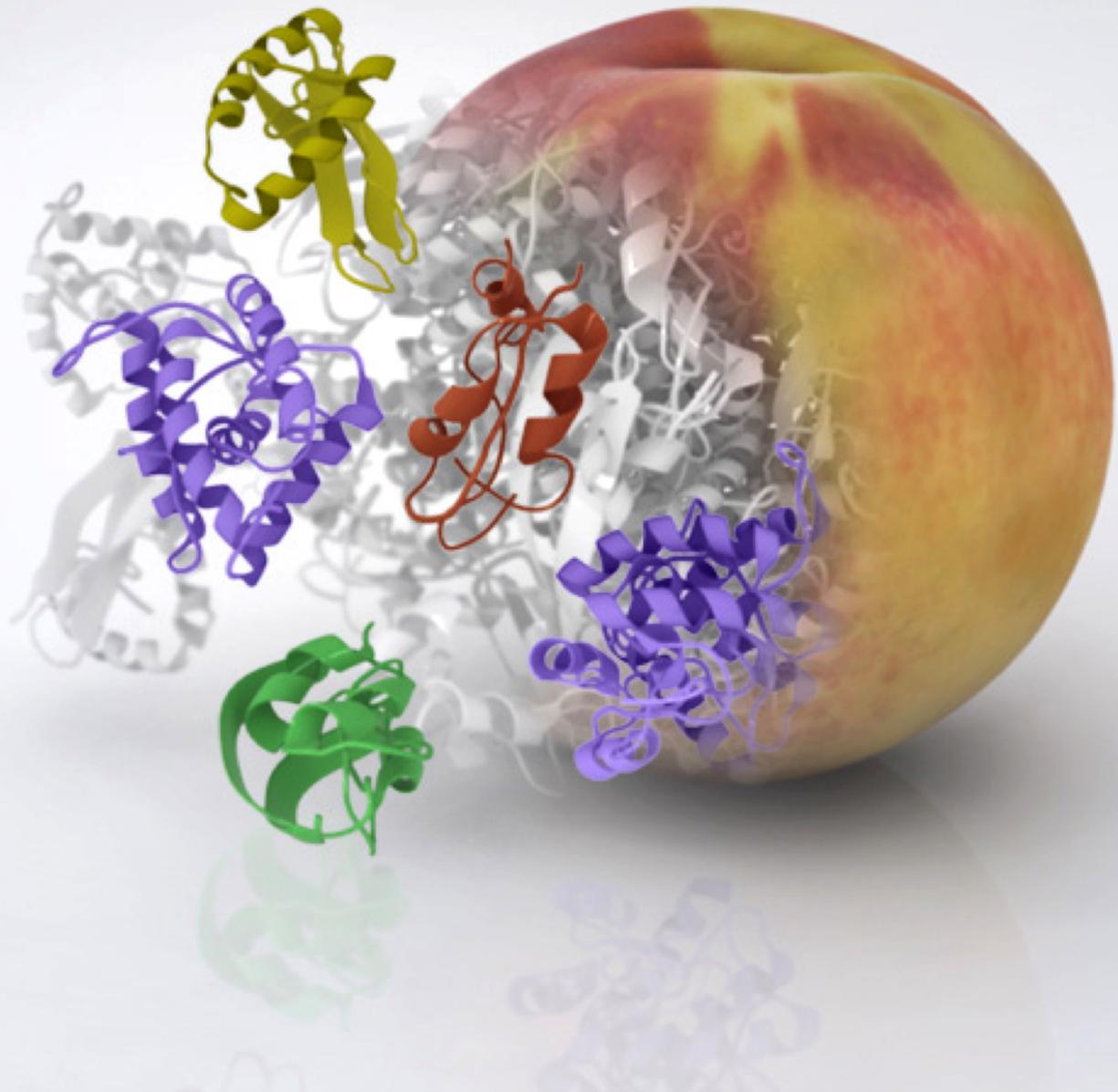


EUSTACHIO NINO NETTIS

CATERINA FOTI

ELISABETTA DI LEO

GIORGIO WALTER CANONICA



**LA DIAGNOSTICA MOLECOLARE
IN DERMATOLOGIA:
A COSA SERVE E COME SI UTILIZZA**

Eustachio Nino Nettis

Caterina Foti

Elisabetta Di Leo

Giorgio Walter Canonica

**LA DIAGNOSTICA MOLECOLARE
IN DERMATOLOGIA:
A COSA SERVE E COME SI UTILIZZA**

AUTORI

Prof. Eustachio Nettis

Centro di Riferimento Regionale per le Malattie Allergiche ed Immunologiche
Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico di Bari

Prof.ssa Caterina Foti

Direttore Clinica Dermatologica
Università degli Studi di Bari

Dott.ssa Elisabetta Di Leo

Ospedale Regionale Ente Ecclesiastico "F. Miulli"
Acquaviva delle Fonti (BA)

Prof. Giorgio Walter Canonica

Professor of Respiratory Diseases
Humanitas University
Head Personalized Medicine Clinic Asthma & Allergy
Humanitas Research Hospital Rozzano, Milan

Prof. Antonio Cristaudo

Responsabile Dermatologia allergologica ambientale e professionale
Istituto Dermatologico San Gallicano di Roma

Prof. Gianni Melioli

Clinica della malattie respiratorie ed allergiche
Dipartimento di Medicina Interna
Università di Genova

Prof. Daniele Paolo Pigatto

Professore Associato di Dermatologia - Dipartimento di Scienze Biomediche,
Chirurgiche e Odontoiatriche Università degli Studi di Milano e Ospedale IRCCS
Galeazzi

D.ssa Eleonora Savi

Direttore dell'Unità operativa Dipartimentale di Allergologia
Ospedale "Guglielmo da Saliceto" AUSL di Piacenza

Prof. Luca Stingeni

Direttore Sezione di Dermatologia Clinica, Allergologica e Venereologica,
Dipartimento di Medicina, Università di Perugia

Dr Giovanni Maria Traina

Unità Operativa di Pediatria e Neonatologia di Garbagnate Milanese
- Allergologia - ASST Rhodense (Milano)

D.ssa Marina Ambrifi

Contrattista Dermatologia allergologica ambientale e professionale
Istituto Dermatologico San Gallicano di Roma

Dr Leonardo Bianchi

Sezione di Dermatologia Clinica, Allergologica e Venereologica, Dipartimento di
Medicina, Università di Perugia

D.ssa Agostina Legori

Dipartimento di Scienze Biomediche,
Chirurgiche e Odontoiatriche Università degli Studi di Milano e Ospedale IRCCS
Galeazzi

D.ssa Maria Teresa Liuzzo

U.O. Allergologia ed Immunologia clinica
Policlinico universitario di Catania

Dr Marcello Montagni

Unità operativa Dipartimentale di Allergologia
Ospedale "Guglielmo da Saliceto" AUSL di Piacenza

D.ssa Silvia Peveri

Unità operativa Dipartimentale di Allergologia
Ospedale "Guglielmo da Saliceto" AUSL di Piacenza

Dr Paolo Romita

Specializzando in Dermatologia e Venereologia - Università degli Studi di Bari

PREFAZIONE

Questo manuale, lungi dall'essere un semplice concentrato di informazioni, si propone di fornire agli specialisti del settore uno strumento pratico che consenta un approfondimento utile nell'orientamento diagnostico delle patologie allergiche.

Ampio spazio è stato dedicato ai protocolli diagnostici che, in questo volume, vengono resi di facile e pratica consultazione anche per chi non possiede una sufficiente esperienza nell'affascinante ed ormai insostituibile diagnostica molecolare.

Sarete voi specialisti a giudicare la riuscita di questo difficile compito.

