

Ti ricordiamo che questo materiale
è di proprietà dell'Autore.
Come partecipante al
XXVIII CONGRESSO NAZIONALE SIMRI
questo materiale ti è fornito da SIMRI
per esclusivo uso personale concesso
dall'Autore



La diagnostica molecolare nelle malattie respiratorie allergiche

Giovanni Simeone
Pediatra di Famiglia –Mesagne



ALEX
ALLERGY EXPLORER

Allergy Explorer

Diagnostica Allergologia Molecolare

Macroarray Multiplex

300 allergeni in un solo Chip! Identifica le tue allergie!

Il processo diagnostico: presupposti teorici

- E' indispensabile appropriarsi di un **percorso diagnostico logico** che evidenzi la vera necessità di utilizzare il test per confermare o escludere la presenza di una determinata condizione patologica
- Uno **strumento diagnostico** che è disponibile non deve essere usato dal medico per il solo fatto che quel test “serve” all'individuazione di un parametro correlato all'ipotetica diagnosi
- Anche il miglior test non sarà mai in grado di escludere al 100% una malattia e nemmeno di confermarla al 100%



DIAGNOSIS



IL CONCETTO DI PROBABILITÀ DELLA DIAGNOSI, SOGLIA DEL TEST E DI CAPACITÀ DIAGNOSTICA

- Perché eseguo questo esame?
- Cosa mi aspetto dall'esito?
- Il risultato orienterà in maniera determinante la mia diagnosi?

IPOTESI DI ACCORDO COLLETTIVO NAZIONALE PER LA DISCIPLINA DEI RAPPORTI CON I PEDIATRI DI LIBERA SCELTA AI SENSI DELL'ART. 8 DEL D.LGS. N. 502 DEL 1992 E SUCCESSIVE MODIFICAZIONI ED INTEGRAZIONI

ACN PER IL RAFFORZAMENTO DELLE ATTIVITÀ TERRITORIALI DI DIAGNOSTICA
DI PRIMO LIVELLO E DI PREVENZIONE DELLA TRASMISSIONE DI SARS-COV-2

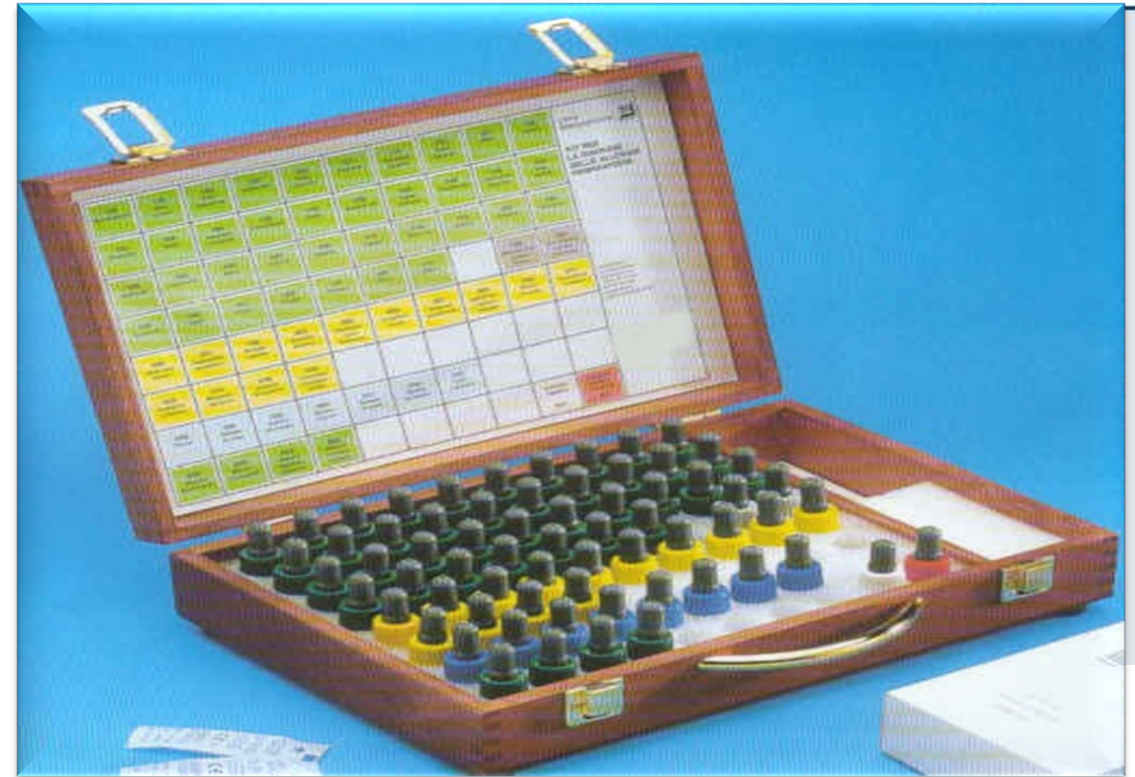
In data 27 ottobre 2020 alle ore 23:00, ha avuto luogo l'incontro per la firma dell'Ipotesi di Accordo collettivo nazionale per la disciplina dei rapporti con i pediatri di libera scelta ai sensi dell'articolo 8 del D.Lgs. n. 502 del 1992 e successive modificazioni ed integrazioni tra

Figura 1

ART. 3 – DISPOSIZIONI IN MERITO ALLA DIAGNOSTICA DI PRIMO LIVELLO.

1. In attuazione di quanto previsto dall'art. 1, commi 449 e 450 della Legge 27 dicembre 2019, n. 160, al fine di far fronte al fabbisogno di apparecchiature sanitarie finalizzate a garantire l'espletamento delle prestazioni di competenza dei pediatri di libera scelta, il miglioramento del processo di presa in cura dei pazienti nonché a ridurre il fenomeno delle liste di attesa, lo Stato ha disposto uno specifico finanziamento. Con Direttiva del Ministro della Salute 14 ottobre 2020 è stato demandato al Commissario straordinario per l'emergenza Covid-19 il compito di procedere all'acquisto e alla distribuzione delle apparecchiature. Inoltre, come indicato dalla citata Direttiva e dall'Atto di Indirizzo per la Medicina Convenzionata approvato dal Comitato di Settore Regioni-Sanità il 15 ottobre 2020, le Regioni provvederanno a distribuire le apparecchiature sanitarie anche attraverso opportuni AA.II.RR. per la Medicina Generale e la Pediatria di Libera scelta.

LA DIAGNOSTICA NELLO STUDIO DEL PEDIATRA DI FAMIGLIA



Marco e Federico

- Marco 5 anni ogni volta che va dalla nonna che ha dei gatti ha prurito oculare , lacrimazione, rinorrea acquosa e starnutazione. I prick test sono positivi per l'epitelio del gatto.
- Federico 7 anni, suo fratello, non ha sintomi quando va dalla nonna, ma la madre chiede di eseguire i test allergologici : i prick test sono negativi.



