

Allergia alla Tropomiosina: dalla diagnosi molecolare alla pratica clinica

a cura della Commissione Diagnostica della SIAIP

Stefania La Grutta¹, Mauro Calvani² (coordinatore), Marcello Bergamini³, Neri Pucci⁴, Riccardo Asero⁵



Parole chiave: Tropomiosina, cross-reattività, diagnosi

Abstract

La tropomiosina è l'allergene maggiore dei crostacei ed è il principale allergene responsabile della cross-reattività molecolare e clinica per ingestione tra crostacei e molluschi e per via inalatoria con altri invertebrati, come gli acari della polvere e gli insetti. L'allergia alla tropomiosina va ricercata in tutti i bambini che presentano una sensibilizzazione allergica ai crostacei ed ai molluschi, in quelli con una sensibilizzazione allergica alla Blattella e all'Anisakis ed infine nei pazienti sensibilizzati agli Acari della polvere, qualora si voglia effettuare ITS. Per la diagnosi di allergia alla tropomiosina si suggerisce di utilizzare l'indagine molecolare dopo la esecuzione degli SPT e della ricerca delle IgE specifiche per i singoli alimenti o inalanti. Con la biologia molecolare è oggi possibile la ricerca delle singole IgE specifiche di alcune tropomiosine quali ad esempio quella dell'Anisakis, della Blattella germanica, dell'Acaro della polvere, e dei gamberetti.

Introduzione

La Tropomiosina è l'allergene maggiore dei crostacei ed è il principale allergene responsabile della cross-reattività molecolare e clinica per ingestione tra crostacei e molluschi e per via inalatoria con altri invertebrati, come gli acari della polvere e gli insetti. I crostacei (gamberi, mazzancolle, aragoste, granchi) ed i molluschi (cozze o mitili, vongole, telline, cannolicchi, ostriche, fasolari, seppie, calamari e polpi) sono prodotti ittici spesso presenti sulle nostre tavole, reperibili nel mercato attraverso la grande distribuzione, che possono provenire da attività di pesca in mare o in acque dolci, ma anche da attività di acquacoltura o

maricoltura. Il consumo domestico di questi prodotti è variabile in base alle tradizioni alimentari dei differenti paesi e per le diverse specie. Si registrano valori molto elevati in Europa in particolare in Portogallo, dove il consumo medio annuo pro capite di polpi colloca questo paese al terzo posto nella graduatoria mondiale, dopo Islanda e Giappone. Tra i paesi europei, in Germania crostacei e molluschi costituiscono il 15% dell'intero consumo annuo di prodotti ittici, mentre sia in Spagna (mitili, calamari, polpi) che in Francia (mitili, ostriche, capesante atlantiche), congelati e/o cotti rappresentano un consumo minore, corrispondente a circa il 12-17% dell'intero consumo ittico per l'anno

¹ U.O.S. Ambiente e Salute, ARPA Sicilia, Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università di Palermo; ² UOC di Pediatria ed Ematologia pediatrica, Ambulatorio Pediatrico-Allergologico, Azienda Ospedaliera "S. Camillo-Forlanini", Roma; ³ Pediatra di famiglia, Ferrara; ⁴ UO di Allergologia, Ospedale "A. Meyer", Firenze; ⁵ Ambulatorio di Allergologia, Clinica "San Carlo", Paderno Dugnano, Milano

Scheda: cosa è utile sapere sulla Tropomiosina nella pratica clinica.

Why: perché è importante conoscere la tropomiosina

La Tropomiosina è l'allergene maggiore dei crostacei ed è il principale allergene responsabile della cross-reattività molecolare e clinica per ingestione tra crostacei e molluschi e per via inalatoria con altri invertebrati, come gli acari della polvere e gli insetti.

Who: chi sono i soggetti nei quali posso ritrovare allergia alla tropomiosina

L'allergia alla tropomiosina deve essere sospettata:

- In tutti i bambini che presentano una sensibilizzazione allergica ai crostacei ed ai molluschi.
- In bambini con una sensibilizzazione allergica agli acari della polvere o agli acari minori, agli artropodi (*Blattella* e Chironomidi) e all'*Anisakis*.

What: che cosa cercare: l'importanza della cross-reattività

- Nei bambini con sospetta allergia ai crostacei e ai molluschi richiedere il dosaggio delle IgE specifiche per la tropomiosina del gamberetto o se possibile del/dei singoli crostacei. Se positivi per l'acaro della polvere, richiedere anche il dosaggio della tropomiosina dell'acaro (*Der p 10*).
- Nei bambini con allergia all'acaro della polvere da sottoporre a ITS, richiedere l'indagine molecolare per accertarsi che la sensibilizzazione allergica verso l'acaro sia dovuta ad una sensibilizzazione agli allergeni maggiori (*Der p 1* o *Der p 2*) e non alla tropomiosina (*Der p 10*). Nel caso si riscontri la positività per il *Der p 10* sarà utile ricercare nella anamnesi una possibile allergia, anche subclinica verso i crostacei e i molluschi, ed eventualmente anche la presenza di una sensibilizzazione.
- Nel caso si sospetti una allergia alla *Blattella* o una *Anisakis*, sarà indicato integrare gli SPT o la ricerca delle IgE specifiche con la determinazione molecolare, quando concomiti una allergia all'acaro della polvere o ai crostacei, per verificare se la sensibilizzazione sia diretta verso gli allergeni maggiori dell'*Anisakis* (*Ani S 1* e *Ani S 7*) o della *Blattella germanica* (*Bla g 1* e *Bla g 2*) o risulti come conseguenza di una cross-reattività legata alle rispettive tropomiosine (*Ani S 3* e *Bla g 7*).

Which: quali mezzi diagnostici in uso

- Utilizzare l'indagine molecolare per la ricerca della tropomiosina sempre solo in seconda battuta, ovvero dopo la esecuzione degli SPT (indagine più semplice, più sensibile, meno invasiva e meno costosa) o della ricerca delle IgE specifiche per i singoli alimenti o inalanti (indagine più sensibile e meno costosa).
- Con la biologia molecolare è oggi possibile la ricerca delle singole IgE specifiche solo nei confronti del *rDer p 10* (d 205 Phadia) e del *rPen a 1* (f351 Phadia) mentre con il Test ISAC è possibile ricercare contemporaneamente le IgE specifiche nei confronti di 6 tropomiosine, la *rAni s 3* dell'*Anisakis*, la *nBla g 7* della *Blattella germanica*, la *rDer p 10* dell'acaro della polvere, e tre tropomiosine dei gamberetti la *ePen a 1*, la *nPen i 1*, la *nPen m 1* rispettivamente del *Penaeus aztecus*, del *Penaeus indicus* e del *Penaeus monodon*.

2009. In Italia il ritmo dei consumi domestici di questi prodotti mostra per l'anno 2009 un aumento per alcuni crostacei (gamberi e mazzancolle) e molluschi (vongole, polpi) ¹. I dati ISTAT 2006 ottenuti da un campione di famiglie italiane mediante un'intervista telefonica con questionario, per rilevare gli acquisti settimanali di alcune categorie di alimenti, stimano che il consumo di crostacei e molluschi è molto ridotto nelle fascia di età < 20 anni, costituita da circa l'1% dei consumatori. Sulla base di tali informazioni è abbastanza difficile calcolare nel bambino il consumo (kg) procapite/anno di molluschi e crostacei rispetto all'adulto, per il quale viceversa è possibile registrare un range di consumo di 1,5-5,1 kg procapite /anno (<http://www.istat.it> (Istituto Nazionale di Statistica) ². Dati Europei derivati dalle informazioni presenti nel database globale dell'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) stimano che la percentuale dei giorni di consumo nei quali si superano i 100 g

di crostacei e molluschi è stata 0,5-3% (Spagna), 9% (Irlanda), 13% (Italia), 14% (Finlandia), 18% (Germania), 19% (Regno Unito), 24% (Francia) e 48% (Belgio), mentre la percentuale dei giorni di consumo nei quali si superano i 200 g di crostacei e molluschi è stata 2% (Italia), 2,5% (Francia), 4% (Irlanda), 7% (Regno Unito), 11% (Belgio) e il 15% (Germania) ³.

I crostacei ed i molluschi costituiscono una importante fonte nutrizionale di zinco, rame, glucosamina cloridrato e iodio, che tuttavia varia in base alla modalità con la quale vengono consumati, cioè se vivi, refrigerati, congelati o sottoposti a conservazione. Il consumo di questi prodotti ittici ed il riconoscimento del loro valore nutrizionale, oltre all'avvento di nuovi stili alimentari, caratterizzati da alto consumo di crostacei e molluschi in differenti tipologie di prodotto (fresco, surgelato, trasformato) ha implicato la comparsa con maggiore frequenza di reazioni allergiche tra i consumatori. Pur prendendo atto che i tassi di prevalenza

Tab. I. Relazione tassonomica tra le varie specie dove è stata dimostrata o supposta una cross reattività con l

Phylum	Classe	Ordine	Famiglia	Specie						
Arthropoda	Crostacea	Decapoda	Crangonidae	<i>Penaeus aztecus</i>						
				<i>Penaeus monodon</i>						
				<i>Penaeus indicus</i>						
							<i>Metapenaeus ensis</i>			
							<i>Metapenaeus indicus</i>			
							<i>Homardae</i>	<i>Homarus americanus</i>		
							<i>Palinuridae</i>	<i>Palinuris stipsoni</i>		
							<i>Palinuris homarus</i>			
							<i>Canridae</i>	<i>Charybdis feriatus</i>		
	Arachnida		Sarcoptiformes	Pyroglyphidae	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>					
					<i>Dermatophagoides farinae</i>					
					<i>Glycyphagidae</i>	<i>Lepidoglyphus destructor</i>				
				Insecta				<i>Blomia tropicalis</i>		
								<i>Blattaria</i>	<i>Blattidae</i>	<i>Blattella germanica</i>
										<i>Periplaneta americana</i>
Mollusca	Gastropoda	<i>Thysanura</i>		<i>Lepisma saccharina</i>						
		<i>Diptera</i>	<i>Chironomidae</i>	<i>Chironomus thummi thummi</i>						
				<i>Chironomus plumosus</i>						
		<i>Nematoda</i>	<i>Nematode</i>	<i>Anisakis</i>						
		Bivalvia (o Lamellibranchi)	Anisomyaria	<i>Helicidae</i>	<i>Helix pomatia</i>					
					<i>Helix aspersa</i>					
				<i>Eobamia vermiculata</i>						
		<i>Archeogastropoda</i>	<i>Patellidae</i>	<i>Turbo cornutus</i>						
				<i>Patella vulgate</i>						
		Mytilioida	<i>Mytilidae</i>	<i>Mytilus edulis</i>						
				<i>Perna canaliculus</i>						
						<i>Perna viridis</i>				
						<i>Ostreoida</i>	<i>Ostreidae</i>	<i>Ostra edulis</i>		
						<i>Crassostrea gigas</i>				
						<i>Cephalopoda</i>	<i>Octopoda</i>	<i>Octopodidae</i>	<i>Octopus vulgaris</i>	
				Decapoda	<i>Loliginidae</i>	<i>Todares pacificus</i>				
						<i>Loligo vulgaris</i>				

n.d.: non disponibile, da Bessot JC et al., 2010 ⁵⁹.

a tropomiosina del gamberetto.