GLOSSARIOpag. 8

CAPITOLO I

- Principali famiglie di proteine allergeniche responsabili di allergie cutaneepag. 12

CAPITOLO II

- Valutazione del rischio di reazioni sistemichepag. 19

CAPITOLO III

- Malattie allergiche cutanee in cui si utilizza la diagnostica molecolarepag. 21

CAPITOLO IV

- Come richiedere le componenti allergeniche che rientrano nella diagnostica molecolarepag. 34

BIBLIOGRAFIApag. 39

GLOSSARIO

Allergene cross-reattivo o panallergene: componente allergenica responsabile di reattività crociata o cross-reattività. È presente in forma omologa (simile) in fonti allergeniche tra loro anche non imparentate (Figura 1)

Allergene genuino o specie-specifico: rappresenta l'allergene responsabile della sensibilizzazione specifica primaria e quindi genuina (esclusiva) nei confronti della sua fonte allergenica corrispondente. È il vero marcatore della fonte allergenica (esempio: Cup a 1 è la proteina marcatrice dell'allergia al polline del cipresso) (Figura 1).

Allergeni maggiori: sono definiti così quegli allergeni che sono in grado di legarsi alle IgE almeno nel 50% dei pazienti affetti dalla stessa allergia, in altre parole, la maggior parte dei pazienti (più del 50%) con la stessa allergia è sensibilizzata all'allergene in questione.

Allergene primario: rappresenta la molecola allergenica che ha indotto originariamente la sensibilizzazione.

Allergia IgE-mediata: presenza nel sangue di anticorpi IgE allergene-specifici in paziente con sintomatologia correlata alla positività IgE-specifica riscontrata.

Component Resolved Diagnosis (CRD): profilo di reattività di un soggetto sensibilizzato per singole componenti allergeniche.

Co-sensibilizzazione: sensibilizzazione genuina/primaria nei confronti di più proteine allergeniche specifiche presenti nelle singole fonti allergeniche.

Cross-reattività: rappresenta il fenomeno di riconoscimento, da parte di un anticorpo IgE, nei confronti di molecole allergeniche simili (omologhe) presenti in diverse sorgenti allergeniche. Ciò è possibile se tali molecole presentano una omologia strutturale nella struttura primaria delle proteine. È possibile riscontrare una cross-reattività IgE-mediata tra:

- molecole allergeniche appartenenti a specie strettamente correlate tra loro (ad esempio tra gli allergeni delle diverse graminacee);
- molecole presenti in forma altamente conservata, dotate di simile funzionalità e rilevate in varie specie non imparentate ma appartenenti alla stessa famiglia di proteine: ad esempio un soggetto sensibilizzato verso la tropomiosina degli acari (Der p 10), presenta reattività con la tropomiosina dei gamberetti (Pen a 1).

Epitopo o determinante antigenico: sequenza aminoacidica di una proteina corrispondente alla porzione di allergene in grado di legare uno specifico anticorpo (ad esempio le IgE). Ogni allergene può presentare un elevato numero di determinanti antigenici o epitopi.

Estratto allergenico: miscela non frazionata di proteine allergeniche e non, polisaccaridi e lipidi ottenuti dall'estrazione di una fonte allergenica (ad esempio: caseina del latte, albume dell'uovo). Utilizzati per lo Skin Prick Test, indagine allergologica di primo livello, e per il RAST (dosaggio delle IgE specifiche in vitro) (Figura 1).

Fonte allergenica: rappresenta il contenitore degli allergeni: alimenti, particelle, tessuti o organismi in grado di indurre allergia (ad esempio: gatto, latte, uovo, miceti, pollini, ecc.) (Figura 1).

ImmunoCAP metodo Singleplex: dosaggio quantitativo delle IgE specifiche per singole molecole allergeniche purificate, naturali o ricombinanti.

ISAC (Immuno Solid-phase Allergen Chip) metodo Multiplex: costituisce il primo esempio di test multiplo, microarray, per la valutazione simultanea delle IgE specifiche per molecole allergeniche purificate, naturali o

ricombinanti. Attualmente con tale metodica è possibile testare, utilizzando una minima quantità di siero (30 µl), 112 allergeni provenienti da varie fonti allergeniche. Il legame antigene-anticorpo tra le IgE specifiche presenti nel siero del paziente e gli antigeni coniugati a una fase solida posta su un vetrino (microchip) viene evidenziato attraverso anticorpi anti-IgE umane fluorescenti.

La fluorescenza quindi, misurata da uno scanner e analizzata da un software, fornisce i risultati del test (in funzione dell'intensità di fluorescenza rilevata su ogni singolo spot) in forma di classi ISAC (assente-basso-medio-alto) e unità ISU (acronimo di ISAC Standardized Units), restituendo una determinazione delle IgE di tipo semiquantitativo.

Molecola allergenica o allergene: è una molecola ottenuta dalla fonte allergenica che è riconosciuta da anticorpi sierici di tipo IgE. L'allergene può essere nativo (o allergene purificato) se viene isolato da una fonte allergenica naturale oppure può essere ottenuto attraverso la tecnica del DNA ricombinante e in tal caso sarà definito allergene ricombinante. Le molecole ricombinanti sono in grado di mantenere l'attività biologica, nonché la struttura antigenica della molecola nativa (Figura 1).

Nomenclatura degli allergeni molecolari: le prime tre lettere indicano il genere, seguite da una singola lettera per la specie e infine da un numero indicante l'ordine cronologico di purificazione e identificazione dell'allergene: esempio *Ani s1*, *Ani* (genere: *Anisakis*) *s* (specie: *simplex*) 1 (ordine cronologico di purificazione e registrazione). La lista delle molecole è costantemente aggiornata ed è disponibile in diversi database, ad esempio in WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub - Committee (<http://www.allergen.org>).

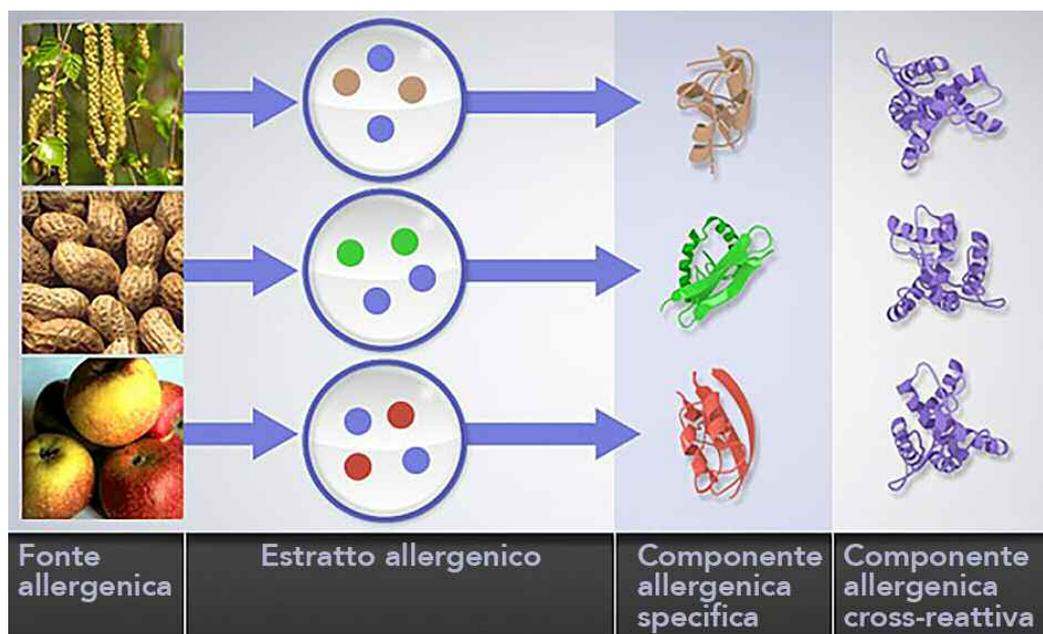
PRIST (*Paper RadioImmunoSorbent Test*): indagine allergologica in vitro mirata al dosaggio delle IgE totali sieriche.

RAST (*RadioAllergoSorbent Test*): indagine diagnostica allergologica in vitro di secondo livello mirata al dosaggio delle IgE specifiche verso un determinato estratto allergenico.

Sensibilizzazione: presenza nel sangue di anticorpi IgE allergene-specifici che possono riscontrarsi in presenza o assenza di sintomatologia clinica.

Stabilità degli allergeni: Il calore (e quindi la cottura dei cibi) oppure l'azione di enzimi proteolitici e il pH acido (ovvero i processi digestivi) possono indurre delle modificazioni nelle molecole allergeniche determinando una perdita degli epitopi conformazionali riducendo conseguentemente l'allergenicità delle stesse. Gli allergeni sono considerati labili o stabili in relazione alla loro sensibilità o meno a tali fattori.