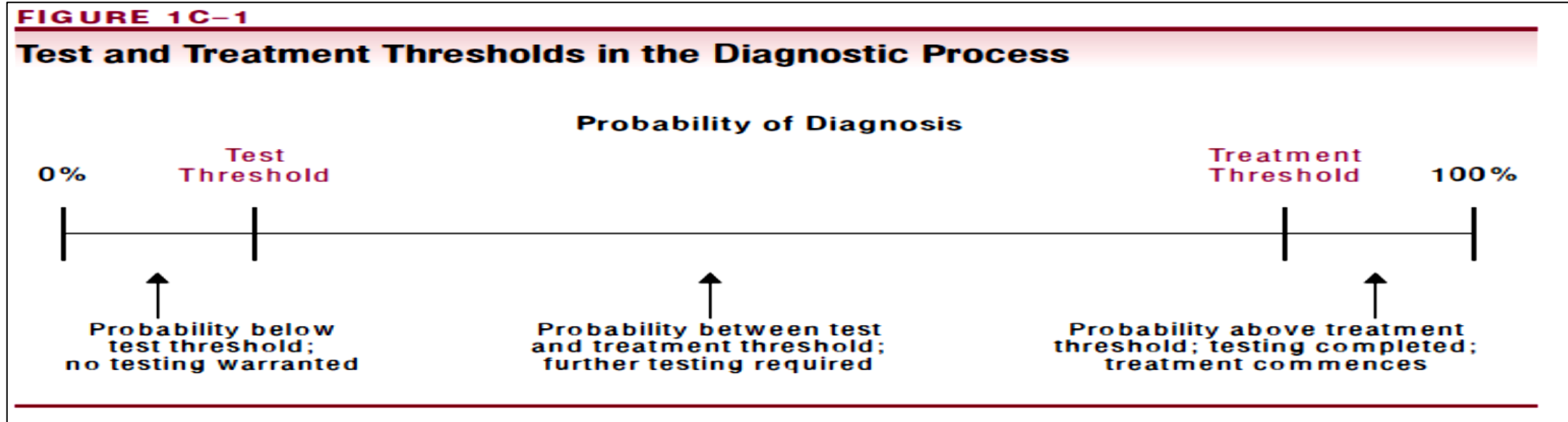
Presupposti teorici

- E' indispensabile approssimare la probabilità, il rischio attuale, che quel paziente sia affetto dalla malattia diagnosticabile con quel test, e prevedere come essa cambierà dopo aver eseguito il test
- Il test andrebbe pertanto eseguito solo se ipotizza che i suoi risultati porteranno la probabilità iniziale di malattia di quel paziente (**PROBABILITA' PRE-TEST**) da un livello X ad un livello Y che ragionevolmente confermi la diagnosi oppure ad un livello Z che ragionevolmente la escluda (**PROBABILITA' POST-TEST**)



IL PROCESSO LOGICO

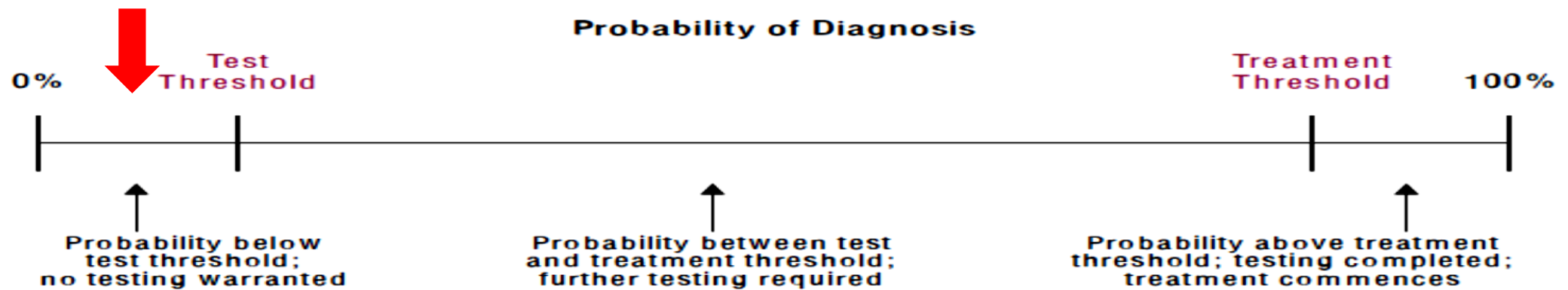
Intuitivamente ad ogni nuova informazione noi passiamo da una **probabilità pre test**, ad una nuova **probabilità post test**



Federico, anamnesi negativa nessun sintomo quando esposto al gatto

FIGURE 1C-1

Test and Treatment Thresholds in the Diagnostic Process

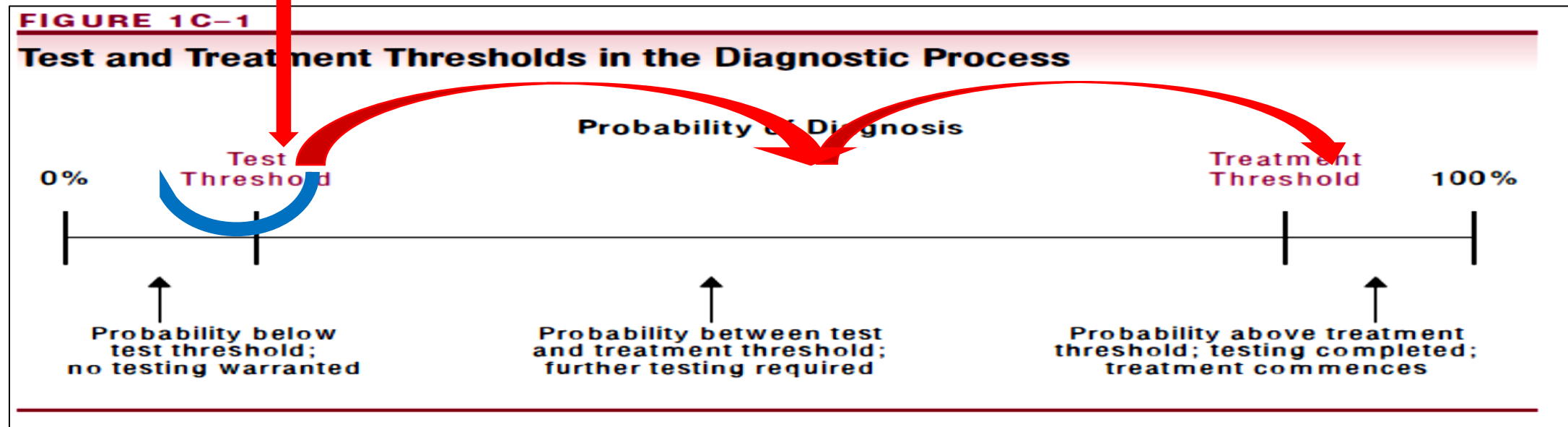


NO TEST



Con Probabilità pre-test di malattia prossime alla soglia del test ...ma ancora lontane dalla soglia di intervento