	Nome	Molecola allergenica	Identità (%) con la Tropomiosina di Gamberetto	Via di esposizione
	Gamberetto scuro	<i>Pen a 1</i>	99	Ingestione
	Gambero gigante o mazzancolla imperiale	<i>Pen m 1</i>	99	Ingestione
	Mazzancolla bianca tropicale	<i>Pen i 1</i>	99	Ingestione
	Gamberone	<i>Met e 1</i>	99	Ingestione
	Gamberetto bianco	<i>Met i 1</i>	99	Ingestione
	Aragosta	<i>Homa a 1</i>	98	Ingestione Inalazione
	Aragosta	<i>Pan s 1</i>	98	Ingestione
		<i>Pan h 1</i>	98	Ingestione
	Granchio	<i>Cha f 1</i>	92	Ingestione
	Gambero	<i>n.d.</i>		Ingestione
	Acaro della polvere	<i>Der p 10</i>	81	Inalazione
	Acaro della polvere	<i>Der f 10</i>	81	Inalazione
	Acari delle derrate	<i>Lep d 10</i>	81	Inalazione
	Acaro tropicale	<i>Blo t 10</i>	81	Inalazione
	Scarafaggio	<i>Bla g 7</i>	82	Inalazione
	Scarafaggio	<i>Per a 7</i>	82	Inalazione
	Pesciolino d'argento	<i>Lep s 1</i>	67	Inalazione
	Tafano	<i>Chi t 1</i>	78	Inalazione
	Chironomus plumosus	<i>Chi p</i>	78	Inalazione
	Anisakis	<i>Ani s 3</i>	74	Ingestione
	Lumaca	<i>Hela TM</i>	61	Ingestione
	Lumaca	<i>Hela a 1</i>	61	Ingestione
	Lumaca	<i>n.d.</i>		Ingestione
	Lumaca di mare con guscio spinoso	<i>Tur c 1</i>	57	Ingestione
	Patella	<i>n.d.</i>		Ingestione
	Tellina	<i>Don s</i>		Ingestion
	Capasanta (Pettine)	<i>n.d.</i>	62	Ingestione
	Cozza	<i>Myt e</i>	57	Ingestione
	Cozza	<i>Per ca</i>		Inalazione
	Cozza	<i>Per v 1</i>		Ingestione
	Ostrica	<i>Cra g 1</i>	65	Ingestione
	Ostrica gigante	<i>Cra g</i>		Ingestione
	Polpo	<i>Oct v, Oct v 1</i>		Ingestione
	Calamaro	<i>Tod p</i>	72-75	Ingestione
	Seppia	<i>Lol v</i>		Ingestione

di allergia a crostacei e molluschi sono notevolmente più bassi nei bambini rispetto agli adulti, con valori rispettivamente di 0,5% vs. 2,5%, la problematica di comprensione e di gestione dei rischi "allergologici" e "non allergologici" (tossici da biotossine), connessi all'adozione di stili nutrizionali "diversi", con precoce o eccessiva introduzione di crostacei e molluschi nella dieta dei bambini, rimane complessa⁴. Ciò è ancora più importante se consideriamo i soggetti con patologia allergica respiratoria (asma con o senza rinite), che costituiscono un gruppo ad alto rischio di reazioni di ipersensibilità grave con reazioni anafilattiche fatali.

Tropomiosina in natura e cross reattività

Le Tropomiosine appartengono a una famiglia di proteine altamente conservate e strettamente correlate con isoforme multiple (almeno 18) presenti nelle cellule muscolari e non muscolari di tutte le specie di vertebrati e invertebrati, che insieme alla miosina e alla actina, contribuiscono alla contrazione muscolare, al trasporto di mRNA ed al supporto meccanico della cellula. Le Tropomiosine nella loro struttura nativa contengono un residuo di 7 aminoacidi, che spesso si ripete in modo ininterrotto all'interno della molecola. Assumono spesso una struttura di alfa elica, con due molecole che si avvolgono l'una sull'altra formando un dimero che le rende molto resistenti al calore e anzi la bollitura può liberarle nel vapore acqueo, dove è stato riscontrato ad esempio l'allergene *Pen i 1* non modificato.

Digitando tropomiosina su un motore di ricerca per allergeni (www.allergome.org), si estraggono 390 item, relativi a altrettante molecole isolate a oggi. Questa numerosità non stupisce affatto, anzi probabilmente sottostima la reale diffusione di questo allergene. La tropomiosina costituisce infatti un panallergene comune a due *phylum* del regno animale, quello degli artropodi e quello dei molluschi (Tab. I). Gli artropodi costituiscono di gran lunga la più numerosa categoria di animali, sia come specie che come diversità, contribuendo con le oltre 750.000 specie identificate a circa l'80% di tutte le specie animali conosciute⁵. La Tropomiosina è quindi uno dei principali componenti allergenici termostabili responsabile della cross-reattività tra crostacei, acari, insetti e nematodi, ed è quindi considerato il principale panallergene invertebrato che sensibilizza per via inalatoria o per ingestione individui predisposti.

In natura, oltre alle Tropomiosine allergizzanti degli invertebrati, crostacei (gamberi, aragoste, granchi, gamberi), aracnidi (acari della polvere, ecc.), insetti (blatte, ecc.), e molluschi (calamari), esistono anche le tropomiosine non allergeniche dei vertebrati. Nella Tabella II sono riassunte alcune caratteristiche delle principali Tropomiosine di invertebrati (Tab. II).

La tropomiosina del gambero (*Pen a 1*) è stato il primo allergene dei gamberetti ad essere identificato già nei primi anni '80 da Hoffman et al., che avevano individuato nei gamberi un allergene legante le IgE, successivamente identificato come tropomiosina dei gamberetti marroni da Lehrer et al.^{6,7} La tropomiosina del gambero nel suo stato nativo è una proteina muscolare, un omodimero arrotolato con PM di 36 kDa comprendente due molecole di alfa-elica avvolte l'una sull'altra. Dal punto di vista molecolare *Pen a 1* è stata prodotta come proteina ricombinante, presenta una sequenza di aminoacidi altamente conservata tra i diversi organismi invertebrati e la sua natura cross-reattiva lo definisce come un pan-allergene degli invertebrati⁸⁻¹⁰. Giacché circa l'80% dei soggetti allergici ai gamberetti mostra reattività verso questa proteina, che lega più del 75% di tutte le IgE specifiche anti-gambero, la tropomiosina è considerata l'allergene maggiore nei gamberetti e nei molluschi^{11,12}. Oltre a ciò, l'alto grado di identità di sequenza tra le tropomiosine delle differenti specie conferma che essa è il principale pan-allergene responsabile della cross-reattività tra i crostacei e tra quest'ultimi (*Metapenaeus ensis*, *Met e 1*, tropomiosina del gambero) ed i molluschi (*Todarodes pacificus*, *Tod p 1*, tropomiosina del calamaro). Infine in conseguenza dell'elevato grado di conservazione della struttura la tropomiosina è anche un importante allergene pan-cross sensibilizzante tra tutte le classi di artropodi, crostacei, aracnidi e insetti.

A riprova di questa caratteristica, Jeong et al. hanno clonato la tropomiosina del *Chironomus kiiensis* (*Chi k 10*) appartenente alla classe degli insetti, ottenendo un segmento di 285 aminoacidi, con un PM di circa 32,531 kDa. Tale proteina presenta un'elevata omologia di sequenza con la tropomiosina di altri insetti, la *Drosophila melanogaster* (89,1%) e la *Periplaneta americana* (86,3%), ed anche con quella di altri due importanti gruppi di artropodi, come ad esempio il *Palinurus stipsoni* (aragosta) (78,9%) della classe dei crostacei ed il *D. pteronyssinus* della classe degli aracnidi (76,5%)¹³. Per di più gli Autori hanno identificato mediante immunoblotting alcune bande comprese tra 70 e 80 kDa, presumibilmente i dime-

Tab. II. Caratteristiche delle principali Tropomiosine di invertebrati.