Figura 1



CAPITOLO I

PRINCIPALI FAMIGLIE DI MOLECOLE ALLERGENICHE RESPONSABILI DI ALLERGIE CUTANEE

Le molecole allergeniche appartengono a circa 120 differenti famiglie proteiche, pur tuttavia la quasi totalità degli allergeni responsabili di reazioni allergiche cutanee è confinata solo ad alcune famiglie proteiche. Gli allergeni appartenenti a ciascuna famiglia proteica hanno in comune un ristretto numero di funzioni biologiche e presentano omologia (similarità) strutturale di vario grado tra di loro. Questo spiega la cross-reattività tra gli allergeni appartenenti ad una stessa famiglia (Tabella 1).

Tabella 1. *Principali famiglie di allergeni responsabili di allergie cutanee*

Profiline
Proteine di patogenesi-10 (PR-10) (omologhi di Bet v 1)
LTPs (Lipid Transfer Proteins o proteine di trasporto dei lipidi)
Storage proteins o proteine di deposito dei semi
Tropomiosine
Parvalbumine
Determinanti Carboidratici Cross-reattivi (CCD)

- **Profiline:** proteine labili al calore e alla digestione acida gastrica. Sono presenti in quasi tutti i pollini (che si ritiene siano i sensibilizzanti primari), in frutta, verdura, lattice e spezie. Le profiline posseggono una elevata omologia e cross-reattività anche fra molecole appartenenti a specie di piante e alimenti non strettamente correlati. Le profiline contenute in alimenti generalmente causano, in soggetti allergici, la Sindrome Orale Allergica con sintomi locali ristretti alla cavità oro-faringea. Spesso sono tollerate se gli alimenti vengono cucinati o processati (succhi di frutta, marmellate). Tuttavia,

eccezionalmente, sono possibili reazioni severe se la quantità dell'allergene supera le capacità digestive degli enzimi presenti a livello gastrointestinale, in pazienti in terapia con inibitori di pompa protonica o se sono presenti fattori di rischio per reazioni gravi. Markers clinici di ipersensibilità alla profilina sono le allergie a melone, agrumi, anguria, banana e/o pomodoro, una volta esclusa l'allergia al lattice. Gli alimenti maggiormente a rischio di Sindrome Orale Allergica che contengono profiline sono: agrumi, pomodoro, banana, melone, patata, carota, sedano, grano saraceno e paprica. Il livello sierico delle IgE per profiline correla con l'espressione dei sintomi clinici. Si tenga presente che i dosaggi di IgE specifiche (RAST) con profili di ampia positività di sensibilizzazione a molteplici allergeni possono essere dovuti a presenza di IgE anti-profiline.

Tabella 2. Profiline che possiamo richiedere contenute in alcune fonti allergeniche (il riscontro di positività ad almeno una di esse impone la richiesta delle IgE specifiche delle rimanenti componenti molecolari della stessa famiglia per possibile cross-reattività tra di esse):

Bet v 2	(Betulla)
Phl p 12	(Phleum pratense)
Pru p 4 *	(Pesca)
Hev b 8	(Lattice)

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

1.1 Proteine di patogenesi-10 (PR-10 = Pathogenesis Related proteins 10):

proteine relativamente labili al calore e alla digestione acida gastrica (omologhi di Bet v 1). Pertanto, i cibi cotti o processati (succhi di frutta e marmellate) sono quasi sempre tollerati. La sintomatologia che ne deriva è solitamente lieve e caratterizzata da sintomi locali, come avviene nella Sindrome Orale Allergica. Fa eccezione Gly m 4, proteina PR-10 della soia, che può, invece, provocare anche reazioni sistemiche.

Il marker di sensibilizzazione alle proteine di patogenesi-10 è rappresentato dall'allergene Bet v 1, allergene maggiore del polline della betulla, presente in forma omologa (simile) in numerosi alimenti. I soggetti con IgE specifiche per Bet v 1 possono avere reazioni cutanee da alimenti, più frequentemente con nocciola e Rosaceae (Tabella 3) (soprattutto mela) e meno frequentemente con sedano, carota e finocchio.

I livelli di IgE per Bet v 1 correlano con il rischio di reazione ad alimenti contenenti PR-10, in particolare per sedano/carota e soia/arachide, e correlano con la comparsa di sintomi severi da ingestione di soia.

Tabella 3. Proteine di patogenesi-10 (PR-10) che possiamo richiedere contenute in alcune fonti allergeniche (il riscontro di positività ad almeno una di esse impone la richiesta delle IgE specifiche delle rimanenti componenti molecolari della stessa famiglia per possibile cross-reattività tra di esse):

Bet v 1	(Betulla)
Cor a 1	(Nocciola)
Pru p 1	(Pesca)
Mal d 1	(Mela)
Api g 1	(Sedano)
Act d 8	(Kiwi)
Ara h 8	(Arachide)
Gly m 4	(Soia)

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

2.1 LTPs (Lipid Transfer Proteins o proteine di trasporto dei lipidi):

proteine termostabili e gastroresistenti. Sono contenute soprattutto nella buccia della frutta piuttosto che nella polpa. Pesca, mela, Rosaceae, noce, nocciola e arachide sono gli alimenti che più spesso sono responsabili di sintomi nei soggetti allergici.

Le reazioni allergiche possono essere sistemiche, ma più spesso sono rappresentate dalla Sindrome Orale Allergica dopo ingestione di alimenti crudi, cotti o processati (succhi di frutta e marmellate). Tuttavia la maggior parte dei pazienti sensibilizzati alle LTPs è asintomatica. Il concomitante esercizio fisico, la somministrazione di alcool o di FANS e il digiuno inducono sintomi più severi. Pru p 3 è il marker più significativo di sensibilizzazione alle LTPs. I Livelli di IgE per Pru p 3 correlano con il rischio di reazioni sistemiche alla pesca e con il rischio di reazioni sistemiche con LTPs di alimenti non appartenenti alle *Rosaceae* (in maniera significativa con noce, nocciola, arachide).

Tabella 4. LTPs (Lipid Transfer Proteins) che possiamo richiedere contenute in alcuni alimenti vegetali (il riscontro di positività ad almeno una di esse impone la richiesta delle IgE specifiche delle rimanenti componenti molecolari della stessa famiglia per possibile cross-reattività tra di esse):

Ara h 9	(Arachide)
Cor a 8	(Nocciola)
Pru p 3	(Pesca)
Mal d 3*	(Mela)
Jug r 3	(Noce)
Tri a 14	(Grano)

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

3.1 Storage proteins o proteine di deposito dei semi: proteine stabili al calore e alla digestione. Sono contenute particolarmente in frutta a guscio e semi e spiegano la cross-reattività tra questi alimenti (arachidi, noci e semi). Sono responsabili di reazioni sistemiche, anche gravi, nei soggetti allergici agli alimenti crudi, cotti o processati che le contengono. Il rischio di sviluppare sintomi è correlato con i livelli di IgE specifiche e la severità dei sintomi pare essere correlata con la co-sensibilizzazione a proteine di deposito diverse.

Tabella 5. Storage proteins o Proteine di deposito dei semi che possiamo richiedere contenute in alcuni alimenti (il riscontro di positività ad almeno una di esse impone la richiesta delle IgE specifiche delle rimanenti componenti molecolari della stessa famiglia per possibile cross-reattività tra di esse):

Ara h 1	(Arachide)
Ara h 2	(Arachide)
Ara h 3	(Arachide)
Ara h 6**	(Arachide)
Cor a 9	(Nocciola)
Cor a 14*	(Nocciola)
Jug r 1	(Noce)
Jug r 2 **	(Noce)
Ses i 1**	(Sesamo)
Ana o 2**	(Anacardio)
Ana o 3*	(Anacardio)
Ber e 1	(Noce brasiliana)
Fag e 2**	(Grano saraceno)
Gly m 5	(Soia)
Gly m 6	(Soia)
Tri a 19	(Grano)

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

4.1 Tropomiosine: proteine termostabili e gastroresistenti.

Sono gli allergeni maggiori dei crostacei e dei molluschi e marker di cross-reattività tra diverse specie di crostacei, acari e invertebrati. Sono responsabili soprattutto di reazioni sistemiche da ingestione di alimenti crudi o cotti. Pen a 1 e Pen m 1 sono i markers di sensibilizzazione.

