



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2013/2014

Paulo Renato Moreira Guedes
Role of class IgA antiendomysial
antibodies in the diagnosis of Celiac
Disease in a Portuguese sample

março, 2014

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Paulo Renato Moreira Guedes
Role of class IgA antiendomysial
antibodies in the diagnosis of Celiac
Disease in a Portuguese sample

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Pediatria

Trabalho efetuado sob a Orientação de:

Drº Jorge Amil Dias

E sob a Coorientação de:

Doutora Fátima Carneiro

Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:

Acta Médica Portuguesa

março, 2014

FMUP

Eu, Paulo Renato Moreira Guedes, abaixo assinado, nº mecanográfico 200807712, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 23/02/2014

Assinatura conforme cartão de identificação:

Paulo Renato Moreira Guedes

NOME

Paulo Renato Moreira Guedes

CARTÃO DE CIDADÃO OU PASSAPORTE (se estrangeiro)

E-MAIL

TELEFONE OU TELEMÓVEL

13749792

paulorenatoguedes@gmail.com

+351 914786292

NÚMERO DE ESTUDANTE

DATA DE CONCLUSÃO

200807712

2014

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

Pediatria

TÍTULO DISSERTAÇÃO

Role of class IgA antiendomysial antibodies in the diagnosis of Celiac Disease in a Portuguese sample

ORIENTADOR

Drº Jorge Amil Dias

COORIENTADOR (se aplicável)

Professora Doutora Fátima Carneiro

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projectos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 23/02/2014

Assinatura conforme cartão de identificação: Paulo Renato Moreira Guedes

Aos meus pais

Role of class IgA antiendomysial antibodies in the diagnosis of Celiac Disease in a pediatric sample – A novel way to quantify results

Papel dos anticorpos IgA anti-endomísio no diagnóstico de Doença Celíaca numa amostra pediátrica – Novo método de quantificação de resultados

Autores:

Paulo Guedes

Aluno 6º ano Mestrado Integrado em Medicina

Faculdade de Medicina Universidade do Porto, Porto, Portugal

Susana Corujeira

Interna Complementar de Pediatria

Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar de São João (CHSJ), Porto, Portugal

Marta Tavares

Assistente Hospitalar de Pediatria

Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar de São João (CHSJ), Porto, Portugal

Eunice Trindade

Assistente Hospitalar Graduada de Pediatria

Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar de São João (CHSJ), Porto, Portugal

Fátima Carneiro

Directora Serviço Anatomia Patológica

Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar de São João (CHSJ), Porto, Portugal

Jorge Amil

Assistente Hospitalar Graduado Sénior de Pediatria

Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar de São João (CHSJ), Porto, Portugal

Correspondência:

Paulo Guedes

Rua Fonte dos Arrependidos, 758, 3º Frente.

4430-099 Vila Nova de Gaia, Porto, Portugal

E-mail: paulorenatoguedes@gmail.com

Título para cabeçalho:

IgA antiendomysial antibodies in Celiac Disease

Role of class IgA antiendomysial antibodies in the diagnosis of Celiac Disease in a Pediatric sample – A novel way to quantify results

Abstract

Introduction: There is increasing in evidence regarding the importance of specific antibodies to the diagnosis of Celiac Disease. The new diagnostic guidelines add for the first time anti-endomysium antibodies (anti-EMA) testing that is observer-dependent and introduces new challenges.

Objectives: Study the performance of anti-EMA in diagnosis and investigate a new method to evaluate results in a more objective way by quantification of immunofluorescence.

Materials and Methods: Prospective study in children with a high degree of suspicion of Celiac Disease and a positive test for specific antibodies. All patients were submitted to a small bowel biopsy and assay of anti endomysium antibodies. Immunofluorescence was analyzed with ImageJ®.

Results: Twenty five patients were enrolled and the diagnosis was confirmed in 20 of them. Main reason for screening was clinical symptoms (59%). There was a positive correlation between high titers of transglutaminase and higher positivity in the anti-EMA test ($p=0.019$). All patients with a positive anti-EMA test had villous atrophy (Marsh 3). Quantification of immunofluorescence revealed significant differences between Celiac Disease patients and controls ($p<0.001$).

Discussion: Even though anti-EMA testing is observer-dependent the results show correlation with transglutaminase levels and villous atrophy. Immunofluorescence quantification could add objectivity to the diagnosis.

Conclusions: It is possible to quantify anti-EMA results but further studies with larger samples are needed. The applicability of the new guidelines should be closely monitored and audited.

Keywords: Celiac Disease, Transglutaminases, Autoantibodies, Child, Fluorescence.

Papel dos anticorpos IgA anti-endomísio no diagnóstico de Doença Celíaca numa amostra pediátrica – Novo método de quantificação de resultados

Resumo

Introdução: Há evidência sobre a importância dos anticorpos específicos no diagnóstico de Doença Celíaca. As novas recomendações adicionam a pesquisa de anticorpos anti-endomísio (anti-EMA), cuja leitura é dependente do observador, introduzindo assim novos desafios no diagnóstico.

Objectivos: Estudar o valor do teste anti-EMA no diagnóstico e investigar um novo método para avaliação dos resultados de forma mais objetiva através de quantificação de imunofluorescência.

Materiais e Métodos: Estudo prospetivo em crianças com elevado grau de suspeição de Doença Celíaca e um teste positivo para anticorpos específicos. Todos os doentes foram submetidos a biópsia duodenal e realizaram teste anti-EMA. A intensidade da imunofluorescência foi analisada com o programa ImageJ®.

Resultados: Vinte e cinco doentes foram selecionados tendo o diagnóstico sido confirmado em 20. O principal motivo para o rastreio foi a sintomatologia clínica (59%). Encontrou-se uma correlação positiva entre títulos elevados de transglutaminase e maior positividade no teste anti-EMA ($p=0.019$). Todos os doentes com teste anti-EMA positivo tinham atrofia vilositária (Marsh 3). A quantificação da imunofluorescência revelou diferenças significativas entre as crianças com Doença Celíaca e controlos ($p<0.001$).

Discussão: Apesar do teste anti-EMA ser dependente do observador os resultados mostram uma correlação positiva entre os níveis de transglutaminase e atrofia vilositária. A quantificação de imunofluorescência poderá adicionar objetividade ao diagnóstico.

Conclusão: Os resultados preliminares são promissores sobre a possibilidade de quantificar os resultados anti-EMA de forma automatizada. São necessários mais estudos para confirmar estes achados. A aplicabilidade das novas recomendações diagnósticas deve ser monitorizada cuidadosamente.

Palavras-chave: Doença Celíaca, Transglutaminases, auto-anticorpos, fluorescência.

Original Article

Introduction

Celiac Disease (CD) was first described by Samuel Gee in 1888 as a “chronic indigestion which is met with in persons of all ages”¹. It has then evolved from a chronic gluten-dependent enteropathy with inflammatory injury of the mucosa of the small intestine to a chronic systemic disease with immune features affecting different organ systems²⁻⁴.

Once thought to be a rare disease in the USA, it is now considered a common disease with a prevalence of 0.75% for not-at-risk population⁵. In Europe the prevalence seems to vary in different studies and countries between 0.5% to 1.26% for not-at-risk population, and increases depending on the risk factors present. In patients with type 1 Diabetes the prevalence increases to 3-6% and in first-degree relatives to 4-12%⁶. Reports in the last decade addressing the prevalence in North Africa, Middle East, Brazil and India put CD as a common worldwide pathology⁷⁻⁹. In Portugal a study involving adolescents proposed a prevalence of 0.74%¹⁰.

Several risk factors have been implicated with development of CD. Genetic studies show a strong association with HLA-DQ2 and HLA-DQ8 haplotypes. It has been demonstrated that intestinal cells specifically recognize and react against gliadin peptides derived from gluten digestion inducing activation of T cells¹¹⁻¹³.