Autore	Dove si trova	Allergene	Peso Molecolare (PM, kDa)	Caratteristiche	Cross-reattività/ Omologia (Allergene)	Commento
Hoffman et al., 1994	Gambero (<i>Penaeus aztecus</i>)	<i>Pen a 1</i>	39-49	- Proteina ricombinante - 5 regioni legano IgE con almeno 8 epitopi	Gamberetti <i>Met e 1</i> (<i>Metapenaeus ensis</i>) Calamaro <i>Tod p 1</i> (<i>Todarodes pacificus</i>)	Pan-allergene maggiore degli invertebrati
Jeong et al., 2004 ¹³	Insecta (<i>Chironomus kiensis</i>)	<i>Chi k 10</i>	32,531	285 aminoacidi	<u>Insetti</u> Mosca della frutta <i>Dro m</i> (<i>Drosophila melanogaster</i>) Blatta <i>Per a 7</i> (<i>Periplaneta americana</i>) Pesciolino d'argento <i>Lep s 1</i> (<i>Lepisma saccharina</i>) <u>Crostacei</u> Aragosta <i>Pan s 1</i> (<i>Palinurus stipsoni</i>) <u>Aracnidi</u> Acaro delle polveri <i>Der p 10</i> (<i>D. Pteronissynus</i>)	Pan-allergene cross sensibilizzante tra insetti, crostacei, aracnidi
Jeong et al., 2004 ¹³	Insecta (<i>Periplaneta fuliginosa</i>)	<i>Per f 7</i>	32,739	284 aminoacidi	<u>Insetti</u> Blatta <i>Blattella germanica</i> <i>Blag g 7</i> <i>Periplaneta americana</i> <i>Per a 7</i>	Omologie di sequenza tra tropomiosine della classe insetti
Asturias et al., 1999 ¹⁷	Insecta (<i>Periplaneta americana</i>)	<i>Per a 7</i>	37,1	285 aminoacidi	<u>Insetti</u> <i>Locusta migratoria</i> <i>Drosophila melanogaster</i> <u>Crostacei</u> Gamberi <u>Aracnidi</u> Acari Molluschi	Elevato grado di omologia con tropomiosine di insetti, crostacei, aracnidi, molluschi
Jeong et al., 2003 ¹⁸	Insecta <i>Blattella germanica</i>	<i>Bla g 7</i>	32,836	284 aminoacidi	<u>Insetti</u> <i>Periplaneta americana</i> <i>Per a 7</i> <u>Crostacei</u> <i>Metapenaeus ensis</i> <i>Met e 1</i> <i>H. americanus</i> <i>Hom a 1fast</i> <i>H. americanus</i> <i>Hom a 1slow</i> <i>Charybdis feriatu</i> <i>Cha f 1</i> <i>Panulirus stimpsoni</i> <i>Pan s 1</i> <u>Aracnidi</u> <i>D. pteronyssinus</i> <i>Der p 10</i> <i>D. Farinae</i> <i>Der f 10</i> <i>L. destructor</i> AT250096	Elevato grado di omologia tra differenti tropomiosine di insetti, crostacei, aracnidi

ri, e bande da 30 a 50 kDa possibili isoforme, con un pattern simile a quello che si ritrova perfino nelle tropomiosine del pollo, e ciò implica che sia possibile estendere l'ampio spettro di cross-reattività con altre classi di animali¹⁴.

Il notevole livello di somiglianza aminoacidica tra le tropomiosine degli artropodi è stato studiato dal gruppo di Joeng et al., che dopo aver clonato la tropomiosina della *Periplaneta fuliginosa* (*Per f 7*), definendone la composizione di 284 aminoacidi con PM di 32,739 kDa, hanno successivamente eseguito una valutazione comparativa per la analogia di sequenza aminoacidica con la *Blattella germanica* (98,2%) e con la *Periplaneta americana* (98,5%). Inoltre la tropomiosina della *Periplaneta fuliginosa* ha un'omologia con le tropomiosine allergeniche di altre specie, come quella del gambero (81-84%) e dell'acaro della polvere (80%), giustificando così la cross-reattività nell'ambito degli artropodi tra le classi di insetti (*Blattella germanica*), crostacei (gamberi) ed aracnidi (acaro della polvere)¹⁵.

La tropomiosina della *Periplaneta americana* è stata identificata come allergene *Per a 7* in accordo con la nomenclatura internazionale delle Linee Guida del Sottocomitato dell'IUIS (*International Union of Immunological Societies Allergen*)¹⁶, ha un PM di 37,1 kDa, e condivide un elevato grado di affinità con altre tropomiosine di insetti, la *Locusta migratoria* (89%) e la *Drosophila melanogaster* (84%), artropodi (crostacei, gambero, 84-81%), aracnidi (acari, 80%), molluschi (69%) e con la tropomiosina di vertebrati, incluso l'uomo (54% di identità)¹⁷. Entrambe le forme, naturale e ricombinante, di *Per a 7* sono capaci di inibire le IgE leganti le tropomiosine di *Periplaneta americana*, *Blatta orientalis* e *Blattella germanica*. La presenza di molti epitopi in comune tra gli allergeni-tropomiosina delle due classi di artropodi (crostacei e *insecta*), è dimostrata dalla capacità di *Per a 7* di produrre un'inibizione del 50% nel legame delle IgE con la tropomiosina del gambero *Pen a 1*, rispetto al 96% di inibizione indotta da quest'ultima.

La tropomiosina della *Blattella germanica*, denominata *Bla g 7*¹⁶ è stata clonata ed è composta da 284 aminoacidi con un PM di 32.836 kDa. Anche se la *Bla g 7* presenta un'identità del 79-97% con molte altre tropomiosine allergeniche (*Per a 7*, *Der p 10*, *Der f 10*, *Met e 1*, ecc.), la reattività delle IgE di pazienti allergici nei confronti della *Bla g 7* ricombinante è bassa (soltanto il 19% dei pazienti con IgE positive). Ciò supporta l'ipotesi che *Bla g 7* non sia l'allergene

La tropomiosina è il principale pan-allergene responsabile della cross-reattività tra crostacei e tra crostacei e molluschi, ed è anche un importante allergene pan-cross sensibilizzante tra tutte le classi di artropodi, crostacei, aracnidi e insetti.

maggior della *Blattella germanica*, pur considerando che, a causa dell'elevato livello di omologia con altre tropomiosine allergeniche di invertebrati, vi sia comunque un notevole rischio di cross-reattività¹⁸.

L'estrema diffusione della Tropomiosina giustifica la frequente evenienza per l'uomo di venirne a contatto, di sviluppare una risposta immune, in alcuni casi di tipo IgE mediato, e quindi di poter sviluppare successivamente reazioni allergiche con manifestazioni cliniche evidenti. D'altra parte, come è già stato esposto, le Tropomiosine presentano tra di loro una omologia di sequenza più o meno elevata, comportando la possibilità che le cross-reattività possano assumere un significato clinico consistente. Di conseguenza la percentuale di somiglianza tra le due molecole è il fattore condizionante la probabilità di rilevanza clinica della cross-reattività nel senso che più è elevata, maggiore è tale possibilità. La Tabella III riassume le cross-reattività per alcune Tropomiosine. La iniziale sensibilizzazione alle tropomiosine può avvenire sia attraverso la via digestiva, e in quel caso l'allergene appartiene più di frequente ai crostacei o ai molluschi, oppure attraverso la via respiratoria, nei confronti delle tropomiosine degli acari o blattella, ed insetti. In tutti i casi, la iniziale sensibilizzazione può comportare la insorgenza di cross-reattività verso altre tropomiosine simili. Dalla Tabella I è ricavabile il dato che la grande affinità tra le tropomiosine dei crostacei giustifica la probabilità che un bambino allergico alla tropomiosina del gamberetto manifesti una reazione clinica alla ingestione di un altro crostaceo, ad esempio la aragosta. Infatti, nei bambini allergici ai crostacei la cross-reattività per un altro crostaceo viene registrata

Tab. III. Tropomiosine e Cross-reattività.

Autore	Tropomiosina	Allergene	Omologia	Commento
Reese et al., 2002 ²²	Gambero	<i>Pen a 1</i> (8 epitopi leganti IgE)	*4 epitopi identici a regioni omologhe del <i>Der p 10</i> (Acaro della polvere) *5 epitopi identici a regioni omologhe del <i>Per a 7</i> (<i>Periplaneta Americana</i>)	Non è noto se queste cross reattività abbiano un significato clinico
Jirapongsananuruk et al., 2008 ²³	Acaro della polvere	<i>Der p 10</i>	<i>Pen a 1</i>	Sensibilizzazione agli Acari nel 90% degli allergici ai gamberetti
Pascual et al., 1997 ²⁴	<i>Anisakis</i>	<i>Ani s 3</i>	<i>Blattella germanica</i> (<i>Blag g 7</i>) Chironomidi (<i>Chi p</i> , <i>Chi t 1</i>)	Presenza di cross reattività
Johansson et al., 2001 ²⁵	<i>Anisakis</i>	<i>Ani s 3</i>	<i>Acarus sirus</i> <i>Tyrophagus putrescens</i>	Presenza di cross reattività
Acevedo et al., 2009 ²⁶	Acaro della polvere	<i>Der p 10</i>	Ascaridi	Presenza di cross reattività
van Ree et al., 1996 ²⁸	Acaro della polvere	<i>Der p 10</i>	Lumache (<i>Hela a 1</i> , <i>Hela TM</i>) Gamberi (<i>Pen a 1</i>)	Insorgenza di allergia alle lumache e ai gamberi in soggetti allergici all'acaro della polvere e sottoposti a vaccinoterapia desensibilizzante
Pajno et al., 2002 ²⁹	Acaro della polvere	<i>Der p 10</i>	Lumache (<i>Hela a 1</i> , <i>Hela TM</i>)	La immunoterapia (SCIT) per acaro può aumentare la reattività clinica nei confronti della ingestione di lumache
Fernandez et al., 2003 ³²	Acaro della polvere <i>Blattella germanica</i> <i>P. Americana</i>	<i>Der p 10</i> <i>Per a 7</i>	Crostacei	IgE specifiche per i crostacei completamente inibite da quelle per l'acaro e la blatta

in percentuali variabili dal 38 all'80% con reazione clinica alla ingestione in circa il 40% dei soggetti^{19 20}, analogamente a quanto riportato per gli allergici ai molluschi (circa il 50%), infine dal 10 al 15% dei pazienti sono contemporaneamente allergici a crostacei e molluschi²¹. È ben evidente da quanto fin da ora descritto che la principale responsabile di queste cross-reazioni è la tropomiosina, la cui sensibilizzazione è riscontrabile nella grande maggioranza degli allergici ai gamberi. Non è ancora completamente chiarito se le cross reattività abbiano sempre un significato clinico, come ad esempio nel caso del *Pen a 1*, allergene del gamberetto, che contiene 8 epitopi leganti le IgE, di cui 4 sono identici a regioni omologhe delle tropomiosine dell'acaro (*Der p 10*) e gli altri a quelle della *Periplaneta* (*Per a 7*)²². Al contrario, la sensibilizzazione ai dermatofagoidi è stata riscontrata in oltre il 90% degli

allergici ai gamberetti²³. Questa percentuale è certamente attribuibile alla sensibilizzazione verso la tropomiosina dell'acaro della polvere (*Der p 10*), piuttosto che verso gli allergeni maggiori dell'acaro (*Der p 1*, *Der p 2*, *Der f 1*, *Der f 2*).

La tropomiosina dell'*Anisakis* presenta una cross-reattività soprattutto nei confronti di quella di altri artropodi, come la *Blattella germanica* e i Chironomidi²⁴, ma anche con gli acari, soprattutto quelli minori come l'*Acarus sirus* e il *Tyrophagus putrescens*²⁵. Di recente è stata anche dimostrata una ampia cross-reattività tra acari della polvere e ascaridi²⁶, e diversi Autori hanno suggerito l'esistenza di una relazione tra wheezing, asma e severità dell'asma ed IgE specifiche per gli ascaridi²⁷.

