



Ospedale Pediatrico Bambino Gesù
I.R.C.C.S. - Roma

***LE NOVITA' CHE CONTANO
NELLA DIAGNOSI DI
ALLERGIA NELL'INFANZIA***

*Giovanni Cavagni,
Simona Donnanno*

UOC Allergologia

Dipartimento Medicina Pediatrica
Coordinatore: Alberto G. Ugazio

cavagni@opbg.net





CASO CLINICO 1

Martina 5/12



Allattata esclusivamente al seno fino al giorno precedente. Per sospetta ipogalattia materna, un pasto di latte materno è stato **sostituito con latte formulato.**

Il pasto è stato **lento e difficoltoso** e la piccola non ha mostrato di gradire il latte con il biberon.





CASO CLINICO 1 (II)

A distanza di dieci minuti dalla fine del pasto la bambina ha presentato:

- **vomito** “a getto”;
- **iperemia congiuntivale** e lacrimazione;
- **starnutazione** e rinorrea mucosa;
- **eritema** al volto seguito da **angioedema** palpebrale e labiale ed **eruzione orticarioide** diffusa;
- **tosse abbaiante** e **dispnea**;
- **sonnolenza** ed **iporeattività**.





CASO CLINICO 1 (III)

Condotta d'urgenza **in ospedale** Martina è stata sottoposta a trattamento con **adrenalina, antiH1, cortisone, fisiologica** ed **ossigeno** ed ha recuperato le condizioni generali.

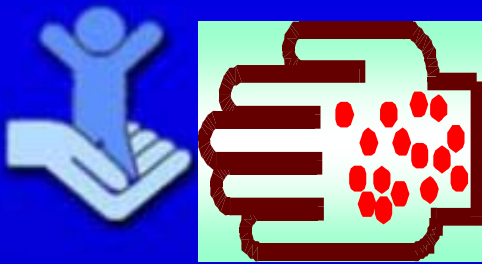
SPT eseguito a distanza di 15 giorni:

caseina + + + + e **betalattoglobulina** + + -



CASO CLINICO 2

Lorenzo 11/12



Dall'età di 5/12 **eczema atopico** al volto, arti inferiori e superiori con molto prurito e sonno disturbato.

Dall'età di 8/12, **dopo introduzione dell'uovo**, netta accentuazione dell'eruzione e dell'irrequietezza notturna; un episodio di orticaria a distanza di mezz'ora dal pasto.

SPT: **albume** + + +; **tuorlo** + + -

Dopo **dieta per 15 giorni**: netta attenuazione dell'eruzione cutanea (miglior controllo con terapia topica) e della irrequietezza. **Recidiva dopo assunzione "involontaria" di Pavesini** da parte del bambino





CASO CLINICO 3

Lara 2 anni e 2 mesi



All'età di 4/12 alla **sospensione** per alcuni giorni **dell'allattamento al seno** dopo 2 gg formula a base di latte vaccino **subito dopo il pasto, vomito incoercibile** con diagnosi di shock anafilattico alle proteine del LV ; **a dieta senza latte e uovo.**

A 6 /12 si suggerisce **latte di capra** e alla **prima assunzione (dopo poche gocce)** **vomiti ripetuti, starnuti, tosse e sibili**

SPT: **Latte vaccino + + + + ; uovo neg**





CASO CLINICO 4

Ivan 13 mesi



All'età di 4/12 **allattamento misto**

Dopo un'infezione acuta febbrile, perdura reperto catarrale che preoccupa la mamma si sostituisce la formula a base di PLV con **latte di riso** (che continua sino alla visita) e **la mamma viene messa a dieta senza PLV**

A 6/12 svezzamento con graduale introduzione dei comuni cibi per il lattante ad eccezione **di uovo e pesce**

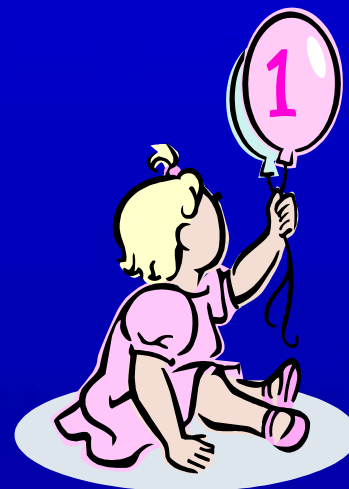
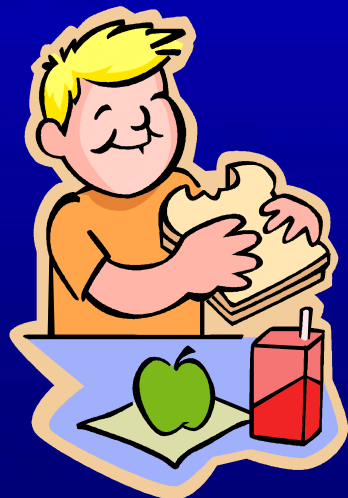
All'età di 13mesi, **introduzione dell'uovo**, dopo 7gg febbre, rinite e tosse catarrale; **viene nuovamente escluso l'uovo dalla dieta.**

SPT: **albume neg; tuorlo neg; latte vaccino neg**





Cosa consigliare ai genitori di Martina, Lorenzo, Lara e Ivan?





Gaia 4 anni di età

- nel primo anno di vita ha sofferto di **dermatite atopica**, **scarso accrescimento** e **diarrea** apparentemente risoltesi con dieta priva di latte e uova e derivati (in quella occasione IgE specifiche negative, prick positivo solo per LV).
- **sintomi orali** all'assunzione di nocciola e banana.
- **reazioni cutanee immediate** se la bacia il papà con le labbra che erano state a contatto con latte o se si avvicina alla pelle il cugino che ha mangiato il “fruttolo”





Prove cutanee allergometriche di Gaia

β lattoglobulina e caseina +++++,

albume e tuorlo +++,

soia +++,

arachide +,

nocciola tostata ++,

banana +,

graminacee +++++, cynodon +++++, olivo +++,
cipresso +++.





2V







LV

NOC

BAN

A.100

A.100

A.1000

A.1000











Test di scatenamento al latte vaccino a Gaia

Nel marzo del 2005 con 125 ml di LV ha avuto sintomi orticaria (qualche ponfo all'addome), rinite pruriginosa, fischi espiratori;

Nel marzo del 2006 sotto il nostro controllo è stata dimessa assumendo tutti i giorni 20 ml di latte senza disturbi e ogni 15 gg tornerà in ospedale per aumentare la dose sino alla dose massima tollerata.