Since the publication of the first guidelines from the European Society of Paediatric Gastroenterology the diagnostic criteria has evolved from three biopsies that included gluten challenge¹⁴, to a single biopsy with measurement of IgA tissue transglutaminase type 2 antibodies (TGA) and anti-gliadin antibodies (AGA)¹⁵. Recently ESPGHAN published new guidelines that add for the first time the option to omit the biopsy in a selected group of patients with the following criteria: signs and symptoms suggestive of CD, high TGA titers with levels >10 times above the upper limit of normal (ULN), plus positive HLA DQ2 and anti-endomysium antibodies¹⁶.

Anti-endomysium antibodies are evaluated through immunofluorescence, by applying in succession the serum to be tested onto a frozen section of esophagus, followed by anti-human immunoglobulin and immunofluorescent antibody. This method is reputed as the most accurate test for the diagnosis but has some shortcomings: it requires manual subjective reading and the quality of the procedure is related to the results. Therefore it would be desirable to have a national reference laboratory performing the tests for cluster of hospitals and an automated objective system of reading results that might obviate the subjective interpretation of immunofluorescence.

The objective of this work is to evaluate the applicability of the new guidelines, to study the performance of anti-endomysium antibodies in diagnosis and to investigate a method to evaluate anti-EMA results in a more objective way by quantification of immunofluorescence, hoping to help developing a reference lab.

Materials and methods

Prospective study with children and teenagers with ages between 6 months and 18 years with high suspicion of CD. All the patients were on a gluten containing diet. Initial screening was made according to clinical symptoms suggestive of CD or high risk of CD.

The clinical symptoms considered were: chronic diarrhea, failure to thrive, abdominal distension, dermatitis herpetiformis, dental enamel hypoplasia, chronic constipation, chronic abdominal pain, nausea and vomiting.

The conditions associated with a high risk were: Type 1 diabetes mellitus, autoimmune thyroid disease, selective IgA deficiency and first degree relatives with CD.

All patients were submitted to a pre-screening study with medical history including symptoms, family history, physical examination, complete blood count and immunological testing that included total-IgA, TGA (ULN=10 U/mL), anti-endomysium antibodies and AGA (ULN=10 U/mL).

All patients who fulfilled the criteria of clinical symptoms and/or higher risk of CD and at least one positive immunological antibody test were invited to enroll the study. Upper endoscopy with biopsies from the bulb and *pars-descends* of the duodenum was performed and each biopsy was analyzed and classified according to the Marsh-Oberhuber classification¹⁷.

The exclusion criteria were negative specific antibodies patients, contraindication for endoscopy, consent form not signed or parents who were not able to understand the informed consent.

Anti-TG2-IgA and anti-DGP-IgA tests were done by fluorometric immunoenzymatic assay (FIA) with a commercial kit from Thermo Scientific®. This technique is similar to ELISA but has a higher sensitivity. EMA-IgA tests were done with a commercial kit (Eurospital®) and interstitial positivity in the *muscularis mucosa* and in the *muscularis externa* with a test serum dilution of 1:5 was regarded as positive. We graded the positivity in 3 levels (low, mild and high) according to intensity of immunofluorescence (Image 1).

To quantify the anti-EMA results we used the software AxioVision® (ZEISS®, version SE64 Rel. 4.9.1) to capture the images with a fixed exposure time and ImageJ® (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA, Version 1.48d) to quantify the fluorescence. All images were converted to a grey gradient. A region of interest, corresponding to the highest immunofluorescence, with a fixed area, was selected in every image and the following parameters were quantified: Area, minimum and maximum grey value, mean grey value and modal grey value. Mean readings represents the average grey value within the selection. This is the sum of the grey values of all the pixels in the selection

divided by the number of pixels. The values range from 0 (black) to 4095 (white) and higher values correspond to a higher immunofluorescence.

We compared immunofluorescence quantification between all the patients in our sample with a confirmed diagnosis of CD and a control group of patients without known digestive disease.

For statistical analysis SPSS® (IBM Corporation, version 21) was used. Continuous variables with normal distribution were described with mean and standard deviation and independent sample T-student test was used. Continuous variables with asymmetrical distribution were described with median, minimum and maximum and Mann-Whitney U Test was used.

Results

The initial population included 25 patients of which 3 were excluded due to IgA deficiency. The final sample was composed by 22 patients, 73% (16/22) female, with a mean age of 7.6 ± 3.9 years, Body Mass Index of 16.1 ± 1.9 kg/m² (Table 1).

The main reasons for the initial assessment were clinical symptoms in 60% (13/22), screening due to risk factors in 35% (8/22), and both in 5% (1/22). Risk factors were Type 1 Diabetes Mellitus, auto-immune thyroiditis, refractory hemolytic anemia and family history. The most common clinical finding was abdominal pain in 50% (11/22), followed by weight loss in 32 % (7/22) and flatulence in 27% (6/22). Anorexia, abdominal distension and growth failure had all the same frequency, 23% (5/22) (Table 1).

Specific positive serologic tests AGA were positive in 94.7% (18/19), TGA in 95.5% (21/22) and anti-endomysium antibodies in 90.9% (20/22) (Table 2).

The majority (80%) of the positive anti-endomysium antibodies tests had a high positivity while the remaining had a mild positivity. We split the sample with a positive EMA test result in two groups according to the TGA levels and reference value (RV): One group with $TGT/RV \geq 10$ and a second group with $TGT/RV < 10$. When we compared both groups against the EMA positivity we found that all the patients in the first group had a high positivity test while in the second 63% (5/8) of patients had high positivity and 37% (3/5) had mild positivity (Graphic 1).

We found a strong positive correlation between high titers of TGT and higher positivity in the EMA test ($p=0.019$).

When comparing EMA positivity against histology we observed that all the patients with positive EMA test also had severe villous atrophy (Marsh 3). There was no correlation between the level of EMA positivity and grade of Marsh classification, although the majority of patients with strong immunofluorescence also had total villous atrophy of the mucosa (13/16). Three patients with mild positivity had total villous atrophy. (Table 3).

In this group of 22 patients, CD was excluded in one who had positive IgA TGA but negative IgA EMA and Marsh 0. In another patient the diagnosis was uncertain because he had a positive IgA AGA and IgA TGA but a negative IgA EMA and unspecific alterations not fitting any Marsh classification. However this patient started a gluten-free diet with positive clinical response. Further work-up will be required to clarify if gluten intolerance is the reason for the initial symptoms.

Among the 20 patients with confirmed CD (Marsh 3A/3B/3C) 3 didn't have IgA AGA test performed. The remaining had a positive IgA AGA test. IgA TGA test was positive in 95% of the patients (19/20) and all of them were IgA EMA positive. Interestingly one CD patient had normal IgA TGA but positive IgA EMA test.

The analysis of automated IF quantification revealed a mean gray value (MGV) of 2746 ± 1146 for the diseased group and 709 ± 232 for the controls ($p < 0.001$). The group with strong immunofluorescence had a MGV of 2940 ± 1108 while the medium immunofluorescence had 1674 ± 740 ($p = 0.069$) (Graphic 2).

After splitting the celiac confirmed cases according to TGT values, the group with $TGT/RV \geq 10$ had a MGV of 3233 ± 1073 and the group with $TGT/RV < 10$ had 1891 ± 840 . There was a significant difference between the two groups ($p = 0.004$) and also between the latter and the control group ($p = 0.001$).

Discussion

Most of the published prevalence studies note that CD is underdiagnosed, so a high index of clinical suspicion is required as well as a low threshold to order serologic tests^{18, 19}. A delayed diagnosis is correlated with a poorer quality of life, an increase in medical expenses and a higher risk of developing malignancies²⁰⁻²². Simple, safe and accurate tools are needed to make a confident diagnosis of CD. Even though biopsy has been the gold standard there are some limitations including the location (*pars descendes* or *bolbus*) and position (3-, 6-, 9- or 12-o'clock) where biopsies are done²³. Some studies have also raised concerns about the low inter-observer reproducibility of the Marsh-Oberhuber classification and new classifications have been proposed²⁴⁻²⁶.

In this study, CD was more prevalent in female than male subjects and the majority of patients diagnosed did not have any identifiable associated risk factor. In our sample only 18% (4/22) of patients presented with diarrhea and 50% (11/22) with abdominal pain. This can pose a great challenge in the diagnosis because many of the patients do not present with the more typical and easily recognized symptoms.

