

INTERNATIONAL

NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

ISSN 2038-2553

2025 • Vol. 43 • n. 2



UN VIAGGIO
LUNGO 45 ANNI:
GUARDA IL VIDEO

A 45-YEAR JOURNEY:
WATCH THE VIDEO

UN VIAJE 45 AÑOS
DE DURACIÓN:
MIRA EL VIDEO



ANNIVERSARY

NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

2025 • Vol. 43 • n. 2

DIRETTORE RESPONSABILE
EDITOR IN CHIEF • DIRECTOR EDITORIAL
Gianni Mistrello

REDAZIONE
EDITORIAL STAFF • REDACCIÓN
Lorenzo Romagnoli

PROGETTO GRAFICO
GRAPHIC DESIGN • DISEÑO GRÁFICO
Maura Fattorini

STAMPA
PRINT • IMPRENTA
Àncora Arti Grafiche
via Benigno Crespi, 30 - 20159
Milano, Italia • Milan, Italy



AMMINISTRAZIONE
ADMINISTRATION • ADMINISTRACIÓN

Lofarma S.p.A.
Viale Cassala 40, 20143
Milano, Italia • Milan, Italy
tel. +39 02 581981
fax +39 02 8322512
e-mail: redazione@lofarma.it
www.lofarma.it
www.lofarma.com

Registrazione Tribunale di Milano n. 306 dell' 1.8.1980
Pubblicazione quadrimestrale

Registration with the Court of Milan n. 306 of 1.8.1980
Four-monthly publication

Registro en el Tribunal de Milán n. 306 de 1.8.1980
Publicación cuatrimestral

Il **Notiziario Allergologico** è on-line su
The **Notiziario Allergologico** is on-line at
El **Notiziario Allergologico** está en-línea en

www.lofarma.it

COPERTINA • COVER • PORTADA



INDICE

Notiziario Allergologico, 2025 Vol. 43, n. 2

EDITORIALE

2

Gianni Mistrello e Domitilla Vaglio

AGGIORNAMENTI



Prefazione a cura di Gianni Mistrello

4

Produzione *in vitro* di IgE da parte di linfociti umani di sangue periferico

5

Romagnani S, Maggi E, Del Prete GF, Troncone R, Ricci M

Prefazione a cura di Gianni Mistrello

7

**Gli acari della polvere domestica:
cenni storici e tecniche per rilevarne la presenza**

8

Mistrello G, Roncarolo D, Ottoboni F

Prefazione a cura di Enrico Compalati

13

Immunoterapia sublinguale: stato dell'arte e aggiornamenti

14

Passalacqua G, Guerra L, Pasquali M, Fumagalli F, Canonica GW

Prefazione a cura di Gianni Mistrello

20

Aspetti regolatori dei prodotti allergenici

21

Falagiani P

Prefazione a cura di Enrico Compalati

29

Studi clinici per la SLIT: importanza della metodologia

30

Compalati E

Prefazione a cura di Gianni Mistrello

38

Il microarray nella diagnosi allergologica

39

Asero R

LOFARMA ACADEMY

Franco Frati



L'immunoterapia sublinguale in real practice oggi: esperienze a confronto

49

Sambugaro G, Sambugaro R

Notiziario Allergologico

VERSIONE PDF

Il **Notiziario Allergologico** nasce e vive da oltre quarant'anni.

Oggi diventa internazionale con una nuova veste grafica che prevede la traduzione di tutti i contenuti in tre lingue. La finalità rimane immutata se non implementata: promuovere la cultura allergologica offrendo ai lettori la possibilità di un approfondimento e di un aggiornamento su varie tematiche allergologiche anche rivolte al futuro, grazie alla competenza e autorevolezza degli autori degli articoli pubblicati. Il carattere divulgativo degli articoli contribuisce a rendere gli stessi fruibili da un vasto numero di specialisti non solo allergologi ma anche pneumologi, pediatri, dermatologi etc.



ITALIANO



45 ANNI DI NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

a cura di Gianni Mistrello

Il duplice compleanno di Lofarma e del Notiziario Allergologico

Nella nostra cultura celebrazioni e festeggiamenti si concentrano in particolare in occasione di repliche multipli di 10. In questo caso un consueto compleanno assume un carattere del tutto particolare, visto che coincide con l'ottantesimo anniversario di Lofarma, l'Azienda a cui dobbiamo la nascita de "Il Notiziario Allergologico", che taglia invece il traguardo del quarantacinquesimo anno di pubblicazione e lo fa con un numero speciale che racchiude una selezione di alcuni degli articoli più significativi pubblicati nel corso dei suoi quarantacinque anni di vita, e che sono testimonianza dello spirito che ha ispirato la sua nascita.

Le brevi introduzioni che accompagnano ciascun pezzo rappresentano anche un'analisi del contesto odierno in cui tali argomenti sono ancora attuali e, in alcuni casi, ancora al centro del dibattito scientifico e medico.

Brevi cenni sull'azienda

Sono convinto che molti lettori si unirebbero a noi per brindare all'evento, non solo i principali protagonisti che purtroppo non ci sono più: in primis il Dr. Centanni, uno dei pionieri dell'Allergologia italiana, che dopo i primi successi condivise con l'Ing. Tito Livio Vaglio (Amministratore del Laboratorio Farmaceutico Lofarma) l'idea di specializzare l'Azienda (oggi Lofarma), privilegiando il campo della produzione degli estratti allergenici da usare sia nella diagnosi che nella terapia delle malattie allergiche. Ecco così che, sotto la sua Direzione, Lofarma iniziò a svilupparsi, crescere e diventare quella che attualmente è: un'Azienda che rappresenta una realtà importante nel panorama allergologico italiano e non, sempre attenta a proporre sul mercato prodotti con un forte impatto innovativo.

La storia del Notiziario Allergologico

Tornando al Notiziario, se il Dr. Centanni è stato l'ispiratore, il

grande animatore dell'iniziativa che ha portato poi alla nascita della rivista è stato il Dr. Falagiani, l'allora Direttore Scientifico. A quei tempi l'Allergologia era agli albori ma in gran fermento rispetto al passato grazie all'impegno di molti ricercatori, e il Dr. Falagiani ebbe l'intuizione di creare uno strumento di facile consultazione che contribuisse a diffonderla e renderla fruibile da un numero crescente di specialisti e non. Scopo della rivista era quello di soddisfare la curiosità e il desiderio di una maggior conoscenza dei vari aspetti allergologici che a quei tempi si stavano acquisendo, offrendo ai lettori un'occasione di crescita e arricchimento culturale. Avendo in mente questo obiettivo, e grazie al suo entusiasmo coinvolgente, riuscì a trovare un supporto concreto in molti esperti del settore dell'epoca i quali si dimostrarono pronti a collaborare, dispensando sul tema la loro competenza con continui aggiornamenti, sempre proposti in termini divulgativi proprio per facilitarne la comprensione. Ben presto la rivista divenne un punto di riferimento nel panorama allergologico e innumerevoli sono stati i contributi dei vari esperti del settore che, in virtù della loro competenza, hanno contribuito al successo della stessa. Ne sono testimonianza i numerosi apprezzamenti ricevuti da molti lettori negli anni, proprio per l'attività di aggiornamento e divulgazione scientifica che la rivista ha svolto.

La prima versione grafica e il primo formato erano davvero essenziali, ma già allora i contributi erano di una certa rilevanza. Nel tempo, sia la grafica che il formato sono diventati più moderni e accattivanti, mantenendo però intatto lo spirito e l'identità originale della rivista. I contenuti si aggiornavano man mano per stare al passo delle nuove acquisizioni scientifiche, e la rivista si arricchiva di nuove rubriche. Proprio in occasione dell'inserimento di una nuova rubrica (L'Immunologo) iniziò, su invito del Dr. Falagiani, il mio impegno nella rivista. Per anni mi occupai della stesura di brevi articoli che spiegavano in termini il più semplice possibile le varie tecniche analitiche e strumentali che si andavano sviluppan-



*L'evoluzione
della veste grafica
nel corso di 45 anni
dalla fondazione
del Notiziario
Allergologico.*

do e applicando per migliorare la standardizzazione degli estratti allergenici su cui si basavano i prodotti per la diagnosi e la terapia delle malattie allergiche. Con la prematura scomparsa del Dr. Falagiani, l'allora Presidente di Lofarma (Rubens Vaglio) mi invitò a raccogliere "le redini della rivista" con l'impegno di preservarne la *mission*. È quello che ho tentato di fare in questi anni e l'interesse che la rivista continua a dimostrare presso la classe medica costituisce per me e la squadra redazionale (in passato il Dr. Ottoboni, oggi il Dr. Romagnoli) motivo di orgoglio e un forte incentivo a continuare questa esperienza entusiasmante.

Negli ultimi anni, l'avvento delle nuove tecnologie ha portato inevitabilmente a una trasformazione nei modi di fruizione delle informazioni. Il Notiziario Allergologico, pur mantenendo la sua versione cartacea, ha accolto questa evoluzione con entusiasmo, adattandosi ai tempi senza perdere la sua identità. Oggi, infatti, la rivista è disponibile anche online, offrendo ai lettori, in par-

ticolare quelli più giovani, la possibilità di consultarla in modo ancora più comodo e immediato.

Più recentemente è stata arricchita anche di traduzioni in inglese e spagnolo.

La decisione di rinnovare Il Notiziario Allergologico ha segnato un ulteriore passo verso una diffusione globale delle conoscenze e un maggior scambio tra i professionisti del settore. L'introduzione della Rubrica Lofarma Academy, curata dal Dr. Franco Frati, è la nostra risposta concreta alla necessità di coltivare la cultura scientifica nelle nuove generazioni di medici che si preparano a rispondere alle sfide future dell'Allergologia.

Oltre alla memoria dei protagonisti, lasciamo ora che siano gli articoli che abbiamo selezionato a raccontare la storia della rivista.

Buona lettura.

Gianni Mistrello, Editore Notiziario Allergologico

Per Lofarma il 2025 segna un doppio traguardo

a cura di **Domitilla Vaglio**



Come ricordato dal Dr. Gianni Mistrello nell'Editoriale, quest'anno celebriamo un doppio traguardo che segna una tappa fondamentale nella storia di Lofarma e de Il Notiziario Allergologico. Il quarantacinquesimo anniversario della rivista coincide con l'ottantesimo anniversario della nostra Azienda, un cammino che, sin dal principio, è stato

guidato dalla passione per la Ricerca, l'Innovazione e l'Evoluzione del settore medico-scientifico.

Lofarma ha sempre creduto nell'importanza di investire nella Conoscenza, nella Formazione e nell'Aggiornamento continuo della classe medica nell'ambito dell'Allergologia. Il Notiziario Allergologico da oltre quattro decenni è un punto

di riferimento per tutti quei medici interessati agli aggiornamenti sulle tematiche legate alle allergie.

Con questo duplice anniversario, dunque, celebriamo non solo la nostra lunga storia, ma anche la nostra continua visione di futuro.

Buona lettura.

Domitilla Vaglio, Presidente Lofarma

a cura di Gianni Mistrello



Notiziario Allergologico

Anno I • n. 11 • Settembre 1980

Sia il concetto odierno di immunoterapia specifica riconducibile agli studi pionieristici di Noon e Freeman (che trattarono "al buio" soggetti con determinate manifestazioni cliniche, somministrando solo per via sottocutanea estratti pollinici acquosi) che quello di allergia nascono agli inizi del secolo scorso. Quest'ultimo, in particolare, grazie prima al medico viennese Carl von Pirquet (fu il primo a osservare una modificazione della capacità di un organismo di reagire a un antigene) e successivamente a due medici tedeschi, Prausnitz e

Kustner (1921), con la dimostrazione che una sensibilizzazione allergica poteva essere trasferita tramite siero da un soggetto allergico a uno sano. Dopo questi primi passi, per molti anni non si fecero ulteriori progressi significativi sul tema; progressi che invece furono straordinari dopo la scoperta dell'esistenza di una nuova classe di immunoglobuline da parte di due ricercatori giapponesi (i coniugi Ishizaka), e che tali immunoglobuline (oggi note come IgE) erano presenti nel siero di soggetti allergici.

In questo primissimo lavoro, che porta la firma del prestigioso gruppo di ricerca fiorentino della scuola del Prof. Romagnani (siamo nel 1980), veniva rilevato che colture linfocitarie provenienti dal sangue periferico di soggetti allergici al polline di Graminacee, quando stimolate in vitro con l'estratto di Graminacee, producevano IgE specifiche verso gli allergeni in esso contenuti, a differenza di quanto si poteva osservare in colture linfocitarie provenienti da soggetti sani. Nello studio si osservava inoltre che la produzione di IgE specifiche da parte di determinate cellule specifiche era il risultato di una precedente attivazione delle stesse avvenuta in vivo. Inutile sottolineare come dopo questa prima osservazione il gruppo di ricerca fiorentino assunse una rilevanza straordinaria nel panorama allergologico mondiale, prima con la dimostrazione dell'esistenza anche nell'uomo (prima di allora fu osservato solo nel topo) di due sottotipi di linfociti; uno noto come Th2 in grado di produrre citochine (IL-4, IL-5 e IL-13) sostenitrici della produzione di IgE e conseguentemente dei sintomi allergici, l'altro noto come Th1, in grado di produrre citochine, quali IL-12 e interferon gamma, capaci di bloccare l'effetto del sottotipo Th2 e quindi inibire la risposta allergica. Queste osservazioni hanno alimentato una serie di ricerche a livello mondiale che hanno portato a uno sviluppo straordinario nella comprensione dei meccanismi patogenetici delle malattie allergiche, oltre che avere importanti ricadute cliniche nella cura delle stesse.

**IN VITRO PRODUCTION OF IGE BY HUMAN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS
PRODUZIONE IN VITRO DI IGE DA PARTE DI LINFOCITI UMANI DI SANGUE
PERIFERICO**

Romagnani S, Maggi E, Del Prete GF, Troncone R, Ricci M.

Dipartimento di Immunologia Clinica, Università di Firenze.

Clin. Exp. Immunol. **42**, 167-174, 1980.

Questo gruppo di ricerca è all'avanguardia nello studio della produzione *in vitro* delle IgE, interessantissimo modello sperimentale per lo studio dell'allergia.

È infatti noto che la produzione delle IgE (come in generale di tutti gli anticorpi) è un evento assai complesso, risultato di vari sistemi di regolazione. Vi sono cellule che, pur non partecipando direttamente al fenomeno immunitario hanno un ruolo adiuvante la produzione di IgE agendo sui linfociti B-IgE: i linfociti T-helper. Altre cellule agiscono sugli stessi linfociti B-IgE esercitando un ruolo inibente: i linfociti T-suppressor.

Questi linfociti T agiscono per mezzo di mediatori solubili, di natura chimica diversa dalle immunoglobuline: sono in corso studi per stabilire a quali sottopopolazioni appartengono i vari linfociti con diversa attività.

La produzione di IgE è quindi la risultante non solo di una pregressa sensibilizzazione ma anche dell'equilibrio di queste forze contrapposte. È possibile che esistano altri sistemi di regolazione che oggi non conosciamo, così come è certo che la regolazione oggi nota è assai più complessa di quanto descritto. Questi studi sono importanti non solo per aumentare le nostre conoscenze ma anche per gettare le basi pratiche di una nuova strategia di terapia delle malattie allergiche.

Infatti, l'obiettivo della immunoterapia è di potenziare quelle componenti cellulari che hanno attività soppressiva sulla produzione di IgE: per ottenere ciò è indispensabile conoscere a fondo il funzionamento di questi meccanismi. Lo studio della produzione *in vitro* delle IgE potrebbe rappresentare un utile approccio a questo importantissimo problema.

In questo lavoro, che è il primo di una lunga e ci auguriamo proficua serie di pubblicazioni sperimentali, gli Autori rilevano i livelli di IgE totali e specifiche per graminacee in culture di linfociti di sangue peri-

ferico di soggetti non allergici e di pazienti allergici alle graminacee coltivati per 7 giorni: è stata analizzata sia la produzione spontanea di IgE da cellule non stimulate che da cellule stimulate con attivatori policlonali delle cellule B (*pokeweed mitogen* = PWM).

Le IgE totali (non specifiche) venivano prodotte sia dalle cellule dei soggetti normali che degli allergici. Invece, le IgE allergene-specifiche venivano rilevate soltanto nelle culture degli allergeni. I livelli medi di IgE totali e specifiche prodotte non variavano significativamente a seconda che le cellule fossero o non fossero stimulate con PWM.

La sequenza della produzione di IgE nel tempo in confronto con il contenuto di IgE nelle cellule all'inizio della cultura ha permesso di stabilire quanto segue:

- 1 - parte delle IgE totali e specifiche rilevate nelle culture dopo 7 giorni non erano state prodotte *in vitro* ma si trovavano legate a recettori di membrana sui basofili e sui linfociti già all'inizio della cultura;
- 2 - parte di queste IgE erano già preformate e localizzate in sede citoplasmatica: complessivamente le IgE preformate costituivano la quasi totalità delle IgE rilevate alla fine della cultura nella maggioranza delle culture dei soggetti normali e in alcuni pz. allergici;
- 3 - la maggioranza delle culture di cellule di pz. allergici hanno invece sintetizzato le IgE *in vitro*;
- 4 - a conferma di ciò si è osservato che il trattamento delle cellule in cultura con sostanze inibenti la sintesi proteica (cicloesamide e puromicina) inibiva la neoproduzione di IgE;
- 5 - anche il trattamento con mitomicina C, sostanza inibente la sintesi di DNA e quindi con attività antimitotica, produceva diminuzione delle IgE presenti nella cultura già al terzo giorno.

Gli Autori concludono che la produzione spontanea di anticorpi da parte delle cellule IgE produttrici in cultura è il risultato di una precedente attivazione avvenuta *in vivo* nell'organismo: infatti la stimolazione con un attivatore policlonale per i linfociti B (PWM) non incrementa questa produzione. Le prossime ricerche cercheranno di stabilire se e come è possibile influenzare con manipolazioni *in vitro* queste cellule IgE-produttrici.

* * * * *

a cura di Gianni Mistrello



Notiziario Allergologico

Dicembre 1998 • Volume 17 • n. 4

Gli acari della polvere del genere *Dermatophagoides* che dominano incontrastati i nostri ambienti domestici rappresentano una delle principali fonti di allergeni ambientali, la cui inalazione, in soggetti sensibilizzati e geneticamente predisposti, può causare la comparsa o l'aggravarsi di patologie allergiche specifiche. Nell'articolo risalente al 1998 (redatto dal sottoscritto insie-

me al Dr. Ottoboni, l'esperto acarologo della Lofarma) si è presentata una rassegna degli aspetti più rilevanti, iniziando dalla scoperta intorno agli anni '60 (per merito di tre ricercatori olandesi, Voorhorst e i coniugi Spieksma-Boezeman) che la componente della polvere di casa responsabile dell'insorgenza di una patologia allergica specifica era da attribuirsi alla presenza di particolari acari (Dermatofagoidi), fino ad allora relativamente sconosciuti.

Ovviamente, questa scoperta ha dato l'avvio a una serie innumerevole di studi che hanno contribuito nel tempo a migliorare le conoscenze sulla biologia, sulle fonti alimentari e sull'influenza di determinati fattori ambientali domestici (in primis umidità e temperatura) che possono favorire la crescita degli acari. Studi successivi hanno poi messo in evidenza l'importanza delle particelle fecali come fattore allergizzante, e in particolare il ruolo della componente molecolare nota oggi come Der p 1. A loro volta, queste ulteriori osservazioni hanno creato le premesse per sviluppare sia misure di bonifica ambientale (coprimaterassi, acaricidi...) in grado di diminuire il carico allergenico presente nell'ambiente domestico che test in grado di rilevarne la presenza in campioni di polvere. Tra questi viene descritto, in particolare, lo sviluppo tecnologico di un kit in versione "fai da te" mediante il quale un paziente può misurare da sé la concentrazione di Der p 1 del campione di polvere della propria abitazione, rapportando l'intensità della colorazione dello spot eventualmente sviluppatosi a una scala cromatica di riferimento. Sulla base del risultato il paziente può quindi valutare il livello di rischio allergico a cui può essere soggetto. Certo è che l'impiego di test "fai da te" che consentono una visualizzazione diretta senza l'ausilio di strumenti di lettura è diventato oggi familiare per molte persone, visto l'uso impressionante di test analoghi proposti nel periodo del Covid 19, ma a quei tempi esisteva solo un kit "fai da te": quello per la gravidanza.

GLI ACARI DELLA POLVERE DOMESTICA: CENNI STORICI E TECNICHE PER RILEVARNE LA PRESENZA

GIANNI MISTRELLO - DANIELA RONCAROLO - FABRIZIO OTTOBONI

Reparto Ricerche - Lofarma S.p.A. - Milano

RIASSUNTO

L'allergia agli acari delle polveri domestiche colpisce milioni di persone in tutto il mondo. Gli acari più frequentemente riscontrati nelle abitazioni sono quelli appartenenti al genere *Dermatophagoides* (*pteronyssinus* e *farinae*); essi possono essere considerati organismi cosmopoliti perché si trovano ovunque esistano condizioni di umidità, temperatura e nutrimento compatibili con la loro sopravvivenza. Certamente alcune nostre abitudini di vita in termini di "confort domestico" hanno contribuito a creare un microclima particolarmente favorevole agli acari. Uno degli allergeni più importanti degli acari (noto come Der p 1) è contenuto nelle particelle fecali. È stato osservato che livelli di questo allergene superiori a 2 microgrammi per grammo di polvere sono associati al rischio di sensibilizzazione e allo scatenamento di una sintomatologia acuta nei pazienti allergici agli acari. Per ridurre se non eliminare tale rischio è opportuno attuare misure di bonifica ambientali che sono più efficaci tanto più sono mirate. Diventa quindi indispensabile individuare nell'ambiente domestico le nicchie che offrono ospitalità a questi organismi filogeneticamente lontani parenti dei ragni. Nel presente articolo vengono passati in rassegna i diversi metodi che possono essere usati per rilevare la presenza di acari nella polvere di casa, sottolineando per ciascuno limitazioni e vantaggi. In particolare, presentiamo un kit in versione "fai da te" recentemente sviluppato nei nostri Laboratori di Ricerca che per la sua semplicità d'uso ed economicità unite a caratteristiche di sensibilità e specificità, sembra essere particolarmente adatto allo scopo.

PAROLE CHIAVE

Acari - *Dermatophagoides* - Der p 1 - ELISA - Aclotest.

NOT. ALLERGOL. 17: 128, 1998

L'allergia agli acari della polvere di casa è un disturbo che colpisce milioni di persone in tutto il mondo. Stime recenti indicano che solo in Italia il fenomeno interessa circa il 5% della popolazione e risulta in costante incremento.

Diversamente da altre forme allergiche quali, per esempio, quelle causate dai pollini, l'allergia agli acari della polvere di casa risulta particolarmente invalidante perché, vivendo essi nelle abitazioni, determinano nel paziente una sintomatologia perenne che può manifestarsi come rinite e/o congiuntivite nelle forme lievi fino ad arrivare all'asma bronchiale nelle forme più gravi.

Recentemente è stato anche evidenziato che l'esposizione agli acari della polvere domestica (fig. 1) può indurre, nei pazienti che si sono sensibilizzati, anche una manifestazione patologica cutanea quale per esempio la dermatite atopica.

Una delle prime segnalazioni del probabile ruolo degli acari come causa di patologie allergiche risale intorno agli anni '20. In quella circostanza venne osservato che un gruppo di lavoratori che operavano in un magazzino di grano sviluppò una patologia asmatica, la cui causa venne individuata in un acaro (*Pediculoides ventricosus*) che parassitava il grano. Si ipotizzò che l'inalazione di particelle disperse nell'aeroambiente, veicolanti frammenti di acari morti, fosse la causa dell'insorgenza del disturbo manifestato da quei lavoratori.

Questa osservazione, insieme ad altre che seguirono, hanno dimostrato che gli acari delle derrate alimentari possono essere causa di patologie allergiche.

Viceversa, l'importanza degli acari come probabile causa dell'allergia alla cosiddetta "polvere di casa" fu dimostrata solo diversi anni dopo, intorno agli anni '60. Fino ad allora gli Allergologi effettuavano la diagnosi, e conseguentemente la terapia di allergia, utilizzando estratti ottenuti dalla polvere di casa.

Lo studio della polvere di casa per scoprire la componente responsabile della patologia allergica interessò diversi ricercatori. I sospetti si concentrarono subito nella direzione della componente organica della polvere; quindi, le piume dei cuscini, le forfore degli animali domestici, i residui di fibre dei tessuti, il tabacco, i residui di farfalle, la lana, i batteri, le muffe, furono alcuni dei "materiali" presi in considerazione. In nessun caso fu possibile dimostrare una correlazione con la polvere di casa, portando alla convinzione che la polvere di casa conteneva propri allergeni peculiari e si avanzò l'ipotesi che essi si generassero dalle sostanze organiche ivi presenti per effetto di degradazione chimica.

