

PNEUMOLOGIA PEDIATRICA

CASI CLINICI PER IMPARARE E TECNICHE DIAGNOSTICHE INNOVATIVE IN PNEUMOLOGIA PEDIATRICA

Tecniche diagnostiche innovative in fisiologia
respiratoria: il Multiple Breath Washout (MBW)
nell'asma in età pediatrica

La genetica molecolare:
casi clinici per imparare

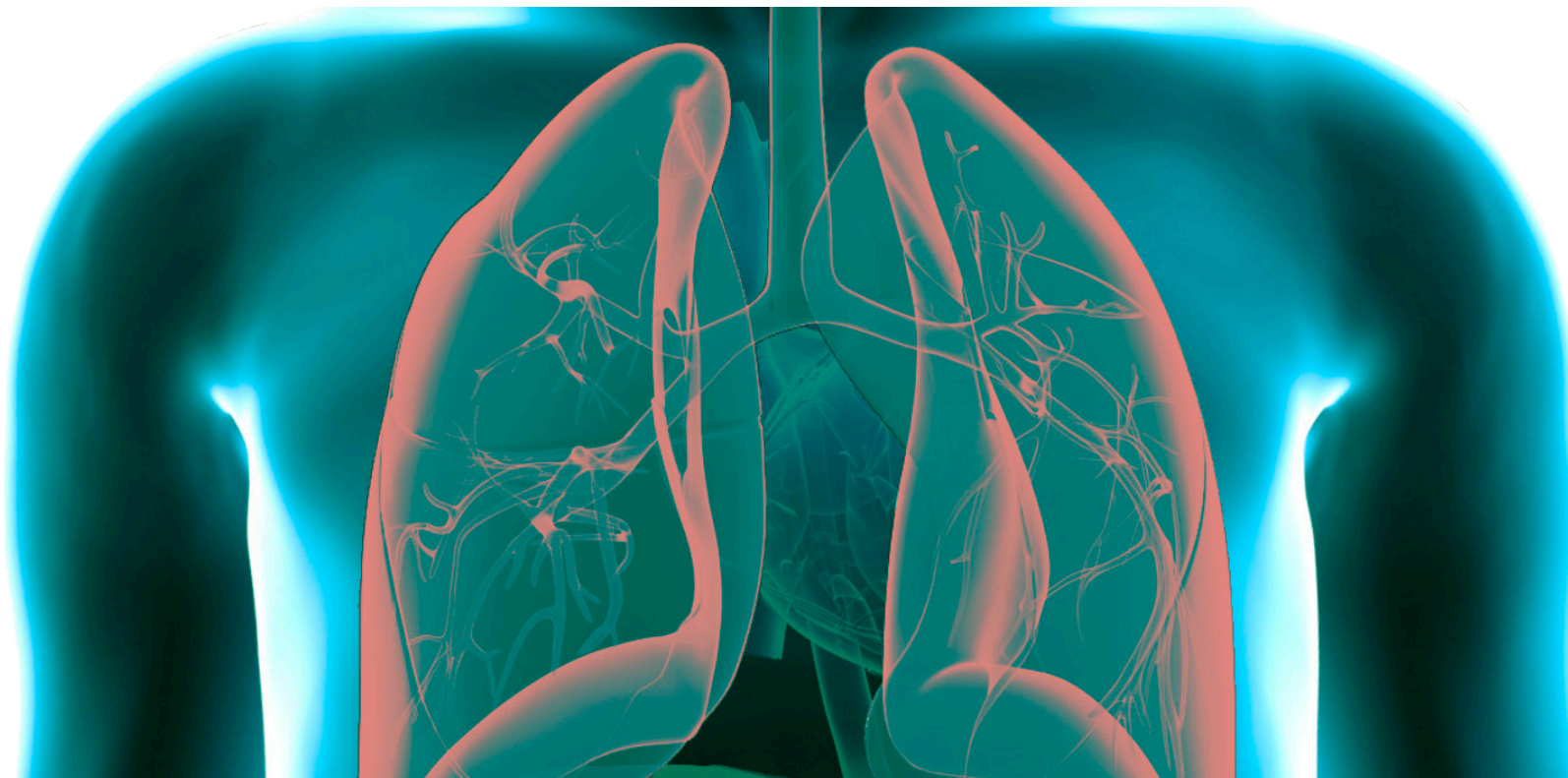
L'ecografia polmonare per il pediatra

Interventistica in pneumologia: dilatazione tracheo-
bronchiale tramite balloon e "cutting" balloon

Allergologia molecolare

Studi del sonno

Allergologia molecolare



INDICE

Editoriale

Valeria Caldarelli

3

Tecniche diagnostiche innovative in fisiologia respiratoria: il Multiple Breath Washout (MBW) nell'asma in età pediatrica