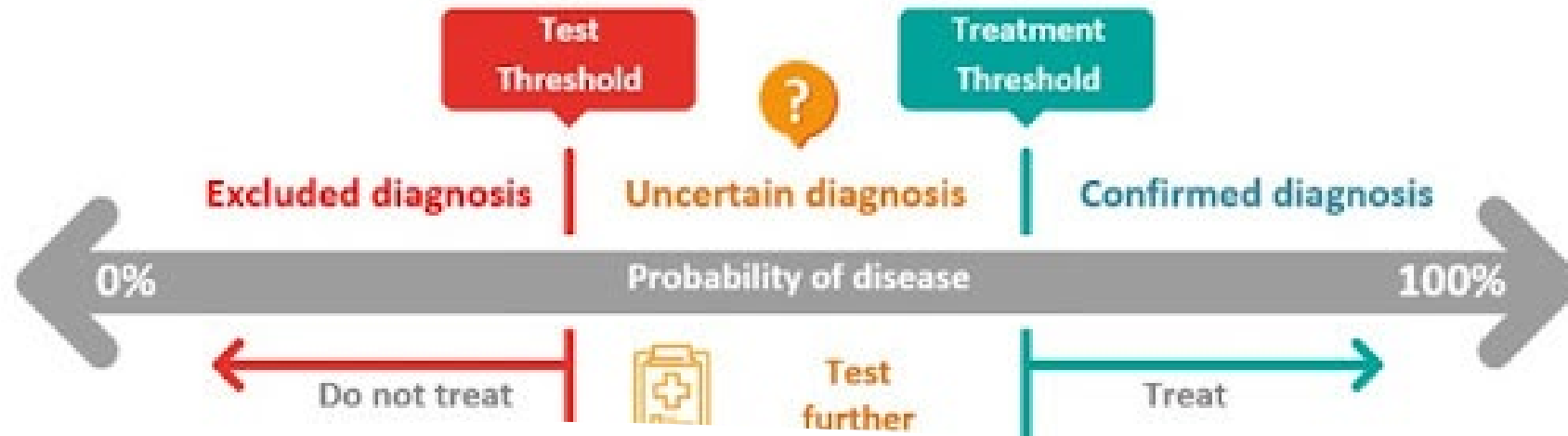
... si tenta, intuitivamente e per gradi (test "in serie") di raggiungere la soglia del trattamento



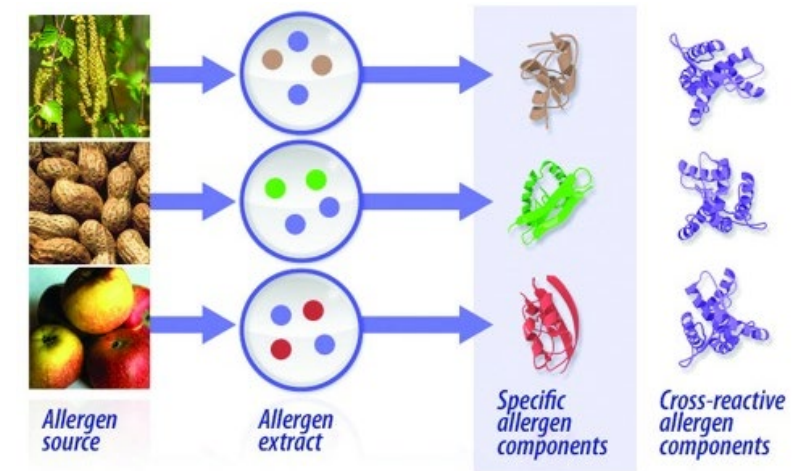
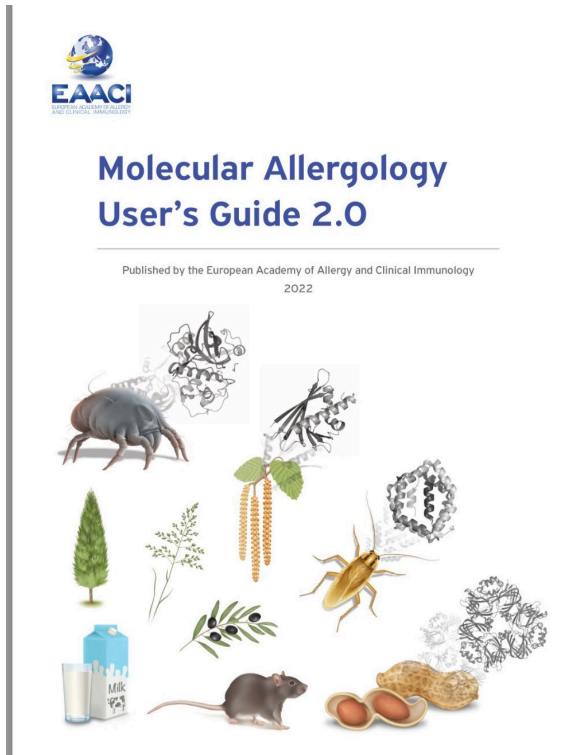
TEST POTENZIALMENTE UTILI



- **Soglia del test** = la probabilità di “malattia” al di sotto della quale si decide che sia inutile indagare ulteriormente
- **Soglia dell'intervento** = la probabilità al di sopra della quale si decide che la diagnosi sia già acquisita



Cosa deve sapere il Pediatra di Famiglia della CRD nella diagnostica delle malattie respiratorie?



