

DOCUMENTOS TÉCNICOS PARA EL LABORATORIO CLÍNICO

# RECOMENDACIONES PARA SEROLOGÍA EN ENFERMEDAD CELÍACA.

ABRIL 2016



## AUTORES:

### TM. Ana María Castillo.

Sección Inmunología. Subdepartamento Enfermedades No Transmisibles.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

### BQ. Leopoldo Galdames.

Sección Inmunología. Subdepartamento Enfermedades No Transmisibles.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

### BQ. Ingrid Mansilla.

Sección Inmunología. Subdepartamento Enfermedades No Transmisibles.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

### BQ. Patricia Santis.

Sección Inmunología. Subdepartamento Enfermedades No Transmisibles.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

### BQ. Carolina Valenzuela.

Sección Inmunología. Subdepartamento Enfermedades No Transmisibles.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

## REVISORES INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

### BQ. Hugo Moscoso.

Jefe Subdepartamento Enfermedades No Transmisibles.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

### Dra. Verónica Ramírez.

Jefe Subdepartamento Coordinación Externa de Laboratorios.  
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.  
Instituto de Salud Pública de Chile.

## REVISORES EXTERNOS

### TM. María Luisa Olea.

Tecnólogo Médico de Sección Inmunología. Laboratorio Imalab.  
Hospital FACH.

### Dra. Emilia Sugai.

Bioquímico de Laboratorio.  
Hospital de Gastroenterología Dr. Bonorino Udaondo.  
Buenos Aires. Argentina.

### BQ. Sandra Verbeke.

Jefe Laboratorio Inmunología.  
Clínica Santa María.

### Dr. Juan Carlos Weitz.

Médico Gastroenterólogo.  
Past presidente Sociedad Chilena de Gastroenterología.

---

# RECOMENDACIONES PARA SEROLOGÍA EN ENFERMEDAD CELÍACA.

---

## RESUMEN

El siguiente documento establece recomendaciones para los exámenes serológicos de autoanticuerpos que se encuentran actualmente disponibles para apoyo diagnóstico y seguimiento de enfermedad celíaca y que pueden ser realizados por los laboratorios clínicos en Chile; las metodologías son principalmente inmunofluorescencia indirecta (IFI) y enzima inmunoanálisis (ELISA).

## ALCANCE

Está dirigido a profesionales del área de la salud relacionados con el laboratorio clínico que realizan exámenes para detección de autoanticuerpos relacionados con enfermedad celíaca: anticuerpos anti-endomisio, anticuerpos anti-transglutaminasa, anticuerpos anti-peptido deamidado de gliadina. Se agrega la descripción de un nuevo marcador serológico denominado anticuerpos anti-neoepítotope. Además incluye recomendaciones del trabajo realizado en los talleres de autoinmunidad realizados por el Laboratorio Nacional y de Referencia de Inmunología del Instituto de Salud Pública de Chile

## 1.- INTRODUCCION

La enfermedad celíaca es una enfermedad autoinmune provocada por alimentos que contienen gluten, principalmente cereales como trigo, centeno y cebada, en individuos predispuestos genéticamente, ocasionando una lesión inflamatoria intestinal que conduce a la disminución de la capacidad de absorción de nutrientes<sup>(1)</sup>.

Inicialmente fue considerada una rara condición, caracterizada por síntomas intestinales que llevan a diarrea, síndrome de mala absorción, baja de peso y un retraso en el crecimiento. En los años 90, Richard Logan acuñó la idea del “iceberg de la enfermedad celíaca” cuando indicó que los individuos reconocibles por la sintomatología representan la punta del iceberg con respecto a la totalidad de la población celíaca no identificables por síntomas clínicos. Varios estudios han demostrado que esta enfermedad se encuentra presente en todo el mundo y que existe un aumento de la incidencia entre individuos de diferentes grupos étnicos y etarios<sup>(2, 3, 4)</sup>. Los autores indican que este aumento no se atribuye a una mejor detección de la condición celíaca, sino que podría deberse a desafíos ambientales que han cambiado a través del tiempo: cantidad, calidad y transformación de cereales, así como la exposición a agentes infecciosos durante la infancia temprana que podrían modificar el desarrollo normal del sistema inmunológico.