We found a high sensitivity and specificity for AGA and TGA tests which is in line with the literature. We also saw a similar consistency in the anti-EMA testing²⁷.

Tests that use automated reading, like FIA in AGA and TGA are easier to perform and interpret in routine clinical practice. Anti-EMA has been described as the most accurate test for serologic diagnosis but it is observer-dependent due to the need for evaluation of immunofluorescence and grading of results. From our experience there are also some

factors that can influence the report like the type of microscope used to analyze the slides and exposure times. For these reasons, an automated method that allows objective quantification of IF can bring considerable consistency and reproducibility to results.

Our method to quantify IF showed a significant difference between case and control groups ($p < 0.001$) and improved accuracy to differentiate positive from negative results thus eliminating the level of subjectivity. Furthermore, it also brings the possibility of developing software tools to automate the readings.

The comparison between the patients with high and mild EMA tests revealed a trend, although not significant difference ($p = 0.069$). This could be explained because the division between mild and high is observer-dependent and not as objective as the automated reading. In the tested model, human intervention in the evaluation is still required to select the regions to be analyzed and this helps to evaluate and validate lower or negative IF readings.

When we compare our IF readings with TGT levels we found that the group with $TGT/RV \geq 10$ had a significant higher IF quantification than the group with $TGT/RV < 10$ ($p = 0.004$). This result is consistent with our findings that a patient with high TGT has a higher probability of having high EMA result ($p = 0.019$).

Overall, this showed that the automated reading was not only able to identify the group with high TGT levels (in which all the patients also had a high EMA result), but also the ones with lower positive TGT levels when compared to the control group.

Even though at this stage our method appears to show a proof of concept and promising results it still has some limitations: It is not possible to define an objective cut-off that could be used across different labs to separate a positive from a negative result. This is partly due to all the variables related to IF readings (time between preparation of the slide and readings, exposure to light during all the process, microscope and exposure times). However, when done in a single center with the standardized equipment and a fixed protocol all this potential bias can be reduced. In our method various regions of interest can be easily identified and measured in each slide which partly obviates variations related to the operator in processing the test. Further studies with larger series and different settings are needed to confirm our findings.

Conclusions

The new guidelines for celiac disease open the possibility for a simpler diagnostic process by eliminating the need for biopsy in a specific group of patients. Given the nature of life-persisting intolerance to gluten a firm and definite diagnosis is required, especially if the intestinal biopsy is not performed before diet is started. However, due to the intrinsic variability of the anti-endomysium antibodies test we strongly suggest that it should be done in specialized centers with standardized technique and accumulated experience until a solid automated process can be implemented in most labs to ensure reliable reproducible results in diagnosis.

The applicability of the new guidelines should be closely monitored and audited.

Acknowledgments

Bárbara Gomes for the training and support during the execution of laboratory tests.

References

1. Gee S. On the coeliac affection. *St Bartholomew's Hospital Report* 1888; 24(17-20).
2. Farrell RJ, Kelly CP. Celiac sprue. *The New England journal of medicine* 2002; 346(3): 180-8.
3. Schuppan D. Current concepts of celiac disease pathogenesis. *Gastroenterology* 2000; 119(1): 234-42.
4. Fasano A, Catassi C. Clinical practice. Celiac disease. *The New England journal of medicine* 2012; 367(25): 2419-26.
5. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Archives of internal medicine* 2003; 163(3): 286-92.
6. Dube C, Rostom A, Sy R, et al. The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations: a systematic review. *Gastroenterology* 2005; 128(4 Suppl 1): S57-67.
7. Barada K, Bitar A, Mokadem MA, Hashash JG, Green P. Celiac disease in Middle Eastern and North African countries: a new burden? *World journal of gastroenterology : WJG* 2010; 16(12): 1449-57.
8. Gandolfi L, Pratesi R, Cordoba JCM, Tauil PL, Gasparin M, Catassi C. Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. *The American journal of gastroenterology* 2000; 95(3): 689-92.
9. Makharia GK, Verma AK, Amarchand R, et al. Prevalence of celiac disease in the northern part of India: a community based study. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2011; 26(5): 894-900.
10. Antunes H, Abreu I, Nogueiras A, et al. First determination of the prevalence of celiac disease in a Portuguese population. *Acta Med Port* 2006; 19(2): 115-20.
11. Sollid LM. Molecular basis of celiac disease. *Annual review of immunology* 2000; 18: 53-81.
12. Megiorni F, Pizzuti A. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 in Celiac disease predisposition: practical implications of the HLA molecular typing. *Journal of biomedical science* 2012; 19: 88.
13. Lundin KE, Gjertsen HA, Scott H, Sollid LM, Thorsby E. Function of DQ2 and DQ8 as HLA susceptibility molecules in celiac disease. *Human immunology* 1994; 41(1): 24-7.
14. Coeliac disease. *Proceedings of the Second International Coeliac Symposium. Act Paediatr Scand* 1970.
15. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. Report of Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Archives of disease in childhood* 1990; 65(8): 909-11.

16. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54(1): 136-60.
17. Oberhuber G. Histopathology of celiac disease. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 2000; 54(7): 368-72.
18. Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, et al. Prevalence of Celiac disease among children in Finland. *The New England journal of medicine* 2003; 348(25): 2517-24.
19. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med* 2010; 42(8): 587-95.
20. Green PHR, Stavropoulos SN, Panagi SG, et al. Characteristics of adult celiac disease in the USA: results of a national survey. *The American journal of gastroenterology* 2001; 96(1): 126-31.
21. Long KH, Rubio-Tapia A, Wagie AE, et al. The economics of coeliac disease: a population-based study. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32(2): 261-9.
22. Silano M, Volta U, Mecchia AM, et al. Delayed diagnosis of coeliac disease increases cancer risk. *BMC gastroenterology* 2007; 7(1): 8.
23. Kurien M, Evans KE, Hopper AD, Hale MF, Cross SS, Sanders DS. Duodenal bulb biopsies for diagnosing adult celiac disease: is there an optimal biopsy site? *Gastrointestinal endoscopy* 2012; 75(6): 1190-6.
24. Corazza GR, Villanacci V, Zambelli C, et al. Comparison of the interobserver reproducibility with different histologic criteria used in celiac disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2007; 5(7): 838-43.
25. Corazza GR, Villanacci V. Coeliac disease. *Journal of clinical pathology* 2005; 58(6): 573-4.
26. Mubarak A, Nikkels P, Houwen R, Ten Kate F. Reproducibility of the histological diagnosis of celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46(9): 1065-73.
27. Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, et al. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54(2): 229-41.

Tables and figures

Table 1 Description of study population

	Cases (n=22)
Female (%)	73
Male (%)	27
Age, year, mean (range)	7.6 (2.4 – 15)
BMI (km/m2)	16.11 ± 1.9
Hemoglobin (g/dL)	12.7 ± 1.22
Clinical symptoms at presentations (%)	59
Abdominal pain	50
Weight loss	32
Flatulence	27
Anorexia, abdominal distension, growth failure	23
Risk factors at presentation (%)	36
Clinical symptoms and risk factors at presentation (%)	5

Table 2 – Specific positive serologic test results

Specific positive serologic tests	
DGP (>10 u/mL)	94.7% (18/19)
TGT (>10 u/mL)	95.5% (21/22)
EMA	90.9% (20/22)

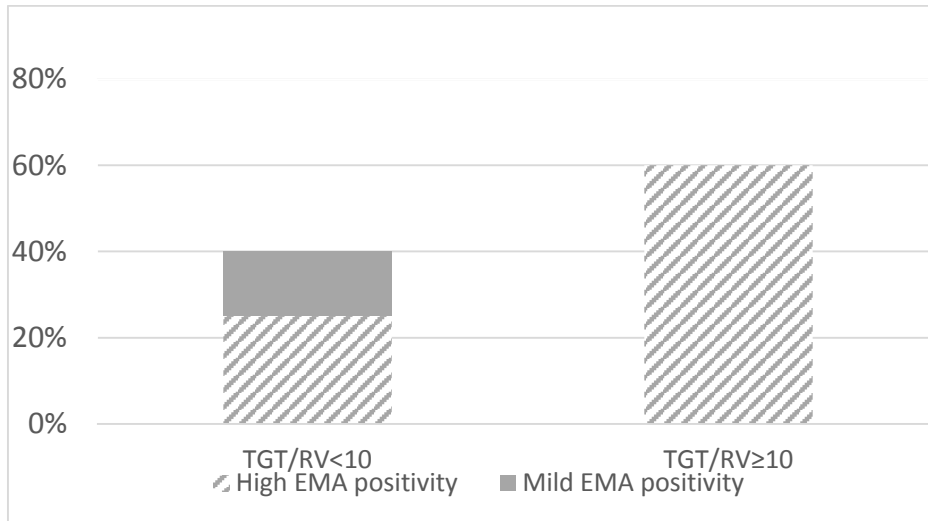
Table 3 – Comparison between EMA positivity and histology

	MARSH Classification		
	3A	3B	3C

Positive EMA test (n=17)

Mild	0	0	3
High	1	3	13

Graphic 1 – EMA results according to TGT/RV



Graphic 2 – Distribution of IF quantifications according to EMA results.