Queta teoria fu smentita intorno agli anni '60 quando due ricercatori olandesi (Voorhorst e Spieksma-Boezeman) dimostrarono in maniera inequivocabile che l'attività allergenica della polvere di casa era di origine biologica e individuarono negli acari, del genere *Dermatophagoides*, a quel tempo relativamente sconosciuti, la causa della allergenicità della polvere di casa. Le osservazioni dei due ricercatori olandesi diedero

avvio a una serie di studi che hanno contribuito poi a migliorare le conoscenze sulla biologia, sulle sorgenti alimentari degli acari della polvere di casa e sull'influenza che certi fattori ambientali (umidità e temperatura in particolare) possono esercitare sulla loro crescita. Si è così accertato che alcuni acari, quali quelli del genere *Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae*, dominano incontrastati gli ambienti domestici perché qui trovano condizioni ambientali favorevoli, quali una temperatura di 20°-30°C e una umidità relativa dell'aria di circa il 70%. Questo habitat giustifica ampiamente il carattere cosmopolita di questi acari; è infatti evidente che un simile microclima ambientale è normalmente presente in molte abitazioni e per parecchi mesi dell'anno, soprattutto alle nostre latitudini.

Gli acari appartengono alla famiglia degli Aracnidi (sono quindi parenti dei ragni) e date le loro dimensioni (200-400 millesimi di millimetro) sono invisibili a occhio nudo.

Una femmina di acaro ha una vita che va da tre mesi a cinque e mesi, a seconda del tipo di ambiente e arriva a deporre fino a 300 uova. L'individuo adulto maturo si sviluppa in circa tre settimane dopo una fase larvale iniziale. Il biotopo principale degli acari è la polvere che si forma sui materiali in fibra tessile presenti nelle case. Tale polvere costituisce un'ottima sorgente alimentare, grazie al contributo proteico e glicidico derivante dai residui epiteliali eliminati continuamente con la defoliazione cutanea nell'uomo. È stato calcolato che l'uomo produce e libera quotidianamente nell'ambiente circa un grammo di desquamazioni cutanee e questo è sufficiente per la sopravvivenza e crescita di migliaia e migliaia di acari. È stato inoltre dimostrato che la presenza di muffe contribuisce a migliorare la loro crescita perché esse potrebbero facilitare l'eliminazione del rivestimento lipidico delle squame cutanee, effettuando una sorta di predigestione che renderebbe le stesse particolarmente appetibili agli acari. L'assunzione del cibo si realizza con l'uso di un apparato boccale costituito dai cheliceri e il cibo attraversa quindi l'esofago, poi l'intestino medio posteriore (dove avviene la digestione) fino alla parte distale da cui gli escrementi vengono emessi sotto forma di "pallette" fecali che, a causa delle ridotte dimensioni, possono penetrare facilmente nelle vie aeree.

In queste "pallette fecali" si concentra una delle componenti allergeniche più importanti degli acari, e cioè l'allergene noto come Der p 1, una glicoproteina dotata di un'attività proteolitica a cui probabilmente è legata la sua capacità di indurre allergia nell'uomo.

È stato dimostrato che due microgrammi di Der p 1 per grammo di polvere costituiscono un livello di soglia per il rischio di sensibilizzazione agli acari. Apparentemente non esiste un valore soglia per la sensibilizzazione agli acari per i pazienti asmatici. Proprio per questo motivo sarebbe opportuno che i livelli di allergeni degli acari siano tenuti al più basso livello possibile. La presenza degli acari nelle abitazioni non denota di per sé una scarsa pulizia dei suoi abitanti, ma piuttosto l'esistenza di un naturale rapporto di simbiosi, da cui l'uomo pensava di essersi liberato cullandosi nell'illusione che acqua e sapone e altre conquiste della civiltà fossero sufficienti a

Figura 1: Esempio ingrandito di un acaro *Dermatophagoides*; in primo piano è visibile l'impressionante apparato boccale.



evitare un contatto troppo intimo con ospiti indesiderati. In realtà certe abitudini della vita contemporanea (materassi e divani confortevoli, suppellettili imbottite, tappeti morbidi, moquettes, tendaggi, termosifoni, finestre isolanti...) se da un lato hanno contribuito a rendere sempre più confortevole l'ambiente domestico, dall'altro hanno creato quel microclima ideale per la sopravvivenza e lo sviluppo degli acari della polvere di casa. Anche se, date queste premesse, la coabitazione con questi esseri sembra inevitabile, e costituisce il "prezzo da pagare" per garantire il "confort" dell'ambiente domestico, è opportuno ricordare che oggi abbiamo a disposizione una serie di strumenti che possono aiutarci a creare condizioni di vita difficili per gli acari, senza necessariamente farci rinunciare alle nostre "comode" abitudini.

L'impiego di opportuni coprimaterassi e copricuscini fabbricati con materiali che formano una struttura ultrafine e impediscono quindi il passaggio degli acari dal materasso all'ambiente circostante, rappresenta già un primo, semplice intervento di profilassi ambientale che può contribuire a ridurre significativamente il carico allergenico presente nelle nostre camere da letto, uno dei luoghi preferiti dagli acari.

Un'altra opzione, che rientra nell'ambito di misure preventive più specifiche, è costituita dall'uso di prodotti dotati di attività acaricida. Questo trattamento consente di indirizzare la bonifica dell'ambiente domestico in maniera più ampia limitando, se non eliminando del tutto, la crescita degli acari in altre zone dell'abitazione che possono offrire loro ospitalità quali le moquettes, i tappeti, i tendaggi, i divani, le poltrone e altri suppellettili.

Attualmente esistono in commercio diversi prodotti affidabili. Tra questi, quelli a base di benzil-benzoato sembrano particolarmente efficaci.

È però evidente che l'attivazione della bonifica ambientale è tanto più efficace quanto più è mirata; ciò significa che è opportuno individuare nell'abitazione quelle nicchie infestate dagli acari, esponendo così i suoi abitanti al rischio di sensibilizzazione. In quest'ottica risulta senza dubbio utile sottoporre a un'analisi la polvere di casa prelevata direttamente dall'abitazione, in modo da mettere in evidenza la presenza degli acari e determinare la concentrazione dei loro specifici allergeni.

Tra l'altro questa analisi è di notevole aiuto nello stabilire il grado di efficacia delle strategie di bonifica ambientale attuate. Fino a qualche anno fa, l'unica tecnica disponibile per l'individuazione degli acari era l'osservazione al microscopio della polvere. Pur riconoscendo l'importanza di questa metodologia, la cui applicazione ha consentito per la prima volta di dimostrare la presenza degli acari nella polvere e di precisarne il ruolo come potenziale causa di patologie allergiche, va ricordato che essa è ormai superata. L'osservazione al microscopio rimane ancora un utile strumento per il ricercatore che abbia per esempio necessità di riconoscere le specie di acari predominanti nelle diverse regioni geografiche o studiare le caratteristiche biologiche dei diversi acari o il rapporto tra acari vivi e morti o le differenze tra lo stadio adulto o quello larvale, ma presenta, concepita come analisi di routine dei campioni di

polvere, una serie di svantaggi che la rendono poco praticabile.

Gli svantaggi principali sono:

- la preparazione del campione da esaminare così come la valutazione al microscopio, sono operazioni piuttosto laboriose e particolarmente "time consuming";
- è richiesta la disponibilità di personale opportunamente addestrato in possesso di conoscenze di base senza le quali è difficile distinguere gli elementi caratteristici delle diverse specie e le diverse dimensioni;
- non consente di determinare l'importanza del carico allergenico dovuto alla presenza delle particelle fecali.

Un metodo per la determinazione degli allergeni degli acari della polvere domestica molto semplice e al contempo rapido e quindi particolarmente adatto per un'applicazione di routine è quello che si basa sulla determinazione della concentrazione di un marker, la guanina. La guanina è contenuta nelle deiezioni degli aracnidi in generale e costituisce il catabolita finale del metabolismo delle purine. Nella polvere di casa, escludendo la presenza di un numero di ragni tale da influenzare il test, gli acari sembrano quindi costituire la specie di Aracnidi più rappresentativa.

Ne deriva che la determinazione della guanina può essere considerata una misura, sia pure indiretta, degli allergeni degli acari, visto che le particelle fecali di questi ultimi ne sono una fonte importante.

Il risultato del test consiste nello sviluppo di un colore caratteristico dovuto alla reazione tra guanina e un composto aromatico di diazonio. L'intensità del colore è direttamente proporzionale alla quantità di guanina presente nella polvere e quindi alla quantità di particelle fecali. La valutazione di tale intensità viene effettuata mediante il confronto con una scala cromatica che va da una colorazione arancio-rossastra (corrispondente a un basso livello di infestazione) ad altre con tonalità di rosso più o meno intenso che indicano viceversa la presenza di un considerevole numero di acari nell'ambiente, con conseguenti rischi di sensibilizzazione o scatenamento dei sintomi allergici per i soggetti che ivi soggiornano.

Il metodo è di tipo semi-quantitativo e può essere effettuato in virtù della sua semplicità anche da persone non esperte perché non richiede l'ausilio di alcuna attrezzatura.

Purtroppo, il test presenta qualche limitazione, in particolare una certa inadeguatezza in termini di specificità, soprattutto nei livelli medio-bassi di positività. Esperimenti condotti da vari ricercatori hanno dimostrato lo sviluppo di false positività in campioni di polvere che erano risultati negativi come presenza di acari e di loro allergeni sia mediante osservazione al microscopio sia mediante ELISA immuno-enzimatico specifico per l'allergene Der p 1, quest'ultimo facilmente riscontrabile, se presente, nelle particelle fecali degli acari.

È quindi possibile, anche se l'Azienda produttrice del test esclude entrambe le eventualità, che la guanina proveniente da deiezioni di altri organismi (per es. ragni se non addirittura uccelli) o altre sostanze (p. es. l'acido urico, catabolita finale

del metabolismo azotato degli insetti), interferendo nella reazione contribuiscano allo sviluppo di quelle false positività ricordate prima.

Un'altra limitazione del test è rappresentata dal fatto che il test non consente la valutazione dei livelli di altri allergeni, per es. quello denominato Der p 2, assente nelle particelle in quanto di origine somatica e presente invece sul corpo degli stessi acari. Il salto tecnologico compiuto qualche anno fa con lo sviluppo degli anticorpi monoclonali allergene-specifici ha consentito la messa a punto di un sistema immunoenzimatico (ELISA) di dosaggio degli allergeni (p. es. Der p 1 o 2, Der f 1 o 2) di acari presenti nella polvere domestica, che ancora oggi rappresenta, in virtù delle notevoli qualità in termini di sensibilità e specificità, il metodo di valutazione più attendibile.

Esso consiste nella fissazione di una opportuna quantità di anticorpo monoclonale (p. es. anti-Der p 1) al pozzetto di una piastra microtiter, seguito dalla incubazione per un certo periodo di tempo con il campione di polvere (in genere un estratto acquoso ottenuto aggiungendo al campione di polvere in esame una opportuna soluzione). La successiva incubazione con un secondo anticorpo monoclonale (ovviamente diretto verso un determinante diverso da quello riconosciuto dal pri-

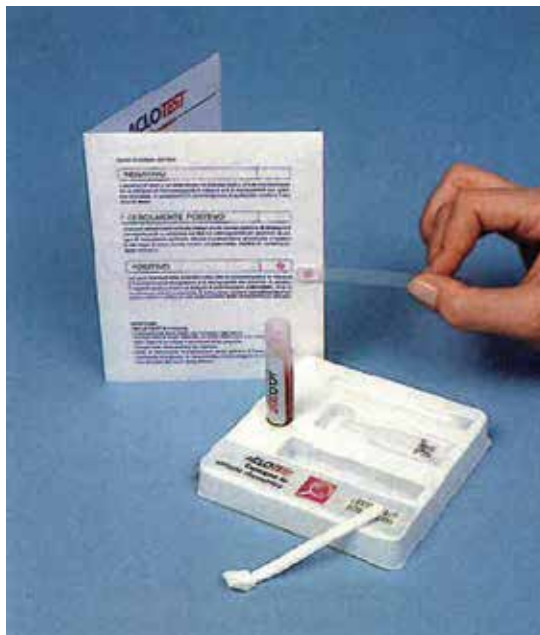
mo anticorpo) coniugato con biotina, seguito poi dall'aggiunta dell'enzima streptavidina-perossidasi e relativo substrato, determina lo sviluppo di una reazione colorimetrica la cui intensità è correlabile alla quantità di allergene presente nel campione. La determinazione di tale quantità viene effettuata mediante interpolazione su una scala di riferimento ottenuta aggiungendo quantità note dello stesso. Proprio basandosi sull'impiego del metodo immunoenzimatico un gruppo internazionale di ricercatori, una sorta di Task Force dell'acaro, tra cui è doveroso segnalare la presenza dei professori Platt-Mills e Chapman (autori di numerose e importanti pubblicazioni sull'argomento) sotto l'egida della WHO, ha stabilito un rapporto causa-effetto tra livelli di esposizione e "rischio salute" per l'uomo. In particolare, tale gruppo, a conclusione dello studio, ha proposto che la presenza nelle abitazioni di livelli di Der p 1 superiori a due microgrammi per grammo di polvere devono essere considerati un importante fattore di rischio di sensibilizzazione allergica verso gli acari della polvere di casa, mentre livelli di 10 microgrammi per grammo costituiscono un fattore di rischio di sviluppo della sintomatologia acuta per i pazienti già sensibilizzati agli acari.

Pur essendo il metodo immunoenzimatico unanimemente ri-

Figura 2: Aclotest, il kit "fai da te" per rilevare gli acari nella polvere di casa. Sono visibili i vari componenti: la striscia reattiva, il dosatore, la provetta di reazione contenente il reagente rivelatore in forma liofila e la fialetta contenente la soluzione da usare per sciogliere il liofilo.



Figura 3: Aclotest: risultato del test in caso di presenza di acari. È visibile sulla striscia lo spot colorato e sullo sfondo la scala di lettura del test.



conosciuto come quello più affidabile per la valutazione nelle polveri di casa dei livelli di allergene di acari, non è però privo di limitazioni.

Infatti, la sua esecuzione richiede la disponibilità di personale addestrato, l'ausilio di attrezzature di laboratorio, incluso lo strumento di lettura (spettrofotometro) e tempi decisamente più lunghi (diverse ore) rispetto al test basato sulla determinazione della guanina. Inoltre, elemento questo non del tutto trascurabile, è indispensabile sottoporre il campione di polvere a una estrazione acquosa perché l'analisi prevede l'impiego di una soluzione, non potendo essere eseguita usando direttamente la polvere. Ciò richiede quindi una certa esperienza oltre che a un certo tempo nella preparazione del campione da analizzare, operazione questa non contemplata nel test basato sulla determinazione della guanina.

Recentemente il nostro Laboratorio di Ricerca, nel tentativo di superare gli svantaggi e le limitazioni legati all'impiego dei metodi descritti precedentemente, mantenendo congiuntamente le caratteristiche di sensibilità e di specificità peculiari del test immunoenzimatico ha messo a punto un metodo alternativo concretizzatosi nello sviluppo di un kit, versione "fai da te", per la rilevazione della presenza degli acari nella polvere domestica (fig. 2).

La rapidità d'esecuzione, l'impiego direttamente della polvere anziché di estratti acquosi preparati a partire dalla stessa, la visualizzazione diretta del risultato (senza l'ausilio di apparecchi di lettura), unite alla semplicità d'uso, fanno sì che il test possa essere facilmente realizzato e interpretato nel significato anche dal paziente stesso.

Il metodo (chiamato *Aclotest*) che combina due differenti tecnologie (cioè il dot-blot e la coniugazione di proteine, in questo caso anticorpi, con coloranti colloidali) si basa sull'impiego "a sandwich" di anticorpi policlonali in grado di riconoscere i diversi allergeni degli acari *Dermatophagoides* sia *pteronysinus* che *farinae*. Tali anticorpi quando fissati sull'apposita membrana (dot-blot) posta sulla striscia reattiva, funzionano da "catturante" mentre agiscono da "reagente rivelatore" quando gli stessi sono coniugati al colorante colloidale.

Il test si effettua mettendo la striscia reattiva in una provetta,

in cui poco prima erano stati aggiunti il campione di polvere da esaminare e il reagente rivelatore.

La soluzione acquosa in cui è disperso il reagente rivelatore svolge al contempo una funzione di estrazione degli eventuali allergeni degli acari presenti nella polvere.

La comparsa, dopo un'ora di contatto di uno spot colorato di rosa sulla striscia reattiva, è indice della presenza di acari nel campione esaminato. La diversa intensità della colorazione dello spot consente di distinguere (rapportando la stessa a una scala cromatica) tra due livelli quantitativi che corrispondono a due differenti valori di Der p 1 (fig. 3).

Una colorazione poco intensa indica che i valori in termini di Der p 1 sono compresi tra 0,5-2 microgrammi per grammo di livelli di polvere (ciò significa comunque presenza di acari anche se a livelli al di sotto della soglia associata al rischio di sensibilizzazione) mentre una colorazione più intensa segnala la presenza di acari con valori di Der p 1 nettamente superiori a quelli soglia e quindi con elevato rischio di indurre la patologia allergica nel soggetto che abita nel luogo da cui è derivato il campione di polvere esaminato.

La mancata comparsa di segnale è viceversa indice di assenza di acari o di presenza ma a livelli trascurabili. Questo è legato al fatto che il test ha un soglia di sensibilità che impedisce la rilevazione di livelli inferiori a 0,5 microgrammi/per grammo di polvere.

Lo sviluppo di questi metodi di rilevazione degli aero-allergeni di acari nell'ambiente domestico può essere di interesse generale per la popolazione ma può diventare di interesse capitale per i pazienti asmatici allergici e per i medici che li hanno in cura. Test semplici, di facile utilizzo e poco costosi come l'*Aclotest*, permettono di aggiungere al bilancio clinico usuale uno studio dei locali domestici, e di individuare quegli ambienti che abitati normalmente per diverse ore al giorno, possono favorire più facilmente lo sviluppo dei sintomi allergici respiratori.

Parimenti, essi possono fornire mezzi obiettivi di valutazione dell'efficacia delle misure di bonifica ambientale, che quando usate in combinazione con l'immunoterapia specifica, sembrano rappresentare la strategia vincente nella cura della allergia agli acari.

Bibliografia consigliata

- Bronswijk J.E. Van - Guanine as a hygienic index for allergologically relevant mite infestations in Mattress Dust. *Exp. Appl. Acarol.* 2: 231, 1986.
- Heyman P.W. - Antigenic and structural analysis of Group 2 allergens (Der p 2 and Der f2) from house-dust mites. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83: 1055, 1989.
- Luczynska C.M. et al. - A two-site monoclonal antibody Elisa for the quantification of the major *Dermatophagoides* spp allergens, Der p 1 and Der f1. *J. Immunol. Methods* 118: 227, 1989.
- Mistrello G. et al. - Dot immunobinding assay for detection of mite antigens in house-dust samples. *J. Med. Entomol.* 35: 143, 1998
- Olsen O.T. et al. - Effectiveness of benzyl benzoate in elimination of house dust mites. *Aerobiologia* 12: 3, 1996.
- Ottoboni F., Falagiani P. and Centanni S. - Gli acari allergenici. *Boll. Ist. Sierot. Milan.* 63:5, 1984.
- Platt-Mills T.A.E. et al. - Dust mite allergens and asthma. A worldwide problem. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83: 416, 1989.
- Tovey E.R., Chapman M.D., Platt-Mills T.A.E. - Mites feces are a major source of house-dust allergen. *Nature* 289: 592, 1981.
- Vervloet D. et al. - Guanine test and AgPlcq in house-dust samples. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83: 293, 1989.
- Voorhost R., Spijkma-Boezeman M., Spijkma F. - Is a mite (*Dermatophagoides* spp) the producer of the house dust allergen? *Allergy und Asthma* 10: 329, 1964.

a cura di Enrico Compalati



Notiziario Allergologico

Settembre-Dicembre 2003 • Volume 22 • n. 3-4

Nell'ormai lontano 2003, data di redazione del presente articolo, la SLIT era stata da poco 'sdoganata' ufficialmente da parte delle società scientifiche internazionali attraverso i rispettivi documenti di consenso. La letteratura scientifica dell'epoca, sebbene dal valore principalmente esplorativo, prometteva un florido sviluppo di questo strumento terapeutico. Solo due anni prima la Comunità Europea emanava una direttiva (2001/83/CE) che inquadrava l'Immunoterapia Specifica con allergeni tra i medicinali

allopatrici, forzando così la necessità di disporre di robuste evidenze di efficacia, sicurezza e attività immunologica, quest'ultima improntata a modificare la naturale evoluzione della malattia allergica e fornire quel valore aggiunto rispetto ai farmaci convenzionali, che ancora oggi rappresenta il principale obiettivo di questa cura. La letteratura successiva si è quindi ampiamente arricchita di prove sperimentali confermatrici, e al contempo di osservazioni nella "real-world practice", queste ultime fondamentali per stabilire il beneficio reale percepito dell'immunoterapia, la soddisfazione dei pazienti, l'effetto nel lungo termine, e quel valore terapeutico utile ai "decision-makers" in ambito di politica sanitaria.

È curioso notare come siano rimasti, tuttavia, argomenti meritevoli di ulteriori indagini, come quelle che l'articolo individuava come aree di necessario approfondimento già 22 anni fa. Vale a dire, una miglior conoscenza dei meccanismi d'azione per i vari tipi di immunoterapia; le relazioni dose-risposta che non possono essere generalizzate in quanto sono strettamente dipendenti dalle formulazioni e dalle caratteristiche degli estratti; la caratterizzazione degli estratti in assenza di standard analitici comuni; l'effettiva capacità preventiva sullo sviluppo di asma nei rinitici; l'aderenza terapeutica che, soprattutto per la SLIT, può rappresentare un fattore critico, ma che può essere migliorata attraverso l'implementazione di "Patient Support Programs", l'adozione di nuove tecnologie elettroniche, e lo sviluppo di prodotti terapeutici che consentano un utilizzo flessibile e ampiamente tollerato dal paziente.

La continua diffusione della SLIT nel mondo, e "l'appeal" esercitato da essa nei mercati emergenti, consentono di affermare che essa rappresenti ancora oggi un moderno strumento terapeutico, al pari della versione iniettiva, da inquadrare sempre più come alleato del mondo dei biologici anche per quei pazienti che soffrono di patologia grave. Ulteriori ricerche sono fortemente auspicabili in questo senso per arricchire di valore aggiunto l'immunoterapia in ambito di politica sanitaria.

IMMUNOTERAPIA SUBLINGUALE: STATO DELL'ARTE E AGGIORNAMENTI

GIOVANNI PASSALACQUA - LAURA GUERRA - MERCEDES PASQUALI
FEDERICA FUMAGALLI - GIORGIO WALTER CANONICA

Clinica di Malattie dell'Apparato Respiratorio e Allergologia
Dipartimento di Medicina Interna - Università di Genova

RIASSUNTO

L'immunoterapia sublinguale (SLIT) è attualmente accettata come valida alternativa alla via sottocutanea sia nell'adulto che nel bambino, sulla base di studi clinici controllati e di dati post-marketing. Negli ultimi due anni sono apparsi nuovi studi che hanno chiarito nuovi aspetti del trattamento. Uno studio di metanalisi ha confermato l'efficacia clinica della SLIT nella rinite, conferendo a questa la categoria di evidenza 1A. Allo stesso tempo è stata dimostrata l'efficacia anche nella congiuntivite allergica ed è stato dimostrato che la SLIT riduce l'IL-13, quindi favorisce lo shift TH2-TH1. Per la prima volta è stato formalmente confermato che la SLIT ha un'efficacia a lungo termine, come la terapia iniettiva e che può prevenire l'insorgenza di nuove sensibilizzazioni. La compliance è sempre stata considerata un punto critico della SLIT, ma i dati recenti hanno mostrato come l'aderenza sia in realtà eccellente. In conclusione, i dati a supporto della SLIT sono in costante aumento e sempre nuovi aspetti vengono chiariti. Rimangono comunque alcuni punti dubbi, tra cui ricordiamo il problema del dosaggio ottimale, quello della prevenzione dell'asma in soggetti rinitici e quello della definizione chiara dei meccanismi. Queste saranno probabilmente le direttive per gli studi futuri.

PAROLE CHIAVE

Immunoterapia Sublinguale - Asma - Rinite - Sicurezza - Aderenza

1. Introduzione e cenni storici

L'immunoterapia specifica (AIT) o vaccinazione allergene-specifica è intesa come somministrazione di dosi gradualmente crescenti di allergene, fino a una dose di mantenimento, che viene poi somministrata a intervalli regolari. Lo scopo dell'AIT è quello di desensibilizzare il soggetto ai successivi contatti con l'allergene stesso, in modo da ridurre i sintomi (1). Per motivi storici l'AIT è stata sempre somministrata per via sottocutanea, anche se non mancano segnalazioni aneddotiche di somministrazione orale o bronchiale (2, 3). Nel 1986 apparvero le prime segnalazioni ufficiali di effetti collaterali gravi (alcuni mortali) dovuti all'AIT (4). Tali segnalazioni rappresentarono una notevole spinta allo studio delle vie non iniettive (orale, sublinguale, intranasale, bronchiale). La via sublinguale (SLIT) apparve da subito molto promettente e, infatti, negli anni successivi la via orale e quella bronchiale vennero progressivamente abbandonate in favore della SLIT (3). La storia della SLIT nei documenti ufficiali è riassunta nella tabella 1 (1, 5-7).