Componenti **essenziali** per la diagnostica allergologica

Inalanti stagionali	
Sensibilizzanti primari	
Graminaceae	Phl p1 Phl p5
Parietaria	Par j2
Cupressacee	Cup a1
Oleaceae (frassino, ligustro, forsythia, glicine)	Ole e1
Fagales (betulla, ontano, nocciolo, faggio, quercia)	Bet v1
Artemisia	Art v1 Art v3
Ambrosia	Amb a1
Platano	Pla a 1

Inalanti perenni	
Sensibilizzanti primari	
Acari	Der p1 Der p2 Der p23
Gatto	Fel d1 Fel d4
Cane	Can f1 Can f5

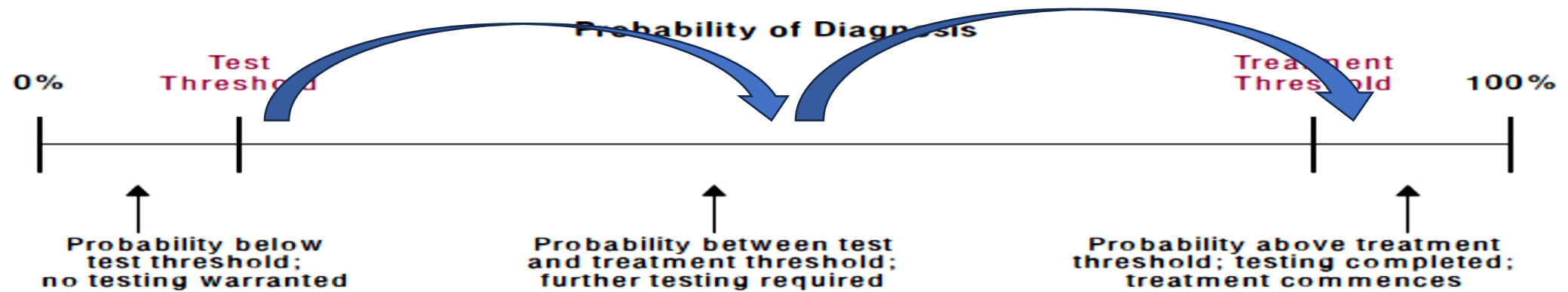
Muffe	
Sensibilizzanti primari	
Alternaria	Alt a1
Aspergillus fumigatus	Asp f1 Asp f2 Asp f3 Asp f4 Asp f6

Cross reattivi	
Albumina	Fel d2
Tropomiosina	Der p10
Profilina	Bet v2/Phl p12
CBP	Phl p7/Bet v4
CCD	MUXF3



FIGURE 1C-1

Test and Treatment Thresholds in the Diagnostic Process



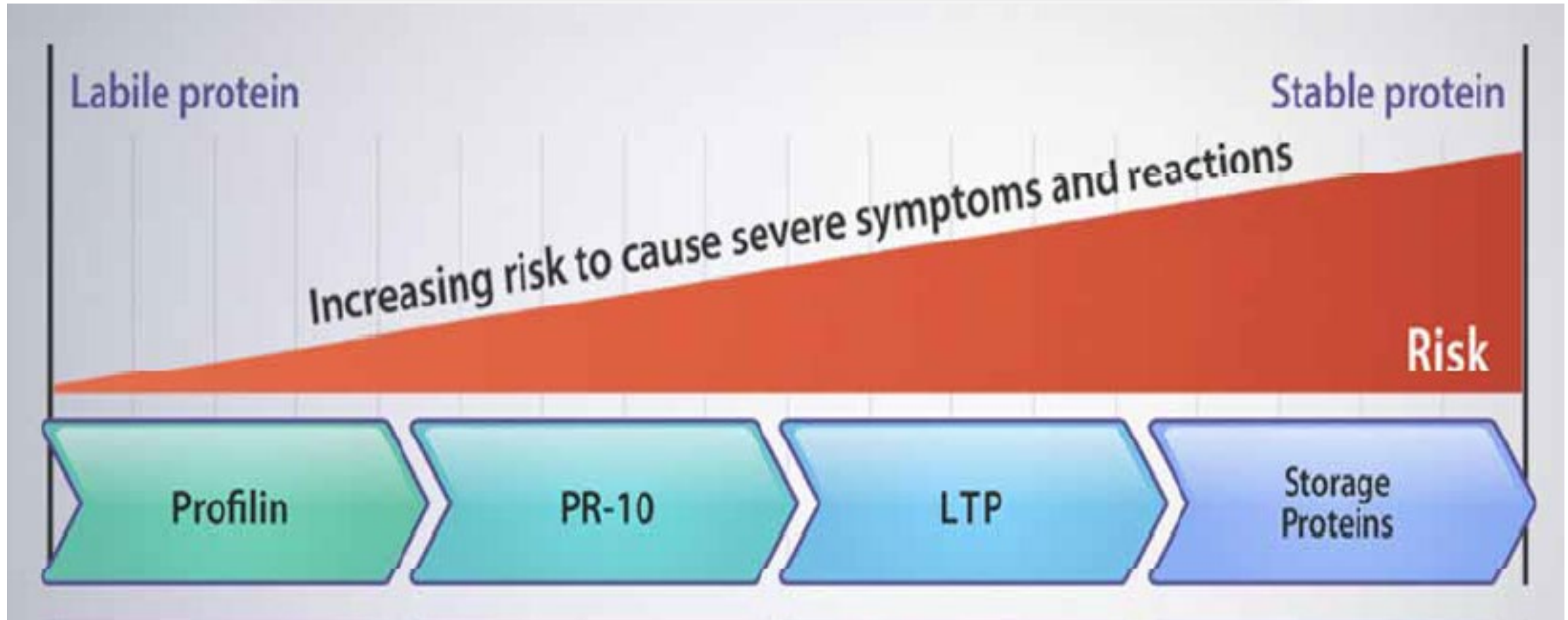
La **Component Resolved Diagnosis** permette di identificare il profilo di reattività IgE di un soggetto sensibilizzato verso le **single componenti molecolari** di un estratto allergenico, aumentando la specificità diagnostica

Chiarisce il significato clinico di quanto emerso nelle fasi diagnostiche precedenti, fornendo informazioni prognostiche più accurate





Component-resolved diagnosis in pediatric allergic rhinoconjunctivitis and asthma





Francesco 14 anni

Rinite e congiuntivite lieve dall'età di 11

Negli ultimi anni peggioramento dei sintomi

I sintomi sono più evidenti durante la tarda primavera e l'estate

I sintomatici non hanno contribuito ad alleviare i sintomi

Gli Skin Prick test (SPT) hanno rivelato risultati positivi per **graminacee, olivo e parietaria**

Puo' essere sottoposto ad ITS ?



