações, tais como, deficiências nutricionais e doença maligna [2], [14].

Hepatite crónica, hipertransaminasémia, problemas neurológicos, atraso no início da puberdade secundária têm também sido descritos em pacientes adolescentes [25]. Estes pacientes geralmente têm atrofia das vilosidades induzida pelo glúten. São pacientes "assintomáticos" da perspectiva sintomatologia gastrointestinal, e podem ser difíceis ou impossíveis de distinguir do paciente DC "verdadeiro" assintomático ou silencioso [5], [7], [14], [24].

De acordo com Baptista [5], a forma assintomática ou silenciosa é encontrada em indivíduos aparentemente assintomáticos, com marcadores sorológicos positivos e padrão histológico igual à forma clássica, com atrofia parcial ou total da mucosa intestinal, e que respondem bem a uma DLG.

Estes pacientes não manifestam nenhum sintoma gastrointestinal claro ou características associadas atípicas de DC, tais como deficiência de ferro ou osteoporose [24]. Esses pacientes podem ser confundidos com doentes celíacos atípicos se as suas características atípicas não são reconhecidas num estágio inicial [7].

A maioria dos casos nesta forma são identificados através de programas de rastreio que envolvem indivíduos aparentemente saudáveis, grupos de risco, como por exemplo, diabetes mellitus tipo 1 e parentes de primeiro grau de pacientes com DC [5], [27]. Evidências actuais sugerem que indivíduos com DC assintomática ou

silenciosa estão em risco para desenvolver as mesmas complicações a longo prazo vividas por indivíduos com sintomas típicos.

A forma latente representa os pacientes com diagnóstico prévio de DC que responderam a uma DLG e que mantêm uma histologia de mucosa normal ou apresenta apenas aumento do número de LIE. A doença celíaca latente também pode ser representada por pacientes com mucosa intestinal normal numa dieta contendo glúten que vai posteriormente desenvolver a doença celíaca [24] ou enteropatia sensível ao glúten [7]. Uma vez que a biópsia normal pode não ser representativa de todo o intestino, este critério pode ser impreciso. Na forma latente a recuperação da mucosa intestinal com uma DLG pode durar muitos anos antes do desenvolvimento de uma recidiva histológica [5], [7], [14], [27].

Por fim, a forma refractária representa pacientes com DC verdadeira e atrofia das vilosidades (ou seja, diagnóstico certo), revelada por má absorção severa que não responde à DLG ou que mostra deterioração do quadro clínico e histológico, mesmo não transgredindo a dieta, após período de boa resposta inicial [24].

Pacientes com DC refractária não têm necessariamente marcadores sorológicos positivos para a DC [7] e segundo Bai [3] a DC refractária é considerada uma forma de linfoma intra-epitelial de baixo grau, que pode evoluir para complicações como jejuno-ileíte ulcerativa ou enteropatia associada ao linfoma de células T [24]. Esta forma de apresentação deve ser considerada especialmente em pacientes celíacos com mais de 50 anos [3].

Segundo Ferguson [37], a descrição anatomopatológica de DC deveria ser revista e o tratamento com DLG devia ser cuidadosamente monitorizado, dando especial atenção a pacientes com mínimas formas de enteropatia. De acordo com Sdepanian [27] uma nova forma deveria ser considerada para incluir indivíduos com diagnóstico de DC latente ou doentes celíacos com baixo grau de comprometimento, como por exemplo, indivíduos com aumento da contagem de LIE, anticorpos positivos, LIE com elevada expressão gama-delta, parentes de celíacos e indivíduos com deficiência de IgA.

1.4.2. Condições associadas

Um grande número de doenças tem sido associado à DC quer em crianças quer nos adultos. Segundo Pedro [19], o fundo genético comum, em particular a tipagem HLA e a existência de mecanismos de doença imuno-mediados comuns, poderão ser o suporte destas associações.

1.4.2.1. Doenças auto-imunes

As doenças auto-imunes surgem dez vezes mais frequentemente em pacientes com doença celíaca do que na população em geral [17]. A DC parece satisfazer os critérios de uma doença auto-imune para a qual a predisposição genética (HLA), o factor externo (glúten) e o auto-antigénio (tTG) são conhecidos [25].

Essas doenças são: diabetes mellitus insulino-dependente (tipo 1), doença tireoidiana (doença de Graves, tiroidite de Hashimoto), doença de Addison, doença hepática auto-imune, cirrose biliar primária, hepatite/colangite auto-imune, alopecia areata, lúpus eritematoso sistémico, artrite reumatóide, síndrome de Sjögren, esclerodermia, cardiomiopatia, doenças neurológicas [2], [3], [17], [25], [27], [31].

Segundo Fasano [44], esta associação poderá ser explicada pela mesma susceptibilidade genética entre eles (alelos HLA) e relacionada com o aumento da permeabilidade da mucosa intestinal a antigénios que dão origem aos mecanismos auto-imunes. Quando ambas, as doenças auto-imunes e a doença celíaca ocorrem em um paciente, a doença celíaca é muitas vezes silenciosa, como resultado da desordem auto-imune, que é diagnosticada geralmente em primeiro lugar [17].

Estudos revelaram que as doenças auto-imunes podem ser prevenidas através de diagnóstico precoce e tratamento de doença celíaca e que naqueles com uma doença auto-imune estabelecida, uma DLG pode oferecer uma oportunidade de melhora dos sintomas [17]. Segundo Fasano [25], a prevalência de doenças auto-imunes entre os pacientes com DC é proporcional ao tempo de exposição ao glúten.

1.4.2.2. Doença maligna

A persistência de lesão da mucosa com ou sem sintomas típicos pode levar a complicações gastrointestinais sérias. Segundo as guidelines da WGO [3] o adenocarcinoma do intestino delgado, o carcinoma de células escamosas do esófago e orofaringe e o linfoma não-Hodgkin ocorrem com maior frequência em pacientes com DC do que na população em geral. Estas guidelines acreditam, no entanto, que uma DLG protege contra o desenvolvimento da doença maligna, excepto no desenvolvimento de linfomas de células T associados à doença celíaca em pacientes com mais de 50 anos [3].

Segundo Rossi [45], a taxa de mortalidade em pacientes com DC é quase o dobro (1,93) em relação à população em geral. Este aumento está associado principalmente ao aumento da incidência em oito vezes de neoplasias malignas, principalmente de linfomas do intestino delgado, que são 20 a 30 vezes mais frequentes nesses indivíduos [25], [45].

Segundo Fasano e Catassi [25], quando o tratamento apropriado para a DC foi instituído na infância e rigorosamente seguido, a taxa de mortalidade desses pacientes foi igual à população em geral. Por esta razão, Sdepanian [27] sugere que todos os pacientes com DC adirem à uma dieta livre de glúten por toda a vida.

1.4.2.3. Deficiência selectiva de Imunoglobulina A

Existe forte evidência de uma associação entre deficiência selectiva de imunoglobulina A (IgA) e DC. Com base em estudos envolvendo mais de 3.200 adultos e crianças em Itália e na Irlanda, a frequência da deficiência selectiva de IgA na DC foi de aproximadamente 2% [2].

Pessoas com deficiência de IgA são um importante grupo de risco para a doença celíaca, onde aproximadamente 10% são afectados. Consequentemente, os indivíduos com deficiência de IgA têm um risco de 10 a 15 vezes superior à população em geral, de desenvolvimento de DC [46].

De acordo com Nobre [34], a deficiência selectiva de IgA ocorre em 1,7-2,6% dos doentes celíacos, e estes indivíduos não produzem anticorpos de classe IgA, mas produzem geralmente elevada concentração de anticorpos IgG. Portanto, para excluir a doença, é necessário solicitar a medição da IgA sérica total e solicitar anticorpos de classe IgG [34].

1.5. Diagnóstico

A DC é difícil de diagnosticar, devido aos diagnósticos alternativos, apresentando um quadro clínico muito complexo e apresenta-se sob diversas formas. Além disso, há muitas doenças com alterações histológicas semelhantes às encontradas na DC [3]. Actualmente, o diagnóstico de DC requer uma avaliação de uma biópsia do intestino delgado.

Em 1969, a Sociedade Europeia de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica (ESPGHAN), para o diagnóstico de DC solicitava três biópsias da mucosa do intestino delgado: a primeira antes do tratamento para demonstrar anormalidade na mucosa jejunal numa dieta com glúten, a segunda para mostrar uma melhora clara numa DLG e a terceira para demonstrar recidiva histológica após um desafio de glúten [22].

Em 1989, um grupo de trabalho italiano da ESPGHAN reviu estes critérios, e se o quadro clínico (típico ou atípico) fosse compatível e as alterações histológicas fossem claras, biópsias adicionais e o desafio de glúten não eram necessários na maioria das crianças.

Estas sugestões foram incorporadas nos critérios da ESPGHAN em 1990, em apenas dois requisitos. Em primeiro lugar, deve haver na histologia características anormais da mucosa do intestino delgado. Em segundo lugar, deve haver uma clara remissão clínica com uma DLG com alívio de todos os sintomas. A presença de marcadores sorológicos positivos no momento do diagnóstico, e seu desaparecimento com uma DLG adiciona peso ao diagnóstico [22].

Embora os critérios revisados sejam apropriados para a maioria dos pacientes, há casos em que as biópsias adicionais e o desafio glúten são indicados. Estes incluem crianças nas quais a biópsia inicial foi realizada antes dos 2 anos de idade, casos em que o diagnóstico inicial está em dúvida (por exemplo, os doentes com uma DLG sem biópsia inicial, sem alterações na histologia inicial ou uma biópsia inadequada), os pacientes que não são compatíveis com uma DLG ou que questionam o seu diagnóstico e desejam interromper a DLG, e indivíduos assintomáticos detectados através de programas de rastreio [22].

De acordo com Sdepanian [27], o desafio glúten não é indicado, quando pela história clínica, primeira e segunda biópsia (antes e depois da DLG), risco genético comprovado (HLA) e antecedentes de um familiar de primeiro grau com diagnóstico de DC, não existirem dúvidas de diagnóstico. O desafio glúten está

contra indicado nos indivíduos com doença auto-imune ou doenças crónicas graves.

Também segundo Bai [3], a endoscopia com biópsia do intestino delgado associada à sorologia positiva para a doença celíaca e melhora clínica em resposta a uma DLG, permitem o diagnóstico definitivo [17], [3].

Assim, a biópsia intestinal permanece como padrão-ouro para o diagnóstico, baseado no padrão histológico característico (parcial ou total atrofia das vilosidades, hiperplasia de criptas e aumento do número de linfócitos intra-epiteliais) [47].

Em 2002, Hill [22] afirmou que o diagnóstico de DC por outros meios sem ser uma biópsia intestinal continua a ser um ideal. Uma estratégia a ser considerada é a utilização de marcadores sorológicos em combinação com HLA. A combinação de uma característica da apresentação clínica, juntamente com sorologia positiva, tipagem HLA positiva, e resolução completa de sintomas numa DLG pode ser suficiente para um diagnóstico firme em alguns casos. No entanto, não recomendam uma abordagem não-biópsia até que estudos relevantes não sejam realizados para confirmar a confiabilidade.

Em 2005, as guidelines da WGO [3], sugeriram que se a biópsia não estiver disponível, a sorologia pode ser usada para se diagnosticar a DC, uma vez que são mais baratos e o seu valor estatístico é muito similar. Na ausência de biópsia, os critérios de diagnósticos são: presença de auto-anticorpos, título do auto-anticorpo dependente de glúten, sintomas clínicos (quando presentes), melhora nos sintomas e redução no título de AAT com uma DLG e em crianças a recuperação do crescimento devido à dieta [3].

Ainda segundo Bai [3], a cascata de preferência para o diagnóstico de DC são: 1) Auto-anticorpos e endoscopia com biópsia intestinal (padrão ouro), 2) Endoscopia com biópsia intestinal, 3) Auto-anticorpos endomísio ou tTG, ou ambos, 4) diagnóstico baseado no quadro clínico, com melhora após uma DLG.

O médico deve completar a sua observação com um conjunto de análises, para perceber que tipo de perturbações na absorção intestinal está a acontecer. Na fase activa de doença por exemplo, são frequentes a anemia e a diminuição da concentração de alguns componentes do sangue, como o colesterol, o ferro, as proteínas, vitaminas (ácido fólico) ou alterações provocadas pela sua falta (no caso da vitamina K há um aumento do chamado tempo de protrombina, e no da vitamina D alterações do cálcio e do fósforo) [23].

Os marcadores sorológicos têm um papel importante na gestão de pacientes com doença celíaca e fornece uma maior possibilidade de estabelecer o diagnóstico de doença celíaca. Os principais marcadores sorológicos disponíveis comercialmente são: anticorpo anti-endomísio IgA (AAEA), anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA (AATA), anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgG (AATG), anticorpo anti-gliadina IgA (AAGA) e anticorpo anti-gliadina IgG (AAGG) [2], [3].

1.5.1. Marcadores sorológicos na doença celíaca

Os marcadores sorológicos têm alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico e monitorização de DC [11], [17].

Embora uma biópsia intestinal seja considerada necessária para confirmar o diagnóstico de DC, os marcadores sorológicos são a ferramenta necessária para a correcta selecção de indivíduos para a biópsia do intestino delgado no diagnóstico de DC. São particularmente úteis em indivíduos sem sintomas gastrointestinais, nas doenças associadas [8], [25] e também têm sido amplamente utilizados em estudos epidemiológicos para determinar a prevalência de DC [2].

1.5.1.1. Anticorpo anti-endomísio IgA (AAEA)

O AAEA é baseado numa técnica de imunofluorescência que usa esófago de macaco ou cordão umbilical humano como substrato. A precisão do marcador é semelhante para ambos os substratos.

O AAEA liga-se ao endomísio, o tecido conjuntivo ao redor do músculo liso, produzindo um padrão de coloração característico. O resultado é expresso simplesmente como positivo ou negativo, uma vez que até títulos baixos do AAEA no soro são específicos para a DC [3]. Segundo Bai [3], o antigénio ao qual este anticorpo liga-se é a transglutaminase tecidual (tTG). Este teste é mais demorado para executar, em geral mais caro e a interpretação é dependente do operador, potencialmente mais propenso a erros [2], [24].

Numa análise de diversos estudos, realizado por Rostom [24], o AAEA utilizando esófago de macaco como substrato, apresentou sensibilidades entre os

96% e 97%, nos adultos e nas crianças e variou de 86% a 98% em populações mistas. A especificidade foi superior a 97% nos três grupos populacionais.

O AAEA utilizando cordão umbilical humano como substrato, revelou especificidade de 100% em quase todos os estudos, e a sensibilidade variou de 90% a 97% nas três populações [24].

Segundo Hill [2], o AAEA pode ser menos preciso em crianças menores de 2 anos de idade, sendo particularmente útil, no diagnóstico, na monitorização da dieta, rastreamento de familiares de celíacos e detecção de DC associado a outras doenças auto-imunes [18]. Os autores acreditam, porém, que se deva realizar, sempre um painel sorológico, associando AAT e AAE, como forma de se aumentar o desempenho do diagnóstico.

1.5.1.2. Anticorpo anti-transglutaminase tecidual (AAT)

Em 1997, Dieterich *et al.* demonstrou que o principal, senão o único epítopo, contra o qual o anticorpo anti-endomísio está dirigido é a enzima transglutaminase tecidual (tTG). Os AAT são altamente sensíveis e específicos para o diagnóstico de DC [3].

A tTG está largamente distribuída em vários tecidos e órgãos humanos [49]. Está localizada no citoplasma celular e é libertada durante lesões e está associada à superfície celular ou a certas moléculas da matriz extracelular. O papel da tTG ainda não está bem estabelecido, mas há evidências de que pode ter um papel importante na estabilização da matriz extracelular e nos mecanismos de reparação tecidual [49]. De acordo com Kotze [18], em tecidos danificados, não só na DC, os níveis de tTG aumentam.

O teste é efectuado pelo método *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), que é independente do operador, mais barato e mais fáceis de realizar. De acordo com Kotze [18], a principal desvantagem é que pode dar resultados positivos em outras doenças sistémicas ou gastrointestinais.

Inicialmente, os ensaios de tTG usavam proteína de cobaia (*Cavia porcellus*), que foi posteriormente substituída pela enzima humana purificada obtida de hemácias ou produzida por engenharia genética, denominada transglutaminase humana recombinante, devido ao seu baixo desempenho [2], [50].

Na análise de Rostom [24], o anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA (AATA) de cobaia apresentou sensibilidades e especificidades mais baixas que o AATA humana purificada ou humana recombinante em adultos e crianças. Zintzaras [51], comparou a performance da tTG utilizando enzima de cobaias, enzima humana recombinante e humana purificada, e obteve sensibilidades de 91%, 94% e 94%, respectivamente. Quanto à especificidade, foi de 89%, 95% e 94% respectivamente. Concluíram, assim, pela superioridade das duas últimas sobre a primeira. De acordo com Nobre [34], diversos autores têm proposto a mediação da tTG de classe IgA, utilizando a transglutaminase humana recombinante, como o melhor marcador na triagem da DC.

Na mesma análise, a sensibilidade e especificidade do anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgG (AATG) variou de 84% a 97% e 91% a 93%, respectivamente. A sensibilidade foi de quase 100% em indivíduos sintomáticos com conhecida deficiência selectiva de IgA [24].

Um dos factores que pode influenciar a sensibilidade dos anticorpos anti-transglutaminase tecidual (AAT) é a idade. Os títulos de AATA são maiores em pacientes mais velhos, de forma semelhante aos AAE, e é frequentemente negativa em pacientes com DC com menos de dois anos de idade [30], [52].

