

NUEVOS MÉTODOS INMUNOCROMATOGRÁFICOS RÁPIDOS EN SANGRE TOTAL PARA LA DETERMINACIÓN DE MARCADORES SEROLÓGICOS DE ENFERMEDAD CELÍACA

C. Ribes-Koninckx¹, L. Ortigosa², E. Donat¹, B. Baena Castro¹, L. Peña³, C. Vázquez², A. Pereda, E. Méndez⁴

¹Unidad Gastroenterología Pediátrica. Hospital Infantil La Fe, Valencia.

²Hospital Universitario Ntra. Sra. De Candelaria. Santa Cruz de Tenerife.

³Hospital Universitario Materno-Infantil de Canarias. Las Palmas.

⁴Unidad de Gluten, Centro Nacional de Biotecnología (CSIC). Madrid.

OBJETIVO

Determinar el valor de dos métodos visuales inmunochromatográficos realizados en sangre total para el estudio de la enfermedad celíaca (EC).

PACIENTES Y MÉTODOS

Estudio prospectivo que incluye a todos los pacientes a los que se les realizó una biopsia intestinal con fines diagnósticos en diferentes unidades de Gastroenterología Pediátrica. De forma simultánea se determinaron los marcadores serológicos para EC por ELISA y por las tiras en sangre entera:

CD1WB para los anticuerpos antitransglutaminasa tisular de clase IgA/G/M (t-TG)

CD2WB para los anticuerpos de clase IgA frente a la t-TG y frente a gliadina (AAG) (® de Operon, Zaragoza, España).

La muestra de sangre se recoge con una micropipeta provista en el kit, tras extracción por punción digital. Posteriormente se deposita en el dispositivo de reacción y un minuto después se añade un tampón. A los 10-15 minutos se interpretan los resultados en función de la aparición de bandas de distintos colores.

RESULTADOS

De un total de 123 pacientes:

10 tenían una histología normal (controles);

111 una lesión Marsh 3

2 una lesión Marsh 2 (pacientes EC).

CD1WB: 94,3% de resultados concordantes con ELISA.

Dos pacientes con déficit de IgA fueron positivos en CD1WB (anticuerpos t-TG de clase de IgG). Todos los controles fueron negativos.

CD2WB: 94,3% de resultados concordantes con ELISA para t-TG, pero solamente del 67,5% para AAG. La eficacia para el diagnóstico de EC se muestra en la tabla.

	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Eficacia (%)
CD1WB	90	90	90,2
CD2WB – tTG	92	90	91,8
CD1WB – AAG	57	66,6	57,7

CONCLUSIONES

Nuestros resultados muestran como estos test rápidos inmunocromatográficos son extremadamente útiles para la aproximación diagnóstica a la EC como alternativa a los test de ELISA convencionales, incluso en aquellos casos con déficit de IgA.

Esto es una ventaja pues la cuantificación de IgA total en suero no es necesaria. Estos métodos visuales son sencillos de realizar y de interpretar y no precisan de un equipo complejo ni de técnicos altamente cualificados. No obstante, previo a realizar una biopsia los resultados obtenidos es recomendable que se confirmen por los métodos convencionales de ELISA.

HLA-DQ Y DR EN EL MANEJO DEL PACIENTE CON SOSPECHA DE ENFERMEDAD CELÍACA

I. Ros Arnal, J.P. García Iñiguez, L. Ros Mar
Hospital Infantil Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad celíaca (EC) se diagnóstica de una manera clara cuando los síntomas, hallazgos de laboratorio, anticuerpos y biopsia son compatibles con la enfermedad. Pero hoy en día son cada vez más frecuente las preguntas de familiares de celíacos o de pacientes que presentan patologías asociadas a EC de la posibilidad que tiene de padecerla. La presentación de los antígenos del gluten es dependiente del HLA de cada individuo con diferente riesgo de desarrollar la enfermedad, en función de la proporción de células capaces de presentar los péptidos del gluten.