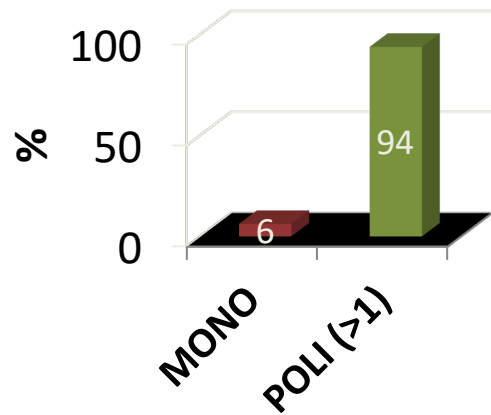


Pollen-induced allergic rhinitis in 1360 Italian children: Comorbidities and determinants of severity

Arianna Dondi^{1,2,*}, Salvatore Tripodi^{3,*}, Valentina Panetta⁴, Riccardo Asero⁵, Andrea Di Rienzo Businco³, Annamaria Bianchi⁶, Antonio Carlucci⁶, Giampaolo Ricci¹, Federica Bellini¹, Nunzia Maiello⁷, Michele Miraglia del Giudice⁷, Tullio Frediani⁸, Simona Sodano⁸, Iride Dello Iacono⁹, Francesco Macrì⁸, Valerio Massaccesi⁸, Carlo Caffarelli¹⁰, Laura Rinaldi¹⁰, Maria Francesca Patria¹¹, Elena Varin¹², Diego Peroni¹³, Iolanda Chinellato¹³, Loredana Chini¹⁴, Viviana Moschese¹⁴, Sandra Lucarelli⁸, Roberto Bernardini¹⁵, Giuseppe Pingitore¹⁶, Umberto Pelosi¹⁷, Mariangela Tosca¹⁸, Francesco Paravati¹⁹, Stefania La Grutta²⁰, Paolo Meglio²¹, Mauro Calvani²², Mario Plebani²³, Paolo Maria Matricardi²⁴; the Italian Pediatric Allergy Network (I-PAN)

1360 Pollinosici (RC e/o A)
4-18 anni
età media 10.5 anni

Sensibilizzazione SPT



Polisensibilizzati SPT

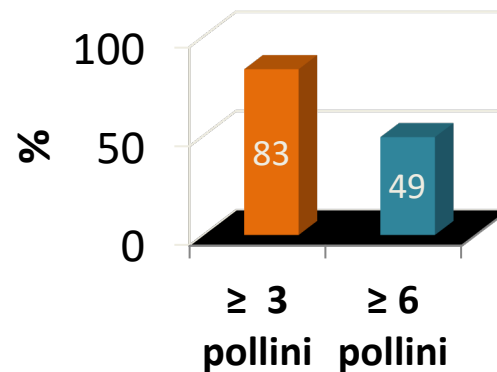


Table 2 Atopic sensitization to airborne and

Allergenic extract	All (N = 1360) %
Pollen	
→ P. pratense	89.6
C. dactylon	70.2
↘ Olive tree	59.6
P. lanceolata	58.8
C. album†	64.4
↘ Cypress	41.4
↘ Birch	37.1
Plane	34.2
↘ Pellitory	34.3
Hazel†	39.9
↘ Mugwort	24.4
Salsola†	25.1
Ambrosia†	22.5

ImmunoCAP® Allergen Components used	Antibody level (kU/l)
g213, rPhl p 1, rPhl p 5b, Timothy	9.5
g210, rPhl p 7, Timothy	1.1
g212, rPhl p 12 Profilin, Timothy	1.8
t224, nOle e 1, Olive	<0.1
w211, rPar j 2 LTP, Wall pellitory	17.4

Confermata **positività per graminacee e parietaria**

Risultato **negativo per Ole e 1**

Questi risultati, in combinazione con la storia clinica, suggeriscono che la **immunoterapia specifica** per graminacee e parietaria sarebbe indicata

Cortesia dott.ssa Pecorari



Si fa presto a dire ...acaro



Dermatophagoides



Der p 1, Der p 2



Der p 10

TROPOMIOSINA

Crostacei, Miti, Molluschi,
Lumache, Anisakis

Aragosta, granchio, gamberetto,
scarafaggio, lumache, molluschi

Cortesia dott.ssa Pecorari

IgE specifiche per
Der p1 Der p2
+
Der p10

Der p1 Der p2
Der p10 Negativi

Nessun rischio di allergia al
Dermatophagoides
pteronyssinus

Der p1 Der p2 Positivi
Der p10 Negativo

Rischio di allergia con sintomi
respiratori e cutanei
Paziente monosensibile specie-
specifico all'acaro indagato,
rispondenza all' immunoterapia

**Der p1 Der p2 Positivi
Der p10 Positivo**

Rischio di allergia con sintomi non solo
respiratori e cutanei, ma anche gastrointestinali,
paziente potenzialmente polisensibile verso altri
allergeni, efficacia dell' immunoterapia
compromessa
Accertamenti consigliati: Pen a1, Lumaca,
Blatella, Anisakis, Chironomus

La **CRD** nella diagnosi della **SOA da allergeni respiratori labili** nell'ambulatorio del Pediatra di Famiglia

Background : L'ipersensibilità ad allergeni vegetali labili come **PR-10** e **profilina**, secondaria ad allergia a pollini causa spesso una **sindrome orale allergica (SOA)**

La sensibilizzazione IgE-mediata agli **allergeni pollinici** è spesso associata a un'**allergia alimentare** a causa del co-riconoscimento (cioè della reattività crociata) di proteine strutturalmente omologhe presenti negli alimenti di derivazione vegetale. È stato stimato che fino al 60% delle allergie alimentari nei bambini più grandi, negli adolescenti e negli adulti sono collegate a un'allergia agli inalanti.



BSACI guideline for the diagnosis and management of pollen food syndrome in the UK

Isabel J. Skypala^{1,2} | Hannah Hunter^{3,4} | Mamidipudi Thirumala Krishna^{5,6} |
 Helena Rey-Garcia¹ | Stephen J. Till^{3,7} | George du Toit^{7,8,9} | Elizabeth Angier¹⁰ |
 Sarah Baker¹¹ | Kostadin V. Stoenchev¹ | David K. Luyt¹²

4.2 | Diagnostic clinical history

The diagnosis of PFS mediated by Bet v 1 or profilins can be made in through clinical history alone (Figure 1).^{12,55} If the answer to the following six questions is affirmative, then the diagnosis is almost certainly PFS:

1. Are the foods provoking symptoms raw fruits, raw nuts or raw carrot/celery?
2. Are the same trigger foods tolerated when well-cooked or roasted?
3. Do the symptoms occur immediately or within a few minutes of eating?
4. Are the symptoms localized to the oropharynx and include tingling, itching or swelling?
5. Does the patient experience seasonal allergic rhinitis, or if not, are they sensitized to pollen?⁵⁶



POLLEN FOOD SYNDROME IN THE UK

DIAGNOSIS

TREE POLLEN SENSITISATION with **TYPICAL SYMPTOMS** of itchy mouth and throat

40% of birch-sensitised children
70% of birch-sensitised adults

to **RAW PLANT FOODS** with proteins similar to those in pollen (e.g. pathogenesis related proteins; PR-10) that are broken down by cooking or processing

ALLERGY TESTING ONLY WHEN

Reactions are **atypical or severe** and/or triggers include plant foods which are **processed** (e.g. roasted nuts, nuts in foods, processed fruit or vegetables and soya products other than milk) and/or **not linked to pollen food syndrome** (PFS; e.g. cashew nut, pistachio nut, sesame seeds, beans, lentils, chickpeas)

SKIN PRICK TESTING (SPT) to plant foods

COMPONENT RESOLVED DIAGNOSTICS (CRD)

RESULTS SUPPORTING A DIAGNOSIS OF PFS

SPT
Positive to raw but not cooked foods
Negative to extracts of tree nuts, peanuts or soya

CRD
Negative sIgE to ns-LTP or seed storage proteins in peanuts, tree nuts or soya



MANAGEMENT

DIET
Avoidance of personal triggers in their raw form and advice on foods known to provoke more severe reactions e.g.