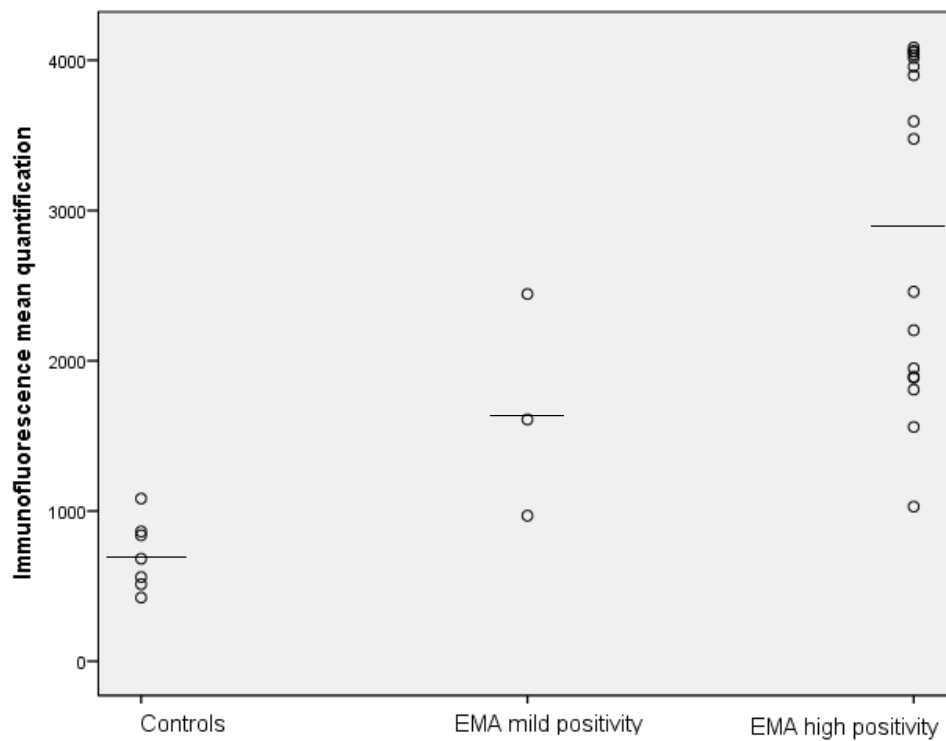
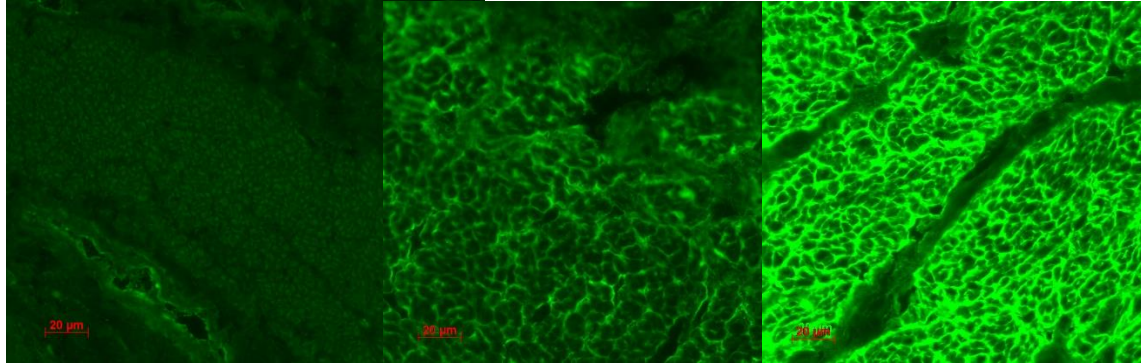


Image 1 – Comparison between a negative control, a mild and high positive EMA test result. All the



Agradecimentos

Em primeiro lugar não poderia deixar de agradecer aos meus pais. São os grandes responsáveis por estar neste momento a terminar o curso de Medicina e estarei eternamente grato por em todas as alturas me terem colocado no topo das suas prioridades. Não só me apoiaram sempre em tudo como tive o privilégio de receber uma educação excepcional de ambos.

Gostava também de agradecer aos meus dois orientadores por toda a ajuda e apoio na realização deste trabalho. No entanto, devo-lhes um obrigado muito maior por terem-me recebido tão bem quando os procurei inicialmente. Apesar de terem sempre tarefas bem mais importantes em mãos estiveram sempre disponíveis para tudo aquilo que precisei e ofereceram-me oportunidades que em mais nenhum lado seriam possíveis. Foram ambos dois modelos que certamente guardarei para o futuro.

Por fim, nestes seis anos em que comecei a aprender Medicina aconteceu algo igualmente importante, não num anfiteatro mas fora dele. Todas as pessoas que conheci e todas as experiências por que passei acabaram por moldar aquilo que sou hoje pelo que levarei sempre comigo um pouco de todos os meus amigos. O que faz a FMUP continuar a ser a melhor faculdade não são quatro paredes velhas mas sim a possibilidade de ter partilhado este espaço e ter feito esta caminhada com todos vocês.

Normas de Publicação da Acta Médica Portuguesa



Acta Médica Portuguesa's Publishing Guidelines

Conselho Editorial ACTA MÉDICA PORTUGUESA
Acta Med Port 2013, 5 de Novembro de 2013

1. MISSÃO

Publicar trabalhos científicos originais e de revisão na área biomédica da mais elevada qualidade, abrangendo várias áreas do conhecimento médico, e ajudar os médicos a tomar melhores decisões.

Para atingir estes objectivos a Acta Médica Portuguesa publica artigos originais, artigos de revisão, casos clínicos, editoriais, entre outros, comentando sobre os factores clínicos, científicos, sociais, políticos e económicos que afetam a saúde. A Acta Médica Portuguesa pode considerar artigos para publicação de autores de qualquer país.

2. VALORES

- Promover a qualidade científica.
- Promover o conhecimento e actualidade científica.
- Independência e imparcialidade editorial.
- Ética e respeito pela dignidade humana.
- Responsabilidade social.

3. VISÃO

Ser reconhecida como uma revista médica portuguesa de grande impacto internacional.

Promover a publicação científica da mais elevada qualidade privilegiando o trabalho original de investigação (clínico, epidemiológico, multicêntrico, ciência básica).

Constituir o fórum de publicação de normas de orientação.

Ampliar a divulgação internacional.

Lema: "Primum non nocere, primeiro a Acta Médica Portuguesa"

4. INFORMAÇÃO GERAL

A Acta Médica Portuguesa é a revista científica com revisão pelos pares (*peer-review*) da Ordem dos Médicos. É publicada continuamente desde 1979, estando indexada na PubMed / Medline desde o primeiro número. Desde 2010 tem Factor de Impacto atribuído pelo Journal Citation Reports - Thomson Reuters.

A Acta Médica Portuguesa segue a política do livre acesso. Todos os seus artigos estão disponíveis de forma integral, aberta e gratuita desde 1999 no seu site www.actamedicaportuguesa.com e através da Medline com interface PubMed.