La presenza di Pen a 1 o Pen m 1, tropomiosine del gambero, in soggetti con reazioni da ingestione di gamberi, rappresenta un fattore di rischio per manifestazioni cliniche ad alimenti contenenti

tropomiosine (gamberetti, scampi, granchi, astice, aragosta, lumache, ostriche, calamari, seppie, *Anisakis simplex*).

Tabella 6. Tropomiosine che possiamo richiedere contenute in alcune fonti allergeniche (il riscontro di positività ad almeno una di esse impone la richiesta delle IgE specifiche delle rimanenti componenti molecolari della stessa famiglia per possibile cross-reattività tra di esse):

Pen a 1 * , Pen m 1 **	(Varie specie di gamberi)
Ani s 3 **	(<i>Anisakis simplex</i>)
Der p 10	(<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>)

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

5.1 Parvalbumine: proteine stabili al calore e alla digestione. Rappresentano gli allergeni maggiori dei pesci e sono markers di cross-reattività tra diverse specie di pesce. Il merluzzo, il salmone e l'aringa condividono determinanti antigenici e allergenici, mentre il tonno, lo sgombro e la passera di mare mostrano una minore cross-reattività. In pazienti allergici al pesce, la presenza di parvalbumine è prognostica di possibili reazioni sistemiche dopo ingestione dell'alimento sia crudo che cotto.

Tabella 7. Parvalbumine che possiamo richiedere (il riscontro di positività a una di esse impone la richiesta delle IgE specifiche della rimanente componente molecolare della stessa famiglia per possibile cross-reattività tra di esse):

Gad c 1	(Merluzzo)
Cyp c 1*	(Carpa)

Legenda.

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

6.1 Determinanti Carboidratici Cross-reattivi (CCD): Molte proteine dei pollini, delle piante e dei veleni di insetti sono in realtà glicoproteine la cui struttura carboidratica è meglio conosciuta come CCD. Godono di un ampio spettro di cross-reattività. In soggetti sensibilizzati è possibile riscontrare IgE specifiche in vitro (RAST) verso numerosissimi allergeni contenenti CCD presenti nei pollini, alimenti vegetali, invertebrati, veleni d'imenotteri e lattice. Infatti, profili di positività di sensibilizzazione a molteplici allergeni, dimostrabili attraverso il dosaggio delle IgE specifiche in vitro (RAST), sono dovuti a presenza di IgE anti-CCD.

La sensibilizzazione non è quasi mai accompagnata da sintomi clinici, ma sembra responsabile di reazioni anche severe in una piccola minorità di pazienti (per zuccina, sedano e pomodoro).

Tabella 8. CCD (Determinanti Carboidratici Cross-reattivi) che possiamo richiedere contenuti in inalanti, alimenti, lattice e veleno di imenotteri:

Ana c 2*
MUXF3

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

**: presente solo in ISAC

CAPITOLO II

VALUTAZIONE DEL RISCHIO DI REAZIONI SISTEMICHE

Particolare attenzione deve essere rivolta alle molecole allergeniche stabili e alle famiglie a cui queste appartengono perché, se le proteine labili danno di solito reazioni locali, le proteine stabili danno reazioni sistemiche (Figura 2, Tabelle 9-10).

Figura 2.

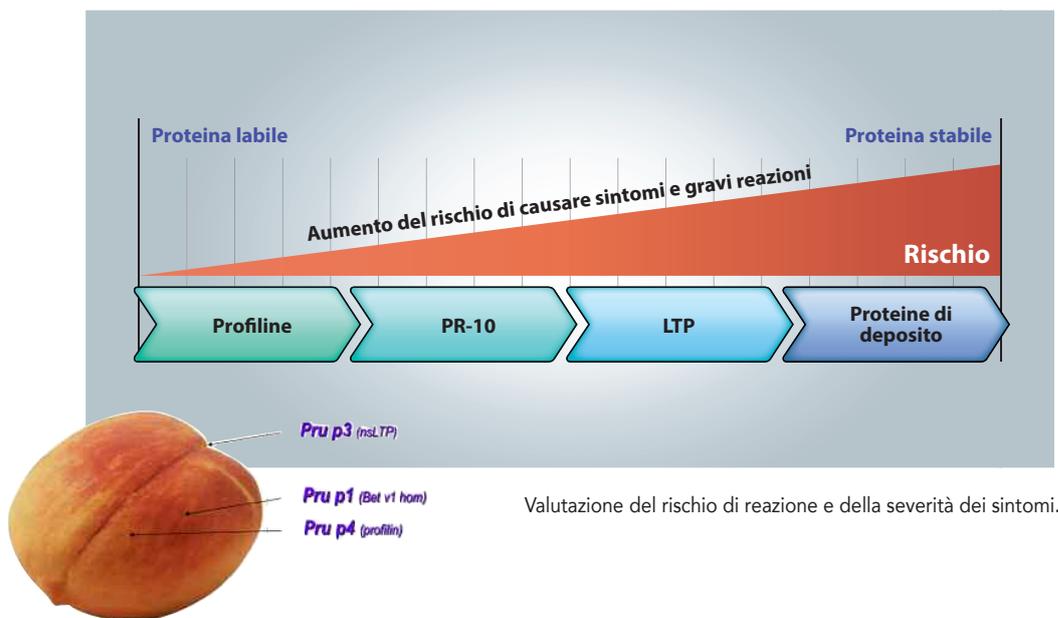


Tabella 9. Esempi di proteine stabili e di famiglie comprendenti componenti molecolari stabili e alimenti che le contengono.

Storage proteins	Frutta a guscio, semi
Lipid transfer proteins	Rosaceae, frutta a guscio, ecc.
Tropomiosine	Invertebrati
Parvalbumine	Pesci
Ovomucoide	Uova
Caseina	Latte

Tabella 10. *Rischio di sintomi severi in relazione alla famiglia di molecole allergeniche.*

LTPs	LTPs + Storage proteins
Rosaceae	Arachidi
- Albicocca	Birra/Orzo
- Ciliegia	Grano
- Fragola	Mais
- Lampone	Mostarda
- Mandorla	Nocciole
- Mela	Noci
- Mora	Semi di girasole
- Nespola	Semi di sesamo
- Pera	Uva
- Pesca	
- Prugna	
Pomodoro	
Sedano	

CAPITOLO III

MALATTIE ALLERGICHE CUTANEE IN CUI SI UTILIZZA LA DIAGNOSTICA MOLECOLARE

3.1 **Sindrome Orale Allergica (SOA) o Orticaria da contatto alimentare con sintomi al cavo orale (OC).**

La SOA è una reazione da ipersensibilità IgE-mediata indotta da cibi specifici (frutta fresca o secca, verdura, spezie) che si manifesta in pazienti precedentemente sensibilizzati ad allergeni di pollini con sintomatologia soprattutto localizzata alla mucosa oro-faringea.

La reazione è indotta quindi da antigeni dotati di una elevata analogia strutturale presenti sia in pollini che in alimenti in grado di indurre la produzione di IgE specifiche che si legano a tali antigeni cross-reagenti. In tal senso la pollinosi riveste un ruolo fondamentale nel determinismo della SOA.

La SOA si presenta, solitamente, in età adulta e predilige spesso il sesso femminile. Il paziente può accusare oltre a sintomi localizzati al cavo orale, ovvero nei punti di contatto con l'alimento (consistenti in prurito, cocciore, eritema, edema, vescicole e bolle al palato, lingua e labbra associati a senso di costrizione faringea e disturbi della deglutizione), anche quadri clinici o sintomi extra-orali che possono comparire dopo 15-60 minuti dall'assunzione dell'alimento, quali: prurito oculare, nasale, auricolare, rinite, congiuntivite; sintomi gastrointestinali (nausea, vomito, diarrea, epigastralgia, dolori addominali); sintomi sistemici (orticaria/angioedema, anafilassi).

