

Programma di screening su larga scala per la identificazione di bambini e adolescenti a rischio di sviluppo del diabete di tipo 1 nel territorio

Emanuele Bosi, Matteo Rocco Pastore, Sabina Martinenghi, Andrea Mario Bolla, Pauline Grogan, Eleonora Bianconi, Elena Bazzigaluppi, Graziano Barera, Lorenzo Piemonti, Riccardo Bonfanti, Vito Lampasona

Diabetes Research Institute, IRCCS Ospedale San Raffaele e Università Vita Salute San Raffaele, Milano

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2003a>

DIABETE DI TIPO 1: UN PROBLEMA DI SALUTE PUBBLICA

Il diabete di tipo 1 è una malattia cronica al momento inguaribile, che consegue alla distruzione delle cellule beta che all'interno delle isole pancreatiche producono l'insulina. La malattia si manifesta clinicamente con iperglicemia e altre alterazioni metaboliche associate e richiede a vita la terapia con iniezioni multiple giornaliere o infusione continua di insulina. La causa del diabete di tipo 1 rimane sconosciuta, anche se il meccanismo responsabile della distruzione delle cellule beta è stato da tempo identificato come autoimmune (1). L'incidenza, e conseguentemente la prevalenza, del diabete di tipo 1 sono costantemente cresciute nel corso degli ultimi decenni in Europa (2), Nord America (3) e in tutto il mondo (4), divenendo oggi la malattia cronica più diffusa dell'infanzia e della adolescenza. Il diabete di tipo 1 rappresenta pertanto un problema emergente per la salute pubblica, con richiesta urgente di azioni di sensibilizzazione per una maggiore conoscenza della malattia e promozione della ricerca, i cui obiettivi ultimi sono la prevenzione (in coloro che non ne sono ancora colpiti) e la cura (intesa come guarigione definitiva nelle persone già colpite).

RAZIONALE DELLO SCREENING PER IL DIABETE DI TIPO 1 IN FASE PRE-CLINICA

Associazione tra autoanticorpi e diabete di tipo 1

I programmi di screening per la identificazione dei soggetti a rischio rappresentano un passo fondamentale nella direzione della prevenzione di qualsiasi malattia. Il processo autoimmune responsabile del diabete di tipo 1 è associato alla presenza nel sangue di autoanticorpi, cioè di immunoglobuline dirette contro antigeni delle cellule beta pancreatiche, che compaiono in maniera totalmente silente con anni di anticipo rispetto alla sintomatologia clinica della malattia. Gli autoanticorpi sono pertanto dei marcatori presenti nel sangue che, se riscontrati in assenza di diabete di tipo 1 conclamato, ne possono pre-

FAD ECM "il Diabete"

Questa rassegna fa parte di un percorso di **formazione a distanza** accreditato a livello nazionale e disponibile gratuitamente nell'aula virtuale della SID (www.fad.siditalia.it).

Per partecipare al corso occorre:

1. Leggere la rassegna (disponibile anche on-line)
2. Registrarsi all'aula e iscriversi al corso "il Diabete"
3. Rispondere on-line al quiz di verifica e compilare il questionario di valutazione dell'evento FAD.

Una volta eseguito con successo il test di valutazione e compilato il questionario di valutazione dell'evento, sarà cura della Segreteria ECM della SID far pervenire l'attestato ECM del corso ai diretti interessati nei tempi e nelle modalità stabiliti dalla regolamentazione vigente.

Per ulteriori informazioni: www.fad.siditalia.it

dire un suo possibile sviluppo futuro e quantificarne il rischio. Gli autoanticorpi specifici per il diabete di tipo 1 ad oggi conosciuti e ben caratterizzati sono quattro: anti-GAD (GADA), anti-insulina (IAA), anti-IA2 (IA2A) ed anti-ZnT8 (ZnT8A) (5).

Valore predittivo degli autoanticorpi e stadiazione del diabete di tipo 1 già in fase preclinica

Numerosi studi prospettici nel mondo hanno progressivamente consolidato il principio secondo il quale mediante lo screening per questi quattro autoanticorpi è possibile misurare con elevata accuratezza il rischio di sviluppare in futuro il diabete di tipo 1. In sintesi, l'assenza di autoanticorpi certifica la sostanziale assenza di rischio, la presenza di uno qualsiasi tra i quattro marcatori conferisce un rischio intorno al 20% a 10 anni, mentre la presenza di due o più anticorpi si associa ad un rischio di evoluzione a diabete clinicamente conclamato superiore all'80% entro 10 anni, ovvero ne attesta la quasi certezza di sviluppo futuro (6). Una recente revisione della definizione e stadiazione del diabete di tipo 1, ne stabilisce l'insorgenza già in fase pre-sintomatica dal momento della comparsa in circolo di due o più autoanticorpi, definendola come stadio 1, a cui segue la progressiva evoluzione allo stadio 2, con iniziale disglicemia e infine allo stadio 3 con iperglicemia e diagnosi clinica (7-8) (Fig. 1).

