

Diagnosi di allergia al kiwi in età pediatrica: utilità della diagnostica molecolare

Diagnosis of kiwi fruit allergy in children: utility of molecular allergens

Daniela Visentini¹ · Silvia Zago² · Laura Meroi¹ · Fiorenza Pesente³ ·
Francesca Saretta⁴ · Lolita Fasoli⁵ · Maria Elisabetta Conte⁶ · Danilo Villalta⁶

Ricevuto: 31 maggio 2018 / Accettato: 25 settembre 2018
© Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio 2018

Riassunto *Premesse.* L'allergia al kiwi è attualmente una delle più comuni cause di allergia alimentare e offre un chiaro esempio degli effetti dell'introduzione di un nuovo alimento nella catena alimentare. In recenti studi epidemiologici europei risulta essere tra le prime dieci fonti di allergia. Spesso si associa a sensibilizzazione a polline di betulla e si manifesta con sintomatologia localizzata al cavo orale (sindrome orale allergica, SOA). Alcuni pazienti presentano, invece, sintomi sistemici come orticaria acuta, angioedema, manifestazioni gastroenteriche, sintomi cardiovascolari o anafilassi. Sono stati a oggi identificati 13 allergeni molecolari di kiwi, di cui 4 disponibili per la ricerca di IgE specifiche nel pannello del test microarray: 3 sono componenti specifiche di origine nativa (Act d 1, Act d 2, Act d 5) e 1 è una proteina ricombinante cross-reattiva appartenente alla famiglia delle PR-10 (Act d 8). Scopo dello studio è stato identificare il profilo di sensibilizzazione allergenica in un gruppo di pazienti pediatrici con sospetto di allergia al kiwi, che presentavano sintomi, nella maggioranza dei casi, di tipo sistemico.

Metodi. Tra gennaio 2012 e dicembre 2017 sono giunti presso il Laboratorio di Allergologia di Udine 25 pazienti (età 1–14 anni; 19 maschi/6 femmine) per sospetta allergia al kiwi. I sintomi più frequentemente associati all'ingestione, o al solo contatto con il frutto, erano angioedema e orticaria acuta, seguiti da SOA, sintomi gastrointestinali, rinocongiuntivite, tosse/dispnea, dermatite e, in 6 casi, anafilassi. Nei campioni di siero sono state determinate le IgE specifiche per allergene estrattivo ed è stato eseguito un test microarray per la ricerca IgE per componenti molecolari (ISAC, Thermo Fisher Diagnostics, Uppsala, Svezia).

Risultati. Tutti i pazienti sono risultati positivi per l'allergene estrattivo. Il profilo per gli allergeni molecolari ha evidenziato in 22 sieri (88%) positività per l'allergene maggiore Act d 1, in 4 (16%), sensibilizzazione per Act d 2 e in 2 (8%), per Act d 5. In 4 soggetti sono state riscontrate sensibilizzazioni multiple (Act d 1 + Act d 2/ o Act d 5). Tre pazienti presentarono sensibilizzazione verso Act d 8 associata ad Act d 1; un bambino con SOA risultò positivo per PR-10 di betulla (Bet v 1), ma non per quella di kiwi (Act d 8).

Conclusioni. In caso di sospetta allergia al kiwi in età pediatrica è fondamentale eseguire i test IgE utilizzando l'allergene estrattivo e il profilo molecolare allargato con il test microarray. La presenza di IgE per uno degli allergeni specifici, anche se associata a positività per PR-10, rafforza la diagnosi di rischio di allergia severa e raccomanda l'allontanamento dell'alimento. Lo studio conferma che nell'infanzia l'allergia al kiwi è causata da sensibilizzazione primaria e che la positività per Act d 1, allergene maggiore, è indicatore e fattore di rischio per allergia severa.