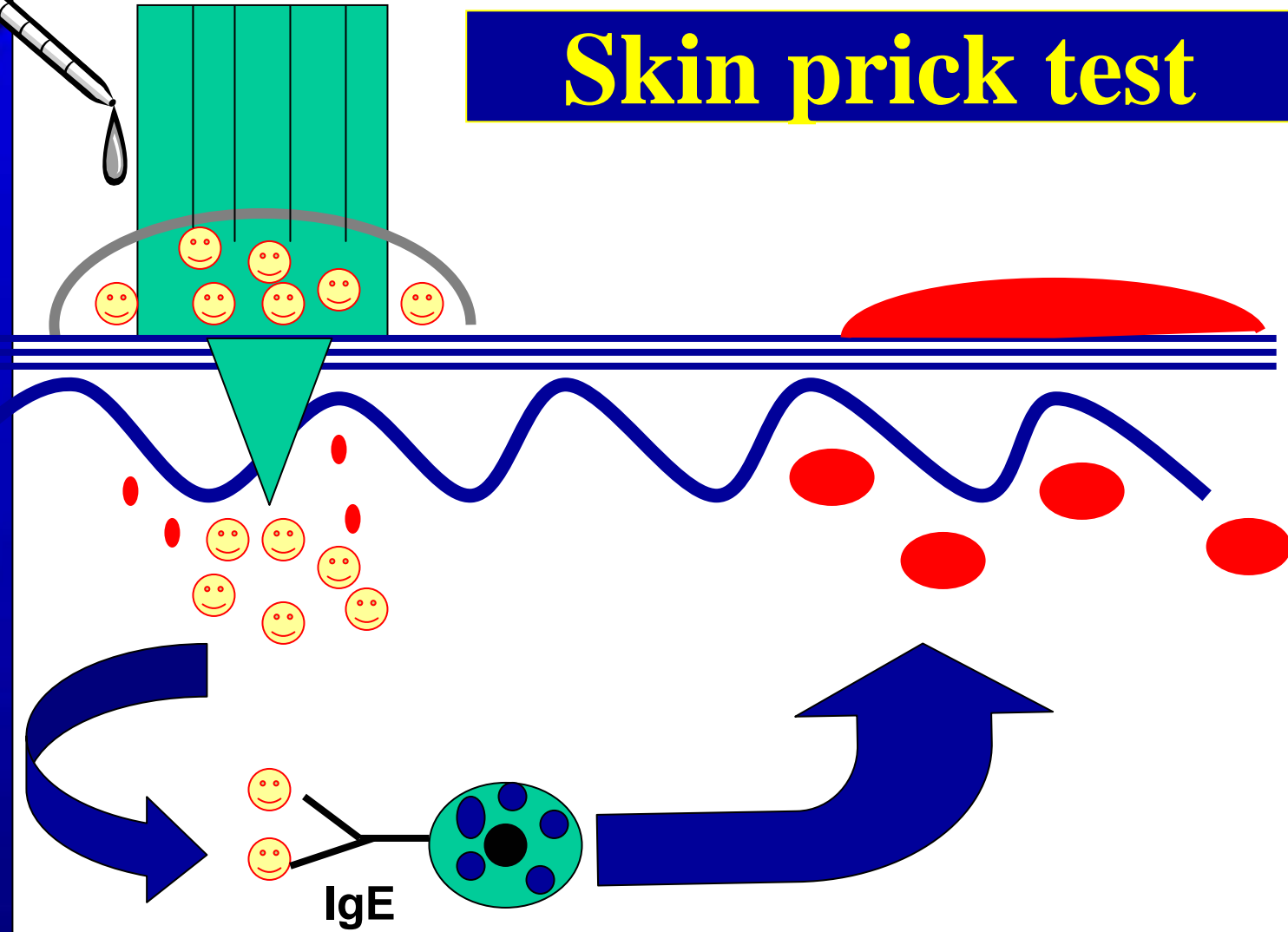


Diagnosi allergologica

- Anamnesi accurata
- Esame obiettivo
- Test in vivo
- Test in vitro
- Test di provocazione



Skin prick test







SPT: VANTAGGI

1. Elevato numero di allergeni per singola seduta
2. Risposta in tempo reale
3. Poco invasivo
4. Poco doloroso
5. Poco costoso





- **Attendibilissimo** dopo i **3 mesi di vita**
- **Diametro pomfo** leggermente inferiore prima dei 24 mesi (= attenzione nella interpretazione del *grado* di sensibilizzazione nel lattante)





SPT ed inibizione da farmaci

DURATA INIBIZIONE NOTA PER:

- Anti H₁
- Steroidi topici, generale
- β_2 short acting
- Teofillina

ANCORA DA DEFINIRE PER:

- Antileucotrienici
- Salmeterolo
- Tacrolimus e pimecrolimus





Diagnosi allergologica

- Anamnesi accurata
- Esame obiettivo
- Test in vivo
- **Test in vitro**
- Test di provocazione





I prerequisiti per un dosaggio quantitativo

NCCLS Guidelines

- Eccesso di allergene



- Precisione
- Parallelismo
- Calibrazione diretta verso WHO





PRINCIPALI SISTEMI IMMUNOENZIMATICI DISPONIBILI IN ITALIA PER LA DETERMINAZIONE DELLE IgE SPECIFICHE

Metodiche basate sulla marcatura anti-IgE

Metodica	Allergeni a fase solida	Anticorpi anti-IgE marcati	Substrato	Lettura	Standardizzazione
ENEASYS TEM	Adesi a una fase solida in PVC (ACE)	Policlonali, coniugati con ureasi	Urea	Fotometrica	Curve specifiche per famiglie di allergeni
UNICAP	Adesi ad un derivato di cellulosa attivato con bromuro di cianogeno	Mix di policlonali e monoclonali coniugati con b-galattosidasi	Metil-umbelliferil-galattoside	Fluorimetrica	IgE totali (WHO 75/502)
FAST	Adesi a micropiastre	Monoclonali, coniugati con fosfatasi alcalina	Metil-umbelliferil-fosfato	Fluorimetrica	IgE totali (WHO 75/502)
HI-TEC	In fase solida, predispensati in tubi	Fosfatasi alcalina	Para-nitrofenilfosfato	Fotometrica	IgE totali (WHO 75/502)
AIaSTAT	In fase liquida	Perossidasi	Tretametilbenzidina	Fotometrica	IgE totali (WHO 75/502)
CLAS	In fase liquida	Perossidasi	Tretametilbenzidina	Fotometrica	IgE totali (WHO 75/502)
Magic Lite SQ	Adesi a particelle paramagnetiche	Monoclonali, coniugati con estere acridinio		Luminometrica	Curva di G6
ACCESS	In fase liquida, adesi a particelle paramagnetiche	Legati a fosfatasi alcalina	Dioxetano	Luminometrica	IgE totali (WHO 75/502)
MATRIX	Pannelli prefissati di allergeni	Coniugati con fosfatasi alcalina	Bromo-cloro-indolil-fosfato	Fotometrica	Curva per ciascun allergene