È interessante notare come nel corso di soli 10 anni la comunità scientifica internazionale abbia accettato la SLIT come un'alternativa alla sottocutanea, da utilizzarsi nella pratica clinica di routine (7). Questo fatto è il risultato di un gran numero di studi clinici randomizzati e controllati, di studi di sorveglianza post-marketing, nonché di risultati di studi di laboratorio e farmacocinetica. Nel presente articolo non tratteremo in dettaglio tutti gli studi clinici di efficacia e sicurezza, per i quali sono disponibili ampie revisioni alle quali si rimanda (2, 3, 8), ma prenderemo in esame i risultati più recenti sull'argomento e le direttive future.

2. Efficacia clinica

L'efficacia clinica della SLIT, intesa come riduzione dei sintomi e del consumo di farmaci, è ampiamente documentata in 25 studi randomizzati e controllati (tabella 2). Di questi, soltanto 3 hanno dato risultati dubbi o negativi (9-11), e tale percentuale è molto simile a quella osservabile per la via iniettiva (12). Per quanto riguarda la rinite allergica, una recente metanalisi della Cochrane Collaboration (13) ha confermato con larghi margini

NOT. ALLERGOL. 2003; 22: 94-99

Tabella 1. La SLIT nei documenti ufficiali

DOCUMENTO	ANNO	GIUDIZIO
Position Paper EAACI	1993	"Promettente... Occorrono ulteriori dati... Rischio di assorbimento troppo rapido dell'allergene"
Position Paper BSACI	1993	NON CONSIDERATA
Position Paper OMS	1998	"Valida alternativa all'AIT sottocutanea nell'adulto... Occorrono ulteriori dati di sicurezza nel bambino..."
Position Paper EAACI	1998	IDEM
Documento ARIA	2001	"Può essere somministrata nella comune pratica clinica sia nell'adulto che nei bambini..."

Tabella 2. Studi SLIT controllati e randomizzati (per la bibliografia dettagliata vedi voce bibliografica 6)

AUTORE- ANNO	RANGE- ETÀ	PAZIENTI A/ P *	ALLERGENE	DURATA	DOSE CUMULATIVA	PATOL **
Tari, 1990	5-12	30/28	Acari	18 mesi	365 STU	R/A
Sabbah, 1994	13-51	19/29	Graminacee	17 sett.	4.500 IR	R
Feliziani, 1995	14-48	18/16	Graminacee	3.5 mesi	25 BU	R
Troise, 1995	17-60	15/16	Parietaria	10 mesi	105 BU	R
Hirsch, 1997	6-16	15/15	Acan	1 anno	570 mg Der p 1	R/A
Passalacqua, 1998	15-46	10/9	Acari (monoid)	2 anni	10.000 AU	R
Vourdas, 1998	7-17	33/31	Olivo	2 anni	4 mg Ole e 1	R/A
Clavel, 1998	8-55	62/28	Graminacee	6 mesi	28 mcg Phl p 5	R/A
Horak, 1998	16-48	18/16	Betulla	4 mesi	250 STU	R
Hordijk, 1998	18-45	30/27	Graminacee	6 mesi	300.000 BU	R/A
Bousquet, 1999	15-37	15/15	Acari	2 anni	104.000 IR 4,2 mg Der p 1	A
Passalacqua, 1999	15-42	15/15	Parietaria	8 mesi	265 BU 16 mcg Par j 1	R/A
Pradalier, 1999	6-25	59/61	Graminacee	4 mesi	11000 IR 0,9 mg Phi p 5	R/A
La Rosa, 1999	6-14	20/21	Parietaria	6 mesi	75.000 IR 52 mg Par j 1	R/A
Purello, 1999	14-50	14/16	Parietaria	8 mesi	200 BU 12 mcg Par j 1	R/A
Pajno, 2000	8-15	12/12	Acari	2 anni	360 mcg Der p 1A	
Guez, 2000	6-51	24/18	Acari	2 anni	90.000 IR 2,2 mg Der p 1	R
Caffarelli, 2000	4-14	24/20	Graminacee	3 mesi	37.000 AU	R/A
Ariano, 2001	19-50	10/10	Cipresso	8 mesi	250.000 RU	R/A
Bahcecilier, 2001	7-15	8/7	Acari	6 mesi	7.000 IR 0,56 mg Der p 1	R/A
Voltolini, 2001	15-52	24/13	Alberi mix	24 mesi	250.000 RU 0,9 mg Phl p 5/ mese	R
Lima, 2002	16-48	24/22	Graminacee	18 mesi	90.000 IR 2,2 mg Der p 1	R
Mortemousque, 2003	6-60	26/19	Acari	24 mesi	variabile	C
Andrè, 2003	6-55	48/51	Ambrosia	7 mesi	57 mcg Der p 1	R
Ippoliti, 2003	5-12	47/39	Acari	6 mesi	7.000 IR 0,56 mg Der p 1	R/A

*A/P = Attivi/Placebo **R=Rinite A=Asma C=Congiuntivite

che la SLIT è chiaramente più efficace che il placebo e quindi l'evidenza sperimentale è da classificarsi come IA (risultante da numerosi studi controllati randomizzati). Gli studi riguardanti l'asma sono meno numerosi e quindi non consentono ancora l'esecuzione di una metanalisi affidabile, ma i risultati riportati negli studi clinici sono per il momento studi positivi (14-18). Recentemente è stato pubblicato uno studio randomizzato e controllato che ha confermato addirittura l'efficacia clinica della SLIT nella congiuntivite allergica da acari isolata (19). È da notare che uno studio equivalente non è mai stato condotto con l'AIT iniettiva.

Il più recente studio disponibile (20) condotto su 99 pazienti allergici ad Ambrosia ha confermato i precedenti risultati, segnalando formalmente che l'efficacia è almeno in parte dose dipendente. Il confronto tra SLIT e AIT iniettiva è stato sempre uno dei punti più controversi della questione ed esistono di fatto alcuni studi in proposito (21-24). Tuttavia, bisogna considerare che un confronto oggettivo tra due metodi differenti di somministrazione può fornire risposte affidabili soltanto se condotto in doppio cieco e doppio mascherato (double blind, double dummy). Al momento, sono disponibili solo due studi che corrispondono al criterio suddetto. Il primo (25) è stato condotto su 20 pazienti allergici a graminacee e ha confermato che non esistono significative differenze tra i due trattamenti per quanto riguarda l'efficacia clinica, anche se tale studio manca del gruppo placebo di controllo. Il secondo studio double dummy, attualmente in corso di pubblicazione (26) comprende anche il gruppo placebo e dimostra, in una popolazione di pazienti allergici a betulla, che la SLIT e l'AIT sottocutanea sono statisticamente equivalenti e superiori al placebo. In questo studio viene sottolineato il miglior profilo di sicurezza della SLIT.

3. Sicurezza

È noto che l'AIT sottocutanea comporta il rischio di reazioni sistemiche gravi o fatali, come documentato ampiamente in letteratura. Tale rischio può essere ridotto seguendo attentamente le raccomandazioni di sicurezza, ma non può essere annullato (27, 28). Al contrario, durante 15 anni di sperimentazioni cliniche con le vie locali non sono mai stati segnalati eventi avversi gravi o a rischio di vita e nessun caso di anafilassi. Con la SLIT, gli effetti collaterali più frequenti sono quelli gastrointestinali (prurito orale, nausea, dolori addominali) che sono transitori e possono essere facilmente controllati con la riduzione del dosaggio. Peraltro, non è mai stato segnalato alcun effetto collaterale sistemico grave e l'incidenza di effetti sistemici è uguale nei trattati e nei placebo e anche negli adulti rispetto ai bambini (29). Sicuramente, gli studi clinici controllati forniscono un dato rigoroso sulla sicurezza, ma un'informazione più completa e affidabile viene dagli studi di sorveglianza post-marketing, che analizzano gli effetti collaterali segnalati dai pazienti in una situazione più aderente alla realtà. Esistono due studi di questo tipo, uno pediatrico (30) e uno per adulti (31). Entrambi confermano che l'incidenza totale di effetti collaterali segnalati non supera il 10% dei pazienti.

Praticamente tutti gli eventi avversi sono di lieve entità e non comportano mai la sospensione del trattamento. È da segnalare il fatto che nei bambini non si osserva alcuna variazione dei mediatori mastocitari a livello sublinguale anche in caso di riferiti sintomi locali (32). Infine, l'AIT sublinguale sembra non causare effetti collaterali locali anche in pazienti con sindrome orale allergica (33).

4. Meccanismi di azione e farmacocinetica

Lo studio sui meccanismi d'azione delle AIT non iniettive e appena agli inizi, poiché fino ad oggi gli obiettivi primari degli studi erano essenzialmente clinici. Dal punto di vista dell'immunologia di base, in uno studio in vitro ex vivo è stato dimostrato che la SLIT (34) è in grado di ridurre la proliferazione di cloni di linfociti T allergene-specifici. In vivo, si è osservato che l'AIT sublinguale è in grado di ridurre l'espressione della molecola di adesione CAM-1 sull'epitelio nasale e congiuntivale e la concomitante infiltrazione di cellule infiammatorie (35, 36). Un recente studio controllato in aperto condotto su 10 bambini ha confermato la riduzione della molecola ICAM-1 sull'epitelio nasale, in associazione a una riduzione della risposta alla metacolina (37). Uno studio pediatrico di Ippoliti e coll. ha peraltro evidenziato una riduzione dei livelli plasmatici di IL-13, a conferma del possibile effetto della SLIT sul bilancio linfocitario TH1/TH2 (38). L'effetto sulla broncoreattività aspecifica può essere considerato come evidenza indiretta dell'effetto antinfiammatorio. Infatti, la broncoreattività aspecifica che si osserva negli asmatici allergici è almeno in parte sostenuta dall'infiammazione bronchiale. A questo proposito, oltre al già citato studio di Silvestri e coll. (37), ne esiste un altro in aperto condotto su pazienti allergici alle graminacee ove si è dimostrata una riduzione significativa della risposta alla metacolina dopo tre anni di SLIT stagionale (39). Più di recente, uno studio randomizzato e in doppio cieco ha confermato in età pediatrica che la SLIT per *Parietaria* è in grado di abolire l'incremento di reattività aspecifica durante la stagione pollinica (40). Per quanto riguarda la farmacocinetica degli allergeni, è interessante notare come non esistano dati a proposito dell'assorbimento dell'AIT sottocutanea nonostante quasi un secolo di utilizzo clinico. Per le vie mucosali, esistevano già alcuni dati, peraltro controversi, nell'animale (41).

Molto di recente, sono stati condotti studi di farmacocinetica nell'uomo, utilizzando un allergene purificato radiomarcato e valutandone assorbimento e progressione mediante scintigrafia e cromatografia plasmatica (42, 43). Si è osservato che:

- a) non esiste assorbimento diretto sublinguale,
- b) parte dell'allergene radiomarcato persiste per tempi lunghi adeso alle mucose nasale e buccale,
- c) l'allergene modificato (allergoide monomero) può essere assorbito intatto in circolo (43).

Il fatto che la via orale pura (allergene immediatamente deglutito) non sia efficace, mentre lo è quella sublinguale, e la persistenza dell'allergene a livello mucosale fanno ipotizzare che il contatto con la mucosa sia una fase critica per il meccanismo di azione.

5. Aspetti controversi e prospettive future

Uno degli aspetti non ancora chiariti della SLIT è quello del dosaggio ottimale. Infatti, dall'esame degli studi pubblicati si può solo dedurre che la SLIT è efficace per dosaggi dalle 3 alle 400 volte maggiori di quelli utilizzati nella AIT sottocutanea, ma non è tuttora chiaro quale sia il dosaggio migliore. È vero per contro che all'aumentare del dosaggio aumentano gli effetti collaterali, almeno quelli gastrointestinali (44). Un recente studio di Andr  e coll. (45) ha evidenziato comunque che esiste una certa relazione diretta tra dose ed effetti clinici (maggiore la dose, pi  evidente il miglioramento dei sintomi). Uno degli argomenti a potenziale detrimento della SLIT riguarda l'aderenza al trattamento (compliance), poich  il vaccino   gestito direttamente dal paziente a domicilio. In realt , con la via sottocutanea (che dovrebbe avere teoricamente aderenza del 100%), il tasso di interruzione dovuto all'insorgenza di effetti collaterali   molto elevato e quindi l'aderenza   tutt'altro che ottimale (46, 47). Dato l'ottima tollerabilit  della SLIT ci si aspetta quindi una buona compliance. Il problema   stato affrontato di recente in uno studio multicentrico specificamente dedicato alla misura quantitativa dell'aderenza, ed effettuato con allergoide monomero in compresse (Lais, Lofarma). I pazienti erano contattati telefonicamente senza preavviso e veniva loro chiesto di contare le compresse rimaste nel blister. Un programma computerizzato, sulla base della data di inizio della terapia effettuava il conteggio del numero rimanente atteso di compresse e quindi delle dosi saltate. Al momento sono disponibili i dati per 35 pazienti e l'aderenza risulta essere superiore al 95% (48), indipendentemente dal tipo di allergene e schema di somministrazione. Sempre nell'ottica di migliorare l'aderenza e rendere pi  semplice per i pazienti l'assunzione della terapia, una delle prospettive future   quella di utilizzare un solo dosaggio fin dall'inizio del trattamento, evitando la fase di incremento progressivo. Ci    consentito ancora una volta dal buon profilo di sicurezza della SLIT. Un recente lavoro con dosaggio di mantenimento fin dall'inizio ha confermato questa

possibilit : in 4 gruppi di pazienti trattati con 3 dosaggi diversi, uno dei quali elevato fin dall'inizio, non si sono osservate significative variazioni dell'incidenza di effetti collaterali (49).   noto che l'AIT iniettiva   in grado di mantenere gli effetti clinici anche per anni dopo la sospensione del trattamento (50). Di recente, tale peculiare propriet    stata dimostrata anche per la SLIT in uno studio prospettico di 10 anni condotto su 60 bambini asmatici trattati con SLIT per acari della polvere (51). Sicuramente, tale importante osservazione richiede ulteriori conferme, e quindi il problema del long-lasting effect sar  sicuramente oggetto di studio negli anni a venire. Sicuramente, rimane ancora da comprovare per la SLIT l'effetto preventivo sull'insorgenza di asma nei pazienti rinitici che invece   ben noto per la via iniettiva (52).   stato peraltro segnalato di recente che anche la SLIT pu  prevenire l'insorgenza di nuove sensibilizzazioni cutanee (53): 5,9% nei pazienti trattati per tre anni contro 35% del gruppo di controllo.

6. Conclusioni

La SLIT   a tutt'oggi largamente impiegata in molti Paesi Europei e il suo utilizzo routinario   stato validato nei pi  recenti documenti ufficiali. Le sue indicazioni non differiscono di fatto da quelle per la via iniettiva e valgono le stesse raccomandazioni per la prescrizione. Quest'ultima dovrebbe essere sempre effettuata dallo specialista, dopo aver stabilito accuratamente la diagnosi, valutato il rapporto costo/beneficio e dopo aver informato ed educato il paziente sulle modalit  di uso e sui possibili effetti collaterali. Dopo un iniziale periodo di scetticismo, la comunit  scientifica internazionale sta lentamente prendendo coscienza delle reali possibilit  terapeutiche della SLIT (3, 54), anche se permangono opinioni contrarie o critiche (55).   vero anche che restano alcuni punti importanti da chiarire: il dosaggio ottimale, i meccanismi di azione e la capacit  preventiva nei confronti dell'asma. Questi aspetti saranno di certo l'oggetto dei futuri studi clinici e di quelli immunologici di base.

Bibliografia consigliata

- 1) Allergen immunotherapy. Who Position Paper. Bousquet J, Lockey RF, Malling HJ (Edts). *Allergy* 1998;54 (suppl. 52): 1-81.
- 2) Kagi MK, W trich B. Different methods of local allergen immunotherapy. *Allergy* 2002; 57:379-388.
- 3) Canonica GW, Passalacqua G. Noninjection routes for immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111:437-448.
- 4) Committee on Safety of Medicines. Desensitizing vaccines. *Brit Med J* 1986; 293:948.
- 5) Malling H, Weeke B. Immunotherapy. Position Paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 1993;48 (suppl 14) :9-35.

- 6) Malling HJ, Abreu Nogueira L, Alvarez-Cuesta E et al. EAA-CI/ESPACI Position paper on local immunotherapy. *Allergy* 1998; 54:833-844.
- 7) Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA). WHO Position paper. Bouquet J, Kalthav N, Van Cauwenberge P (Edts). *J Allergy Clin Immunol* 2001;108 (suppl 5):5147-344.
- 8) Passalacqua G, Baena-Cagnani C, Berardi M, Canonica GW. Oral and sublingual immunotherapy in paediatric patients. *Cur Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3(2): 139-145.
- 9) Hirsch T, Sahn M, Leupold W. Double blind placebo-controlled study of sublingual immunotherapy with house dust mite extracts in children. *Pediatr Allergy Immunol* 1997; 8:21-27.

- 10) Guez S, Vatrinet C, Fadel R, André C. House dust mite sublingual swallow immunotherapy in perennial rhinitis: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy* 2000; 55:369-375.
- 11) Lima MT, Wilson D, Pitkin L et al. Grass pollen sublingual immunotherapy for seasonal rhinoconjunctivitis: a randomized controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2002; 32:507-514.
- 12) Malling HJ. Allergen-specific immunotherapy in allergic rhinitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1:43-46.
- 13) Wilson DR, Torres LJ, Durham SR. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis (Cochrane review). *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(2): CD002893.
- 14) Bousquet J, Scheinmann P, Guinépain MT et al. Sublingual swallow immunotherapy (SLIT) in patients with asthma due to house dust mites: a double-blind placebo-controlled study. *Allergy* 1999;54:249-260.
- 15) Purello D'Ambrosio F, Gangemi S, Isola S et al. Sublingual immunotherapy: a double blind placebo controlled trial with *Parietaria judaica* extract standardized in mass units in patients with rhinoconjunctivitis, asthma or both. *Allergy* 1999; 54:968-973.
- 16) Pradalier A, Basset D, Claudel A et al. Sublingual-swallow immunotherapy (SLIT) with a standardized five-grass-pollen extract (drops and sublingual tablets) versus placebo in seasonal rhinitis. *Allergy* 1999; 54:819-828.
- 17) Pajno GB, Morabito L, Barberio G, Parmiani S. Clinical and immunological effects of longterm sublingual immunotherapy in asthmatic children sensitized to mite: a double-blind study. *Allergy* 2000;55:842-849.
- 18) Pajno GB, Vita D, Parmiani S, Caminiti L, La Grutta S, Barberio G. Impact of sublingual immunotherapy on seasonal asthma and skin reactivity in children allergic to *Parietaria* pollen treated with fluticasone dipropionate. *Clin Exp Allergy* (in press)
- 19) Mortemousque B, Bertel F, De Casamayor J, Verin P, Colin J. House-dust mite sublingual-swallow immunotherapy in perennial conjunctivitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy* 2003; 33:464-469.
- 20) André C, Perrin-Fayolle M, Grosclaude M et al. A double-blind placebo-controlled evaluation of SLIT with a standardized ragweed extract in patients with seasonal rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131:111-118.
- 21) Ongari S, Domeneghetti P, Parmiani S. Comparison among drugs, injective IT and sublingual IT in grass allergic patients. *Allergy* 1995;50(26):358.
- 22) Bernardis P, Agnoletto M, Puccinelli P, Parmiani S, Pozzan M. Injective vs sublingual immunotherapy in *Alternaria tenuis* allergic patients. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1996; 6:55-62.
- 23) Piazza I, Bizzarro N. Humoral response to subcutaneous, oral and nasal immunotherapy for allergic rhinitis due to *Dermatophagoides pteronyssinus*. *Ann Allergy* 1993; 71:461-469.
- 24) Mungan D, Misirligil Z, Gurbuz L. Comparison of the efficacy of subcutaneous and sublingual immunotherapy in mite sensitive patients with rhinitis and asthma: a placebo-controlled study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82:485-490.
- 25) Quirino T, Iemoli E, Siciliani E, Parmiani S, Milazzo F. Sublingual vs injective immunotherapy in grass pollen allergic patients: a double blind, double dummy study. *Clin Exp Allergy* 1996; 26:107-111.
- 26) Khinchi MS, Poulsen LK, Carat F, André C, Hansen AB, Malling HJ. Clinical efficacy of sublingual and subcutaneous birch pollen allergen specific immunotherapy. A randomized placebo controlled, double blind, double dummy study. *Allergy* 2003 (in press).
- 27) Lockey RF, Benedict LM, Turkeltaub PC, Bukantz SC. Fatalities from immunotherapy (IT) and skin testing (ST). *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79:660-677.
- 28) Reid MJ, Lockey RF, Turkeltaub PC, Platts-Mills TA. Survey of fatalities from skin testing and immunotherapy 1985-1989. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92:6-15.
- 29) André C, Vatrinet C, Galvain S, Carat F, Sicard H. Safety of sublingual swallow immunotherapy in children and adults. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 121:229-234.
- 30) Di Rienzo V, Pagani A, Parmiani S, Passalacqua G, Canonica GW. Post-marketing surveillance study on the safety of sublingual immunotherapy in children. *Allergy* 1999; 54:1110-1113.
- 31) Lombardi C, Gargioni S, Melchiorre A et al. Safety of sublingual immunotherapy in adults: a post marketing surveillance study. *Allergy* 2001; 56:889-892.
- 32) Marcucci F, Sensi L, Frati F et al. Sublingual tryptase and ECP in children treated with grass pollen sublingual immunotherapy (SLIT): safety and immunologic implications. *Allergy* 2001; 56:1091-1095.
- 33) Lombardi C, Canonica GW, Passalacqua G. Sublingual immunotherapy is clinically safe in patients with oral allergy syndrome. *Allergy* 2000; 55:677-678.
- 34) Fanta C, Bohl B, Hirt W et al. Systemic immunological changes induced by administration of grass pollen extract via oral mucosa during SLIT. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 120:218-224.
- 35) Passalacqua G, Albano M, Riccio AM et al. Clinical and immunological effects of a rush sublingual immunotherapy to *Parietaria* species: a double blind placebo controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104:964-968.
- 36) Passalacqua G, Albano M, Fregonese L et al. Randomised controlled trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite induced rhinoconjunctivitis. *Lancet* 1998; 351:629-632.

