

Trabajos Seleccionados

PRESENTACIONES ORALES

O2 Screening de autoanticuerpos anti-transglutaminasa tisular en pacientes pediátricos con diagnóstico reciente de diabetes mellitus, empleando un novedoso inmunoensayo

Silvina Sonia Bombicino¹, Adriana Victoria Sabljic¹, Juan Ignacio Marfía¹, Liliana Trifone², Adriana Roussos², Aldana Trabucchi¹, Edgardo Poskus¹, Silvina Valdez¹

¹ INSTITUTO DE ESTUDIOS DE LA INMUNIDAD HUMORAL (IDEHU, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES -UBA-, CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS -CONICET-), CÁTEDRA DE INMUNOLOGÍA, FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA; ²SERVICIO DE NUTRICIÓN, HOSPITAL DE PEDIATRÍA RICARDO GUTIÉRREZ, CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA

Contacto: sbombicino@ffyb.uba.ar

Introducción: la diabetes mellitus tipo 1 (DM1) y la enfermedad celíaca (EC) son enfermedades crónicas, poligénicas y multifactoriales vinculadas con una disfunción del sistema inmune. Se presentan en simultaneidad en un 10% de los pacientes, por lo cual se recomienda el *screening* de rutina para EC en pacientes con reciente diagnóstico de DM1.

Objetivos: realizar un *screening* en pacientes pediátricos con diagnóstico de DM1 para evaluar la presencia de autoanticuerpos anti-transglutaminasa tisular (tTgA), utilizando un método basado en citometría de flujo (FloCMIA: *Flow Cytometric Microsphere based Immunoassay*).

Materiales y métodos: se ensayaron sueros de 253 pacientes pediátricos con diagnóstico reciente de DM1 y se evaluó la presencia de tTgA mediante FloCMIA. Se empleó un modelo de doble paratope incubando los sueros con microesferas de poliestireno de 5 µm adsorbidas con la transglutaminasa tisular recombinante (His6tTg), ON a 4 °C. La mezcla se incubó con His6tTg marcada con biotina y los inmunocomplejos formados se detectaron empleando estreptavidina-ficoeritrina y se adquirió en un citómetro de flujo. Los resultados fueron expresados en Standard Deviation scores (SDs), considerando positivas las muestras con SDs>1,7. Las muestras tTgA positivas por FloCMIA se contrastaron con un kit de ELISA comercial.

Resultados: de los 253 pacientes diabéticos estudiados, 33 (13,0%) fueron positivos para tTgA por FloCMIA, de éstos, 17 (51,5%) fueron confirmados por ELISA. De los 17 pacientes positivos confirmados por ELISA, 12 tenían al menos un marcador de autoinmunidad para DM y 5 solamente de EC. Cabe destacar que de los 13 pacientes tTgA positivos por FloCMIA negativos por ELISA, 11 (84,6%) presentaban positividad para algún marcador de DM.

Conclusiones: en la población estudiada, 13,0% de los pacientes resultó positivo para tTgA por FloCMIA, una prevalencia similar a la encontrada para EC en pacientes con DM1. FloCMIA fue capaz de detectar tTgA en 13 pacientes que el ELISA no pudo, posiblemente debido a las diferencias en los principios fisicoquímicos de ambos métodos, así como a la capacidad del FloCMIA de detectar anticuerpos de isotipos IgA e IgG simultáneamente. Así, la novedosa técnica desarrollada en nuestro laboratorio -basada en citometría de flujo- presentó una alta sensibilidad analítica, con la potencialidad de utilizarse en ensayos de tipo multiplex para la búsqueda combinada de otras patologías autoinmunes (como enfermedad tiroidea autoinmune) en pacientes con reciente diagnóstico de DM1.

O2 Screening of anti-tissue transglutaminase autoantibodies in pediatric patients recently diagnosed with Diabetes Mellitus, employing a novel immunoassay

Silvina Sonia Bombicino¹, Adriana Victoria Sabljic¹, Juan Ignacio Marfía¹, Liliana Trifone², Adriana Roussos², Aldana Trabucchi¹, Edgardo Poskus¹, Silvina Valdez¹

¹ INSTITUTE OF STUDIES OF HUMORAL IMMUNITY (IDEHU, UNIVERISDAD DE BUENOS AIRES -UBA-, NATIONAL COUNCIL OF SCIENTIFIC AND TECHNICAL RESEARCH -CONICET-), CHAIR OF IMMUNOLOGY, FACULTY OF BUENOS AIRES, UNIVERSITY OF AUTHORITY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF AUTHORITY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF AUTHORITY OF PHARMACY AIRES, ARGENTINA; ² NUTRITION SERVICE, RICARDO GUTIÉRREZ PEDIATRIC HOSPITAL, AUTONOMOUS CITY OF BUENOS AIRES, ARGENTINA

Contacto: asabljic@hotmail.com

Introduction: Type 1 Diabetes Mellitus (DM1) and Celiac Disease (CD) are chronic, polygenic and multifactorial diseases associated to an immune system dysfunction. They are simultaneously presented in 10% of the patients, thus it is recommended the routine screening of CD in DM1 recently diagnosed patients.

Objectives: Screening pediatric patients diagnosed with DM1 in order to evaluate the presence of anti-tissue transglutaminase antibodies (tTgA), using a method based in flow cytometry (FloCMIA: Flow Cytometric Microsphere based Immunoassay).

Materials and Methods: The presence of tTgA in serum samples of 253 pediatric patients, recently diagnosed with DM1, was evaluated by FloCMIA. A "double paratope" model was used incubating the samples with polystyrene microspheres (5µm) adsorbed with recombinant tissue transglutaminase (His6-tTg), ON at 4 °C. The mixture was then incubated with biotinylated His6-tTg and the immunocomplexes formed were detected with streptavidin-Phycoerythrin and acquired in a Flow Cytometer. The results were expressed as Standard Deviation scores (SDs), considering as positive the samples with SDs > 1.7. Samples that were tTgA positive by FloCMIA were then contrasted using a commercial ELISA kit.

Results: Out of the 253 diabetic patients studied, 33 (13.0%) were tTgA positive by FloCMIA, and 17 of them (51.5%) were confirmed by ELISA. Out of these 17 tTgA positive patients by FloCMIA and ELISA, 12 had at least one autoimmunity marker for DM and 5 only for CD. It is worth noting that from the 13 patients tTgA positive by FloCMIA but negative by ELISA, 11 (84.6%) presented positivity for one or more DM markers.

Conclusions: In the population studied, 13.0% of the patients were tTgA positive by FloCMIA, similar to the prevalence reported for CD in DM patients. FloCMIA was able to detect tTgA in 13 patients that the ELISA assay could not, possibly due to the differences in the physicochemical principles of both methods, and also to the capacity of FloCMIA to detect IgA and IgG antibodies isotypes simultaneously. Thus, the novel technique developed in our laboratory -based in flow Cytometry- presented a high analytical sensitivity, with the potential use in multiplex assays to the combined detection of autoantibodies present in other autoimmune pathologies (such as Thyroid autoimmune disease) in recently diagnosed DM1 patients.