Metodiche basate sulla marcatura dell'allergene

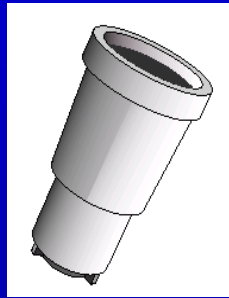
Metodica	Anti-IgE e fase solida	Allergeni marcati	Substrato	Lettura	Standardizzazione
Immulite	Tubi con biglie coattate con anti-IgE	In fase liquida, coniugati con fosfatasi alcalina	Adamantil-dioxetano fosfato	Luminometrica	
ALLERTECH	Micropozzetti coattati con anti-IgE	Allergeni in fase liquida biotinilati/streptavidina-perossidasi	Tetrametilbenzidina	Fotometrica	IgE totali (WHO 75/502)
CARLA	Micropozzetti coattati con anti-IgE	Allergeni in fase liquida biotinilati/streptavidina-perossidasi	Tetrametilbenzidina	Fotometrica	IgE totali (WHO 75/502)
REALTEST	Micropozzetti coattati con anti-IgE	Allergeni in fase liquida biotinilati/streptavidina-perossidasi	Tetrametilbenzidina	Fotometrica	IgE totali (WHO 75/502)





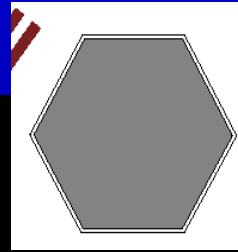
Tecnologia ImmunoCAP:

Pharmacia
CAP System



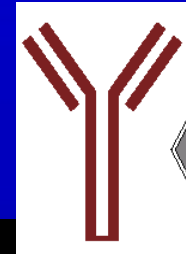
1989

Pharmacia
Phadebas
RAST



1974

Scoperta delle IgE



1967

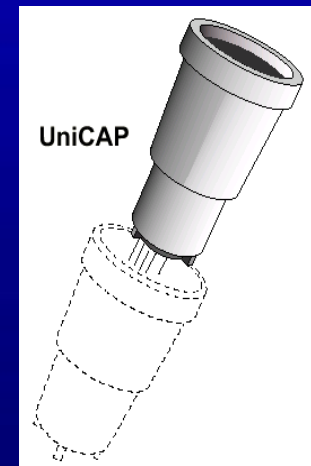
1990



Pharmacia
Quality CAP

1995

UniCAP
strumentazione
automatica



La Calibrazione WHO



Il CAP è stato il primo test allergologico che ha introdotto il concetto della **diretta taratura dei calibratori** contro il 2° IRP WHO 75/502 per IgE.





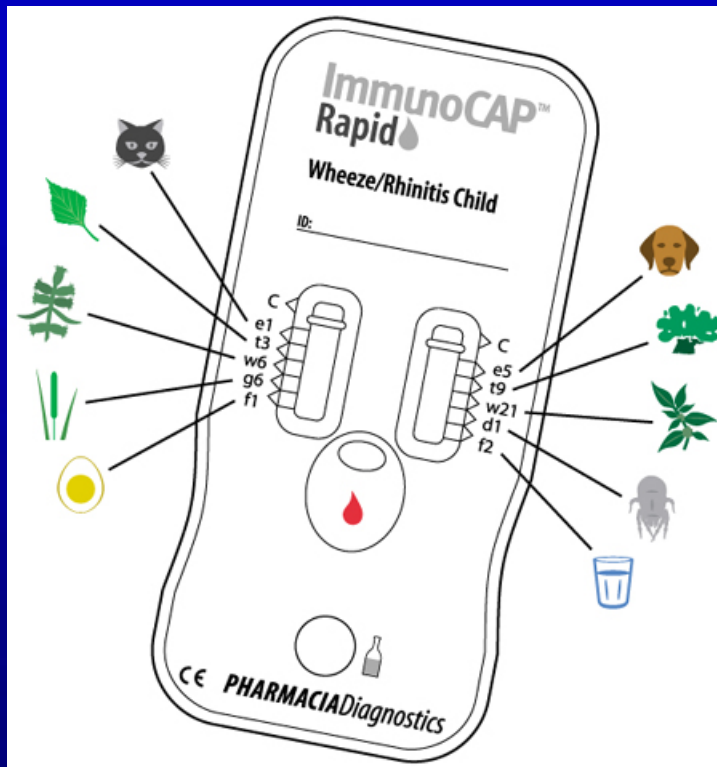
ImmunoCAP™ Rapid Wheeze/Rhinitis child

10 allergeni per profilo

~ 20 min test

Risultato qualitativo

110 µl sangue intero

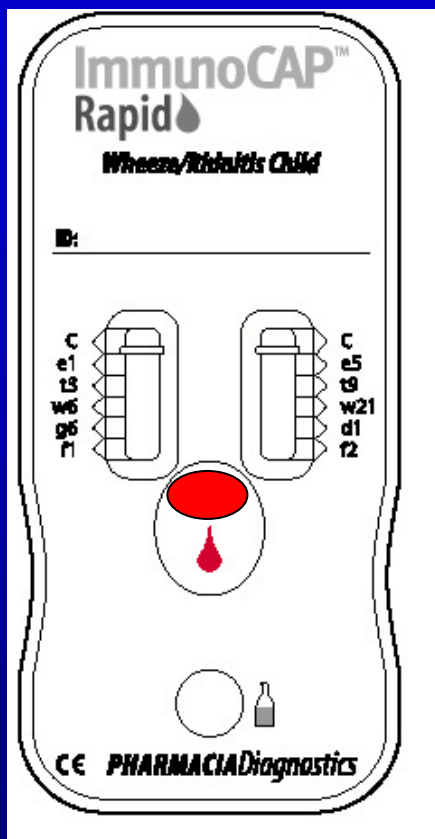


e1	Epitelio e forfora di gatto
t3	Betulla
w6	Assenzio
g6	Coda di topo
f1	Albume
e5	Forfora di cane
t9	Olivo
w21	Parietaria
d1	Acaro
f2	Latte