A taxa de aceitação da Acta Médica Portuguesa é apro-

ximadamente de 55% dos mais de 300 manuscritos recebidos anualmente.

Os manuscritos devem ser submetidos *online* via "Submissões Online" <http://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/about/submissions#online> Submissions.

A Acta Médica Portuguesa rege-se de acordo com as boas normas de edição biomédica do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), do Committee on Publication Ethics (COPE), e do EQUATOR Network Resource Centre Guidance on Good Research Report (desenho de estudos).

A política editorial da Revista incorpora no processo de revisão e publicação as Recomendações de Política Editorial (*Editorial Policy Statements*) emitidas pelo Conselho de Editores Científicos (Council of Science Editors), disponíveis em <http://www.councilscienceeditors.org/i4a/pages/index.cfm?pageid=3331>, que cobre responsabilidades e direitos dos editores das revistas com arbitragem científica. Os artigos propostos não podem ter sido objecto de qualquer outro tipo de publicação. As opiniões expressas são da inteira responsabilidade dos autores. Os artigos publicados ficarão propriedade conjunta da Acta Médica Portuguesa e dos autores.

A Acta Médica Portuguesa reserva-se o direito de comercialização do artigo enquanto parte integrante da revista (na elaboração de separatas, por exemplo). O autor deverá acompanhar a carta de submissão com a declaração de cedência de direitos de autor para fins comerciais.

Relativamente à utilização por terceiros a Acta Médica Portuguesa rege-se pelos termos da licença *Creative Commons* 'Atribuição – Uso Não-Comercial – Proibição de Realização de Obras Derivadas (by-nc-nd)'.

Após publicação na Acta Médica Portuguesa, os autores ficam autorizados a disponibilizar os seus artigos em repositórios das suas instituições de origem, desde que mencionem sempre onde foram publicados.

5. CRITÉRIO DE AUTORIA

A revista segue os critérios de autoria do "International Committee of Medical Journal Editors" (ICMJE).

Todos designados como autores devem ter participado significativamente no trabalho para tomar responsabilidade

pública sobre o conteúdo e o crédito da autoria.

Autores são todos que:

1. Têm uma contribuição intelectual substancial, directa, no desenho e elaboração do artigo
2. Participam na análise e interpretação dos dados
3. Participam na escrita do manuscrito, revendo os rascunhos; ou na revisão crítica do conteúdo; ou na aprovação da versão final

As condições 1, 2 e 3 têm de ser reunidas.

Autoria requer uma contribuição substancial para o manuscrito, sendo pois necessário especificar em carta de apresentação o contributo de cada autor para o trabalho.

Ser listado como autor, quando não cumpre os critérios de elegibilidade, é considerado fraude.

Todos os que contribuíram para o artigo, mas que não encaixam nos critérios de autoria, devem ser listados nos agradecimentos.

Todos os autores, (isto é, o autor correspondente e cada um dos autores) terão de preencher e assinar o “Formulário de Autoria” com a responsabilidade da autoria, critérios e contribuições; conflitos de interesse e financiamento e transferência de direitos autorais / *copyright*.

O autor Correspondente deve ser o intermediário em nome de todos os co-autores em todos os contactos com a Acta Médica Portuguesa, durante todo o processo de submissão e de revisão. O autor correspondente é responsável por garantir que todos os potenciais conflitos de interesse mencionados são correctos. O autor correspondente deve atestar, ainda, em nome de todos os co-autores, a originalidade do trabalho e obter a permissão escrita de cada pessoa mencionada na secção “Agradecimentos”.

6. COPYRIGHT / DIREITOS AUTORAIS

Quando o artigo é aceite para publicação é mandatório o envio via *e-mail* de documento digitalizado, assinado por todos os Autores, com a partilha dos direitos de autor entre autores e a Acta Médica Portuguesa.

O(s) Autor(es) deve(m) assinar uma cópia de partilha dos direitos de autor entre autores e a Acta Médica Portuguesa quando submetem o manuscrito, conforme minuta publicada em anexo:

Nota: Este documento assinado só deverá ser enviado quando o manuscrito for aceite para publicação.

Editor da Acta Médica Portuguesa

O(s) Autor(es) certifica(m) que o manuscrito intitulado: _____ (ref.

AMP _____) é original, que todas as afirmações apresentadas como factos são baseados na investigação do(s) Autor(es), que o manuscrito, quer em parte quer no todo, não infringe nenhum *copyright* e não viola nenhum direito da privacidade, que não foi publicado em parte ou no todo e que não foi submetido para publicação, no todo ou em parte, noutra revista, e que os Autores têm o direito ao *copyright*.

Todos os Autores declaram ainda que participaram no trabalho, se responsabilizam por ele e que não existe, da

parte de qualquer dos Autores conflito de interesses nas afirmações proferidas no trabalho.

Os Autores, ao submeterem o trabalho para publicação, partilham com a Acta Médica Portuguesa todos os direitos a interesses do *copyright* do artigo.

Todos os Autores devem assinar

Data: _____

Nome (maiúsculas): _____

Assinatura: _____

7. CONFLITOS DE INTERESSE

O rigor e a exactidão dos conteúdos, assim como as opiniões expressas são da exclusiva responsabilidade dos Autores. Os Autores devem declarar potenciais conflitos de interesse. Os autores são obrigados a divulgar todas as relações financeiras e pessoais que possam enviesar o trabalho.

Para prevenir ambiguidade, os autores têm que explicitamente mencionar se existe ou não conflitos de interesse.

Essa informação não influenciará a decisão editorial mas antes da submissão do manuscrito, os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido.

Se os autores têm dúvidas sobre o que constitui um relevante interesse financeiro ou pessoal, devem contactar o editor.

8. CONSENTIMENTO INFORMADO e APROVAÇÃO ÉTICA

Todos os doentes (ou seus representantes legais) que possam ser identificados nas descrições escritas, fotografias e vídeos deverão assinar um formulário de consentimento informado para descrição de doentes, fotografia e vídeos. Estes formulários devem ser submetidos com o manuscrito.

A Acta Médica Portuguesa considera aceitável a omissão de dados ou a apresentação de dados menos específicos para identificação dos doentes. Contudo, não aceitaremos a alteração de quaisquer dados.

Os autores devem informar se o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética da instituição de acordo com a declaração de Helsínquia.

9. LÍNGUA

Os artigos devem ser redigidos em português ou em inglês. Os títulos e os resumos têm de ser sempre em português e em inglês.

10. PROCESSO EDITORIAL

O autor correspondente receberá notificação da recepção do manuscrito e decisões editoriais por *email*.

Todos os manuscritos submetidos são inicialmente revistos pelo editor da Acta Médica Portuguesa. Os manuscritos são avaliados de acordo com os seguintes critérios: originalidade, actualidade, clareza de escrita, método de estudo apropriado, dados válidos, conclusões adequadas e apoiadas pelos dados, importância, com significância e

contribuição científica para o conhecimento da área, e não tenham sido publicados, na íntegra ou em parte, nem submetidos para publicação noutros locais.

A Acta Médica Portuguesa segue um rigoroso processo cego (*single-blind*) de revisão por pares (*peer-review*, externos à revista). Os manuscritos recebidos serão enviados a peritos das diversas áreas, os quais deverão fazer os seus comentários, incluindo a sugestão de aceitação, aceitação condicionada a pequenas ou grandes modificações ou rejeição. Na avaliação, os artigos poderão ser:

- a) aceites sem alterações;
- b) aceites após modificações propostas pelos consultores científicos;
- c) recusados.

Estipula-se para esse processo o seguinte plano temporal:

- Após a recepção do artigo, o Editor-Chefe, ou um dos Editores Associados, enviará o manuscrito a, no mínimo, dois revisores, caso esteja de acordo com as normas de publicação e se enquadre na política editorial. Poderá ser recusado nesta fase, sem envio a revisores.

- Quando receberem a comunicação de aceitação, os Autores devem remeter de imediato, por correio electrónico, o formulário de partilha de direitos que se encontra no *site* da Acta Médica Portuguesa, devidamente preenchido e assinado por todos os Autores.