- 37) Silvestri M, Spallarossa D, Battistini E et al. Changes in inflammatory and clinical parameters and in bronchial hyperreactivity asthmatic children sensitized to house dust mites following sublingual immunotherapy. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2002; 12:52-59.
- 38) Ippoliti F, De Sanctis W, Volterrani A et al. Immunomodulation during sublingual therapy in allergic children. *Pediatr Allergy Immunol* 2003; 14:216-221.
- 39) Lombardi C, Gargioni S, Venturi S, Zoccali P, Canonica GW, Passalacqua G. Controlled study of preseasonal immunotherapy with grass pollen extracts in tablets: effect on bronchial hyperreactivity. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2001; 11:41-45.
- 40) Pajno GB, Passalacqua G, La Grutta S, Barberio G. Effects of SLIT on bronchial hyperreactivity in children with asthma. 60th Meeting of the American Academy of Allergy Asthma and Immunology. Denver 2003. CDROM: 259.
- 41) Falagiani P, Mistrello G. Pharmacokinetics of allergens after local administration. *Allergy* 1997;52(33):17-21.
- 42) Bagnasco M, Mariani G, Passalacqua G, Motta C, Bartolomei M, Falagiani P, Mistrello G, Canonica GW. Absorption and distribution kinetics of the major Parietaria allergen administered by noninjectable routes to healthy human beings. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100: 13-18.
- 43) Bagnasco M, Passalacqua G, Villa G et al. Pharmacokinetics of an allergen and a monomeric allergoid for oromucosal immunotherapy in allergic volunteers. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:54-60.
- 44) La Rosa M, Ranno C, Andr  C, Carat F, Tosca MA, Canonica GW. Double blind placebo-controlled evaluation of sublingual swallow immunotherapy with standardized Parietaria judaica extract in children with allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104:425-432.
- 45) Andr  C, Perrin-Fayolle M, Grosclaude M et al. A double-blind placebo-controlled evaluation of SLIT with a standardized ragweed extract in patients with seasonal rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131:111-118.
- 46) Lower T, Hensy J, Mandik L, Janosky J, Friday GA Jr. Compliance with allergen immunotherapy. *Ann Allergy*. 1993; 70:480-482.
- 47) Cohn JR, Pizzi A. Determinants of patient compliance with allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91:734-737
- 48) Lombardi C, Gani F, Landi Met al. Systematic assessment of the compliance with sublingual immunotherapy (INSIT study). XXII Congress EAACI. Paris. June 2003. Abstract book:3
- 49) Grosclaude M, Bouillot P, Alt R et al. Safety of various dosage regimens during induction of sublingual immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 129:248-253.
- 50) Passalacqua G, Canonica GW. Long lasting efficacy of specific immunotherapy. *Allergy* 2002; 57:275-276.
- 51) Di Rienzo V, Marcucci F, Puccinelli P et al. Long-lasting effect of sublingual immunotherapy in children with asthma due to house dust mite: a ten-year prospective study. *Clin Exp Allergy* 2003; 33:206-210.
- 52) M ller C, Dreborg S, Ferdousi HA et al. Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 109:251-256.
- 53) Marogna M, Spadolini I, Massolo A, Canonica GW, Passalacqua G. Randomized controlled open study with SLIT in real life: efficacy, safety, prevention and adherence. XXII Congress EAACI. Paris. June 2003. Abstract book: 754.
- 54) Douglass J, O'Heir R. Specific allergen immunotherapy: time for alternatives? *Clin Exp Allergy* 2002;32: 1-3.
- 55) Nelson HS. Advances in upper airway disease and allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111: S793-798.

a cura di Gianni Mistrello



Notiziario Allergologico

Giugno-Settembre 2004 • Volume 23 • n. 2-3

Gli estratti allergenici (allergeni) usati sia a scopo diagnostico che terapeutico sono stati ignorati per moltissimi anni dal corpus giuridico in materia sanitaria; il loro percorso registrativo inizia, almeno in Italia, nel 1991 con il riconoscimento che questi prodotti rientrano pienamente nella definizione di medicinali. In questo articolo il dr. Falagiani (Direttore Scientifico di Lofarma fino alla sua prematura scomparsa), dopo aver passato in rassegna le normative che regolano in generale la registrazione dei medicinali in Italia e in Europa, concentra la sua attenzione sugli aspetti regolatori degli Allergeni, tematica (siamo nel 2004) poco conosciuta anche ai più esperti del settore. La storia inizia con l'allora Ministero della Salute che, prendendo atto della situazione esistente, tenta di disciplinare questi particolari medicinali, pro-

mulgando un decreto (D.M. 13 dicembre 1991) con il quale consente alle Aziende Produttrici di continuare a produrli e commercializzarli, purché essi fossero prodotti anteriormente al 1 ottobre 1991, e a condizione che le stesse presentassero al suddetto Ministero regolare domanda di A.I.C. (autorizzazione all'immissione in commercio), che prevedeva l'invio di un dossier molto corposo. Questo particolare trattamento (almeno relativamente alle terapie) da parte del Ministero, che si differenziava dal percorso registrativo richiesto ai normali medicinali, era giustificato anche dal fatto che le terapie venivano prodotte sulla base di una prescrizione individuale per un dato paziente (*named patient*). Come ricordato però dall'autore, questo non impediva che le suddette Aziende fossero regolarmente sottoposte a visite ispettive periodiche da parte delle Autorità Sanitarie per l'osservanza delle norme di buona fabbricazione (GMP) dei medicinali prodotti e il controllo della qualità degli stessi, in accordo con la linea guida *Note for Guidance on Allergen Products* del momento. Ovviamente, questa linea guida viene continuamente aggiornata andando di pari passo con il progresso tecnologico e a essa il relativo dossier viene di volta in volta adattato. Sul problema del rilascio dell'A.I.C. è bene ricordare che ancora oggi le speranze delle Aziende di vedere esaudite le proprie aspettative sono disattese. A seguito dell'ultima Determina (DG 2130/201), l'AIFA (subentrata nel frattempo al Ministero della Sanità nella gestione del problema) ha richiesto alle Aziende Produttrici ulteriori adempimenti. Sulla base di una prima valutazione l'AIFA ha consentito il mantenimento della commercializzazione *ope legis* dei prodotti che rispondevano ai requisiti richiesti. Per quanto riguarda invece il rilascio dell'A.I.C. degli stessi, si è in attesa della conclusione della fase transitoria. A oggi l'AIFA precisa, comunque, che in Italia la tipologia dei medicinali allergenici in commercio è la seguente:

- a) Medicinali autorizzati al commercio *ope legis* ai sensi del D.M. 13 dicembre 1991;
- b) Medicinali con regolare AIC (riguarda solo alcuni Allergeni);
- c) Medicinali commercializzati ai sensi dell'art. 5 del D.Lgs 219/2006 come *Named Patient Product* (NPP).



ASPETTI REGOLATORI DEI PRODOTTI ALLERGENICI

PAOLO FALAGIANI

Direttore Scientifico - Lofarma S. p. A. Milano

RIASSUNTO

Vengono passate in rassegna le principali normative che regolano la registrazione dei medicinali in Italia e in Europa. Più in particolare, viene descritta la struttura del dossier registrativo secondo il format Notice to Applicants.

È in corso un processo di armonizzazione dei requisiti richiesti per i medicinali e delle procedure di controllo finalizzate alla registrazione, detto ICH, che porterà all'unificazione tra Europa, Giappone e USA. Si esamina quindi la posizione dei prodotti allergenici in Italia, prima e dopo i decreti del 1991, e nei vari Paesi europei, e le loro particolarità che li differenziano dalle normali specialità medicinali. Per quanto riguarda la qualità dei prodotti allergologici, essa viene definita da recenti Linee Guida europee, Note for Guidance on Allergen Products e Farmacopea.

Infine, si esamina la situazione regolatoria dei prodotti allergenici negli USA, sostanzialmente diversa dall'Europa dal momento che vi vige la registrazione dei prodotti intermedi, e la preparazione delle immunoterapie è effettuata direttamente dagli Allergologi.

Nelle conclusioni, si auspica che per questi prodotti venga confermato il doppio canale di produzione e distribuzione, dei prodotti registrati e di quelli preparati individualmente, in modo da soddisfare le presenti e future necessità terapeutiche degli Allergologi.

PAROLE CHIAVE

Prodotti allergenici - Autorizzazione all'immissione in commercio (registrazione) - Decreti - Linee Guida - Farmacopea - ICH.

Not. Allergol 2004; 23: 60-66

1. Introduzione

Gli allergeni sono dei prodotti molto particolari rispetto ai normali farmaci. Innanzitutto, hanno una caratteristica che li rende unici. Essi hanno un'attività immunologica, e quindi in senso lato "farmacologica", soltanto nei soggetti portatori della sensibilizzazione allergica, mentre per i soggetti normali possono essere assimilati a delle normali proteine. È naturale quindi che la loro tossicità, studiata con i normali test su animali di laboratorio non sensibilizzati, risulti praticamente nulla, tant'è che la Farmacopea, come vedremo più avanti, ne prevede l'esecuzione solo per gli estratti di muffe destinati alla somministrazione parenterale.

Un'altra caratteristica che li rende assai diversi dai normali farmaci è la complessità della struttura chimica. Essi, infatti, essendo ottenuti per estrazione da sorgenti allergeniche complesse (pollini, acari, spore fungine, epiteli animali, ecc.) contengono una grande quantità di proteine, piccoli peptidi e pigmenti. Con particolari tecniche di purificazione è possibile allontanare gran parte dei piccoli peptidi e pigmenti, privi di efficacia immunologica. Quanto resta è una miscela proteica molto eterogenea. Basti pensare, a titolo di esempio, che un estratto di polline di *Phleum pratense* contiene 9 allergeni diversi noti, quello di *Dermatophagoides pteronyssinus* 11, quello di epiteli di gatto 7, quello di *Alternaria alternata* 9. Da questa eterogeneità deriva anche la complessità dei processi analitici e della standardizzazio-

ne di questi prodotti.

Per meglio inquadrare la posizione regolatoria specifica dei prodotti allergenici sono opportuni alcuni cenni sulla registrazione dei farmaci.

2. La registrazione dei farmaci in Italia e in Europa (1)

2.1 Italia fino al 1991

La legislazione farmaceutica in Italia è stata per più di cinquant'anni regolamentata dal Regio Decreto del marzo 1927, poi integrato dal Testo Unico delle Leggi Sanitarie del luglio 1934. Queste leggi stabilivano l'obbligo di ottenere l'autorizzazione dal Ministero della Sanità sia per produrre che per commercializzare i prodotti farmaceutici. Esse inoltre stabilivano quali documenti era necessario fornire per ottenere l'autorizzazione: in sostanza era necessario dimostrare la qualità, la sicurezza e l'efficacia.

2.2 Europa

A partire dal 1965 è iniziato un lungo cammino legislativo sui farmaci a livello europeo, che vede nella CEE 65/65 la prima Direttiva che stabilisce i criteri per l'accettazione dei farmaci da parte degli Stati membri. Vi si afferma il principio fondamentale che deve regolare la concessione dell'autorizzazione alla immissione in commercio dei farmaci: essa deve essere basata esclusivamente su criteri tecnici (dimostrazione della qualità, sicurezza ed efficacia) e non da opportunità di carattere politico, econo-



mico o di qualsivoglia convenienza nazionale. Successive Direttive sono state emanate, con lo scopo sia di migliorare il livello della produzione farmaceutica ma anche, e soprattutto, per armonizzare le politiche degli Stati membri. È stata istituita la figura della “persona qualificata”, che nell’interno della società farmaceutica rappresenta il responsabile della qualità del prodotto e che se ne fa garante, eliminando la necessità di ricontrolli al momento dell’importazione in altri Stati membri (Direttiva 75/319). Sono state istituite procedure di registrazione comunitarie quali la “procedura multistato”, che consiste nella possibilità di mutuo riconoscimento da parte di altri Paesi della Comunità Europea (CE) sulla base della stessa documentazione (dossier) presentata per la prima autorizzazione, completata da un rapporto di valutazione (Direttive 75/319 e 83/570). È stata creata una struttura regolatoria sovranazionale, composta da esperti di strutture regolatorie nazionali della CE, denominata CPMP (*Committee for Proprietary Medicinal Products*: Comitato per le specialità farmaceutiche), che ha gestito la procedura multistato e che tutt’oggi è l’organo consultivo in campo farmaceutico della CE (Direttiva 75/319).

2.3 Il dossier secondo Notice to Applicants

Sempre nel solco dell’armonizzazione tra i vari Stati membri della CE, ha avuto grande importanza la creazione di un modello standardizzato per l’allestimento dei dossier registrativi, detto “Notice to Applicants” (NTA) cioè “Avviso ai Richiedenti” (Direttiva 83/570).

Il dossier secondo Notice to Applicants è così composto:

Parte I: Contiene i dati amministrativi dell’azienda farmaceutica che chiede

l’Autorizzazione all’Immissione in Commercio (AIC) e i tre *Expert Report* relativi a ciascuna delle parti successive.

Parte II: Contiene le informazioni relative alla natura chimica del farmaco, al suo processo produttivo (e relative validazioni), al controllo di qualità, il tutto in osservanza delle *Good Manufacturing Practices* (GMP).

Parte III: contiene le informazioni farmacologiche, di farmacocinetica e i risultati delle prove tossicologiche negli animali, effettuate obbligatoriamente in accordo con le *Good Laboratory Practices* (GLP).

Parte IV: Contiene i risultati delle prove cliniche per accertare l’efficacia e la sicurezza del farmaco. Esse devono essere eseguite secondo le *Good Clinical Practices* (GCP), già elaborate nel 1977 con il nome di *Proposed Regulation* dal *Federal Register* della *Food and Drug Administration* (FDA) negli USA, e rese obbligatorie in Europa nel 1991 (Direttiva 91/507) e in Italia nel 1992 (OM 27.04.1992).

In base alle GCP, gli studi clinici devono osservare i seguenti criteri:

- I) Eticità: necessità di ottenere l’autorizzazione dal Comitato Etico competente e il consenso informato dei partecipanti, nonché di curare la loro protezione durante tutto lo studio;
- II) Responsabilità: indicazione chiara degli obblighi dello sponsor, dei medici che eseguono lo studio, dei monitor che ne verificano l’andamento;
- III) Gestione dei dati: indicazione dei criteri di raccolta, elaborazione e archiviazione dei dati, nel rispetto della privacy;
- IV) Statistica: vanno indicati i metodi statistici che verranno impiegati per elaborare i risultati, specificando i criteri che hanno portato al disegno dello studio e a stabilire il numero di

pazienti da arruolare;

- V) Qualità: va indicato il sistema di assicurazione della qualità relativo a tutta la gestione dei dati dello studio.

Il dossier registrativo rappresenta il cuore della domanda di Autorizzazione all’Immissione in Commercio (AIC, comunemente detta registrazione), che può essere presentata a un Ente preposto per ottenere l’autorizzazione in un singolo Stato secondo la procedura nazionale, ovvero all’Agenzia Europea per la valutazione dei medicinali (*European Medicines Evaluation Agency*, EMEA) per avere un’autorizzazione europea secondo la procedura centralizzata (Regolamento CEE 2309/93). La procedura centralizzata che fa capo all’EMA è l’unica consentita per i farmaci ad alta tecnologia, ad esempio quelli ottenuti con la tecnica del DNA ricombinante ovvero anticorpi monoclonali o loro derivati. Dal luglio 2003 la struttura del dossier registrativo deve seguire un nuovo format, detto *Common Technical Document* (CTD), che comporta modifiche sostanzialmente formali rispetto al *Notice to Applicants*.

2.4 Il processo di armonizzazione ICH

Allo stato attuale le principali aree geografiche del mondo hanno delle legislazioni autonome sulle ispezioni ai siti produttivi farmaceutici e sulla registrazione dei medicinali. Ciò comporta che le aziende farmaceutiche che hanno mercati globali debbano subire ispezioni da tutti gli Stati ove vogliano importare i loro prodotti e fare registrazioni separate, con dossier spesso differenti. Ad esempio, un’azienda europea che vuole esportare un medicinale negli USA deve richiedere, e pagare, un’ispezione alla FDA per verificare che detto medicinale venga prodotto secondo le normative di produzione (GMP) vigenti negli USA.



Inoltre, dovrà chiedere l'autorizzazione all'immissione in commercio alla FDA, consegnando un dossier conforme alle norme USA. Se, ad esempio, voglia portare il suo medicinale anche in Giappone, dovrà ripetere la stessa procedura con quel Paese. Laddove poi vi siano delle discordanze tra le normative di un Paese e quelle di un altro, sorgerebbero evidentemente dei conflitti. Inoltre, questa situazione porta a un pesantissimo aumento dei costi di registrazione. Per dare un'idea delle dimensioni finanziarie di ricerca e sviluppo in campo farmaceutico, basti pensare che il costo medio internazionale dello sviluppo di un nuovo medicinale, dall'inizio della ricerca al banco della farmacia (comprendendo le molecole che abortiscono per vari motivi), è oggi di circa 830 milioni di dollari. Allo scopo di armonizzare le normative e le procedure, e quindi favorire una globalizzazione dei mercati, è stato avviato un progetto collaborativo tra Europa, Giappone e USA. Questo progetto prevede, attraverso un dialogo continuo tra autorità e industrie farmaceutiche, di identificare Linee Guida e requisiti accettabili per le tre parti in dialogo. Questo processo, che ha il nome di *"International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use"*, abbreviato nell'acronimo ICH, è iniziato nel 1991 con una conferenza tra le tre parti, che si è poi ripetuta ogni due anni. In questo progetto sono stati creati numerosi comitati di esperti (ICH *Steering Committee*) che hanno elaborato Linee Guida, le quali vengono immediatamente recepite dai singoli Stati. A titolo di esempio possiamo citare la Linea Guida sui test di stabilità (*Stability Testing of New Drug Substances and Products*), che stabilisce quali devono essere le condizioni di stoccaggio (tem-

peratura, umidità, tempo), quali i criteri per la selezione dei lotti da mettere in analisi, quali i criteri per valutare la degradazione e l'attività residua, conseguentemente quali indicazioni vanno riportate sull'etichetta. Ad esempio, un medicinale che non richiede particolari condizioni di temperatura per il trasporto e la conservazione (es. 2-8°C) deve avere superato indenne una stabilità accelerata in un ambiente a 40°C±2°C con umidità relativa (RH) del 75%±5%. Solo se conforme a questa Linea Guida ICH la stabilità dei medicinali viene accettata, in fase di autorizzazione, da tutti gli enti regolatori. Naturalmente, l'area di influenza ICH si estenderà rapidamente ad altre aree geografiche, creando infine un'armonizzazione pressoché mondiale.

2.5 Il DL italiano n.178 (2)

In Italia le uniche leggi in materia sanitaria vigenti fino al 1991 sono state i già citati Regio Decreto del marzo 1927 e il Testo Unico del luglio 1934, anche se la legge stabilisce l'obbligatorietà per ogni Stato membro di adeguarsi comunque alle Direttive europee. Il 19 maggio 1991 venne promulgato in Italia il Decreto Legislativo (DL) n.178 intitolato *"Recepimento delle direttive della Comunità economica europea in materia di specialità medicinali"*, che ha recepito le Direttive europee 65/65, 75/319 e 83/570. Esso riordina tutte le norme sull'autorizzazione alla produzione, importazione e immissione in commercio delle specialità medicinali, estende le responsabilità del direttore tecnico dell'azienda produttrice, inasprisce le sanzioni amministrative, pecuniarie e penali per chi viola dette norme. Il DL n.178, all'Art. 25.4, prevede la possibilità che vengano prodotti e commercializzati medicinali non autorizzati *"su richiesta del medico, scritta e non sollecitata, il quale*

si impegna a utilizzare i prodotti su pazienti propri o della struttura alla quale è preposto, sotto la sua diretta e personale responsabilità". Inoltre, il DL n.178 emana all'Art. 20 delle disposizioni particolari per alcuni medicinali, tra cui gli allergeni, che vengono per la prima volta definiti, come vedremo più avanti (3.2).

3. Lo status regolatorio degli allergeni in Italia

3.1 La situazione fino al 1991

Fino al 1991 (anno di entrata in vigore del DL n.178) in Italia gli allergeni erano stati completamente ignorati dal corpus giuridico in materia sanitaria. Tuttavia, molte aziende hanno operato, e molte operano tuttora, producendo allergeni, ovvero importandoli da case madri estere. Queste aziende sono state da sempre, e sono tuttora, regolarmente sottoposte a visite ispettive periodiche da parte dal Ministero della Sanità (ora Ministero della Salute), per verificare l'osservanza delle Norme di Buona Fabbricazione (GMP) sia per quanto riguarda la produzione che il controllo della qualità degli allergeni. Nei casi favorevoli, queste visite ispettive hanno dato luogo a decreti di autorizzazione alla produzione degli allergeni. Siamo quindi di fronte a una situazione insolita, in cui la produzione di un farmaco è autorizzata, ma il farmaco stesso non ha una sua specifica autorizzazione all'immissione in commercio (AIC). La spiegazione di ciò sta nel fatto che se da un lato gli allergeni, pur essendo una categoria particolare di farmaci, non possono non essere considerati "medicinali", dall'altro lato non sono "specialità medicinali". Analizziamo le definizioni di "medicinale" e "specialità medicinale" (come da DL n.178).

Definizione di medicinale: *"È da intendersi medicinale ogni sostanza o compo-*



sizione presentata come avente proprietà curative o profilattiche delle malattie umane o animali, nonché ogni sostanza o composizione da somministrare all'uomo o all'animale allo scopo di stabilire una diagnosi medica o di ripristinare, correggere o modificare funzioni organiche dell'uomo o dell'animale". Come si vede, gli allergeni, sia per diagnosi in vivo (es. prick test) che per immunoterapia, rientrano pienamente in questa definizione.

Definizione di specialità medicinale:

"Sono specialità medicinali i medicinali precedentemente preparati e immessi in commercio con una denominazione speciale e in confezione particolare". Gli allergeni prodotti in Italia non rientrano in questa definizione. Infatti, le immunoterapie sono sempre personalizzate con il nome del paziente (*named-patient*), anche quando contengono un allergene

standard (es. mix pollini di graminacee o *Dermatophagoides*), e soprattutto le miscele di due o più allergeni che vengono allestite su ricetta. Questa non è una differenza solo formale, bensì sostanziale. Infatti, la personalizzazione dei vaccini comporta da parte dell'azienda un'opera attiva di sorveglianza, con assunzione di responsabilità, sulla correttezza delle prescrizioni (ad es. una richiesta di terapia di mantenimento per un paziente che non ha mai ordinato la terapia iniziale viene intercettata e segnalata al medico), di tracciabilità del prodotto, ecc. Un percorso completamente diverso dalle specialità medicinali, di cui l'azienda produttrice perde ogni traccia una volta avvenuta la consegna al grossista farmaceutico. Questo particolare status dei prodotti allergologici ha giustificato un particolare trattamento da parte delle autorità.

sente nelle Direttive europee.

È importante osservare che nel DL n.178 vi è la definizione di due particolari categorie di farmaci, gli allergeni, come sopra detto, e i radiofarmaci. Questi ultimi vengono definiti all'Art. 21: "Ai fini del presente decreto, si intende per radiofarmaco: qualsiasi medicinale che, quando è pronto per l'uso, include uno o più radionuclidi (isotopi radioattivi) incorporati a scopo sanitario". Che cosa ha accomunato gli allergeni e i radiofarmaci? Sostanzialmente il fatto di avere delle caratteristiche molto particolari che li rendono differenti dagli altri medicinali. Con questo decreto si riconosce quindi che le particolarità tecniche di queste due categorie di medicinali, pur assai diverse tra loro, comportano la necessità di un trattamento separato anche a livello normativo e, come vedremo adesso, regolatorio.

Figura 1: Paul-Ehrlich-Institut fino agli anni '80 (sinistra) e sede attuale (destra) (credits to pei.de)



3.2 Gli allergeni nel DL. n.178

Come precedentemente riportato, il 29 maggio 1991 è stato promulgato il DL n.178, ove per la prima volta vengono citati gli allergeni. Vale la pena di leggere letteralmente quanto riportato, all'Art. 20.2: "Sono altresì sottoposti alla disciplina del presente decreto gli allergeni, intendendosi per essi i medicinali che hanno lo scopo di individuare o indurre una determinata alterazione acquisita nella risposta immunologica a un agente allergizzante". Si possono avere delle perplessità su tale definizione. Non è chiaro, infatti, perché gli allergeni dovrebbero "indurre una determinata alterazione acquisita...". Se l'estensore si fosse riferito agli allergeni per immunoterapia, il termine giusto sarebbe stato "modificare una determinata alterazione acquisita...". In ogni caso, questa definizione non è stata creata dal legislatore italiano, bensì è la traduzione della definizione pre-

3.3 Gli allergeni

nel Decreto 13.12.1991

Pochi mesi dopo l'entrata in vigore del DL n.178, precisamente il 13.12.1991, il Ministero della Sanità ha emanato un Decreto specificatamente dedicato proprio a queste due particolari categorie di farmaci, intitolato "Disposizioni sui radiofarmaci e sugli allergeni" (3). Questo decreto rappresenta una sorta di "sanatoria" per le due categorie di farmaci che erano state ignorate dalla legislazione precedente. È importante osservare che il Decreto 13.12.1991, che fa espresso riferimento al DL n.178, afferma nella sua parte introduttiva tre concetti molto importanti:

- I) la segnalazione della "opportunità di fornire alle aziende che producono e che immettono in commercio allergeni e radiofarmaci istruzioni dirette ad assicurare l'adeguamento della produzione e del commercio



di tali prodotti alla disciplina del richiamato decreto legislativo”;

- II) la presa d'atto che “varie autorizzazioni alla produzione di allergeni e di radiofarmaci sono state rilasciate da questo Ministero”;
- III) la dichiarazione che “per evitare i rischi connessi alla indisponibilità di medicinali giudicati necessari, debba consentirsi, a determinate condizioni, l'ulteriore vendita e impiego di radiofarmaci e allergeni, in attesa delle determinazioni che saranno assunte sulle domande di autorizzazione all'immissione in commercio degli stessi prodotti”.

In sostanza, il Decreto 13.12.1991 chiede alle aziende produttrici di segnalare quali prodotti fossero già in produzione e commercio al 1° ottobre 1991, e solo di questi consente il mantenimento in produzione e commercio oltre il 1° gennaio 1992. Si tratta quindi di una presa d'atto della situazione esistente e di una relativa sanatoria. Inoltre, tale decreto ha richiesto alle aziende la presentazione di dossier descrittivi la produzione e il controllo della qualità dei prodotti allergenici, uno per ciascuna delle 13 famiglie di allergeni (alimenti vegetali e animali, pollini di graminacee, erbe e alberi, acari, micofiti, insetti, derivati epiteliali, polveri ambientali, veleno di imenotteri, batteri, allergeni di origine chimica), entro il 30 aprile 1992. Per le parti farmaco-tossicologiche e cliniche il Decreto dispone che esse possano essere allestite in modo comune, per i vari tipi di prodotti, da parte di tutte le aziende interessate.

I primi mesi del 1992 hanno visto tutte le aziende produttrici di allergeni impegnate nella preparazione dei dossier. Alla fine, tutta la documentazione consisteva, per ogni azienda, di 9 scatole di documenti per ciascuna delle 13 famiglie

di allergeni, per un totale di 117 scatole. Tale documentazione è stata consegnata da parte di tutte le aziende al Ministero entro i termini di legge.