Giustificazione etica

Pertanto, lo screening per autoanticorpi, originariamente utilizzato soltanto in studi di ricerca, viene oggi proposto come strumento per la predizione del diabete di tipo 1 in diverse popolazioni, come i familiari, le coorti di neonati geneticamente selezionati, gli alunni delle scuole, fino alla popolazione generale (9). In alcune regioni, come ad esempio la Baviera, lo screening di massa per la identificazione dei soggetti a rischio per diabete di tipo 1 è divenuto un programma di salute pubblica (10).

Impatto sulla salute pubblica e rapporto costo-beneficio: la prevenzione della chetoacidosi

Il razionale di tali campagne è naturalmente quello di porre le basi per la futura prevenzione del diabete di tipo 1 (11), ma a più breve termine la giustificazione etica risiede nella identificazione dei soggetti a rischio in una fase molto precoce del diabete di tipo 1, consentendo l'avvio tempestivo della terapia insulinica e la prevenzione

della pericolosa chetoacidosi diabetica come modalità di presentazione clinica. La frequenza della chetoacidosi all'esordio clinico del diabete di tipo 1 è infatti ancora elevata anche nei paesi più avanzati (mediamente 29,9% in Europa, 41,2% in Italia), e non sembra essersi ridotta nel corso degli ultimi 20 anni (12). Gravata ancora da mortalità residua intorno all'1% (13), la chetoacidosi riflette una diagnosi tardiva del diabete di tipo 1 (14), con una peggiore evoluzione del controllo glicemico successivo (15-18) e possibili effetti avversi nel tempo su funzioni mnestiche (19), cognitive e sviluppo cerebrale (20-21). Tra i partecipanti a campagne di screening con autoanticorpi e successivo follow-up, l'esordio clinico del diabete di tipo 1 con chetoacidosi si è ridotto drasticamente al 1-3%, con benefici immediati e di più lunga portata (22-24). L'esordio del diabete di tipo 1 con chetoacidosi nei bambini e adolescenti comporta un notevole aumento anche dei costi sanitari (25), per cui un ulteriore valore aggiunto a favore dello screening può risiedere in un rapporto costo-beneficio di questa procedura più favorevole oggi che in passato (26-27).

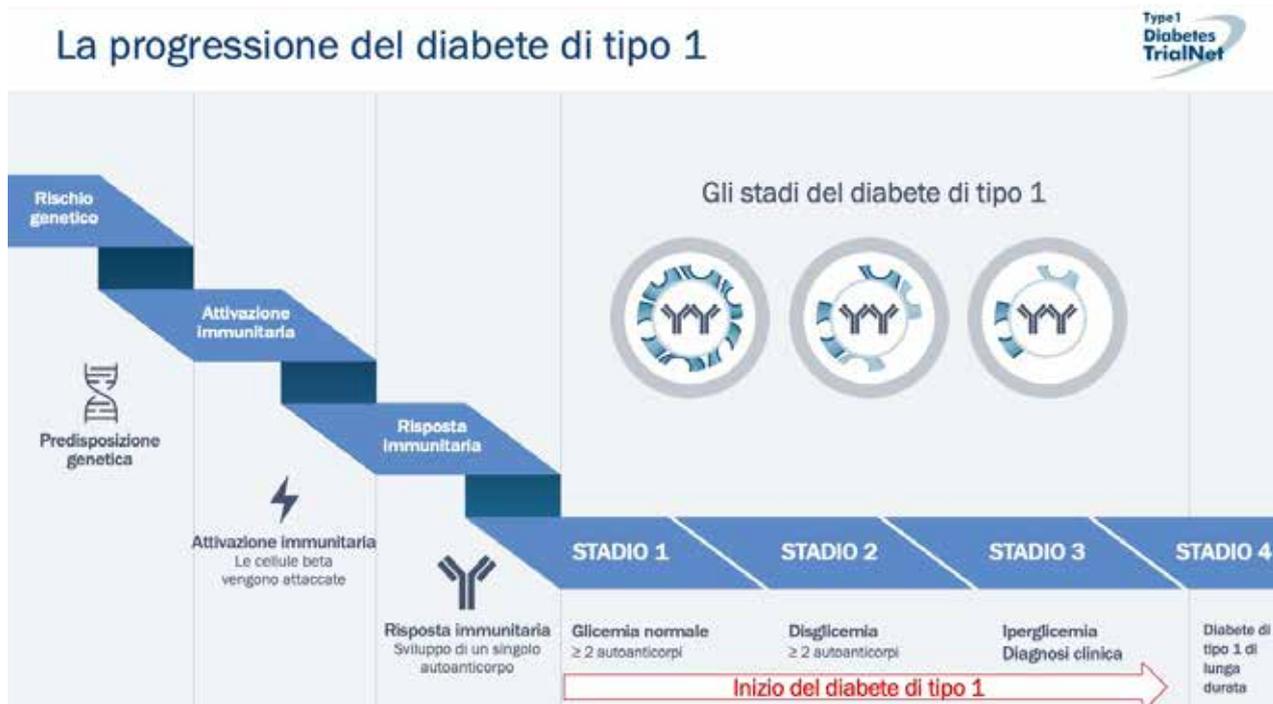
Prevenzione del diabete di tipo 1: lo stato attuale

La possibilità di prevenire il diabete di tipo 1, o quanto meno di ritardarne l'evoluzione alla fase clinica conclamata, ha iniziato a profilarsi nel momento in cui è emersa l'evidenza della lunga fase di latenza pre-clinica associata alla presenza in circolo degli autoanticorpi.