È stata descritta l'evenienza clinica di allergia alle lumache e ai gamberi in soggetti allergici all'acaro della pol-

vere che sono sottoposti a immunoterapia desensibilizzante²⁸, attribuendo al *Der p 10*, presente nell'estratto, il ruolo di induttore delle nuove sensibilizzazioni allergiche estese ad altre tropomiosine di crostacei e molluschi. Allo stesso modo è stato segnalato che la immunoterapia sottocutanea (SCIT) per acaro può aumentare la reattività clinica nei confronti della ingestione orale di lumache, che deve essere evitata nel corso del trattamento²⁹. Più recentemente altri studi sulla valutazione del rischio di comparsa di nuove sensibilizzazioni per tropomiosine durante l'immunoterapia con acari, hanno dimostrato che tale evenienza è rara³⁰. Rossi et al., in una casistica di 134 soggetti sottoposti a immunoterapia sublinguale (SLIT) per acari per 3 anni, non hanno infatti riscontrato il verificarsi di alcuna nuova sensibilizzazione per la tropomiosina del gambero (*Pen a 1*)³¹. Riguardo certi aspetti clinici della cross-reattività delle tropomiosine, è particolarmente curioso segnalare che alcune manifestazioni cliniche possono riscontrarsi in soggetti che, pur presentando una cutipositività per i crostacei non ne hanno mai ingerito in precedenza. In tal senso Fernandez et al., hanno studiato una popolazione ebraica che segue strettamente la dieta kosher, che vieta la ingestione di crostacei, ed hanno individuato 7 soggetti affetti da rinite e/o asma allergico agli acari della polvere e/o alla *Blattella* e alla *Periplaneta* con cutipositività per i crostacei, nei quali i risultati di RAST inibizione hanno mostrato un'inibizione completa delle IgE specifiche per i crostacei ad opera di quelle per l'acaro e la blatta³².

Aspetti clinici

Nella valutazione dei quadri clinici da allergia alle tropomiosine occorre considerare alcuni importanti elementi: primo, che vi è un'ampia e diversificata possibilità di venire a contatto con le tropomiosine naturali, in quanto esse sono presenti in numerose specie animali, dai crostacei agli insetti; secondo, che sulla base dei differenti livelli di omologia vi sono diversi gradi di cross-reattività tra crostacei (aragosta, granchio, ecc.), aracnidi (acari della polvere) e insetti (scarafaggi) e molluschi (seppie, ecc.); terzo, che la tropomiosina è stabile al calore e quindi può determinare reazioni cliniche dopo il consumo di crostacei e molluschi sia crudi che cotti. (Tab. IV).

Crostacei e molluschi

Pur sapendo che le tropomiosine sono gli allergeni maggiori dei crostacei e dei molluschi e ne rappre-

sentano la causa più frequente di allergia, in questi alimenti esistono altri allergeni, quali ad es. la arginasi chinasi (Tab. V). Tale condizione può spiegare la negatività per la tropomiosina in diverse casistiche di soggetti allergici ai crostacei³³, che è stata avvalorata da un recentissimo articolo italiano nel quale la sensibilizzazione verso tropomiosina è stata riscontrata soltanto in circa il 50% dei 100 soggetti allergici ai gamberetti, a conferma che in questi pazienti vi siano altre molecole allergeniche non ancora identificate³⁴. La frequenza dell'allergia ai crostacei e molluschi varia con l'età e le abitudini alimentari. Nella casistica raccolta dalla Commissione AAADA (Allergia Alimentare, Anafilassi, Dermatite Atopica) della SIAIP, su 216 casi di anafilassi e reazioni allergiche generalizzate ad alimenti, 21 erano riferite a prodotti ittici, e di queste 15 (6,9%) erano dovuta a pesci, 4 (1,9%) a gamberetti e 2 (0,9%) a molluschi. In una casistica cinese di 114 bambini con dermatite atopica, i gamberetti erano la terza causa più frequente di sensibilizzazione allergica e la aragosta la quinta. In una survey telefonica negli USA, Sicherer ha evidenziato che la allergia ai crostacei ed ai molluschi in età pediatrica è presente nel 0,8% dei soggetti, più frequente della allergia ai pesci. I più comuni frutti di mare responsabili di allergia clinica sono nell'ordine gamberetto, granchio, aragosta, vongole, ostriche, cozze.

Il pattern delle manifestazioni allergiche ai crostacei e ai molluschi appare simile a quello segnalato anche per altri alimenti. Nel 10% dei casi le reazioni cliniche si presentano al solo contatto o alla inalazione e nella maggior parte dei casi si evidenziano entro 2 ore dalla assunzione dell'alimento, anche se talvolta sono segnalate a distanza di 8 ore, in particolare per il granchio della neve (*snow crab*), per la seppia e per la patella. I sintomi sono variabili individualmente da semplici eruzioni orticarioidi ad eventi acuti, gravi e talora mortali come la anafilassi, o la anafilassi da esercizio fisico. In una casistica di 30 allergici ai gamberetti, la manifestazione allergica più comune è stato il prurito generalizzato (nel 90% dei casi), seguito dall'orticaria e l'angioedema delle labbra e della lingua, ma il 42% aveva anche sintomi polmonari³⁵. Le reazioni multiple sono abbastanza comuni: il 42,2% dei casi riferisce di aver avuto da 2 a 5 reazioni e il 15,2% oltre 6 reazioni. In questi casi i sintomi più frequenti sono l'orticaria e l'angioedema, presenti rispettivamente in circa il 60 e il 70% dei casi, seguiti da dispnea (55%), fastidio orale (50%), prurito orale (40%), ca-

Tab. IV. Aspetti clinici della allergia alle tropomiosine.

Autori	Classe	Specie	Aspetti clinici
Sicherer et al., 2004 ²¹	Crostacei Molluschi	Gamberetti Granchio Aragosta Vongole Ostriche Cozze	Orticaria e angioedema (60-70%) Dispnea (55%) Fastidio orale (50%) Prurito orale (40%) Capogiri e malessere (35%) Wheezing (30%) Vomito diarrea e tosse (20%)
Daul et al., 1988 ³⁵	Crostacei	Gamberetti	Prurito generalizzato (90%) Orticaria e angioedema delle labbra e della lingua Sintomi polmonari (42%)
Lemiere et al., 1996 ³⁸	Crostacei	Aragosta Gamberetti	Asma per la inalazione (15,6%) Rinocongiuntivite (76%) Orticaria (35%)
James et al., 2007 ³⁶	Molluschi	Molluschi	Dermatite atopica
Rosado et al., 2009 ³⁹	Molluschi	Polpo	Asma, rinocongiuntivite
Corominas et al., 2009 ⁴⁵	Aracnidi	Acaro della polvere (<i>Der p 10</i>)	Asma, rinite
Aldunate et al., 1999 ⁴⁶	Insetti	<i>Chironomus thummi</i>	Asma, da inalazione di cibo per gli acquari
La Grutta et al., 2011 ⁵²	Insetti	<i>Blattella germanica</i>	Rinocongiuntivite
Daschner et al., 2005 ⁵⁴	Insetti	Pesce e cefalopodi crudi o poco cotti, parassitato da <i>Anisakis Simplex</i>	Orticaria angioedema, anafilassi, asma, rinocongiuntivite, dermatite da contatto.

pogiri e malessere (35%), wheezing (30%), vomito diarrea e tosse (20%) ²¹. La allergia ai molluschi può essere causa anche di dermatite atopica grave e resistente alla terapia. Nell'adolescente e nell'adulto l'allergia può manifestarsi in modo così marcato da rendersi evidente anche per la sola inalazione ^{36 37} o per contatto, in specie nei lavoratori dei prodotti ittici. In una popolazione di lavoratori di prodotti ittici, il 15,6% aveva asma per l'inalazione, il 76% presentava rinocongiuntivite e il 35% orticaria ³⁸. È stato descritto il caso di una ragazza di 22 anni con episodi ricorrenti di asma e rinocongiuntivite esorditi sin dall'inizio dell'attività lavorativa presso un'industria di conservazione di pesce e prodotti ittici. Le indagini diagnostiche hanno evidenziato la sensibilizzazione allergica nei confronti del polipo (24,6 ku/l) e della tropomiosina (0,84 ku/l) con un immunoblot che mostrava il legame delle IgE specifiche a bande di 43, 3, 32 kDa, corrispondenti alla tropomiosina. Infine il challenge bronchiale con estratto di polipo determinava una riduzione del FEV₁ oltre il 20% rispetto al valore basale ³⁹. È importante ricordare che le tropomiosine con i suoi epitopi allergenici può essere presente nei vapori in

seguito alla cottura dell'alimento ⁴⁰. Pertanto una volta posta la diagnosi di allergia ai crostacei o molluschi è necessario consigliare, in aggiunta alla dieta di esclusione, di evitare la inalazione di vapori di cottura o di frittura di questi alimenti ⁴¹.

Nel 10% dei casi di manifestazioni allergiche a crostacei e molluschi le reazioni cliniche si presentano al solo contatto o alla inalazione e nella maggior parte dei casi si evidenziano entro 2 ore dall'assunzione dell'alimento.

Tab. V. Molecole allergeniche dei frutti di mare.

Allergeni	Peso molecolare (kDa)	Natura e funzione	Specie implicate
Tropomiosina	34-39	Proteina muscolare maggiore. 3 isoforme identificate	Granchio, aragosta, gamberetto, gambero, todaro, calamaro, ostrica, lumache, ecc.
Arginasi kinasi	40	Fosfagen kinasi. Enzima chiave nel metabolismo energetico degli invertebrati	Gambero, gamberetto, molluschi
Myosin light chain	20	Due catene leggere legate ad una catena pesante della miosina	Gamberetto
Myosin heavy chain	197	Proteina che contiene almeno un dominio con un tipo di struttura secondaria costituita da due o più eliche alfa che si intrecciano a formare una struttura di cavi. Legame con ATP, attività motoria	Molluschi
Emocianina	Ogni subunità pesa 340-450 kDa, e contiene 7-8 unità funzionali, del peso di 50 kDa.	Subunità decameriche (1 o 2) assemblate a cilindro cavo Cromoproteina che trasporta l'ossigeno nel sangue della maggior parte degli invertebrati molluschi e crostacei	Molluschi
Amilasi	75	Proteina che potrebbe essere collegata alla amilasi <i>Der p 4</i>	Molluschi (Patella)
Calcium binding sarcoplasmatic protein	20	Proteina muscolare legante in calcio	Gambero, gamberetto

Fonte: Lopata et al., 2010¹², adattata.