OBJETIVO

Interpretar los resultados del HLA en enfermos con sospecha de EC, con el fin de asignar a cada tipo de HLA un riesgo de dicha enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Fueron estudiados 471 niños por sospecha de EC, de los que 297 fueron diagnosticados de EC (marcadores y biopsia intestinal alterados) y 187 en los que con los mismos procedimientos se descartó en el momento del estudio.

En cada uno de los pacientes se determinaron los alelos de la cadena beta DQ y de la cadena beta DR del HLA y en función de estos resultado se valoro el riesgo asociado a EC en cada fenotipo, mediante el empleo de la Odds Ratio. Se ha usado el programa estadístico SPSS 12.0

RESULTADOS

Existe un riesgo alto de EC en pacientes sospechosos de padecerla, asociado al HLA DQ2 en homocigosis (OR: 7,6; 4,5-12,8), existiendo riesgo asociado al HLA DQ2/DQ7 (OR: 2,2; 1,2-3,74), sin aumentar el riesgo por presentar otra asociación en heterocigosis del HLA DQ2.

Cualquier otro HLA DQ, incluyendo HLA DQ8, disminuye el riesgo de que el paciente padezca EC (OR: 0,02;0,00-0,073).

Los individuos con HLA DR3/DR7 son los que presentan el riesgo más alto de padecer EC (OR: 11,77; 5,03-27,2) seguidos de los pacientes con HLA DR3 en homocigosis (6,84; 2,67-17,51) y en menor medida con HLA DR5/DR7 (2,68; 1,26-5,70).

El resto de los HLA DR3 en heterocigosis no presentan mayor riesgo de enfermedad, siendo un factor protector otros tipos de HLA DR (0,019; 0,010-0,036).

CONCLUSIÓN

No todos los individuos con HLA DQ2 o HLA DR3 tienen riesgo aumentado de ser enfermos celíacos. Las características del HLA DQ y DR en individuos con posibilidad de presentar EC (parientes de celíacos, síndromes asociados, hallazgos discordantes, etc.) puede ayudar a plantear un mayor o menor riesgo de padecer EC.

PREVALENCIA DE ENFERMEDAD CELÍACA SILENTE EN LA POBLACIÓN ESCOLAR DE ALBACETE

E. Balmaseda¹, C. Gutiérrez¹, M.C. Escudero¹, J. Ontañón², R. Rada², I. Cuartero¹

¹Unidad de Gastroenterología Pediátrica.

²Servicio de Bioquímica. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete.

INTRODUCCIÓN

Los estudios epidemiológicos realizados en población infantil han demostrado una alta prevalencia de enfermedad celíaca, aunque hay diferencias entre países e incluso entre regiones. No se ha realizado ningún estudio epidemiológico en la población escolar de Castilla La Mancha.

El objetivo de nuestro estudio es establecer la prevalencia de enfermedad celíaca silente en la población escolar de Albacete así como su prevalencia global y la relación entre casos sintomáticos y asintomáticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

En escolares de 3 a 14 años del área de salud de Albacete se determinan anticuerpos IgA antitransglutaminasa tisular (ATGT) y niveles de IgA.

En los niños con resultado positivo se determinaron anticuerpos IgA antiendomiso (EMA), estudio HLA y biopsia intestinal.

En aquellos niños con déficit de IgA se realizaron anticuerpos antitransglutaminasa tisular y antiendomiso de clase IgG.

RESULTADOS

Se estudia una población de 1.777 niños de edades comprendidas entre 3 y 14 años del área de salud de Albacete en el año 2005.

De la muestra 921 son varones (51,8%) y 856 mujeres (48,2%) y la edad media es de 9 años. El número de niños con déficit de IgA es de 17, que supone una prevalencia de 1/104 (0,96%). No hay ningún caso con déficit de IgA y marcadores IgG positivos.

Doce niños presentaron ATGT positivos, de ellos 10 tenían EMA positivos y 2 EMA negativos. De los 10 niños con ATGT y EMA positivos, 2 están pendientes de la biopsia yeyunal y 8 han sido biopsiados con los siguientes resultados: Marsh 1 1 caso, Marsh 3a 1 caso, Marsh 3b 6 casos. Los 2 niños con ATGT positivos y EMA negativos presentaron lesión Marsh 3a en la biopsia yeyunal.