Rispetto alla storia naturale, si riconoscono tre possibili tipi di prevenzione: primaria, da applicare alla fase pre-autoimmune, con l'obiettivo di impedire la comparsa degli autoanticorpi; secondaria, nelle persone già positive per autoanticorpi, con l'obiettivo di prevenire l'evoluzione alla fase conclamata della malattia e quindi alla terapia con insulina; terziaria, quella che si realizza al momento dell'esordio clinico del diabete, mirata alla preservazione della funzione β -cellulare residua. Malgrado i notevoli impegni della ricerca nel corso degli ultimi decenni, i risultati fino ad oggi rimangono modesti (11).

Gli studi di prevenzione primaria più importanti sono quelli di tipo nutrizionale condotti nella prima infanzia, basati sull'impiego del latte idrolizzate rispetto a quello vaccino (28) e sul ritardo dell'introduzione del glutine (29), entrambi con risultati negativi. Un altro studio importante è quello basato sulla somministrazione orale di insulina ad alte dosi in bambini ad elevato rischio gene-

Figura 1 ♦ Gli stadi di evoluzione del diabete di tipo 1



La predisposizione genetica precede l'attivazione immune e la sierconversione. La comparsa di due o più autoanticorpi definisce lo stadio 1 di malattia. La successiva progressione a stadio 2 (disglicemia) e stadio 3 (iperglicemia e diagnosi clinica) consegue alla progressiva riduzione della massa e della funzione β -cellulare (adattata da TrialNet, con permesso: www.trialnet.org) (8)

tico, con l'ipotesi che l'insulina orale possa indurre una risposta protettiva nei riguardi del diabete di tipo 1: i risultati preliminari sono incoraggianti (30), ma lo studio è ancora in corso (31).

In prevenzione secondaria, sono da segnalare gli studi di immunoterapia basati sulla somministrazione cronica di insulina, sia sottocute (32), sia per via orale (33-34), purtroppo inefficace.

In prevenzione terziaria, molteplici sono stati gli interventi al momento dell'esordio clinico del diabete di tipo 1, tutti sostanzialmente privi di efficacia (11), ad eccezione di qualche risultato parziale e transitorio di preservazione della funzione β -cellulare residua ottenuto con anticorpi anti-CD3 (35-36), anti-CD20 (Rituximab) (37), Abatacept (38) e ATG (globuline anti-timocitarie) a basse dosi (39).

Lo stato della prevenzione del diabete di tipo 1, in particolare quella secondaria, è tuttavia di recente cambiato, con la dimostrazione dell'efficacia di Teplizumab (un anticorpo monoclonale anti-CD3) in soggetti a rischio (familiari con due o più autoanticorpi, iniziale alterazione della glicemia, assenza di sintomi) nei quali il trattamento è risultato in grado di ritardare la progressione

verso l'iperiglicemia in media di circa due anni (40). In precedenza, lo stesso Teplizumab si era rivelato in grado di rallentare, anche se soltanto transitoriamente ed in alcuni sottogruppi di pazienti, il declino della produzione di insulina successivamente all'esordio di diabete di tipo 1 (35, 41). In altre parole, per la prima volta si è avuta la dimostrazione della possibilità di modificare la storia naturale del diabete di tipo 1 attraverso una immunoterapia. Un rallentamento di due anni verso la fase clinicamente conclamata del diabete di tipo 1 può apparire a prima vista un risultato parziale, e sicuramente lo è, ma due anni in più senza malattia dal punto di vista del paziente è un risultato di grande significato e valore, che giustifica eticamente, oltre che scientificamente, l'intensificazione degli sforzi di intervento nella direzione della prevenzione.

ASPETTI PRATICI: MODALITÀ DI SCREENING E IMPIEGO DI SANGUE CAPILLARE

La misurazione degli autoanticorpi avviene convenzionalmente su siero proveniente da un prelievo di sangue,

utilizzando saggi validati all'interno di un programma internazionale di standardizzazione in corso da decenni (42-46). Le naturali barriere alla esecuzione di campagne di screening comprendono ostacoli geografici, mancanza di tempo, spazi e persone dedicate, costi, oltre ad una naturale avversione ai prelievi di sangue da parte soprattutto dei bambini. Infine, le misurazioni di laboratorio sono laboriose e costose.