Aracnidi – Sarcoptiformes – Dermatophagoides pteronyssinus e farinae

I *Dermatophagoides pteronyssinus* e *farinae* (acari della polvere) costituiscono i principali allergeni respiratori presenti nella polvere di casa, e la loro importanza allergologica è dimostrata dalla elevata percentuale di sensibilizzazione riscontrabile nei soggetti allergici affetti da rinite e asma. Esistono almeno 23 gruppi di allergeni dell'acaro della polvere, i più importanti dei quali sono il *Der p 1* e il *Der f 1* (Tab. VI). Tuttavia circa il 20% degli allergici all'acaro non producono anticorpi verso il *Der p 1* e il *Der p 2*, e data la elevata frequenza di sensibilizzazione all'acaro, questi soggetti costituiscono una popolazione numerosa⁴². La tropomiosina (*Der p 10*) è considerato un allergene minore degli acari della polvere. La presenza di anticorpi per il *Der p 10* viene descritta in percentuali variabili nelle diverse casistiche, alta in Giappone (80%)⁴³ e Zimbabwe (55%)⁴⁴, bassa in Europa, probabilmente proprio in relazione alla cross-sensibilizzazione per i crostacei e i molluschi. Poco conosciuto, ma probabilmente scarso, è il ruolo di *Der p 10* nella genesi dei sintomi respiratori. In una

popolazione di soggetti con rinite e/o asma sensibilizzati all'acaro della polvere, sebbene nel 44% dei soggetti vi fosse anche una sensibilizzazione al *Der p 10*, non vi era una significativa differenza nella prevalenza dei sintomi tra quest'ultimi e quelli non sensibilizzati al *Der p 10*. Vi era invece una significativa associazione tra i livelli di IgE specifiche per la tropomiosina e il diametro del pomfo per il gamberetto⁴⁵.

Insetti – Blattidae – Blattella germanica

Nell'ambito delle reazioni cliniche da tropomiosine presenti negli insetti è da citare la possibilità di evenienza di crisi di asma a seguito della inalazione di cibo per gli acquari, poiché lo stesso è anche costituito da insetti (*Chironomus thummi*, *Chi t 1*)⁴⁶. Tra gli animali appartenenti alla classe degli insetti la *Blattella germanica* e la *Periplaneta americana* sono le due blatte più frequentemente riscontrate negli USA. Gli allergeni maggiori sono stati identificati nel *Bla g 1*, *Bla g 2* e nel *Per a 1*. Essi sono riscontrabili soprattutto nella saliva, nel materiale fecale, nelle secrezioni. Come per l'acaro della polvere, questi allergeni sono

Tab. VI. Molecole allergeniche dell'acaro della polvere.

Allergene	Funzione biochimica	Peso molecolare (kDa)	Specie in cui è contenuta	Legame delle IgE
Der p 1	Cysteina proteasi	25.000	Dp, Df, Dm, Ds, Em, Bt	80
Der p 2	Niemann Pick C2 omologa	14.000	Dp, Df, Ds, Em, Ld, Tp, Gd, As	80
Der p 3	Tripsina	25.000	Dp, Df, Ds, Em, Bt	16-100
Der p 4	Alfa-amilasi	57.000	Dp, Em	40-46
Der p 5	sconosciuta	15.000	Dp, Bt, Dl	50-70
Der p 6	Chimotripsina	25.000	Dp, Df	40
Der p 7	Sconosciuta	25.000	Dp, Df, Ld	50
Der p 8	Glutazione s trasferasi	26.000	Dp	20-40
Der p 9	Serina proteasi collagenolitica	30.000	Dp	90
Der p 10	Tropomiosina	37.000	Dp, Df, Bt, Ld	50-95
Der p 11	Paramiosina	96.000	Df, Bt	80
Der p 12	Sconosciuta	14.000	Bt	50
Der p 13	Fatty acid binding protein	15.000	Bt, Ld, As	10-20
Der p 14	Vilellogenina/apolipoforina like	177.000	Dp, Df, Em	90
Der p 15	98k chitinasi	62.500	Df	70
Der p 16	Gelsolin	55	Df	50
Der p 17	Ca binding EF proteina	30	Df	35
Der p 18	Chitinasi	60.000	Df	55
Der p 19	Peptide anti microbico	7.000	Bt	10
Der p 20	Arginina kinasi	40.000	Dp, pyroglyphidae	-
Der p 21	Sconosciuta	14.000	Dp	-
Der p 23	Sconosciuta	14.000	Dp	-

Dp: *Dermatophagoides Pteronyssinus*; Df: *Dermatophagoides Farinae*; Dm: *Dermatophagoides microceaus*; Ds: *Dermatophagoides sifone*; Em: *Euroglyphus maynei*; Bt: *Blomia tropicalis*; Ld: *Lepidoglyphus destructor*; Tp: *Tyrophagus putrecentiae*; Gd: *Glycophagus domesticus*; As: *Acarus siro*.

Fonte: Thomas et al., 2004⁶⁴, modificata

aerodispersi in particelle di dimensioni > 10 micron, che sedimentano rapidamente al suolo. La prevalenza di questi allergeni è inversamente correlata al livello socioeconomico delle popolazioni studiate, risultando predominante nella gran parte delle abitazioni dei quartieri delle aree più affollate e povere delle città. Alcuni studi dimostrano che circa il 30-40% dei bambini asmatici residenti in queste zone è sensibilizzato alle Blatte⁴⁷, mentre la sensibilizzazione scende al 21% in quelli che abitano in periferia⁴⁸. Nella *Blattella* oltre alla Tropomiosina (*Bla g 7*) esistono diverse altre molecole allergeniche, la cui importanza clinica è poco conosciuta e probabilmente minore (Tab. VII). In Italia è stato riportato un tasso di sensibilizzazione allo scarafaggio di 1,8-

13% in adulti^{49,50}. In età pediatrica i risultati dello studio di Peruzzi et al. riferiscono una prevalenza di sensibilizzazione alla *Blattella* del 12,7%, senza evidenza di alcuna correlazione clinica⁵¹. Recentemente La Grutta et al., in una popolazione pediatrica di 504 pazienti con almeno una prova cutanea positiva, afferente ad un ambulatorio allergologico, hanno valutato la prevalenza della sensibilizzazione alla *Blattella germanica* (BG) e la sua associazione con le malattie allergiche. Nel campione in studio, composto da soggetti di età compresa tra 5 e 215 mesi (0,4-17,9 anni) con un'età media di anni 7,8 ± 3,1 SD, è riportata una prevalenza di sensibilizzazione a BG del 10,5%. Tale valore aumenta significativamente con l'età da 5,2% (95% CI

Tab. VII. Molecole allergeniche della *Blattella germanica*.

Allergene	Funzione biochimica	Peso molecolare (kDa)
<i>Bla g 1</i>	Sconosciuta	46.000
<i>Bla g 2</i>	Aspartico proteasi	36.000
<i>Bla g 4</i>	Lipocalina	21.000
<i>Bla g 5</i>	Glutazione s-trasferasi	23.000
<i>Bla g 6</i>	Troponina (calcium binding protein)	21.000
<i>Bla g 7</i>	Tropomiosina	31.000
<i>Bla g 8</i>	Miosina	nd
<i>Bla g 9</i>	Arginasi chinasi	nd

nd: non determinato.

3,2-7,2%) per le classi più basse di età (0,4-8,3 anni di età) fino a 15,8% (95% CI 11,8-19,8%) per le classi più alte (8,3-17,9 anni di età) ($p < 0,0001$). L'indice di atopia (calcolato in base al numero delle prove allergiche (SPT) individuali positive e classificato come: 1) una o due prove allergiche cutanee positive; 2) tre o più prove allergiche cutanee positive) aumenta significativamente dalla classe di età più bassa alla classe di età più alta ($p < 0,0001$). Inoltre quest'ultimo fattore insieme con il più alto indice di atopia sono i principali fattori di rischio per la sensibilizzazione a BG, rispettivamente con valori di OR 3,12 (IC95% 1,57-6,19) e OR 37,16 (IC95% 5,04-274,13). Gli Autori hanno riscontrato che nella classe di età superiore (8,3-17,9 anni di età) la sensibilizzazione a BG è un fattore determinante per rinocongiuntivite, stimando che l'abbattimento dell'esposizione a BG potrebbe prevenire 1/5 dei casi di rinocongiuntivite⁵².

Riguardo alle misure di intervento domestico per contrastare la presenza della carica allergenica della BG, diversi studi hanno dimostrato che l'accurata disinfestazione e cura nel ridurre gli avanzi di cibi può consistentemente diminuire la percentuale (80-90%) di allergene, anche se ancora non è completamente confermato l'effetto clinico di tali azioni⁵³.