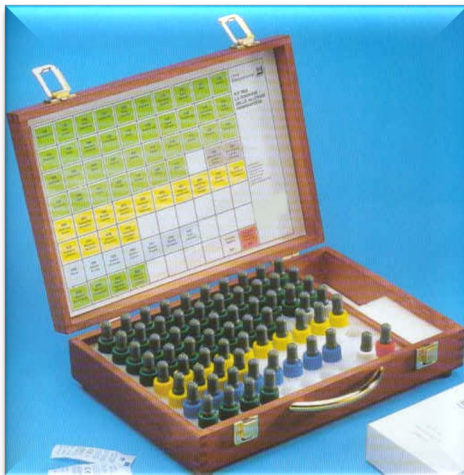
MEDICINES
Anti-histamines as needed

CLINICAL & EXPERIMENTAL ALLERGY TRUSTED EVIDENCE IN ALLERGY

Systemic allergic reactions induced by labile plant-food allergens: Seeking potential cofactors. A multicenter study

Riccardo Asero¹  | Renato Ariano² | Arianna Aruanno³ | Claudio Barzaghi⁴ | Paolo Borrelli⁵ | Moira Busa^{6,7} | Giorgio Celi⁸ | Massimo Cinquini⁹ | Gabriele Cortellini¹⁰ | Francesca D'Auria¹¹ | Marco De Carli¹² | Camilla Di Paolo⁹ | Giulia Garzi¹³ | Fabio Lodi Rizzini¹⁴ | Monica Magnani¹⁵ | Giuseppina Manzotti¹⁶ | Alessandro Marra⁴ | Stefano Miceli Sopo¹⁷ | Francesco Murzilli¹⁸ | Eleonora Nucera³ | Elena Pinter¹³ | Valerio Pravettoni¹⁹ | Federica Rivolta¹⁹ | Angela Rizzi³ | Nicoletta Saporiti²⁰ | Enrico Scala²¹  | Danilo Villalta²² | Mona-Rita Yacoub²⁰ | Giuliana Zisa²³

- Possibile anche in ambulatorio
(Immediatezza dei risultati e costi più bassi)
 - Prick-Prick
 - SPT con Profilina e nsLTP



c. No

7- Ha assunto bevande alcoliche poco prima e/o poco dopo e/o con il pasto? *Si possono barrare più opzioni*

- a. Sì, poco prima
- b. Sì, poco dopo
- c. Sì, durante il pasto
- d. No

8- Se sì, cosa ha bevuto e quanto?

.....

9- Da quante ore non mangiava prima di assumere l'alimento/gli alimenti che hanno preceduto la reazione allergica (comprese le bevande e ad esclusione dell'acqua)?

- a. Da meno di 12 ore
- b. Da 12 o più ore

10- Ha svolto attività fisica e/o uno sforzo fisico prima, durante o fino a 4 ore dopo il pasto?

- a. Sì
- b. No

11- Se sì, cosa e quanto?

.....

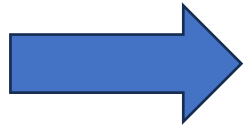
12- Ha assunto farmaci o integratori prima della reazione allergica o nei giorni precedenti? Ad esempio protettori dello stomaco (esomeprazolo, omeprazolo, pantoprazolo, lansoprazolo) o anti-infiammatori (ketoprofene, ibuprofene, diclofenac, ketorolac), o altri farmaci o integratori alimentari?

- a. Sì
- b. No

13- Se sì, che farmaco e/o integratore ha assunto, quanto e per quanto tempo?

.....

	PATIENTS	CONTROLS	P
No.	89	81	
Adverse reaction (%)			
Urticaria/angioedema	41 (46%)	N/A	
Anaphylaxis	38 (43%)	N/A	
Asthma	5 (6%)	N/A	
Gastrointestinal	5 (6%)	N/A	
>1 episode of systemic reaction	20 (22%)	N/A	
Foods causing systemic reactions (%)			
Rosaceae	30 (34%)*		
Tree nuts (walnut, hazelnut)	31 (35%)**		
Soy milk/Soybean	16 (18%)		
Apiaceae	16 (18%)		
Melon, Watermelon	6 (7%)		
Tomato	4 (4%)		
Kiwi	3 (3%)		
Citrus fruits	2 (2%)		
Fig	2 (2%)		
Eggplant+	1 (1%)		
Banana	1 (1%)		
Persimmon	1 (1%)		
Peanut	1 (1%)		
Lettuce	1 (1%)		
Grapes	0 (0%)		
Cofactors:			
PPI	17 (19%)	4 (5%)	<0.025
Atrophic gastritis	1 (1%)	0 (0%)	NS
Exercise	6 (7%)	N/A	
NSAID	3 (3%)	N/A	
Fasting	15 (17%)	N/A	
Excess of allergen	10 (11%)	N/A	
Liquid food	13 (14%)	2 (2%)	<0.025
Any one cofactor	50 (56%)		



Coinvolgimento del Pediatra nel processo diagnostico



- 1) Utilizzo dei prick tests nel nostro studio
- 2) semplicità di esecuzione ed interpretazione, immediatezza
- 3) minima invasività tanto da renderlo ben accettabile nel bambino,
- 4) rischio quasi nullo di effetti collaterali,
- 5) costi modesti sia per il materiale usato (allergeni, strumenti per prick e lettura) sia per il tempo necessario alla lettura.



- ❑ Quando un pediatra di famiglia dovrebbe inviare al secondo livello per una diagnostica molecolare ?
- ❑ Se il paziente è **polisensibile** con pollini/muffe che si sovrappongono come periodo ed è difficile individuare l'allergene/gli allergeni clinicamente rilevanti per quel paziente, e **non è adeguatamente controllato con terapia farmacologica**
- ❑ Per conoscere il profilo di sensibilizzazione verso le molecole allergeniche specie-specifiche e verso quelle cross-reattive, in correlazione alla storia clinica, può aiutare a scegliere una più appropriata ITS

□ .Cosa aggiunge alla mia anamnesi e prick test?