L'uso di campioni di sangue capillare per la misurazione degli autoanticorpi è stato messo a punto e validato in passato (47) e di recente rivitalizzato per adattarlo a programmi di screening di vaste dimensioni (48). La raccolta dei campioni di sangue capillare appare ideale per le campagne di screening, in quanto semplice, veloce, poco costosa, quasi indolore e può essere eseguita a domicilio anche da persone non professionali (tipicamente i genitori). Di recente, è stato messo a punto un innovativo saggio per la misurazione di GADA, IA2A e ZnT8A come screening contemporaneo, in un formato automatizzabile che utilizza sangue capillare (48-50).

Questo test di screening identifica quei soggetti positivi per una o più di queste specificità (corrispondenti a circa lo 0,3% della popolazione generale infantile-giovanile), nei quali l'eventuale risultato di positività dovrà essere validato con un successivo prelievo di sangue con la ripetizione della misurazione nel siero di tutti gli autoanticorpi per una definitiva quantificazione del rischio.

Questa strategia è stata adottata nel già citato studio Frida, realizzato in Baviera sulla popolazione generale infantile, uno tra i migliori esempi di programmi di ricerca, salute pubblica e prevenzione a livello di popolazione generale (10).

POSSIBILITÀ DI AVVIARE PROGRAMMI DI SCREENING IN ITALIA: IL CAMBIO DI PASSO NECESSARIO

In Italia sono stati realizzati in passato alcuni programmi di screening per l'identificazione dei soggetti a rischio all'interno di famiglie (51), migranti (52) o popolazioni scolastiche (53), sostanzialmente con finalità di ricerca. L'unico programma di screening attualmente attivo in Italia per l'identificazione di soggetti da avviare a interventi sperimentali di prevenzione è TrialNet, con base negli USA ed un Centro Clinico presso l'Ospedale San Raffaele di Milano finanziato da JDRF e NIH (8). Altri progetti, come ad esempio di Consorzio Europeo INNODIA (54)

a cui partecipano diversi centri italiani, hanno avviato progetti di screening per future sperimentazioni.

Storicamente, le esperienze di programmi di screening per il diabete di tipo 1 in Italia sono sempre state difficili per una serie di motivi: in primo luogo culturali, in quanto mancando una possibilità di intervenire con terapie preventive nei soggetti identificati come a rischio, atteggiamenti oppositivi sono emersi dai vari Comitati Etici, autorità locali e dagli stessi medici, poco propensi ad eseguire test di screening per sole finalità di ricerca. Inoltre, questi progetti sono per propria natura complessi, richiedono strutture e persone dedicate e devono poter contare su finanziamenti duraturi, con tempi di svolgimento pluriennali, di fatto inesistenti in Italia.

Tuttavia, l'insieme delle recenti evidenze scientifiche sulla storia naturale della malattia, impone un cambio di tutta la strategia da adottare nei confronti del diabete di tipo 1.

1. In prospettiva, occorre introdurre un cambiamento epocale nella terapia del diabete: anticipare l'intervento dalla fase sintomatica (cioè dalla comparsa dell'iperglicemia) alla fase pre-sintomatica, cioè nelle persone ancora asintomatiche, ma che avendo ≥ 2 autoanticorpi hanno la quasi certezza di sviluppare il diabete di tipo 1. In altre parole, passare dalla terapia dei sintomi (iperglicemia) a quella dei meccanismi causali.
2. Il diabete di tipo 1 inizia con la comparsa di ≥ 2 autoanticorpi. L'intervento in questo stadio non è più prevenzione, ma terapia della malattia.
3. L'identificazione dei soggetti a rischio e la predizione del diabete di tipo 1 sono oggi molto accurate.
4. L'immunoterapia nel diabete di tipo 1 ha per la prima volta dimostrato con Tepluzimab (anticorpi anti-CD3) che può, almeno in parte, funzionare: oggi è possibile ritardare l'esordio dell'iperglicemia (in media di 2 anni) e non si tratta di un risultato marginale.
5. La ricerca prosegue, con altri studi, rivolti a migliorare i risultati ottenuti ed identificare altri tipi di intervento da estendere alle fasi più precoci della malattia.

FATTIBILITÀ DI STUDI DI SCREENING: TEMPO PER STUDI PILOTA?

Malgrado le evidenze ed i progressi sopra elencati, l'avvio di programmi permanenti di screening per la identificazione di soggetti a rischio per il diabete di tipo 1 all'interno di progetti di salute pubblica sul modello dello studio Frída rimane difficile. Tuttavia, le esperienze accumulate con eccellenti risultati in altri paesi come la Germania (55) forniscono lo stimolo per intraprendere progetti di questo tipo anche in Italia.

A tal scopo e come esempio di fattibilità, uno o più studi pilota potrebbero essere molto utili.

I presupposti necessari sono sostanzialmente:

1. Costituzione di un gruppo di lavoro per la stesura e conduzione del progetto con connotati di salute pubblica.
2. Identificazione di una Autorità Sanitaria (per esempio una ATS) con giurisdizione su uno specifico territorio disponibile ad ospitare e facilitare lo studio rendendo disponibili le proprie strutture (medici e pediatri del territorio, medicina scolastica, strutture sanitarie).
3. Organizzazione della infrastruttura per la conduzione dello studio: esecuzione e raccolta dei prelievi, laboratorio per la misurazione degli autoanticorpi, analisi ed interpretazione dei dati; comunicazione dei risultati a cittadini e famiglie; definizione delle successive azioni.
4. Finanziamento del progetto per tutta la durata dello studio ed in prospettiva per la sua estensione ad altri territori.