Insetti – Nematodi – *Anisakis simplex*

La anisakiosi è una malattia determinata dalla ingestione di pesce e cefalopodi crudi o poco cotti, infestati dall'*Anisakis simplex*, un nematode parassita dei pesci, che nell'uomo, ospite occasionale, non può completare il proprio ciclo vitale. L'*Anisakis* può causare quadri

clinici in rapporto al sito del tratto digestivo in cui si deposita, e con la testa aderisce o penetra la parete del tubo digerente, e alla risposta infiammatoria che deriva dall'infezione o dalla reazione allergica verso alcune sue proteine. La sintomatologia più frequente è rappresentata dal dolore addominale di varia intensità e localizzazione, che segue un periodo di 4-48 h dalla infezione del parassita⁵⁴. Le localizzazioni più tipiche sono quella epigastrica ed intestinale. Nella prima vi è dolore addominale in regione epigastrica, di tipo colico, che può accompagnarsi a nausea e/o vomito. La gastroscopia permette l'estrazione del parassita e la regressione della sintomatologia. Quando l'infestazione assume un decorso cronico si possono formare degli ascessi o dei granulomi, che portano a sintomi che simulano una appendicite acuta, una pseudo ostruzione intestinale e/o una malattia infiammatoria intestinale. Sono descritti quadri extradigestivi, quando la larva penetra attraverso la parete intestinale, migrando in altri organi. Oltre il 10% delle anisakiosi gastrointestinali si possono accompagnare a sintomi di tipo allergico. Quest'ultimi includono la orticaria-angioedema, la anafilassi, l'asma e la rinocongiuntivite e la dermatite da contatto. Alcuni pazienti possono presentare un quadro clinico, denominato anisakiosi gastroallergica, con sintomi digestivi (epigastralgia e vomito) che precedono di 3-5 ore i sintomi allergici (orticaria-angioedema). Anticorpi di tipo IgE verso l'*Anisakis* si possono riscontrare in circa il 10% dei soggetti sani, indicando che una gran parte dei soggetti infestati dal parassita può non sviluppare alcun sintomo clinico. Recentemente sono stati clonati e caratterizzati diversi allergeni dall'*Anisakis simplex*⁵⁵ ed il ricorso alla biologia molecolare contribuisce a distinguere la sensibilizzazione allergica legata alla primitiva infestazione da *Anisakis*, con risposta prevalentemente verso l'*Ani s 1* e all'*Ani s 7*⁴², dalla positività dovuta alla cross-reattività della tropomiosina e risposta verso *Ani s 3*⁵⁶. Quest'ultima ha una cross-reattività soprattutto con le tropomiosine del gambero (*Pen a 1*), della *Periplaneta americana* (*Per a 7*), delle lumache (*Hel as 1*) e dell'acaro della polvere (*Der p 10* e *Der f 10*)⁵⁷, anche se riguardo gli acari non sembra essere l'unico allergene responsabile della cross-reattività⁵⁸ (Tab. VIII).

Per uccidere questo tipo di parassiti, è sufficiente il congelamento dei prodotti per qualche ora, tant'è che due regolamenti italiani (853/04 e 854/04) che disciplinano il consumo di pesce crudo, impongono il congelamento per un periodo minimo di 24 ore ad una temperatura non superiore ai -20°C, o di mangiare il

Tab. VIII. Molecole allergeniche dell'*Anisakis*.

Molecola	kDa	Allergene	Localizzazione
Ani s 1	21-24	Omologo di serine proteasi inibitore	Escretorio-secretorio
Ani s 2	97	(Paramiosina)	Somatico
Ani s 3	41	(Tropomiosina)	Somatico
Ani s 4	9	Cisteine proteasi inibitore	Escretorio-secretorio
Ani s 5	15	SXP/RAL-2 family proteins	Escretorio-secretorio
Ani s 6	7	(Inibitore della serine proteasi)	Escretorio-secretorio
Ani s 7	139-154	Glicoproteina	Escretorio-secretorio
Ani s 8	15	SXP/RAL-2 family proteins	Escretorio-secretorio
Ani s 9	14	SXP/RAL-2 family proteins	Escretorio-secretorio

pesce fresco cotto per almeno 20 minuti a 60 gradi. La cottura è in grado di uccidere il parassita e di ridurre, ma non di annullare la allergenicità dell'*Anisakis simplex*, che persiste anche dopo cottura a 100°C.

Diagnosi di allergia alla tropomiosina

Nell'iter diagnostico di allergia alle tropomiosine occorre considerare che, pur prendendo atto che i dati esistenti confermano la Tropomiosina come il componente allergenico maggiore, condizionante la cross-reattività tra le differenti specie, piccoli cambiamenti della sequenza degli aminoacidi nelle isoforme potrebbero influenzare la reattività dell'allergene nel legare le IgE specifiche. Per di più, le differenze nelle tropomiosine native e ricombinanti possono contribuire ad aumentare le differenti allergenicità, così come la fusione o l'inappropriato ripiegamento di proteine ricombinanti può condizionare la reattività del legame con le IgE specifiche. Infine la frequenza del legame con le IgE specifiche può essere subordinata alle differenze di background genetico dei soggetti. Queste premesse ci inducono a non sottovalutare la rilevanza della sensibilizzazione alla tropomiosina, soprattutto perché è un allergene pan-cross sensibilizzante tra le diverse classi di artropodi, crostacei, aracnidi e *insecta*, ed i molluschi, e ad evidenziare la complessità dell'accertamento diagnostico di questa condizione, attraverso l'utilizzo della consueta sequenza di test di primo (prove cutanee) e secondo livello (ricerca di IgE specifiche) (Tab. IX).

Prove cutanee (Skin Prick Test)

Nel caso di allergia alla tropomiosina (*Chi k 10*) del

Chironomus kiiensis (tafano), Jeong et al., in pazienti adulti hanno evidenziato una forte cutipositività a seguito delle prove cutanee con *Chi k 10*, a dimostrazione dell'elevato grado di sensibilizzazione all'estratto dell'insetto¹³.

Alcuni Autori in bambini con allergia ai gamberetti hanno comparativamente testato i risultati delle prove cutanee eseguite con estratti commerciali del *Penaeus monodon* (gambero gigante o mazzancolla imperiale) e con la tecnica del *prick-by-prick* a partire da estratti di gamberetti crudi, al fine di calcolare il valore predittivo del diametro medio del pomfo rispetto all'esito del challenge alimentare con il gambero gigante. In tutti i pazienti allergici è stato verificato che il diametro medio del pomfo equivalente a 30 mm, ottenuto con il *prick-by-prick* da estratto di *Penaeus monodon* ha una probabilità predittiva dell'80% per il challenge positivo con l'alimento. L'utilizzo combinato dell'estratto commerciale e non, con un valore del diametro medio del pomfo rispettivamente di 22,5 e 20 mm, ha un potere predittivo del 95% per un challenge positivo con il *Penaeus monodon*. Questo dato è rilevante se si considera che l'allergene *Pen m 1* del *Penaeus monodon* possiede il 99% di identità con la tropomiosina del gamberetto *Pen a 1*. Tuttavia, come per altri valori di cut-off diagnostici proposti per altri alimenti, tali li-

Nella diagnosi di allergia non bisogna sottovalutare la complessità dell'accertamento diagnostico.

Tab. IX. Diagnosi di allergia alla tropomiosina. Alcuni esempi pratici.

Sospetto diagnostico	I Livello	Specie	Allergene
	Skin Prick Test (ad es.)	<i>Penaeus aztecus</i> (Gamberetto scuro)	<i>Pen a 1</i>
		<i>Chironomus kiiensis</i> (tafano)	<i>Chi k 10</i>
	Prick-by-prick (ad es.)	<i>Penaeus monodon</i>	<i>Pen m 1</i>
	II Livello		
	IgE specifiche (ad es.)	<i>Penaeus aztecus</i>	<i>Pen a 1</i> <i>r Pen a 1</i>
		<i>Chironomus kiiensis</i> (tafano)	<i>Chi k 10</i>
Diagnosi di certezza	III Livello Biologia molecolare		
	IgE specifiche	<i>Acaro della polvere</i>	<i>rDer p 10</i>
		<i>Blattella germanica</i>	<i>nBla g7</i>
		<i>Anisakis simplex</i>	<i>rAni s 3</i>
		<i>Penaeus aztecus</i>	<i>ePen a 1</i>
		<i>Penaeus indicus</i>	<i>nPen i 1</i>
		<i>Penaeus monodon</i>	<i>nPen m 1</i>

miti proposti sono scarsamente rilevanti dal punto di vista clinico, dato che meno del 10% dei bambini della casistica presenta un diametro medio dello SPT per qualunque allergene superiore a 20 mm²³.

La ricerca delle IgE specifiche

Riguardo il riscontro di IgE leganti la tropomiosina sappiamo che in circa l'80% dei pazienti sensibilizzati al gambero marrone (*Penaeus aztecus*) vi sono IgE per il *Pen a 1*. In pazienti con allergia agli acari della polvere e storia clinica di allergia a gamberi, che riferiscono reazione di orticaria generalizzata da ingestione di gamberi e positività delle prove cutanee, il riscontro di IgE specifiche verso *rPen a 1* è un elemento di conferma per la diagnosi⁵⁹. Vi è però da notare che le IgE specifiche per la tropomiosina del gambero (*Pen a 1*) possono talvolta non essere riscontrate, pur in presenza di manifestazioni cliniche di entità medio grave (edema laringeo, edema della lingua e delle labbra) e di prick test positivi eseguiti mediante tecnica prick-by-prick da estratti dell'alimento naturale. Alonso et al. riferiscono che il ricorso a tecniche di immunoblotting consente di identificare le bande di 46 kDa e 25 kDa leganti le IgE specifiche, con un ampio grado di cross-reattività (evidenziabile con la tecnica di immunoblotting-inibizione) con le altre categorie di gamberi, gamberetti e granchi⁶⁰.

Joang et al. hanno riportato che le IgE nei confronti di tropomiosina ricombinante si ritrovano nella maggior parte dei pazienti (17 equivalenti all'81%) dei 21 sierici di pazienti adulti sensibilizzati, con sintomatologia respiratoria allergica (asma), che erano stati testati con tropomiosina ricombinante (*Chi k 10*) di *Chironomus kiiensis* (tafano). In alcune zone del Giappone la allergia a questo insetto è molto frequente nei pazienti (14,2%), e soprattutto nella stagione autunnale costituisce la principale causa allergenica indoor, rispetto alle usuali fonti degli acari e degli scarafaggi¹³.

Jeong et al., hanno anche studiato le IgE specifiche verso la tropomiosina ricombinante della *Periplaneta fuliginosa*, *Per f 7* in 30 pazienti adulti, evidenziando che le IgE specifiche contro *Per f 7* si ritrovano soltanto nel 26,9% dei pazienti, a riprova che altre proteine della *Periplaneta fuliginosa* potrebbero giocare un ruolo di maggiore allergenicità. Infatti, l'inibizione specifica del legame IgE, ottenuta con la tropomiosina ricombinante è del 37,7% rispetto al maggior dato dell'83,1% che si ottiene con l'estratto crudo di *Periplaneta fuliginosa*¹⁵.

La Tropomiosina derivata dal *Dermatophagoides farinae*, *Der f 10*, è stata inizialmente descritta come un allergene maggiore⁴³. Tuttavia, in seguito *Der p 10* da *Dermatophagoides pteronyssinus* è stata clonata, ed è stata riportata una frequenza legame del 5,6% di *Der p 10* con le IgE specifiche dei pazienti allergici agli acari⁶¹.