4. Lo status regolatorio degli allergeni in Europa

È necessario fare una breve premessa sulla pratica allergologica nei vari Paesi europei. Nei Paesi mediterranei (Italia, Francia, Spagna, Portogallo, Grecia) gli Allergologi cercano di approfondire il più possibile la diagnosi allergologica e conseguentemente di adattare l'immunoterapia al paziente. Pertanto, è abbastanza diffuso l'utilizzo di vaccini personalizzati, spesso con miscele di due o più allergeni (oggi assai meno, per l'affermarsi delle terapie sublinguali). Nei Paesi del Centro-Nord Europa (Germania, Belgio, Olanda, Danimarca, Svezia, Norvegia, Finlandia) gli Allergologi utilizzano terapie standard con un solo allergene, ovvero miscele di allergeni della stessa famiglia (es. graminacee, betulla-ontano). La Gran Bretagna merita una analisi separata. In questo Paese, infatti, l'Allergologia si trova a un livello molto basso. Fino ad alcuni anni fa non esisteva alcuna Scuola di Specializzazione in Allergologia (la prima è stata istituita pochi anni fa a Londra). Nel 1986 si è verificato un evento che ha cambiato il corso delle cose. Il *Committee for Safety of Medicines*, su pressione di un parlamentare, ha pubblicato impietosamente sul *British Medical Journal* un elenco di tutte le reazioni gravi da immunoterapia (all'epoca solo iniettiva) verificatesi negli anni precedenti, e ha raccomandato delle fortissime restrizioni sulle modalità d'uso dell'immunoterapia stessa, con delle conseguenze sulla pratica immunologica in Gran Bretagna che è facile immaginare, quantificabili in un

calo della pratica dell'immunoterapia superiore al 90%.

Possiamo quindi considerare l'Europa divisa in due parti: Europa Mediterranea e Centro-Nord.

In Francia, l'uso di praticare vaccini personalizzati (denominati “*Allergènes Préparés Spécialement pour un Individu*”, APSI) è così radicato che questa è l'unica forma rimborsata dal Servizio Sanitario Nazionale. Conseguentemente il Ministero della Salute francese, che ha un'Agenzia che si occupa specificatamente dei prodotti allergologici, ha emanato una legge che prevede la registrazione dei prodotti intermedi (detti “*bulk*”) con cui le aziende produttrici preparano i vaccini personalizzati, APSI (4). Questa procedura viene seguita sia per i vaccini costituiti da miscele di allergeni sia quelli monocomponente, cioè standard.

In Spagna è stato emanato un Regio Decreto simile al DL n.178 italiano, a cui però non è seguito l'equivalente del Decreto 13.12.1991 (5). Anche in Spagna, come in Italia, viene rilasciata l'autorizzazione ministeriale alla produzione degli allergeni, ma non l'autorizzazione all'immissione in commercio del prodotto finito. In Portogallo e in Grecia non esistono produttori di prodotti allergenici, che vengono importati.

Per quanto riguarda il Centro-Nord Europa, un'analisi separata va fatta per la Germania, ove convivono sia i vaccini per Immunoterapia personalizzati non registrati che quelli standard registrati. Invece, gli estratti diagnostici in vivo (es. prick test) vengono tutti registrati. L'autorizzazione di questi prodotti non viene rilasciata dal Ministero della Salute, bensì dal Paul-Ehrlich-Institut, prestigioso istituto con sede vicino a Francoforte e specializzato in derivati del sangue, vaccini e allergeni (Fig. 1). Negli altri Paesi del Centro-Nord Euro-



pa invece vengono utilizzati soltanto vaccini registrati, prodotti e controllati secondo le *Nordic Guidelines* (6). L'autorizzazione all'immissione in commercio (registrazione) viene concessa sulla base di dossier simili a quelli richiesti per le specialità medicinali (preparati secondo *Notice to Applicants*, oggi *Common Technical Document*). L'allestimento di questi dossier richiede da parte delle aziende un grosso impegno sia sul piano tecnico che finanziario; pertanto, la procedura di registrazione viene applicata soltanto ai prodotti allergologici di più grande diffusione e quindi di elevato fatturato. Analizzando nel suo complesso la produzione di allergeni in Europa, emerge che il 70-80% dei vaccini per immunoterapia vengono prodotti e commercializzati in forma personalizzata (*named-patient*), mentre il rimanente 20-30% sono registrati; quindi, vengono prodotti in modo standard simile alle specialità farmaceutiche (*industrially prepared*) e distribuiti attraverso le farmacie (7).

5. Le normative sulla qualità e la Farmacopea

5.1 La Linea Guida *Note for Guidance on Allergen Products*

Nel febbraio 1991 è stato istituito a livello europeo nell'ambito del *Committee for Proprietary Medicinal Products* (CPMP) un gruppo di lavoro sul controllo e sulla standardizzazione degli allergeni, costituito da esperti di enti regolatori, tra cui il Dr. Carlo Pini dell'Istituto Superiore di Sanità. Essi hanno elaborato una Linea Guida, la *Note for Guidance on Allergen Product*, che ha ricevuto l'approvazione finale del CPMP nel marzo 1996 (8). Nell'Introduzione viene precisato che i prodotti allergenici sono divisi in due categorie: allergeni prodotti industrialmente (per diagnosi e immunoterapia) e

immessi sul mercato con una confezione standard, e allergeni prodotti sulla base di una ricetta individuale per un dato paziente (*named-patient*). La *Note for Guidance* si applica soltanto agli allergeni preparati industrialmente. Nel documento vengono trattati gli aspetti principali della qualità degli allergeni.

- **Controllo delle materie prime**

Per tutte le materie prime deve essere descritto con accuratezza il metodo di raccolta o di coltivazione. Per quanto riguarda i pollini, occorre tenere sotto controllo il contenuto di piombo, derivante dall'inquinamento veicolare, e di pesticidi. L'inquinamento da parte di pollini estranei deve essere limitato all'1% per le miscele di pollini e allo 0,5% per i pollini singoli. Per quanto riguarda i micofiti, occorre cercare di evitare l'utilizzo di specie che producono micotossine, e quando ciò è inevitabile l'eventuale contenuto di tali micotossine va controllato con test di mutagenicità. Per gli acari si raccomanda di evitare l'impiego di proteine di origine animale nel substrato nutritivo. Gli allergeni epiteliali di animali vanno raccolti da soggetti in buona salute, privi di infestazioni parassitarie e che non siano stati recentemente trattati con antiparassitari o altri farmaci.

- **Descrizione dei processi produttivi**

La produzione deve essere chiaramente descritta usando anche diagrammi (flow chart). Tutte le fasi vanno descritte: macinazione ed estrazione delle materie prime, filtrazione, chiarificazione, dialisi, concentrazione, frazionamento, sterilizzazione, liofilizzazione, ecc.

- **Riproducibilità tra lotti (*batch to batch consistency*)**

Il produttore deve dimostrare di essere in grado di produrre diversi lotti dello stesso allergene con un buon li-

vello di riproducibilità. Per effettuare i controlli necessari è raccomandato l'utilizzo di uno standard interno (*in-house reference*, IHR), che verrà confrontato ogni volta con il lotto in esame. Visto il ruolo di metro di paragone assunto dall'IHR, di esso dovrà essere determinata con accuratezza l'attività biologica, con analisi SDS-PAGE, IgE-inibizione, ecc.

- **Controlli sugli intermedi e sui prodotti finiti**

È necessario determinare l'attività allergenica totale di ogni lotto con test di IgE-inibizione. L'attività allergenica deve risultare compresa tra il 50% e il 200% di quella dichiarata. Il range 50-200% può sembrare eccessivo ai non addetti ai lavori; in realtà la risposta di questi sistemi immunologici varia in funzione del logaritmo della dose applicata, pertanto tale range risulta ragionevolmente limitato. In alcuni casi l'allergene viene modificato chimicamente in modo da alterarne l'attività biologica, come nel caso degli allergoidi, e quindi può risultare impossibile determinare l'attività allergenica nel prodotto finito. In questi casi è consentito determinare l'attività allergenica nel prodotto intermedio immediatamente prima della modifica chimica. Ciò può verificarsi anche per i vaccini assorbiti (ritardo), per i quali comunque occorre documentare l'avvenuto adsorbimento.

- **Stabilità**

È necessario documentare la stabilità del prodotto e, nel caso dei vaccini ritardo, l'adsorbimento per il periodo di validità (*shelf-life*) del prodotto. L'attività allergenica alla fine del periodo di validità non deve essere inferiore al 30% di quella dichiarata. La stabilità può essere testata per ogni famiglia tassonomica (es. graminacee, betullacee, composite), e i risul-



tati possono essere estrapolati dagli altri membri della famiglia. Nei casi già descritti in cui non è possibile determinare l'attività allergenica nei prodotti finiti (es. allergoidi) è accettabile che la stabilità venga determinata sui prodotti in fase precedente alla modifica chimica.

- Test di tollerabilità (safety) e test di efficacia

Anche per questi test è accettato il principio della estrapolazione tra allergeni membri della stessa famiglia tassonomica.

5.2 La Farmacopea Europea

La Farmacopea Europea ha introdotto una monografia sui prodotti allergenici, che nelle grandi linee si ispira alla succitata Linea Guida *Note for Guidance on Allergen Products* (9). Anche qui vi sono le raccomandazioni sulle modalità di raccolta delle materie prime allergeniche, sull'utilizzo degli standard interni (qui denominati IHRP, *in-house reference preparations*), sui test analitici per la analisi della composizione antigenica e della potenza allergenica. Anche qui si afferma il range di tolleranza 50-200%, sia per la potenza allergenica totale che per le singole componenti allergeniche. Per quanto riguarda lo studio della tossicità (*abnormal toxicity*), essa è raccomandata limitatamente agli allergeni ottenuti da micofiti e per somministrazione parenterale, escluso il prick test. Infine, vengono descritti i requisiti di una corretta etichettatura:

- potenza biologica e/o contenuto proteico e/o rapporto peso/volume di estrazione;
- via di somministrazione e utilizzo raccomandato;
- condizioni di conservazione;
- quando presente, il nome e la concentrazione del conservante antimicrobico;

- per le preparazioni liofilizzate, il nome, la composizione e il volume del liquido da aggiungere per la ricostituzione, il tempo di validità dopo la ricostituzione;
- quando applicabile, indicazione che la preparazione è sterile;
- quando applicabile, il nome dell'adsorbente (es. idrossido di alluminio o calcio fosfato).

6. L'anomalia USA

Negli USA la pratica dell'immunoterapia ha delle dimensioni ragguardevoli. Si stima che nell'anno 2001 i pazienti che hanno ricevuto l'immunoterapia siano un numero compreso tra 1,9 e 2,7 milioni, prevalentemente (78%) da parte dei 3400 allergologi e in misura minore (9%) da parte del 2600 otorinolaringoiatri (10).

Negli USA la preparazione dei vaccini non viene effettuata dalle aziende, bensì dagli allergologi stessi nei loro studi medici, mescolando diverse quantità di estratti concentrati, detti *bulk*. I *bulk* vengono forniti dalle aziende di settore, e devono essere registrati presso la *Food and Drug Administration* (FDA). Una posizione regolatoria diametralmente opposta all'Europa, dove i vaccini personalizzati (*named-patient*) sono automaticamente esclusi dalla procedura di registrazione, come anche dal campo di applicazione della *Note for Guidance* (vedi 5.1). Oltretutto, è difficile comprendere come questa pratica allergologica possa venire accettata dalle autorità sanitarie, dal momento che la preparazione dei vaccini (che sono soluzioni o sospensioni iniettabili sterili) viene fatta in ambienti privi di quelle caratteristiche farmaceutiche indispensabili alla lavorazione di medicinali.

La pratica allergologica negli USA si differenzia da quella europea anche per il

gran numero di allergeni diversi che essi mettono nei vaccini: 7-8 e anche più, mentre come è noto in Europa ci si limita a 2-3 allergeni di famiglie diverse.

7. Conclusioni

La qualità dei prodotti allergenici è enormemente migliorata negli ultimi 20 anni, grazie all'evoluzione tecnologica, grazie all'istituzione di gruppi di lavoro dedicati (*Committee for Allergen Standardization*, CPMP *working group*) e grazie all'istituzione di incontri periodici tra esperti di aziende e di enti regolatori (Paul-Ehrlich Seminar, giunto alla undicesima edizione). Sul piano regolatorio, come si è visto, vi sono delle anomalie rispetto alle specialità medicinali, anomalie dovute sia alle peculiarità tecniche di questi prodotti sia al grande numero di allergeni che è necessario mettere a disposizione degli Allergologi. Infatti, il processo registrativo è estremamente impegnativo sul piano operativo (preparazione del dossier, esecuzione di studi clinici secondo GCP) e conseguentemente sul piano finanziario, e quindi è possibile ricorrere a esso solo per i prodotti allergenici di maggiore consumo e fatturato (*graminacee*, *Parietaria*, *Dermatophagoides*, betulla, *Ambrosia*, e pochi altri).

Questa circostanza ha creato di fatto in Europa un doppio canale produttivo e distributivo: prodotti allergologici industrialmente preparati, solitamente distribuiti attraverso le farmacie, e i prodotti preparati su base individuale (*named-patient*, o APSI in Francia), solitamente inviati direttamente all'ospedale/medico prescrittore o al paziente. È importante sottolineare che queste categorie di prodotti non devono essere considerate rispettivamente di serie A e di serie B sul piano della qualità. Infatti, sia le procedure produttive che del controllo della



qualità sono le stesse (11).

Sul piano regolatorio, le due categorie seguono in alcuni Paesi percorsi diversi, registrati i primi e non registrati i secondi, con l'eccezione della Francia che ha una legislazione *ad hoc* per i prodotti allergenici preparati su base individuale (APSI). Questo doppio canale non viene visto con molto entusiasmo da alcuni enti regolatori. Peraltro, è indubbio che un'eventuale imposizione della registrazione per tutti i prodotti allergologici (come nei Paesi del Centro-Nord, eccetto la Germania) comporterebbe inevitabilmente la scomparsa di una grande parte dei listini allergologici, con conseguente impoverimento della qualità della prestazione professionale allergologica.

Questa situazione particolare, e politicamente delicata, ha spinto le aziende europee del settore ad associarsi nell'*European Allergen Manufacturers Group* (EAMG), che ha non tanto finalità di lobby quanto di divulgazione sulle caratteristiche dei prodotti allergologici, di promozione delle Linee Guida, di colloquio con le autorità. L'auspicio di molti è che si possa arrivare a un regime regolatorio particolare per tutti quei prodotti che, per le loro caratteristiche, non possono essere registrati secondo le normali procedure previste per le specialità medicinali. Si auspica inoltre che si tenga nel debito conto l'opera di responsabile sorveglianza che le aziende produttrici di allergeni esercitano sulla correttezza delle prescrizioni e sulla trac-

ciabilità dei prodotti stessi, sorveglianza che tecnicamente non è trasferibile ai normali canali distributivi dei medicinali, come le farmacie.

La risoluzione di questi nodi potrà rappresentare il trampolino per l'auspicato rilancio della immunoterapia specifica, recentemente denominata anche "vaccinazione antiallergica". Infatti, l'efficacia dell'immunoterapia sia sulla malattia allergica in atto che nel prevenire la progressione della malattia stessa (da mono a polisensibilizzazione e da rinite ad asma) è oggi riconosciuta da autorevoli Linee Guida elaborate nell'ambito OMS (12, 13) e da meta-analisi (14-16), ma essa è ancora ampiamente sottoutilizzata nella pratica medica.

Bibliografia

1. Tabusso G. La registrazione dei farmaci. In: *Economia e normativa del farmaco*. Lucioni C e Minghetti P (Eds). UTET 1998; p. 185-204.
2. Decreto Legislativo 29 maggio 1991, n.178. Recepimento delle direttive della Comunità economica europea in materia di specialità medicinali. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* 15.06.1991.
3. Decreto 13 dicembre 1991. Disposizioni sui radiofarmaci e sugli allergeni. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* 19.12.1991.
4. Avis aux demandeurs d'autorisation nominative pour la préparation et la délivrance des allergènes préparés spécialement pour un seul individu (APSI). Décret n° 2004-188 du 23.03.2004.
5. Real Decreto 288/1991 por el que se regulan los medicamentos inmunológicos de uso humano. Ministerio Spagnolo della Salute, 8 marzo 1991.
6. Nordic Guidelines, NLN. Registration of allergen preparations, Nordic Council of Medicines, Publication No.23, 2nd edition. Uppsala, Sweden, 1989.

7. May S, Hausteil D. Die individuelle Rezeptur in der spezifischen Immuntherapie. Notwendigkeit und fehlerquellen (Named patient products in specific immunotherapy. Necessities and sources of error). *Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. - Gesundheitsschutz* 2001;44:719-723.
8. Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). Note for Guidance on Allergen Products. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Human Medicines Evaluation Unit. CPMP/BWP/243/96. London, 13 March 1996.
9. European Pharmacopoeia 4th Edition 2002. Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe (EDQM). Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2001.
10. Esch RE. Specific immunotherapy in the USA: General concept and recent initiatives. *Arbeiten aus dem Paul-Ehrlich-Institut, Band 94. 10th International Paul-Ehrlich-Seminar, Lübeck 2002. Druck- und Verlagshaus Sperlich. Pag 17-23.*
11. Kroon AM. The EAMG position on the regulation of existing products for treatment with special reference to named patient products (NPPs). *Arbeiten aus dem Paul-Ehrlich-Institut, Band 94. 10th International Paul-Ehrlich-Seminar, Lübeck 2002. Druck- und Verlagshaus Sperlich, pp 7-16.*

12. Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102(4 Pt 1):558-562.
13. Allergic rhinitis and its impact on asthma. ARIA Workshop Report 2001. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(5 suppl):147-334.
14. Abramson MJ, Puy RM, Weiner JM. Is allergen immunotherapy effective in asthma? A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151(4):969-974.
15. Abramson MJ, Puy RM, Weiner JM. Allergen immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(4):CD001186.
16. Wilson DR, Torres LI, Durham SR. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(2):CD002893.

a cura di Enrico Compalati



Notiziario Allergologico

Anno 2010 • Volume 28 • n. 3

Sono trascorsi ben 15 anni dalla stesura di questo articolo e alla sua rilettura sono rimasto impressionato da quanto gli argomenti sinteticamente trattati siano da ritenere tutt'oggi validi e attuali.

Certamente, il lavoro di questi intercorsi anni ha permesso di approfondire specifiche questioni metodologiche e fornire ulteriori elementi per migliorare la conduzione di studi clinici sulla Immunoterapia Specifica. Per citarne qualcuno a titolo di esempio, la definizione delle stagionalità e dei livelli pollinici significativi per una

corretta esposizione, l'importanza della rilevanza clinica degli effetti riscontrati, la validazione di camere di esposizione allergenica, l'individuazione di nuovi marcatori biologici e la miglior profilazione dei soggetti inclusi, la gestione appropriata dei "missing data", l'utilizzo di tecnologie elettroniche per migliorare la raccolta dei dati, il monitoraggio a distanza, la prevenzione di deviazioni dal protocollo e abbandoni. In quest'ultima direzione si è spinta anche l'ultima edizione delle linee guida GCP (ICH-E6-R3), adeguate ai tempi e sempre più orientate a un approccio "risk-based" per ogni fase dei processi di studio, a tutela dell'integrità dei dati, della sicurezza e dignità dei pazienti. Va poi citata l'entrata in vigore nel gennaio 2022 del Nuovo Regolamento Europeo per la Sperimentazione Clinica (n. 536/2014), che fornisce un paradigma innovativo, armonizzato, trasparente e più efficiente a livello comunitario per quanto riguarda gli aspetti amministrativi e le regole da seguire, insistendo insieme alle GCP sull'innalzamento qualitativo e responsabilizzato degli elementi di conduzione della ricerca clinica, a fronte tuttavia di grandi implicazioni in termini economici. Particolare focus è rivolto ai requisiti degli Sperimentatori, fondamentali attori in questo scenario, che per partecipare garantendo elevati standard qualitativi devono necessariamente dimostrare adeguata formazione, qualifica ed esperienza, strutture adeguate allo scopo e rigoroso rispetto dei protocolli, dal momento che l'esito di uno studio è strettamente vincolato a questi presupposti.

Infine, già all'epoca avevo rimarcato quanto fosse importante andare oltre la sola visione basata sulle informazioni acquisite nel contesto di modelli sperimentali che, pur essendo fondamentali come "proof of concept", non permettono di valutare la cosiddetta "validità esterna" di un approccio curativo. Passare quindi dal concetto di "efficacy" a quello di "effectiveness", come anche più di recente rilanciato in favore dell'utilizzo di ampi database sanitari, registri, studi osservazionali indipendenti e "pragmatic trials".



Studi clinici per la SLIT: importanza della metodologia

Enrico Compalati

Clinica delle Malattie
dell'Apparato Respiratorio e Allergologia
Dipartimento di Medicina Interna
Università di Genova

Clinical Trials on SLIT: the importance of the methodology

Not Allergol 2010; vol. 28: n.3: 113-120.

STUDI CLINICI E METANALISI: MARGINI DI MIGLIORAMENTO

L'immunoterapia specifica è una prassi che prevede la somministrazione a soggetti allergici di estratti allergenici (o vaccini), al fine di ottenere un'iposensibilizzazione verso l'allergene medesimo (1), e quindi di ridurre la sintomatologia, in caso di esposizione naturale. Grazie al suo favorevole profilo di sicurezza, negli ultimi decenni, l'immunoterapia sublinguale (SLIT) ha destato l'interesse progressivo di ricercatori e medici, quale valida alternativa alla tradizionale immunoterapia sottocutanea (subcutaneous immunotherapy - SCIT) per il trattamento dell'allergia respiratoria (2). L'efficacia della SLIT è stata ampiamente approfondita in passato. Nell'ultimo decennio, in virtù del gran numero di studi clinici randomizzati (RCTs) disponibili, sono state svolte revisioni sistematiche con metanalisi, al fine di esaminare gli effetti di SLIT su una popolazione più ampia (3). Da tali lavori ne è emerso un

RIASSUNTO

Parole chiave e sigle:

- SLIT immunoterapia sublinguale • metodologia • studi clinici
- disegno dello studio, qualità dell'evidenza

L'obiettivo del presente articolo consiste nell'argomentare e discutere le questioni chiave sollevate di recente, in merito a nuovi approcci per la conduzione di studi clinici sull'immunoterapia sublinguale (sublingual immunotherapy - SLIT). L'efficacia clinica della SLIT nell'allergia respiratoria è suffragata da numerosi studi clinici randomizzati, in doppio cieco e confermata da metanalisi. Ciononostante, i limiti relativi all'esecuzione e all'attività di descrizione e stesura editoriale (reporting) di alcuni studi, possono spiegare le difficoltà di attribuire un ruolo appropriato alla SLIT nel contesto delle linee guida per il trattamento delle patologie allergiche. Tale questione ha indotto i comitati scientifici internazionali a discutere e a raggiungere un consenso i cui fondamenti dovrebbero essere rispettati durante la stesura del disegno dello studio, la sua esecuzione e la relativa attività di reporting. È stato riscontrato che occorre prestare particolare attenzione agli aspetti della metodologia.

Per garantire la solidità dei risultati, sono state suggerite indicazioni relativamente a: selezione dei pazienti, valutazione basale, analisi statistica, scelta degli endpoint primari e secondari e tipologie di vaccini allergene-specifici. Nel reporting sugli studi clinici, si raccomanda vivamente di seguire la lista di controllo CONSORT, unitamente a particolari misure volte alla riduzione della probabilità di distorsione (bias). Dal momento che la sicurezza rappresenta un aspetto cruciale, sono auspicabili anche classificazioni uniformi degli eventi avversi, a sostegno di valutazioni affidabili a livello globale.

Occorrono studi clinici, con metodologia e caratteristiche rigorose, estesi a tutti gli allergeni più importanti, in modo da fornire una chiara evidenza degli effetti della SLIT a breve termine e di quelli modificanti la patologia. Si auspica, infine, la conduzione di studi clinici per studiare l'efficacia effettiva di questo trattamento in contesti di vita reale.



beneficio complessivo significativo rispetto al placebo. Ciononostante, alcune discrepanze tra i risultati e la difficoltà a escludere possibili bias di pubblicazione, hanno comportato qualche dubbio in merito alla loro affidabilità (4). D'altro canto, non sorprende che possano esistere differenze tra revisioni pubblicate in anni differenti, che prendono in esame diversi scenari clinici, che includono studi differenti, con metodi diversi per l'estrapolazione e l'analisi dei dati. Inoltre, sono stati riscontrati anche risultati coerenti, a indicazione dell'adeguatezza di giudizi generalizzati (5). Il fatto interessante è che tutte le meta-analisi hanno dimostrato un'importante eterogeneità tra gli studi inclusi, che trova spiegazione nella variabilità clinica e metodologica degli stessi (3). Tuttavia, non esiste alcuna dimostrazione sostanziale o formale che le possibili fonti di eterogeneità clinica possano effettivamente incidere sul ciclo di trattamento in un periodo di follow-up relativamente breve. Al contrario, la limitazione metodologica di alcuni studi clinici, soprattutto quelli condotti nella popolazione pediatrica e quelli più datati, può essere considerata un aspetto negativo fondato. Queste osservazioni trovano conferma in una recente meta-analisi sulla SLIT contro i pollini di graminacee, dove la percentuale di abbandoni dei singoli studi, che può essere interpretata come un surrogato della qualità metodologica, ha inciso significativamente sulla stima complessiva dell'effetto (6). Dopo attenta valutazione, peraltro, anche quegli studi presenti in letteratura

che non sono riusciti a soddisfare i propri endpoint hanno evidenziato rilevanti limitazioni (7).