L'OC IgE-mediata è una reazione oricarioide immediata nella sede di contatto con sostanze chimiche presenti in piante, farmaci, alimenti, cosmetici, bevande, lattice, pollini o presenti in ambiente industriale. La reazione in genere è localizzata ma raramente può essere sistemica fino allo shock anafilattico.

Diagnostica allergologica tradizionale nella SOA e nell'OC IgE-mediata da alimenti con sintomi esclusivamente localizzati al cavo orale.

- Applicazione dell'alimento in aperto o in occlusiva su cute normale o precedentemente lesa¹
- Skin prick test per inalanti²
- Skin prick test per alimenti
- Prick by prick con alimento fresco
- Dosaggio IgE specifiche in vitro (RAST)
- Test di provocazione con alimento sospetto

Valore aggiunto della diagnostica molecolare:

La SOA e l'OC da alimenti con sintomi esclusivamente localizzati al cavo orale è soprattutto causata dagli allergeni appartenenti alla famiglia delle Profiline o delle proteine PR-10. Pertanto vanno richieste le IgE specifiche sieriche per gli allergeni contenuti nell'alimento/i sospetto/i e per gli allergeni cross-reattivi che rientrano nella famiglia delle Profiline o delle proteine PR-10.

Si valuti l'opportunità di richiedere anche le IgE specifiche sieriche per le Lipid Transfer Proteins in caso di sospetto clinico.

Vedere Figura 3 per le componenti molecolari da richiedere.

¹ solo in OC

² solo in SOA

Figura 3.

Componenti molecolari da richiedere tramite ImmunoCAP o tramite ISAC in caso di **SOA** o **OC alimentare con sintomi al cavo orale**. Si valuti l'opportunità di richiedere anche le IgE specifiche sieriche per le Lipid Transfer Proteins. In parentesi, a scopo esemplificativo e pertanto da non richiedere, sono riportate le rispettive fonti allergeniche che le contengono.

Famiglia delle Profiline	
Bet v 2	(Betulla)
Phl p 12	(<i>Phleum pratense</i>)
Pru p 4*	(Pesca)
Hev b 8	(Lattice)

Famiglia proteine PR-10	
Bet v 1	(Betulla)
Cor a 1	(Nocciola)
Pru p 1	(Pesca)
Mal d 1	(Mela)
Api g 1	(Sedano)
Act d 8	(Kiwi)
Ara h 8	(Arachide)
Gly m 4	(Soia)

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

**: presente solo in ISAC

3.2 Orticaria acuta e anafilassi da alimenti

L'orticaria è caratterizzata dalla comparsa ricorrente di pomfi e/o angioedema e si distingue, in relazione alla durata, in orticaria acuta spontanea (con risoluzione dei sintomi entro sei settimane) e orticaria cronica (con sintomi presenti oltre le sei settimane). L'orticaria acuta può essere indotta da: alimenti, farmaci, veleno di imenotteri, additivi alimentari, elminti (*Anisakis simplex*), agenti infettivi, sostanze da contatto (alimenti, lattice). L'orticaria acuta da ingestione di alimenti IgE-mediata si manifesta di solito a breve distanza (minuti, ore) dall'assunzione dell'alimento scatenante. Può verificarsi anche in seguito al contatto diretto dell'alimento con la cute o ad inalazione dei vapori di cottura dello stesso. Episodi acuti/ricorrenti di orticaria/angioedema possono essere isolati o associati a Sindrome Orale Allergica, sintomi gastroenterici, respiratori, fino allo shock anafilattico. Nei bambini gli alimenti più spesso in causa sono: latte,

uova, arachidi, pesce, frutta a guscio, mentre in età adulta: frutta, verdura, frutta a guscio, crostacei. Lo shock anafilattico, che può essere reversibile o irreversibile, rappresenta la più grave emergenza in allergologia provocata da diversi allergeni. È sostenuto da reazioni IgE-mediate che determinano una liberazione massiva di mediatori chimici vasoattivi allorché determinati soggetti sono esposti a specifici allergeni nei confronti dei quali risultano precedentemente sensibilizzati. A causa dell'aumento della permeabilità capillare, indotto dai mediatori dell'anafilassi, si innescano alterazioni emodinamiche e metaboliche che si estrinsecano in sintomi sistemici quali: ipotensione, tachicardia o bradicardia, perdita di coscienza, in associazione a sintomi cutanei (prurito, eritema, orticaria, edema) e/o sintomi respiratori (edema o spasmo della laringe, broncospasmo) e/o sintomi gastrointestinali (crampi addominali, nausea e vomito). L'eziopatogenesi è varia, comprendendo diversi allergeni: alimenti, farmaci, veleno di imenotteri, lattice, *Anisakis simplex*, ecc.).

Diagnostica allergologica tradizionale per sospetta orticaria acuta e shock anafilattico da alimenti.

- Skin prick test per alimenti³
- Prick by prick con alimento fresco⁴
- Dosaggio IgE specifiche in vitro (RAST)
- Dosaggio triptasi sierica⁵
- Test di provocazione orale con alimento sospetto⁴

Valore aggiunto della diagnostica molecolare.

Le reazioni sistemiche (anafilassi, orticaria, asma) che insorgono dopo esposizione ad alimenti sono maggiormente sostenute da allergeni appartenenti alle Lipid Transfer Proteins e alle Storage Proteins (o proteine di deposito). Pertanto va richiesto il dosaggio delle IgE specifiche sieriche nei confronti degli allergeni contenuti nell'alimento/i sospetto/i e degli allergeni cross-reattivi che rientrano nella famiglia delle LTPs e delle Storage Proteins. Inoltre, in

³ non sempre in caso di shock anafilattico

⁴ non in caso di shock anafilattico

⁵ in caso di shock anafilattico entro sei ore dalla comparsa dei sintomi

particolare, se si sospetta una reazione sistemica alle componenti allergeniche contenute nei pesci, crostacei, seppie, calamari, ostriche, lumache, *Anisakis simplex*, veleno di imenotteri, lattice, latte e uovo, vanno richieste le IgE specifiche per le corrispondenti proteine allergeniche. In caso di reazione sistemica da ingestione di carni rosse, va richiesto il dosaggio delle IgE specifiche per alpha-gal e Bos d 6.

Vedere Figure 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 per le componenti molecolari da richiedere.

Figura 4

Componenti molecolari da richiedere tramite ImmunoCAP o tramite ISAC in caso di **Orticaria/Angioedema/Anafilassi da alimenti**. In parentesi, a scopo esemplificativo e pertanto da non richiedere, sono riportati i rispettivi alimenti che le contengono.

Famiglia delle Lipid Transfer Proteins		Famiglia delle Storage Proteins o proteine di deposito	
Ara h 9	(Arachide)	Ara h 1	(Arachide)
Cor a 8	(Nocciola)	Ara h 2	(Arachide)
Pru p 3	(Pesca)	Ara h 3	(Arachide)
Mal d 3*	(Mela)	Ara h 6**	(Arachide)
Jug r 3	(Noce)	Cor a 9	(Nocciola)
Tri a 14	(Grano)	Cor a 14*	(Nocciola)
		Jug r 1	(Noce)
		Jug r 2 **	(Noce)
		Ses i 1**	(Sesamo)
		Ana o 2**	(Anacardio)
		Ana o 3*	(Anacardio)
		Ber e 1	(Noce brasiliana)
		Fag e 2**	(Grano saraceno)
		Gly m 5	(Soia)
		Gly m 6	(Soia)
		Tri a 19§	(Grano)

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

§: Omega 5 gliadina, ha un ruolo importante nell'anafilassi da sforzo fisico postprandiale

Figura 5

Componenti molecolari da richiedere tramite ImmunoCAP o tramite ISAC in caso di **Orticaria/Angioedema/Anafilassi da pesce**. In parentesi, a scopo esemplificativo e pertanto da non richiedere, sono riportati i rispettivi alimenti e parassiti che le contengono.

Gad c 1	(Merluzzo)
Cyp c 1*	(Carpa)
Ani s 1**§	(<i>Anisakis simplex</i>)
Ani s 3**	(<i>Anisakis simplex</i>)

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

§: allergene maggiore che indica sensibilizzazione primaria

Figura 6

Componenti molecolari da richiedere tramite ImmunoCAP o tramite ISAC in caso di **Orticaria/Angioedema/Anafilassi da crostacei, seppie, calamari, ostriche, lumache e *Anisakis simplex***. In parentesi, a scopo esemplificativo e pertanto da non richiedere, sono riportati i rispettivi alimenti e parassiti che le contengono.