Numerosos estudios serológicos realizados en población general indican que la enfermedad celíaca tiene una prevalencia cercana al 1% en el mundo occidental, particularmente referido a EE.UU. y Europa<sup>(5, 6)</sup>. En Chile se estableció la prevalencia serológica en base a la detección del marcador anticuerpo anti-

transglutaminasa IgA; ésta es de 0.6% en la población, dada a conocer en la Encuesta Nacional de Salud del año 2010<sup>(7)</sup>.

La enfermedad celíaca tiene una predisposición genética, asociada con las moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad HLA-DQ2 (90-95%) y HLA-DQ8 (5-10%). El desarrollo de la enfermedad celíaca en individuos predispuestos, se basa en la exposición al gluten presente en la mayoría de los cereales que constituyen la principal fuente de carbohidratos<sup>(8)</sup>.

La patogénesis de la enfermedad celíaca presenta un particular modelo donde un antígeno externo, el gluten, es el desencadenante de los eventos iniciales que comprometen aspectos de la inmunidad innata, para luego dar paso a eventos de la inmunidad adaptativa con la participación del autoantígeno transglutaminasa. Las proteínas del gluten están compuestas por gluteninas y prolaminas; estas últimas proteínas, ricas en prolina y glutamina, son consideradas tóxicas por su incompleta digestión. Una vez consumido el cereal, el gluten se digiere parcialmente en fragmentos de gliadina (prolamina del trigo) que entran a través de la barrera epitelial de la mucosa intestinal en el contexto de un aumento de la permeabilidad de ésta. Es en la lámina propia de la mucosa intestinal que un paso importante en la inmunopatogénesis de la enfermedad celíaca se produce como resultado de la actividad de la enzima transglutaminasa tisular (tTG)<sup>(9)</sup>. La gliadina es deamidada por la enzima tTG, haciéndola una molécula más inmunogénica con efectos sobre el sistema inmune adaptativo. Ver Figura N°1 <sup>(10)</sup>.

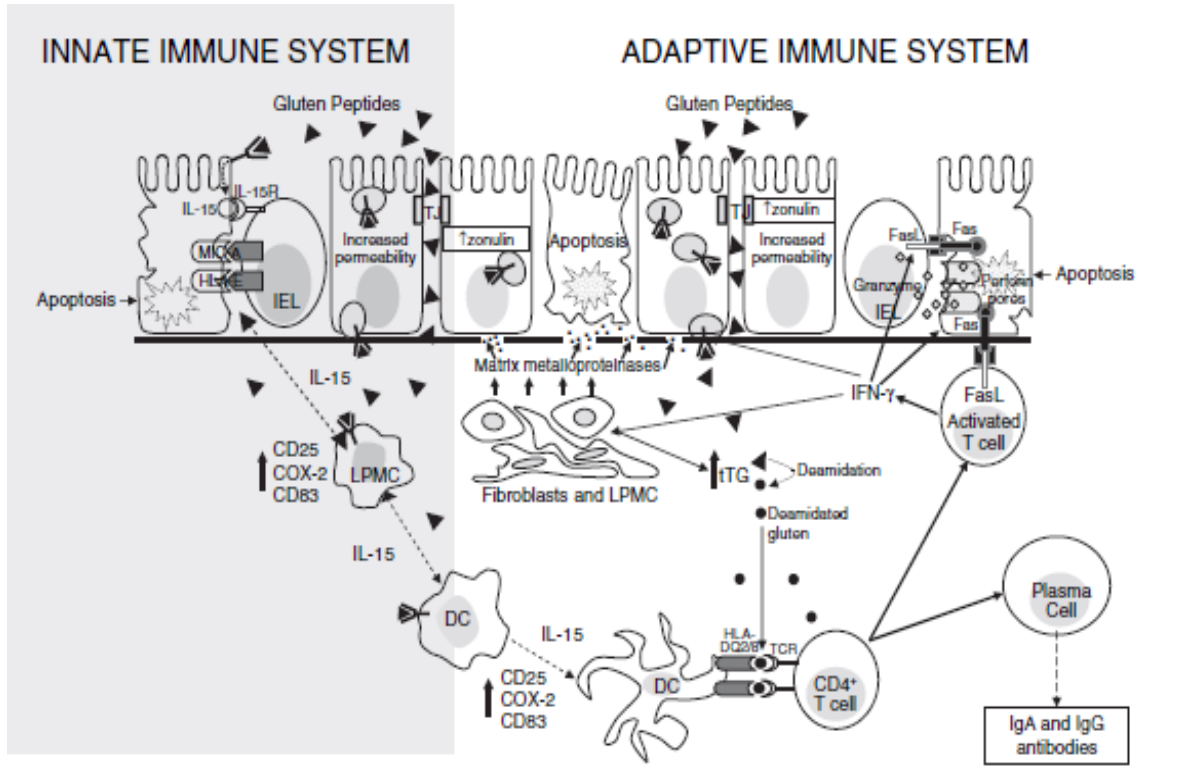
El diagnóstico de la enfermedad celíaca, en términos generales se orienta por los síntomas clínicos y se apoya en el hallazgo de marcadores serológicos de ésta; aunque el diagnóstico definitivo se obtiene a través de la evaluación de la biopsia intestinal<sup>(1)</sup>. Considerando que cada individuo es un caso clínico particular de presentación, en la práctica clínica el diagnóstico se basa en la evaluación del conjunto de estos parámetros, sin que ninguno sea determinante en forma aislada. En la Figura N°2 se presenta un algoritmo diagnóstico de la enfermedad celíaca basado en marcadores serológicos y la biopsia intestinal, indicado por la Organización Mundial de Gastroenterología.<sup>(1,11)</sup>; no obstante varias organizaciones como la ESPGHAN (European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition), ACG (American College of Gastroenterology) publican algoritmos diagnósticos considerando diversos contextos clínicos<sup>(8, 12)</sup>.