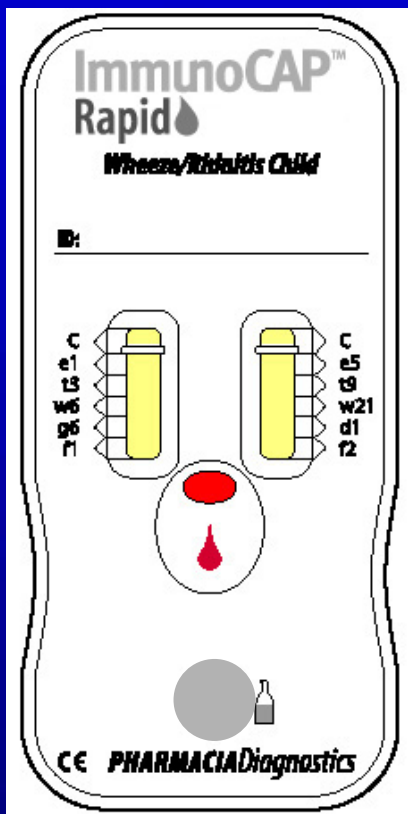




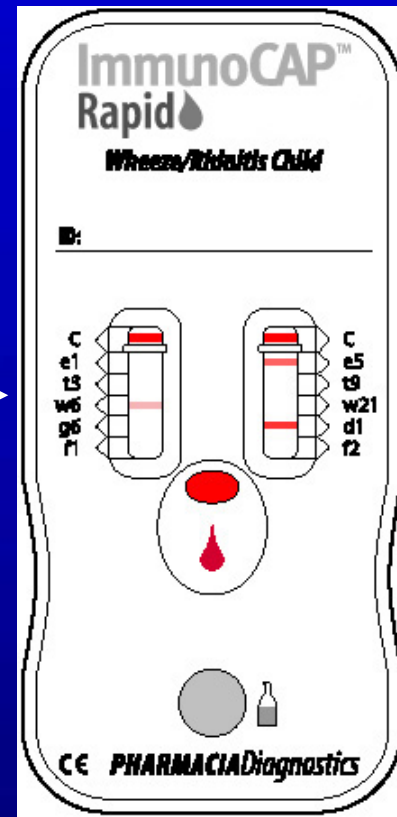
Test timing



5 min

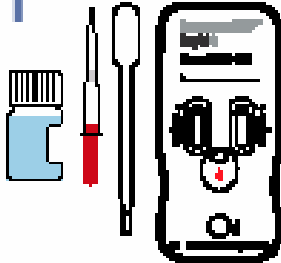

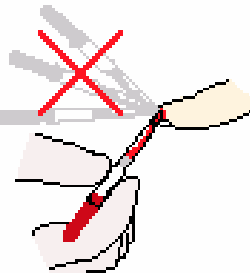

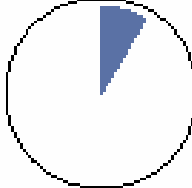
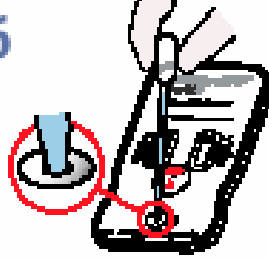
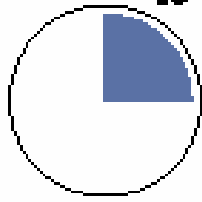
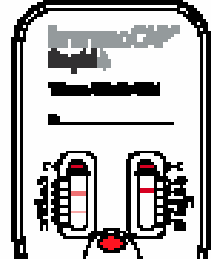



15 min





Test: procedura

<p>1</p>  <p>Reagents and material provided.</p>	<p>2</p>  <p>Patient's finger should be warm. Use a lancet which gives a good blood-flow. Pick the fingertip.</p>	<p>3</p>  <p>Collect blood in the supplied Blood Sampling Device by placing the device in a downward angle. Do not cover the hole in the end of the plunger.</p>
<p>4</p>  <p>Place the Assay Device flat on a tally. Add the blood to the sample well by gently pressing the plunger with a finger covering the hole in the plunger.</p>	<p>5</p>  <p>Set a timer to 5 minutes.</p>	<p>6</p>  <p>After 5 minutes: Add 0.5 ml of Developer Solution to the well marked with a bottle. Use the Pipette provided and place the tip down into the well during the addition.</p>
<p>7</p>  <p>Set a timer to 15 minutes. A pink-red colour will appear in both control zones (C) during this time.</p>	<p>8</p>  <p>Read the results after the 15 minutes. A positive test result is seen as a pink-red line next to the specific allergen code.</p>	<p>9 <i>Examples of positive test results</i></p>  <p>The colour representing a positive test result may differ in intensity from slightly pink to dark red.</p>





Trials clinici

Studio Multicentrico
Spagna/Svezia

Retrospettico

121 pazienti positivi x almeno 1
allergene

Manuscript submitted Jan 2006

Dr. G. Hedlin Karolinska University Hospital, Stockholm
Dr. G. Lilja Sachs' Children's Hospital Stockholm,
Dr. L. Nordvall University Children's Hospital, Uppsala
Dr. F. Toledan Hospital Clinico Universitario, Salamanca
Dr. A.N. Garcia Hospital La Fe-Materno Infantil,
Valencia

Studio Multicentrico
Italia

Prospettico

150 pazienti con sintomi respiratori

Ongoing study, preliminary data

Prof. A. Ugazio , G. Cavagni Ospedale Pediatrico
Bambino Gesù, Roma
Prof. A. Fiocchi Osp. Macedonio Melloni, Milano





Trial: Phadia

Obiettivo:

Valutazione delle performance cliniche del prodotto ImmunoCAP™

Rapid Wheeze/Rhinitis Child

Studio Multicentrico Italia

Ospedale Pediatrico
Bambino Gesù Roma
A. G. Ugazio , G. Cavagni

Ospedale Macedonio
Melloni Milano
A. Fiocchi





Obiettivo dello studio

- *Mostrare la performance clinica del test ImmunoCAP™ Rapid Wheeze/Rhinitis Child*

Investigatori / Medici:

Studio condotto da specialisti, pediatri allergologi

Pazienti:

150 Pazienti (0-18 anni) con sintomi di wheeze/asthma e/o rinite





Disegno del trial

Pazienti inclusi in accordo con
Criteri di Inclusione/Esclusione

Diagnosi del medico

1. Storia Clinica
2. Esame fisico
3. Risultato SPT

Diagnosi per paziente
Diagnosi per allergene

POSITIVO

NEGATIVO

INCERTO

Confronto con risultato test: ImmunoCAP Rapid



Diagnosi per paziente
Diagnosi per allergene

POSITIVO

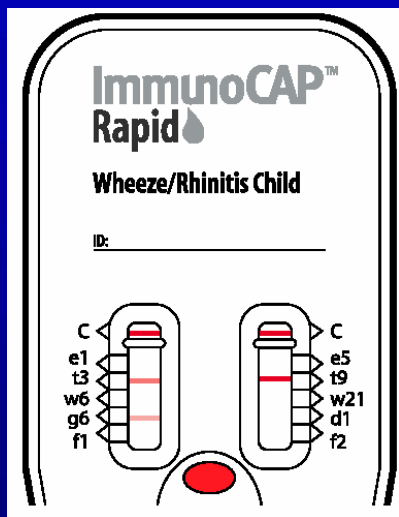
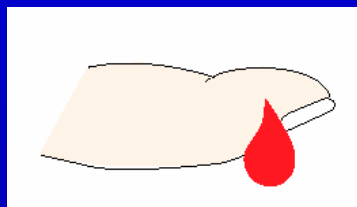
NEGATIVO





ImmunoCAP™ Rapid

Eseguito dalle infermiere

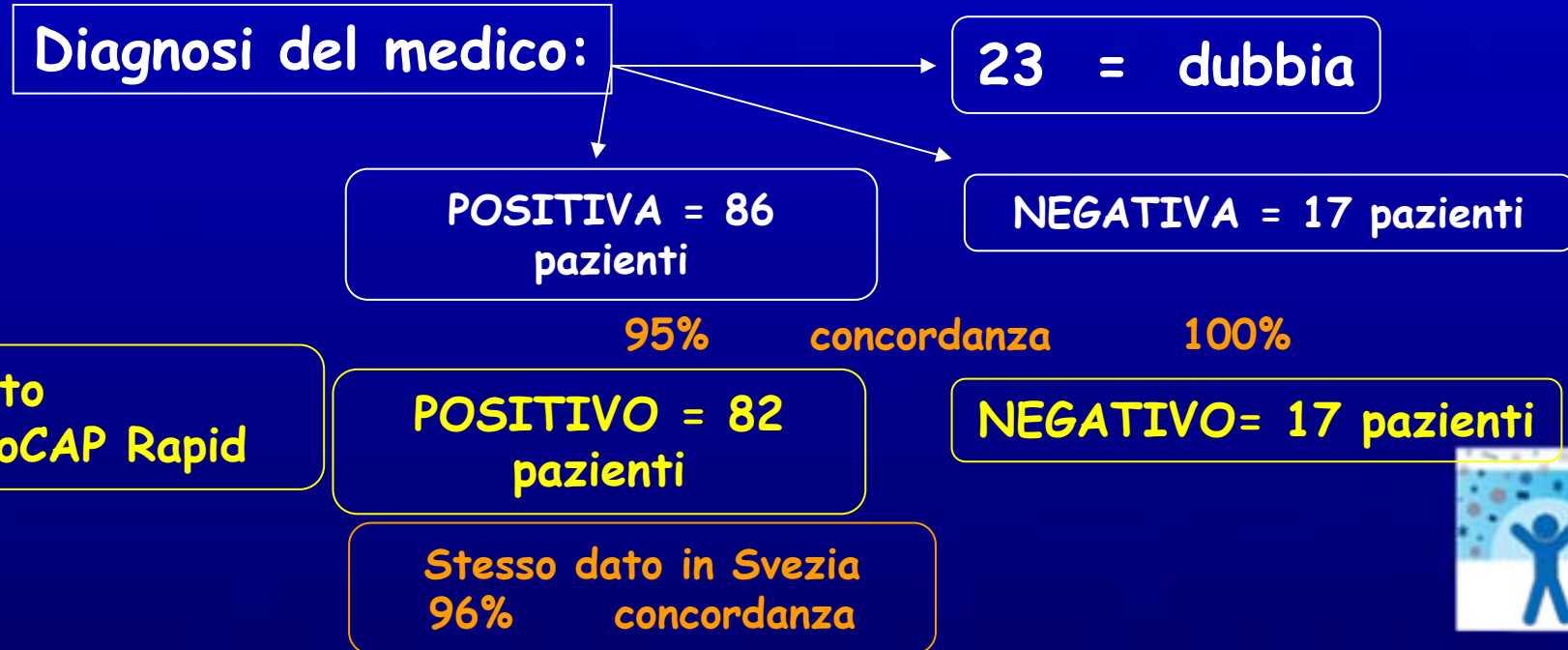
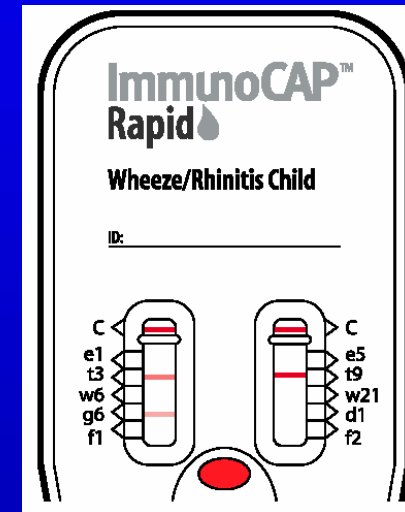




Risultati pazienti

*Dati preliminari, 10 Marzo 2006

Centro	N. Pazienti arruolati
Milano	41
Roma	85
Total	126





Risultati globali confronto tra allergeni Diagnosi Medica e Test Rapid

**Diagnosi del medico	#. all.	**Risultato ImmunoCAP Rapid	#. all.	% Concordanza/ Discordanza
Diagnosi positiva	149	Pos	114	77%
		Neg	35	(23%, da valutare)
Diagnosi negativa	993	Neg	926	93%
		Pos	67	(7%, da valutare)
Diagnosi dubbia	102	Pos	44	(43%, da valutare)
		Neg	58	(57%, da valutare)