Nonostante l'esistenza di evidenze robuste provenienti da alcuni studi clinici di fase III di vasta portata, condotti su compresse di SLIT per la rinite allergica da pollini di graminacee, le summenzionate motivazioni spiegano il tentativo delle comunità scientifiche di sostenere, con specifiche raccomandazioni, l'aderenza a particolari misure volte a garantire la qualità metodologica nella conduzione e nel reporting degli studi clinici futuri sulla SLIT (7, 8, 9).

LA METODOLOGIA DEGLI STUDI CLINICI SULLA SLIT

La valutazione e la gestione dei disturbi allergici è interessata sostanzialmente dalla variabilità della risposta clinica individuale e dell'esposizione agli allergeni, oltre alla soggettività della valutazione sintomatologica. Per questi motivi, occorre adottare studi clinici di superiorità in doppio cieco e controllati con placebo, per studiare l'efficacia della SLIT, seguendo i principi delle norme di buona pratica clinica (GCP) e le linee guida accettate dalle istituzioni governative di regolamentazione (EMA, FDA). A causa delle dimensioni variabili ma complessivamente ridotte del campione, questi studi non sono comunque idonei a fornire informazioni affidabili sul profilo di sicurezza. Pertanto, gli studi clinici di conferma dovrebbero basarsi su studi controllati nel lungo periodo e sulle osservazioni post immissione in commercio.

Per quanto concerne la pianificazione, la conduzione e infine il reporting degli studi clinici sulla SLIT (Tabella 1), possono essere prese in esame numerose considerazioni specifiche. Si desidera di seguito riassumere e argomentare le principali questioni sollevate dalle recenti tavole rotonde di esperti e dai comitati di discussione internazionali (9).

ASPETTI METODOLOGICI

La metodologia rigorosa della conduzione di RCTs deve essere garantita da misure volte a ridurre al minimo il rischio di distorsione nel mascheramento dell'assegnazione e da una randomizzazione centralizzata non prevedibile, con l'impiego di blocchi di permutazione, generati dal computer, con un elenco specifico all'interno di ciascun sito, in caso di studi multicentrici. Occorre riportare una descrizione chiara di stratificazioni, adeguamenti e procedura in cieco in relazione a partecipanti, sperimentatori e analisti, per l'intera durata dello studio (Figura 1).

I criteri d'inclusione ed esclusione devono essere rigorosamente rispettati e descritti dettagliatamente.

Gli studi clinici devono essere condotti seguendo i principi dell'analisi intention-to-treat (ITT) e devono essere segnalate tutte le deviazioni dall'assegnazione o i ritiri, in conformità al diagramma di flusso CONSORT (10). Le analisi per-protocol sono talvolta plausibili per il fatto che la durata degli studi di immunoterapia può essere lunga e con relativi abbandoni inevitabilmente



numerosi.

I tentativi per evitare una distorsione dovuta agli abbandoni sono fondamentali per conservare i vantaggi della randomizzazione. Se il tasso di abbandoni supera il 20% dei pazienti randomizzati, occorre prestare molta attenzione nell'analisi dei risultati.

Le analisi post-hoc e dei sottogruppi, valide solo se pianificate a priori, hanno un valore esplorativo e i risultati non sono idonei a trarre conclusioni generalizzate: bensì, dovrebbero essere confermati in sperimentazioni appositamente disegnate.

Valutazione basale

È necessario predisporre un eventuale periodo di osservazione basale (almeno 1 stagione per i pollini), così da includere i pazienti che sviluppano un idoneo numero di sintomi prima di essere randomizzati e per escludere quelli senza un chiaro incremento della sintomatologia durante la stagione, o pazienti con sintomi fuori stagione (11).

La conta dei pollini è fondamentale e gli effetti clinici della SLIT devono essere registrati durante tutta la stagione. Tuttavia, l'imprevedibilità e la variabilità dell'esposizione, possono limitare il valore delle informazioni ottenute da un periodo basale. Inoltre, la valutazione della sintomatologia prima dell'inizio del trattamento in questi pazienti, non è sempre fattibile, poiché un ciclo di SLIT inizia solitamente almeno 8 settimane prima dell'inizio della stagione (12). Per garantire stagioni compatibili e ben definite, gli studi devono implicare siti analoghi. In caso di



Tabella 1

Questioni da considerare attentamente durante la conduzione di studi clinici

Aspetti della metodologia	• Randomizzazione/mascheramento dell'assegnazione/procedura in cieco • Calcolo della potenza dello studio • Analisi intention-to-treat (ITT) • Analisi di sensibilità e analisi degli abbandoni • Selezione non distorta degli outcome • Misure medie dell'effetto con misura della varianza • Effetto placebo • Rilevanza clinica dei risultati
Valutazione basale	• Conta pollinica, valutazione dei livelli al chiuso • Stagioni non sovrapponibili
Caratteristiche dei pazienti	• Diagnosi appropriata • Livello basale dei sintomi • Gravità dei sintomi • Comorbidità • Mono e polisensibilizzazione • Nessuna immunoterapia nei precedenti 5 anni
Endpoint	• Punteggi di sintomi + farmaci come outcome primari • Outcome secondari • Outcome esplorativi e surrogati
Vaccini allergene-specifici	• Standardizzati • Efficacia nota e contenuto degli allergeni maggiori in unità di massa • Descrizione dei regimi posologici
Sicurezza	• Codifica uniforme degli eventi avversi (MedDRA)
Follow-up	• Durata adeguata all'outcome principale • Procedura in aperto per gli studi a lungo termine
Report	• Nel rispetto della lista di controllo CONSORT

studi multicentrici condotti su vasta scala in diverse realtà geografiche, con un'elevata variabilità della conta dei pollini e delle stagioni, i dati dovrebbero essere normalizzati per le due settimane di picco.

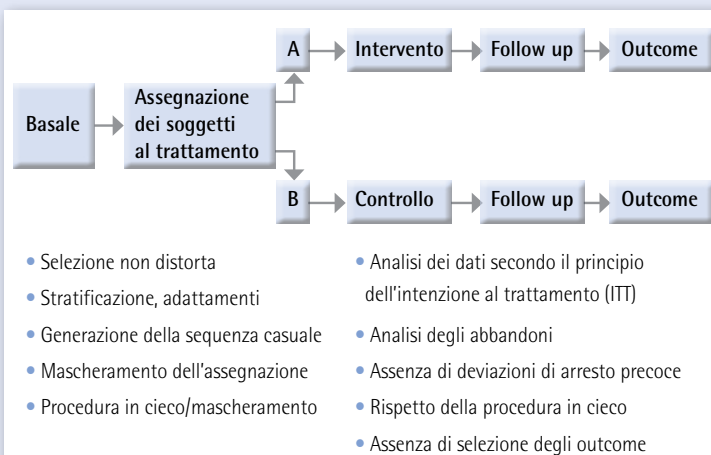
Nell'allergia da acaro, i dati basali devono essere valutati unitamente alle fluttuazioni

misurate in serie nei livelli di allergeni al chiuso, per tutta la durata dello studio. Vengono suggerite le misure di prevenzione ambientale, benché il loro ruolo sia materia di dibattito. Nel corso degli studi va prevista una riduzione progressiva dei livelli di acari.



Figura 1

Caratteristiche da rispettare durante lo studio per garantire una metodologia appropriata



Caratteristiche dei pazienti

Poiché è fondamentale che sia documentato il ruolo causale degli allergeni, nei pazienti eleggibili per gli studi, la sensibilizzazione IgE-mediata deve essere confermata con precisione a livello cutaneo o sierologico. L'esordio e la durata dei sintomi devono essere correlati alla sensibilizzazione per almeno 2 anni consecutivi. Questa rilevanza clinica può essere eventualmente valutata mediante test di provocazione specifica, in casi particolarmente poco chiari.

La patologia deve essere classificata per gravità e durata, secondo le linee guida più recenti: ARIA per la rinite allergica e GINA (Global Initiative for Asthma) per l'asma (13, 14).

Poiché nella vita reale la maggior parte dei pazienti allergici è polisensibilizzata, è fondamentale una precisa differenziazione di

soggetti mono e polisensibilizzati, considerando anche le cross-reattività tra gli allergeni. I pazienti monosensibilizzati, o i pazienti polisensibilizzati ad allergeni non cross-reattivi e privi di stagionalità sovrapposte, sono ideali per uno studio su singolo allergene. Inoltre, le comorbidità devono essere esaminate attentamente per evitare risultati fuorvianti e per definire con maggior precisione i pazienti "difficili" (SCUAD - severe chronic upper airway diseases).

Nei precedenti 5 anni i pazienti non devono essersi sottoposti a cicli di immunoterapia.

Endpoint

Poiché la definizione di marcatori surrogate di efficacia clinica per l'immunoterapia è ancora argomento di discussione, gli studi adottano solitamente la riduzione dei

sintomi totali (a livello nasale, oculare e bronchiale), individuali e la riduzione dei farmaci di soccorso assunti. I sintomi sono in genere misurati su una scala di 4 punti (da 0 = assente, a 3 = grave), in modo retrospettivo o istantaneo, e le medie sono riferite in modo giornaliero, settimanale, mensile o stagionale. Un approccio alternativo è l'impiego di una scala analogica visiva (visual analog scale - VAS).

Dal momento che i sintomi e l'uso di farmaci di soccorso sono due endpoint strettamente correlati tra loro, la relativa associazione in un punteggio unico può risultare vantaggioso, ma attualmente non esiste ancora un metodo convalidato e uniformemente accettato. È importante che via sia un comune approccio nell'assegnare diversi valori alle differenti categorie farmacologiche.

I punteggi dei singoli sintomi, le valutazioni globali di paziente o medico, relative alla risposta al trattamento, i giorni con assenza di sintomi o di assunzione di farmaci, le valutazioni obiettive, come il flusso inspiratorio nasale di picco, la rinometria, la funzionalità polmonare, la variazione della reattività bronchiale specifica (BHR) e i parametri ematici vanno impiegati come outcome secondari.

Recenti raccomandazioni suggeriscono di prestare particolare attenzione alla valutazione degli outcome segnalati dai pazienti (*Patients' Reported Outcomes-PROs*) (15). L'effetto sulla qualità di vita, indagato mediante questionari specifici e non specifici convalidati, rispecchia infatti un impatto della patologia che non è individuato da sintomi organo-specifici o dall'impiego di farmaci.



Per una dichiarazione di efficacia nell'asma, occorre condurre RCTs con disegno specifico. I sintomi bronchiali devono essere utilizzati come outcome primari, in associazione a VEMS (volume espiratorio forzato in 1 secondo) o PEF (picco di flusso espiratorio). Il controllo dell'asma, il numero di esacerbazioni, il consumo di steroidi inalati, la qualità di vita e la reattività bronchiale sembrano essere outcome secondari appropriati. Inoltre, poiché l'asma non controllata e grave viene considerata una controindicazione all'immunoterapia, occorre svolgere un monitoraggio di sicurezza rigoroso. In alcuni studi clinici, gli endpoint esplorativi possono prendere in esame le variazioni progressive del test di provocazione con allergeni, l'evoluzione dei test cutanei, delle immunoglobuline specifiche, dei parametri immunologici, della reattività bronchiale aspecifica, dell'espettorato indotto e dell'esalazione dell'ossido di nitrico.

Calcolo della potenza, misure di effetto e durata dello studio

Gli studi di piccola entità sono noti per essere potenzialmente fuorvianti, a causa del rischio di sopravvalutare la dimensione dell'effetto dell'intervento o di non notare effetti modesti (rischio di errore statistico di tipo II). Recenti studi clinici di Fase III hanno dimostrato che un numero di 150–200 pazienti per gruppo è adeguato per un trial randomizzato controllato in doppio cieco (16). Occorre effettuare un apposito calcolo a priori in base all'outcome primario, per stimare gli indici di variabilità e l'inten-

sità prevista dell'effetto, al fine di garantire l'eventualità di mostrare una differenza rispetto al controllo. Una stima della percentuale di abbandoni fornirà infine il numero necessario di pazienti da arruolare.

Per quanto concerne l'interpretazione dei risultati, non è sufficiente il solo utilizzo dei valori di *p* per valutare la significatività statistica, ma occorrono misure medie con intervalli di confidenza. Un effetto superiore almeno del 20% a quello del placebo è stato arbitrariamente selezionato come cut-off affidabile per valutare la rilevanza clinica. Inoltre, quando sono disponibili dati basali, si suggerisce di calcolare il miglioramento relativo prodotto dalla SLIT e dal placebo rispetto a essi. Un metodo valido è la misurazione dell' "area sotto la curva" per l'intero periodo di tempo.

La durata dello studio deve essere adattata all'outcome principale. Per gli studi che esplorano la sintomatologia, è sufficiente un follow-up a breve termine, ma per valutare gli effetti a lungo termine e modificanti la patologia, devono essere presi in considerazione almeno 2-3 anni.

Effetto placebo

A causa di effetti collaterali locali rilevanti e di lunga durata (fino a 2 settimane) della SLIT, rispetto alla preparazione con placebo, può risultare compromessa l'opportuna conduzione in cieco degli studi. D'altro canto, né l'istamina, né altre sostanze provocano gli stessi effetti dell'allergene a carico della mucosa orale. Non sono pertanto utili a simulare una preparazione attiva. La questione è attualmente irrisolta e deve essere presa in considerazione durante le valutazioni d'efficacia, dal momento che può produrre una distorsione.

Vaccini

Negli studi clinici, è auspicabile che siano utilizzati vaccini standardizzati con efficacia e periodo di validità noti, recanti il proprio contenuto di allergeni maggiori in unità di massa (microgrammi per millilitro) (17). Spesso i vaccini sono etichettati in unità di potenza biologica basata sui test cutanei in riferimento a un proprio standard intra-aziendale, ma la misurazione precisa degli allergeni maggiori è un obiettivo auspicabile.

Devono essere attentamente riportate la dose giornaliera, settimanale e cumulativa, espressa in microgrammi, dei principali allergeni. Alcuni studi di dose-finding con vaccini di pollini di graminacee, hanno mostrato una realistica dipendenza dell'efficacia della SLIT dalla dose e pare che occorra una dose di mantenimento giornaliera compresa fra 15 e 25 µg di allergene maggiore non modificato. Con gli allergoidi, anche dosaggi inferiori possono risultare adeguati in virtù della loro favorita biodistribuzione. Tuttavia, occorre urgentemente stabilire la dose ottimale per ottenere l'efficacia massima, senza effetti collaterali, anche per tutti gli altri allergeni rilevanti.

I vaccini con singolo allergene sono da preferire, ma in caso di miscele, devono essere impiegati solo gli allergeni omologhi di comprovata stabilità, se associati. Ciascuno studio deve riportare il protocollo di induzione utilizzato, specificando il numero di dosi per settimana e il regime di mantenimento adottato (costagionale, pre-costagionale, perenne) con periodi di riferimento dettagliati.



SICUREZZA **PARLARE LA STESSA LINGUA**

L'evidenza di tollerabilità deve provenire da osservazioni condotte nella fase antecedente la commercializzazione, ma deve essere continuamente confermata nella vita reale da un sistema di controllo post immissione in commercio.

La valutazione della letteratura esistente, suggerisce la necessità di uniformare il modo di classificare e di segnalare gli eventi avversi.

Le reazioni avverse devono essere codificate utilizzando il MedDRA (Medical Dictionary for Regulatory Activities), e durante il primo mese di trattamento occorre registrare il profilo di sicurezza ogni giorno. Il MedDRA è attualmente l'unico approccio riconosciuto a livello internazionale per la classificazione degli eventi avversi dagli studi di fase I a quelli di monitoraggio (18).

Di recente, l'importanza di una classificazione e definizione uniformi delle reazioni avverse a immunoterapia ha spinto le task force europee e americane, appoggiate dalla World Allergy Organization, a sviluppare un documento di condivisione (19). Tuttavia, la fase d'implementazione locale è destinata ad assumere un ruolo cruciale.

STUDI CLINICI A LUNGO **TERMINE E PREVENTIVI**

La SLIT ha mostrato di avere effetti supplementari rispetto alla terapia farmacologica, tra cui si citano l'efficacia a lungo ter-

mine dopo la sua interruzione, la prevenzione di nuove sensibilizzazioni e la riduzione del rischio di sviluppo di asma nei bambini affetti da rinite allergica. Ciononostante, tali evidenze derivano attualmente da pochi studi, non del tutto privi di difetti metodologici. La conferma di tali effetti deve essere una priorità per studi futuri, dotati di un appropriato disegno. Poiché essi richiedono valutazioni prolungate nel tempo, con verosimile rischio di elevate percentuali di abbandoni, soprattutto nei gruppi assegnati a placebo, è auspicabile una pianificazione di fasi estese di follow-up (3-6 anni). Dal momento che non è eticamente corretto mantenere la procedura in cieco per molti anni, la modalità in aperto pare essere la migliore opportunità. Gli effetti dell'intervento devono essere valutati utilizzando lo stesso outcome primario discusso in precedenza e misurati, anche successivamente, negli stessi periodi di riferimento. Per esaminare l'aspetto della nuova sensibilizzazione, è fondamentale eseguire i test diagnostici con le stesse tecniche e gli stessi estratti.

REPORT **DEGLI STUDI CLINICI**

Nelle metanalisi sulla SLIT, non si è potuto escludere l'eventualità di un bias di pubblicazione. Questo fenomeno deriva dalla tendenza a trattare il reporting dei risultati sperimentali positivi, in maniera diversa rispetto a quelli negativi o inconcludenti. Si raccomanda caldamente ai ricercatori di riportare i risultati di tutti gli studi condotti, indipendentemente dai relativi esiti. Le politiche editoriali delle riviste scientifiche dovrebbero contribuire a evitare un bias

di selezione, scoraggiando l'accettazione di studi non registrati preventivamente in specifici database o presso comitati di regolamentazione (FDA, EMA).

Il finanziamento dello studio deve essere chiaramente indicato. Inoltre, è importante che i risultati vengano riportati sia numericamente, sia con l'ausilio di grafici, così da migliorare la trasparenza e le analisi post-hoc. Da evitare anche la tendenza a operare una selezione degli outcome favorevoli.

Il CONSORT statement rappresenta l'insieme di raccomandazioni minime per il reporting degli RCTs. Offre agli autori una modalità uniforme per redigere rapporti relativi ai risultati, facilitandone la completa e trasparente descrizione e avvalorandone l'analisi critica e interpretazione.

CONCLUSIONE

Il modello di studio di superiorità, randomizzato, controllato con placebo fornisce una stima dell'effetto assoluto della terapia, ma non è particolarmente indicato per esaminare la rilevanza clinica di tale effetto. Fattori multipli condizionano la validità esterna (generalizzabilità) degli RCTs: caratteristiche dei pazienti, condizione in studio, regimi di trattamento, costi, compliance, comorbidità e trattamenti concomitanti. Per motivi pratici, gli RCTs non possono considerare sempre questi fattori in modo completo. Per queste ragioni, il termine "efficacy" (efficacia negli studi clinici) è stato distinto dal termine "effectiveness" (efficienza nella pratica clinica). Gli studi sul profilo di effi-



cacia (studi esplicativi) determinano se un intervento produce il risultato previsto in circostanze ideali. Per dimostrare gli effetti nel “mondo reale”, sono utilizzati spesso gli studi osservazionali. Ciononostante, è ampiamente documentato che questi modelli sperimentali tendano a sopravvalutare i risultati. Gli studi d'efficienza nella pratica clinica (studi pragmatici) rappresentano uno strumento valido, poiché sono caratterizzati da ipotesi e disegni formulati sulla base di condizioni della pratica clinica di routine e su outcome essenziali per le decisioni cliniche, pur conservando quegli aspetti che garantiscono la validità interna dello studio (randomizzazione, mascheramento). Per quanto riguarda la SLIT, dopo le dimostrazioni conclusive di efficacia clinica, l'esame dell'efficienza rappresenterà un punto chiave. Quest'ultima è difatti profondamente influenzata da molteplici fattori. In particolare, la mancanza di compliance al trattamento può rappresentare un inconveniente rilevante. Poiché il trattamento viene assunto principalmente a casa, pare realistico il rischio di un'interruzione da parte del paziente. La compliance al trattamento è assai migliore negli RCTs rispetto alla vita reale, da qui la necessità di condurre studi in real life per effettuare questo tipo di valutazione, eventualmente corredati da analisi farmaco-economiche. Di recente, infatti, è stato dimostrato che il carico economico dei cicli di SLIT può incidere sull'aderenza al trattamento. D'altro canto, i costi di un trattamento sono indicati sempre più come aspetto rilevante da considerare nel bilancio tra effetti desiderabili e indeside-



Tabella 2

Messaggi di rilievo

La metodologia di molti studi sulla SLIT è stata ritenuta per lo più insufficiente, fino a recenti studi cardine condotti su vasta scala.

L'efficacia clinica della SLIT è ben definita per la rinocongiuntivite da pollini di graminacee, ma occorrono più studi per altri allergeni e per l'asma. Occorre condurre numerosi studi nei bambini.

Una metodologia rigorosa nel disegno degli studi clinici rappresenta una priorità. È necessario tentare di evitare errori statistici e distorsioni nella conduzione, interpretazione e reporting degli studi.

Le voci della lista di controllo CONSORT forniscono un importante supporto. L'utilizzo del diagramma di flusso, che visualizza il progresso di tutti i partecipanti allo studio, è fondamentale.

È caldamente raccomandato un *endpoint* primario che rispecchi sia la gravità dei sintomi, sia l'assunzione di farmaci di soccorso.

Misure funzionali e marcatori surrogati non possono sostituire gli *outcome* clinici primari, ma possono fornire un'evidenza a sostegno. Gli *outcome* indicati dai pazienti, come la qualità di vita, stanno acquisendo una maggiore importanza.

Sono fondamentali la standardizzazione e la caratterizzazione dei vaccini, relativamente al contenuto esatto del principale allergene.

È necessario monitorare attentamente la sicurezza dagli studi di fase I a quelli post immissione in commercio, utilizzando una classificazione e una nomenclatura uniformi e standardizzate degli eventi avversi.

L'aderenza al ciclo di SLIT può rappresentare una questione cruciale, meritevole di approfondimento. Occorre implementare strategie per migliorare la *compliance*.

La valutazione dell'efficacia in rapporto ai costi, in studi clinici e di farmaco-economia, è importante per collocare la SLIT in modo corretto nel contesto delle linee guida.

rabili degli interventi medici (20). Infine, analisi rigorose provenienti da studi pragmatici in contesti reali e da studi di sicurezza, unitamente a evidenze sugli outcome

riportati dai pazienti (PROs), andranno a sostegno di raccomandazioni appropriate e informate nel contesto di linee guida condivise.