Tutti questi presupposti appaiono al momento già disponibili o realisticamente conseguibili. Pertanto, possiamo affermare che il momento del cambio di passo, ovvero dell'avvio di campagne di screening nella popolazione generale (infantile, adolescenziale e adulta) per la identificazione di soggetti a rischio per diabete di tipo 1 è venuto e che l'avvio di progetti pilota su questo argomento debba essere perseguito.

BIBLIOGRAFIA

1. DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. *Lancet* 391: 2449-2462, 2018
2. Patterson CC, Harjutsalo V, Rosenbauer J, Neu A, Cinek O, Skrivarhaug T, Rami-Merhar B, Soltesz G, Svensson J, Parslow RC, Castell C, Schoenle EJ, Bingley PJ, Dahlquist G, Jarosz-Chobot PK, Marčilionytė D, Roche EF, Rothe U, Bratina N, Ionescu-Tirgoviste C, Weets I, Kocova M, Cherubini V, Rojnic Putarek N, deBeaufort CE, Samardzic M, Green A. Trends and cyclical variation in the incidence of childhood type 1 diabetes in 26 European centres in the 25 year period 1989-2013: a multicentre prospective registration study. *Diabetologia* 62: 408-417, 2019.
3. Mayer-Davis EJ, Lawrence JM, Dabelea D, Divers J, Isom S, Dolan L, Imperatore G, Linder B, Marcovina S, Pettitt DJ, Pihoker C, Saydah S, Wagenknecht L; SEARCH for Diabetes in Youth Study. Incidence trends of type 1 and type 2 diabetes among youths, 2002-2012. *N Engl J Med* 376: 1419-1429, 2017.
4. DIAMOND Project Group. Incidence and trends of childhood type 1 diabetes worldwide 1990-1999. *Diabet Med* 23: 857-866, 2006.
5. Bonifacio E. Predicting type 1 diabetes using biomarkers. *Diabetes Care* 38: 989-996, 2015.
6. Ziegler AG, Rewers M, Simell O, Simell T, Lempainen J, Steck A, Winkler C, Ilonen J, Veijola R, Knip M, Bonifacio E, Eisenbarth GS. Seroconversion to multiple islet autoantibodies and risk of progression to diabetes in children. *JAMA* 309: 2473-2479, 2013.
7. Insel RA, Dunne JL, Atkinson MA, Chiang JL, Dabelea D, Gottlieb PA, Greenbaum CJ, Herold KC, Krischer JP, Lernmark Å, Ratner RE, Rewers MJ, Schatz DA, Skyler JS, Sosenko JM, Ziegler AG. Staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRE, the Endocrine Society, and the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 38: 1964-1974, 2015.
8. Greenbaum CJ, Speake C, Krischer J, Buckner J, Gottlieb PA, Schatz DA, Herold KC, Atkinson MA. Strength in Numbers: Opportunities for Enhancing the Development of Effective Treatments for Type 1 Diabetes-The TrialNet Experience. *Diabetes* 67: 1216-1225, 2018.
9. Ziegler AG, Hoffmann GF, Hasford J, Larsson HE, Danne T, Berner R, Penno M, Korolova A, Dunne J, Bonifacio E. Screening for asymptomatic β -cell autoimmunity in young children. *Lancet Child Adolesc Health* 3: 288-290, 2019.
10. Raab J, Haupt F, Scholz M, Matzke C, Warncke K, Lange K, Assfalg R, Weininger K, Wittich S, Löbner S, Beyerlein A, Nennstiel-Ratzel U, Lang M, Laub O,