Pen a 1*, Pen m 1**, Pen m 2 **, Pen m 4**	(Varie specie di gamberi)
Ani s 1**§	(<i>Anisakis simplex</i>)
Ani s 3**	(<i>Anisakis simplex</i>)
Ana c 2* oppure MUXF3	

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

§: allergene maggiore che indica sensibilizzazione primaria

Figura 7

Componenti molecolari da richiedere tramite ImmunoCAP o tramite ISAC in caso di **Orticaria/Angioedema/Anafilassi da veleno di imenotteri**. In parentesi, a scopo esemplificativo e pertanto da non richiedere, sono riportati i rispettivi imenotteri che le contengono.

Api m 1 §	(Ape)
Api m 10 *	(Ape)
Api m 2	(Ape)
Api m 3*	(Ape)
Api m 4 **	(Ape)
Api m 5*	(Ape)
Ves v 1 * § §	(Vespa)
Ves v 5 § §	(Vespa)
Pol d 5	(Polistini)
MUXF3	

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

**: presente solo in ISAC

§ marcatore specie-specifico ideale per l'allergia al veleno di Ape

§§: marcatore primario dell'allergia al veleno di Vespa

In caso di Orticaria/Angioedema/Anafilassi da lattice si veda il paragrafo 3.4, da latte e uovo si consulti il paragrafo successivo (3.3 su Dermatite atopica).

3.3 Dermatite atopica.

Malattia infiammatoria cronica della cute caratterizzata da prurito intenso, eritema roseo, che assumerà poi un aspetto eczematoso, con fissurazioni superficiali e formazione di croste. Insorge intorno al terzo mese di vita con interessamento del cuoio capelluto e guance, potendosi estendere ad altre zone cutanee, soprattutto alle superfici flessorie di polsi, gomiti e ginocchia, ai genitali, alle mani, ai piedi, al collo e alla regione palpebrale e periorale. La localizzazione e la tipologia delle lesioni risultano variabili in rapporto all'età del paziente.

Diagnostica allergologica tradizionale nella dermatite atopica.

- Skin prick test per Inalanti
- Skin prick test per Alimenti
- Prick by prick con alimento fresco
- Dosaggio IgE totali in vitro (PRIST)
- Dosaggio IgE specifiche in vitro (RAST) per Inalanti e Alimenti
- Patch test serie standard e Atopy patch test per Inalanti e per Alimenti
- Dieta di eliminazione
- Test di provocazione con alimento/i

Valore aggiunto della diagnostica molecolare.

Sarebbe utile nei pazienti affetti da dermatite atopica, in particolare nei bambini, valutare il ruolo di una possibile concomitante allergia all'uovo, al latte e ad altri alimenti.

Diagnostica molecolare nell'allergia IgE-mediata all'uovo

Il dosaggio delle IgE specifiche per le componenti molecolari dell'uovo, nei soggetti con positività per skin prick test e/o positività per IgE specifiche in vitro (RAST) per l'uovo, serve a valutare il rischio di reazione all'ingestione di uovo cotto e crudo, a prevedere l'esito del challenge con uovo bollito e a valutare il rischio per la persistenza nel tempo dell'allergia all'uovo.

Vedere Figura 8 per le componenti molecolari da richiedere.

Figura 8

Componenti molecolari da richiedere tramite ImmunoCAP o tramite ISAC in caso di **Allergia IgE-mediata all'uovo.**

Gal d 1
Gal d 2
Gal d 3
Gal d 4*
Gal d 5**

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

Gal d 1 (Ovomucoide): proteina dell'albume termostabile e parzialmente gastrolabile. La positività per tale proteina indica allergia all'uovo sia crudo che cotto e una possibile più lunga persistenza nel tempo dell'allergia. L'assenza di IgE per ovomucoide indica tolleranza all'ingestione di uovo bollito o contenuto in dolci cucinati al forno in matrice di grano.

Gal d 2 (Ovoalbumina): proteina dell'albume termo e gastrolabile. La positività per tale proteina indica allergia all'uovo crudo o poco cotto.

Gal d 3 (Ovotransferrina): proteina dell'albume altamente termo e gastrolabile. Ha scarsa rilevanza clinica.

Gal d 4 (Lisozima): proteina altamente termo e gastrolabile. Ha scarsa rilevanza clinica. Tuttavia soggetti allergici al lisozima possono raramente manifestare reazioni dopo ingestione di uova o di altri alimenti (formaggi) e farmaci che lo contengono. Sono state segnalate reazioni allergiche professionali in addetti all'industria farmaceutica.

Gal d 5 (Alfa-livetina): siero albumina del pollo, parzialmente termolabile, presente nel tuorlo. Responsabile della "egg-bird syndrome" caratterizzata da asma e/o rinite da esposizione ai volatili e sintomi IgE-mediati da ingestione di tuorlo e pollo. Le IgE specifiche per Gal d 5 confermano la diagnosi della "egg-bird syndrome".

Diagnostica molecolare nell'allergia IgE-mediata al latte

Il dosaggio delle IgE specifiche per le componenti molecolari del latte, nei soggetti con positività per skin prick test e/o positività per IgE specifiche in vitro (RAST) per latte, serve a valutare il rischio di reazione all'ingestione di latte cotto e crudo, a prevedere l'esito del challenge con latte cotto e a valutare il rischio per la persistenza nel tempo dell'allergia al latte.

Vedere Figura 9 per le componenti molecolari da richiedere.

Figura 9

Componenti molecolari da richiedere tramite ImmunoCAP o tramite ISAC in caso di **Allergia IgE-mediata al latte**

Bos d 4
Bos d 5
Bos d 6
Bos d 8
Bos d lactoferrin**

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

Bos d 4 (Alfa lattoalbumina): proteina termo e gastrolabile.

La positività per tale proteina è indicativa di allergia al latte crudo.

Bos d 5 (Beta lattoglobulina): proteina termo e gastrolabile.

La positività per tale proteina è indicativa di allergia al latte crudo.

Bos d 6 (Albumina sierica bovina - BSA): siero albumina bovina termo e gastrolabile. Presente nel latte e nella carne di manzo, mostra un'alta cross-reattività con le albumine contenute nelle carni di altri animali.

I pazienti allergici a Bos d 6 dovrebbero evitare di assumere carni crude.

Bos d 8 (Caseina): proteina termostabile. La positività per tale proteina è indicativa di allergia verso il latte sia crudo che cotto.

La persistenza di alti livelli di IgE specifiche verso la caseina sembra giocare un ruolo importante nella persistenza nel tempo dell'allergia al latte.

Bos d lactoferrin (Lattoferrina): glicoproteina gastrostabile e parzialmente termostabile, particolarmente concentrata nel colostro.

La positività per tale proteina è indicativa di allergia verso il latte crudo e poco cotto.

3.4 Allergia al latte IgE-mediata

Con il termine "allergia al latte" si fa riferimento alle reazioni immediate di tipo IgE-mediate (orticaria da contatto, rinocongiuntivite, asma, edema delle mucose, orticaria generalizzata, shock anafilattico) che si manifestano, solitamente, pochi minuti dopo l'esposizione al latte. Sono riportate anche reazioni ritardate di più raro riscontro rispetto alle immediate.

Diagnostica allergologica tradizionale nell'allergia al latte IgE-mediata

- Test cutanei
 - o Skin prick test con estratto commerciale e preparazione estemporanea da guanto in latte
- Test di scatenamento
 - o Test d'uso con guanto (per la diagnosi di patologie cutanee)
 - o Test di provocazione bronchiale e nasale specifico (per la diagnosi di patologie respiratorie)
 - o Test di provocazione congiuntivale
- Skin prick test per alimenti, in particolare quelli che cross-reagiscono con il latte
- IgE specifiche in vitro (RAST) per latte e per alimenti, in particolare quelli che cross-reagiscono con il latte

Valore aggiunto della diagnostica molecolare

Il latte contiene numerose proteine a diverso peso molecolare che sono state caratterizzate e classificate e che risultano potenzialmente sensibilizzanti: Hev b 1 (da *Hevea brasiliensis* 1), Hev b 2, Hev b 3, Hev b 4, Hev b 5, Hev b 6, Hev b 7, Hev b 8, Hev b 9, Hev b 10, Hev b 11, Hev b 12, Hev b 13, Hev b 14, Hev b 15. Sono stati individuati pattern di sensibilizzazione specifici a seconda dell'attività lavorativa, del tipo di manufatto con cui si viene in contatto, delle vie di sensibilizzazione e del substrato genetico. Non tutte le componenti molecolari sensibilizzanti sono disponibili per eseguire la diagnostica molecolare.