A Pharmacia Diagnostics desenvolveu um teste, Celikey® (anticorpo anti-transglutaminase tecidual), que apresenta um excelente desempenho clínico, provado em muitas publicações independentes, com sensibilidade e especificidade clínica próxima de 100%.

Tem um desempenho idêntico ao AAE e ao mesmo tempo, a alta especificidade de Celikey® ajuda a evitar biópsias desnecessárias, crucial quando se trata de um grupo de pacientes mais afectados, as crianças pequenas [53].

Portanto, os AAE e AAT podem ser considerados como equivalentes. A fim de obter um imuno-ensaio altamente sensível e específico que dá resultados idênticos ao AAE, o antigénio tTG tem que cumprir certos requisitos. Segundo a casa comercial phadia [79], a tTG deve ser de alta pureza e deve apresentar a mesma estrutura tridimensional que o antigénio endomísio. Isso foi conseguido através da produção da tTG humana recombinante no sistema de célula eucariótica baculovirus, insecto que garante um antigénio muito puro e com uma boa estrutura, e com resultados muito altos de sensibilidade e especificidade clínica. Diversas publicações independentes comprovaram o excelente

desempenho clínico dos ensaios Celikey™ e verificaram a sua excelente concordância com o AAE [79].

A técnica de AAE pode ser substituída por Celikey™ sem qualquer perda de precisão do diagnóstico. Celikey™ teve uma excelente concordância de 99% com AAE em termos de desempenho clínico [54].

Rostom [24] recomenda o anticorpo anti-tTG IgA (AATA), como o mais eficiente marcador sorológico para a detecção de doença celíaca.

1.5.1.3. Anticorpo anti-gliadina (AAG)

Os anticorpos anti-gliadina (AAG) foram os primeiros marcadores sorológicos descritos na DC, são de fácil execução, baixo custo e são predominantemente das classes IgA e IgG, detectados por meio da técnica imunoenzimática ELISA [2].

Para o diagnóstico de DC os anticorpos anti-gliadina IgA (AAGA) mostram-se mais específicos para a DC do que os anticorpos anti-gliadina IgG (AAGG), que demonstram maior sensibilidade [47], [55].

A determinação dos AAG é válida e de grande utilidade para seleccionar os pacientes para a biópsia intestinal, nos quais se suspeita de doença celíaca, assim como no seguimento dos pacientes celíacos em relação a adesão à DLG [27].

Segundo Farrel [66], após uma DLG, os AAGA mostram-se bastante úteis para a monitorização, já que diminuem rapidamente, normalizando-se, em média, em três a seis meses, elevando-se, também rapidamente, em casos de transgressão dietética. Enquanto a determinação de AAGG permanece importante para pacientes com deficiência selectiva de IgA, e para avaliar o cumprimento de uma DLG, uma vez que as IgG persistem durante mais tempo [34].

Nos indivíduos sem títulos detectáveis do AAGA, nos quais há suspeita de doença celíaca, é importante a medição da concentração sérica da IgA, e caso esteja ausente é importante a realização do AAGG [49].

De acordo com Baptista [5], estes anticorpos podem estar também elevados em pacientes com outras doenças gastrointestinais e podem ser encontrados em indivíduos normais. Romaldini [5] relata que altos títulos dos AAG são encontrados em pacientes com enteropatias não-celíaca como, por exemplo, na alergia à proteína do leite de vaca, na síndrome pós-enterite (diarreia persistente) e na doença de Crohn. A presença destes anticorpos é também

relatada em outras doenças sem ser do tracto gastrointestinal como, por exemplo, na síndrome de Sjögren e na artrite reumatoide [5].

Num artigo de revisão a Associação Norte Americana de Gastroenterologia concluiu que a especificidade dos AAGA é próxima de 90% e a sensibilidade variou entre 85% e 90%. Devido ao seu baixo valor preditivo positivo, os AAGA não são atraentes na prática clínica e também pela existência de testes alternativos com melhor desempenho [24].

Segundo Hill [2], a sensibilidade dos AAGA entre os estudos variou entre 52% e 100% em crianças e entre 65% e 100% em adultos. A especificidade do AAGA em crianças variou entre 92% e 97% e em adultos entre 71% e 97%. A sensibilidade do AAGG foi muito semelhante ao AAGA, mas a especificidade foi muito menor, aproximadamente 50%.

Apesar destes testes demonstrarem moderada sensibilidade e especificidade, o seu valor preditivo na população geral é relativamente pobre [18]. Por essa razão, Kotze [18] sugeriu que os AAG não sejam recomendados como testes de rotina, pois podem ser identificados em indivíduos normais, em doenças auto-imunes, na alergia alimentar, infecções e parasitoses intestinais.

Segundo Bürgin-Wolff [56], a maior utilidade dos AAG, actualmente, relaciona-se ao diagnóstico de DC em pacientes pediátricos, com idade inferior a 2 anos de idade. Crianças menores de 2 anos de idade que sofrem de DC podem ainda não ter desenvolvido anticorpos para tTG, enquanto a gliadina já está presente e podem fornecer ajuda nas decisões de diagnóstico [56], [57].

Os anticorpos anti-gliadina também são úteis para apoiar os resultados dos anticorpos anti-tTG e assim pode adicionar decisões mais seguras ao diagnóstico.

Uma nova geração de marcadores sorológicos foi desenvolvida para detectar peptídeos homólogos da gliadina desamidada com alta sensibilidade e especificidade para o acompanhamento de pacientes com DC [58].

A gliadina é uma mistura complexa de proteínas de armazenamento de cereais, e provoca uma resposta imune estendida para vários epítomos em pacientes com doença celíaca. O mais importante, epítomos de células T e B são gerados por uma ordenada desamidação de certos resíduos de glutamina pela função enzimática da transglutaminase ou pelo pouco ambiente ácido no estômago. Estes peptídeos gliadina desamidados (PGD) modificados foram mostrados terem maior afinidade com moléculas HLA-DQ2 e HLA-DQ8 de células apresentadoras de antígenos e, assim, induzir a resposta das células T [58].

Anticorpos anti-PGD IgG são mais sensíveis e mais específicos para a DC do que anticorpos anti-gliadina IgG e o seu desempenho é pelo menos tão bom, quanto anticorpos anti-PGD IgA. O desempenho de anticorpos anti-PGD IgG também é relatado para ser comparável ao desempenho de anticorpos anti-tTG IgA (AATA) [59].

Quando comparados com a tTG, o anticorpo anti-PGD é detectado mais precocemente após exposição ao glúten e permanece por mais tempo em circulação, o que é mais vantajoso no acompanhamento a longo prazo da adesão à dieta. Estudos usando peptídeos de gliadina desamidado mostraram sensibilidade e especificidade semelhantes aos encontrados com os AATA [59].

1.5.2. Deficiência de IgA

A deficiência seletiva de IgA é 10 a 15 vezes mais frequente em pacientes com doença celíaca do que na população geral [49]. Indivíduos com deficiência selectiva de IgA e doença celíaca não terá anticorpos IgA, mas normalmente têm uma concentração elevada de anticorpos IgG [27], [49].

A determinação de anticorpos da classe IgG, AAG (AAGG), AAE (AAE IgG), e AAT (AATG) permite a identificação de indivíduos deficientes em IgA com DC [46].

Tendo em vista o risco aumentado de doença na deficiência de IgA, uma biópsia do intestino delgado deve ser considerado na combinação de um marcador IgG positivo e deficiência de IgA e em todos os indivíduos com deficiência de IgA com sintomas característicos de doença celíaca [2], [11], [17].

Com base em estudos, Hill [2] considera que os AAE IgG e AATG são melhores do que os AAGG para identificação de indivíduos com deficiência de IgA.

Segundo diversos autores, a sensibilidade de AAE IgG e AATG está perto de 100%, quando realizados nesse grupo de indivíduos [24], [60]. Segundo Cataldo [60], os AAE IgG e AATG revelaram-se inadequados na monitorização da dieta nos indivíduos com deficiência de IgA, havendo melhor performance dos AAGG para essa finalidade. Apesar de apresentar sensibilidade e especificidade por volta de 80% a 90%, o AAGG é um método que deixa a desejar, devido ao seu baixo valor preditivo positivo [2], [6], [52].

Dahlbom [46] mostrou que AATG recombinante humano pode ser usado como uma alternativa confiável ao AAE IgG para o diagnóstico de DC em

pacientes com deficiência de IgA, com uma concordância entre os métodos de 97%. Os AATG revelaram alta sensibilidade diagnóstica para a DC em deficiência de IgA [61].

Villalta [61] estudou a relação entre peptídeos gliadina desamidados IgG e deficiência de IgA e mostrou que a sensibilidade do diagnóstico de anticorpos anti-PGD IgG é comparável com a de AATG. A alta precisão de diagnóstico da classe IgG de anti-PGD torna-o uma potencial ferramenta para o diagnóstico de DC em pacientes deficientes em IgA.

Segundo Hill [2], a estratégia de determinação de rotina dos níveis séricos de IgA ou a adição de sorologia IgG em indivíduos assintomáticos na população em geral não se justifica. Em pacientes sintomáticos com suspeita clínica de DC, a medição da IgA total durante o processo de selecção é uma maior consideração de forma a avaliar com precisão o significado de um marcador sorológico negativo [2].

A Associação Norte Americana de Gastroenterologia (AGA) [24] não sugere, igualmente, a medição no soro de níveis de IgA junto com AAEA ou AATA rotineiramente, porque não justifica como um primeiro passo para o diagnóstico, a menos que a deficiência de IgA seja fortemente suspeita, uma vez que a prevalência de deficiência de IgA na doença celíaca é suficientemente baixa.

Para aqueles indivíduos com conhecida deficiência selectiva de IgA de que são verdadeiramente assintomática, mas com alto risco de DC (por exemplo, parentes de primeiro grau, diabéticos tipo 1), tTG IgG é uma consideração [2].

Dois algoritmos de testes têm sido propostas: ou todos os pacientes são seleccionados por deficiência de IgA ou IgA total é medido em apenas aqueles pacientes com AATA abaixo do *cut-off* estabelecido [61].

A Sociedade Norte Americana de Gastroenterologia, Hepatologia, Nutrição Pediátrica (NASPGHAN) [2] e a Associação Americana de Gastroenterologia (AGA) [24] recomendam o AATA como o único marcador sorológico a ser utilizado na triagem inicial de DC, devido ao seu bom desempenho tanto em adultos como em crianças, associado à facilidade de execução e ao baixo preço do teste.

1.6. Antígenos leucocitários humanos (HLA)

A DC apresenta uma forte associação com HLA, sendo que 90% a 95% dos casos estão associados com os HLA-DQ2 e o resto está associado com HLA-DQ8 [2], [34]. De acordo com Nobre [34], o alelo HLA-DQ2 é comum na população em geral, mas apenas uma pequena percentagem destes indivíduos virá a desenvolver DC.

Os HLA apresentam um alto valor preditivo negativo, por essa razão estes marcadores podem contribuir para a exclusão do diagnóstico em situações duvidosas [34], isto é, a ausência destes marcadores torna muito difícil a presença ou o desenvolvimento de DC, enquanto um resultado positivo é inconclusivo, pela elevada frequência na população [5].

Em 2009, um consenso na Inglaterra [9] sugeriu que os HLA devem ser solicitados apenas em casos especiais e por especialistas, devido à complexidade da sua interpretação.

Segundo Rostom [6], se a doença celíaca for fortemente suspeita apesar dos marcadores sorológicos negativos é útil fazer a pesquisa dos marcadores genéticos HLA-DQ2 e DQ8, devido ao seu elevado valor preditivo negativo (100%). Se os marcadores genéticos forem positivos, uma biópsia da mucosa intestinal deve ser feita ou avançar directamente para a biópsia do intestino, se os sinais e sintomas forem fortemente suspeitos de doença celíaca.

1.7. Biópsia e histologia

Segundo as guidelines da WGO [3], as biópsias intestinais associadas aos marcadores sorológicos positivos representam o padrão ouro para o diagnóstico de DC.

Uma biópsia intestinal pode ser feita em várias circunstâncias: se os resultados dos marcadores sorológicos são sugestivos de doença celíaca, ou se os marcadores sorológicos são negativos, mas a suspeita clínica é elevada. As biópsias também podem ser feitas durante a endoscopia, se sinais de atrofia das vilosidades forem evidentes, ou se houver outra indicação de doença, como por exemplo, a presença de anemia ferropénica, apesar de o aspecto endoscópico ser normal [17].

A biópsia do intestino delgado pode ser realizada por cápsula de sucção ou por endoscopia digestiva alta. Em 1990, a ESPGHAN recomendou a biópsia do intestino delgado por cápsula, o National Institutes of Health (NIH) em 2004 [1], a NASPGHAN em 2005 [2] e a AGA em 2006 [6] sugeriram a biópsia duodenal por endoscopia para fazer o diagnóstico anatomopatológico de DC, com recolha de amostras múltiplas.

As principais vantagens da biópsia por endoscopia são, a capacidade de inspeccionar a mucosa e obtenção de várias amostras, em menor tempo de procedimento e a ausência de radiação. As amostras obtidas normalmente são pequenas e apresentam artefactos por esmagamento e estão limitadas ao duodeno proximal [27]. A principal desvantagem é o elevado custo envolvido.

As biópsias por cápsulas de sucção são geralmente obtidas a partir da região do ligamento de Treitz, são deglutidas pelo paciente e a localização é confirmada por exame radiológico [2]. As dimensões dos fragmentos da mucosa obtida com cápsula são normalmente maiores que os obtidos por endoscopia [27].

Apresentam a vantagem de serem aparelhos de baixo custo, e não é necessário uma formação demorada para a sua execução. De acordo com Rodrigo [30], a principal vantagem da biópsia por cápsula está nos pacientes com DC em que há atrofia vilositária significativa no jejuno proximal, uma zona que não é habitualmente alcançada pelos endoscópios.

Segundo Hill [2], para a confirmação do diagnóstico de DC é necessário uma biópsia intestinal em todos os casos. Como as mudanças histológicas na DC podem ser irregulares, é recomendado que múltiplas amostras (quatro a seis fragmentos) de biópsia devem ser obtidas a partir da segunda parte ou mais distal parte do duodeno [2]. Destacando-se a vantagem da biópsia por endoscopia na obtenção de um maior número de amostras em relação à biópsia por cápsula.

Segundo Hill [22], os aspectos característicos na histologia incluem parcial a total atrofia de vilosidades, alongamento das criptas, aumento do índice mitótico nas criptas, aumento do número de linfócitos intra-epiteliais (LIE), com um índice mitótico de linfócitos acima de 0,2%, infiltração de células plasmáticas, linfócitos, mastócitos, e eosinófilos na lâmina própria, perda da polaridade nuclear, com pseudo-estratificação das células epiteliais, ausência de uma fronteira de escovas identificáveis e anormalidades nas células epiteliais. As mudanças são progressivas, iniciam-se com um infiltrado celular seguido por hiperplasia das criptas e por fim, atrofia de vilosidades.

De acordo com Hill [22], quando há hiperplasia das criptas e atrofia das vilosidades, o diagnóstico pode ser considerado com confiança. Por outro lado, é menos certo quando apenas um aumento no número de LIE estão presentes [22].

Os pacientes devem ser submetidos à biópsia do intestino delgado logo após a obtenção de um marcador sorológico positivo e devem ser instruídos a não evitar o glúten até as amostras de biópsia serem obtidas [6].

Em circunstâncias onde o diagnóstico é incerto, estratégias adicionais podem ser considerados, incluindo a determinação de HLA, repetição da biópsia ou uma tentativa de tratamento com uma DLG e repetir a sorologia e a biópsia [2]. Segundo Holtmeier [8], a repetição da biópsia poderá ser muito confusa, já que a normalização da histologia pode levar até oito anos.

1.7.1. Classificação de Marsh

Segundo a classificação proposta por Marsh (1992), há um reconhecido espectro de características histológicas, que variam de leve a grave [2], [5]. Marsh classificou as alterações histológicas de DC em:

Fase pré-infiltrativa (Estágio 0): apresenta mucosa normal e a doença celíaca é improvável [19]. Segundo Bai [3], 5% dos pacientes com dermatite herpetiforme apresentam biópsia do intestino delgado aparentemente normal.

Lesão infiltrativa (Estágio I): aumento no número de linfócitos intra-epiteliais (LIE) para mais de 30 linfócitos por 100 enterócitos [3]. De acordo com Baptista [5], a linfocitose intra-epitelial não é específica de DC e pode estar presente no sprue tropical, giardíase, enteropatias infecciosas, doença de Crohn e outras doenças auto-imunes.

Lesão hiperplásica (Estágio II): aumento no número de LIE e aumento da profundidade das criptas (hiperplasia das criptas) sem diminuição da altura das vilosidades [3]. O desafio com glúten pode ser responsável por estas alterações, e 20% dos pacientes com DC e dermatite herpetiforme não tratados podem também apresentar estas alterações histológicas [3].

Lesão destrutiva (Estágio III): Além das características do estágio II, apresenta variável grau de atrofia das vilosidades, moderada ou intensa redução da altura das vilosidades [2], [5]. Segundo Bai [3], este estágio é encontrado em 40% dos pacientes com dermatite herpetiforme e 10 a 20% dos parentes de primeiro grau de portadores de DC. O estágio III é considerado a lesão celíaca clássica, no entanto, não faz o diagnóstico de DC, uma vez que pode ser também encontrado na giardíase severa, na hipersensibilidade infantil a alimentos, na isquemia crónica do delgado, no espru tropical, nas deficiências de imunoglobulinas e outras imunodeficiências [3].