La dieta libre de gluten es el único tratamiento de por vida para el paciente celíaco.

En general, los pacientes con enfermedad celíaca sufren con mayor frecuencia otras enfermedades autoinmunes como diabetes insulino dependiente y tiroiditis; también se presenta en pacientes con alteraciones congénitas como síndrome de Down o déficit selectivo de IgA.<sup>(5, 13, 14)</sup>.

**Figura N°1**

Transporte epitelial y el reconocimiento inmune de gluten en la enfermedad celiaca.

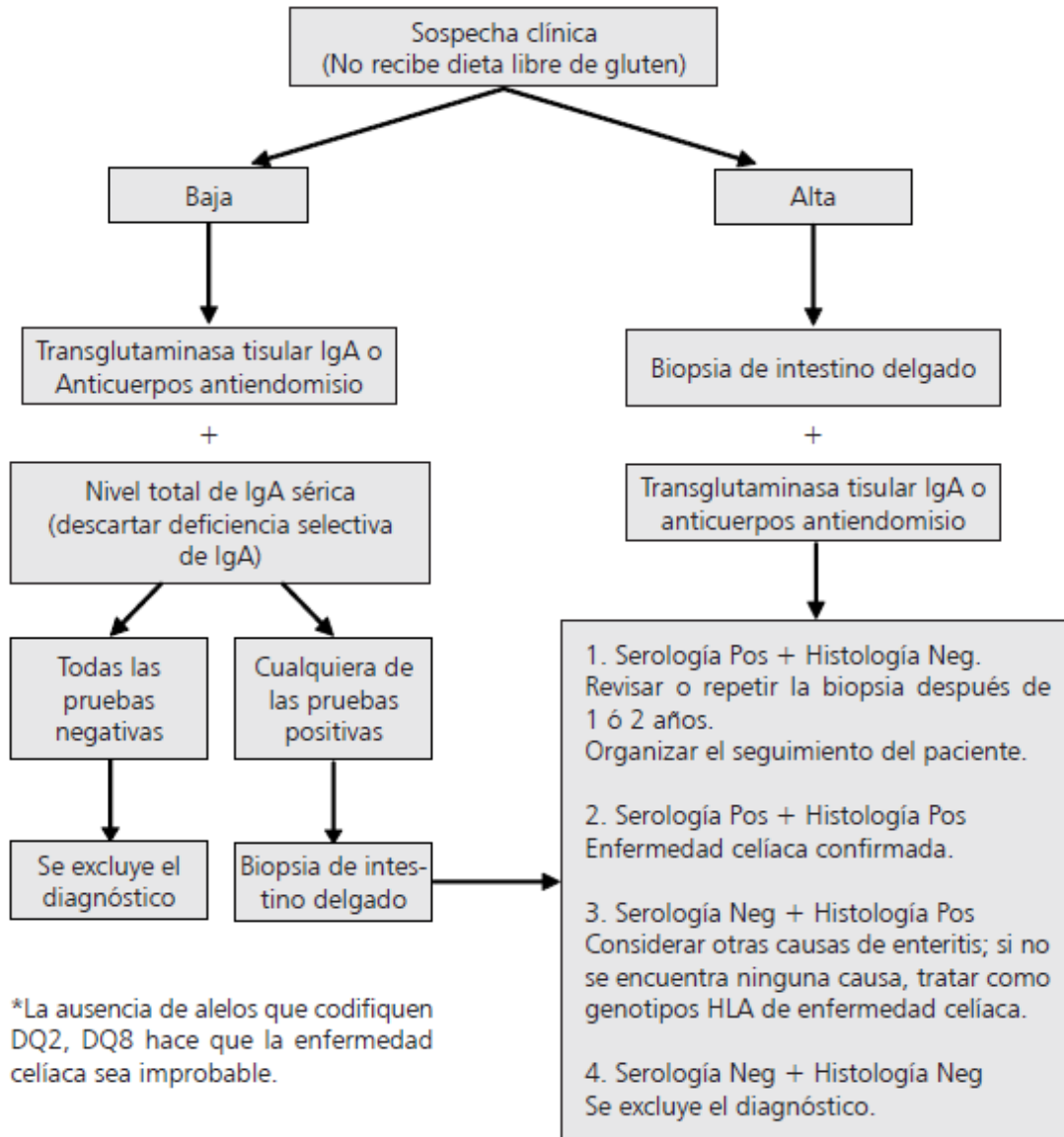


En la enfermedad celiaca péptidos del gluten pueden atravesar el epitelio intestinal ya sea a través de la ruta paracelular o vía transcelular. En el primer caso, esto se produce como consecuencia de un aumento de la permeabilidad debido al “up regulation” de la zonulina (que podría ser dependiente de gliadina o gliadina-independiente), en el segundo caso se produce mediante el uso de vesículas de los enterocitos que transportan complejo péptidos- HLA clase II. Estas vesículas son capaces de atravesar la membrana basal permitiendo que péptidos de gluten intactos tengan acceso a la lámina propia. Aquí, se pueden activar tanto las células dendríticas y las células mononucleares para producir interleuquina 15, que a su vez provoca el “up regulation” de una proteína de estrés en los enterocitos que son reconocidas por los receptores natural killer presentes en los linfocitos intraepiteliales. Por otra parte, péptidos de gluten nativos y péptidos de gluten deamidados son presentados por las células dendríticas maduras a receptores de células T utilizando el heterodímero HLA-DQ2 o HLA-DQ8. Esta unión activa fuertemente las células T CD4+ que, mediante la secreción de citoquinas pro-inflamatorias, estimulan las células T citotóxicas y fibroblastos para producir un patrón particular de metaloproteinasas