Giuliana Ferrante, Maria Furno

4

La genetica molecolare: casi clinici per imparare

Federica Porcaro, Carlo De Pieri

12

L'ecografia polmonare per il pediatra

Giuseppe Gallo, Simone Fontijn, Elena Proietti, Giulia Cangiano, Matteo Giuliari, Valeria Lucianer, Francesca Sorrentino, Grazia Dinnella, Lorenzo Iughetti, Ugo Pradal

21

Interventistica in pneumologia: dilatazione tracheo-bronchiale tramite balloon e "cutting" balloon

Antonella Frassanito, Antonino Francesco Capizzi

31

Allergologia molecolare

Carla Mastrorilli, Paola Di Filippo

37

Studi del sonno

Ambra Nicolai, Alessandro Onofri

45

Indagine sulla formazione in pneumologia pediatrica nelle scuole di specializzazione in pediatria

Maria Di Cicco, Valeria Caldarelli, Sylvie Tagliati, Vincenzo Insinga, Roberto Raschetti, Renato Cutrera

54

Pneumologia Pediatria

Volume 18, n. 71 - settembre 2018

Direttore Responsabile

Francesca Santamaria (Napoli)

Direzione Scientifica

Stefania La Grutta (Palermo)

Nicola Ullmann (Roma)

Segreteria Scientifica

Silvia Montella (Napoli)

Comitato Editoriale

Angelo Barbato (Padova)

Filippo Bernardi (Bologna)

Alfredo Boccaccino (Misurina)

Attilio L. Boner (Verona)

Mario Canciani (Udine)

Carlo Capristo (Napoli)

Fabio Cardinale (Bari)

Salvatore Cazzato (Bologna)

Renato Cutrera (Roma)

Fernando M. de Benedictis (Ancona)

Fulvio Esposito (Napoli)

Mario La Rosa (Catania)

Massimo Landi (Torino)

Gianluigi Marseglia (Pavia)

Fabio Midulla (Roma)

Luigi Nespoli (Varese)

Giorgio L. Piacentini (Verona)

Giovanni A. Rossi (Genova)

Giancarlo Tancredi (Roma)

Marcello Verini (Chieti)

Editore

Giannini Editore

Via Cisterna dell' Olio 6b

80134 Napoli

e-mail: editore@gianninispa.it

www.giannineditore.it

Coordinamento Editoriale

Center Comunicazioni e Congressi Srl

e-mail: info@centercongressi.com

Napoli

Realizzazione Editoriale e

Stampa

Officine Grafiche F. Giannini & Figli

SpA

Napoli

© Copyright 2018 by SIMRI

Finito di stampare nel mese di novembre 2018

Allergologia molecolare

Component Resolved Diagnosis

Carla Mastrorilli,^{1,2} Paola Di Filippo³

¹ UOC Pediatria e Neonatologia, Ospedale “Madonna delle Grazie”, Matera

² Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Parma, Parma

³ Clinica Pediatrica, Ospedale “SS. Annunziata”, Chieti

Corrispondenza: Carla Mastrorilli **email:** carla.mastrorilli@icloud.com; Paola Di Filippo email: difilippopaola@libero.it

Riassunto: Si definisce allergene ogni molecola che si lega ad anticorpi IgE. Le fonti allergeniche contengono vari allergeni, di cui uno o più dominanti (maggiori), e che si classificano in marcatori di sensibilizzazione genuina e di cross-reattività. Saranno presentate nel seguente articolo le caratteristiche degli allergeni, la loro nomenclatura internazionale e la loro rilevanza clinica. L'allergologia molecolare permette all'allergologo di ottimizzare l'approccio diagnostico, offrendo una maggiore precisione, con il fine ultimo di una migliore efficacia dell'immunoterapia allergene-specifica. Inoltre, rende possibile identificare la fonte allergenica e l'allergene responsabile della sintomatologia, predire la severità delle reazioni e la loro storia naturale, prevenire sintomi di cross-reattività inattesi ed evitare restrizioni dietetiche inutili in caso di allergia alimentare.

Parole chiave: allergene, diagnostica molecolare, ISAC

Summary: Allergens are defined as molecules that binds to IgE. Allergenic sources contain one or more dominant allergens, that can be classified as genuine sensitization markers or cross-reactivity markers. Characteristics of allergens, their international nomenclature and their clinical relevance will be presented in the following article. Component resolved diagnostics (CRD) allows the allergologist to optimize the diagnostic approach to allergic diseases, thus offering a higher precision, with the ultimate goal of improving the efficacy of allergen-specific immunotherapy. Moreover, CRD allows to identify the allergenic source and the molecular allergen responsible for symptoms, to predict the severity of reactions and their natural history, to prevent unexpected cross-reactivity, and to avoid unnecessary dietary restrictions for food allergy.