Parole chiave Allergia al kiwi · Allergeni del kiwi · Act d 1 · Act d 2 · Act d 5

Summary Background. Allergy to kiwi is currently one of the most common causes of food allergy, and offers a clear

✉ D. Visentini
daniela.visentini@asuud.sanita.fvg.it

¹ Immunopatologia e Allergologia, Azienda Sanitaria Universitaria Integrata, Udine, Italia

² Patologia Clinica, Ospedale "S. Maria degli Angeli", Pordenone, Italia

³ Patologia Clinica, Azienda Sanitaria Universitaria Integrata, Udine, Italia

⁴ Pediatria, Ospedale di Palmanova-Latisana, Azienda per l'Assistenza Sanitaria n. 2 "Bassa Friulana-Isontina", Palmanova, UD, Italia

⁵ Clinica Pediatrica, Azienda Sanitaria Universitaria Integrata, Udine, Italia

⁶ Immunologia e Allergologia, Ospedale "S. Maria degli Angeli", Pordenone, Italia

example of the effects of the introduction of a new food in the food chain. In recent European epidemiological studies it was shown to be among the top ten sources of allergy. It is often associated with sensitization to birch pollen with symptoms localized to the oral cavity (oral allergy syndrome, OAS). Some patients, however, experience systemic symptoms such as acute urticaria, angioedema, gastrointestinal and/or cardiovascular symptoms or anaphylaxis. 13 kiwi allergens were identified, 4 of which are available for specific IgE testing on the microarray test panel: 3 are kiwi specific components (Act d 1, Act d 2, Act d 5), and 1 is a cross-reactive protein, belonging to the PR-10 protein family (Act d 8). The aim of the study was to identify the allergenic sensitization profile in a group of pediatric patients with suspected allergy to kiwi, who showed symptoms, in almost all cases suggestive of severe allergy.

Methods. Between January 2012 and December 2017 25 patients (aged 1–14 years; 19 Males/6 Females), presented specific IgE test requests for kiwi to the Allergology Laboratory of Udine. The symptoms most frequently associated with ingestion, or to mere contact with the fruit, were facial angioedema and acute urticaria, followed by OAS, gastrointestinal symptoms, rhinoconjunctivitis, respiratory symptoms, dermatitis and, in 6 patients, anaphylaxis. In all the sera, specific IgE to the whole extract and to the singular components were detected by using the ImmunoCAP and the ImmunoCAP ISAC assay, respectively (Thermo Fisher Diagnostics, Uppsala, Sweden).

Results. All patients were positive for IgE to kiwi extract; the profile for molecular allergens, in 22 sera (88%) showed positivity for the major allergen Act d 1, in 4 (16%) for Act d 2, and in 2 (8%) for Act d 5. In 4 subjects multiple sensitizations (Act d1 + Act d 2 / or Act d 5) was shown. IgE anti-Act d 8 were detected in 3 cases, combined to anti-Act d1 presence. One child affected by OAS resulted positive to Bet v 1 (Birch PR-10), but not to Act d 8 (kiwi PR-10).

Conclusions. In case of suspected kiwi allergy in the pediatric population, it is crucial to perform IgE tests using both the extractive allergen and the expanded molecular profile with the microarray test. The presence of IgE for one of the specific allergens, even if associated with positivity for PR-10, reinforces the diagnosis of risk of severe allergy and urges avoidance of the food. The study confirms that kiwi allergy in childhood is caused by primary IgE sensitization and that positivity for Act d 1 is an indicator and risk factor for severe allergy.

Keywords Kiwi fruit allergy · Kiwi allergens · Act d 1 · Act d 2 · Act d 5

Introduzione

La diffusione del kiwi come prodotto di consumo alimentare è di introduzione relativamente recente in Europa. In 30 an-

ni dalla prima testimonianza di reazione allergica nel 1981 [1], il kiwi è diventato una delle prime dieci fonti di allergia alimentare, come dimostrato in recenti studi condotti in Finlandia, Svezia e Francia [2]. La pianta di kiwi è nativa della valle dello Yangtze, Cina sud-orientale, ed è stata descritta per la prima volta nel 1847 con il nome latino *Actinidia chinensis* [3]. Nel 1904 i semi di kiwi a polpa verde sono stati introdotti in Nuova Zelanda e nel 1962 sono iniziate le esportazioni verso l'Europa e gli Stati Uniti [3, 4]. In seguito a una campagna di marketing, il suo nome popolare ("Chinese gooseberry") è stato sostituito dal termine kiwi (uccello nazionale neozelandese) [5]. Sebbene esistano due varietà di questo frutto, una a polpa gialla e una a polpa verde, quello che oggi viene coltivato ed è disponibile su scala mondiale è il kiwi a polpa verde, conosciuto con il nome botanico di *Actinidia deliciosa*. Le due varietà, *Actinidia deliciosa* e *Actinidia chinensis*, si differenziano per gusto, ma anche per allergenicità [5].