Alla mia anamnesi ed ai miei prick test non aggiunge nulla perchè la mia terapia non è eziologica (ITS) ma farmacologica (antistaminici, cortisonici, ect)

Va sottolineato il rischio di risultati inattesi se si fa il **multiplex**: cerchi l'allergene inalante rilevante e trovi pure un Pru p3 positivo, ma il bambino si mangia le pesche e rosacee senza problemi: che fare?



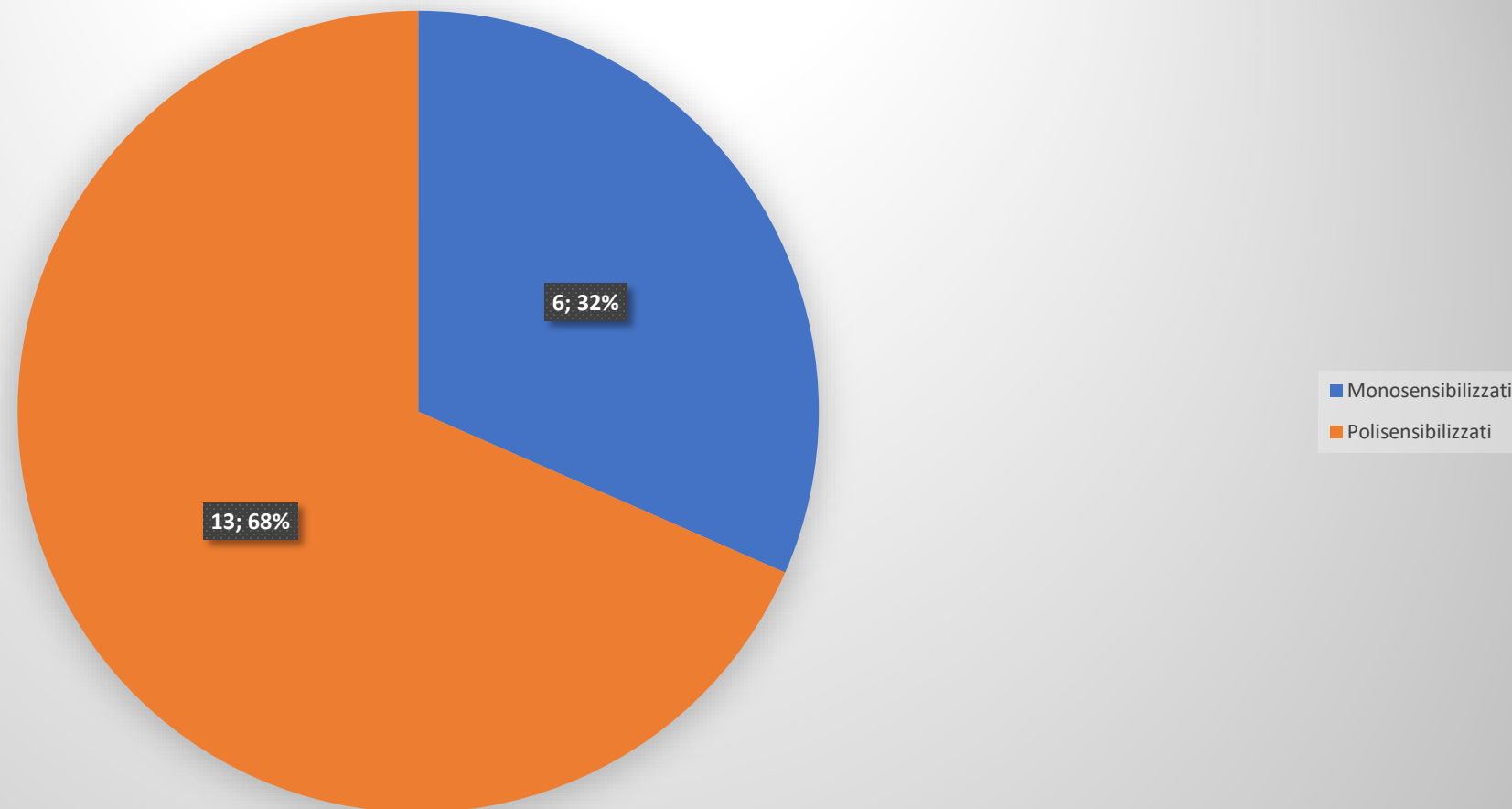
• Quando invece non farlo, evitando costi aggiuntivi alla famiglia?

- Quando è chiaramente un mono/oligosensibile, si possono discriminare chiaramente i periodi di pollinazione. Per es. Cipresso a Gennaio-Febbraio e Alternaria Agosto-Settembre

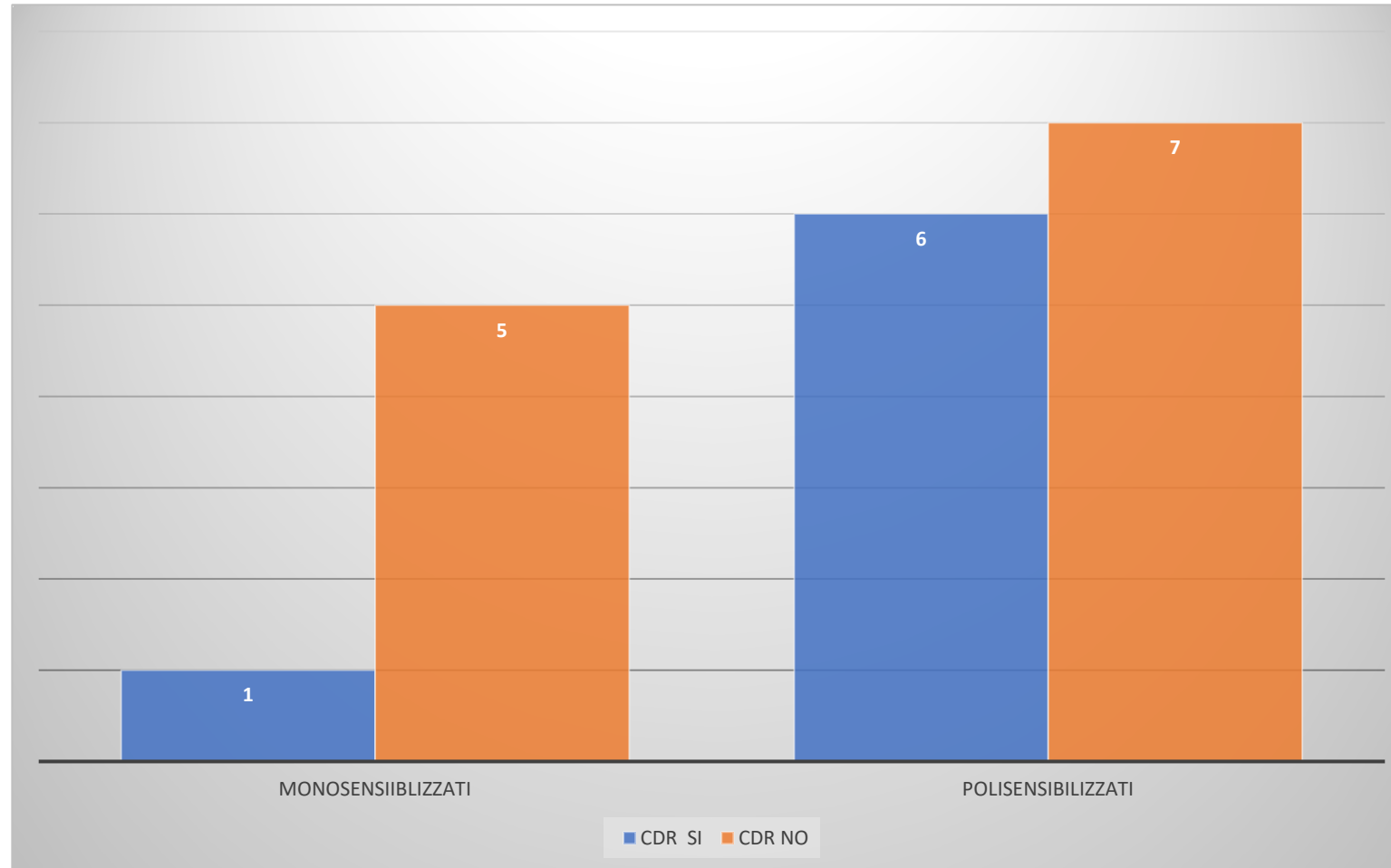
- Ed ovviamente quando gli SPT sono negativi (sono più sensibili, purchè fatti bene e con materiale adatto), per l' **alto valore predittivo negativo**