Key words: allergen, component resolved diagnostics, ISAC

INTRODUZIONE

I test allergologici *in vitro* rappresentano un rilevante strumento diagnostico e di monitoraggio nelle patologie allergiche (1). Il primo test per il dosaggio delle IgE totali (PRIST) e specifiche (RAST) fu introdotto nel 1972, utilizzando metodiche RIA basate sugli estratti allergenici ottenuti dalla fonte originaria attraverso processi di estrazione proteica e purificazione (2). Negli anni sono stati compiuti importanti progressi e si è assistito al passaggio a metodiche ELISA (3) (figura 1).

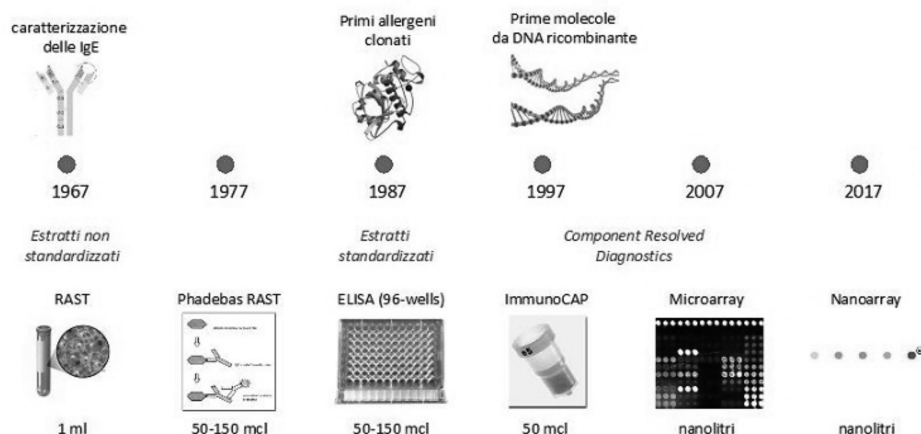


Fig. 1: Timeline della ricerca allergologica

L'avvento delle nanotecnologie e della biologia molecolare ha portato a identificare, sequenziare, caratterizzare e clonare un gran numero di molecole allergeniche e di loro iso-forme (4). Un buon numero di tali proteine allergeniche è attualmente disponibile per la diagnostica allergologica *in vitro* (la cosiddetta *Component Resolved Diagnostics* o CRD) (5).

Un'ulteriore rivoluzione nella diagnostica allergologica è stata rappresentata dall'utilizzo di nanotecnologie mediante *micro-array* (6). Tuttavia, la presenza di anticorpi IgE nel siero del paziente (così come la cuti-positività) non consente di formulare con certezza una diagnosi allergologica se estrapolata dal contesto clinico (7). Un'elevata concentrazione di IgE specifiche non indica sempre la presenza di patologie clinicamente gravi e viceversa, così com'è importante sottolineare che la storia naturale della patologia allergica è influenzata da molti altri fattori (ad esempio, l'esposizione all'allergene).

CHE COS'È UN ALLERGENE?

Si definisce allergene ogni molecola che si lega ad anticorpi IgE (8).

Spesso si tratta di proteine, meno frequentemente di composti non proteici (ad esempio, penicillina o glicani). La maggior parte, ma non tutti gli allergeni, sono sensibilizzanti (inducono cioè la produzione di anticorpi IgE allergene-specifici). Il processo di sensibilizzazione può avvenire:

- attraverso la mucosa delle vie aeree tramite inalazione;
- nel tratto digerente, dove l'allergene viene introdotto come componente di un alimento o di una bevanda;
- per via percutanea (soprattutto se la cute è lesa).

Per attraversare i tessuti, la proteina allergenica deve essere in soluzione oppure ancorata ad una particella (per gli allergeni inalatori), quale una spora di muffa, un grano di polvere, una particella fecale dell'acaro, ecc. È così attivata la fase di sensibilizzazione, che consiste nell'interazione con una cellula presentante l'antigene e, al secondo contatto con l'allergene, si scatena la reazione allergica, mediata dal legame degli anticorpi IgE sulla superficie delle mastcellule o basofili.

Anche gli allergeni non-sensibilizzanti possono scatenare reazioni allergiche, nel caso in cui un precedente contatto con un allergene cross-reattivo abbia causato la sensibilizzazione (ad esempio, Bet v1 della betulla e l'omologo cross-reattivo non sensibilizzante Mal d1 della mela) (9).