**Preliminary data





Diagnosi del medico: per ogni allergene

*N. Allergeni positivi
sufficiente x analisi
statistica e per
confronto*

Allergeni	Positivi n all	Negativi n all.	Incerti n all.
e1 (Gatto)	7	104	14
t3 (Betulla)	4	112	8
w6 (Assenzio)	5	114	5
g6 (Coda di topo)	45	69	11
f1 (Uovo)	4	116	5
e5 (Cane)	4	95	24
t9 (Olivo)	11	102	12
w21 (Parietaria)	6	108	10
d1 (Acaro)	59	54	12
f2 (Latte)	4	119	1
Totale	149	993	102

**Preliminary data





% Concordanza tra diagnosi medico e Test ImmunoCAP rapid per ogni allergene

Allergeni	Concordanza
e1 (Gatto)	*92%
t3 (Betulla)	n.v
w6 (Assenzio)	n.v
g6 (Coda di topo)	*85%
f1 (Uovo)	n.v
e5 (Cane)	n.v.
t9 (Olivo)	*93%
w21 (Parietaria)	*94%
d1 (Acaro)	*93%
f2 (Latte)	n.v.
Totale	*91%

93%
91%
94%
90%
93%
74%
92%
96%
89%
95%
91%

**Concordanza
nel trial
retrospettivo
Spagna/Svezia**

*Preliminary data





Conclusioni

- Lo studio mostra un ottimo valore di **concordanza** tra il test ImmunoCAP™ Rapid Wheeze/Rhinitis Child e la Diagnosi Clinica del Medico
- Il test è **di facile esecuzione**, il che lo rende un buono **strumento per il primo livello di indagine**, **riproducibile e standardizzato**.
- Risultato **in 20 minuti**, può consentire anche al Pediatra di famiglia di stabilire interventi appropriati mentre il paziente è ancora in ambulatorio.
- I **risultati** ottenuti (definitivi studio Spagna-Svezia, preliminari per studio italiano) autorizzano **l'uso** del test ImmunoCAP™ Rapid Wheeze/Rhinitis Child **per diagnosi differenziale di allergia in bambini con sintomi respiratori**
- I dati preliminari dello studio italiano indicano una quasi completa **concordanza** con quelli dello studio Spagnolo/Svedese







Microarray: cos'è

è un **piccolo rettangolo di vetro** (simile ad un vetrino da microscopio) con una griglia di decine di migliaia di punti microscopici (**spot**) che sono invisibili ad occhio nudo.

Ogni **spot** è costituito di un frammento di DNA corrispondente ad un unico gene; questo frammento è denominato **sonda** (probe).

Quando l'RNA è estratto dalle cellule, è marcato con un colorante fluorescente ed è poi aggiunto al microarray in cui ogni gene si legherà alla propria sonda corrispondente.





Microarray

•una sinergia tra le nanotecnologie e la recente produzione delle molecole allergeniche più comuni attraverso la tecnologia del DNA ricombinante.

•Un panel di molecole allergeniche ricombinanti o purificate vengono incubate con il siero del paziente in esame permettendo l'identificazione a livello molecolare del profilo anticorpale IgE del paziente stesso.





Microarray

- Il test utilizza come supporto un normale vetrino portaoggetti opportunamente trattato al quale sono coniugate in modo ordinato ed altamente riproducibile singole molecole allergeniche.
- **Manualità ridotta**
- **Esecuzione** facile relativamente rapida (5 ore)





Microarray : lettura

richiede uno scanner a fluorescenza ed i risultati ottenuti, valutati con controlli interni ed esterni al test sono migliorabili in termini di riproducibilità ed accuratezza quando si utilizzi un preparatore automatico in luogo della procedura manuale.



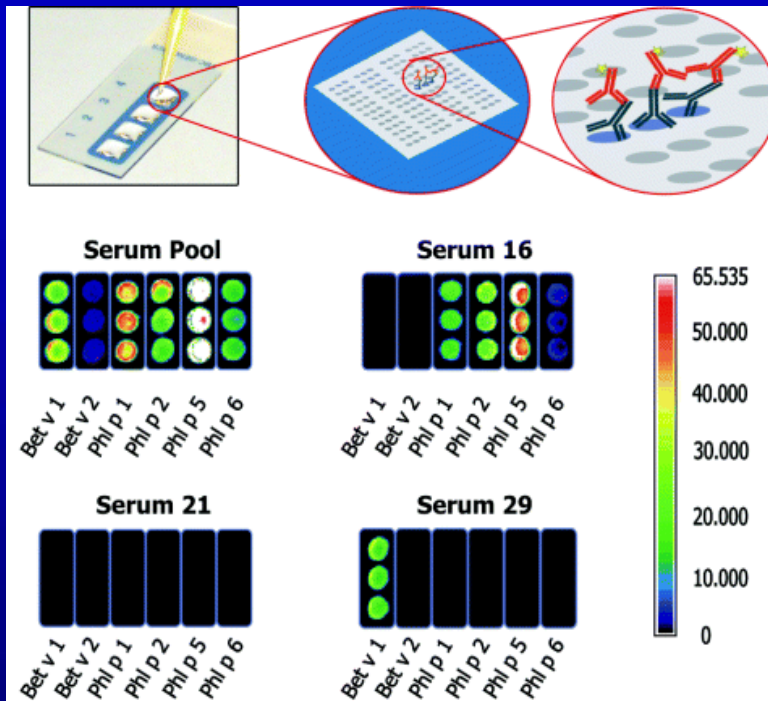


Esempio chip microarray allergologia





Allergen Microarrays: metodica



Stazione di ibridazione

Microarray scanner per vetrini





ISAC

Immuno Solid-phase Allergen Chip

ISAC® CRD 51

Bos d 4 (Alpha-Lactalbumin)

Bos d 5 (b-Lactoglobulin A)

Bos d 5 (b-Lactoglobulin B)

Bos d 7 (IgG bovine)

Bos d 8 (Casein)

Alpha-Casein

Beta-Casein

Kappa-Casein

Bos d Lactoferrin

Bos d 6 (Bovine Serum Albumin)