Lesão hipoplásica (Estágio IV): apresenta total atrofia das vilosidades e pode ser visível num grupo restrito de pacientes que não respondem à uma DLG e podem desenvolver lesões malignas. Segundo Bai [3], os pacientes com este tipo de lesões geralmente não respondem ao tratamento com esteróides, agentes imunossupressores ou quimioterapia.

Nobre [34] revelou que a resolução histológica normalmente ocorre entre 6-12 meses após a instituição de uma DLG, no entanto, verificou que os doentes mais jovens (15-30 anos) é que apresentaram resolução histológica e os acima desta faixa apresentavam apenas melhoria das lesões. Vários autores consideram que o tempo de exposição ao glúten é um dos factores responsáveis pela velocidade de recuperação histológica nos adultos, com uma relação inversamente proporcional [34].

1.8. Tratamento

Actualmente, o único tratamento para a doença celíaca é uma dieta livre de glúten (DLG) para toda a vida [3], [5], [17], [19].

Na DLG a cevada, o trigo e o centeio são evitados [3], [19]. Embora os estudos revelem que a maioria dos doentes celíacos tolera a aveia, o seu consumo não é consensual devido à frequente contaminação desses produtos com outros grãos (mesmo quantidades mínimas de trigo, centeio ou cevada), mas é segura para comer em mais de 95% dos casos [3].

Segundo Kotze [18], o tratamento tem como objectivo, eliminar as alterações fisiopatológicas intestinais, ajudar e melhorar a absorção dos nutrientes,

normalizar o trânsito intestinal, recuperar o estado nutricional e melhorar a qualidade de vida dos doentes celíacos.

É recomendado que o tratamento seja iniciado apenas após o diagnóstico ser confirmado por uma biópsia intestinal [2], [17], [34]. A intervenção sem um diagnóstico adequado é inconveniente, uma vez que envolve uma vida livre de glúten, comprometendo-se a uma dieta que pode ser cara, com deficiências nutricionais e com uma menor qualidade de vida.

Se acordo com as guidelines da WGO [3], após prescrever uma DLG, a estratégia inicial do tratamento consiste em encaminhar o paciente a um nutricionista para uma educação sobre uma DLG, encaminhamento para um grupo de apoio para apoio emocional e psicológico e servir como fonte de informação de produtos sem glúten disponíveis localmente e acompanhamento por um médico para fazer o rastreio de deficiência de ferro e folato e se for necessário, fornecer suplementos de nutrientes, recomendar teste de densidade óssea (em alguns casos), suplementação de vitamina D e cálcio, se o paciente for osteoporótico. Por fim, é recomendado o rastreamento sorológico para os parentes de primeiro e segundo grau de doentes celíacos. Segundo Pedro [19], é necessário monitorizar a adesão à dieta com marcadores sorológicos e repetir biópsia intestinal se a evolução clínica não for adequada.

Há boas evidências de que o tratamento com um DLG inverte a mineralização óssea reduzida em crianças com DC [2], enquanto nos adultos com osteoporose, mesmo com tratamento de reposição de cálcio e vitamina D, as melhoras são poucas [18].

A fertilidade volta ao normal e diminui a taxa de abortos espontâneos e a frequência de recém-nascidos de baixo peso em mulheres adultas com DC. Evidências epidemiológicas sugerem que o tratamento de DC pode diminuir o risco de alguns tipos de cancro intestinal e menores taxas de mortalidade em relação a população em geral, comparados com aqueles que permanecem sem tratamento [2].

Num estudo, Sdepanian [43] concluiu que o esclarecimento da doença e do seu tratamento desempenha um papel importante na obediência à dieta, pois quanto maior o grau de conhecimento, maior a obediência à dieta. Portanto, os médicos, nutricionistas, assim como, associações de celíacos são importantes no aumento do número de pacientes obedientes à dieta, e garantir deste modo o sucesso do tratamento [43].

1.8.1. Acompanhamento

O Comité de Orientação de doença celíaca na NASPGHAN [2] recomenda que as crianças com DC devem ser monitorizadas com visitas periódicas para avaliação dos sintomas, crescimento, exame físico e adesão a uma DLG. É recomendado a medição dos AAT após 6 meses de tratamento com uma DLG, de forma a verificar a diminuição no título de anticorpos devido a aderência à dieta e recuperação. Medição de AAT também é recomendada em indivíduos com sintomas persistentes ou recorrentes a qualquer momento depois de iniciar uma DLG. Em pacientes assintomático, a medição de AAT em intervalos de 1 ano ou mais pode servir para monitorizar a adesão à DLG [2].

É recomendado monitorizar a resolução dos sintomas, manutenção do crescimento e desenvolvimento, revisão da dieta e repetição dos marcadores sorológicos [2].

Segundo Bai [3], os adultos atingem uma melhor qualidade de vida com uma DLG, enquanto nas crianças, a qualidade de vida é comparável à de uma população normal. No entanto, alguns investigadores têm relatado que as mulheres com doença celíaca não conseguem atingir o mesmo grau de subjectivo de saúde como a população em geral. Além disso, adolescentes têm mais dificuldade para aderir à dieta. [17]. O prognóstico para os seguidores de uma DLG é bom.

2. Materiais e Métodos

2.1. Amostragem

Este estudo incidiu em indivíduos que realizaram análises com marcadores sorológicos para a doença celíaca entre Janeiro de 2002 e Dezembro de 2010 no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Dr. Nélio Mendonça (HRNM). Os pedidos das análises foram provenientes dos serviços de pediatria, gastroenterologia, consulta Externa, urgência, outros serviços do Hospital Dr. Nélio Mendonça e do Hospital dos Marmeleiros e centros de Saúde de todo o Arquipélago da Madeira.

Durante o referido período foi registado um total de mil e quatro (1004) pedidos de marcadores sorológicos para a DC.

2.2. Recolha de dados

A recolha dos dados foi efectuada com recurso a dois softwares do Laboratório de Patologia Clínica, o *ModIn* e o *Modulab*. Em Junho de 2008, o *ModIn* foi substituído pelo *Modulab*.

Primeiramente foi aplicado um filtro ao software *ModIn*, entre Janeiro de 2002 e Junho de 2008, com os seguintes marcadores:

AAGA - Anticorpo anti-gliadina IgA

AAGG - Anticorpo anti-gliadina IgG

AATA - Anticorpo anti-transglutaminase IgA

AATG - Anticorpo anti-transglutaminase IgG

AAEA - Anticorpo anti-endomísio IgA

Por cada pedido, foram apurados dados demográficos, clínicos e laboratoriais, incluindo sexo, idade, serviço de proveniência do pedido de análise e os resultados dos marcadores sorológicos (AAGA, AAGG, AATA, AATG, AAEA).

Posteriormente, foi aplicado um filtro ao software *Modulab*, entre Junho de 2008 e Dezembro de 2010, com os seguintes marcadores:

AAGA - Anticorpo anti-gliadina IgA
AAGG - Anticorpo anti-gliadina IgG
AATA - Anticorpo anti-transglutaminase IgA
AATG - Anticorpo anti-transglutaminase IgG
AAEA - Anticorpo antiendomísio IgA
Imunoglobulina IgA

Por cada pedido, foram igualmente apurados alguns dados demográficos, clínicos e laboratoriais, incluindo sexo, idade e data de nascimento do paciente, serviço de proveniência, diagnóstico clínico e resultados dos marcadores sorológicos. Os dados foram informatizados numa folha de Excel 2007 para posterior tratamento.

Após tratamento dos dados anteriores, todos os pacientes com marcadores sorológicos positivos para a DC, foi verificado se havia algum relatório anatomopatológico associado ao processo do paciente. Estes dados foram consultados a partir do portal REDMED (Registo Electrónico de Doentes) pela Directora de Serviço do Laboratório de Patologia Clínica do HDNM.

Algumas biópsias de pacientes em idades pediátricas foram confirmadas pelo serviço de pediatria do HDNM, pelas Dr^{as}. Rute Gonçalves e Joana Oliveira.

2.3. Procedimento experimental

A determinação dos marcadores sorológicos foi realizada *in vitro* no analisador automático ImmunoCAP 250 (Figura 4).

Os marcadores sorológicos foram os seguintes:

EliA Celikey IgA – anticorpos anti-transglutaminase tecidular IgA (AATA)

EliA Celikey IgG – anticorpos anti-transglutaminase tecidular IgG (AATG)

EliA Gliadin IgA – anticorpos anti-gliadina IgA (AAGA)

EliA Gliadin IgG – anticorpos anti-gliadina IgG (AAGG)



Figura 4 - Analisador automático ImmunoCAP 250.

O ImmunoCAP 250 é um equipamento altamente automatizado, projectado para o diagnóstico laboratorial das alergias e doenças auto-imunes. Este ensaio utiliza a técnica *Fluoro-Enzyme ImmunoAssay* (FEIA), que se baseia na reacção do soro/plasma com uma fase sólida (EliA™), à qual está ligada covalentemente ao antigénio específico em estudo. O teste FEIA é um imuno-ensaio tipo sanduíche.

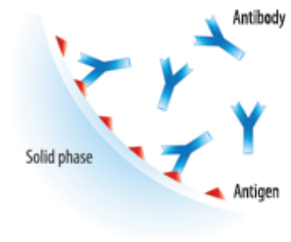
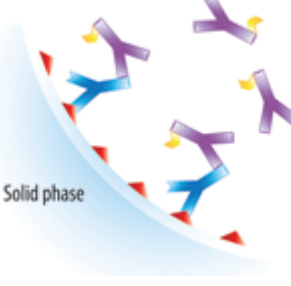
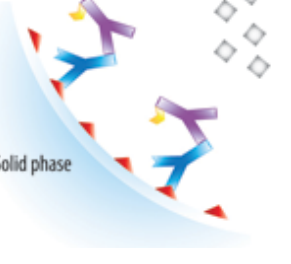
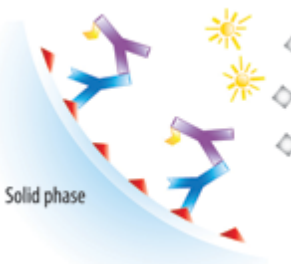
 <p>Antibody</p> <p>Solid phase</p> <p>Antigen</p>	<p>O antígeno de interesse cobre a superfície sólida e liga-se a anticorpos específicos do soro do paciente.</p>
 <p>Solid phase</p>	<p>Após lavagem, para retirar os anticorpos não ligados, anticorpos marcados com uma enzima (Conjugado) são adicionados contra os anticorpos alvo, formando um complexo anticorpo-conjugado.</p>
 <p>Solid phase</p>	<p>Após a incubação, o conjugado não ligado é eliminado por lavagem e o complexo é incubado com um agente de desenvolvimento.</p>
 <p>Solid phase</p>	<p>Depois de parar a reação, a fluorescência da amostra é medida. Quanto maior a fluorescência, maior a quantidade de anticorpos específicos presentes na amostra.</p>

Figura 5 - Princípio de funcionamento de um teste ELiA, técnica Fluoro-Enzyme ImmunoAssay (FEIA).

2.3.1. Processamento

Para a determinação quantitativa dos marcadores, podem ser utilizadas amostras de soro e plasma (colheita em tubo de EDTA ou Citrato de Sódio). No início do ensaio todos os reagentes são carregados no aparelho, através da leitura dos códigos de barras.

Numa placa, 20 µl da amostra não diluída são adicionados a 1980 µl de diluente de amostra, resultando numa diluição de 1:100. No poço, revestido com transglutaminase de tecido humano recombinante ou com gliadina são adicionados 90 µl da amostra diluída.

No caso de estarem presentes na amostra do doente, os anticorpos do anti-tTG ou anti-gliadina ligam-se aos seus antígenos específicos. Após eliminação por lavagem dos anticorpos anti-tTG ou anti-gliadina não ligados, procede-se à adição de anticorpos marcados com enzima contra anticorpos IgA/IgG (90 µl de conjugado) originando um complexo anticorpo-conjugado.

Após incubação a 37 °C durante 30 minutos, o conjugado não ligado é eliminado por lavagem e o complexo ligado é incubado durante 30 minutos com 90 µl de solução de desenvolvimento. Para paragem da reacção adiciona-se 200 µl de Solução de paragem e procede-se à leitura da fluorescência na mistura de reacção. Quanto mais elevado for o valor da resposta, maior a concentração de IgA/ IgG específica presente na amostra. Para avaliar os resultados do marcador, a resposta das amostras do doente é comparada directamente com a resposta dos calibradores. A fluorescência é directamente proporcional à concentração de anticorpos IgA/IgG da amostra.

O Immucap 250 executa todos os passos do ensaio, determina as concentrações específicas em µg/l e utilizando um factor de conversão, converte os resultados automaticamente para EliA U/ml. Em todos os ensaios é realizado o controlo da qualidade para avaliação das características do ensaio.

Para efeitos de interpretação de resultados, os intervalos de referência recomendados para os resultados dos quatro marcadores sorológicos são:

Negativo: <7 U/ml

Clínicamente duvidoso: 7 – 10 U/ml

Positivo: >10 U/ml

Os critérios para o diagnóstico de DC foram pacientes com um ou mais marcadores sorológicos positivos para a DC (marcador > 10 U/ml), com uma biópsia intestinal compatível com DC.

Os pedidos de anticorpo anti-endomísio IgA (AAEA) foram realizados num laboratório externo de referência.

Para comparação de metodologias, considerou-se 2 limites distintos de *cut-off* dos resultados dos marcadores: os positivos verdadeiros (PV), quando o resultado foi >10 U/ml para qualquer marcador, e os positivos verdadeiros e duvidosos (PV + PD), quando o resultado foi > 7 U/ml para qualquer marcador.

Os 1004 pedidos solicitando marcadores sorológicos para a doença celíaca foram filtrados para se obter a informação sobre os 813 indivíduos distintos que os solicitaram, de forma a eliminar as repetições de análises aos mesmos indivíduos. O critério usado na redução de dados foi: considerou-se os resultados relativos à primeira vez que se realizaram os marcadores sorológicos. Nos casos em que na primeira amostragem nenhum dos marcadores era positivo ou duvidoso, foi considerado o primeiro pedido a ter um dos marcadores positivos. Destes 813 indivíduos distintos, 44 realizaram biópsia intestinal, das quais 38 biópsias foram positivas com aspectos morfológicos compatíveis com o diagnóstico de doença celíaca.

2.4. Tratamento Estatístico

Os dados dos utentes foram compilados no software Microsoft Excel 2007 e posteriormente analisados com o auxílio do programa estatístico SPSS versão 14.0.

Numa primeira análise estatística, utilizou-se a estatística descritiva (média, desvio padrão e mediana) para as variáveis quantitativas e distribuições de frequências para as variáveis qualitativas. Utilizou-se o teste do Qui-quadrado, para avaliar a independência das variáveis sexo e idade na DC, onde o valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

Para comparação entre os diferentes marcadores sorológicos para a doença celíaca, foi avaliada a concordância. A concordância entre os marcadores foi calculada através do coeficiente *Kappa de Cohen*, que varia entre 1 (100% de igualdade de resultados entre marcador e biópsia) e 0 (0% de igualdade ou resultados obtidos aleatoriamente). Foi considerada uma elevada concordância quando o valor $Kappa \geq 0,75$, uma concordância média quando $0,40 \leq$ valor $Kappa < 0,75$, e uma concordância fraca quando o valor $Kappa < 0,40$ [62].

A sensibilidade e a especificidade dos marcadores sorológicos foi calculada em função do padrão-ouro do diagnóstico de DC, a biópsia. Foi avaliada a sensibilidade e especificidade na população total, nas crianças e adultos em separado com o intervalo de confiança de 95% [63]. A sensibilidade e especificidade foram determinadas através das seguintes fórmulas:

Fórmulas de cálculo:

$$\text{Sensibilidade} = \frac{\text{Número de positivos verdadeiros}}{\text{Positivos verdadeiros} + \text{Falsos negativos}}$$

$$\text{Especificidade} = \frac{\text{Número de negativos verdadeiros}}{\text{Negativos verdadeiros} + \text{Falsos positivos}}$$

Positivos verdadeiros – positivo no marcador e na biópsia; Negativos Verdadeiros – negativo no marcador e na biópsia; Falsos Positivos – positivo no marcador e negativo na biópsia; Falsos Negativos – negativo no marcador e positivo na biópsia.

3. Resultados

3.1. Caracterização da população estudada

Neste tópico serão considerados para análise de dados os 813 indivíduos distintos com resultados de análises para os marcadores sorológicos de diagnóstico de doença celíaca.

3.1.1. Caracterização demográfica

Durante o período de Janeiro de 2002 a Dezembro de 2010, 813 indivíduos realizaram análises solicitando marcadores sorológicos para a doença celíaca no Laboratório de Patologia Clínica do HDNM. Entre essas análises, a consulta externa (26,40%), o serviço de pediatria (12,10%) e as medicinas (10,20%) foram os serviços que mais solicitaram marcadores sorológicos para a DC. A frequência de pedidos de análises pelos diversos serviços está representada no Gráfico 1.