de matriz que es responsable de la degradación tanto de la matriz extracelular y membrana basal. Las células T activadas también se vuelven capaces de desencadenar la apoptosis del enterocito mediante la producción de moléculas como el Fas ligando y granzima, ambas responsables de la citotoxicidad, que conduce a las lesiones de la mucosa características. Células T CD4+ estimuladas también son capaces de inducir la diferenciación de linfocitos B en células plasmáticas productoras de anticuerpos específicos anti-gliadina, anti-transglutaminasa y anti-péptido deamidado de gliadina.

DC, células dendríticas; FasL, Fas ligando; HLA, antígeno leucocitos humanos; IL, interleuquina; IEL, linfocitos intraepiteliales; CMLP, células mononucleares de lámina propia; TCR, receptor de células T; TJ, unión estrecha; tTG, transglutaminasa tisular. (Tomada de “The immune recognition of gluten in coeliac disease”. Cicciocioppo R, Di Sabatino A and Corazza GR. *Clinical and Experimental Immunology* 2005;140:408-416).

**Figura N° 2**

Algoritmo diagnóstico de la enfermedad celíaca basado en marcadores serológicos y la biopsia intestinal.



(Tomada de "Guía práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Enfermedad celíaca". Bai J, Zeballos E, Fried M, Corazza GR, Schuppan D, Farthing MJG, Catassi C, Greco L, Cohen H and Krabshuis JH. Gastroenterol. Latinoam. 2010;21:34-44).

## 2.- MARCADORES SEROLOGICOS PARA EL APOYO DIAGNOSTICO DE ENFERMEDAD CELIACA

Los marcadores serológicos de la enfermedad celíaca se pueden dividir en dos grupos en base a los antígenos diana que reconocen específicamente los anticuerpos asociados a esta enfermedad: gliadina (que representa a las prolaminas tóxicas que es el antígeno externo) y transglutaminasa tisular (enzima ubicada en diversos tejidos y que es el autoantígeno).