- Dunstheimer D, Bonifacio E, Achenbach P, Winkler C, Ziegler AG; Frida Study Group. Capillary blood islet autoantibody screening for identifying pre-type 1 diabetes in the general population: design and initial results of the Frida study. *BMJ Open* 18: e011144, 2016.
11. Skyler JS. Prevention and reversal of type 1 diabetes. Past challenges and future opportunities. *Diabetes Care* 38: 997-1007, 2015.
 12. Cherubini V, Grimsmann JM, Åkesson K, Birkebæk NH, Cinek O, Dovč K, Gesuita R, Gregory JW, Hanas R, Hofer SE, Holl RW, Jefferies C, Joner G, King BR, Mayer-Davis EJ, Peña AS, Rami-Merhar B, Schierloh U, Skrivarhaug T, Sumnik Z, Svensson J, Warner JT, Bratina N, Dabelea D. Temporal trends in diabetic ketoacidosis at diagnosis of paediatric type 1 diabetes between 2006 and 2016: results from 13 countries in three continents. *Diabetologia* 63:1530-1541, 2020.
 13. Umpierrez G, Korytkowski M. Diabetic emergencies - ketoacidosis, hyperglycaemic hyperosmolar state and hypoglycaemia. *Nat Rev Endocrinol* 12: 222-232, 2016.
 14. Bui H, To T, Stein R, Fung K, Daneman D. Is diabetic ketoacidosis at disease onset a result of missed diagnosis? *J Pediatr* 156: 472-477, 2010.
 15. Fredheim S, Johannesen J, Johansen A, Lyngsøe L, Rida H, Andersen ML, Lauridsen MH, Hertz B, Birkebæk NH, Olsen B, Mortensen HB, Svensson J; Danish Society for Diabetes in Childhood and Adolescence. Diabetic ketoacidosis at the onset of type 1 diabetes is associated with future HbA1c levels. *Diabetologia* 56: 995-1003, 2013.
 16. Duca LM, Wang B, Rewers M, Rewers A. Diabetic Ketoacidosis at Diagnosis of Type 1 Diabetes Predicts Poor Long-term Glycemic Control. *Diabetes Care* 40: 1249-1255, 2017.
 17. Shalitin S, Fisher S, Yackbovitch-Gavan M, de Vries L, Lazar L, Lebenthal Y, Phillip M. Ketoacidosis at onset of type 1 diabetes is a predictor of long-term glycemic control. *Pediatr Diabetes* 19: 320-328, 2018.
 18. Duca LM, Reboussin BA, Pihoker C, Imperatore G, Saydah S, Mayer-Davis E, Rewers A, Dabelea D. Diabetic ketoacidosis at diagnosis of type 1 diabetes and glycemic control over time: The SEARCH for diabetes in youth study. *Pediatr Diabetes* 20: 172-179, 2019.
 19. Semenkovich K, Bischoff A, Doty T, Nelson S, Siller AF, Hershey T, Arbeláez AM. Clinical presentation and memory function in youth with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 17: 492-499, 2016.
 20. Cameron FJ, Scratch SE, Nadebaum C, Northam EA, Koves I, Jennings J, Finney K, Neil JJ, Wellard RM, Mackay M, Inder TE; DKA Brain Injury Study Group. Neurological consequences of diabetic ketoacidosis at initial presentation of type 1 diabetes in a prospective cohort study of children. *Diabetes Care* 37: 1554-1562, 2014.
 21. Aye T, Mazaika PK, Mauras N, Marzelli MJ, Shen H, Hershey T, Cato A, Weinzimer SA, White NH, Tsalkian E, Jo B, Reiss AL; Diabetes Research in Children Network (DirecNet) Study Group. Impact of Early Diabetic Ketoacidosis on the Developing Brain. *Diabetes Care* 42: 443-449, 2019.
 22. Elding Larsson H, Vehik K, Bell R, Dabelea D, Dolan L, Pihoker C, Knip M, Veijola R, Lindblad B, Samuelsson U, Holl R, Haller MJ; TEDDY Study Group; SEARCH Study Group; Swediabkids Study Group; DPV Study Group; Finnish Diabetes Registry Study Group. Reduced prevalence of diabetic ketoacidosis at diagnosis of type 1 diabetes in young children participating in longitudinal follow-up. *Diabetes Care* 34: 2347-2352, 2011.
 23. Winkler C, Schober E, Ziegler AG, Holl RW. Markedly reduced rate of diabetic ketoacidosis at onset of type 1 diabetes in relatives screened for islet autoantibodies. *Pediatr Diabetes* 13: 308-313, 2012.
 24. Barker JM, Goehrig SH, Barriga K, Hoffman M, Slover R, Eisenbarth GS, Norris JM, Klingensmith GJ, Rewers M; DAISY study. Clinical characteristics of children diagnosed with type 1 diabetes through intensive screening and follow-up. *Diabetes Care* 27: 1399-1404, 2004.
 25. Saydah SH, Shrestha SS, Zhang P, Zhou X, Imperatore G. Medical Costs Among Youth Younger Than 20 Years of Age With and Without Diabetic Ketoacidosis at the Time of Diabetes Diagnosis. *Diabetes Care* 42: 2256-2261, 2019.
 26. Meehan C, Fout B, Ashcraft J, Schatz DA, Haller MJ. Screening for T1D risk to reduce DKA is not economically viable. *Pediatr Diabetes* 16: 565-572, 2015.
 27. McQueen RB, Geno Rasmussen C, Waugh K, Frohnert BI, Steck AK, Yu L, Baxter J, Rewers M. Cost and Cost-