QUAL È LA NOMENCLATURA DEGLI ALLERGENI?

Gli allergeni sono denominati in base al nome scientifico della specie delle piante o degli animali da cui originano (10). Ad esempio, Bet v1, allergene maggiore del polline della betulla (*Betula verrucosa*), è designato con le prime tre lettere del genere (Bet) e la prima lettera della specie (v). La base del nome è poi seguita da un numero, assegnato in ordine di scoperta. Bet v1 è quindi il primo allergene scoperto derivante da polline di betulla. Molti allergeni hanno diverse iso-forme, come Cor a1, la cui variante molecolare Cor a1.01 si trova nel polline del nocciolo e Cor a1.04 nella nocciola. Alcune iso-forme presentano un'alta omologia di sequenza e sono considerate usualmente identiche, per cui vengono distinte aggiungendo altri due numeri al nome (ad esempio, Cor a1.0101 e Cor a1.010102).

LA RILEVANZA CLINICA DEGLI ALLERGENI

Allergie respiratorie

Le fonti allergeniche inalanti contengono uno o più allergeni maggiori, che bisogna distinguere tra marcatori di sensibilizzazione primaria e di cross-reattività (11). Questa discriminazione è importante soprattutto nei paesi mediterranei, caratterizzati da frequenti poli-sensibilizzazioni, elevata concentrazione pollinica e stagioni polliniche sovrapposte.

Tra gli inalanti stagionali esistono fenomeni di cross-reattività tra proteine omologhe presenti nell'ambito di singole specie polliniche (ad esempio, *Phleum pratense* e famiglia delle graminacee), proteine omologhe in un numero limitato di specie polliniche distinte (ad esempio, allergeni del gruppo 11 delle graminacee e allergene maggiore del polline dell'olivo) o proteine filogeneticamente altamente conservate, presenti virtualmente in tutte le specie polliniche (i cosiddetti pan-allergeni, quali ad esempio profilina e polcalcine, che sono implicate rispettivamente nella *pollen-food syndrome* e nell'asma bronchiale).

Allergia alle graminacee

La risposta anticorpale nei confronti del polline delle graminacee (ad esempio, *Phleum pratense* e codolina), di solito evolve da uno stadio di sensibilizzazione IgE mono-molecolare ad uno stadio oligo-molecolare ed eventualmente ad uno poli-molecolare (11). Tale fenomeno è definito *molecular spreading* (sviluppo sequenziale della risposta IgE a molecole distinte non cross-reattive della stessa fonte antigenica a partire da una molecola allergenica "iniziatrice"). Nella maggior parte dei pazienti l'iniziatore è la molecola Phl p1; successivamente la risposta coinvolge le molecole Phl p4 e Phl p5, poi Phl p2 e Phl p11 ed in una fase finale i pan-allergeni Phl p12 (profilina) e Phl p7 (polcalcina).

È da notare che il processo di *molecular spreading* segue la sequenza in modo differente, cioè alcuni bambini restano sensibilizzati solo alla molecola iniziatrice, mentre altri si sensibilizzano ad alcune molecole o a tutte le altre. Di conseguenza, una popolazione di pazienti allergici alle graminacee apparentemente omogenea alla diagnostica con estratti è in realtà estremamente eterogenea quando analizzata a livello delle molecole allergeniche, con importanti implicazioni prognostico-terapeutiche.

Allergie alimentari

Le molecole allergeniche alimentari hanno una chiara associazione con i fenotipi clinici e la gravità dei sintomi (11). La maggior parte degli alimenti contiene diversi allergeni, di cui alcuni sono specie-specifici ed altri omologhi ad allergeni di fonti diverse e potenzialmente cross-reattivi. È importante rilevare che gli allergeni presentano caratteristiche chimico-fisiche diverse, con notevoli differenze a livello clinico e prognostico; per esempio, allergeni gastro-termolabili provocano sintomi localizzati al cavo orale solo se consumati crudi.

I meccanismi attraverso cui si diviene allergici sono tre: 1) diretta esposizione all'alimento per via orale o percutanea; 2) cross-reattività tra alimenti; 3) cross-reattività tra allergeni inalatori e alimentari (*pollen-food syndrome*, figura 2). Nell'ultimo caso, la sensibilizzazione a un alimento vegetale può avvenire per diretta sensibilizzazione al frutto stesso (allergia alimentare di classe 1, ad esempio, Pru p3 della pesca) o secondariamente alla sensibilizzazione ad un polline e cross-reattività nei confronti del frutto (allergia alimentare di classe 2, ad esempio Bet v1 della betulla e Pru p1 della pesca). Il primo caso è un profilo di sensibilizzazione alla *lipid transfer protein* (LTP) della pesca associato ad un alto rischio di reazioni sistemiche severe, mentre nel secondo caso si tratta di sindrome orale allergica (SOA) con sintomi lievi-moderati al cavo orale, per la labilità degli allergeni alla digestione ed al calore. Alcuni allergeni sono più pericolosi di altri, poiché possono elicitare reazioni allergiche più gravi; al contrario, non bisogna dimenticare che altri allergeni inducono IgE ma non scatenano sintomi, a causa di una cross-reattività IgE tra allergeni e glicoproteine.