La detección de estos marcadores tiene como objetivo alcanzar una mayor sensibilidad diagnóstica (pacientes celíacos con marcador serológico presente) junto a una mayor especificidad diagnóstica (individuos no celíacos con marcador serológico ausente); en adelante veremos la variabilidad de estas propiedades por marcador. Se logra la máxima efectividad en el laboratorio que ha elegido la metodología adecuada al uso previsto del marcador; ello implica el conocimiento y ejecución técnica en conformidad al aseguramiento de calidad de sus resultados. Es importante considerar estos aspectos ya que estos marcadores apoyan el diagnóstico y seguimiento de los pacientes en su tratamiento con dieta libre de gluten (DLG); en este contexto, la primera serología resulta fundamental para el médico tratante y también las siguientes con DLG.

Los marcadores serológicos usados son autoanticuerpos preferentemente de clase IgA. Sin embargo, como los pacientes celíacos tienen una mayor probabilidad de presentar deficiencia selectiva de IgA en relación a la población general, es que se debe realizar una cuantificación de IgA sérica, destacando la importancia de realizar esta cuantificación al mismo momento que los marcadores serológicos; en caso de encontrar una IgA sérica bajo el valor normal (deficiente de IgA) se debe realizar la detección de autoanticuerpos de clase IgG, de lo contrario existe el riesgo de no detectar un paciente celíaco.

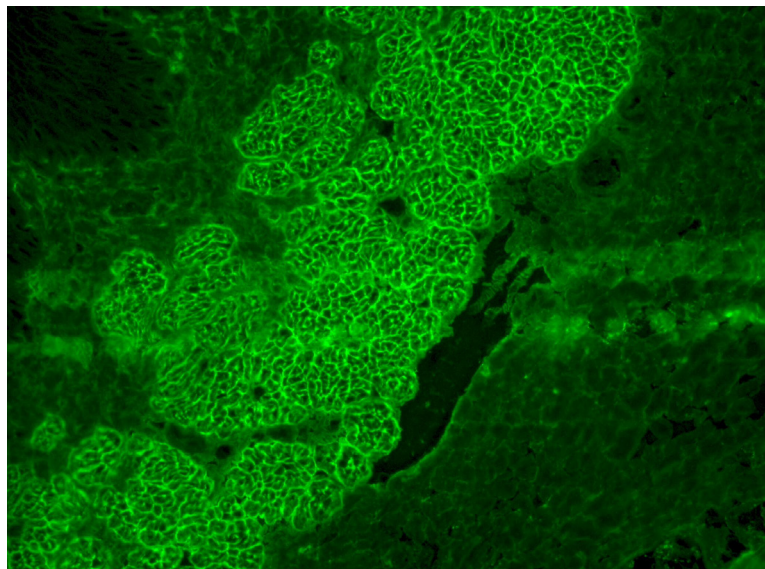
A continuación se describen los autoanticuerpos de uso actual en serología para enfermedad celíaca.

### 2.1- Anticuerpos anti-endomisio (anti-EMA)

Son anticuerpos que se unen a la sustancia interfibrilar del músculo liso y se detectan por inmunofluorescencia indirecta en tejido de esófago de mono de corte distal; de esta forma entrega el patrón característico de identificación; ver Figura N°3. Hoy se conoce que el antígeno diana reconocido en este examen es la transglutaminasa tisular.

#### **Figura N°3:**

*Patrón de anticuerpos anti-EMA (positivo); se observa fluorescencia interfibrilar en la capa muscular de la mucosa esofágica.*



El examen de anticuerpos anti-EMA IgA es sensible y altamente específico para enfermedad celíaca. Sus niveles séricos de anticuerpos anti-endomisio IgA disminuyen en una dieta libre de gluten hasta llegar a ser negativos.

Estudios reportan anticuerpos anti-EMA IgA en población celíaca sin diferenciación etaria niño y adulto, valores de sensibilidad entre 80% y 90%, y especificidad entre 98% y 100%<sup>(15)</sup>.

## 2.2- Anticuerpos anti-transglutaminasa tisular (anti-tTG)

Están dirigidos contra una enzima de expresión ubicua que se libera tras daño tisular y se detectan principalmente por método de ELISA, metodología que en la actualidad está ampliamente disponible. Es recomendable usar aquel que utiliza transglutaminasa (tTG) humana como fuente antigénica en lugar de preparaciones de tTG animal. Estudios han demostrado que tTG humana ha mejorado significativamente la sensibilidad y especificidad de este marcador serológico con respecto al uso de tTG de hígado de cobayo<sup>(16, 17)</sup>.