Vedere Figura 10 per le componenti molecolari da richiedere.

Figura 10

Componenti molecolari da richiedere tramite ImmunoCAP (test indicato) tramite ISAC (test meno indicato in quanto dispone di un numero minore di componenti allergeniche) in caso di sospetta **allergia IgE-mediata al lattice**

Hev b 1	Omologo di papaina (papaya)
Hev b 3	
Hev b 5	Omologo ad una proteina del kiwi
Hev b 6.02*	Omologo a chitinasi di classe I di kiwi, avocado e castagna (70% di identità)
Hev b 8	Omologo a profiline di peperone, banana e ananas
Hev b 11*	Omologo a chitinasi di classe I di kiwi, avocado e castagna
Ana c 2* oppure MUXF3	CCD

Legenda:

Assenza di asterisco: presente sia in ImmunoCAP che in ISAC

*: presente solo in ImmunoCAP

** : presente solo in ISAC

La diagnostica molecolare dell'allergia al lattice permette di individuare:

1. un soggetto vero positivo: la contemporanea presenza in un soggetto di anamnesi positiva per allergia al lattice, di skin prick test e/o IgE specifiche in vitro (RAST) positivi per lattice e/o di positività per almeno una di queste componenti molecolari: Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6.02, Hev b 11, fa porre la diagnosi di allergia al lattice;
2. un soggetto falso positivo: il riscontro di IgE specifiche in vitro (RAST) per lattice, in un paziente con storia clinica silente per allergia al lattice, potrebbe essere legato alla presenza esclusiva di IgE specifiche per Hev b 8 e/o IgE anti-CCD. Tali pazienti sono da considerarsi dei soggetti falsi positivi in quanto le IgE specifiche per le restanti componenti molecolari del lattice, responsabili delle reazioni allergiche, sono assenti. Ricordiamo, infatti, che i manufatti in lattice non contengono Hev b 8 e CCD, pertanto un soggetto falso positivo può essere sottoposto a procedure diagnostico-terapeutiche che prevedano l'utilizzo di prodotti in lattice.

3. possibili reazioni da ingestione di alimenti cross-reattivi con il lattice, di predire la severità delle reazioni da ingestione di questi alimenti e di prevedere se tali alimenti potranno indurre reazioni se consumati crudi o cotti.

Alcuni allergeni del lattice presentano epitopi comuni a quelli di alcuni alimenti. La "latex-fruit syndrome" è espressione di un'alta percentuale di allergia alimentare nei soggetti allergici al lattice (dal 21% al 58%). Le associazioni significative e più frequenti ad oggi dimostrate sono per banana, avocado, kiwi, castagna, patata e pomodoro. I sintomi dell'allergia alimentare comprendono Sindrome Orale Allergica, orticaria, angioedema, shock anafilattico. La "latex fruit syndrome" è dovuta alla somiglianza strutturale di alcune proteine di alimenti vegetali con le proteine del lattice.

La diagnostica molecolare ci permette di:

- evidenziare le principali cross-reattività tra componenti molecolari del lattice e componenti molecolari omologhe contenute negli alimenti (come si evidenzia nella Figura 10);

- prevedere eventuali reazioni e predirne la severità a seguito di ingestione di suddetti alimenti, quando consumati crudi oppure cotti.

La "latex-fruit syndrome" è giustificata dalla stretta omologia esistente tra la Proeveina (Hev b 6.01) e l'Eveina (Hev b 6.02) del lattice e le chitinasi di classe I. È possibile quindi, che soggetti sensibilizzati al lattice presentino contemporaneamente sensibilizzazione a chitinasi alimentari. Le chitinasi, essendo labili al calore e rapidamente degradate in sede gastrica, in questi soggetti inducono manifestazioni cliniche a localizzazione orale che si evidenziano solo se gli alimenti in questione (ad es. banana, kiwi, avocado e frutti tropicali in genere) sono consumati esclusivamente crudi.

CAPITOLO IV

COME RICHIEDERE LE COMPONENTI ALLERGENICHE CHE RIENTRANO NELLA DIAGNOSTICA MOLECOLARE

Il dosaggio delle IgE specifiche per le singole componenti molecolari può essere richiesto in due modi:

1. **Attraverso l'ImmunoCAP:** il medico richiede il dosaggio delle IgE specifiche per l'allergene/i di sua scelta. Ad esempio, sull'impegnativa del Sistema Sanitario Nazionale si scrive: "si richiede dosaggio delle IgE specifiche per Pru p 3" (uno degli allergeni contenuti nell'estratto allergenico della pesca).
2. **Attraverso l'ISAC:** il medico richiede l'ISAC e avrà un'unica risposta comprendente il dosaggio delle IgE specifiche per 112 differenti molecole allergeniche.

È consigliabile chiedere informazioni su cosa indicare sulla prescrizione direttamente al laboratorio di riferimento presso cui viene eseguita la metodica.

Quale diagnostica molecolare scegliere, in relazione al costo della metodica: ImmunoCAP se le IgE specifiche nei confronti di molecole allergeniche che intendiamo testare sono meno di 10 e ISAC se il loro numero è maggiore di 10.

IL DOSAGGIO IMMUNOCAP VIENE ESEGUITO NELLA MAGGIORANZA DEI LABORATORI ANALISI PRESENTI SUL TERRITORIO NAZIONALE

IL DOSAGGIO ISAC VIENE ESEGUITO NEI SEGUENTI LABORATORI:

ABRUZZO

ASL Ospedale Santo Spirito	Pescara	Via Fonte Romana 8	Laboratorio di Allergologia	Tel. 085 4252501
-----------------------------------	---------	--------------------	-----------------------------	------------------

CALABRIA

POLISPECIALISTICA BIOS SRL di Pugliese Luca & C.	Crotone	Largo Umberto I	Laboratorio Analisi	Tel. 0962 28622
---	---------	-----------------	---------------------	-----------------

CAMPANIA

ASL SA Ospedale S. Maria della Speranza	Battipaglia	Via Fiorignano	Centro aziendale per la cura delle malattie allergiche e Immunologiche gravi. Laboratorio Patologia Clinica e Immunometria	Tel. 089 693647
A.O.R.N. Santobono Pausillipon	Napoli	Via Posillipo, 226	Struttura SSD Immunoallergologia	Tel. 081 2205453
Seconda Università degli Studi	Napoli	Larghetto Sant'Aniello a Caponapoli, 1	Dipartimento Medico-Chirurgico di internistica Clinica e Sperimentale "F. Magrassi e A. Lanzara"	Tel. 081 5665595
Istituto Diagnostico Varelli	Napoli	Via Cornelia dei Gracchi, 65	Laboratorio Analisi	Tel. 081 7672202

EMILIA ROMAGNA

ASL Modena Nuovo Ospedale S. Agostino Estense	Modena	Via Pietro Giardini, 1355	Struttura Complessa Patologia, Tossicologia e Diagnostica Avanzata	Tel. 059 3961425
Poliambulatorio Dalla Rosa Prati Centro Diagnostico Europeo	Parma	Via Emilia Ovest, 12	Laboratorio Analisi	Tel. 0521 2981
Ospedale Guglielmo da Saliceto	Piacenza	Via Taverna, 49	U.O.D. di Allergologia	Tel. 0523 302396
Az Ospedaliera S. Maria Nuova	R. Emilia	Viale Risorgimento, 80	U.O. di Microbiologia Dipartimento di Medicina di Laboratorio	Tel. 0522 296111