Come sappiamo, la cross-reattività tra organismi differenti è causata dalla presenza di epitopi IgE identici o simili. Sebbene ad oggi non ci sia un valore di cut-off universalmente accettato per la somiglianza di sequenze che indichi la potenziale cross-reattività, la famiglia della tropomiosina contiene una sequenza di "regioni" di epitopi che si sovrappone con gli epitopi conosciuti di IgE, a riprova che questo approccio può essere utilizzato per la determinazione di possibile allergenicità di nuove proteine⁶². La cross-reattività tra la tropomiosina del gambero e quella della *Periplaneta americana* è alla base della presenza di IgE specifiche di pazienti allergici ai due allergeni, rispettivamente *Pen a 1* e *Per a 7*. Infatti, a riprova che esistono tra le due tropomiosine ampi segmenti di epitopi in comune, Asturias et al. hanno dimostrato in esperimenti di ELISA-inibizione, che gli allergeni *Per a 7* producono una inibizione del 50% delle IgE specifiche del topo leganti la tropomiosina del gambero, rispetto alla inibizione del 96% che si ottiene quando si utilizza la tropomiosina (*Pen a 1*) del gambero¹⁷.

Acevedo et al. hanno identificato che la tropomiosina (*Der p 10*) è il principale allergene cross-reattivo tra i due acari maggiormente allergenici nella zona dei tropici (*Blomia tropicalis* e *Dermatophagoides pteronyssinus*) e l'ascaride (*Ascaride lumbricoides*) appartenente all'ordine dei Nematodi (classe *Secernetea* dell'ordine dei Nematodi). Per dimostrare le cross-reattività sulla base della omologie delle tropomiosine, gli Autori hanno utilizzato il siero di soggetti allergici agli acari, che vivono in zone dove è perenne sia l'esposizione agli acari che l'infezione da questi parassiti. La tropomiosina dell'acaro (*Der f 10*) è in grado di inibire l'85% delle IgE leganti la tropomiosina dell'Ascaride (*rBlot t 10*), identificata come un allergene di 40 kDa di PM. La *Der f 10* è anche la causa della cross-reattività tra la *Blomia tropicalis* (classe Aracnidi dell'ordine dei *Sarcoptiformes*) (*Blo t 10*) e l'*Ascaride lumbricoides* (classe *Secernetea* dell'ordine dei Nematodi), in quanto la prima tropomiosina possiede una sequenza aminoacidica con il 73% di identità con la seconda. La presenza di cross-reattività tra frazioni omologhe di estratti è dimostrabile con tecniche di immunoblotting, ad esempio quelle nelle quali il grado di inibizione del legame delle IgE specifiche dei pazienti verso la tropomiosina dell'ascaride (*rBlo t 10*) è del 71% con la *Blomia tropicalis*, del 72% con *Dermatophagoides pteronyssinus*. La cross-reattività tra aracnidi e nematodi è molto interessante soprattutto quando la si contestualizza in alcuni particolari habitat tropicali, dove i soggetti sono contemporaneamente esposti ad acari e

parassiti. Ciò determina che questi allergeni cross-reattivi, in particolare la tropomiosina, potrebbero produrre un effetto *booster* permanente con la promozione della sintesi di elevati livelli di IgE specifiche, influenzando pesantemente l'esordio di allergia e/o l'evoluzione clinica dell'asma²⁶.

L'utilizzo della biologia molecolare della diagnosi

Le attuali conoscenze sulle molecole allergeniche hanno consentito la sintesi di allergeni ricombinanti e la disponibilità in commercio di test diagnostici volti alla ricerca delle IgE specifiche verso alcune singole molecole allergeniche. La frequenza di sensibilizzazione alla tropomiosina è valutabile in molti casi mediante la determinazione del profilo molecolare delle IgE specifiche⁶³. In questo modo è possibile discriminare se la risposta allergica è diretta verso le molecole allergeniche "genuine", specie specifiche, che indicano una sensibilizzazione primaria o verso molecole come le Tropomiosine, pan-allergeni responsabili di cross-reattività. In realtà le Tropomiosine sono molecole allergeniche primarie per i crostacei e i molluschi, mentre sono considerate allergeni minori per l'acaro della polvere, per gli acari minori, per la *Blattella* e per l'*Anisakis*.

Con la biologia molecolare è oggi possibile la ricerca delle singole IgE specifiche solo nei confronti del *rDer p 10* (d205 Phadia) e del *rPen a 1* (f 351 Phadia), mentre con il Test ISAC 103 è possibile ricercare contemporaneamente le IgE specifiche nei confronti di 6 tropomiosine, la *rAni s 3* dell'*Anisakis simplex*, la *nBla g 7* della BG, la *rDer p 10* dell'acaro della polvere, e tre tropomiosine dei gamberetti la *ePen a 1*, la *nPen i 1*, la *nPen m 1* rispettivamente del *Penaeus aztecus*, del *Penaeus indicus* e del *Penaeus monodon*.

Pur considerando la complessità delle problematiche connesse alla cross-reattività e alla diagnostica tradizionale dell'allergia alle tropomiosine, il ricorso all'indagine molecolare è indicato eventualmente in seconda battuta, ovvero dopo la esecuzione degli SPT, (indagine più semplice, più sensibile, meno invasiva e meno costosa) o della ricerca delle IgE specifiche per i singoli alimenti o inalanti (indagine più sensibile e meno costosa). Infatti, anche se la tropomiosina rappresenta un allergene maggiore nei crostacei o nei molluschi, la sua negatività non permette di escludere una allergia, dato che una percentuale più o meno ampia di allergia ai crostacei o ai molluschi nelle varie casistiche non è dovuta alla tropomiosina. Inoltre ad oggi è possibile dosare le IgE specifiche solo per alcune tropomiosine e la cross-reattività tra le diverse

Il ricorso all'indagine molecolare è indicato eventualmente in seconda battuta, ovvero dopo la esecuzione degli SPT, o della ricerca delle IgE specifiche per i singoli alimenti o inalanti.

tropomiosine dei gamberetti o dei molluschi è elevata ma non è assoluta. In questi casi l'indagine molecolare potrà essere eseguita successivamente, a completamento dell'iter diagnostico, per dimostrare la allergia alla tropomiosina, informazione comunque utile per le possibili cross-reattività, in specie se il bambino risulta anche allergico all'acaro della polvere.

Allo stesso modo, l'indagine molecolare per evidenziare un'allergia alla tropomiosina *in un bambino sospetto allergico all'acaro della polvere* è indicata solo in un secondo tempo, ad esempio nel caso si voglia sottoporlo ad una immunoterapia specifica per l'acaro. In questi casi, fermo restando che il criterio guida per la prescrizione della immunoterapia rimane sempre la clinica, è necessario accertarsi che la sensibilizzazione allergica verso l'acaro sia dovuta essenzialmente ad una sensibilizzazione verso gli allergeni maggiori dell'acaro (il *Der p 1* o il *Der p 2*) e non verso la tropomiosina (*Der p 10*). I risultati di questa valutazione preliminare possono fornire ulteriori chiarimenti sul ruolo della Tropomiosina nel determinare sintomi respiratori in soggetti allergici all'acaro della polvere. Nel caso si riscontri la positività per il *Der p 10* sarà necessario ricercare nella anamnesi una possibile allergia, magari subclinica, verso i crostacei e i molluschi, ed eventualmente testare anche la presenza di una loro sensibilizzazione mediante prove *in vivo* ed *in vitro*.

Nel caso si sospetti una allergia alla Blattella o una Anisakiosi, sarà indicato integrare gli SPT o la ricerca delle IgE specifiche con la determinazione molecolare, quando coesista una allergia all'acaro della polvere o ai crostacei, per verificare se la sensibilizzazione sia diretta verso gli allergeni maggiori dell'*Anisakis simplex* (*Ani S 1* e *Ani S 7*) e della BG (*Bla g 1* e *Bla g 2*) o risulti come conseguenza di una cross-reattività delle rispettive tropomiosine (*Ani S 3* e *Bla g 7*).

Bibliografia

- ¹ Il settore ittico in Italia. Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare-ISMEA. Report 2010.
- ² ISTAT 2006. <http://www.istat.it> (Istituto Nazionale di Statistica).
- ³ Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare, EFSA, 11 agosto 2010.
- ⁴ Boyce JA, Assa'ad A, Burks WA, et al. *Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy in the United States: Report of the NIAID-Sponsored Expert Panel*. J Allergy Clin Immunol 2010;126(Suppl 1):S1-58.
- ⁵ Panzani RC, Ariano R. *Arthropods and invertebrates allergy (with the exclusion of mites): the concept of panallergy*. Allergy 2001;56:1-22.
- ⁶ Hoffman DR, Day ED, Miller JS. *The major heat-stable allergen of shrimp*. Ann Allergy 1981;47:17-22.
- ⁷ Daul CB, Slattery M, Reese G, et al. *Identification of the major brown shrimp (Penaeus aztecus) allergen as the muscle protein tropomyosin*. Int Arch Allergy Immunol 1994;105:49-55.
- ⁸ Reese G, Ayuso R, Lehrer SB. *Tropomyosin: an invertebrate pan-allergen*. Int Arch Allergy Immunol 1999;119:247-58.
- ⁹ Lehrer SB, Ayuso R, Reese G. *Current understanding of food allergens*. Ann NY Acad Sci 2002;964:69-85.
- ¹⁰ Reese G, Schick Tanz S, Lauer I, et al. *Structural, immunological and functional properties of natural recombinant Pen a 1, the major allergen of Brown Shrimp, Penaeus aztecus*. Clin Exp Allergy 2006;36:517-24.
- ¹¹ Wild LG, Lehrer SB. *Fish and shellfish allergy*. Curr Allergy Asthma Rep 2005;5:74-9.
- ¹² Lopata AL, O'Hehir RE, Lehrer SB. *Shellfish allergy*. Clin Exp Allergy 2010;40:850-8.
- ¹³ Jeong KY, Yum H-Y, Lee I-Y, et al. *Molecular cloning and characterization of Tropomyosin, a major allergen of Chironomus kiiensis, a dominant species of nonbiting midges in Korea*. Clin Diagn Lab Immunol 2004;11:320-4.
- ¹⁴ Delezoide AL, Pavlovitch JH, Nato F, et al. *Expression of alpha and beta tropomyosin subunits during early myogenesis in somites and limb buds of chick embryos*. Cell Tissue Res 1989;256:631-4.
- ¹⁵ Jeong KY, Hwang H, Lee J, et al. *Allergenic characterization of tropomyosin from the Dusky Brown Cockroach, Periplaneta fuliginosa*. Clin Diagn Lab Immunol 2004;11:680-5.
- ¹⁶ King TP, Hoffman D, Lowenstein H, et al. *Allergen nomenclature*. J Allergy Clin Immunol 1995;96:5.