Este examen de anticuerpos anti-tTG IgA es altamente sensible aunque menos específico que anti-EMA IgA para la enfermedad celíaca, por esto también se prefiere usar en el seguimiento de pacientes con DLG.

Estudios reportan anticuerpos anti-tTG IgA en población celíaca sin diferenciación etaria niño y adulto, valores de sensibilidad entre 86% y 93%, y especificidad entre 92% y 98%<sup>(15)</sup>.

## 2.3- Anticuerpos anti-péptido deamidado de gliadina (anti-DGP)

Se detectan principalmente por método de ELISA y se conocen como anticuerpos anti-gliadina de segunda generación, denominado anticuerpos anti-péptido deamidado de gliadina (anti-DGP), utiliza péptidos de gliadina modificados presentes en la fisiopatología de la enfermedad celíaca.

Los estudios para estos marcadores están orientados a mejorar la sensibilidad de los actualmente en uso (anti-EMA y anti-tTG), y se han aplicado con favorables resultados hasta ahora. En términos generales, anti-DGP IgA ha demostrado ser casi tan sensible y específico como anti-tTG IgA, sin embargo por razones aún no claras, los marcadores anti-EMA IgG y anti-tTG IgG son al menos 30% inferior en sensibilidad que los de clase IgA para diagnóstico de enfermedad celíaca. Este fenómeno parece no aplicarse a anti-DGP IgG, ya que tanto pacientes deficientes y suficientes en IgA, son detectados usando anti-DGP IgG con una sensibilidad superior<sup>(21)</sup>.

Los estudios muestran mayor sensibilidad en pacientes adultos con déficit de IgA y mayor sensibilidad en pacientes seronegativos al utilizar anti-DGP IgA e IgG simultáneamente<sup>(18)</sup>. En pacientes pediátricos se observa similar sensibilidad al utilizar anti-DGP IgA e IgG simultáneamente<sup>(19)</sup>, y mayor sensibilidad en pacientes con déficit de IgA al utilizar anti-DGP IgG<sup>(20)</sup>.

Estos estudios también han utilizado DGP combinado con tTG (denominado screen) con buenos resultados en grupos etarios con condiciones clínicas definidas.

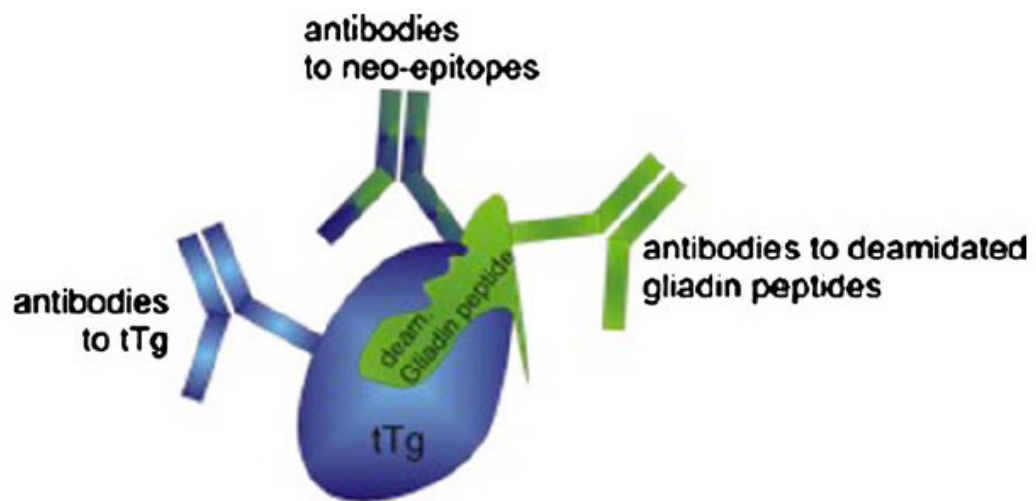


## 2.4- Anticuerpos anti-neoepítipo

Se detectan principalmente por método de ELISA. Deben su nombre a la formación de un nuevo epítipo formado por el complejo péptido de gliadina deamidado-transglutaminasa<sup>(22, 23)</sup>; ver Figura N°4.