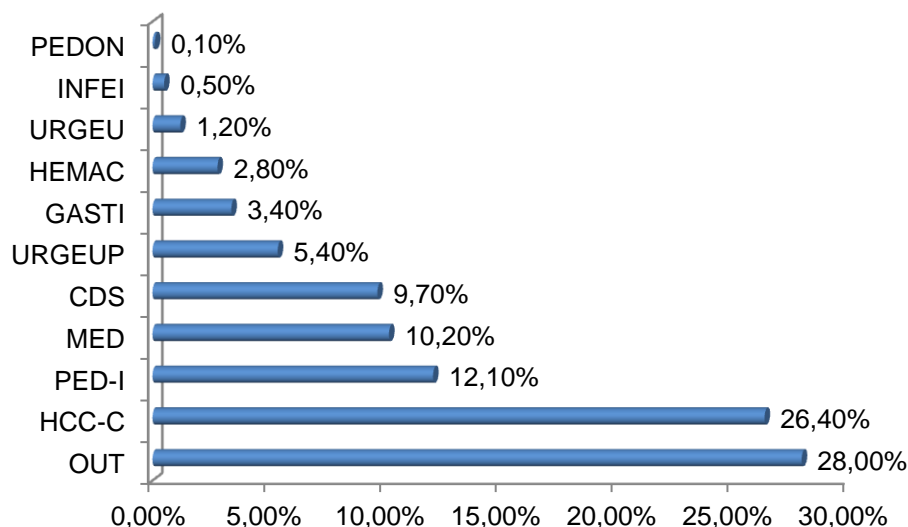


Gráfico 1 - Distribuição dos pedidos de análises para marcadores de DC por serviço de origem. OUT - outros serviços, HCC-C - consulta externa, PED-I – pediatria, MED – Medicinas, CDS - centros de saúde, URGEUP - urgência pediátrica, GASTI – gastroenterologia, HEMAC - hemato-oncologia, URGEU - urgência adultos, INFEI - infecto-contagiosas, PEDON - pediatria oncológica.

Os indivíduos apresentavam maioritariamente como diagnóstico a diarreia (31,50%) e diarreia crónica (18,50%). A anemia (12,90%), dor abdominal (11,30%) e má progressão ponderal (8,10%) estão também entre os diagnósticos mais

frequentes. A frequência dos diagnósticos associados aos pedidos de análises de marcadores sorológicos para DC está representada no Gráfico 2.

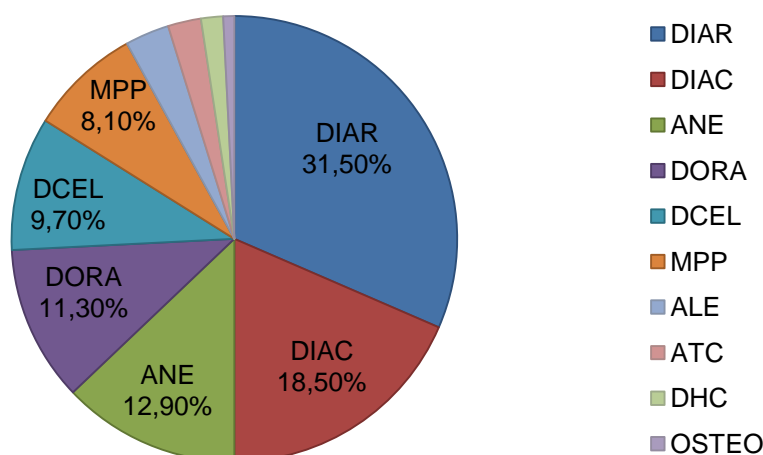


Gráfico 2 - Diagnóstico associado aos pedidos de análises sorológicas para DC. DIAR – diarreia; DIAC – diarreia crónica; ANE – anemia; DORA – dor abdominal; DCEL – doença celíaca; MPP – má progressão ponderal; ALE – alergia; ATC – atraso de crescimento; DHC – doença hepática crónica; OSTEO – osteomalacia.

3.1.2. Género e idade

A distribuição do total de indivíduos distintos estudados segundo o género é apresentada na Tabela 2, prevalecendo o sexo feminino, com 465 indivíduos (57,2%), em relação ao sexo masculino, com 348 (42,8%).

Tabela 2 - Total de indivíduos distintos amostrados segundo o género no período de Janeiro de 2002 a Dezembro de 2010.

Sexo	Frequência	%	Média de Idade
Feminino	465	57,2	26,6
Masculino	348	42,8	15,6
Total Geral	813	100	21,9

A distribuição dos indivíduos com doença celíaca determinada através de biópsia (n = 38) segundo o género é apresentada no Gráfico 3 e os dados detalhados estão presentes nos Anexos na Tabela 11. Verificou-se, novamente,

um predomínio do sexo feminino com 28 indivíduos (73,7%) em relação ao sexo masculino, com 10 indivíduos (26,3%), numa proporção de 3:1, indicando assim uma maior incidência de DC nas mulheres. Efectivamente foi diagnosticada doença celíaca mais significativamente nas mulheres do que nos homens ($\text{Chi}^2 = 8,526$; g.l.=1; $p=0,004$), analisando os dados com recurso ao teste de independência do Qui-quadrado.

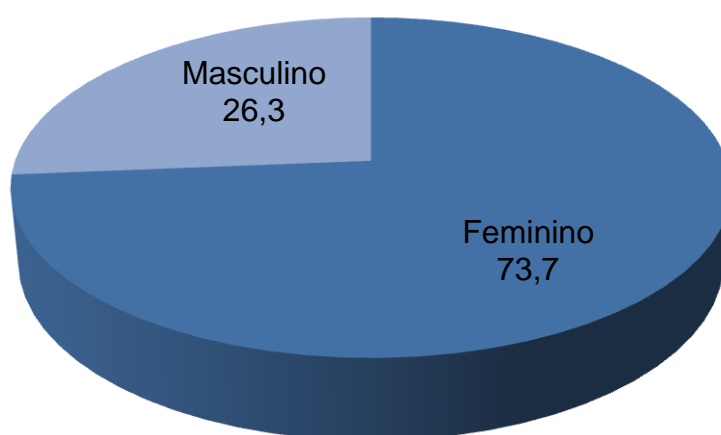


Gráfico 3 - Distribuição dos indivíduos com doença celíaca, diagnosticada por biópsia, segundo o género.

Para confirmar que a maior proporção de mulheres na população com doença celíaca era resultante de factores intrínsecos à doença e não resultantes da maior proporção de mulheres na amostragem, foi analisada a variação da proporção de mulheres e homens entre a população total amostrada ($n=813$) e a população com doença celíaca ($n=38$). Na Tabela 3 verifica-se que a proporção de mulheres na população aumentou de 57,2% da população total para 73,7% na população doente celíaca e esta variação foi estatisticamente significativa de acordo com o teste de independência do Qui-quadrado ($\text{Chi}^2 = 4,225$; g.l.=1; $p=0,040$), indicando assim que esta maior incidência de DC nas mulheres deverá estar relacionada com factores intrínsecos da doença e não com a sua maior proporção na amostragem.

Tabela 3 - Proporção de indivíduos por género na população total e doença celíaca.

Género	População total		População doente celíaca			
	N	Proporção	N	Proporção	N esperado	Chi ²
Feminino	465	57,2%	28	73,7%	21,7	4,225
Masculino	348	42,8%	10	26,3%	16,3	
Total	813	100,0%	38	100,0%	38	

A média de idade na população total de pessoas distintas foi de 22 anos, com um desvio padrão de 23 anos e mediana de 13. A distribuição por idades mostra que a faixa etária com mais pedidos de marcadores sorológicos para a DC é a das crianças entre os 0 e 2 anos, onde ocorreram 34,6 % dos casos. A frequência de pedidos dos indivíduos segundo a faixa etária está representada no Gráfico 4 e os dados detalhados estão presentes nos Anexos na Tabela 12.

Frequência(%)

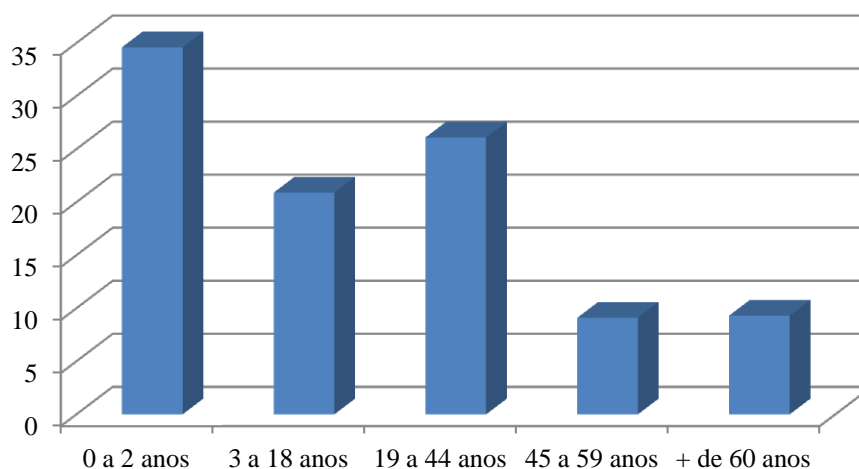


Gráfico 4- Distribuição da frequência de pedidos de marcadores sorológicos para DC de acordo com a faixa etária dos utentes.

A média de idade dos pacientes com DC (biópsia positiva) foi de 13 anos, com um desvio padrão de 18 anos e mediana de 4. A distribuição por idades de pacientes com DC é apresentada no Gráfico 5, o qual mostra que a faixa etária mais acometida é a das crianças entre os 3 e 18 anos, onde ocorreram 42,1 % dos casos. Os dados detalhados estão presentes nos Anexos na Tabela 13.

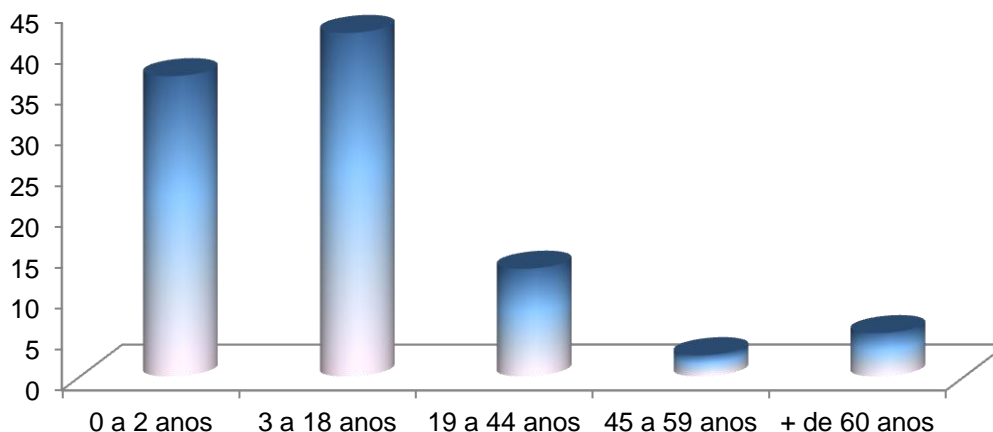
Frequência(%)

Gráfico 5 - Distribuição da frequência de doentes celíacos segundo a faixa etária.

A análise da frequência de indivíduos com doença celíaca entre cada faixa etária (Tabela 4), avaliada com recurso ao teste de independência do Qui-quadrado, permitiu detectar que existem diferenças estatisticamente significativas entre a proporção de pessoas maiores e menores de 18 anos ($\text{Chi}^2 = 12,737$; g.l.= 1; $p= 0,000$), mas não entre as pessoas com mais e menos de 2 anos de idade ($\text{Chi}^2 = 2,632$; g.l.=1; $p= 0,105$). Significa portanto que a doença celíaca tem significativamente maior incidência na faixa etária dos 0 aos 18 anos de idade dos indivíduos.

Tabela 4 - Frequência de doentes celíacos para indivíduos maiores ou menores de 2 e 18 anos de idade.

Faixa etária	Frequência	(%)	Chi^2	Faixa etária	Frequência	(%)	Chi^2
(-) 2 anos	14	36,8%	2,632	(-) 18 anos	30	78,9%	12,737
(+) 2 anos	24	63,2%		(+) 18 anos	8	21,1%	
Total	38	100		Total	38	100	

Para confirmar que a maior proporção de indivíduos menores de 18 anos na população tinha a doença celíaca como resultado de factores intrínsecos à doença e não devido a uma maior proporção desta faixa etária na amostragem, foi analisada a variação da proporção (Tabela 5) de indivíduos maiores ou menores

de 18 anos entre a população total amostrada (n=813) e a população com doença celíaca (n=38). Verifica-se que a proporção de indivíduos menores de 18 anos aumentou de 55,5% da população total para 73,7% na população doente celíaca e esta variação foi estatisticamente significativa de acordo com o teste de independência do Qui-quadrado ($\chi^2=9,073$; g.l.=1; $p=0,003$), indicando que a doença atinge significativamente mais as crianças do que os adultos. Esta maior incidência de DC nas crianças está relacionada com factores intrínsecos da doença e não com a sua maior proporção na amostragem.

Tabela 5 - Teste da variação da proporção, para maiores e menores de 18 anos para os doentes celíacos.

Faixa etária	População total		População doente celíaca			Chi ²
	N	Proporção	N	Proporção	N esperado	
(-) 18 anos	451	55,5%	30	73,7%	20.8	9.073
(+) 18 anos	362	44.5%	8	26,3%	17.2	
Total	813	100,0%	38	100,0%	38	

3.1.3. Prevalência

Segundo as estimativas de população residente pela Direcção Regional de Estatística da Madeira, aferidas aos resultados definitivos dos Censos 2001 [64], a população residente na RAM em Dezembro de 2010 era de 247.568 indivíduos.

A prevalência de doença celíaca na RAM foi de 15,3 casos por 100.00 habitantes, considerando os doentes celíacos de acordo com os resultados das biópsias (n= 38 positivos).

Se considerarmos os indivíduos com doença celíaca quando apresentam pelo menos um marcador positivo (AAGG, AAGA, AATG, AATA, AAEA (n = 137)), a prevalência de DC aumenta para 55,3 casos por 100.000 habitantes. Se incluirmos os resultados duvidosos nos marcadores anteriores (n = 162) a prevalência aumenta para 65,4 casos por 100.000 habitantes.

3.1.4. Incidência

No período de Janeiro de 2002 a Dezembro de 2010, a taxa de incidência média anual de casos novos de DC, de acordo com os resultados das biópsias, na Região Autónoma da Madeira, foi estimado em 1,9/100.000 habitantes, ou seja, o rácio de novos casos foi de 1: 52632.

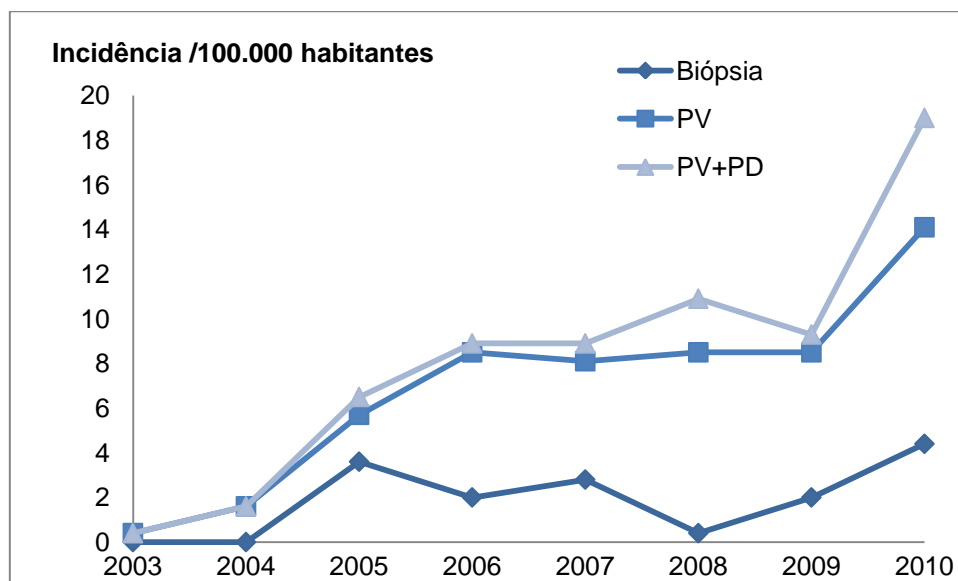


Gráfico 6 - Taxa de incidência de casos novos de Doença Celíaca, na Região Autónoma da Madeira no período de 2002 a 2010, de acordo com 3 critérios de diagnóstico de DC. Biópsia - resultados das biópsias; PV – resultados considerados positivos verdadeiros para todos os marcadores (AAGG, AAGA, AATG, AATA, AAE e Biópsia); (PV+PD) – resultados considerados positivos verdadeiros e duvidosos para todos os marcadores.

3.2. Comparação de metodologias de diagnóstico de DC

Neste tópico serão considerados para análise de dados os 1004 resultados de análises para os marcadores de diagnóstico de DC, independentemente do indivíduo que foi sujeito às análises, ou seja, a mesma pessoa poderá ter sido sujeita ao mesmo tipo de marcadores mais do que uma vez em datas diferentes.

3.2.1. Prevalência

A prevalência dos marcadores positivos para a DC é apresentada na Tabela 6. Os marcadores sorológicos em estudo para a DC são: anticorpos anti-gliadina de classes IgG e IgA (AAGG, AAGA), anticorpo anti-transglutaminase tecidual de classes IgG e IgA (AATG, AATA) e anticorpos anti-endomísio classe IgA (AAEA). Foram considerados também os resultados agregados de todos os marcadores (pelo menos um marcador positivo de entre os marcadores: AAGG, AAGA, AATG, AATA, AAEA).