Los 12 niños tenían HLA DQ2 positivo. Por tanto, 9 niños han sido diagnosticados de enfermedad celíaca, siendo la prevalencia en población escolar sana de 1/197 (0,5%). Ninguno de los casos presentaban síntomas sugerentes de la enfermedad, aunque 3 mostraron ferropenia en la analítica.

En el año 2005 fueron diagnosticados 5 enfermos celíacos en la misma población y rango de edad con lo que la prevalencia global de enfermedad celíaca ascendería a 1/188 (0,53%) y la relación entre enfermedad celíaca conocida y no diagnosticada es de 1/4,8.

CONCLUSIONES

Se confirma la alta prevalencia de enfermedad celíaca silente en la población escolar de Albacete (1/197 niños), coincidente con las cifras publicadas en otras regiones españolas. En los casos detectados no hemos encontrado síntomas clínicos que pudieran alertar sobre la presencia de enfermedad celíaca, por lo que el bajo umbral para la realización de marcadores serológicos constituye el mejor medio para detectar estos pacientes.

ENFERMEDAD CELÍACA Y ALERGIA

N. Clerici Larradet, B. Huerta Martínez, L. Suárez Cortina¹, H. Escobar Castro¹

Sección de Histocompatibilidad. Servicio de Inmunología y Unidad de Gastroenterología y Nutrición Infantil.

¹Servicio de Pediatría. Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

OBJETIVOS

Las alergias en general y en particular aquellas que provocan ciertos alimentos (leche, huevo, pescado, etc.) son más frecuentes en los niños de corta edad ya que su epitelio intestinal todavía inmaduro, no ofrece una barrera adecuada permitiendo así que las proteínas pasen a través de la membrana epitelial y al torrente sanguíneo. Dado que en la enfermedad celíaca la mucosa intestinal se daña específicamente por el gluten presente en muchos alimentos nos propusimos analizar:

- 1) la frecuencia de las distintas alergias que concurren en celíacos; y
- 2) si el sistema HLA podría estar involucrado en este caso particular.

MATERIAL Y MÉTODOS

A. Sujetos de estudio: 290 pacientes celíacos clasificados en dos grupos:
uno compuesto 53 niños alérgicos
y el otro integrado por 237 (82%) que no la padecen.

B. Metodología:

- 1) técnica de PCR/SSO y PCR/SSP: tipajes HLA-DRB1-, DQA1- y -DQB1;
- 2) análisis estadístico: comparación de las frecuencias haplotípicas en los grupos: test de Chi².

RESULTADOS

Haplotipos asociados negativamente

EC+ALERGIA (N=53, f= 18%) nº de casos (f %)	HLA-DQB1*06 f % alerg vs 6,3% no alerg	HLA-DQB1*05 f % alerg vs 5% en no alerg.
- 25 (47%): al pólen	3,7%, P = NS	2,8%, P = NS
- 19 (36%): a alimentos	0,9%, P = 1,3 x 10 ⁻²	0,9%, P = 4,0 x 10 ⁻²
- 7 (13%): a antibióticos	0,0%. P = 2,0 x 10 ⁻³	0,0%, P = 4,0 x 10 ⁻²
- 6 (11%): a epitelio animal	1,9%, P = 4,7 x 10 ⁻²	0,9%, P = 4,0 x 10 ⁻²
- 5 (9%): a hongos y/o ácaros	0,9%, P = 1,3 x 10 ⁻²	0,9%, P = 4,0 x 10 ⁻²

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio sugieren que los alelos HLA DQB1*06 y HLA-DQB1*05, respectivamente asociados por d.l. a: DRB1*15 y *13 y a DRB1*0103, *01, *10 y *14, podrían tener una función protectora en la EC en relación con determinado tipo de alergias no polínicas.

¿ES LA MICROBIOTA DUODENAL UN POSIBLE FACTOR ETIOPATOGÉNICO EN LA ENFERMEDAD CELÍACA?

Y. Sanz¹, I. Nadal¹, M.C. Collado¹, E. Donat², M. Calabuig³, C. Ribes-Koninckx²

¹Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), Valencia.