- ¹⁷ Asturias, JA, Gomez-Bayon N, Arilla MC, et al. *Molecular characterization of American cockroach tropomyosin (Periplaneta americana allergen 7), across-reactive allergen*. J Immunol 1999;162:4342-8.
- ¹⁸ Jeong KY, Lee J, Lee IY, et al. *Allergenicity of recombinant Bla g 7, German cockroach tropomyosin*. Allergy 2003;58:1059-63.
- ¹⁹ Leung PS, Chow WK, Duffey S, et al. *IgE reactivity against a cross-reactive allergen in crustacea and mollusca: evidence for tropomyosin as the common allergen*. J Allergy Clin Immunol 1996;98:954-61.
- ²⁰ Torres Borrego J, Martinez Cuevas JF, Tejero Garcia J. *Cross reactivity between fish and shellfish*. Allergol Immunopathol 2003;31:146-51.
- ²¹ Sicherer SH, Munoz-Furlong A, Sampson HA. *Prevalence of seafood allergy in the United States determined by a random telephone survey*. J Allergy Clin Immunol 2004;114:159-65.
- ²² Reese G, Ayuso R, Leong-Kee S, et al. *Epitope mapping and mutational substitution analysis of the major shrimp allergen Pen a 1 (tropomyosin)*. J Allergy Clin Immunol 2002;109(Suppl 1):S307:943.
- ²³ Jirapongsananuruk O, Sripramong C, Pacharn P, et al. *Specific allergy to Penaeus monodon (seawater shrimp) or Macrobrachium rosenbergii (freshwater shrimp) in shrimp-allergic children*. Clin Exp Allergy 2008;38:1038-47.
- ²⁴ Pascual C, Muñoz-Pereira M, Martín Esteban M. *Cross-reactivity between IgE-binding proteins from Anisakis, German cockroach, and chironomids*. Allergy 1997;52:514-20.
- ²⁵ Johansson E, Apponno M, Lundberg M, et al. *Allergenic cross-reactivity between the nematode Anisakis simplex and the dust mites Acarus siro, Lepidoglyphus destructor, Tyrophagus putrescentiae, and Dermatophagoides pteronyssinus*. Allergy 2001;56:660-6.
- ²⁶ Acevedo N, Sanchez J, Erler A, et al. *IgE cross-reactivity between Ascaris and domestic mite allergens: the role of tropomyosin and the nematode polyprotein ABA-1*. Allergy 2009;64:1635-43.
- ²⁷ Flohr C, Quinnell RJ, Britton J. *Do helminth parasites protect against atopy and allergic disease?* Clin Exp Allergy 2009;39:20-32.
- ²⁸ van Ree R, Antonicelli L, Akkerdaas JH, et al. *Possible induction of food allergy during mite immunotherapy*. Allergy 1996;51:108-13.
- ²⁹ Pajno GB, La Grutta S, Barberio G, et al. *Harmful effect of immunotherapy in children with combined snail and mite allergy*. J Allergy Clin Immunol 2002;109:627-9.
- ³⁰ Asero R. *Lack of de novo sensitization to tropomyosin in a group of mite-allergic patients treated by house dust mite-specific immunotherapy*. Int Arch Allergy Immunol 2005;137:62-5.
- ³¹ Rossi RE, Monasterolo G, Incorvaia C, et al. *Lack of neo-sensitization to Pen a 1 in patients treated with mite sublingual immunotherapy*. Clin Mol Allergy 2010;8:1-4.
- ³² Fernandez J, Reshef A, Patton L, et al. *Immunoglobulin E antibody reactivity to the major shrimp allergen, tropomyosin, in unexposed Orthodox Jews*. Clin Exp Allergy 2003;33:956-61.
- ³³ Ebo DB, Bridts CH, Hagendorens MM, et al. *Scampi allergy: from fancy name-giving to correct diagnosis*. J Invest Allergol Clin Immunol 2008;18:223-0.
- ³⁴ 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 M.W. allergens*. Int Arch Allergy Immunol (in press).
- ³⁵ Daul CB, Morgan JE, Hughes J, et al. *Provocation-challenge studies in shrimp-sensitive individuals*. J Allergy Clin Immunol 1988;81:1180-6.
- ³⁶ James JM, Crespo JF. *Allergic reactions to foods by inhalation*. Curr Allergy Asthma Rep 2007;7:167-74.
- ³⁷ Kandyil SM, Davis CM. *Shellfish allergy*. Pediatr Allergy Immunol 2009;20:408-14.
- ³⁸ Lemiere C, Desjardins A, Lehrer S, et al. *Occupational asthma to lobster and shrimp*. Allergy 1996;51:272-3.
- ³⁹ Rosado A, Tejedor MA, Benito C, et al. *Occupational asthma caused by octopus particles*. Allergy 2009;64:1101-2.
- ⁴⁰ Crespo JF, Pascal C, Dominguez C, et al. *Allergic reactions associated with airborne fish particles in IgE-mediated fish hypersensitive patients*. Allergy 1995;50:257-61.
- ⁴¹ Hon KL, Leung TF, Lam MC, et al. *Eczema exacerbation and food atopy beyond infancy: how should we advise Chinese parents about dietary history, eczema severity, and skin prick testing?* Adv Ther 2007;24:223-30.
- ⁴² Trombone AP, Tobias KR, Ferriani VP, et al. *Use of a chimeric ELISA to investigate immunoglobulin E antibody responses to Der p 1 and Der p 2 in mite-allergic patients with asthma, wheezing and/or rhinitis*. Clin Exp Allergy 2002;32:1323-8.
- ⁴³ Aki T, Kodama T, Fujikawa A, et al. *Immunochemical characterisation of recombinant and native tropomyosins as a new allergen from the house dust mite, Dermatophagoides farinae*. J Allergy Clin Immunol 1995;96:74-83.
- ⁴⁴ Westritschnig K, Sibanda E, Thomas W, et al. *Analysis of the allergen profile in Central Africa*. Clin Exp Allergy 2003;3:22-7.

- 45 Corominas M, Leonart R, Bonete J, et al. *Role of tropomyosin in D. pteronyssinus allergic patients.* J Allergy Clin Immunol 2009;123:S227.
- 46 Aldunate MT, Echechipía S, Gómez B, et al. *Qui-ronómidos y otras causas de alergia a comida de peces.* Alergol Immunol Clin 1999;14:140-5.
- 47 Rosenstreich DL, Eggleston P, Kattan M, et al. *The role of cockroach allergy and exposure to cockroach al-lergen in causing morbidity among inner-city children with asthma.* N Engl J Med 1997;336:1356-63.
- 48 Matsui EC, Wood RA, Rand C, et al. *Cockroach allergen exposure and sensitization in suburban middle-class children with asthma.* J Allergy Clin Im-munol 2003;112:87-92.
- 49 Riario-Sforza GG, Della Torre F, Antonicelli L, et al. *Sensitization to cockroach in Italy: a multicentric study.* Allergy Asthma Proc 1997;18:23-8.
- 50 Lombardi C, Penagos M, Senna G, et al. *The Clini-cal characteristics of respiratory allergy in immi-grants in Northern Italy.* Int Arch Allergy Immunol 2008;147:231-4.
- 51 Peruzzi M, De Luca M, Novembre E, et al. *Incidence of cockroach allergy in atopic Italian children.* Ann Allergy Asthma Immunol 1999;83:167-71.
- 52 La Grutta S, Cibella F, Passalacqua G, et al. *Associa-tion of Blattella germanica sensitization with atopic diseases in pediatric allergic patients.* Pediatr Allergy Immunol 2011 Jan 24 [Epub ahead of print].
- 53 Diette GB, McCormack MC, Hansel NN. *Environ-mental Issues in managing asthma.* Respir Care 2008;53:602-17.
- 54 Daschner A, Pascual CY. *Anisakis simplex: sensiti-zation and clinical allergy.* Curr Opin Allergy Clin Immunol 2005;5:281-5.
- 55 Anadon AM, Romaris F, Escalante M, et al. *The Anisakis simplex Ani s 7 major allergen as an indi-cator of true Anisakis infections.* Clin Exp Immunol 2009;156:471-8.
- 56 Valls A, Pascual CY, Martin Esteban M. *Anisakis y ani-sakiosis.* Alergol et Immunopathol 2003;31:348-55.
- 57 Audicana MT, Kennedy MW. *Anisakis simplex: from obscure infectious worm to inducer of immune hyper-sensitivity.* Clin Microbiol Rev 2008;21:360-79.
- 58 Bernardini R, Mistrello G, Novembre E, et al. *Cross-reactivity between IgE-binding proteins from Anisakis simplex and Dermatophagoides pteronyssinus.* Int J Immunopathol Pharmacol 2005;18:671-5.
- 59 Bessot JC, Metz-Favre C2, Rame JM, et al. *Tropomy-osin or not tropomyosin, what is the relevant allergen in house dust mite and snail cross allergies?* Eur Ann Allergy Clin Immunol 2010;42:3-10.
- 60 Eiró AR, Zavala B, Escoda JM. *Mantis Shrimp Allergy.* J Investig Allergol Clin Immunol 2006;16:394-6.
- 61 Asturias JA, Arilla MC, Gomez-Bayon N, et al. *Se-quencing and high level expression in Escherichia coli of the tropomyosin allergen (Der p 10) from Der-matophagoides pteronyssinus.* Biochim Biophys Acta 1998;1397:27-30.
- 62 Ivanciuc O, Garcia T, Torres M, et al. *Characteristic motifs for families of allergenic proteins.* Mol Immu-nol 2009;46:559-68.
- 63 Meglio P, Plantamura M, Arabito E, et al. *Does SIT to Der p protect from snail sensitization?* Allergy 2002;57:868-9.
- 64 Thomas Pittner G, Vrtala S, Thomas WR, et al. *Com-ponent-resolved diagnosis of house-dust mite allergy with purified natural and recombinant mite allergens.* Clin Exp Allergy, 2004;34:597-603.