Tabela 6 - Prevalência dos marcadores para a DC. P – Prevalência; I.C. – Intervalo de confiança a 95%; N – número de casos analisados.

Marcador	População total			Crianças (menor 18 anos)			Adultos (maior 18 anos)		
	P (%)	I.C.95%	N	P (%)	I.C.95%	N	P (%)	I.C.95%	N
AAGG	19,1%	±2,6%	870	26,1%	±3,9%	494	9,8%	±3,0%	376
AAGA	11,0%	±2,0%	989	13,0%	±2,7%	593	8,1%	±2,7%	396
AATG	4,6%	±1,4%	808	7,4%	±2,4%	459	0,9%	±1,0%	349
AATA	15,6%	±2,5%	807	18,5%	±3,6%	459	11,8%	±3,4%	348
AAEA	4,9%	±3,6%	142	5,1%	±6,9%	39	4,9%	±4,2%	103
Biópsia	93,1%	±4,9%	101	97,6%	±3,3%	84	70,6%	±21,7%	17
Todos os marcadores	21,3%	±2,5%	1004	26,2%	±3,5%	600	14,1%	±3,4%	404

A prevalência de indivíduos com DC de acordo com os resultados das biópsias foi de 93,1% na população total amostrada, 97,6 % nas crianças e 70,6% nos adultos. Se considerarmos todos os marcadores a prevalência diminui para 21,3% na população total, 26,2% nas crianças e 14,1 % nos adultos.

Na população total, o marcador sorológico com maior prevalência foi o anticorpo anti-gliadina IgG (AAGG) com uma prevalência de 19,1%, seguido do anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA (AATA) (15,6%). Nas crianças, o anticorpo anti-gliadina IgG (AAGG) foi o mais prevalente (26,1%), enquanto nos adultos foi o anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA (AATA) (11,8%). Nos três grupos populacionais, o anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgG (AATG) foi o menos prevalente.

Quando consideramos os resultados positivos verdadeiros e duvidosos dos marcadores (PV+PD) (*cut-off* > 7 U/ml), a prevalência aumenta para todos os marcadores, excepto nos resultados das biópsias, que mantêm-se. Os dados detalhados estão nos Anexos na Tabela 14.

3.2.2. Sensibilidade e especificidade dos marcadores sorológicos

A sensibilidade e especificidade foram calculadas para os vários marcadores sorológicos estudados usando como referência os resultados das biópsias. A Tabela 7 resume os resultados encontrados.

Tabela 7 - Sensibilidade e especificidade dos marcadores sorológicos para a doença celíaca. C – Crianças; A – Adultos; T – Total de indivíduos; PV - positivos verdadeiros; PV+PD – positivos verdadeiros e duvidosos.

	Sensibilidade			Especificidade				Sensibilidade			Especificidade		
	C(%)	A(%)	T(%)	C(%)	A(%)	T(%)		C(%)	A(%)	T(%)	C(%)	A(%)	T(%)
AAGG (PV)	83,1	83,3	83,1	0,0	40,0	28,6	AAGG (PV+PD)	90,9	91,7	91,0	0,0	40,0	28,6
AAGA (PV)	72,8	83,3	74,2	100,0	80,0	85,7	AAGA (PV+PD)	77,8	100	80,6	100,0	60,0	71,4
AATG (PV)	39,0	8,3	34,8	100,0	100,0	100,0	AATG (PV+PD)	44,2	25,0	41,6	100,0	100	100,0
AATA (PV)	94,7	100,0	95,5	100,0	80,0	85,7	AATA (PV+PD)	94,7	100,0	95,5	100,0	80,0	85,7
AAEA (PV)	66,7	40,0	50,0	-	-	-	AAEA (PV+PD)	66,7	60,0	62,5	-	-	-

Verificou-se que os valores de sensibilidade foram elevados para a maioria dos marcadores sorológicos com excepção do anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgG (AATG). Observou-se igualmente uma elevada especificidade na maioria dos marcadores, e uma baixa especificidade do anticorpo anti-gliadina IgG (AAGG).

No total de indivíduos e considerando os resultados dos marcadores positivos verdadeiros (PV), o anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA (AATA) apresentou maior sensibilidade (95,5%), o anticorpo anti-gliadina IgG (AAGG) foi o segundo mais sensível, com uma sensibilidade de 83,1%, seguido do anticorpo anti-gliadina IgA (AAGA) (74,2%), e por fim, o anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgG (AATG) com uma sensibilidade de 34,8%.

Adotando a mesma ordem, tanto nas crianças como nos adultos, o AATA foi o mais sensível, com uma sensibilidade de 94,7% e 100%, respectivamente. O AAGG foi o segundo mais sensível, com uma sensibilidade de 83,1% nas crianças e 83,3% nos adultos e em terceiro o AAGA, com 72,8% e 83,3% de sensibilidade, respectivamente. O AATG foi o marcador menos sensível nas crianças (39%) e adultos (8,3%).

Em relação aos anticorpos anti-endomísio IgA (AAEA), a sensibilidade foi de 66,6% para as crianças, 40,0% para os adultos e 50% nos indivíduos totais.

Todos os cálculos de especificidade foram pouco robustos por se basearem numa amostra tão pequena, com apenas 7 biópsias negativas. Todavia, no total de indivíduos e considerando os resultados dos marcadores positivos verdadeiros (PV), o AATG foi o marcador com maior especificidade (100%) pelo facto de não apresentar falsos positivos, AAGA e AATA apresentaram ambos uma especificidade de 85,7% e o AAGG foi o menos específico (28,6%) devido à diminuição dos negativos verdadeiros e aumento dos falsos positivos.

Nas crianças, o AAGG teve uma especificidade de 0%, devido à ausência de negativos verdadeiros, e os restantes marcadores tiveram uma especificidade de 100% devido à ausência de falsos positivos. Nos adultos, o AATG apresentou uma especificidade de 100%, o AATA e AAGA foram os segundos mais específicos, ambos com uma especificidade de 80%, e o AAGG o menos específico (40%), devido à diminuição nos negativos verdadeiros e aumento dos falsos positivos. No caso do AAEA, foi impossível calcular a especificidade por não existirem biópsias negativas necessárias para os cálculos.

Quando consideramos os resultados positivos verdadeiros e duvidosos dos marcadores (PV+PD) (*cut-off* > 7 U/ml), a sensibilidade aumenta e a especificidade mantém-se, excepto nos indivíduos totais e nas crianças onde a especificidade do AAGA diminuiu. Os dados detalhados estão em Anexo nas Tabelas 16, 17 e 18.

As crianças com menos de 2 anos de idade que sofrem de DC pode ainda não ter desenvolvido anticorpos anti-transglutaminase tecidual, enquanto os anticorpos anti-gliadina já estão presentes. Por essa razão a sensibilidade e especificidade foram calculadas para as crianças com menos de 2 anos de idade. A Tabela 8 resume os resultados encontrados.

Tabela 8 - Sensibilidade e especificidade dos marcadores sorológicos para a doença celíaca para crianças menores de 2 anos.

	Sensibilidade	I.C. 95%	Especificidade	I.C. 95%
AAGG	92,3%	10,1%	0,0%	0,0%
AAGA	75,9%	15,3%	100,0%	0,0%
AATG	30,8%	17,4%	100,0%	0,0%
AATA	84,6%	13,6%	100,0%	0,0%

Para as crianças menores de dois anos, o marcador mais sensível foi o AAGG (92,3%), seguido pelo AATA (84,6%). A sensibilidade do AAGA, AAEA e AATG foi 75,9%, 50,0% e 30,8%, respectivamente. Tal como na Tabela 7, o AAGG teve uma especificidade de 0%, devido à ausência de negativos verdadeiros, e os restantes marcadores tiveram uma especificidade de 100% devido à ausência de falsos positivos.

3.2.3. Concordância entre os marcadores sorológicos para o diagnóstico de doença celíaca.

Analisando a concordância dos resultados dos marcadores sorológicos tendo como referência os resultados das biópsias, verificou-se que os níveis de concordância variaram entre concordância média ou fraca, dependendo do marcador em questão. A concordância mais elevada registou-se no AATA, com uma concordância de 67,8%, seguido pelo AAGA, com uma concordância de 23,8%, enquanto os outros marcadores apresentaram fracas concordâncias com valores inferiores a 7,2%.

Tabela 9 - Análise da concordância entre os resultados dos marcadores sorológicos para a DC e os resultados obtidos pela biópsia.

Marcador	N	PV	PV+PD
		Concordância (Kappa)	Concordância (Kappa)
AAGG	96	7,1%	16,4%
AAGA	100	23,8%	25,3%
AATG	96	7,2%	9,4%
AATA	95	67,8%	67,8%

No marcador Endomísio, o índice Kappa de Cohen não foi calculado, porque não existem biópsias negativas. Analisando os resultados positivos verdadeiros e duvidosos dos marcadores (PV+PD) (*cut-off* > 7 U/ml), verificou-se que o índice Kappa de Cohen aumentou na maioria dos marcadores, excepto o AATA que manteve-se.

Tabela 10 - Percentagem de resultados coincidentes entre as várias metodologias de diagnóstico de DC (resultados dos marcadores sorológicos para a DC e as biópsias).

		Biópsia - PV		Biópsia - PV+PD		Coincidência de resultados	
		Neg	Pos	Neg	Pos	PV	PV+PD
AAGG	Neg	2	15	2	8	79,2%	86,5%
	Pos	5	74	5	81		
AAGA	Neg	6	24	5	18	75,0%	80,0%
	Pos	1	69	2	75		
AATG	Neg	7	58	7	52	39,6%	45,8%
	Pos	0	31	0	37		
AATA	Neg	6	4	6	4	94,7%	94,7%
	Pos	1	84	1	84		
AAEA	Neg	0	4	0	3	50,0%	62,5%
	Pos	0	4	0	5		

Na percentagem de resultados coincidentes, verificou-se que o AATA é o marcador que apresenta maior coincidência (94,7%) com 90 dos 95 testes realizados a darem o mesmo resultado pela biópsia e por este marcador. O AAGG foi o segundo marcador com maior coincidência de resultados (79,2%), seguido

pelo AAGA (75,0%). O AAEA e o AATG foram os que tiveram menor coincidência entre os resultados com valores de 50,0% e 39,6%, respectivamente.

No Gráfico 7 estão representadas as concordâncias em separado para população com idade inferior e superior a 2 anos. Os dados detalhados estão em Anexo na Tabela 20 e 21.

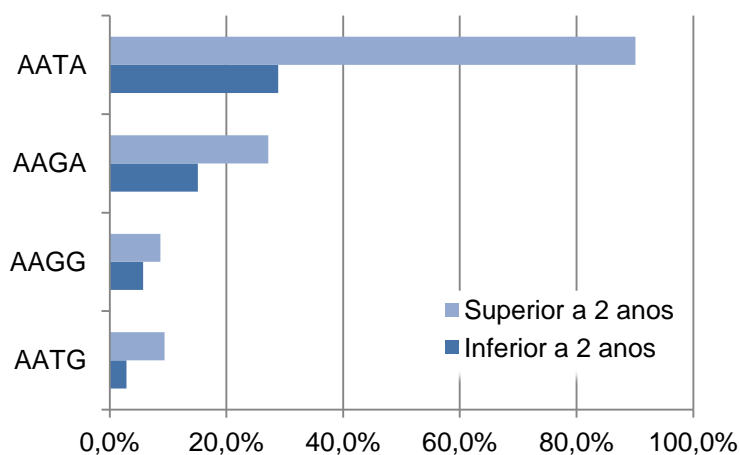


Gráfico 7 - Concordância entre os resultados dos marcadores sorológicos para a DC e os resultados obtidos pela biópsia, para criança com idades inferior e superior a 2 anos.

Verificou-se uma alta concordância entre os resultados do AATA e os da biópsia na população com idade superior a 2 anos (temos 61 resultados iguais e apenas 1 diferente entre os marcadores). Nas crianças menores de 2 anos a concordância foi baixa. Os dados detalhados estão em Anexo nas Tabelas 20 e 21.

4. Discussão

4.1. Caracterização da população estudada

Um grande número de serviços solicitaram análises com marcadores sorológicos para a doença celíaca, registados entre Janeiro de 2002 e Dezembro de 2010. A consulta externa, a pediatria, as medicinas e os centros de saúde foram os serviços com mais pedidos.

Os diagnósticos mais frequentes nos indivíduos que realizaram análises para a DC foram a diarreia e a anemia. Constatou-se que a diarreia foi mais prevalente nas crianças e a anemia foi mais frequente nos adultos, corroborando a hipótese que nas crianças predominam as formas gastrointestinais [17], [25] e nos adultos predominam os sintomas não gastrointestinais [2], [3], [17]. Segundo Pereira [99], esta diferença verificada com a idade pode ser explicada pelo aumento do intestino associado ao crescimento, que funciona como mecanismo de compensação em relação à região mais atingida (jejuno proximal), e há uma diminuição dos sintomas digestivos.

A dor abdominal e má progressão ponderal foram outros sintomas gastrointestinais maioritariamente encontrados nos pedidos de crianças.

Cardoso [65], num estudo com 12 doentes adultos com o diagnóstico de doença celíaca seguidos na consulta externa nos Hospitais da Universidade de Coimbra, verificou que a maioria dos adultos com doença celíaca não tinha queixas abdominais, onde apenas quatro apresentavam sintomatologia digestiva na altura do diagnóstico.

Assim, os médicos perante um paciente com sintomas ou sinais das formas clássicas e atípicas de DC ou grupos de risco solicitam as análises com marcadores sorológicos de DC, e se o rastreio for positivo ou fortemente suspeito, o médico do serviço de origem deve orientar o paciente para um especialista em gastroenterologia ou pediatria, para uma melhor avaliação quanto à realização de biópsia do intestino delgado [93].

Constatou-se uma predominância do sexo feminino na população estudada, e concluiu-se que a doença atinge mais o sexo feminino que o masculino, numa relação de 3:1. Esta relação está de acordo com a observada no primeiro estudo da prevalência de doença celíaca numa população portuguesa, por Antunes [4]. Alguns autores admitem que a incidência é maior no sexo feminino, numa relação

de 2:1, enquanto estudos epidemiológicos relatam que a frequência de doença celíaca é igual nos dois sexos [3], [12], [18], [19], [34].

A suspeita de DC foi maior na faixa etária dos 0 aos 2 anos de idade e entre os 19 e os 44 anos. Apesar dos médicos terem suspeitado de DC nos pacientes entre os 19 e os 44 anos, verificou-se que na realidade essa faixa etária teve pouca confirmação, provavelmente devido à presença ou descrição de características clássicas e atípicas de DC no momento da consulta, comuns a outras doenças. A confirmação de DC foi maior na faixa etária dos 3 aos 18 anos.

Neste estudo houve mais crianças do que adultos com pedidos de marcadores sorológicos para a DC e concluiu-se que a doença atinge mais crianças do que adultos em 79% dos dados. Este predomínio está de acordo com Farrel [66], que diz que a doença celíaca é diagnosticada geralmente na infância por volta dos 2 anos de idade e segundo Rostom [7], a idade do diagnóstico é positivamente correlacionada com a idade em que o glúten foi introduzido na dieta.

A idade de diagnóstico nas crianças foi maior do que as observadas na literatura [7], [66], provavelmente devido à introdução mais tardia de cereais na alimentação, que conduz ao aparecimento de sintomas tardios, logo, os diagnósticos são mais tardios e menos frequentes [19], [38], [99]. Além disso, as crianças poderão apenas manifestar a doença numa altura mais tardia da vida, após exposição a factores desencadeantes [19].

Actualmente, com o avanço dos métodos de diagnóstico e o conhecimento das diferentes formas de apresentação da doença, estudos revelaram que a população adulta está também afectada pela doença [32], [36], [65]. Neste estudo, apenas treze (13) adultos foram submetidos a biópsia do intestino delgado, demonstrando que a DC no adulto está subdiagnosticada. Este subdiagnóstico pode acontecer, se o médico só pensar na doença na presença de manifestações clássicas ou confundir o diagnóstico com outras patologias. Por isso, o diagnóstico de DC é cada vez mais frequente em doentes com manifestações extra-intestinais: anemia, osteoporose ou osteopenia, portadores de outras doenças auto-imunes como dermatite herpetiforme, alterações menstruais e ou infertilidade, etc [65].

Verificou-se que esta maior proporção de mulheres e crianças com doença celíaca na população estudada, não foi dependente da amostra inicial, mas sim, porque atingiu maioritariamente esses dois grupos.

A prevalência de doença celíaca na RAM de acordo com os resultados das biópsias foi de 15,3 casos por 100.000 habitantes, o que está de acordo com um

artigo publicado por Smida [96], indicando que a prevalência da doença varia entre 10 e 30 casos por 100.000 habitantes.

A taxa de prevalência encontrada neste estudo está também de acordo com um estudo da taxa de prevalência global de DC na Holanda, que foi de 17,5 por 100.000 habitantes, mas baixa em comparação com a estimativa de prevalência de DC na Inglaterra em 1980 de 61 por 100.000 habitantes [98].

Esta baixa prevalência pode dever-se em parte aos dados deste estudo, que não são representativos de toda a RAM, pois nem todos os indivíduos com suspeitas de DC fizeram análises com marcadores sorológicos no laboratório de patologia clínica do HDNM, podem ter recorrido a laboratórios privados ou laboratórios exteriores. Outra hipótese é que a doença está largamente subdiagnosticada, como os dados da APC indicam, devido à falta de médicos conscientes das manifestações e condições associadas de DC, tal como no subdiagnóstico de DC no adulto.