Source	Allergen Name	Latin Name	Component(s)
Grass Pollen	Timothy Grass	<i>Phleum pratense</i>	rPhl p 1
			rPhl p 2
			rPhl p 5
			rPhl p 6
			rPhl p 7
	Ragweed	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	rAmb a 1
	Mugwort	<i>Artemisia vulgaris</i>	rArt v 1
Tree Pollen	Hazel	<i>Coryllus avellana</i>	rCor a 1
	Alder	<i>Alnus glutinosa</i>	rAln g 1
	Birch	<i>Betula verrucosa</i>	rBet v 1a
			rBet v 1d
		rBet v 2	
Animals	Dog	<i>Canis familiaris</i>	Can f 1
			Can f 3
	Cat	<i>Felis domesticus</i>	Fel d 1
Insects	Mite	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Der p 1
			Der p 2
	Mite	<i>Dermatophagoides farinae</i>	Der f 1
		Der f 2	
Moulds	Alternaria	<i>Alternaria alternata</i>	rAlt a 1
			rAlt a 2
Latex	Latex	<i>Hevea brasiliensis</i>	rHev b 1
			rHev b 3
			rHev b 5
			rHev b 6
			rHev b 7
			rHev b 8
			rHev b 9
			rHev b 10
			rHev b 11
			Bos d 4 (Alpha-Lactalbumin)
			Bos d 5 (b-Lactoglobulin A)
		Bos d 5 (b-Lactoglobulin B)	
		Bos d 7 (IgG bovine)	
		Bos d 8 (Casein)	
		Alpha-Casein	
		Beta-Casein	
		Kappa-Casein	
		Bos d Lactoferrin	
		Bos d 6 (Bovine Serum Albumin)	
Food	Egg	<i>Gallus domesticus</i>	Gal d 1 (Ovomucoid)
			Gal d 2 (Egg white albumin / Ovalbumin)
			Gal d 3 (Conalbumin)
			Gal d 4 (Lysozym)
	Carrot	<i>Daucus carota</i>	rDau c 1
	Celery	<i>Apis graveolens</i>	rApi g 1
	Apple	<i>Malus domesticus</i>	rMal d 1
	Barley	<i>Hordeum vulgare</i>	Alpha Amylase
			Beta Amylase
	Wheat	<i>Triticum sp.</i>	Tri a 18 (Lectin / Agglutinin)
			Tri a 19 (Gliadin)

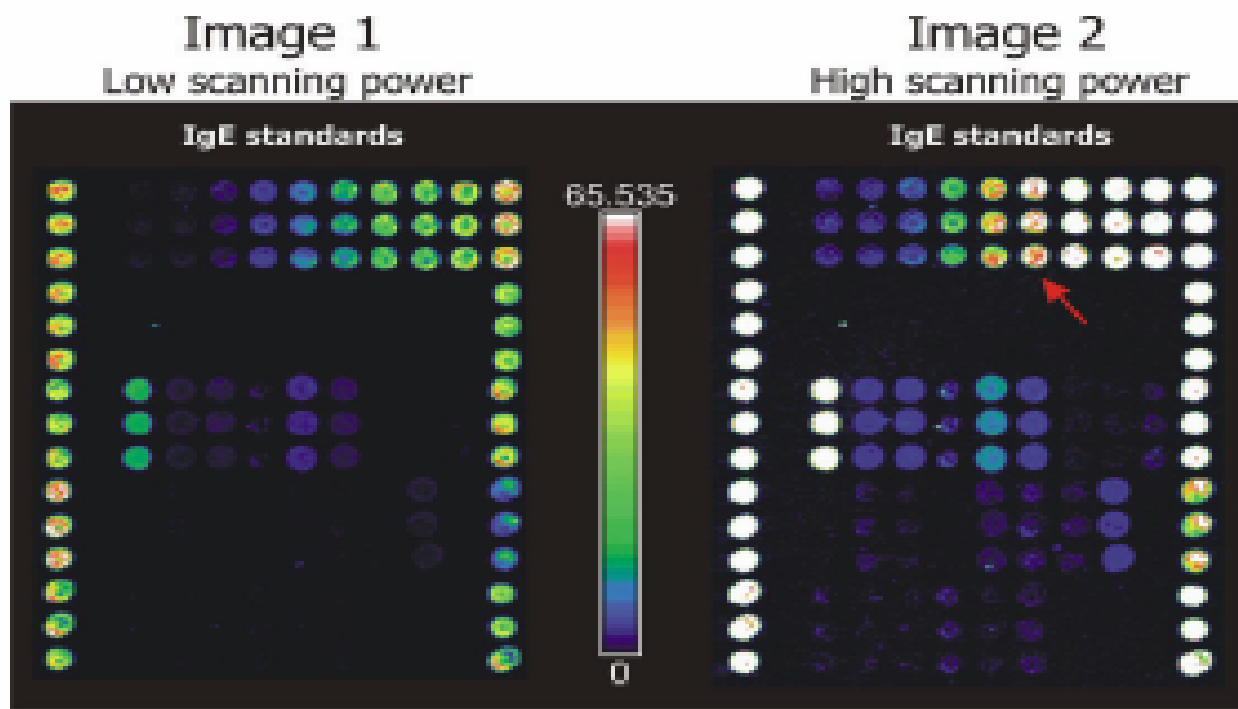


Fig. 2. Example of an **ISAC[®]** microarray image scanned at two different scan settings. The left image (Image 1) was scanned with low laser power settings. Accordingly, the image does not include any saturated pixels (white), including the IgE standard triplicates. Due to the reduced scan power only a part of the IgE concentration series is visible. The right image (Image 2) was scanned with increased laser power settings, to ensure that half of the IgE standard calibration curve triplicates appear saturated. A red arrow indicates the first of the saturate IgE triplicates.





Microarrays versus CAP system

- IgE specifiche contro molteplici antigeni
- Ridotte quantità di siero



- Uso di allergeni ricombinanti (vs estratti)
- Analisi degli epitopi (lineari) della risposta IgE





l'applicazione dei protein microarrays in Pediatria

un avanzamento verso un' **“Allergologia Molecolare”**
propedeutica all'introduzione di **innovative**
immunoterapie.

La metodologia ha bisogno della **validazione in corso** in
diversi gruppi e laboratori e va effettuata utilizzando
come **“gold standard”** le migliori metodiche classiche
esistenti.

Attualmente questi esami vanno visti come **test di 3°**
livello, per approfondire la diagnostica di particolari
sottogruppi di pazienti già sottoposti ai test
immunoenzimatici classici di difficile interpretazione.