Bibliografia

1. Bousquet J, Malling HJ, Lockey RF. World Health Organization Position Paper. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. *Allergy* 1998;53(Suppl. 54):1-15.
2. Passalacqua G, Canonica GW. Sublingual immunotherapy: update 2006. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;6(6):449-454.
3. Compalati E, Penagos M, Tarantini F, Passalacqua G, Canonica GW. Specific immunotherapy for respiratory allergy: state of the art according to current meta-analyses. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2009;102(1):22-28.
4. Nieto A, Mazon A, Pamies R, Bruno M, Navarro M, Montanes A. Sublingual immunotherapy for allergic respiratory diseases: An evaluation of meta-analyses. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124(1):157-161.
5. Compalati E, Canonica GW, Passalacqua G, Baena-Cagnani CE. Considerations about the evaluation of the SLIT meta-analyses. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(2): 509.
6. Di Bona D, Plaia A, Scafidi V, Leto-Barone MS, Di Lorenzo G. Efficacy of sublingual immunotherapy with grass allergens for seasonal allergic rhinitis: a systematic review and meta-analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(3):558-566.
7. Casale TB, Canonica GW, Bousquet J, Cox L, Lockey R, Nelson HS, Passalacqua G. Recommendations for appropriate sublingual immunotherapy clinical trials. *J Allergy Clin Immunol* 2009 ;124(4):665-670.
8. Canonica GW, Bousquet J, Casale T et al. Sub-lingual immunotherapy: World Allergy Organization Position Paper 2009. *Allergy* 2009 ;64 Suppl 91:1-59.
9. Bousquet PJ, Brozek J, Bachert C et al. The CONSORT statement checklist in allergen-specific immunotherapy: a GA2LEN paper. *Allergy* 2009 ; 64(12):1737-1745.
10. Schulz KF, Altman DG, Moher D, for the CONSORT Group. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Ann Intern Med* 2010;152 (11):726-732.
11. Canonica GW, Baena-Cagnani C, Bousquet J, Bousquet PJ, Lockey RF, Malling HJ, Passalacqua G, Potter P, Valovirta E. Recommendations for standardization of clinical trials with Allergen Specific Immunotherapy for respiratory allergy. A statement of a World Allergy Organization (WAO) taskforce. *Allergy* 2007;62:317-324.
12. Calderon MA, Birk AO, Andersen JS, Durham SR. Prolonged preseasonal treatment phase with Grazax sublingual immunotherapy increases clinical efficacy. *Allergy* 2007; 62(8):958-961.
13. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, van Wijk RG, Ohta K, Zuberbier T, Schünemann HJ; Global Allergy and Asthma European Network; Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation Working Group. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126(3):466-476.
14. Global Initiative for Asthma, National Institute of Health, National Heart Lung and Blood Institute. Global strategy for asthma management and prevention. NHLBI/WHO workshop report no. 02- 9. Bethesda, NHLBI, 200.
15. Braidò F, Bousquet PJ, Brzoza Z, Canonica GW, Compalati E, Fiocchi A, Fokkens W, Gerth van Wijk R, La Grutta S, Lombardi C, Maurer M, Pinto AM, Ridolo E, Senna GE, Terreehorst I, Todo Bom A, Bousquet J, Zuberbier T, Baiardini I. Braidò F, Bousquet PJ, Brzoza Z. Specific recommendations for PROs and HRQoL assessment in allergic rhinitis and/or asthma: a GA(2)LEN taskforce position paper. *Allergy*. 2010;65(8):959-968.
16. Durham SR. Sublingual immunotherapy: what have we learnt from the, big trials? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008; 8(6):577-584.
17. Bousquet PJ, Demoly P, Passalacqua G, Canonica GW, Bousquet J. Immunotherapy: clinical trials-optimal trial and clinical outcomes. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2007;7 (6):561-566.
18. Brown EG, Wood L, Wood S. The medical dictionary for regulatory activities (MedDRA). *Drug Saf* 1999;20:109 -117.
19. Cox L, Larenas-Linnemann D, Lockey RF, Passalacqua G. Speaking the same language: The World Allergy Organization Subcutaneous Immunotherapy Systemic Reaction Grading System. *J Allergy Clin Immunol* 2010 Mar;125(3):569-574.
20. Atkins D, Best D, Briss PA et al. Grading quality of evidence and strength of recommendations. *Bmj* 2004;328(7454):1490-1494.

a cura di Gianni Mistrello



Notiziario Allergologico

Anno 2013 • Volume 31 • n. 2

Con la scoperta dell'esistenza degli anticorpi IgE (per merito dei coniugi Ishizaka, nel 1967) e del loro ruolo nella sensibilizzazione e nello scatenamento dei sintomi allergici, la diagnostica allergologica, e quindi l'identificazione dei soggetti allergici, si è resa possibile grazie allo sviluppo di test specifici in vitro con la ricerca nel siero dei livelli di IgE specifiche (RAST, ovvero ELISA) o in vivo sulla cute (prick). I suddetti test si basavano e tuttora si basano sull'impiego di estratti allergenici, e nel tempo si è assistito a un progressivo e costante miglioramento della loro standardizzazione da parte delle Aziende Produttrici. L'estensione anche in campo allergologico di nuove tecnologie (SDS-PAGE e immunoblotting) hanno reso evidente che gli estratti allergenici in uso erano costituiti da un mosaico di molecole (allergeni), e sulla base della frequenza di riconoscimento da parte di sieri di soggetti allergici alcune si sono dimostrate più rile-

vanti dal punto di vista clinico (allergeni maggiori), altre meno (allergeni minori). Queste evidenze hanno creato le premesse per lo sviluppo di nuovi strumenti diagnostici basati sull'impiego di singoli allergeni ottenuti con l'applicazione, anche in campo allergologico, della tecnologia del DNA ricombinante. La disponibilità di allergeni singoli in forma ricombinante ottenuti da varie fonti allergeniche (pollini, acari, epiteli di animali, alimenti...) ha rivoluzionato la diagnostica allergologica oggi nota come *Component Resolved Diagnosis* (C.R.D.).

Questo articolo sulla diagnostica molecolare risalente al 2013 porta la firma del Dr. Asero, allergologo di lunga data e punto di riferimento nel mondo allergologico per le sue innumerevoli pubblicazioni; in alcune di queste mi onoro di aver apportato il mio contributo. Da sempre attento osservatore delle novità in campo allergologico, l'autore delinea, pur sottolineando l'importanza come primo livello di indagine del test cutaneo classico basato sull'uso di estratti allergenici, i vantaggi dei nuovi strumenti diagnostici come l'ISAC microarray (oggi sono disponibili altri strumenti ancor più sofisticati) che all'epoca si stavano proponendo. In particolare, esso è basato su una piattaforma immunoenzimatica miniaturizzata che consente la determinazione in contemporanea di IgE specifiche nei confronti di un numero via via crescente nel tempo di singoli allergeni, per la maggior parte prodotti in forma ricombinante. L'impiego della diagnostica molecolare ha permesso e tuttora permette di districarsi nel labirinto dei pazienti con multi-positività, potendo distinguere tra allergie vere e reattività crociate, dove uno o più allergeni possono essere presenti in specie anche tassonomicamente distanti. L'articolo è corredato da numerose tabelle in cui vengono descritti gli allergeni di varia fonte allergenica che possono essere causa di possibili reazioni crociate. È evidente che per l'allergologo questa distinzione è fondamentale per l'impostazione di un appropriato percorso terapeutico ovvero, in caso di allergia alimentare, per l'esclusione di determinati alimenti dalla dieta del paziente. Tra gli aspetti interessanti che l'autore ha voluto rimarcare (che penso valgano anche oggi) ricordo l'invito a non abusare della diagnostica molecolare (per es. nei casi di soggetti monosensibili evidenziati dal prick non avrebbe senso) e soprattutto che l'esame debba essere prescritto da uno specialista che abbia le competenze necessarie per interpretare in maniera corretta i risultati.



Il microarray nella diagnosi allergologica

Riccardo Asero

Ambulatorio di Allergologia
Clinica San Carlo, Paderno Dugnano (MI)

Diagnosis of allergic diseases by ISAC microarray.

Not Allergol 2013; vol. 31: n.2: 65-74.

INTRODUZIONE

Per oltre un secolo la diagnosi di allergia si è fondata sull'impiego di estratti allergenici per i test *in vivo* e *in vitro*. Tali estratti hanno conosciuto un progressivo e costante miglioramento nel tempo in termini di purificazione, sensibilità e standardizzazione, al punto che si può certamente affermare che la maggior parte degli estratti allergenici attuali contengono la maggior parte delle proteine allergeniche, per lo meno per quanto riguarda gli allergeni respiratori. Al giorno d'oggi, un test cutaneo positivo o negativo *in vitro* o *in vivo* con un estratto di una fonte allergenica respiratoria presenta una sensibilità e un valore predittivo che sono frequentemente vicini al 100%. Nel campo delle allergie alimentari la situazione è meno brillante a causa dell'estrema labilità di alcuni allergeni e del fatto che alcune proteine allergeniche sono presenti in quantità assai limitata nelle rispettive fonti allergeniche, con il rischio

di essere presenti in concentrazione insufficiente nell'estratto diagnostico finale. Nonostante i suddetti innegabili meriti gli estratti allergenici si portano appresso un difetto ineliminabile: si tratta di miscele di proteine allergenicamente rilevanti e non e, ancora più importante, ogni estratto contiene, nella maggior parte dei casi, più di una proteina allergenica. Di conseguenza, gli estratti possono

presentare una certa qual variabilità relativamente alla concentrazione delle singole proteine allergeniche da un lotto all'altro, e soprattutto un test positivo *in vivo* o *in vitro* ottenuto utilizzando un estratto allergenico non ci dice quali proteine presenti nella fonte allergenica siano responsabili della sensibilizzazione. Questo è certamente un problema se si considera che alcuni allergeni sono pre-

Parole chiave e sigle

• Allergeni • Cross-reattività • IgE specifiche • Microarray • Diagnostica allergologica

Uno dei maggiori problemi legati all'impiego di estratti allergenici per la diagnosi *in vivo* e *in vitro* è legato alla presenza di reattività crociate tra molecole allergeniche filogeneticamente conservate.

Tali cross-reattività si possono verificare tra pollini della stessa famiglia botanica e di famiglie botaniche distinte, tra pollini e alimenti di origine vegetale, tra inalanti perenni (micofiti, acari, epiteli), tra inalanti perenni e alimenti, e tra alimenti apparentemente non correlati tra loro. I progressi compiuti dalla biologia molecolare hanno portato all'identificazione, sequenziamento, e sintesi *in vitro* di un numero crescente di proteine allergeniche.

Attualmente l'ISAC microarray, un test immunoenzimatico basato su una moderna tecnologia microchip, consente la determinazione in contemporanea di IgE specifiche per 112 allergeni. Il presente articolo ha lo scopo di fornire alcune indicazioni per il corretto impiego e l'interpretazione dei risultati di tale nuovo strumento diagnostico

RIASSUNTO



senti in forma omologa in numerose fonti allergeniche distinte e sono quindi ampiamente cross-reagenti. La reattività crociata immunologica si associa alla presenza di proteine filogeneticamente conservate, largamente diffuse nell'ambiente, che presentano epitopi omologhi. Ovviamente, se il paziente è sensibilizzato a una singola fonte allergenica o a un numero limitato di fonti allergeniche, i suddetti difetti della diagnosi fondata su estratti passano in secondo piano e non influenzano le decisioni cliniche in termini di precisione diagnostica e di conseguente prescrizione di immunoterapia specifica. Per contro, se il paziente è sensibilizzato a numerose fonti allergeniche, ad esempio, più di 4 pollini distinti (1), la faccenda si complica non poco, particolarmente alla luce del fatto che i calendari pollinici di diverse fonti allergeniche sono frequentemente sovrapponibili. È possibile affermare che il maggior problema dell'allergologo che si trova di fronte un paziente polisensibilizzato sia rappresentato dalla possibilità di un co-riconoscimento di allergeni cross-reagenti presenti in fonti allergeniche distinte, e che il suo compito sia quello di identificare gli allergeni sensibilizzanti primari.

INALANTI STAGIONALI

Tra gli allergeni inalanti stagionali (Figura 1) i fenomeni di cross-reattività sono piuttosto complessi, e si

verificano a diversi livelli:

- a) proteine presenti nell'ambito di singole specie polliniche.
- b) proteine omologhe presenti in specie polliniche distinte
- c) i cosiddetti pan allergeni

Cross-reattività tra proteine presenti nell'ambito di singole specie polliniche

Queste reattività crociate semplificano moltissimo il compito dell'allergologo permettendo di avere a disposizione dei marcatori di sensibilizzazione primaria a una data famiglia pollinica. Ad esempio, il polline di *Phleum pratense* contiene tutte gli allergeni rilevanti delle centinaia di specie di graminacee, e il polline di *Artemisia vulgaris* può essere utilizzato come rappresentante delle circa 13.000 specie di piante appartenenti alla famiglia delle Compositae (2). Analogamente, il polline di betulla funge da rappresentante dei pollini della famiglia dei Fagales (tra cui troviamo betulla, nocciolo, ontano, faggio, quercia, e carpino), il polline di *Cupressus arizonica* rappresenta tutte le Cupressaceae (*Cupressus spp.*, oltre a *Cryptomeria japonica* e *Thuja spp.*) e il polline di ulivo rappresenta tutte le Oleaceae (comprendenti anche frassino e ligustro), e così via.

Esistono alcune eccezioni a questa regola. Ad esempio, artemisia e ambrosia fanno parte della famiglia delle Compositae ma presentano allergeni maggiori distinti, ragione per cui devono essere testate entrambe in sede diagnostica. Analogamente, il gruppo

Ambrosia comprende specie diverse (*A. artemisiifolia*, *A. trifida*, *A. maritima*) ma gli allergeni maggiori non sono completamente cross-reagenti (3), motivo per cui il polline da utilizzare in ambito diagnostico deve essere quello della pianta effettivamente presente sul territorio in una determinata area geografica.

Cross-reattività tra proteine omologhe presenti in specie polliniche distinte

Relativamente alle possibili reattività crociate tra specie botaniche diverse, l'esempio meglio conosciuto è quello della cross-reattività tra allergene maggiore del polline di betulla (Bet v 1, una "pathogenesis-related protein" del gruppo 10) e proteine omologhe presenti in un gran numero di alimenti di origine vegetale, una revisione di questo argomento si può trovare in (4), ma ci sono reattività crociate anche in altri casi. Ad esempio, chi pratica l'allergologia clinica sa bene che nel 30% dei pazienti sensibili al polline di graminacee i test cutanei con il polline di ulivo risultano positivi anche in aree dove il polline di ulivo è assente; in effetti è stata osservata reattività crociata tra gli allergeni del gruppo 11 del polline delle graminacee e l'allergene maggiore del polline di ulivo (5). Analogamente, i pazienti allergici al polline di graminacee reagiscono frequentemente nei confronti del polline di *Plantago lanceolata*, mentre la sensibilizzazione a quest'ultima in



assenza di reattività a graminacee è eccezionale; questo fenomeno è stato attribuito a reattività crociata tra proteine allergeniche delle due specie (6). La storia dell'identificazione della reattività crociata tra polline di ambrosia e artemisia è più complessa. Entrambe queste piante appartengono alla famiglia botanica delle Compositae con allergeni maggiori distinti, ma già 15 anni fa venne identificata la presenza di allergeni cross-reagenti diversi dai pan allergeni (7), e abbastanza recentemente è stato osservato un certo grado di reattività crociata tra allergeni maggiori e minori di entrambi i pollini. Amb a 6 e Art v 3 sono omologhe (8), come pure Amb a 4 e Art v 1 (9), e Amb a 1 e Art v 6 (10).

È interessante notare come il co-riconoscimento Amb a 6/Art v 3 appaia unidirezionale, dal momento che si osserva solamente nei soggetti sensibilizzati primariamente ad ambrosia ma non in quelli primariamente sensibili ad artemisia (8). Relativamente al co-riconoscimento Amb a 1/Art v 6, questo sembra essere bidirezionale e rappresenta probabilmente la principale causa del co-riconoscimento tra ambrosia e artemisia, perlomeno in Italia settentrionale (Citterio S, et al. In preparazione).

Cross-reattività tra panallergeni a) Polcalcine

Le polcalcine sono proteine leganti il calcio presenti virtualmente in tutte le specie polliniche. I pazienti

Figura 1

Aeroallergeni stagionali

Componente Allergica	Fonte Allergenica	Nome Latino	Gruppo Proteico
nCyn d 1	Gramigna rossa	<i>Cynodon dactylon</i>	Erbe, gruppo 5
rPhl p 1	Fleo	<i>Phleum pratense</i>	Erbe, gruppo 1
rPhl p 2	"	"	Erbe, gruppo 2
nPhl p 4	"	"	
rPhl p 5	"	"	Erbe, gruppo 5
rPhl p 6	"	"	
rPhl p 7	"	"	Polcalcina
rPhl p 11	"	"	
rPhl p 12	"	"	Profilina
rAln g 1	Ontano nero	<i>Alnus glutinosa</i>	Proteina PR-10
rBet v 1	Betulla	<i>Betula verrucosa</i>	Proteina PR-10
rBet v 2	"	"	Profilina
rBet v 4	"	"	Polcalcina
rCor a 1.0101	Polline di nocciolo	<i>Corylus avellana</i>	Proteina PR-10
nCry j 1	Cedro giapponese	<i>Cryptomeria japonica</i>	
nCup a 1	Cipresso	<i>Cupressus arizonica</i>	
nOle e 1	Olivo	<i>Olea europaea</i>	
nOle e 7	"	"	Proteina di trasferimento dei lipidi (nsLTP)
rOle e 9	"	"	
rPla a 1	Platano	<i>Platanus acerifolia</i>	
nPla a 2	"	"	
rPla a 3	"	"	Proteina di trasferimento dei lipidi (nsLTP)
nAmb a 1	Ambrosia	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	
nArt v 1	Artemisia	<i>Artemisia vulgaris</i>	
nArt v 3	"	"	Proteina di trasferimento dei lipidi (nsLTP)
rChe a 1	Farinello	<i>Chenopodium album</i>	
rMer a 1	Mercorella	<i>Mercurialis annua</i>	Profilina
rPar j 2	Erba muriola	<i>Parietaria judaica</i>	Proteina di trasferimento dei lipidi (nsLTP)
rPla l 1	Plantain (english)	<i>Plantago lanceolata</i>	
nSal k 1	Saltwort	<i>Salsola kali</i>	

Attuale pannello ISAC, 2013



Figura 2

Inalanti perenni

Componente Allergica	Fonte Allergenica	Nome Latino	Gruppo Proteico
rAlt a 1	Alternaria	<i>Alternaria alternata</i>	Enolasi
rAlt a 6	"	"	
rAsp f 1	Aspergillus	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Mn superossido dismutasi
rAsp f 3	"	"	
rAsp f 6	"	"	
rCla h 8	Cladosporium	<i>Cladosporium herbarum</i>	
rBlo t 5	Acaro della polvere	<i>Blomia tropicalis</i>	
nDer f 1	"	<i>Dermatophagoides farinae</i>	
rDer f 2	"	"	
nDer p 1	"	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	
rDer p 2	"	"	
rDer p 10	"	"	Tropomiosina
rLep d 2	Acaro delle derrate	<i>Lepidoglyphus destructor</i>	
rBla g 1	Scarafaggio	<i>Blattella germanica</i>	
rBla g 2	"	"	
rBla g 5	"	"	Tropomiosina
nBla g 7	"	"	
rCan f 1	Cane	<i>Canis familiaris</i>	Lipocalina
rCan f 2	"	"	Lipocalina
nCan f 3	"	"	Albumina sierica
rCan f 5	"	"	Arginina esterasi
rEqu c 1	Cavallo	<i>Equus caballus</i>	Lipocalina
nEqu c 3	"	"	Albumina sierica
rFel d 1	Gatto	<i>Felis domesticus</i>	Uteroglobina
nFel d 2 Cat	"	"	Albumina sierica
rFel d 4 Cat	"	"	Lipocaline
nMus m 1	Topo	<i>Mus musculus</i>	Lipocaline

sensibilizzati a polcalcine reagiscono invariabilmente *in vivo* e *in vitro* con tutte le specie polliniche. La polcalcina del *Phleum pratense* Phl p 7 sembra quella maggiormente cross-reattiva dell'intero gruppo (11). Le due polcalcine attualmente disponibili a scopo diagnostico in vitro (Phl p 7 e Bet v 4, la polcalcina del polline di betulla) rappresentano degli eccellenti marcatori di sensibilizzazione a questo gruppo di proteine nei soggetti che presentano polisensibilizzazione a pollini (12).

b) Profiline

Le profiline sono proteine strutturali presenti nel citoscheletro di tutte le specie vegetali, compresi pollini e alimenti vegetali. La loro elevata omologia fa sì che il paziente sensibilizzato risulti positivo nei confronti della maggior parte degli estratti pollinici (13, 14) con la possibile eccezione di parietaria e cipresso che sembrano presentare un minore grado di omologia (15, 16). Attualmente sono disponibili in commercio quattro profiline per la diagnostica in-vitro di allergia mediante ISAC microarray: Phl p 12 (la profilina del *Phleum*), Bet v 2 (da betulla), Mer a 1 (da *Mercurialis annua*), e Hev b 8 (dal lattice di gomma naturale, *Hevea brasiliensis*). Le prime due sono disponibili per la diagnosi *in vitro* singleplex mediante ImmunoCAP. È inoltre in commercio un estratto di polline di palma da dattero arricchito in profilina (50 µg/ml di proteina) per uso *in vivo* che ha dato eccellenti risultati in termini di sensibilità e specificità (16).



REATTIVITÀ CROCIATE NELL'AMBITO DEGLI INALANTI PERENNI

Micofiti

Nei micofiti sono state identificate almeno 2 proteine allergeniche cross-reagenti: enolasi e manganese superossido dismutasi. L'enzima glicolitico enolasi è presente in molti miceti e presenta notevole cross-reattività tra *Cladosporium herbarum*, *Alternaria spp*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium citrinum*, *Fusarium solani* e *Rhodotorula mucillaginosa* (17). La manganese superossido dismutasi è stata identificata quale allergene maggiore nell'*Aspergillus fumigatus* e sembra potere cross-reagire con enzimi omologhi presenti in diversi procarioti ed eucarioti, tra cui *Saccharomyces cerevisiae*, lattice di gomma naturale e persino l'uomo (4). Ovviamente i pazienti allergici ai micofiti sensibilizzati all'enolasi risulteranno positivi *in vivo* e *in vitro* con tutti i micofiti che si testano di routine.

Fortunatamente, anche nel caso dei micofiti disponiamo di marcatori di sensibilizzazione genuine come Alt a 1 per l'*Alternaria*, Asp f 1 per l'*Aspergillus*, e Cla h 8 per il *Cladosporium* che ci permetteranno di porre una diagnosi corretta e di prescrivere il trattamento immunoterapico giusto per quel determinato paziente. Disponiamo anche di un marker di sensibilizzazione all'enolasi, Alt a

Figura 3

Allergeni di imenotteri, lattice, Anisakis

Componente Allergica	Fonte Allergenica	Nome Latino	Gruppo Proteico
rApi m 1	Veleno di ape da miele	<i>Apis mellifera</i>	Fosfolipasi A2
nApi m 4	"	"	Melittina
rPol d 5	Veleno di vespa cartonaia	<i>Polistes dominulus</i>	Veleno, antigene 5
rVes v 5	Veleno di vespa comune	<i>Vespula vulgaris</i>	Veleno, antigene 5
rAni s 1	Anisakis	<i>Anisakis simplex</i>	Tropomiosina
rAni s 3	"	"	
rHev b 1	Lattice	<i>Hevea brasiliensis</i>	
rHev b 3	"	"	
rHev b 5	"	"	Profilina
rHev b 6.01	"	"	
rHev b 8	"	"	
nMUXF3	Epitopo di zucchero della bromelina	"	
			Marcatore CCD

6 di *Alternaria*, che ci consentirà di dare una spiegazione alla polisensibilizzazione del paziente (Figura 2).

Acari

Gli acari contengono diversi allergeni cross-reagenti. Gli allergeni del gruppo 1, le cistein-proteasi Der p 1 e Der f 1 elicitano la sintesi di IgE sia specie specifiche che cross-reattive (con esclusione dell'allergene maggiore della *Blomia tropicalis*, Blo t 1), mentre gli allergeni del gruppo 2 Der p 2 e Der f 2 cross-reagiscono con l'allergene di gruppo dell' *Euroglyphus maynei*. La tropomiosina

degli acari (Der p 10 e Der f 10) è un panallergene degli invertebrati altamente conservato dal punto di vista filogenetico che cross-reagisce tra crostacei, molluschi, cefalopodi, vermi (es. Anisakis), e insetti (es. scarafaggio) (Figura 2).

Animali

Le albumine sieriche dei mammiferi (Fel d 2 per il gatto, Can f 3 per il cane, Equ c 3 per il cavallo, ma anche di bovini, suini, e roditori) sono largamente cross-reagenti (18-20), tanto è vero che pazienti sensibilizzati a questi allergeni possono risultare



Figura 4

Allergeni alimentari di origine animale

Componente Allergica	Fonte Allergenica	Nome Latino	Gruppo Proteico
nGal d 1	Albume d'uovo	<i>Gallus domesticus</i>	Ovomucoide
nGal d 2	"	"	Ovalbumina
nGal d 3	"	"	Conalbumina/ Ovotransferrina
nGal d 5	Tuorlo d'uovo/carne di pollo	"	Livetina/ Albumina sierica
nBos d 4	Latte di vacca	<i>Bos domesticus</i>	Alfa-lactalbumina
nBos d 5	Latte di vacca	"	Beta-lactoglobulina
nBos d 6	Latte e carne di vacca	"	Albumina sierica
nBos d 8	Latte di vacca	"	Caseina
nBos d lactoferrin	Latte di vacca	"	Transferrina
rGad c 1	Merluzzo nordico	<i>Gadus callarias</i>	Parvalbumina
nPen m 1	Gambero gigante	<i>Penaeus monodon</i>	Tropomiosina
nPen m 2	"	"	Arginina chinasi
nPen m 4	"	"	Proteina legante-Ca sarcoplasmatica

positivi *in vivo* e *in vitro* a un certo numero di mammiferi (21).

Anche le lipocaline, allergeni cutanei, salivari e urinari, presenti nei mammiferi, nonostante un livello di omologia di sequenza ridotto, possono talora cross-reagire (22) (Figura 2).

CROSS-REATTIVITÀ TRA ALIMENTI

Le reattività crociate interessano ovviamente anche gli allergeni ali-

mentari. Per quanto riguarda gli alimenti di origine vegetale, studi *in silico* e *in vitro* hanno dimostrato che a fronte di un numero enorme di potenziali allergeni la sensibilizzazione avviene nei confronti di un numero assai limitato di famiglie allergeniche nell'ambito delle quali si verificano i fenomeni di reattività crociata (23-26). Negli alimenti di origine vegetale vi sono fondamentalmente 3 allergeni altamente cross-reagenti; profilina (29-32), PR-10 (*pathogenesis-related proteins group*

10, omologhe all'allergene maggiore del polline della betulla, Bet v 1) (28, 29, 30), e LTP (*lipid transfer proteins*, PR-14) (31). La maggior parte delle reattività crociate che si verificano nell'ambito delle altre famiglie sono abbastanza incostanti e da valutarsi di volta in volta. Da segnalare le reazioni crociate tra allergeni del lattice di gomma naturale e alimenti vegetali.