Dados da APC, indicam que 1 a 3% da população portuguesa seja celíaca. No entanto, apenas cerca de 10.000 celíacos estão diagnosticados, e estimam que exista entre 70.000 a 100.000 celíacos por diagnosticar em Portugal [23].

Apesar da biópsia intestinal ser considerada o padrão ouro para o diagnóstico de doença celíaca, os indivíduos são primeiramente rastreados por marcadores sorológicos e segundo Bai [3], se a biópsia não estiver disponível, pode-se usar a sorologia para se diagnosticar a DC, devido ao seu baixo custo e ao seu alto valor estatístico.

Por conseguinte, neste estudo procurou-se estudar a prevalência de DC na RAM para o conjunto de marcadores (AAGG, AAGA, AATG, AATA, AAEA), utilizando 2 limites distintos de *cut-off*, os positivos verdadeiros (PV) (> 10 U/ml) e os positivos verdadeiros e duvidosos (PV + PD) (> 7 U/ml). Verificou-se um aumento da prevalência nas duas situações em relação à confirmação pela biópsia, o que está mais de acordo com a prevalência encontrada por outros autores [98]. No entanto, se considerássemos apenas o conjunto de marcadores para realizar o diagnóstico de doença, iríamos proporcionar a muitos indivíduos uma menor qualidade de vida, com deficiências nutricionais, mais cara, e erradamente, devido ao aumento dos falsos positivos.

No período de Janeiro de 2002 a Dezembro de 2010, o coeficiente de incidência de casos novos de doença celíaca com biópsia positiva na RAM, foi estimado em 1,9/100.000 habitantes/ano (1: 52632). Os nossos resultados estão

mais de acordo com um estudo levado a cabo por Ramalho *et al*, publicado em 1990, os únicos dados conhecidos em Portugal, que determinaram uma incidência de 1:36484, através do número de casos diagnosticados por gastroenterologistas pediátricos portugueses [4].

A incidência encontrada neste estudo foi muito baixa, comparativamente a um estudo multicêntrico promovido pela ESPGHAN envolvendo 36 centros de 22 países, que encontrou uma incidência média de 1 caso para cada 1000 nascidos vivos, sem uma diferença significativa entre os diferentes países estudados [68]. Sdepanian [27] demonstrou que a apresentação clínica pode divergir em países vizinhos devido a factores como: tipo de fórmula láctea, amamentação, idade de introdução do glúten na dieta, quantidade e qualidade dos cereais, quantidade de ingestão de trigo, etc.

Verificou-se um aumento na taxa de incidência de novos casos de DC entre Janeiro de 2002 a Dezembro de 2010 na Região Autónoma da Madeira. Como a população da RAM manteve estável ao longo destes anos, é provável que o aumento do número de novos casos seja um resultado do subdiagnóstico da doença no passado, do melhoramento do método de diagnóstico, com médicos mais conscientes da doença, das suas manifestações atípicas e condições associadas, do rastreamento dos familiares dos celíacos e da população em geral [69], [70], [94], [95]. No entanto, a explicação mais provável foi o desenvolvimento de vários marcadores sorológicos, com ampla sensibilidade e especificidade, que permitiu o reconhecimento de formas subclínicas e menos típicas da doença, e o diagnóstico mais cedo da doença [98].

Este aumento da prevalência e incidência, possivelmente como consequência de subdiagnóstico no passado, sugere também uma maior sensibilização e melhoria das competências de diagnóstico por parte dos clínicos [98].

4.2. Comparação de metodologias de diagnóstico de DC

O facto de o estudo ter sido realizado no laboratório de patologia clínica do HDNM pode favorecer um viés de prevalência e sensibilidade, pois os indivíduos que realizaram análises certamente apresentavam fortes suspeitas de doença celíaca, com sintomas e sinais característicos da doença no momento da consulta

e foram selecionados para a biópsia do intestino delgado quando os resultados dos marcadores sorológicos foram positivos fortes. Logo, a probabilidade de existirem indivíduos sem diagnóstico e sob pesquisa de sintomas e sinais clínicos compatíveis com doença celíaca é maior.

A prevalência de indivíduos com DC, de acordo com os resultados da biópsia, foi de 93,1% na população total amostrada, 97,6 % nas crianças e 70,6% nos adultos. Estes resultados mostram que os pacientes que foram encaminhados para a biópsia do intestino delgado apresentavam maioritariamente resultados positivos, com aspectos morfológicos compatíveis com o diagnóstico de doença celíaca, evidenciando que o encaminhamento para a biópsia está sendo bem aplicado, evitando deste modo a exposição dos indivíduos com fracos indícios de terem DC a um método tão agressivo e dispendioso. Verificou-se igualmente uma maior prevalência de DC nas crianças em relação aos adultos.

Considerando o conjunto de marcadores (AAGG, AAGA, AATG, AATA, AAEE) a prevalência diminuiu, mas dos 1004 pedidos de análises, 21,3% têm possibilidade de ter DC.

Entre os cinco marcadores, o marcador sorológico com maior potencial para diagnosticar a DC foi o anticorpo anti-gliadina IgG (AAGG), seguido do anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA (AATA). Nas crianças foi o anticorpo anti-gliadina IgG (AAGG) e nos adultos foi o anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA (AATA). O anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgG (AATG) foi o marcador com menor potencial e não se considerou o anticorpo anti-endomísio IgA (AAEE) devido à sua baixa prevalência e ao baixo número de casos analisados.

As prevalências aumentaram em todos os marcadores quando o intervalo de referência usado foi >7 U/ml, indicando que o *cut-off* a ser considerado deve ser o mais baixo.

Dos 1004 pedidos, 38 indivíduos tiveram biópsia positiva, logo a prevalência na amostra foi de 1:26. A prevalência encontrada foi muito mais elevada em comparação aos resultados obtidos por outros autores [4], [19], [23], [67], devido à amostra enviesada, como foi referido anteriormente.

A verdadeira prevalência de DC é, provavelmente, menor na população em geral, onde estudos na Europa indicam que a DC ocorre em aproximadamente 1% da população, ou seja, um em cada 79-200 indivíduos têm DC (1:200) [67]. Em Portugal, admitem uma prevalência de doença semelhante ao resto da Europa (1/130-300) [19].

No primeiro estudo populacional em Portugal realizado em 536 adolescentes observou-se uma prevalência de 1:134 [4], sugerindo que a DC é um distúrbio muito comum.

No respeitante à análise da sensibilidade e especificidade, verificou-se que alguns dos nossos resultados estão de acordo com um estudo multicêntrico levado a cabo por Rostom [7], sobre sensibilidade e especificidade dos marcadores.

Em geral, os nossos resultados de sensibilidade e especificidade foram mais baixos, mas estão de acordo com Bürgin-Wolff [54], indicando que o AATA é o marcador mais sensível.

Dado que a sensibilidade tem por base os resultados da biópsia, uma medida mais fidedigna sobre os melhores marcadores, podemos concluir que o AATA é o melhor marcador sorológico para identificar pacientes com DC, o que está de acordo com diversos autores [6], [54], [61], [73], [74], [75].

Não se verificou diferenças significativas entre crianças e adultos e a concordância veio reforçar o que foi verificado com a sensibilidade, isto é, o AATA é o melhor marcador e aquele que melhor substitui a biópsia, especialmente em idades superior a 2 anos. O AATA surgiu assim, como uma grande esperança na triagem de doença celíaca por ser um teste de fácil execução, apresentar custo relativamente baixo e ser muito preciso.

A Sociedade Norte Americana de Gastroenterologia, Hepatologia e Nutrição Pediátrica [2], recomenda o AATA recombinante humano como teste de triagem inicial para a DC, seguido da biópsia intestinal. Se as alterações histológicas não forem compatíveis com a doença celíaca, é recomendado que a biópsia seja revista por um patologista experiente e que se considere a realização do AAEA, a determinação do HLA ou a repetição da biópsia.

Devido ao baixo número de casos analisados de AAEA, obtivemos resultados muito baixos de sensibilidade e especificidade, mas há consenso, em que a sensibilidade e a especificidade para anticorpos anti-endomísio (AAE) variam de 90 a 100%, segundo Kotze [72].

Os anticorpos anti-transglutaminase IgA demonstraram maior sensibilidade e especificidade, do que os anticorpos anti-endomísio IgA, razão pela qual podem substituir estes últimos no rastreio de doença celíaca. Bürgin-Wolff [54] verificou que o teste ELISA com tTG recombinante humano tem sensibilidade e especificidade equivalente ao AAEA. Concluíram assim que, Celikey ou outros kits

usando tTG recombinante humano são precisos e independentes do operador e podem ser usados como uma alternativa no diagnóstico ou monitorização de DC.

A sensibilidade do AAGG e AAGA foi baixa (70-85%). Hill [2], Rostom [6] e Hopper [76] recomendaram que os testes baseados em gliadina (IgA e IgG) não deveriam ser usados para o diagnóstico de doença celíaca. Contudo, os anticorpos anti-gliadina podem ser úteis nos casos pouco claros e fornecer ajuda no diagnóstico e monitorização de DC, mesmo que eles não atingem a sensibilidade dos anticorpos anti-transglutaminase. Os anticorpos anti-gliadina IgA (AAGA) são de particular interesse para monitorizar o sucesso da dieta livre de glúten, uma vez que desaparecem muito mais rápido do que os anticorpos anti-tTG. Enquanto, os anticorpos anti-gliadina IgG (AAGG) parecem responder rapidamente a um novo desafio de glúten do que os anticorpos anti-tTG, e, assim, são úteis para monitorizar a aderência do paciente [56]. A IgA é mais específica mas menos sensível, enquanto a IgG é sensível mas menos específica, motivo pelo qual é recomendado os dois isótipos [80].

Os marcadores anti-gliadina também são úteis para apoiar os resultados dos anticorpos anti-transglutaminase, adicionando decisões de diagnóstico mais seguras.

Como houve uma primeira filtragem para as biópsias, e como a maioria das biópsias foram positivas, todos os cálculos de especificidade foram pouco “robustos” por se basearem numa amostra tão pequena. Em alguns casos foi mesmo impossível calcular a especificidade devido à ausência de falsos negativos.

Todavia, para avaliar a especificidade de um teste de forma realista, na população estudada deveria haver indivíduos com outras doenças gastrointestinais, como por exemplo, doenças inflamatórias intestinais, infecções gastrointestinais, etc, para o diagnóstico diferencial [100].

Os nossos resultados sugerem que os anticorpos AATG demonstram alta especificidade em torno dos 100%, quer em adultos e crianças, mas uma baixa sensibilidade. Estes resultados sugerem que essa classe de anticorpos é inadequado como um teste único para a DC, mas pode ser útil em pacientes com deficiência de IgA. Neste estudo não observamos deficiências em IgA, mas Korponay-Szabó [84] e Villalta [85], concluíram que os anticorpos anti-tTG IgG (AATG) medidos com Celikey™ IgG são marcadores sorológicos altamente confiáveis para o diagnóstico de DC em pacientes com deficiência de IgA.

Considerando-se que a dosagem dos anticorpos AATA identifica anticorpos da classe IgA, é importante assegurar, naqueles com clínica compatível com doença celíaca e sorologia negativa, que a medição da IgA total é feita e solicitar o pedido de anticorpos de classe IgG, com anticorpos anti-tTG IgG (AATG) ou anticorpos anti-gliadina IgG (AAGG) para identificar possíveis pacientes com deficiência selectiva de IgA.

Verificou-se que em crianças com idade igual ou inferior a 2 anos, o AAGG foi o marcador mais sensível, seguido pelo AATA e AAGA. O AATG e o endomísio foram os menos sensíveis. Estes resultados estão de acordo com Lagerqvist [86] e Maglio [87], que mostraram que os anticorpos anti-gliadina têm uma maior sensibilidade do que anticorpos anti-tTG, mas uma especificidade menor em crianças menores de 2 anos idade.

Bürgin-Wolff [56] e Grodzinsky [57] estudaram a influência da idade na sensibilidade dos marcadores e sugeriram também a determinação dos anticorpos anti-gliadina para crianças abaixo de dois anos.

Tal acontece, porque as crianças com menos de 2 anos de idade que sofrem de DC pode ainda não ter desenvolvido anticorpos anti-tTG, enquanto que a gliadina pode já estar presente e podem proporcionar auxílio em decisões de diagnóstico [56], [57].

Devido a pouca concordância que o marcador AATA tem em relação a biópsia na população com idade inferior a 2 anos, recomenda-se que todas as amostras de soro de crianças menores de 2 anos devem ser adicionalmente testado para anticorpos anti-gliadina (IgG e IgA) [75]. A pesquisa de ambos os anticorpos faz com que este teste tenha uma boa sensibilidade para o diagnóstico de doença celíaca.

Verificou-se que a sensibilidade e especificidade não variaram de acordo com a prevalência dos marcadores na população. Ou seja, o marcador sorológico com mais potencial para identificar pacientes com DC foi o anticorpo anti-gliadina IgG (AAGG), mas com base na sensibilidade, o anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA (AATA) foi o melhor marcador sorológico. Nas crianças, o anticorpo anti-gliadina IgG (AAGG) foi o mais prevalente, enquanto nos adultos foi o anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA (AATA). Tanto nas crianças como nos adultos o AATA foi o melhor, excepto nas crianças com menos de 2 anos de idade. Isto revela que o anticorpo anti-gliadina IgG (AAGG) é o marcador que está a dar resultados mais positivos, mas como se confirmou, não é o melhor marcador na

triagem de DC. Isto ocorre porque os anticorpos anti-gliadina têm pouca especificidade em relação aos outros marcadores e podem ser detectáveis em pacientes com outras patologias intestinais inflamatórias e há relatos também da sua presença em indivíduos normais.

Relativamente à diminuição do intervalo de referência, verificou-se uma maior sensibilidade, mas muitas vezes a custo de diminuir a especificidade, devido ao aumento dos falsos positivos. No entanto, analisando a concordância entre os resultados dos marcadores sorológicos e a biópsia, verificou-se que a concordância era maior quando se considera os positivos verdadeiros e duvidosos. Assim, o limite de *cut-off* a ser considerado deveria ser o mais baixo (> 7 U/ml), porque permitia ter uma maior sensibilidade. No entanto, uma vez que o seguimento de um marcador sorológico positivo é uma biópsia, um procedimento invasivo que deve ser evitado, normalmente o limite é mais alto, para deixar de fora alguns casos. Além disso, um resultado duvidoso isolado raramente leva um médico a considerar a biópsia para o paciente, a não ser que os sintomas dependentes do glúten sejam muito evidentes. O que se verifica nos nossos resultados, é que associado a um resultado duvidoso, tem outro marcador positivo forte, que levou à confirmação de doença pela biópsia.

O melhor teste de diagnóstico é aquele que, quando positivo, tem a capacidade de identificar com segurança a presença de doença e, quando negativo, excluir com certeza a ausência da mesma. Uma vez que a sensibilidade e a especificidade são duas características necessárias para se estabelecer a validade de um teste de diagnóstico, é claro que o melhor método qualitativo seria aquele que reunisse essas duas características na sua intensidade máxima. Mas os nossos resultados mostraram que nenhum marcador sorológico isolado foi adequado para se obter sensibilidade e especificidade de 100,0%. A sensibilidade e especificidade de 100,0% para o diagnóstico de doença somente seria conseguida com o doseamento combinado de anticorpos anti-tTG (IgA) e anticorpos anti-gliadina (IgA, IgG).

Estas medições deverão ser feitas ao mesmo tempo, e quando o resultado de um marcador for positivo, deverá ser considerado como evidência de doença, de forma a aumentar a sensibilidade desses marcadores para que a biópsia intestinal seja realizada apenas nos pacientes com grande possibilidade de apresentar DC. O teste de diagnóstico não só facilitam o diagnóstico como também permitem, de algum modo, avaliar a adesão do doente à terapêutica e sua

eficácia, já que os títulos dos anticorpos diminuem ou mesmo desaparecem com a dieta [65].

Actualmente, a melhor abordagem para melhorar o diagnóstico é um processo focado em grupos de risco, um procedimento que minimiza os custos e é eticamente adequada. Presentemente têm que considerar, cada vez mais, o diagnóstico de doença celíaca perante um doente adulto ou mesmo idoso.

Com os avanços precisos, quantitativos dos marcadores sorológicos, a exigência de biópsia do intestino delgado para estabelecer o diagnóstico de DC em todos os casos tem sido questionada. Como a especificidade e sensibilidade de alguns marcadores é tão elevada, alguns autores [8], [87], [88] têm sugerido a modificação das guidelines de diagnóstico de modo que a biópsia do intestino delgado não seja considerada como obrigatória em pacientes com níveis muito elevados de anticorpos anti-transglutaminase IgA (AATA). Se a biópsia fosse evitada, iria evitar um procedimento invasivo e levar a um diagnóstico mais rápido e tratamento com uma dieta livre de glúten mais cedo [8], [87], [88].

Devido às diversas sugestões, recentemente, 17 peritos da ESPGHAN desenvolveram novas guidelines para o diagnóstico de DC [89]. O diagnóstico de DC é dependente dos sintomas dependentes do glúten, anticorpos específicos (anti-tTG IgA; anti-PGD IgG e AAE), presença de HLA-DQ2 e / ou HLA-DQ8 e alterações histológicas características na biópsia duodenal. No caso de níveis elevados de anticorpos (anti-tTG IgA > 10 vezes o limite superior da normalidade) o diagnóstico de DC pode ser baseado numa combinação de sintomas, anticorpos e HLA, omitindo assim a biópsia duodenal.