²Hospital Universitario La Fe, Valencia.

³Hospital General Universitario, Valencia.

OBJETIVO

Determinar la composición de la flora microbiota intestinal de niños celíacos en comparación con sujetos control, para valorar su posible implicación en la patogenia de la Enfermedad Celíaca (EC).

PACIENTES Y MÉTODOS

Se estudiaron tres grupos:

16 pacientes con diagnóstico de EC,

10 pacientes con EC pero con dieta exenta de gluten (durante más de 2 años),

un grupo control de 8 sujetos donde se había descartado el diagnóstico de EC.

Tras obtención de las muestras de biopsia intestinal y congelación inmediata, el análisis bacteriológico fue realizado por hibridación in situ con sondas fluorescentes (FISH), utilizando para ello oligonucleótidos frente a las bacterias más importantes que colonizan el intestino humano y citometría de flujo.

RESULTADOS

Existen diferencias entre la composición de la microbiota duodenal en pacientes control y celíacos, particularmente en el caso de los que presentaban una forma activa de enfermedad. Se alcanzaron en la mayoría de las bacterias que son cuantitativamente más importantes a nivel intestinal cifras elevadas en las muestras de pacientes con EC activa, e intermedias en las muestras de niños celíacos con enfermedad inactiva, en comparación con los de controles. Bacteroides, Clostridium, y bacterias reductoras de sulfato fueron las que demostraron diferencias más notables entre los grupos estudiados.

CONCLUSIÓN

Este estudio preliminar permite establecer peculiaridades en la microbiota de los individuos con EC activa, comparado con sujetos control, lo que permite especular sobre la importancia de la flora duodenal como uno de los factores ambientales implicado en la patogenia de la enfermedad.

PATOLOGÍA AUTOINMUNE MÚLTIPLE CON SEROLOGÍA POSITIVA PERSISTENTE EN PACIENTES CELÍACOS

E. Martínez-Ojinaga, N. Ibáñez, I. Orellana, M.A. Molina, T. Del Rosal, I. Polanco
Servicio de Gastroenterología y Nutrición del Hospital Infantil La Paz, Madrid.

La enfermedad celíaca es un proceso autoinmune que se asocia a otro tipo de patologías de base inmunológica.

OBJETIVO

Considerar la serología positiva persistente como factor de riesgo para desarrollar otras enfermedades autoinmunes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se describen 5 pacientes celíacos con patología autoinmune múltiple y serología persistentemente positiva a pesar de una dieta estricta exenta en gluten.

RESULTADOS

Todos los pacientes son DQ2 positivos. A pesar de realizar correctamente la dieta, los controles serológicos de anticuerpos anti-transglutaminasa tisular de clase IgA (ac-TGT) permanecieron elevados en los 5 pacientes. Los 5 casos mostraron una atrofia subtotal de las vellosidades intestinales en la biopsia inicial, mantenida en un caso durante 6 años (3 de ellos están pendientes de nuevo estudio anatómico).

Mediante técnicas de tinción con inmunofluorescencia indirecta no se detectaron anticuerpos anti-enterocito séricos. Durante la evolución uno de ellos asoció trastornos autoinmunes extraintestinales (diabetes mellitus y artritis crónica juvenil 5 años más tarde), dos tenían patología autoinmune de base (síndrome de Down, hipotiroidismo y diabetes tipo 1, síndrome de Noonan, hepatopatía y miocardiopatía hipertrófica), otro presenta anticuerpos antinucleares positivos e hipertransaminasemia desde 3 años antes y el último presenta un déficit aislado de IgA asociado con ac-TGT positivos de clase IgG desde hace 5 años.

CONCLUSIONES

La pérdida de la función de barrera intestinal típica de los pacientes celíacos podría ser la responsable del desarrollo de otras enfermedades autoinmunes en su evolución. Teóricamente esta respuesta inmunológica exagerada debería mitigarse con una dieta sin gluten. No obstante en estos pacientes el hecho de que la serología no se haya negativizado corrobora la hipótesis de que hay otros autoantígenos que se activan tras la respuesta inflamatoria inicialmente disparada por la gliadina.