- Effectiveness of Large-Scale Screening for Type 1 Diabetes in Colorado. *Diabetes Care* 43: 1496-1503, 2020.
28. Knip M, Åkerblom HK, Becker D, Dosch HM, Dupre J, Fraser W, Howard N, Ilonen J, Krischer JP, Kordonouri O, Lawson ML, Palmer JP, Savilahti E, Vaarala O, Virtanen SM; TRIGR Study Group. Hydrolyzed infant formula and early β -cell autoimmunity: a randomized clinical trial. *JAMA* 311: 2279-2287, 2014.
 29. Hummel S, Pflüger M, Hummel M, Bonifacio E, Ziegler AG. Primary dietary intervention study to reduce the risk of islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes: the BABYDIET study. *Diabetes Care* 34: 1301-1305, 2011.
 30. Bonifacio E, Ziegler AG, Klingensmith G, Schober E, Bingley PJ, Rottenkolber M, Theil A, Eugster A, Puff R, Peplow C, Buettner F, Lange K, Hasford J, Achenbach P; Pre-POINT Study Group. Effects of high-dose oral insulin on immune responses in children at high risk for type 1 diabetes: the Pre-POINT randomized clinical trial. *JAMA* 313: 1541-1549, 2015.
 31. Ziegler AG, Danne T, Dunger DB, Berner R, Puff R, Kiess W, Agiostratidou G, Todd JA, Bonifacio E. Primary prevention of beta-cell autoimmunity and type 1 diabetes - The Global Platform for the Prevention of Autoimmune Diabetes (GPPAD) perspectives. *Mol Metab* 5: 255-262, 2016.
 32. Diabetes Prevention Trial-Type 1 Diabetes Study Group. Effects of insulin in relatives of patients with type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 346: 1685-1691, 2002.
 33. The Diabetes Prevention Trial-Type 1 Study Group. Effects of oral insulin in relatives of patients with type 1 diabetes: The Diabetes Prevention Trial-Type 1. *Diabetes Care* 28: 1068-1076, 2005.
 34. Writing Committee for the Type 1 Diabetes TrialNet Oral Insulin Study Group, Krischer JP, Schatz DA, Bundy B, Skyler JS, Greenbaum CJ. Effect of Oral Insulin on Prevention of Diabetes in Relatives of Patients With Type 1 Diabetes: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 318: 1891-1902, 2017.
 35. Herold KC, Gitelman SE, Masharani U, Hagopian W, Bisikirska B, Donaldson D, Rother K, Diamond B, Harlan DM, Bluestone JA. A single course of anti-CD3 monoclonal antibody hOKT3 γ 1 (Ala-Ala) results in improvement in C-peptide responses and clinical parameters for at least 2 years after onset of type 1 diabetes. *Diabetes* 54: 1763-1769, 2005.
 36. Keymeulen B, Vandemeulebroucke E, Ziegler AG, Mathieu C, Kaufman L, Hale G, Gorus F, Goldman M, Walter M, Candon S, Schandene L, Crenier L, De Block C, Seigneurin JM, De Pauw P, Pierard D, Weets I, Rebello P, Bird P, Berrie E, Frewin M, Waldmann H, Bach JF, Pipeleers D, Chatenoud L. Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. *N Engl J Med* 352: 2598-2608, 2005.
 37. Pescovitz MD, Greenbaum CJ, Krause-Steinrauf H, Becker DJ, Gitelman SE, Goland R, Gottlieb PA, Marks JB, McGee PE, Moran AM, Raskin P, Rodriguez H, Schatz DA, Wherrett D, Wilson DM, Lachin JM, Skyler JS. Rituximab, B-lymphocyte depletion, and preservation of beta-cell function. *N Engl J Med* 361: 2143-2152, 2009.
 38. Orban T, Bundy B, Becker DJ, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R, Gottlieb PA, Greenbaum CJ, Marks JB, Monzavi R, Moran A, Raskin P, Rodriguez H, Russell WE, Schatz D, Wherrett D, Wilson DM, Krischer JP, Skyler JS; Type 1 Diabetes TrialNet Abatacept Study Group. Costimulation modulation with abatacept in patients with recent-onset type 1 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 378: 412-419, 2011.
 39. Haller MJ, Long SA, Blanchfield JL, Schatz DA, Skyler JS, Krischer JP, Bundy BN, Geyer SM, Warnock MV, Miller JL, Atkinson MA, Becker DJ, Baidal DA, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R, Gottlieb PA, Herold KC, Marks JB, Moran A, Rodriguez H, Russell WE, Wilson DM, Greenbaum CJ; Type 1 Diabetes TrialNet ATG-GCSF Study Group. Low-Dose Anti-Thymocyte Globulin Preserves C-Peptide, Reduces HbA1c, and Increases Regulatory to Conventional T-Cell Ratios in New-Onset Type 1 Diabetes: Two-Year Clinical Trial Data. *Diabetes* 68: 1267-1276, 2019.
 40. Herold KC, Bundy BN, Long SA, Bluestone JA, DiMeglio LA, Dufort MJ, Gitelman SE, Gottlieb PA, Krischer JP, Linsley PS, Marks JB, Moore W, Moran A, Rodriguez H, Russell WE, Schatz D, Skyler JS, Tsalikian E, Wherrett DK, Ziegler AG, Greenbaum CJ; Type 1 Diabetes TrialNet Study Group. An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* 381: 603-613, 2019.