### Figura N° 4

El complejo de péptido de gliadina deamidado – transglutaminasa tisular (tTG) puede detectar tres anticuerpos diferentes: anticuerpos anti-tTg, anti-DGP y anti-neoepítipo



(Tomada de "Diagnostic Challenges in Celiac Disease and the Role of the Tissue transglutaminase –Neo-Epitope". Matthias T, Pfeiffer S, Selmi C and Gershwin ME. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2010; 38: 298–301).

Este marcador de reciente introducción persigue el mismo fin de mejorar la sensibilidad diagnóstica; sin embargo, hasta ahora, hay menos publicaciones disponibles<sup>(24)</sup>.

## 3.0- RECOMENDACIONES TÉCNICAS PARA EL USO DE MARCADORES SEROLÓGICOS

Las siguientes recomendaciones, orientadas a exámenes serológicos en enfermedad celíaca, incluyen el trabajo realizado en los talleres de autoinmunidad realizados por el Laboratorio Nacional y de Referencia de Inmunología del Instituto de Salud Pública de Chile.

### 3.1- Recomendaciones para el uso de exámenes.

3.1.1.- Exámenes que actualmente por su alta especificidad y sensibilidad se recomienda solicitar como perfil serológico de apoyo para diagnóstico de enfermedad celíaca:

- Anticuerpos anti-EMA IgA
- Anticuerpos anti-tTG IgA
- Cuantificación de IgA sérica (para detección de paciente con déficit de IgA)

Considerar, además, la realización de anticuerpos anti-tTG IgG ó anti-DGP IgG para paciente con déficit de IgA.

3.1.2.- Exámenes que actualmente se recomienda no incluir en la serología de apoyo para diagnóstico de enfermedad celiaca ya que no tienen especificidad ni sensibilidad adecuada para esta patología:

- Anticuerpos anti reticulina
- Anticuerpos anti gliadina

3.1.3.- Exámenes que actualmente se recomienda realizar para seguimiento de pacientes en tratamiento con DLG:

- Anticuerpos anti-tTG IgA
- Anticuerpos anti-DGP IgA y/o IgG

## **3.2- ASPECTOS ANALÍTICOS DE LOS MÉTODOS DE EXÁMEN EN EL LABORATORIO.**

### **3.2.1- Anticuerpos anti-endomisio**

3.2.1.1- El sustrato a usar debe ser corte de esófago de mono en la porción distal.

3.2.1.2- Para conjugado, usar inmunoglobulina de clase IgA; en caso de déficit de IgA no se recomienda el uso de clase de IgG ya que se describe mayor señal de fondo, lo que dificulta su lectura por el profesional de laboratorio. Siempre indicar en el informe la clase de inmunoglobulina que se está detectando.

3.2.1.3- Realizar 2 diluciones iniciales de screening: 1/5 y 1/10.

3.2.1.4- En ocasiones se presentan muestras a título muy alto que durante el screening se observa una imagen positiva dudosa que marca el cuerpo del músculo liso (fenómeno de prozona). Para evidenciar el patrón característico de EMA, se recomienda diluir a título de 1/30 y mayores en múltiplos de 2.

### **3.2.2.- Anticuerpos anti-transglutaminasa**

3.2.2.1- El profesional del laboratorio debe conocer el origen antigénico del kit en uso. Por lo anteriormente indicado, se recomienda usar los de origen humano.

3.2.2.2- Disponibilidad en el mercado de kits tTG de clase IgA, tTG de clase IgG y tTG de clases IgA/IgG. Se sugiere utilizar kit para detección de única clase de inmunoglobulina por ensayo (no IgA/IgG simultáneamente), dada la importancia de conocer condición de déficit de IgA en el paciente.

### **3.2.3.- Anticuerpos anti-péptido deamidado de gliadina**

3.2.3.1- El profesional del laboratorio debe asegurar que el antígeno gliadina del kit en uso corresponde a péptido deamidado de gliadina.

3.2.3.2- Disponibilidad en el mercado de kits anti-DGP de clase IgA, anti-DGP de clase IgG y anti-DGP de clases IgA/IgG.

3.2.3.3- Si la decisión del laboratorio es usar kit de antígeno DGP combinado con tTG (screen) asociados a conjugado IgA y/o IgG, se debe considerar el uso previsto para una correcta interpretación de resultados.