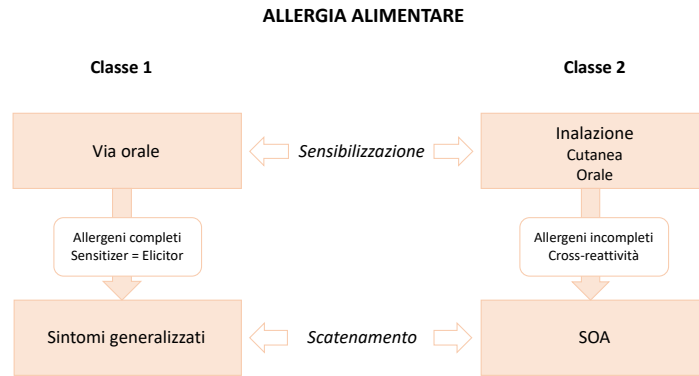


Fig. 2: Caratteristiche dell'allergia alimentare

Allergia alle arachidi

Un prototipo di fonte allergenica sono le arachidi, verso cui molte persone sviluppano IgE ma non sintomi clinici e pertanto possono consumarle liberamente. Clinicamente l'allergia alle arachidi si distingue in 3 *pattern* (figura 3):

- sensibilizzazione secondaria a molecole cross-reattive labili della famiglia della Bet v1 (Ara h8) o delle profiline (Ara h5), con sviluppo di sintomi generalmente lievi e localizzati al cavo orale (SOA) ed allergia alimentare di classe 2;
- sensibilizzazione ad LTP (Ara h9), secondaria alla sensibilizzazione a Pru p3 della pesca;
- sensibilizzazione ad allergeni stabili (proteine di deposito, oleosine o defensine), con manifestazioni cliniche immediate e sistemiche.

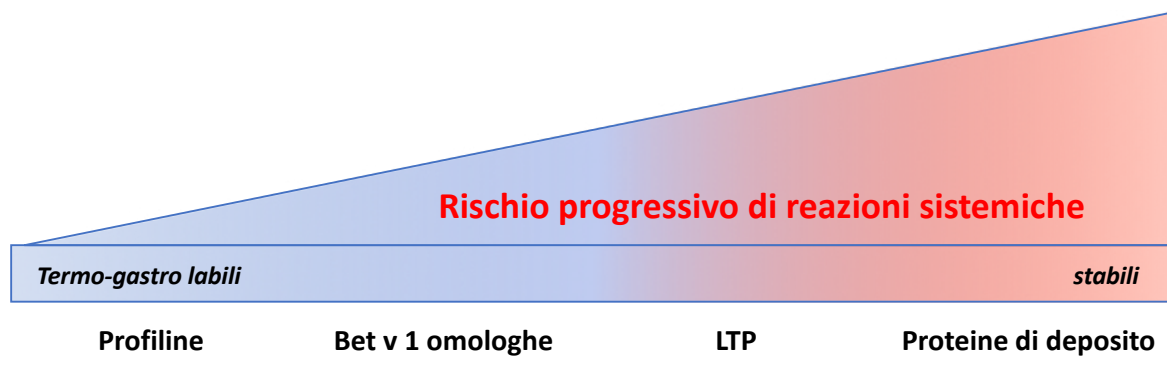


Fig. 3 Rilevanza clinica degli allergeni delle arachidi

QUANDO UTILIZZARE I TEST ALLERGOLOGICI IN VITRO E LA CRD?

I test allergologici *in vitro* devono essere eseguiti nei bambini che presentano storia clinica compatibile con allergia respiratoria o alimentare IgE-mediata (11). Possono essere utili talora anche nelle forme miste (dermatite atopica e gastro-enteropatia eosinofila) o nelle patologie allergiche non IgE-mediate (*food protein induced enterocolitis syndrome* o FPIES e proctocolite allergica), giacché tali quadri clinici possono essere associati a o evolvere con il tempo in manifestazioni IgE-mediate.

Perché utilizzare la CRD?