41. Perdigoto AL, Preston-Hurlburt P, Clark P, Long SA, Linsley PS, Harris KM, Gitelman SE, Greenbaum CJ, Gottlieb PA, Hagopian W, Woodwyk A, Dziura J, Herold KC; Immune Tolerance Network. Treatment of type 1 diabetes with teplizumab: clinical and immunological follow-up after 7 years from diagnosis. *Diabetologia* 62: 655-664, 2019.
42. Bonifacio E, Yu L, Williams AK, Eisenbarth GS, Bingley PJ, Marcovina SM, Adler K, Ziegler AG, Mueller PW, Schatz DA, Krischer JP, Steffes MW, Akolkar B. Harmonization of glutamic acid decarboxylase and islet antigen-2 autoantibody assays for national institute of diabetes and digestive and kidney diseases consortia. *J Clin Endocrinol Metab* 95: 3360-3367, 2010.
43. Schlosser M, Mueller PW, Törn C, Bonifacio E, Bingley PJ; Participating Laboratories. Diabetes Antibody Standardization Program: evaluation of assays for insulin autoantibodies. *Diabetologia* 53: 2611-2620, 2010.
44. Törn C, Mueller PW, Schlosser M, Bonifacio E, Bingley PJ; Participating Laboratories. Diabetes Antibody Standardization Program: evaluation of assays for autoantibodies to glutamic acid decarboxylase and islet antigen-2. *Diabetologia* 51: 846-852, 2008.
45. Lampasona V, Schlosser M, Mueller PW, Williams AJ, Wenzlau JM, Hutton JC, Achenbach P. Diabetes antibody standardization program: first proficiency evaluation of assays for autoantibodies to zinc transporter 8. *Clin Chem* 57: 1693-1702, 2011.
46. Lampasona V, Pittman DL, Williams AJ, Achenbach P, Schlosser M, Akolkar B, Winter WE; Participating Laboratories. Islet Autoantibody Standardization Program 2018 Workshop: Interlaboratory Comparison of Glutamic Acid Decarboxylase Autoantibody Assay Performance. *Clin Chem* 65: 1141-1152, 2019.
47. Bazzigaluppi E, Bonfanti R, Bingley P, Bosi E, Bonifacio E. Capillary Whole Blood Measurement of Islet Autoantibodies. *Diabetes Care* 22: 275-279, 1999.
48. Liu Y, Rafkin LE, Matheson D, Henderson C, Boulware D, Besser REJ, Ferrara C, Yu L, Steck AK, Bingley PJ; Type 1 Diabetes TrialNet Study Group. Use of self-collected capillary blood samples for islet autoantibody screening in relatives: a feasibility and acceptability study. *Diabet Med* 34: 934-937, 2017.
49. Amoroso M, Achenbach P, Powell M, Coles R, Chlebowska M, Carr L, Furmaniak J, Scholz M, Bonifacio E, Ziegler AG, Rees Smith B. 3 Screen islet cell autoantibody ELISA: A sensitive and specific ELISA for the combined measurement of autoantibodies to GAD65, to IA-2 and to ZnT8. *Clin Chim Acta* 462: 60-64, 2016.
50. Ziegler AG, Haupt F, Scholz M, Weininger K, Wittich S, Löbner S, Matzke C, Gezginici C, Riethausen S, Beyerlein A, Zillmer S, Amoroso M, Coles R, Powell M, Furmaniak J, Smith BR, Winkler C, Bonifacio E, Achenbach P. 3 Screen ELISA for High-Throughput Detection of Beta Cell Autoantibodies in Capillary Blood. *Diabetes Technol Ther* 18: 687-693, 2016.
51. Pastore MR, Bazzigaluppi E, Bonfanti R, Dozio N, Sergi A, Balini A, Belloni C, Meschi F, Bonifacio E, Bosi E. Two-step islet autoantibody screening for risk assessment of type 1 diabetes in relatives. *Diabetes Care* 21: 1445-1450, 1998.
52. Tenconi MT, Devoti G, Rizzo M, Roncarolo F, Bernasconi A, Lanati N, Calcaterra V, Songini M, Locatelli M, Bottazzo GF. Type 1 diabetes risk and autoantibody positivity in Sardinian migrants in the province of Pavia. *N Am J Med Sci* 1: 48-53, 2009.
53. Velluzzi F, Secci G, Sepe V, Klersy C, Shattock M, Foxon R, Songini M, Mariotti S, Locatelli M, Bottazzo GF, Loviselli A; Sardinian Autoimmunity Study Group. Prediction of type 1 diabetes in Sardinian schoolchildren using islet cell autoantibodies: 10-year follow-up of the Sardinian schoolchildren type 1 diabetes prediction study. *Acta Diabetol* 53: 73-79, 2016.
54. Thorley J. Chantal Mathieu: coordinating networks to tackle type 1 diabetes. *Lancet Diabetes Endocrinol* 8: 476, 2020.
55. Ziegler AG, Kick K, Bonifacio E, Haupt F, Hippich M, Dunstheimer D, Lang M, Laub O, Warncke K, Lange K, Assfalg R, Jolink M, Winkler C, Achenbach P; Frida Study Group. Yield of a Public Health Screening of Children for Islet Autoantibodies in Bavaria, Germany. *JAMA* 323: 339-351, 2020.