- No prazo máximo de quatro semanas, o revisor deverá responder ao editor indicando os seus comentários relativos ao manuscrito sujeito a revisão, e a sua sugestão de quanto à aceitação ou rejeição do trabalho. O Conselho Editorial tomará, num prazo de 15 dias, uma primeira decisão que poderá incluir a aceitação do artigo sem modificações, o envio dos comentários dos revisores para que os Autores procedam de acordo com o indicado, ou a rejeição do artigo.

Os Autores dispõem de 20 dias para submeter a nova versão revista do manuscrito, contemplando as modificações recomendadas pelos peritos e pelo Conselho Editorial. Quando são propostas alterações, o autor deverá enviar, no prazo máximo de vinte dias, um *e-mail* ao editor respondendo a todas as questões colocadas e anexando uma versão revista do artigo com as alterações inseridas destacadas com cor diferente.

- O Editor-Chefe dispõe de 15 dias para tomar a decisão sobre a nova versão: rejeitar ou aceitar o artigo na nova versão, ou submetê-lo a um ou mais revisores externos cujo parecer poderá, ou não, coincidir com os resultantes da primeira revisão.

- Caso o manuscrito seja reenviado para revisão externa, os peritos dispõem de quatro semanas para o envio dos seus comentários e da sua sugestão quanto à aceitação ou recusa para publicação do mesmo.

- Atendendo às sugestões dos revisores, o Editor-Chefe poderá aceitar o artigo nesta nova versão, rejeitá-lo ou voltar a solicitar modificações. Neste último caso, os Autores dispõem de um mês para submeter uma versão revista, a qual poderá, caso o Editor-Chefe assim o determine, voltar

a passar por um processo de revisão por peritos externos.

- No caso da aceitação, em qualquer das fases anteriores, a mesma será comunicada ao Autor principal. Num prazo inferior a um mês, o Conselho Editorial enviará o artigo para revisão dos Autores já com a formatação final, mas sem a numeração definitiva. Os Autores dispõem de cinco dias para a revisão do texto e comunicação de quaisquer erros tipográficos. Nesta fase, os Autores não podem fazer qualquer modificação de fundo ao artigo, para além das correcções de erros tipográficos e/ou ortográficos de pequenos erros. Não são permitidas, nomeadamente, alterações a dados de tabelas ou gráficos, alterações de fundo do texto, etc.

- Após a resposta dos Autores, ou na ausência de resposta, após o decurso dos cinco dias, o artigo considera-se concluído.

- Na fase de revisão de provas tipográficas, alterações de fundo aos artigos não serão aceites e poderão implicar a sua rejeição posterior por decisão do Editor-Chefe.

Chama-se a atenção que a transcrição de imagens, quadros ou gráficos de outras publicações deverá ter a prévia autorização dos respectivos autores para dar cumprimento às normas que regem os direitos de autor.

11. PUBLICAÇÃO FAST-TRACK

A Acta Médica Portuguesa dispõe do sistema de publicação *Fast-Track* para manuscritos urgentes e importantes desde que cumpram os requisitos da Acta Médica Portuguesa para o *Fast-Track*.

- a) Os autores para requererem a publicação *fast-track* devem submeter o seu manuscrito em <http://www.actamedicaportuguesa.com/> “submeter artigo” indicando claramente porque consideram que o manuscrito é adequado para a publicação rápida. O Conselho Editorial tomará a decisão sobre se o manuscrito é adequado para uma via rápida (*fast-track*) ou para submissão regular;

- b) Verifique se o manuscrito cumpre as normas aos autores da Acta Médica Portuguesa e que contém as informações necessárias em todos os manuscritos da Acta Médica Portuguesa.

- c) O Gabinete Editorial irá comunicar, dentro de 48 horas, se o manuscrito é apropriado para avaliação *fast-track*. Se o Editor-Chefe decidir não aceitar a avaliação *fast-track*, o manuscrito pode ser considerado para o processo de revisão normal. Os autores também terão a oportunidade de retirar a sua submissão.

- d) Para manuscritos que são aceites para avaliação *fast-track*, a decisão Editorial será feita no prazo de 5 dias úteis.

- e) Se o manuscrito for aceite para publicação, o objectivo será publicá-lo, online, no prazo máximo de 3 semanas após a aceitação.

12. REGRAS DE OURO ACTA MÉDICA PORTUGUESA

- a) O editor é responsável por garantir a qualidade da revista e que o que publica é ético, actual e relevante para os leitores.

- b) A gestão de reclamações passa obrigatoriamente pelo editor-chefe e não pelo bastonário.
- c) O peer review deve envolver a avaliação de revisores externos.
- d) A submissão do manuscrito e todos os detalhes associados são mantidos confidenciais pelo corpo editorial e por todas as pessoas envolvidas no processo de peer-review.
- e) A identidade dos revisores é confidencial.
- f) Os revisores aconselham e fazem recomendações; o editor toma decisões.
- g) O editor-chefe tem total independência editorial.
- h) A Ordem dos Médicos não interfere directamente na avaliação, selecção e edição de artigos específicos, nem directamente nem por influência indirecta nas decisões editoriais.
- i) As decisões editoriais são baseadas no mérito de trabalho submetido e adequação à revista.
- j) As decisões do editor-chefe não são influenciadas pela origem do manuscrito nem determinadas por agentes externos.
- k) As razões para rejeição imediata sem peer review externo são: falta de originalidade; interesse limitado para os leitores da Acta Médica Portuguesa; conter graves falhas científicas ou metodológicas; o tópico não é coberto com a profundidade necessária; é preliminar de mais e/ou especulativo; informação desactualizada.
- l) Todos os elementos envolvidos no processo de peer review devem actuar de acordo com os mais elevados padrões éticos.
- m) Todas as partes envolvidas no processo de peer review devem declarar qualquer potencial conflito de interesses e solicitar escusa de rever manuscritos que sintam que não conseguirão rever objectivamente.

13. NORMAS GERAIS

ESTILO

Todos os manuscritos devem ser preparados de acordo com o “AMA Manual of Style”, 10th ed. e/ou “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals”.

Escreva num estilo claro, directo e activo. Geralmente, escreva usando a primeira pessoa, voz activa, por exemplo, “Analisámos dados”, e não “Os dados foram analisados”. Os agradecimentos são as excepções a essa directriz, e deve ser escrito na terceira pessoa, voz activa; “Os autores gostariam de agradecer”. Palavras em latim ou noutra língua que não seja a do texto deverão ser colocadas em itálico.

Os componentes do manuscrito são: Página de Título, Resumo, Texto, Referências, e se apropriado, legendas de figuras. Inicie cada uma dessas secções em uma nova página, numeradas consecutivamente, começando com a página de título.

Os formatos de arquivo dos manuscritos autorizados incluem o *Word* e o *WordPerfect*. Não submeta o manuscrito em formato PDF.

SUBMISSÃO

Os manuscritos devem ser submetidos online, via “Submissão Online” da Acta Médica Portuguesa <http://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/about/submissions#onlineSubmissions>.

Todos os campos solicitados no sistema de submissão *online* terão de ser respondidos.

Após submissão do manuscrito o autor receberá a confirmação de recepção e um número para o manuscrito.

Na primeira página/ página de título:

- a) Título em **português e inglês**, conciso e descritivo
- b) Na linha da autoria, liste o Nome de todos os Autores (primeiro e último nome) com os títulos académicos e/ou profissionais e respectiva afiliação (departamento, instituição, cidade, país)
- c) Subsídio(s) ou bolsa(s) que contribuíram para a realização do trabalho
- d) Morada e *e-mail* do Autor responsável pela correspondência relativa ao manuscrito
- e) Título breve para cabeçalho

Na segunda página

- a) Título (sem autores)
- b) Resumo em **português e inglês**. Nenhuma informação que não conste no manuscrito pode ser mencionada no resumo. Os resumos não podem remeter para o texto, não podendo conter citações nem referencias a figuras.
- c) Palavras-chave (*Keywords*). Um máximo de 5 *Keywords* em inglês utilizando a terminologia que consta no Medical Subject Headings (MeSH), <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>, devem seguir-se ao resumo.