A abordagem inicial para doentes sintomáticos é testar anticorpos anti-tTG IgA (AATA) e IgA total, para excluir deficiência de IgA. Como alternativa para IgA total, anticorpos anti-PGD IgG pode ser executada. Se os anticorpos AATA forem positivos, mas inferiores a 10 vezes ao *cut-off* pelo fabricante, devem ser submetidos a endoscopia digestiva alta com biópsias múltiplas. Se os níveis de AATA forem maiores de 10 vezes o *cut-off*, testes HLA e AAE devem ser realizados. Se for positivo para anticorpos endomísio e para o HLA-DQ2 ou HLA-DQ8, então o diagnóstico de DC é confirmada. Uma DLG é iniciada e o paciente é estudado para a melhoria dos sintomas e baixa de anticorpo [89].

Caso o HLA ou AAE for negativo, é considera a possibilidade de resultados falso-positivos, ou são realizadas biópsias duodenais e um desafio glúten mais tarde ou repetição dos marcadores. Em indivíduos assintomáticos pertencentes a

grupos de alto risco de DC devem ser sempre diagnosticados por meio de biópsias duodenais [89].

A DC pode ser considerada, mundialmente, uma preocupação substancial de saúde pública, principalmente devido à alta prevalência [90], com possíveis consequências de morbidade e mortalidade significativa em pacientes não tratados [12], [90]. Por isso o diagnóstico precoce de doença celíaca é crucial, não apenas para resolver os sintomas e melhorar a qualidade da vida, mas também para prevenir complicações a longo prazo [3].

No entanto, a maioria dos casos não são diagnosticados. Um estudo nos USA, concentrados em DC não diagnosticada e não tratada, o risco de morte é quase quatro vezes mais elevada do que em indivíduos sem DC. Isto sublinha a importância do diagnóstico precoce, por exemplo, por rastreio em massa, e o cumprimento da dieta livre de glúten [90].

5. Conclusão

No presente estudo é nos possível obter as seguintes conclusões:

A doença atinge mais as crianças que os adultos e é mais frequente no sexo feminino que no masculino.

Na Região Autónoma da Madeira a doença celíaca está subdiagnosticada, sobretudo no adulto. Por conseguinte há necessidade de maior sensibilização da população, mas também da classe médica, das manifestações e condições associadas de DC.

O universo da amostra demonstrou uma incidência de 1,9/100,000 habitantes de doentes celíacos na RAM, com uma tendência crescente nos últimos anos. Este aumento é resultado do subdiagnóstico de doença no passado e sobretudo da disponibilidade de vários marcadores sorológicos para o diagnóstico da doença.

O encaminhamento dos indivíduos para as biópsias está sendo bem aplicado, pois são, na sua maioria positivas, com aspectos morfológicos compatíveis com o diagnóstico de doença celíaca.

Pelo facto de se utilizar dados do laboratório de patologia clínica do HDNM, a prevalência da amostra foi elevada (1:26) em relação ao resto da Europa (1/130-300).

O anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA foi o marcador mais sensível, tendo correspondido, ao melhor marcador de triagem inicial para a DC.

Sugere-se a suspensão do anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgG, devido à sua baixa sensibilidade.

Os anticorpos anti-gliadinas não são recomendados como um teste de triagem devido à variabilidade da sensibilidade e especificidade, excepto em crianças menores de 2 anos, que devem ser adicionalmente testadas para anticorpos anti-gliadinas, como teste adjunto.

Com o objectivo de identificar possíveis pacientes com deficiência selectiva de IgA, a medição da IgA total deve ser adicionada a todos os pedidos ou assegurar naqueles com clínica compatível com doença celíaca e anticorpo anti-transglutaminase tecidual IgA negativo, que a medição da IgA total seja realizada. Caso esta esteja abaixo do limite inferior, solicitar anticorpos anti-transglutaminase IgG (AATG) ou anticorpos anti-gliadina IgG (AAGG).

A sensibilidade e especificidade de 100,0% para o diagnóstico de doença só será conseguida com o doseamento combinado de anticorpos anti-transglutaminase tecidual IgA recombinante humano e anticorpos anti-gliadina (IgA, IgG).

Uma das condicionantes deste estudo foi a reduzida dimensão do universo considerado, 813 pacientes numa população de aproximadamente 250 000 pessoas. Neste contexto seria interessante prosseguir, numa amostragem maior (significativa), e aprofundar o estudo da incidência e prevalência na Região Autónoma da Madeira, uma vez que são formas em evolução, a médio prazo, provocando morbidade e mortalidade na população.

Neste sentido, a divulgação destes resultados irá contribuir para uma maior sensibilização dos clínicos relativamente ao pedido mais assertivo de anticorpos, permitindo ao Serviço Regional Saúde a redução de custos inerentes ao diagnóstico de doença celíaca.

Podemos concluir que a doença celíaca constitui um problema de Saúde Pública, devido a alta prevalência e as complicações que causa. A possibilidade da realização de um tratamento simples e eficaz deve aumentar a atenção dos profissionais de saúde para este problema, com o objectivo da prevenção e do diagnóstico precoce [99].

As novas guidelines da ESPGHAN são um grande passo no diagnóstico de DC. Isto é conseguido através da combinação de testes de anticorpos altamente fiáveis (tTG IgA, péptido gliadina desamidada IgG) e ensaios genéticos, enquanto a biópsia intestinal não é tão essencial. Em certos casos, a sorologia é agora suficiente para o diagnóstico de DC [89].

6. Perspectivas futuras

A comunidade de pesquisa genética em doença celíaca tem desenvolvido investigações profundas na identificação de genes adicionais da doença [3]. Tendo em conta as novas guidelines, seria uma mais-valia para o Serviço de Patologia Clínica apostar nos testes genéticos HLA.

Encontra-se em investigação um espectro de novos testes, no sentido de fornecer meios mais avançados de diagnóstico e rastreio de doença, nomeadamente novos alvos sorológicos, (baseada na reação das células-T) que servirão quer no diagnóstico quer na monitorização da doença.

Segundo Baptista [5], estudos clínicos e experimentais têm descoberto novos epítomos críticos de peptídeos do glúten ricos em glutamina e prolina, que podem desempenhar uma acção tóxica na mucosa de celíacos. A identificação de peptídeos tóxicos e o conhecimento de mecanismos imunológicos da doença, podem conduzir à elaboração de variedades não tóxicas de glúten, bem como à possibilidade de tratamento de doença celíaca por meio de medicamentos ou vacina [5], [34].

Por exemplo, os investigadores estão a estudar um medicamento para a doença celíaca que envolve uma enzima digestiva potente que pode ajudar a quebrar o glúten antes do sistema imunológico reagir com ele. Está igualmente em estudo uma vacina, denominada Nexvax2 para o tratamento de doença celíaca, que visa dessensibilizar os pacientes para três peptídeos específicos no glúten. Nexvax2 está geneticamente adaptado para trabalhar com pessoas que têm genes específicos de doença celíaca - especificamente, o gene DQ2, presente em até 90% de todos com a doença celíaca. Teoricamente permitirá que as pessoas com doença celíaca possam consumir produtos com glúten novamente [91].

Todas estas possibilidades normalmente recorrem à engenharia genética e, por isso, ainda se encontram numa fase «embrionária» de desenvolvimento [23]. Por enquanto, os doentes celíacos devem continuar com uma dieta livre de glúten de forma rigorosa e permanente, e aguardar por novos avanços.

7. Bibliografia

1. Elson Ch, Ballew M, Barnard J, Bernstein S, Check I, Cohen M, et al. National Institutes of Health (NIH) Consensus Development. Conference Statement on Celiac Disease, June 28-30, 2004. *Gastroenterology* 2005; 128: S1-S9.
2. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2005; 40:1-19.
3. Bai J, Zeballos E, Fried M, Corazza GR, Schuppan D, Farthing MJG, et al. Celiac disease. *World J Gastroenterol* 2005; 10 suppl: 1-8.
4. Antunes H, Abreu I, Nogueiras A, Sá C, Gonçalves C, Cleto P, et al. Primeira Determinação de Prevalência de Doença Celíaca numa População Portuguesa. *Acta Med Port* 2006; 19: 115-120.
5. Baptista ML. Celiac Disease: A Contemporary View. *Pediatrics (São Paulo)* 2006; 28(4): 262-71.
6. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute Technical Review on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology* 2006; 131(6): 1977–1980.
7. Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. Celiac Disease. *Evidence Report Technology Assessment* 2004; 104: 1-6.
8. Holtmeier W, Caspary WF. Celiac disease. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2006; 1:3.
9. National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). Coeliac disease. Recognition and assessment of celiac disease. London (UK): 2009 May. 86 p.
10. Kupper C. Evidence-Based Practice Guidelines for Celiac Disease. *Today's Dietitian* 2010; 12 (10): 72.
11. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4th ed., St. Louis: Saunders/Elsevier; 2006. P. 1859-1862.

12. Fasano A, Berti I, Gararduzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States. *Arch Intern Med* 2003; 163:286-92.
13. Green PHR, Stavropoulos SN, Panagi SG, Goldstein SL, McMahon DJ, Absan H, et al. Characteristics of Adult Celiac Disease in the USA: Results of a National Survey. *American Journal of Gastroenterology* 2001; 96 (1): 126- 131.
14. Rauen MS, Back JCV, Moreira EAM. Celiac Disease's Relationship with the Oral Health. *Rev. Nutr.* 2005; 18(2):271-276.
15. Ferguson A, Kingstone K. Coeliac disease and malignancies. *Acta Paediatr* 1996; 85(412):78.
16. Collin P, Huhtala H, Virta L, Kekkonen L, Reunala T. Diagnosis of celiac disease in clinical practice: physician's alertness to the condition essential. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41(2): 152-6.
17. Green PHR, Jabri B. Coeliac disease. *The Lancet* 2003; 362: 383 – 391.
18. Kotze LMS. Coeliac disease. *J. Bras. Gastroenterol* 2006; 6 (1): 23-34.
19. Pedro N, Lopes S, Szantho A, Costa A, Moura JJ. Doença Celíaca – revisão de conceitos e novos desenvolvimentos. *Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna* 2009; 16 (1): 62-68.
20. Cataldo F, Montalto G. Celiac disease in the developing countries: a new and challenging public health problem. *World J Gastroenterol* 2007; 13(15): 2153-9.
21. Accomando S, Cataldo F. The global village of celiac disease. *DigLiver Dis* 2004; 36: 492-8.
22. Hill ID, Bhatnagar S, Cameron DJS, De Rosa S, Maki M, Russel GJ *et al.* Coeliac Disease: Working Group Report of the First World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35(Suppl.2):S78-S88.
23. Associação Portuguesa de Celíacos (APC) URL: <http://www.celiacos.org.pt/> (Acedido: 10/02/2012).
24. Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF. American Gastroenterological Association (AGA) Institute Technical Review on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Gastroenterology* 2006; 131(6): 1981-2002.

25. Fasano A and Catassi C. Current Approaches to Diagnosis and Treatment of Celiac Disease: An Evolving Spectrum. *Gastroenterology* 2001; 120:636–651.
26. Cerf-Bensussan N, Cellier C, Heyman M, Brousse N, Schmitz J. Coeliac Disease: An update on facts and questions based on the 10th International Symposium on Coeliac Disease. *J Pediatric Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 412-21.
27. Sdepanian VL, Morais MB, Fagundes-Neto U. Doença Celíaca: a evolução dos conhecimentos desde sua centenária descrição original até os dias atuais. *Arq Gastroenterol* 1999; 36(4): 244- 257.
28. Anand BS, Piris J, Truelove SC. The role of various cereals in celiac disease. *Q J Med* 1978; 47:101.
29. Ciclitira PJ. AGA Technical review on celiac sprue. *Gastroenterology* 2001; 120:1526-40.
30. Rodrigo L. Celiac disease. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6585-93.
31. Green PH, Cellier C. Celiac disease. *N Engl J Med* 2007; 357(17): 1731-43.
32. Samões ARF. Doença Celíaca no Adulto. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina), Faculdade de Medicina da Universidade do Porto 2010; 26 pp.
33. Torres MI, Casado MAL, Ríos A. New aspects in celiac disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13(8): 1156-61.
34. Nobre SR, Silva T, Cabral JEP. Doença Celíaca Revisitada. *J Port Gastreterol* 2007; 14: 184-193.
35. Fasano A. Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population. *Gastroenterology* 2005; 128:S68–S73.
36. Couto G, Barjas E, Couto AS, Serra D, Lopes J, Ramalho F, et al. Manifestações Hepáticas da Doença Celíaca do adulto. *J Port Gastreterol* 2003; 10: 41-45.
37. Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease - active, silent, latent, potential. *Gut* 1993; 34:150.
38. Pereira CC, Corrêa PHS, Halpern A. Relato de Caso: Doença Celíaca Recém-Diagnosticada Como Fator Agravante de Osteoporose em Mulher Idosa. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50 (6): 1127-113.

39. American Gastroenterological Association (AGA). Medical Position Statement: Guidelines on Osteoporosis in Gastrointestinal Diseases. *Gastroenterology* 2003; 124:791–794.
40. Chand N, Mihas AA. Celiac disease: current concepts in diagnosis and treatment. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40(1): 3-14.
41. Harrison MS, Wehbi M, Obideen K. Celiac disease: more common than you think. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 2007; 74(3): 209-15.
42. Bianchi ML, Bardella MT. Bone in celiac disease. *Osteoporos Int* 2008; 19(12):1705-16.
43. Sdepanian VL, Morais MB, Fagundes-Neto U. Doença Celíaca: avaliação da obediência à dieta isenta de glúten e do conhecimento da doença pelos pacientes cadastrados na Associação dos Celíacos do Brasil (ACELBRA). *Arq Gastroenterol* 2001; 38 (4): 232-239.
44. Fasano A. Systemic autoimmune disorders in celiac disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22(6): 674-9.
45. Rossi T. Celiac disease. *Adolesc Med Clin* 2004; 15(1): 16-20.
46. Dahlbom I, Olsson M, Forooz NK, Sjöholm AG, Truedsson L, Hansson T. Immunoglobulin G (IgG) Anti-Tissue Transglutaminase Antibodies Used as Markers for IgA-Deficient Celiac Disease Patients. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2005; 12(2): 254–258.
47. Kotze LMS, Utiyama SRR, Nisihara RM, Mocelin V, Carvalho RFA, Zeni MPB, et al. Comparação dos anticorpos anti-reticulina e antiendomíseo classe IgA para diagnóstico e controle da dieta na doença celíaca. *Arq Gastroenterol* 1999; 36(4):177-184.
48. Kocna P, Vaníčková Z, Perušičová J and Dvořák M. Tissue Transglutaminase-Serology Markers for Coeliac Disease. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40(5):485-492.
49. Romaldini CC, Barbieri D. Anticorpos Séricos na Doença Celíaca. *Arq Gastroenterol* 1999; 36(4): 258-264.
50. Leon F, Camarero C, R-Pena R, Eiras P, Sanchez L, et al. Anti-transglutaminase IgA Elisa: clinical potential and drawbacks in celiac disease diagnosis. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36(8):849-53.
51. Zintzaras E, Gemenis A. Performance of antibodies against tissue transglutaminase for the diagnosis of celiac disease: meta-analys. *Clin Vaccine Immunol* 2006; 13:187-192.

52. Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology* 2005; 128(4 Suppl 1):S38-46.
53. Mummert E. EliA™ Celikey® - the first fully automated tTG-antibody test. *Elia Journal* 2004; Edição 1: 11.
54. Bürgin-Wolff A, Dahlbom I, Hadziselimovic F, Petersson CJ. Antibodies against human tissue transglutaminase and endomysium in diagnosing and monitoring coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 685-691.
55. Challacombe DN. Screening tests for coeliac disease. *Archives of Disease in Childhood* 1995; 73 (1).
56. Bürgin-Wolff A, Gaze H, Hadziselimovic F, Huber H, Lentze MJ, Nusslé D, et al. Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Arch Dis Child* 1991; 66 (8): 941-947.
57. Grodzinsky E, Jansson G, Skogh T, Stenhammar L, Fälth-Magnusson K. Anti-endomysium and anti-gliadin antibodies as serological markers for coeliac disease in childhood: a clinical study to develop a practical routine. *Acta Pædiatr* 1995; 84: 294-298
58. Korponay-Szabó IR, Vecsei Z, Király R, Dahlbom I, Chirido F, Nemes E, et al. Deamidated Gliadin Peptides Form Epitopes That Transglutaminase Antibodies Recognize. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 46(3):253-61.
59. 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(13-14):931-935.
60. Cataldo F, Lio D, Marino V, Picarelli A, Ventura A, Corazza GR. IgG₁ antiendomysium and IgG antitissue transglutaminase (anti-tTG) antibodies in coeliac patients with selective IgA deficiency. *Gut* 2000; 47: 366-369.
61. Villalta D, Tonutti E, Prause C, Koletzko S, Uhlig HH, Vermeersch P, et al. IgG Antibodies against Deamidated Gliadin Peptides for Diagnosis of Celiac Disease in Patients with IgA Deficiency. *Clinical Chemistry* 2010; 56(3):464-468.
62. Pestana ME e Gageiro JN. Análise de dados para ciências sociais. A complementaridade do SPSS. 3ª edição. Edições Sílabo ; 2003. P. 727.
63. Harper R, Reeves B. Reporting of precision of estimates for diagnostic accuracy: a review. *BMJ* 1999; 318(7194):1322-1323.