FRIULI

Azienda Ospedaliera "Santa Maria degli Angeli"	Pordenone	Via Montereale, 24	S.S.D. Allergologia e Immunologia	Tel. 0434 399647
I.R.C.C.S. "Burlo Garofolo" Istituto per l'Infanzia	Trieste	Via Dell'Istria, 65	Immunopatologia Clinica - Sezione RIA	Tel. 040 3785240
Azienda Ospedale S. Maria della Misericordia	Udine	P.le S.Maria della Misericordia	s.o.s. di dpt immunopatologia e allergologia	Tel. 0432 552403

LAZIO

Laboratorio BIOS Spa	Roma	Via Domenico Chelini, 39	Laboratorio Analisi	Tel. 06 809641
Istituto Dermatologico dell'Immacolata	Roma	Via Monti di Creta, 104	Laboratorio Analisi Allergologia ed Immunologia Clinica e di Laboratorio	Tel. 06 66464764
Ospedale Cristo Re dell'Istituto Figlie di Nostra Signora al Monte Calvario	Roma	Via delle Calasanziane, 25	Laboratorio Analisi	Tel. 06 6145626
Ospedale Pediatrico Bambino Gesù	Roma	Piazza S. Onofrio, 4	Laboratorio Analisi	Tel. 06 68592167

LIGURIA

Istituto Giannina Gaslini Ospedale Pediatrico IRCCS	Genova	Largo G. Gaslini, 5	Laboratorio Generale di Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia	Tel. 010 5636213
--	--------	---------------------	--	------------------

LOMBARDIA

Azienda Ospedaliera Beato Giovanni XXIII	Bergamo	Piazza OMS, 1	Laboratorio Analisi Chimico Cliniche	Tel. 035 266786
Azienda Spedali Civili	Brescia	P.le Spedali Civili, 3	3° Laboratorio Biotecnologie	Tel. 030 3995408
Centro Diagnostico Italiano	Milano	Via Saint Bon, 20	Laboratorio Analisi	Tel. 02 48317391
OSR Ospedale San Raffaele S.r.l.	Milano	Via Olgettina, 60	Medicina di Laboratorio Autoimmunità	Tel. 02 26432316
Fondazione I.R.C.C.S. – Policlinico San Matteo	Pavia	Viale Golgi, 19	Laboratorio Allergologia Clinica Pediatrica	Tel. 0382 502463
Fondazione S. Maugeri Clinica del Lavoro e della Riabilitazione IRCCS	Pavia	Via Ferrata, 4 Località Cravino	Servizio Autonomo di Allergologia e Immunologia Clinica Laboratorio	Tel. 0382 592418

PIEMONTE

CLINICA SEDE SAPIENTIAE Srl Casa di Cura	Torino	Via Bidone, 31	Laboratorio Analisi	Tel. 011 4677
---	--------	----------------	---------------------	---------------

PUGLIA

Azienda Ospedaliera Universitaria Consorziale Policlinico	Bari	P.zza Giulio Cesare, 9	Immunologia Allergologia	Tel. 080 5478462
Azienda Ospedaliera Ospedali Riuniti	Foggia	Viale Luigi Pinto	Il Laboratorio Analisi	Tel. 0881 732563

SARDEGNA

CDR Sas CENTRO di DIAGNOSI RADIOLOGICA	Cagliari	Via Zagabria, 60	Laboratorio analisi Medicina Nucleare	Tel. 070 453120
---	----------	------------------	--	-----------------

SICILIA

Azienda Ospedaliero Policlinico	Catania	Via Santa Sofia, 78	U.O. Malattie Apparato Respiratorio Servizio di Fisiopatologia Respiratoria Allergologia e Immunologia Clinica	Tel. 095 7594527
ARNAS Presidio Ospedaliero Civico Benfratelli	Palermo	P.zza Carmelo Lazzaro	Laboratorio Analisi Patologia Clinica	Tel. 091 6665412
Associazione Oasi Maria SS Onlus	Troina	Via Conte Ruggero, 73	Immunologia	Tel. 0935 936111

TOSCANA

ASL TOSCANA CENTRO Ospedale S.Giovanni di Dio	Firenze	Via di TorreGalli 3	Laboratorio di Immunologia e Allergologia	Tel. 055 6932502
Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi	Firenze	Viale Morgagni 85	S.O.D. Immunoallergologia Biomedica	Tel. 055 4296402
AZ Ospedaliera Meyer	Firenze	Viale Pieraccini 24 Villa Ognissanti	Laboratorio Allergologia Immunologia	Tel. 055 5662542

TRENTINO

Ovest Ospedale Tappeiner	Merano	Via Goethe 50	Laboratorio Analisi	Tel. 0473 267884
---------------------------------	--------	---------------	---------------------	------------------

VENETO

Azienda Ospedaliera "Policlinico G. Rossi" Borgo Roma	Verona	Piazzale L. A. Scuro, 10	U.O.C. di Immunologia	Tel. 045 8074256
Azienda Ospedaliera di Padova	Padova	Via N. Giustiniani, 2	Servizio di Medicina di Laboratorio	Tel. 049 8211918
Rete Diagnostica italiana S.r.l.	----- <i>Centri prelievo</i> -----			Tel. 049 7664811
	<i>Analisi Mediche Pavanello</i>	Trova su www.gruppopavanello.it la sede più vicina nelle provincie di Venezia e Padova		
	<i>Casa di Cura Villa Berica</i>	Vicenza	Via Capparozzo, 10	
	<i>Centro Medico</i>	Rovigo	Viale della Pace, 81/A	

BIBLIOGRAFIA

1. Canonica GW, Ansotegui IJ, Pawankar R, Schmid-Grendelmeier P, van Hage M, Baena-Cagnani CE, Melioli G, Nunes C, Passalacqua G, Rosenwasser L, Sampson H, Sastre J, Bousquet J, Zuberbier T; WAO-ARIA-GA2LEN Task Force: Katrina Allen, Riccardo Asero, Barbara Bohle, Linda Cox, Frederic de Blay, Motohiro Ebisawa, Rene Maximiliano-Gomez, Sandra Gonzalez-Diaz, Tari Haahtela, Stephen Holgate, Thilo Jakob, Mark Larche, Paolo Maria Matricardi, John Oppenheimer, Lars K Poulsen, Harald E Renz, Nelson Rosario, Marc Rothenberg, Mario Sanchez-Borges, Enrico Scala, Rudolf Valenta. A WAO - ARIA - GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organ J*. 2013 Oct 3;6(1):17.
2. Melioli G, Bonifazi F, Bonini S, Maggi E, Mussap M, Passalacqua G, Rossi ER, Vacca A, Canonica GW; Italian Board for ISAC (IBI). The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms. *Clin Biochem*. 2011 Aug;44(12):1005-11.
3. Passalacqua G, Melioli G, Bonifazi F, Bonini S, Maggi E, Senna G, Triggiani M, Nettis E, Rossi RE, Vacca A, Canonica GW; Italian ISAC Study Group. The additional values of microarray allergen assay in the management of polysensitized patients with respiratory allergy. *Allergy* 2013 Aug;68(8):1029-33.
4. Nettis E, Bonifazi F, Bonini S, Di Leo E, Maggi E, Melioli G, Passalacqua G, Senna G, Triggiani M, Vacca A, Canonica GW. Molecular diagnosis and the Italian Board for ISAC. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2014 Mar;46(2):68-73.
5. Melioli G, Spenser C, Reggiardo G, Passalacqua G, Compalati E, Rogkakou A, Riccio AM, Di Leo E, Nettis E, Canonica GW. Allergenius, an expert system for the interpretation of allergen microarray results. *World Allergy Organ J* 2014 Jun 25;7(1):15.
6. Nettis E, Di Leo E, Calogiuri GF, Delle Donne P, Di Staso M, Ferrannini A, Vacca A. Diagnosis of latex allergy: the importance of Hev b 11. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;159(2):147-8.
7. Nettis E, Vacca A, Colanardi MC, Dambra P, Di Leo E, Ferrannini A. Allergia al lattice. *Allergy informer Speciale*, supplemento a *Allergy informer* n.3 2009. Periodico di aggiornamento professionale per lo specialista. Editore: Hippocrates Edizioni Medico-Scientifiche. Milano.