Relativamente agli alimenti di origine animale, le principali reattività crociate si verificano tipicamente tra pesci vertebrati, per co-riconoscimento dell'allergene maggiore parvalbumina (Gal d 1 nel caso del merluzzo), tra molluschi, cefalopodi e crostacei per sensibilizzazione alla citata tropo miosina, tra uova di specie diverse di uccelli e latte bovino e caprino (Figure 4 e 5).

L'ISAC (IMMUNO SOLID PHASE ALLERGEN CHIP) MICROARRAY

L'ultima versione di questo strumento diagnostico della Thermo-Fisher/Phadia, basato su una moderna tecnologia microchip e rappresentato da una piattaforma immunoenzimatica miniaturizzata che consente la determinazione in contemporanea di IgE specifiche per multiple proteine allergeniche ricombinanti (per la gran parte) e naturali prevede 112 allergeni. È verosimile che con il tempo si as-



sista a ulteriori aggiornamenti e modifiche fondati sulle più recenti scoperte in campo allergeo-immunologico. Gli allergeni attualmente disponibili nel test diagnostico, unitamente alla fonte allergenica da cui derivano e al significato biologico sono illustrati nelle figure 1-5.

COME SI USA CORRETTAMENTE IL MICROARRAY

Tenuto conto dei costi non indifferenti di una singola determinazione ISAC, che a seconda delle situazioni territoriali possono gravare sulle tasche del paziente o sulle finanze regionali, la prescrizione di un test simile deve fare seguito a un procedimento diagnostico estremamente ordinato. Sarebbe uno spreco intollerabile richiedere un'analisi del genere in un soggetto che alle indagini *in vivo* di routine risulti monosensibilizzato a una singola fonte allergenica, anche quando tale fonte allergenica comprende numerosi allergeni (come nel caso delle graminacee), in quanto la “*taylored immunotherapy*” non esiste ancora (e probabilmente non esisterà mai dati i costi di registrazione dei singoli allergeni per uso terapeutico) e l'immunoterapia viene effettuata attraverso estratti in cui (si spera) sono rappresentati tutti gli allergeni. In un soggetto atopico la determinazione delle IgE specifiche nei confronti di un numero così im-



Figura 5

Allergeni alimentari di origine vegetale

Componente Allergica	Fonte Allergenica	Nome Latino	Gruppo Proteico
rAna o 2	Anacardi	<i>Anacardium occidentale</i>	Proteina di stoccaggio, globulina 11S
rBer e 1	Noci brasiliane	<i>Bertholletia excelsa</i>	Proteina di stoccaggio, albumina 2S
rCor a 1.0401	Nocciola	<i>Corylus avellana</i>	Proteina PR-10
rCor a 8	"	"	Proteina di trasferimento dei lipidi (nsLTP)
nCor a 9	"	"	Proteina di stoccaggio, globulina 11S
nJug r 1	Noce	<i>Juglans regia</i>	Proteina di stoccaggio, albumina 2S
nJug r 2	Noce	<i>Juglans regia</i>	Proteina di stoccaggio, globulina 7S
nJug r 3	Noce	<i>Juglans regia</i>	Proteina di trasferimento dei lipidi (nsLTP)
nSes i 1	Semi di sesamo	<i>Sesamum indicum</i>	Proteina di stoccaggio, albumina 2S
rAra h 1	Arachidi	<i>Arachis hypogaea</i>	Proteina di stoccaggio, globulina 7S
rAra h 2	"	"	Proteina di stoccaggio, conglutina
rAra h 3	"	"	Proteina di stoccaggio, globulina 11S
nAra h 6	"	"	Proteina di stoccaggio, conglutina
rAra h 8	"	"	Proteina PR-10
rAra h 9	"	"	Proteina di trasferimento dei lipidi (nsLTP)
rGly m 4	Soia	<i>Glycine max</i>	Proteina PR-10
nGly m 5	"	"	Proteina di stoccaggio, Beta conglutina
nGly m 6	"	"	Proteina di stoccaggio, Glicina
nFag e 2	Grano saraceno	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Proteina di stoccaggio, albumina 2S
rTri a 14	Frumento	<i>Triticum aestivum</i>	Proteina di trasferimento dei lipidi (nsLTP)
rTri a 19.0101	"	"	Omega-5-gliadina
nTri a aA_TI	"	"	

La figura prosegue



Figura 5

Allergeni alimentari di origine vegetale

Componente Allergica	Fonte Allergenica	Nome Latino	Gruppo Proteico
nAct d 1	Kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i>	
nAct d 2	"	"	Proteina simil-taumatina
nAct d 5	"	"	
rAct d 8	"	"	Proteina PR-10
rApi g 1	Sedano	<i>Apium graveolens</i>	Proteina PR-10
rMal d 1	Mela	<i>Malus domestica</i>	Proteina PR-10
rPru p 1	Pesca	<i>Prunus persica</i>	Proteina PR-10
rPru p 3	"	"	Proteina di trasferimento dei lipidi (nsLTP)

nente di molecole allergeniche può dare luogo a una messe di risultati positivi di difficile interpretazione e spesso di dubbia rilevanza clinica. È essenziale, pertanto, interpretare i risultati partendo dalla valutazione clinica del paziente, ovvero sapendo che cosa cercare.

Nel paziente polisensibilizzato ai pollini le prime due cose da fare sono:

a) Identificare i sensibilizzanti primari. Ovvero, rispondere alla domanda: "nei confronti di quali fonti allergiche è realmente sensibilizzato il paziente?" A tale scopo si valuterà se il siero del paziente reagisce nei confronti dei cosiddetti "markers di sensibilizzazione primaria a pollini": Phl p 1 e Phl p 5 per le graminacee, Art v 1 e Amb 1, rispettivamente per artemisia e ambrosia, Par j 2 per la parietaria,

Bet v 1 per le *Betulaceae*, Cup a 1 per il cipresso, Ole e 1 per l'olivo, Sal k 1 per la *Salsola kali*, Pla a 1 per il platano;

b) Verificare se vi sia sensibilizzazione nei confronti dei panallergeni pollinici (polcalcina e profilina);

c) Verificare se vi sia sensibilizzazione crociata ad allergeni alimentari;

d) Verificare l'eventuale sensibilizzazione primaria ad allergeni alimentari e le possibili reattività crociate tra proteine della medesima famiglia presenti in alimenti distinti.

PROBLEMI E CARENZE DEL MICROARRAY

Nonostante il numero delle molecole allergeniche sia gradualmente aumentato rispetto alle prime versioni dell'ISAC, la lista degli allergeni disponibili è tutt'altro che completa.

Questo vale in particolare per gli alimenti alimentari di origine vegetale nei quali emergono in continuazione nuove proteine in grado di determinare sensibilizzazione di soggetti geneticamente predisposti, ma anche nel caso di allergeni alimentari di origine animale come i crostacei (32). Questo significa che non è (e verosimilmente non sarà mai) possibile fare a meno dei vecchi e cari test cutanei con alimenti freschi (ed eventualmente anche dei test di provocazione orale in aperto o in cieco), unica indagine in grado di mettere in paziente in contatto con tutte (o quasi) le proteine allergeniche.

L'ISAC immunoassay presenta tuttora dei problemi di sensibilità intrinseci alla sua natura di microchip basato sull'impiego di minime quantità di allergene. Non sono rari casi di falsa negatività. In tal senso, l'analisi singleplex (ImmunoCAP) offre una sensibilità decisamente migliore (ovviamente purché sia disponibile l'allergene in questione).

Infine non si tratta di un esame quantitativo, contrariamente all'ImmunoCAP, per cui non è in grado di fornire indicazioni affidabili relativamente al *follow-up* delle allergie alimentare tipiche dei bambini

CONCLUSIONI

L'ISAC microarray non è un esame di routine e non può essere prescritto dal medico di base o da specialisti



sti privi delle competenze necessarie per interpretarlo; il suo impiego è da riservarsi all'allergologo. Nel campo delle allergie respiratorie il test è da riservarsi a pazienti particolarmente complessi a causa delle polisensibilizzazioni in cui si cercano indicazioni relative alla prescrizione dell'immunoterapia specifica

più corretta. Nel campo dell'allergia alimentare, la maggiore utilità dello strumento risiede nell'identificazione della proteina allergenica alla quale il paziente è sensibilizzato; alla luce delle caratteristiche chimico-fisiche di tale allergene sarà possibile valutare il grado di rischio associato con l'ingestione dell'alimento contenen-

te la proteina allergenica rilevante. L'impiego corretto dell'ISAC microarray richiede una buona conoscenza delle molecole allergeniche e del loro significato clinico, oltre che una certa confidenza con i fenomeni di reattività crociata; tali capacità richiedono un costante aggiornamento dello specialista.



Bibliografia

1. Asero R, Jimeno L, Barber D- Preliminary results of a skin prick test-based study of the prevalence and clinical impact of hypersensitivity to pollen panallergens (polcalcin and profilin). *J Invest Allergol Clin Immunol* 2010;20:35-38.
2. Hernández C, Martín-Esteban M, Fiandor A, et al.- Analysis of cross-reactivity between sunflower pollen and other pollens of the Compositae family. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:660-667.
3. Asero R, Weber B, Mistrello G, et al.- Giant ragweed specific immunotherapy is not effective in a proportion of patients sensitized to short ragweed: analysis of the allergenic differences between short and giant ragweed. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1036-1041.
4. Ferreira F, Hawranek T, Gruber P, et al.- Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy* 2004;59:243-267.
5. Van Ree R, Hoffman DR, van Dijk W, et al.- Lol p XI, a new major grass pollen allergen, is a member of a family of soybean trypsin inhibitor-related proteins. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:970-978.
6. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, et al.- Detection of allergens in plantain (*Plantago lanceolata*) pollen. *Allergy* 2000;55:1059-1062.
7. Hirschwehr R, Heppner C, Spitzauer S, et al.- Identification of common allergenic structures in mugwort and ragweed pollen. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:196-206.
8. Gadermaier G, Wopfner N, Wallner M, et al.- Array-based profiling of ragweed and mugwort pollen allergens. *Allergy* 2008;63:1543-1559.
9. Léonard R, Wopfner N, Pabst M, et al.- A new allergen from ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) with homology to Art v 1 from mugwort. *J Biol Chem* 2010;285(35):27192-200.
10. Jahn-Schmid B, Hauser M, Wopfner N, et al.- Humoral and cellular cross-reactivity between Amb a 1, the major ragweed pollen allergen, and its mugwort homolog Art v 6. *J Immunol* 2012;188:1559-1567.
11. Tinghino R, Twardosz A, Barletta B, et al.- Molecular, structural, and immunologic relationships between different families of recombinant calcium-binding pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:314-320.
12. Wopfner N, Dissertori O, Ferreira F, et al.- Calcium-binding proteins and their role in allergic diseases. *Allergy Clin N Am* 2007;27:29-44.
13. Valenta R, Duchene M, Ebner C et al.- Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens. *J Exp Med* 1992;175:377-385.
14. Van Ree R, Voitenko V, van Leeuwen WA, et al.- Profilin is a cross-reacting allergen in pollen and vegetable food. *Int Arch Allergy Immunol* 1992;98:97-104.
15. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, et al.- Parietaria profilin shows only little cross-reactivity with birch and grass profilins. *Int Arch Allergy Immunol* 2004;133:121-124.
16. Asero R, Monsalve R, Barber D- Profilin sensitization detected in the office by skin prick test: a study of prevalence and clinical relevance of profilin as a plant food allergen. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1033-1037.
17. Simon-Nobbe B, Probst G, Kajava AV, et al.- IgE binding epitopes of enolases, a class of highly conserved fungal allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:887-895.
18. Hilger C, Kohnen M, Grigioni F, et al.- Allergic cross-reactions between cat and pig serum albumin. Study at the protein and DNA levels.



Bibliografia

Allergy 1997;52:179-187.

19. Cabanas R, Lopez-Serrano MC, Carreira J, et al.- Importance of albumin in cross-reactivity among cat, dog, and horse allergens. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2000;10:71-77.

20. Goubran Botros H, Gregoire C, Rabillon J, et al.- Cross-antigenicity of horse serum albumin with dog and cat albumins: study of three short peptides with significant inhibitory activity towards human IgE and IgG antibodies. *Immunology* 1996;88:340-347.

21. Liccardi G, Dente B, Restani P, et al.- Respiratory allergy induced by exclusive poly-sensitization to serum albumins of furry animals. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2010;42:127-130.

22. Saarelainen S, Rytönen-Nissinen N, Rouvinen J, et al.- Animal-derived lipocalin allergens exhibit immunoglobulin E cross-reactivity. *Clin Exp Allergy* 2008;38:374-381.

23. Breiteneder H, Ebner C- Molecular and biochemical classification of plant-derived food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:27-36.

24. Hoffmann-Sommergruber K- Plant allergens and pathogenesis-related proteins. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;122:155-166.

25. Breiteneder H, Radauer C- A classification of plant food allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:821-830.

26. Jenkins JA, Griffiths-Jones S, Shewry PR, et al.- Structural relatedness of plant food allergens with specific reference to cross-reactive allergens: an in silico analysis. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:163-170.

27. Valenta R, Duchene M, Ebner C, et al.- Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens. *J Exp Med* 1992;175:377-385.

28. Ebner C, Hirschwehr R, Bauer L, et al.- Identification of allergens in fruits and vegetables: IgE

cross-reactivities with the important birch pollen allergens Bet v 1 and Bet v 2 (birch profilin). *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:962-969.

29. Björkstén F, Halmepuro L, Hannuksela M- Extraction and properties of apple allergens. *Allergy* 1980;35:671-677.

30. Rudeschko O, Fahlbusch B, Henzgen M, et al.- Investigation of the stability of apple allergen extracts. *Allergy* 1995;50:575-579.

31. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, et al.- Lipid transfer protein: a pan-allergen in plant-derived foods that is highly resistant to pepsin digestion. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;122:20-32.

32. Asero R, Mistrello G, Amato S, et al.- Shrimp allergy in Italian adults: a multi center study showing a high prevalence of sensitivity to novel high molecular weight allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157:3-10.

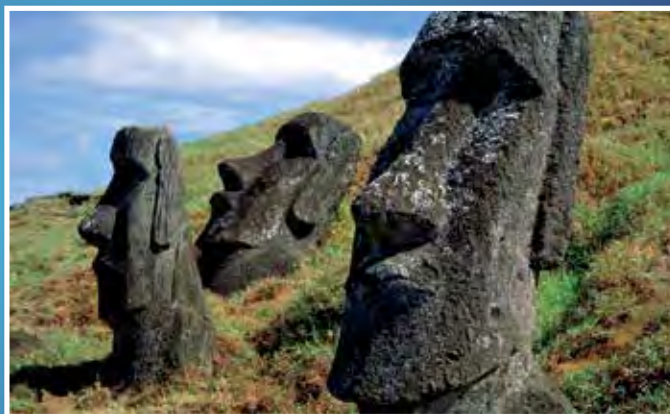
Contenuto tratto dall'articolo originale

NOTIZIARIO ALLERGOLOGICO

La storia della rapamicina,
la molecola che potrebbe
allungare la durata
della nostra vita
e contrastare l'invecchiamento.

Nella prossima edizione
del Not Allergol.

TRAILER





Fare informazione, fare professione



A cura di Franco Frati

*Specialista in Pediatria, Allergologia e Immunologia Clinica
Direttore Lofarma Academy*

L'immunoterapia sublinguale in real practice oggi: esperienze a confronto

Dr.ssa Giada Sambugaro

Enne Medica, Casorate Primo

Dr. Renato Sambugaro

Humanitas Medical Care, Bergamo

Ho accettato di pubblicare con piacere e con particolare emozione, nello spazio del nostro Notiziario Allergologico dedicato alla Lofarma Academy, il contributo scientifico della Dr.ssa Giada Sambugaro, affiancata dal padre Dr. Renato Sambugaro, relativo alla loro esperienza in real practice sull'immunoterapia specifica di tipo sublinguale in adulti e bambini. Il Dr. Sambugaro è uno dei pionieri dell'immunoterapia sublinguale in Italia, e Giada, da poco specialista, rappresenta appieno lo spirito che ha generato la nascita della nostra Academy, ovvero aiutare i giovani allergologi a crescere professionalmente affiancandoli e cercando di trasferire in loro la cultura dell'allergologia di precisione, ove diagnostica allergologica e immunoterapia specifica sono le pietre miliari.

Dr. Franco Frati
Direttore Lofarma Academy

Da molti anni ci occupiamo di immunoterapia sublinguale (SLIT) e vorremmo presentare queste nostre riflessioni in merito.

La SLIT è una strategia di desensibilizzazione allergene-specifica che prevede la somministrazione ripetuta di allergeni sotto forma di compresse o gocce sublinguali. Questo approccio modula la risposta immunitaria e induce tolleranza, risultando particolarmente indicato per pazienti con rinite allergica, congiuntivite allergica e asma allergico lieve-moderato.

Nella nostra esperienza abbiamo notato che, rispetto alla via sottocutanea, la SLIT offre un'alternativa sicura ed efficace, con il vantaggio della somministrazione domiciliare e della semplicità d'uso, favorendo una migliore aderenza terapeutica specialmente in età pediatrica, dove la terapia iniettiva non è ben accetta. La SLIT, a parità di efficacia con la terapia iniettiva, ha comunque molti altri vantaggi: la buona trasportabilità del prodotto senza dover rispettare la catena del freddo e la possibilità di iniziare a desensibilizzare in età pediatrica a partire dai 5 anni di età, basandosi sulla grande safety della terapia stessa. Iniziando precocemente la desen-



sibilizzazione si va gradualmente a spegnere quell'infiammazione mucosale persistente che, in età pediatrica, è alla base della predisposizione per le infezioni respiratorie ricorrenti, soprattutto nei mesi invernali. Una mucosa "sana", infatti, secondo la nostra esperienza si difende meglio anche dagli agenti infettivi esterni oltre che dagli allergeni che causano la sintomatologia allergica. Con l'introduzione delle formulazioni in compresse con allergene modificato si è ottenuto un ulteriore miglioramento sotto il profilo di sicurezza e sulla compliance, senza ridurre l'efficacia della SLIT. I dati di farmacovigilanza confermano che queste formulazioni presentano effetti avversi poco frequenti, prevalentemente locali e di lieve entità, come prurito orale e in rari casi gonfiore della mucosa sublinguale e non sono mai stati descritti casi di anafilassi; tutto ciò è confermato anche nelle nostre casistiche. Inoltre, osservando la letteratura in merito a ciò in un lavoro del 2021 di Moses, Passali e Di Gioacchino, sono stati analizzati i dati dell'EudraVigilance (banca dati europea sulle sospette reazioni avverse ai farmaci) relativi alle anafilassi da SLIT tra il 2016 e il 2019. Degli 82 casi segnalati per prodotti a base di acari della polvere, 54 erano associati a compresse con allergene nativo senza fase di incremento della dose e 28 a formulazioni diverse (soluzioni orali, gocce o liofilizzati orali non commercializzati). Nessun caso, invece, è stato correlato a compresse o gocce con allergeni modificati. Vorrei sottolineare che normalmente nei primi mesi di SLIT, possono manifestarsi lievi effetti avversi locali, ma un monitoraggio attento e una gestione mirata ne riducono l'impatto migliorando molto la compliance.

Studi clinici e dati *real world* indicano che l'aderenza a un trattamento di tre anni con SLIT in compresse si attesta tra il 60% e l'80%, sia negli adulti che nei pazienti pediatrici. Oltre alla sicurezza, altri fattori determinanti l'aderenza includono la percezione dell'efficacia, la facilità d'uso e un'adeguata educazione del paziente. Nella nostra esperienza in *real world*, presupposto imprescindibile per iniziare la SLIT è coinvolgere il paziente o, in caso di pazienti pediatrici, l'intera famiglia, ottenendo la disponibilità dei genitori a farsi carico della somministrazione della terapia o del controllo della regolare

assunzione da parte del figlio. Anche il genitore, perciò, deve essere motivato e deve discutere il piano terapeutico, dopo aver compreso tutti i passaggi logici: dalla certezza della diagnosi, alle opzioni terapeutiche con illustrazione dei dati più aggiornati sull'efficacia. Il paziente deve essere informato sul costo, sui possibili effetti collaterali, sui controlli previsti dal piano terapeutico, e deve soprattutto avere aspettative proporzionali alle prove di efficacia attualmente disponibili. Un supporto costante nelle fasi iniziali del trattamento può contribuire a migliorare ulteriormente la compliance e a garantire risultati terapeutici ottimali a lungo termine. Successivamente, in corso di trattamento, per monitorare il miglioramento del paziente molti lavori suggeriscono di utilizzare tabelle di score sintomi/consumo di farmaci che permettono di valutare la riduzione dei sintomi correlata alla riduzione di utilizzo della terapia farmacologica, che si traduce in un netto miglioramento della qualità della vita, obiettivo principale del trattamento. Nella nostra pratica clinica vorrei sottolineare che se ben gestita la SLIT si è dimostrata molto efficace sia nei pazienti con rinite allergica, dove offre risultati significativi riducendo i sintomi (starnuti, congestione, prurito, rinorrea) e la necessità di farmaci sintomatici, sia nei pazienti asmatici dove permette di ridurre l'uso di broncodilatatori e corticosteroidi. Rimane tuttavia necessario prestare maggior attenzione ai pazienti asmatici in cui, prima di iniziare il trattamento, è fondamentale valutare attentamente il livello di controllo dell'asma e monitorare attentamente il paziente durante la terapia al fine di evitare la comparsa di riacutizzazioni o effetti indesiderati. Personalmente, riteniamo che la terapia desensibilizzante sublinguale rappresenti un'opzione efficace per la gestione del soggetto allergico, specialmente in età pediatrica, dove la compliance del paziente è fondamentale e dove si possono ottenere i migliori risultati. L'integrazione di un'immunoterapia sicura ed efficace con una terapia farmacologica mirata permette un controllo ottimale della malattia, obiettivo che ogni specialista allergologo dovrebbe perseguire.

Giada e Renato Sambugaro



ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Il **Notiziario Allergologico** è una pubblicazione quadrimestrale di aggiornamento nel campo della Allergologia e delle discipline a essa correlate, rivolta ai Medici e ai Ricercatori. Il **Notiziario Allergologico** non pubblica articoli sperimentali, ma aggiornamenti e rassegne concordati con il Direttore responsabile e gli Autori, sia per quanto riguarda i contenuti che la lunghezza. Le affermazioni e le opinioni espresse negli articoli sono quelle degli Autori e non esprimono necessariamente il parere del Direttore responsabile o della Redazione.

- I **manoscritti** per la pubblicazione devono essere inviati tramite posta elettronica a:
redazione@lofarma.it
Nei manoscritti, oltre al nome completo degli Autori, dovrà essere indicata l'affiliazione degli stessi e l'indirizzo postale dell'Autore al quale verranno inviate le bozze.

- Il **testo** dovrà essere in formato Word o analogo, senza usare programmi di impaginazione specifici.

- Le **illustrazioni**, le fotografie e le tabelle dovranno essere salvate e inviate in file separati (formati JPG, TIFF, PDF).

Notiziario Allergologico is a quarterly publication for updates in the field of Allergology and related disciplines, aimed at Physicians and Researchers. **Notiziario Allergologico** does not publish experimental articles, but updates and reviews agreed upon with the Editor in Chief and Authors, both in content and length. The statements and opinions expressed in the articles are those of the Authors and do not necessarily express the views of the Editor in Chief or the Editorial Staff.

- **Manuscripts** for publication should be sent by e-mail to:
redazione@lofarma.it
In manuscripts, in addition to the Authors' full name, the Authors' affiliation and the mailing address of the Author to whom the drafts will be sent must be indicated.

- The **text** should be in Word or similar format, without using specific layout programs.

- **Illustrations**, photographs and tables should be saved and sent in separate files (JPG, TIFF, PDF formats).

El **Notiziario Allergologico** es una publicación cuatrimestral de actualización en el sector de la Alergología y disciplinas afines, dirigida a Médicos e Investigadores. El **Notiziario Allergologico** no publica artículos experimentales, sino actualizaciones y revisiones concertadas con el Director editorial y los Autores, tanto en contenido como en extensión. Las afirmaciones y opiniones expresadas en los artículos son las de los Autores y no reflejan necesariamente la opinión del Director editorial o de la Redacción.

- Los **manuscritos** para la publicación deben enviarse por correo electrónico a:
redazione@lofarma.it
En los manuscritos, además del nombre completo del Autor o Autores, deberá figurar su afiliación y la dirección postal del Autor a la que se enviarán los borradores.

- El **texto** debe estar en formato Word o similar, sin utilizar programas específicos de maquetación.

- Las **ilustraciones**, las fotografías y las tablas deben guardarse y enviarse en archivos separados (formatos JPG, TIFF, PDF).

Scarica, tramite QR code,
le istruzioni per gli autori
in formato PDF.



ITALIANO

Download, via QR code,
instructions for authors
in PDF format.



ENGLISH

Descarga, mediante código QR,
instrucciones para autores
en formato PDF.



ESPAÑOL

PRESENT AND FUTURE JUST IN ONE BREATH



Lofarma 1945

viale Cassala 40 - 20143 Milan, Italy
www.lofarma.it