Na terceira página e seguintes:

■ Editoriais:

Os Editoriais serão apenas submetidos por convite do Editor. Serão comentários sobre tópicos actuais. Não devem exceder as 1.200 palavras nem conter tabelas/figuras e terão um máximo de 5 referências bibliográficas. Não precisam de resumo.

■ Perspectiva:

Artigos elaborados apenas por convite do Conselho Editorial. Podem cobrir grande diversidade de temas com interesse nos cuidados de saúde: problemas actuais ou emergentes, gestão e política de saúde, história da medicina, ligação à sociedade, epidemiologia, etc.

Um Autor que deseje propor um artigo desta categoria deverá remeter previamente ao Editor-Chefe o respectivo resumo, indicação dos autores e título do artigo para avaliação.

Deve conter no máximo 1200 palavras (excluindo as referências e as legendas) e até 10 referências bibliográficas. Só pode conter uma tabela ou uma figura. Não precisa de resumo.

■ Artigos Originais:

O texto deve ser apresentado com as seguintes secções: Introdução (incluindo Objectivos), Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos (se aplicável), Referências, Tabelas e Figuras.

Os Artigos Originais não deverão exceder as 4.000 palavras, excluindo referências e ilustrações. Deve ser acompanhado de ilustrações, com um máximo de 6 figuras/tabelas e 60 referências bibliográficas.

O resumo dos artigos originais não deve exceder as 250 palavras e serão estruturados (com cabeçalhos: Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão).

A Acta Médica Portuguesa, como membro do ICMJE, exige como condição para publicação, o registo de todos os ensaios num registo público de ensaios aceite pelo ICMJE (ou seja, propriedade de uma instituição sem fins lucrativos e publicamente acessível, por ex. clinicaltrials.gov). Todos os manuscritos reportando ensaios clínicos têm de seguir o CONSORT *Statement* <http://www.consort-statement.org/>.

Numa revisão sistemática ou meta-análise de estudos randomizados siga as PRISMA *guidelines*.

Numa meta-análise de estudos observacionais, siga as MOOSE *guidelines* e apresente como um ficheiro complementar o protocolo do estudo, se houver um.

Num estudo de precisão de diagnóstico, siga as STARD *guidelines*.

Num estudo observacional, siga as STROBE *guidelines*.

Num *Guideline* clínico incentivamos os autores a seguir a GRADE *guidance* para classificar a evidência.

■ Artigos de Revisão:

Destinam-se a abordar de forma aprofundada, o estado actual do conhecimento referente a temas de importância. Estes artigos serão elaborados a convite da equipa editorial, contudo, a título excepcional, será possível a submissão, por autores não convidados (com ampla experiência no tema) de projectos de artigo de revisão que, julgados relevantes e aprovados pelo editor, poderão ser desenvolvidos e submetidos às normas de publicação.

Comprimento máximo: 3500 palavras de texto (não incluindo resumo, legendas e referências). Não pode ter mais do que um total de 4 tabelas e / ou figuras, e não mais de 50-75 referências.

O resumo dos artigos de revisão não deve exceder as 250 palavras e serão estruturados (com cabeçalhos: Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusão).

■ Caso Clínico:

O relato de um caso clínico com justificada razão de publicação (raridade, aspectos inusitados, evoluções atípicas, inovações terapêuticas e de diagnóstico, entre outras). As secções serão: Introdução, Caso Clínico, Discussão, Bibliografia.

O texto não deve exceder as 1.000 palavras e 15 refe-

rências bibliográficas. Deve ser acompanhado de figuras ilustrativas. O número de tabelas/figuras não deve ser superior a 5.

Inclua um resumo não estruturado que não exceda 150 palavras, que sumarie o objectivo, pontos principais e conclusões do artigo.

■ Imagens em Medicina (Imagem Médica):

A Imagem em Medicina é um contributo importante da aprendizagem e da prática médica. Poderão ser aceites imagens clínicas, de imagiologia, histopatologia, cirurgia, etc. Podem ser enviadas até duas imagens por caso.

Deve incluir um título com um máximo de oito palavras e um texto com um máximo de 150 palavras onde se dê informação clínica relevante, incluindo um breve resumo do historial do doente, dados laboratoriais, terapêutica e condição actual. Não pode ter mais do que três autores e cinco referências bibliográficas. Não precisa de resumo.

Só são aceites fotografias originais, de alta qualidade, que não tenham sido submetidas a prévia publicação. Devem ser enviados dois ficheiros: um com a qualidade exigida para a publicação de imagens e outra que serve apenas para referência em que o topo da fotografia deve vir indicado com uma seta. Para informação sobre o envio de imagens digitais, consulte as «Normas técnicas para a submissão de figuras, tabelas ou fotografias».

■ Guidelines / Normas de orientação:

As sociedades médicas, os colégios das especialidades, as entidades oficiais e / ou grupos de médicos que desejem publicar na Acta Médica Portuguesa recomendações de prática clínica, deverão contactar previamente o Conselho Editorial e submeter o texto completo e a versão para ser publicada. O Editor-Chefe poderá colocar como exigência a publicação exclusiva das recomendações na Acta Médica Portuguesa.

Poderá ser acordada a publicação de uma versão resumida na edição impressa cumulativamente à publicação da versão completa no *site* da Acta Médica Portuguesa.

■ Cartas ao Editor:

Devem constituir um comentário a um artigo da Acta Med Port ou uma pequena nota sobre um tema ou caso clínico. Não devem exceder as 400 palavras, nem conter mais de uma ilustração e ter um máximo de 5 referências bibliográficas. Não precisam de resumo.

Deve seguir a seguinte estrutura geral: Identificar o artigo (torna-se a referência 1); Dizer porque está a escrever; fornecer evidência (a partir da literatura ou a partir de uma experiência pessoal) fornecer uma súmula; citar referências.

A(s) resposta(s) do(s) Autor(es) devem observar as mesmas características.

Uma Carta ao editor discutindo um artigo recente da Acta Med Port terá maior probabilidade de aceitação se for submetida quatro semanas após a publicação do artigo.

Abreviaturas: Não use abreviaturas ou acrónimos no título nem no resumo, e limite o seu uso no texto. O uso de acrónimos deve ser evitado, assim como o uso excessivo e desnecessário de abreviaturas. Se for imprescindível recorrer a abreviaturas não consagradas, devem ser definidas na primeira utilização, por extenso, logo seguido pela abreviatura entre parênteses. Não coloque pontos finais nas abreviaturas.

Unidades de Medida: As medidas de comprimento, altura, peso e volume devem ser expressas em unidades do sistema métrico (metro, quilograma ou litro) ou seus múltiplos decimais.

As temperaturas devem ser dadas em graus Celsius (°C) e a pressão arterial em milímetros de mercúrio (mm Hg).

Para mais informação consulte a tabela de conversão “Units of Measure” no *website* da AMA Manual Style.

Nomes de Medicamentos, Dispositivos ou outros Produtos: Use o nome não comercial de medicamentos, dispositivos ou de outros produtos, a menos que o nome comercial seja essencial para a discussão.

IMAGENS

Numere todas as imagens (figuras, gráficos, tabelas, fotografias, ilustrações) pela ordem de citação no texto.

Inclua um título/legenda para cada imagem (uma frase breve, de preferência com não mais do que 10 a 15 palavras).

A publicação de imagens a cores é gratuita.

No manuscrito, são aceitáveis os seguintes formatos: BMP, EPS, JPG, PDF e TIF, com 300 *dpis* de resolução, pelo menos 1200 *pixels* de largura e altura proporcional.

As Tabelas/Figuras devem ser numeradas na ordem em que são citadas no texto e assinaladas em numeração árabe e com identificação, figura/tabela. Tabelas e figuras devem ter numeração árabe e legenda. Cada Figura e Tabela incluídas no trabalho têm de ser referidas no texto, da forma que passamos a exemplificar:

Estes são alguns exemplos de como uma resposta imunitária anormal pode estar na origem dos sintomas da doença de Behçet (Fig. 4).

Esta associa-se a outras duas lesões cutâneas (Tabela 1).