64. Direcção Regional de Estatística da Madeira. http://estatistica.gov-madeira.pt/DRE_SRPC/IndicadoresEstatisticos/Populacao_Sociedade/Demografia_Censos/Dados_Estatisticos/EstimativasPopRes.pdf (Acedido: 07/01/2012).
65. Cardoso J, Alexandre J, Nabais MJ, Moura P, Vieira JD, et al. Doença Celíaca do adulto: Uma casuística de 12 casos. *Medicina Interna* 2000; 7 (1): 8-12.
66. Farrel RJ, Kelly CP. Celiac sprue. *N Engl J Med* 2002; 346: 180-188.
67. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, Fabiani E, Heier M, McMillan S, Murray L, Metzger MH, Gasparin M, Bravi E, Mäki M; Coeliac EU Cluster, The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Project Epidemiology. Ann Med* 2010; 42(8):587-95.
68. Troncone R, Greco L, Auricchio S. Gluten-sensitive enteropathy. *Pediatr Clin North Am* 1996; 43:355.
69. Catassi C, Kryszak D, Bhatti B, Sturgeon C, Helzlsouer K, et al. Natural history of celiac disease autoimmunity in a USA cohort followed since 1974. *Annals of Medicine* 2010; Early Online, 1–9.
70. Lionetti E and Catassi C. New Clues in Celiac Disease Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment. *International Reviews of Immunology* 2011; 30:219–231.
71. Utiyama SRR, Nass FR, Kotze LMS, Nishihara RM, Ambrosio AR, Messias-Reason IT. Triagem sorológica de familiares de pacientes com doença celíaca: anticorpos anti-endomísio, antitransglutaminase ou ambos?. *Arq Gastroenterol* 2007; 44 (2): 156-161.
72. Kotze LM, Utiyama SR, Nishiara RM, Zeni MP, de Sena MG, Amarante HM. Antiendomysium antibodies in Brazilian patients with celiac disease and their first-degree relatives. *Arq Gastroenterol* 2001;38:94-103.
73. Rijkers GT, Brooimans RA, Houwen R. Screening for coeliac disease *Elia Journal* 2003; 1: 7-8.
74. Dorn SD and Matchar DB. Cost-effectiveness analysis of strategies for diagnosing celiac disease. *Dig Dis Sci* 2008; 53:680 – 688.
75. 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): 884–886.
76. Hopper AD, Hadjivassiliou M, Hurlstone DP, Lobo AJ, McAlindon ME, Egner W, et al. What is the role of serologic testing in celiac disease? A prospective, biopsy-confirmed study with economic analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2008; 6(3):314-320.
77. Wolters V, Vooijs-Moulaert A-F, Burger H, Brooimans R, De Schryver J, Rijkers G, et al. Human tissue transglutaminase enzyme linked immunosorbent assay outperforms both the guinea pig based tissue transglutaminase assay and anti-endomysium antibodies when screening for coeliac disease. *Eur J Pediatr* 2002; 161: 284 -287.
78. Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, et al. Prevalence of celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med* 2003; 348: 2517-2524.
79. <http://www.phadia.com.mx/PageFiles/29647/Recaptulando%20Edi%C3%A7%C3%A3o%2042.pdf> (Acedido: 10/05/2012).
80. <http://www.phadia.com/pt-BR/Laboratorios/Autoimmunity/Produtos/Testes/Doenca-CeliacaOutras-Doencas-Gastrintestinais/> (Acedido: 10/03/2012).
81. Lewis NR, Scott BB. Meta-analysis: deamidated gliadin peptide antibody and tissue transglutaminase antibody compared as screening tests for coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31(1): 73-81.
82. Kurppa K, Lindfors K, Collin P, Saavalainen P, Partanen J, Haimila K, et al. Antibodies against deamidated gliadina peptides in early-stage celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45(8):673-8.
83. Monzani A, Rapa A, Fonio P, Tognato E, Panigati L, Oderda G. Use of deamidated gliadin peptide antibodies to monitor diet compliance in childhood celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 53 (1): 55-60.
84. Korponay-Szabó IR, Dahlbom I, Laurila K, Koskinen S, Woolley N, et al. Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for coeliac disease in selective IgA deficiency. *Gut* 2003; 52 (11): 1567-1571.
85. Villalta D, Alessio MG, Tampoia M, Tonutti E, Brusca I, Bagnasco M, et al. Testing for IgG class antibodies in celiac disease patients with selective IgA deficiency. A comparison of the diagnostic accuracy of 9 IgG anti-tissue

- transglutaminase, 1 IgG anti-gliadin and 1 IgG anti-deaminated gliadin peptide antibody assays. *Clin Chim Acta* 2007; 382(1-2): 95–99.
86. Lagerqvist C, Dahlbom I, Hansson T, Jidell E, Juto P, Olcén P, et al. Antigliadin immunoglobulin A best in finding celiac disease in children younger than 18 months of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 47(4):428-435.
87. Maglio M, Tosco A, Paparo F, Auricchio R, Granata V, Colicchio B, et al. Serum and intestinal celiac disease-associated antibodies in children with celiac disease younger than 2 years of age. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010, 50(1):43-48.
88. Hill PG, Homes GK. Coeliac disease: a biopsy is not always necessary for diagnosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27(7):572- 577.
89. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. *JPGN* 2012; 54: 136-160.
90. Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F, et al. Increased Prevalence and Mortality in Undiagnosed Celiac Disease. *Gastroenterology* 2009; 137: 88-93.
91. URL: <http://www.immusant.com/nexvax2/> (Acedido: 14/04/2012).
92. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, et al. Accuracy of diagnostic antibody testes for coeliac disease in children: Summary of an evidence report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 229-241.
93. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Doença Celíaca URL: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/pcdt_doenca_celiaca_livro_2010.pdf (Acedido 02/06/2012).
94. Murray JA, Van Dyke C, Plevak MF, Dierkhising RA, Zinsmeister AR et al. Trends in the identification and clinical features of celiac disease in a North American community, 1950–2001. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003; 1(1):19-27.
95. Green PH, Neugut AI, Naiyer AJ, Edwards ZC, Gabinelle S et al. Economic benefits of increased diagnosis of celiac disease in a national managed care population in the United States. *J Insur Med* 2008; 40(3-4): 218-28.

96. Smida V. Celiac Disease – Symptoms, Diagnosis And Treatment URL: <http://www.doctortipster.com/2541-celiac-disease-symptoms-diagnosis-and-treatment.html> (Acedido: 14/04/2012).
97. Pittschieler K, Reissigl H, Mengarda G. Celiac Disease in Two Different Population Groups of South Tirol. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988; 7(3):400-402.
98. George EK, Jansen TL, Mearin ML, Mulder CJ. Epidemiology of Celiac Disease in the Netherlands. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997; 24(5):S7-9.
99. Pereira F, Ferreira AC, Tavares M, Canedo P, Costa A, Figueiredo C, et al. Doença Celíaca e aleitamento materno: evidências epidemiológicas. *Alimentação Humana* 2006; 12 (1): 29 – 35.
100. <http://www.phadia.com/fr/Laboratoire/LAuto-immunite/Produits/Tests/Principe-du-test-ImmunoCAP-SpecificIgA/>. (Acedido: 10/03/2012).

8. Anexos

Tabela 11 - Doentes celíacos amostrados segundo o género no período de Janeiro de 2002 a Dezembro de 2010.

Sexo	Frequência	%	Chi²	Média de Idade
Feminino	28	73,7	8,526	15,5
Masculino	10	26,3		5,8
Total Geral	38	100		12,9

Tabela 12 - Frequência dos indivíduos distintos sujeitos a testes de diagnóstico de DC segundo a faixa etária.

Gama de idade	Frequência	(%)
0 a 2 anos	281	34,6
3 a 18 anos	170	20,9
19 a 44 anos	212	26,1
45 a 59 anos	74	9,1
+ de 60 anos	76	9,3
Total Geral	813	100

Tabela 13 - Frequência dos doentes celíacos diagnosticados através de biópsia segundo a faixa etária.

Gama de idade	Frequência	(%)
0 a 2 anos	14	36,8
3 a 18 anos	16	42,1
19 a 44 anos	5	13,2
45 a 59 anos	1	2,6
+ de 60 anos	2	5,3
Total Geral	38	100

Tabela 14 - Prevalência de exames sorológicos positivos para DC, no total de amostragens. PV – positivos verdadeiros; PV+PD – positivos verdadeiros e duvidosos; I.C. – Intervalo de confiança a 95%; N – número de casos analisados.

Marcador	População toda					Menores de 18 anos					Maiores de 18 anos				
	PV	I.C.95 %	PV+PD	I.C.95 %	N	PV	I.C.95 %	PV+PD	I.C.95 %	N	PV	I.C.95 %	PV+PD	I.C.95 %	N
AAGG	19,1%	±2,6 %	22,9%	±2,8%	870	26,1%	±3,9 %	31,4%	±4,1%	494	9,8%	±3,0 %	11,7%	±3,2%	376
AAGA	11,0%	±2,0 %	13,8%	±2,1%	989	13,0%	±2,7 %	15,0%	±2,9%	593	8,1%	±2,7 %	11,9%	±3,2%	396
AATG	4,6%	±1,4 %	5,4%	±1,6%	808	7,4%	±2,4 %	8,3%	±2,5%	459	0,9%	±1,0 %	1,7%	±1,4%	349
AATA	15,6%	±2,5 %	16,0%	±2,5%	807	18,5%	±3,6 %	19,0%	±3,6%	459	11,8%	±3,4 %	12,1%	±3,4%	348
AAEA	4,9%	±3,6 %	5,6%	±3,8%	142	5,1%	±6,9 %	5,1%	±6,9%	39	4,9%	±4,2 %	5,8%	±4,5%	103
Biópsia	93,1%	±4,9 %	93,1%	±4,9%	101	97,6%	±3,3 %	97,6	±3,3%	84	70,6%	±21,7 %	70,6%	±21,7%	17
Todos os marcadores	21,3%	±2,5 %	24,90%	±2,7%	1004	26,2%	±3,5 %	30,2%	±3,7%	600	14,1%	±3,4 %	17,1%	±3,7%	404

Tabela 15 - Taxa de incidência de casos novos de Doença Celíaca, de acordo com os resultados das biópsias, resultados de todos os marcadores sorológicos e biópsia em conjunto, considerando os resultados positivos verdadeiros (PV) e resultados positivos verdadeiros e duvidosos em conjunto (PV+PD), na Região autónoma da Madeira.

Ano	Biópsia		Todos marcadores (PV)		Todos marcadores (PV+PD)	
	Número de positivos	Incidência	Número de positivos	Incidência	Número de positivos	Incidência
2003	0	0,000	1	0,400	1	0,400
2004	0	0,000	4	1,600	4	1,600
2005	9	3,600	14	5,700	16	6,500
2006	5	2,000	21	8,500	22	8,900
2007	7	2,800	20	8,100	22	8,900
2008	1	0,400	21	8,500	27	10,900
2009	5	2,000	21	8,500	23	9,300
2010	11	4,400	35	14,100	47	19,000
Total Geral	38	1,9	813	6,9	813	8,2

Tabela 16 - Cálculo da sensibilidade e especificidade dos marcadores sorológicos, usando como padrão de referência as biópsias na população total amostrada (n=1004). PV – positivos verdadeiros; PV+PD – positivos verdadeiros e duvidosos; I.C. – Intervalo de confiança a 95%.

		Biópsia - PV		Biópsia - PV+PD		PV				PV+PD			
		Neg	Pos	Neg	Pos	Sensibilidade	I.C. 95%	Especificidade	I.C. 95%	Sensibilidade	I.C. 95%	Especificidade	I.C. 95%
AAGG	Neg	2	15	2	8	83,1%	±7,5%	28,6%	±9,0%	91,0%	±5,7%	28,6%	±9,0%
	Pos	5	74	5	81								
AAGA	Neg	6	24	5	18	74,2%	±8,6%	85,7%	±6,9%	80,6%	±7,7%	71,4%	±8,9%
	Pos	1	69	2	75								
AATG	Neg	7	58	7	52	34,8%	±9,5%	100,0%	±0,0%	41,6%	±9,9%	100,0%	±0,0%
	Pos	0	31	0	37								
AATA	Neg	6	4	6	4	95,5%	±4,2%	85,7%	±7,0%	95,5%	±4,2%	85,7%	±7,0%
	Pos	1	84	1	84								
AAEA	Neg	0	4	0	3	50,0%	±34,6%	-	-	62,5%	±33,5%	-	-
	Pos	0	4	0	5								

Tabela 17 - Cálculo da sensibilidade e especificidade dos marcadores sorológicos, usando como padrão de referência as biópsias, na população de crianças (menores de 18 anos). PV – positivos verdadeiros; PV+PD – positivos verdadeiros e duvidosos; I.C. – Intervalo de confiança a 95%.

		Biópsia - PV		Biópsia - PV+PD		PV				PV+PD			
		Neg	Pos	Neg	Pos	Sensibilidade	I.C. 95%	Especificidade	I.C. 95%	Sensibilidade	I.C. 95%	Especificidade	I.C. 95%
AAGG	Neg	0	13	0	7	83,1%	±8,3%	0,0%	±0,0%	90,9%	±6,3%	0,0%	±0,0%
	Pos	2	64	2	70								
AAGA	Neg	2	22	2	18	72,8%	±9,6%	100,0%	±0,0%	77,8%	±8,9%	100,0%	±0,0%
	Pos	0	59	0	63								
AATG	Neg	2	47	2	43	39,0%	±10,8%	100,0%	±0,0%	44,2%	±11,0%	100,0%	±0,0%
	Pos	0	30	0	34								
AATA	Neg	2	4	2	4	94,7%	±5,0%	100,0%	±0,0%	94,7%	±5,0%	100,0%	±0,0%
	Pos	0	72	0	72								
AAEA	Neg	0	1	0	1	66,7%	±53,3%	-	-	66,7%	±53,3%	-	-
	Pos	0	2	0	2								

Tabela 18 - Cálculo da sensibilidade e especificidade dos marcadores sorológicos, usando como padrão de referência as biópsias, na população de adultos (maiores 18 anos). PV – positivos verdadeiros; PV+PD – positivos verdadeiros e duvidosos; I.C. – Intervalo de confiança a 95%.

	Biópsia - PV		Biópsia - PV+PD		PV				PV+PD			
	Neg	Pos	Neg	Pos	Sensibilidade	I.C. 95%	Especificidade	I.C. 95%	Sensibilidade	I.C. 95%	Especificidade	I.C. 95%
AAGG	Neg	2	2	2	83,3%	±17,7%	40,0%	±23,3%	91,7%	±13,1%	40,0%	±23,3%
	Pos	3	10	3								
AAGA	Neg	4	2	3	83,3%	±17,7%	80,0%	±19,0%	100,0%	±0,0%	60,0%	±23,3%
	Pos	1	10	2								
AATG	Neg	5	11	5	8,3%	±13,1%	100,0%	±0,0%	25,0%	±20,6%	100,0%	±0,0%
	Pos	0	1	0								
AATA	Neg	4	0	4	100,0%	±0,0%	80,0%	±19,0%	100,0%	±0,0%	80,0%	±19,0%
	Pos	1	12	1								
AAEA	Neg	0	3	0	40,0%	±42,9%	-	-	60,0%	±42,9%	-	-
	Pos	0	2	0								

Tabela 19 - Cálculo da sensibilidade e especificidade dos marcadores sorológicos, usando como padrão de referência as biópsias, na população de crianças menores de 2 anos. PV – positivos verdadeiros; I.C. – Intervalo de confiança a 95%.

	Biópsia	PV					
		Neg	Pos	Sensibilidade	I.C. 95%	Especificidade	I.C. 95%
AAGG	Neg	0	2	92,3%	10,1%	0,0%	0,0%
	Pos	1	24				
AAGA	Neg	1	7	75,9%	15,3%	100,0%	0,0%
	Pos	0	22				
AATG	Neg	1	18	30,8%	17,4%	100,0%	0,0%
	Pos	0	8				
AATA	Neg	1	4	84,6%	13,6%	100,0%	0,0%
	Pos	0	22				
AAEA	Neg	0	1	50,0%	69,3%	-	-
	Pos	0	1				

Tabela 20 - Cálculos de concordância entre os resultados dos marcadores sorológicos e a biópsia, com base no índice Kappa de Cohen, para a população com idade inferior a 2 anos, em separado por 2 limites de *cut-off*. PV – positivos verdadeiros; PV+PD – positivos verdadeiros e duvidosos; N – número de casos analisados.

	Idade inferior a 2 anos		N
	PV	PV+PD	
Marcador	Concordância	Concordância	
AAGG	-5,7%	-5,0%	28
AAGA	15,1%	17,5%	31
AATG	2,9%	3,4%	28
AATA	28,9%	28,9%	27

Tabela 21 - Cálculos de concordância entre os resultados dos marcadores sorológicos e a biópsia, com base no índice Kappa de Cohen, para a população com idade superior a 2 anos, em separado por 2 limites de *cut-off*. PV – positivos verdadeiros; PV+PD – positivos verdadeiros e duvidosos; N – número de casos analisados.

	Idade superior a 2 anos		N
	PV	PV+PD	
Marcador	Concordância	Concordância	
AAGG	8,7%	20,6%	68
AAGA	27,2%	29,3%	69
AATG	9,4%	12,7%	68
AATA	90,1%	90,1%	68