Para los últimos dos marcadores serológicos realizados por ELISA, el profesional de laboratorio debe conocer aspectos técnicos del kit en uso tales como: antígeno, linealidad, límite de detección, tipo de cali-

bración, CV(%) intraensayo e interensayo, posibles interferencias, sensibilidad y especificidad. El informe de laboratorio debe indicar método, naturaleza del antígeno, clase de inmunoglobulina que se detecta e intervalo de referencia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bai J, Zeballos E, Fried M, Corazza GR, Schuppan D, Farthing MJG, Catassi C, Greco L, Cohen H and Krabshuis JH. Guía práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Enfermedad celíaca. *Gastroenterol. Latinoam.* 2010; 21(1): 34-44.
2. Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, Laurila K, Collin P, Rissanen H, Lohi O, Bravi E, Gasparin M, Reunanen A and Maki M. Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 1217-1225.
3. Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F, Brantner TL, Kim WR, Phelps TK, Lahr BD, Zinsmeister AR, Melton LJ 3rd and Murray JA. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology.* 2009; 137(1):88-93.
4. Parra-Medina R, Molano-Gonzalez N, Rojas-Villarraga A, Agmon-Levin N, Arango MT, Shoenfeld Y and Anaya JM. Prevalence of celiac disease in latin america: a systematic review and meta-regression. *PLoS One.* 2015;10(5):1-19.
5. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi 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: a large multicenter study. *Arch Intern Med* 2003; Vol 163:286-92.
6. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, Fabiani E, Heier M, McMillan S, et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med* 2010; 42: 587-595.
7. Ministerio de Salud (MINSAL) Chile, Encuesta Nacional de Salud (ENS) Chile 2009-2010. Documento año 2010.
8. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Lelgeman M et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *JPGN* 2012; 54: 136-160.
9. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997;3: 797-801.
10. Ciccocioppo R, Di Sabatino A and Corazza GR. The immune recognition of gluten in coeliac disease. *Clinical and Experimental Immunology* 2005, 140:408-416.
11. Farrell RJ and Kelly CP. Diagnosis of Celiac Sprue. *American Journal of Gastroenterology* 2001; 96 (12): 3237-3246.
12. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH and Murray JA. ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 656-676.
13. Smith CM, Clarke CF, Porteous LE, ElSORI H, Cameron DJ. Prevalence of celiac disease and longitudinal follow-up of anti gliadin antibody status in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2000;1: 199-203.

14. Marild K, Stephansson O, Grahnquist L, Cnattingius S, Soderman G, Ludvigsson JF. Down syndrome is associated with elevated risk of celiac disease: a nationwide case-control study. *J Pediatr* 2013, 163(1): 237-242.
15. Rostom A et al. The Diagnostic Accuracy of Serologic Tests for Celiac Disease: A Systematic Review. *Gastroenterology* 2005; 128:S38–S46.
16. Blackwell PJ, Hill PG and Holmes GKT. Autoantibodies to Human Tissue Transglutaminase: Superior Predictors of Coeliac Disease. *Scand J Gastroenterol* 2002; 11: 1282-1285.
17. Hill PG and McMillan SA. Anti-tissue transglutaminase antibodies and their role in the investigation of coeliac disease. *Ann Clin Biochem* 2006; 43: 105–117.
18. Dahle C, Hagman A, Ignatova S and Strom M. Antibodies against deamidated gliadin peptides identify adult coeliac disease patients negative for antibodies against endomysium and tissue transglutaminase. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 254–260.
19. Hogen Esch CE et al. Childhood coeliac disease: towards an improved serological mass screening strategy. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 760–766.
20. Jaskowski TD, Donaldson MR, Hull CM, Wilson AR, Hill HR, Zone JJ and Book LS. Novel Screening Assay Performance in Pediatric Celiac Disease and Adult Dermatitis Herpetiformis. *JPGN* 2010; 51: 19-23.
21. Adriaanse M, Leffler D. Serum Markers in the Clinical Management of Celiac Disease. *Dig Dis* 2015;33:236–243.
22. Skovbjerg H, Koch C, Anthonen D and Sjostrom H. Deamidation and cross-linking of gliadin peptides by transglutaminases and the relation to celiac disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 2004: 1690: 220– 230.
23. Matthias T, Pfeiffer S, Selmi C and Gershwin ME. Diagnostic Challenges in Celiac Disease and the Role of the Tissue Transglutaminase–Neo–Epitope. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2010; 38: 298–301.
24. Rozemberg O et al. A novel algorithm for the diagnosis of celiac disease and a comprehensive review of celiac disease diagnostics. *Clinic Rev Allerg Immunol*. 2012: 42, 331-341.