Figura: Quando referida no texto é abreviada para Fig., enquanto a palavra Tabela não é abreviada. Nas legendas ambas as palavras são escritas por extenso.

Figuras e tabelas serão numeradas com numeração árabe independentemente e na sequência em que são referidas no texto.

Exemplo: Fig. 1, Fig. 2, Tabela 1

Legendas: Após as referências bibliográficas, ainda no ficheiro de texto do manuscrito, deverá ser enviada legenda detalhada (sem abreviaturas) para cada imagem. A imagem tem que ser referenciada no texto e indicada a sua localização aproximada com o comentário “Inserir Figura nº 1... aqui”.

Tabelas: É obrigatório o envio das tabelas a preto e

branco no final do ficheiro. As tabelas devem ser elaboradas e submetidas em documento *word*, em formato de tabela simples (*simple grid*), sem utilização de tabuladores, nem modificações tipográficas. Todas as tabelas devem ser mencionadas no texto do artigo e numeradas pela ordem que surgem no texto. Indique a sua localização aproximada no corpo do texto com o comentário “Inserir Tabela nº 1... aqui”. Neste caso os autores autorizam uma reorganização das tabelas caso seja necessário.

As tabelas devem ser acompanhadas da respectiva legenda/título, elaborada de forma sucinta e clara.

Legendas devem ser auto-explicativas (sem necessidade de recorrer ao texto) – é uma declaração descritiva.

Legenda/Título das Tabelas: Colocada por cima do corpo da tabela e justificada à esquerda. Tabelas são lidas de cima para baixo. Na parte inferior serão colocadas todas as notas informativas – notas de rodapé (abreviaturas, significado estatístico, etc.) As notas de rodapé para conteúdo que não caiba no título ou nas células de dados devem conter estes símbolos *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡, §§, ||||, ¶¶.

Figuras: Os ficheiros «figura» podem ser tantos quantas imagens tiver o artigo. Cada um destes elementos deverá ser submetido em ficheiro separado, obrigatoriamente em versão electrónica, pronto para publicação. As figuras (fotografias, desenhos e gráficos) não são aceites em ficheiros *word*.

Em formato TIF, JPG, BMP, EPS e PDF com 300 *dpis* de resolução, pelo menos 1200 *pixels* de largura e altura proporcional.

As legendas têm que ser colocadas no ficheiro de texto do manuscrito.

Caso a figura esteja sujeita a direitos de autor, é responsabilidade dos autores do artigo adquirir esses direitos antes do envio do ficheiro à Acta Médica Portuguesa.

Legenda das Figuras: Colocada por baixo da figura, gráfico e justificada à esquerda. Gráficos e outras figuras são habitualmente lidos de baixo para cima.

Só são aceites imagens de doentes quando necessárias para a compreensão do artigo. Se for usada uma figura em que o doente seja identificável deve ser obtida e remetida à Acta Médica Portuguesa a devida autorização. Se a fotografia permitir de forma óbvia a identificação do doente, esta poderá não ser aceite. Em caso de dúvida, a decisão final será do Editor-Chefe.

- **Fotografias:** Em formato TIF, JPG, BMP e PDF com 300 *dpis* de resolução, pelo menos 1200 *pixels* de largura e altura proporcional.

- **Desenhos e gráficos:** Os desenhos e gráficos devem ser enviados em formato vectorial (AI, EPS) ou em ficheiro bitmap com uma resolução mínima de 600 dpi. A fonte a utilizar em desenhos e gráficos será obrigatoriamente Arial.

As imagens devem ser apresentadas em ficheiros separados submetidos como documentos suplementares, em condições de reprodução, de acordo com a ordem em que

são discutidas no texto. As imagens devem ser fornecidas independentemente do texto.

AGRADECIMENTOS (facultativo)

Devem vir após o texto, tendo como objectivo agradecer a todos os que contribuíram para o estudo mas não têm peso de autoria. Nesta secção é possível agradecer a todas as fontes de apoio, quer financeiro, quer tecnológico ou de consultoria, assim como contribuições individuais. Cada pessoa citada nesta secção de agradecimentos deve enviar uma carta autorizando a inclusão do seu nome.

REFERÊNCIAS

Os autores são responsáveis pela exactidão e rigor das suas referências e pela sua correcta citação no texto.

As referências bibliográficas devem ser citadas numericamente (algarismos árabes formatados sobrescritos) por ordem de entrada no texto e ser identificadas no texto com algarismos árabes. **Exemplo:** “Dimethylfumarate has also been a systemic therapeutic option in moderate to severe psoriasis since 1994¹³ and in multiple sclerosis¹⁴.”

Se forem citados mais de duas referências em sequência, apenas a primeira e a última devem ser indicadas, sendo separadas por traço⁵⁻⁹.

Em caso de citação alternada, todas as referências devem ser digitadas, separadas por vírgula^{12,15,18}.

As referências são alinhadas à esquerda.

Não deverão ser incluídos na lista de referências quaisquer artigos ainda em preparação ou observações não publicadas, comunicações pessoais, etc. Tais inclusões só são permitidas no corpo do manuscrito (ex: P. Andrade, comunicação pessoal).

As abreviaturas usadas na nomeação das revistas devem ser as utilizadas pelo National Library of Medicine (NLM) *Title Journals Abbreviations* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>

Notas: Não indicar mês da publicação.

Nas referências com 6 ou menos Autores devem ser nomeados todos. Nas referências com 7 ou mais autores devem ser nomeados os 6 primeiros seguidos de “et al”.

Seguem-se alguns exemplos de como devem constar os vários tipos de referências.

Artigo:

Apelido Iniciais do(s) Autor(es). Título do artigo. Título das revistas [abreviado]. Ano de publicação; Volume: páginas.

1. Com menos de 6 autores

Miguel C, Mediavilla MJ. Abordagem actual da gota. *Acta Med Port.* 2011;24:791-8.

2. Com mais de 6 autores

Norte A, Santos C, Gamboa F, Ferreira AJ, Marques A, Leite C, et al. Pneumonia Necrotizante: uma complicação rara. *Acta Med Port.* 2012;25:51-5.

Monografia:

Autor/Editor AA. Título: completo. Edição (se não for a primeira). Vol.(se for trabalho em vários volumes). Local de publicação: Editor comercial; ano.

1. Com Autores:

Moore, K. *Essential Clinical Anatomy*. 4th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

2. Com editor:

Gilstrap LC 3rd, Cunningham FG, VanDorsten JP, editors. *Operative obstetrics*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2002.

Capítulo de monografia:

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

Relatório Científico/Técnico:

Lugg DJ. Physiological adaptation and health of an expedition in Antarctica: with comment on behavioural adaptation. Canberra: A.G.P.S.; 1977. Australian Government Department of Science, Antarctic Division. ANARE scientific reports. Series B(4), Medical science No. 0126

Documento electrónico:

1. CD-ROM

Anderson SC, Poulsen KB. Anderson's electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

2. Monografia da Internet

Van Belle G, Fisher LD, Heagerty PJ, Lumley TS. *Biostatistics: a methodology for the health sciences* [e-book]. 2nd ed. Somerset: Wiley InterScience; 2003 [consultado 2005 Jun 30]. Disponível em: Wiley InterScience electronic collection

3. Homepage/Website

Cancer-Pain.org [homepage na Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01; [consultado 2002 Jul 9]. Disponível em: <http://www.cancer-pain.org/>.

PROVAS TIPOGRÁFICAS

Serão da responsabilidade do Conselho Editorial, se os Autores não indicarem o contrário. Neste caso elas deverão ser feitas no prazo determinado pelo Conselho Editorial, em função das necessidades editoriais da Revista. Os autores receberão as provas para publicação em formato PDF para correcção e deverão devolvê-las num prazo de 48 horas.

ERRATA E RETRACÇÕES

A Acta Médica Portuguesa publica alterações, emendas ou retracções a um artigo anteriormente publicado. Alterações posteriores à publicação assumirão a forma de errata.

NOTA FINAL

Para um mais completo esclarecimento sobre este assunto aconselha-se a leitura do *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* do International Committee of Medical Journal Editors, disponível em <http://www.ICMJE.org>.