La diagnostica molecolare permette di differenziare i soggetti sensibilizzati verso molecole allergeniche indice di sensibilizzazione primaria (“genuina”) per una singola fonte allergenica

dai soggetti che sono positivi solo perché sensibilizzati a molecole cross-reattive (pan-allergeni) responsabili di false positività (12). La CRD presenta importanti ripercussioni sulle scelte terapeutiche e consente di predire il rischio nelle allergie alimentari, distinguendo tra sensibilizzazioni verso molecole stabili a calore e digestione peptica da quelle verso molecole labili (9). La CRD è quindi di grande utilità clinica nella gestione dell'allergia respiratoria, in quanto consente di effettuare una prescrizione precisa dell'immunoterapia allergene-specifica, unico trattamento in grado di modificare la storia naturale della malattia allergica. Nell'allergia alimentare, inoltre, permette di identificare la fonte allergenica e l'allergene responsabile della sintomatologia, di predire la gravità delle reazioni e la storia naturale, di prevenire sintomi di cross-reattività inattesi e di evitare restrizioni dietetiche inutili.

Come utilizzare la CRD?

È possibile ricercare le molecole allergeniche in due modi (11):

- 1) singolarmente, con metodica quantitativa *Single-plex*;
- 2) in modo associato, con metodica *Multiplex (microarray)*, che ha il vantaggio di ricercare numerose molecole allergeniche con una quantità minima di siero.

Quale approccio diagnostico utilizzare?

Non esiste una risposta definitiva a tale domanda. Le nuove tecnologie richiedono anni prima di essere completamente integrate nella pratica clinica. Gli specialisti, attualmente, si suddividono, in base al loro orientamento diagnostico, in due categorie. I primi utilizzano il cosiddetto approccio diagnostico *top-down*, preferendo un metodo induttivo che parte dalla storia clinica con *prick test* o analisi delle IgE su estratti e, quindi, l'uso dei test molecolari *single-plex* scelti dal medico; i restanti preferiscono, invece, i *microarray* per fornire una visione ampia e analitica del profilo di sensibilizzazione del paziente, definito come approccio *bottom-up*, partendo quindi dal *microarray* fino alla storia clinica (11). Questo problema è stato risolto dall'*European Academy of Allergy and Clinical Immunology* con la proposta di integrare i due orientamenti in un approccio *U-shaped*, secondo cui il paziente intraprende il *work-up* allergologico classico con esame fisico, *prick test* o IgE specifiche con estratti e molecole selezionate a seconda della storia clinica e dei risultati dei test con estratti (11). Nei pazienti in cui è descritta una sensibilizzazione IgE a molecole cross-reattive, si consiglia di testare la sensibilizzazione ad altre molecole della stessa famiglia con cross-reattività ristretta (ad esempio, proteine di accumulo dei semi) e di indagare con domande concernenti i sintomi scatenati da altre fonti allergeniche che contengono molecole della stessa famiglia. In conclusione, l'allergologia molecolare ha permesso di ottimizzare l'approccio diagnostico alle malattie allergiche offrendo una maggiore precisione ed una migliore efficacia dell'immunoterapia.

IL CASO

Rosa, 3 anni e 10 mesi di età, è giunta alla nostra osservazione per episodi ricorrenti di orticaria. A 2 anni e 10 mesi di vita aveva presentato il primo episodio di anafilassi, con orticaria, angioedema del volto e broncospasmo, dopo ingestione di arachidi. Era stato pertanto eseguito approfondimento allergologico, con riscontro ai *prick test* di positività per proteine del latte vaccino, albume e tuorlo d'uovo, arachidi, graminacee e parietaria. Nonostante la terapia antistaminica con cetirizina e la dieta di esclusione di frutta secca, la bambina ha continuato a presentare episodi ricorrenti di orticaria-angioedema senza correlazione con alcuna fonte allergenica specifica. Di conseguenza è stata effettuata diagnostica *in vitro*, che ha documentato la positività delle IgE specifiche per albume (5.20 kUA/L) e tuorlo d'uovo (1.99 kUA/L), caseina (1.22 kUA/L), alfa-latto-albumina (6.41 kUA/L), beta-latto-globulina (9.08 kUA/L), merluzzo (1.37 kUA/L), arachide (3.49 kUA/L), nocciola (4.84 kUA/L), semi di soia (0.71 kUA/L) e pomodoro (4.35 kUA/L); tra gli allergeni respiratori, si riscontrava positività per graminacee (1.58 kUA/L) e parietaria (0.91 kUA/L). A completamento dell'iter diagnostico, sono state escluse la malattia celiaca mediante lo screening sierologico, le tireopatie attraverso il dosaggio di TSH, FT4 ed anticorpi anti-tireoglobulina e anti-tireoperossidasi ed inoltre un'infezione da