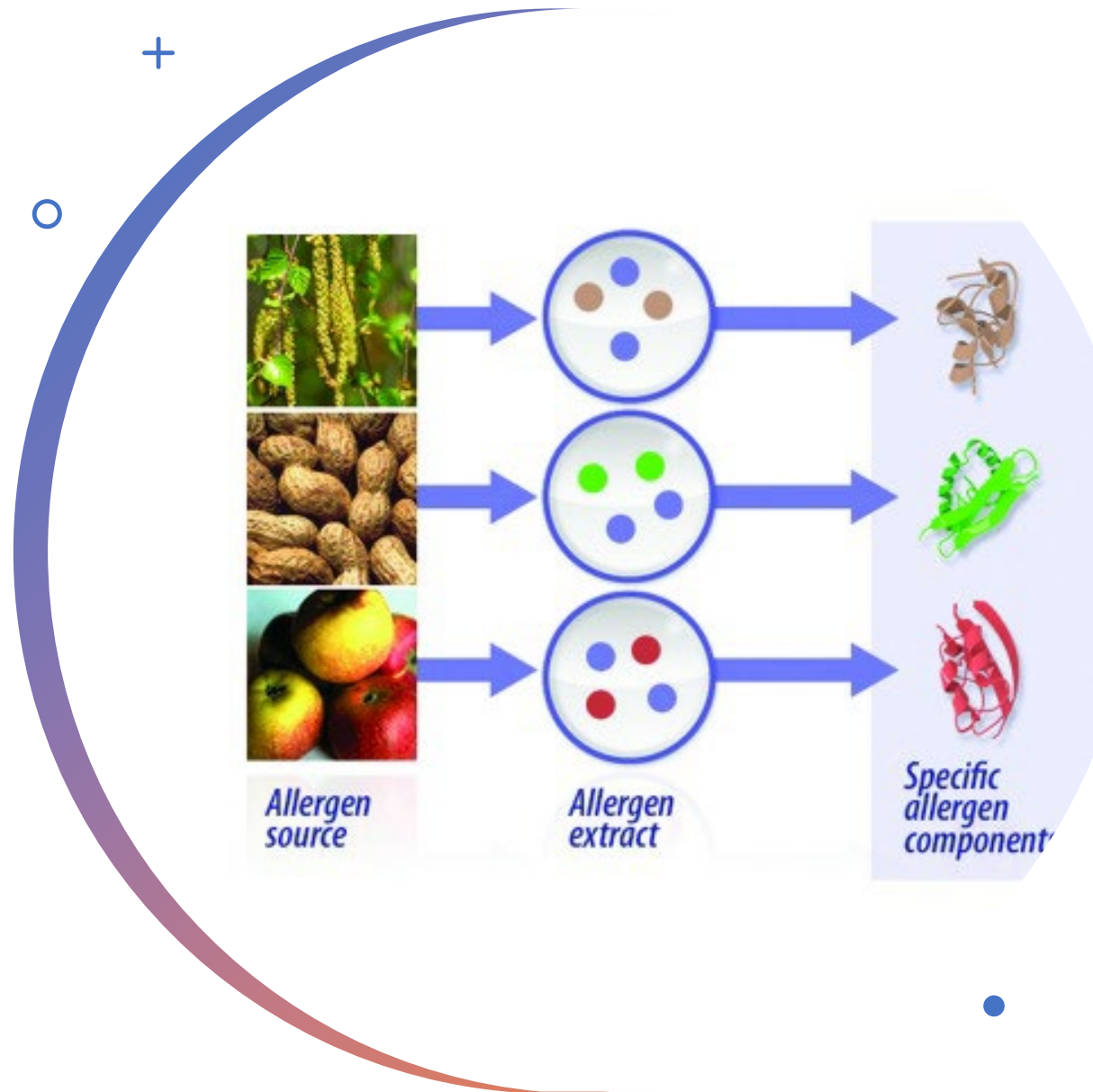


Per coloro che fanno ITS: si tratta di pazienti polisensibilizzati o mono sensibilizzati?



Prima della prescrizione della ITS è stata fatta richiesta di test di II livello per allergologia molecolare?





- CRD é sicuramente una diagnostica di II livello diagnostica di competenza specialistica

- Al Pediatra spetta **la sorveglianza** dell'andamento dell'AiT che il suo paziente sta effettuando

-

Il nostro ruolo è quello di correlare i risultati delle indagini allergologiche di primo, secondo livello, con la sintomatologia clinica, non solo per chiarire il reale ruolo scatenante degli allergeni, ma anche per individuare il peso delle singole allergie nei soggetti polisensibilizzati,

La gestione clinica debba essere nostra, e agli specialisti allergologi tocchi decodificare i risultati per fornirci una base per le nostre osservazioni e per le decisioni in supporto ai pazienti ed alle famiglie.



Condivisione del percorso diagnostico- terapeutico



Grazie