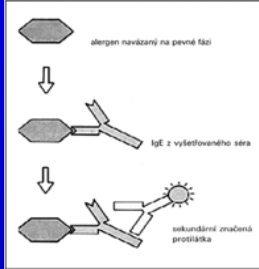


Estratti non standardizzati

RAST
1 ml

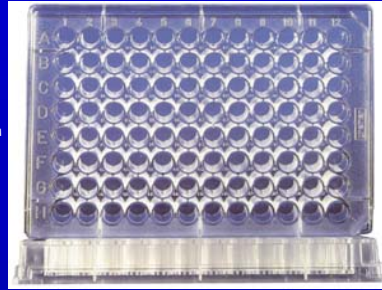
1974

1ml = 1 test



Phadebas RAST
50-150 µl

Estratti standardizzati

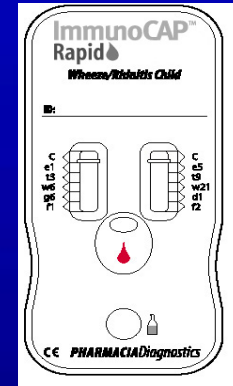


ELISA (96-wells)
50-150 µl

Prime molecole da DNA ricombinante



Immuno-CAP
50 µl

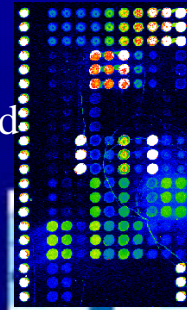


ImmunoCAP™ Rapid
110µ s.i.

2006

20 µl = >100 test

standardizzazione
miniaturizzazione
ed automazione
del dosaggio per le IgE specifiche



Microarray
nanolitri



Il futuro della diagnostica allergologica dipenderà dal poter disporre di una **diagnostica standardizzata e riproducibile:**

- gli **SPT** e ancor di più gli **APT** senza queste caratteristiche rischiano di farci **perdere l'accreditamento** quando sarà necessario.
- **Test in vitro validati** da queste caratteristiche devono entrare nella pratica clinica avvallati da **maneggevolezza, semplicità, convenienza.**





Senza significative innovazioni diagnostiche e il ricorso sempre più frequente a pratiche irrazionali si va ad intaccare la qualità di vita del bambino sostanzialmente sano

ci dovremmo impegnare con maggior convinzione e determinazione alla realizzazione degli obiettivi di qualità dell'assistenza nel suo complesso al bambino basandoci

solo su prove provate!



cavagni@opbg.net

PADIGLIONE
GIOVANNI PALEOLOGO II

S.Mancini

L. Nicotri

Marco

E. Corazzini

grazie
per l'attenzione



cavagni@opbg.net

PADIGLIONE
GIOVANNI PALEOLOGO II

S.Mancini

L. Nicotri

Marco

E. Corazzini

...

grazie
per l'attenzione





Storia delle IgEs CAP

- 1967 Scoperta Immunoglobuline IgE
- 1971 Allergon, leader mondiale per la produzione di allergene (materiale grezzo)
- 1972 Test Phadebas® IgE
- 1974 Test Phadebas RAST®
- 1986 Test Phadiatop®
- 1989 Pharmacia CAP System™
- 1995 UniCAP® 100
- 2001 UniCAP® 1000 - Introduzione di un sistema automatico per test IgE su larga scala
- 2002 Phadiatop® Infant - Primo test di atopia per piccoli bambini
- 2002 Più di 500 differenti allergeni disponibili
- 2003 Nuovo brand - ImmunoCAP™
- 2004 ImmunoCAP™ 250 - Qualità ed automazione nei laboratori di media routine





Disegno del trial

Pazienti inclusi in accordo con
Criteri di Inclusione/Esclusione

Storia Clinica
Esame fisico
Risultato SPT

POSITIVO
NEGATIVO
INCERTO

Italia
Diagnosi Finale (per allergene)

New ImmunoCAP results



POSITIVO
NEGATIVO
INCERTO

Conferma della diagnosi finale (per allergene)





Unresolved issues in genomic research

- Scientific issues
- Experimental design
- Experimental comparability
- Data analysis procedures
- Data sharing
- Effective networking
- User groups
- Consensus working groups
- Ethical issues
- Informed consent
- Biobanks
- Communication of relevant information to subjects and families
- Legal issues
- Intellectual property
- Patents
- Patient's confidentiality
- Health insurances
- Protection of patient in the workplace
- Worldwide regulatory frameworks
- EU regulatory frameworks
- National and local regulatory frameworks

The future of microarray technology: networking the genome search. .

D'Ambrosio, L. Gatta, S. Bonini. Allergy 2005; 60: 1219–1226





I VANTAGGI DEL MICROARRAY

- One shot genome wide expression analysis
- Rapid comparison between two states (control/diseased, untreated/treated and wild type/knockout)
- Exploration of new biological systems in a hypotheses generating rather than hypotheses testing fashion (_fishing_ experiments)
- Identification of markers to elucidate molecular mechanisms (signatures) underlying biological events and diseases
- Rapid molecular disease classification for more accurate molecular diagnostic, prognostic and targeted treatment





I VANTAGGI DEL MICROARRAY

- One shot genome wide expression analysis
- Rapid comparison between two states (control/diseased, untreated/treated and wild type/knockout)
- Exploration of new biological systems in a hypotheses generating rather than hypotheses testing fashion (_fishing_ experiments)
- Identification of markers to elucidate molecular mechanisms (signatures) underlying biological events and diseases
- Rapida classificazione di malattia molecolare per un trattamento mirato e prognostico basato su un'accurata diagnosi molecolare





GLI SVANTAGGI DEL MICROARRAY

- Restricted access to the technology (experiments still expensive to perform)
- Not yet approved as diagnostic tool by regulatory bodies
- Not a stand alone technique (need validation/confirmation tests)
- Skilled technical personnel needed (including biostatistician/bioinformatician for data analysis)
- Data derived from different platforms difficult to compare
- Data comparability difficult from one array version to the next
- Data obtained only partially used and published
- Data repositories and data sharing still not fully implemented
- Ethical and legal issues when dealing with patient samples





Microarrays: innovazione

1) offre risultati riferiti alla **reazione contro numerose singole molecole allergeniche** (e non più miscele o estratti);

2) utilizza **minimi volumi di siero** (20 microlitri) da un prelievo di sangue capillare e **minimi volumi di reattivi**, con **ridotti costi per singola determinazione**;

3) facilita la verifica di diversi isotipi anticorpali; 4) apre prospettive allo studio di specificità epitopiche

B. La disponibilità nella fase solida di singole molecole allergeniche purificate o ottenute con la tecnologia del DNA ricombinante permette di discriminare i soggetti polisensibili “veri” reattivi a molti distinti allergeni, da quelli “falsi”, reattivi contro i cosiddetti pan-allergeni. Ad esempio, un