Mycoplasma pneumoniae mediante sierologia. È stata instaurata terapia antistaminica con rupatadina ed intrapresa dieta di esclusione dapprima dell'uovo ed in seguito di latte vaccino, pesce e successivamente pomodoro, senza tuttavia una sostanziale riduzione della frequenza degli episodi. Pertanto, è stata effettuata una valutazione con *Immuno Solid-phase Allergen Chip* (ISAC), con riscontro di: negatività per caseina, alfa-lattoalbumina, beta-lattoglobulina, ovo-mucoide ed ovo-albumina; debole positività per Gal d3 (0.4 ISU-E), Bos d6 (0.6 ISU-E) e Ara h1 (0.8 ISU-E); forte positività per semi di soia (Gly m5 5.7 ISU-E e Gly m6 0.9 ISU-E). Per quanto riguarda le profiline, vi è stato riscontro di positività per Bet v2 (0.4 ISU-E) ed Hev b8 (1.2 ISU-E). Approfondendo ulteriormente l'anamnesi alimentare, i genitori hanno riferito che la bambina assumeva molti alimenti confezionati e che essi avevano inoltre sostituito per un certo periodo il latte vaccino con latte di soia. Da quando è stata intrapresa dieta di esclusione di tutti gli alimenti contenenti lecitina di soia oltre che di frutta secca, la bambina non ha presentato più episodi di orticaria-angioedema. Sono stati infine reintrodotti nella dieta il latte vaccino e l'uovo, senza alcun problema.

DISCUSSIONE

Alcuni soggetti affetti da sindromi allergiche presentano agli esami diagnostici una positività multipla per numerosi allergeni, spesso apparentemente molto diversi tra loro. Pertanto, può essere difficile individuare l'allergene realmente responsabile dei sintomi ed i pazienti sono spesso sottoposti a terapie incongrue ed una dieta di esclusione di numerosi alimenti, riducendo considerevolmente la loro qualità di vita. La diagnostica molecolare permette di discriminare tra le componenti molecolari di una determinata fonte, identificando quelle responsabili della sensibilizzazione primaria, associando a ciascun allergene un potenziale rischio ed individuando una terapia mirata. Il *microarray* è stato sviluppato all'inizio del 2000 (13) e attualmente l'ISAC, basato su 112 diversi componenti molecolari relativi a 51 fonti allergeniche, è lo strumento diagnostico molecolare basato sul *microarray* più studiato e più frequentemente utilizzato. Il test necessita di una minima quantità di siero (20 µl) e richiede circa 5 ore. I risultati sono elaborati sotto forma di classi ISAC (assente, basso, medio ed alto) ed unità ISU, fornendo una determinazione delle IgE di tipo semi-quantitativo (14). Inoltre, recentemente è stato messo a punto da Macro-ArrayDX (Wien, Austria) un *chip* che combina la diagnostica di secondo e di terzo livello. Questo *chip* contiene 157 estratti di allergeni e 125 componenti molecolari e sembra essere l'*array* di allergeni più ampio attualmente disponibile (15).

IL CASO: LA RILEVANZA CLINICA DEL MICROARRAY

La lecitina usata industrialmente è isolata dalla soia o dal tuorlo d'uovo e può essere presente in centinaia di prodotti confezionati (torte, biscotti, merendine, pizze surgelate ed altro) (16). Il confezionamento industriale dei cibi ha amplificato la possibilità di reperire in modo del tutto inaspettato allergeni occulti, con conseguenti reazioni verso alimenti apparentemente innocui rispetto alle sensibilizzazioni note. Nel caso della soia, l'indicazione non è sempre chiara perché viene compresa sotto le voci "proteine vegetali", "olio vegetale" oppure "lecitina".

La soia è costituita per il 40% di proteine; 6 delle 28 proteine della soia sono state designate come allergeni maggiori (Gly m1-Gly m6). Gly m1 e Gly m2 sono particolarmente rilevanti nei lavoratori che presentano sintomi respiratori presso strutture di lavorazione della soia. Gly m3 (una profilina) e Gly m4 sono responsabili della *pollen-food syndrome* in pazienti sensibilizzati alla betulla (17). Tuttavia, la maggior parte del contenuto proteico è costituito dalle 2 proteine di stoccaggio (b-conglicina e glicina), Gly m5 e Gly m6, i cui livelli di IgE sono stati associati a gravi reazioni allergiche nei bambini (18) e sono responsabili della cross-reattività tra soia ed arachide (19).

Il sistema ISAC è dotato di elevata affidabilità diagnostica (20), possedendo il più alto valore predittivo negativo rispetto a qualsiasi altro test impiegato nella diagnostica allergologica (21,

22). Concludendo, l' ISAC, oltre a fornire un quadro ad ampio spettro in caso di anamnesi incompleta o insufficiente, può essere dirimente per chiarire il reale profilo di sensibilizzazione di un paziente polisensibilizzato, per rivelare il rischio potenziale delle specifiche reazioni allergiche e per verificare il profilo anticorpale IgE precedentemente ipotizzato in quei pazienti che presentano una risposta insoddisfacente al trattamento.

BIBLIOGRAFIA

- (1) American Academy of Allergy and Immunology. *Position Statement. The use of in vitro tests for IgE antibody in the specific diagnosis of IgE-mediated disorders and in the formulation of allergen immunotherapy.* J Allergy Clin Immunol 1992; 90: 263-267.
- (2) Wide L, Bennich H, Johansson SG. *Diagnosis of allergy by an invitro test for allergen-specific IgE antibodies.* Lancet 1967; II: 1105-1107.
- (3) Hamilton RG, Adkinson NF. *In vitro assays for the diagnosis of IgE-mediated disorders.* J Allergy Clin Immunol 2004; 114: 213-225.
- (4) International Union of Immunological Societies. *Allergen Nomenclature. Allergen Nomenclature Sub-Committee.* From website: <http://www.allergen.org/List.htm> (ultimo accesso 1/09/2018)
- (5) Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, et al. *EAACI Molecular Allergology User's Guide.* Pediatr Allergy Immunol 2016; 23: 1-250.
- (6) Alessandri C, Ferrara R, Bernardi ML, et al. *Diagnosing allergic sensitizations in the third millennium: why clinicians should know allergen molecule structures.* Clin Transl Allergy 2017; 7: 21.
- (7) Dolen WK. *IgE antibody in the serum -detection and diagnostic significance.* Allergy 2003; 58: 717-723.
- (8) Aalberse RC. *Structural biology of allergens.* J Allergy Clin Immunol 2000: 106; 228-238.
- (9) Aalberse RC, Akkerdaas J, van Ree R. *Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens.* Allergy 2001: 56: 478-490.
- (10) Radauer C, Nandy A, Ferreira F, et al. *Update of the WHO/IUIS Allergen Nomenclature Database based on analysis of allergen sequences.* Allergy 2014; 69: 413-419.
- (11) Matricardi PM, Kleine-Tebbe J, Hoffmann HJ, et al. *EAACI Molecular Allergology User's Guide.* Pediatr Allergy Immunol 2016; 27: 1-250.
- (12) Stringari G, Tripodi S, Caffarelli C, et al. *The effect of component-resolved diagnosis on specific immunotherapy prescription in children with hay fever.* J Allergy Clin Immunol 2014; 134: 75-81.
- (13) Melioli G, Bonifazi F, Bonini S, et al. *The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms.* Clin Biochem 2011; 44: 1005-1011.
- (14) Alessandri C, Scala E, Zennaro D, et al. *La diagnostica molecolare in allergologia.* Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica 2010; 5: 11-20.
- (15) Heffler E, Puggioni F, Peveri S, et al. *Extended IgE profile based on an allergen macroarray: a novel tool for precision medicine in allergy diagnosis.* World Allergy Organ J. 2018; 11:7.
- (16) Burney PG, Potts J, Kummeling I, et al. *The prevalence and distribution of food sensitization in European adults.* Allergy 2014; 69: 365-367.
- (17) Kattan JD, Cocco RR, Järvinen KM. *Milk soy allergy.* Pediatr Clin North Am 2011; 58: 407-426.
- (18) Ito K, Sjolander S, Sato S, et al. *IgE to Gly m 5 and Gly m 6 is associated with severe allergic reactions to soybean in Japanese children.* J Allergy Clin Immunol 2011; 128: 673-675.
- (19) Helm RM, Cockrell G, Stanley SJ, et al. *IgE binding of homologous legume vicilins and glycinins of soy bean and peanut allergens.* J Allergy Clin Immunol 1998; 101: 240.

- (20) Ebo DG, Hagendorens MM, Knop KJ, et al. *Component-resolved diagnosis from latex allergy by microarray*. Clin Exp Allergy 2010; 40: 348-358.
- (21) Ebo DG, Bridts CH, Verweij MM, et al. *Sensitization profiles in birch pollen-allergic patients with and without oral allergy syndrome to apple: lessons from multiplexed component-resolved allergy diagnosis*. Clin Exp Allergy 2010; 40: 339-347.
- (22) Jensen-Jarolim E, Jensen SAF. *Food allergies in the elderly: collecting the evidence*. Ann Allergy Asthma Immunol 2016; 117: 1-4.