L'allergia al kiwi è stata osservata con frequenza crescente nella popolazione occidentale. La clinica con cui può manifestarsi varia da sintomi lievi, localizzati alla mucosa orale (sindrome orale allergica SOA), fino ad arrivare a reazioni più gravi, sistemiche, soprattutto nella popolazione pediatrica [6]. La SOA, che spesso è determinata da una reazione crociata con i pollini, si manifesta con prurito a labbra, lingua e gola, con o senza edema [7]. Dai pochi studi che descrivono l'allergia al kiwi nella popolazione pediatrica risulta evidente che i bambini presentano modalità di sensibilizzazione e clinica diversa rispetto agli adulti. I pazienti di età pediatrica tendono a reagire alla prima esposizione al frutto e sviluppano più frequentemente manifestazioni sistemiche. Gli adulti necessitano, generalmente, di esposizioni multiple prima di sviluppare dei sintomi [6]. Inoltre, anche se l'allergia al kiwi è più frequentemente associata a sensibilizzazione a polline di betulla [8] o a lattice [9], come risultato di cross-reattività con allergeni maggiori di questi, i bambini sono più spesso mono-sensibilizzati al frutto. Ciò suggerisce un ruolo di sensibilizzazione primaria del tratto digestivo in età infantile con il risultato di un diverso pattern IgE per proteine del kiwi rispetto alla popolazione adulta [4, 10]. Ad oggi sono noti 13 allergeni di kiwi (Tab. 1). Gli studi epidemiologici hanno riportato diversi pattern di positività per allergeni del kiwi, probabilmente a causa di differenze nelle procedure sperimentali di estrazione e sintesi e nella selezione delle popolazioni analizzate [10, 11]. Act d 1, cisteina proteasi (actinidina), rappresenta circa il 50% delle proteine solubili totali contenute nel kiwi a polpa verde [4] ed è considerata un allergene maggiore con rilevanza clinica, fattore di rischio di reazioni sistemiche [9, 10]. Act d 2 è una proteina taumatina simile (TLP) di 24 kDa che si trova all'interno della polpa del frutto e la cui prevalenza di sensibilizzazione è ancora controversa [9]. Nonostante i numerosi dati sperimentali, la rilevanza clinica delle TLP

Tabella 1 Elenco e caratteristiche degli allergeni di kiwi (dal sito ufficiale: www.allergen.org 28/05/2018)

Specie: <i>Actinidia deliciosa</i> (kiwi a polpa verde)			
Allergene	Nome biochimico	Peso molecolare	Disponibilità commerciale
Act d 1	Cisteina proteasi (actinidina)	30 kDa	microarray ISAC
Act d 2	Proteina taumatino simile	24 kDa	microarray ISAC
Act d 3		40 kDa	
Act d 4	Fitocistatina	11 kDa	
Act d 5	Kiwellina	26 kDa	microarray ISAC
Act d 6	Inibitore pectina metilesterasi	18 kDa	
Act d 7	Pectina metilesterasi	50 kDa	
Act d 8	Pathogenesis-related protein, PR-10, gruppo Bet v 1	17 kDa	singolo e microarray ISAC
Act d 9	Profilina	14 kDa	omologhi: singolo e microarray ISAC
Act d 10	nsLTP1	10 kDa	
Act d 11	Major latex protein/ripening-related-protein (MLP/RRP), gruppo Bet v 1	17 kDa	
Act d 12	Cupina, 11S globulina	50 kDa	
Act d 13	2S albumina	11 kDa	

è ancora dibattuta poiché la sensibilizzazione a questo allergene è estremamente rara in forma isolata [12]. Recentemente è stata riportata un'interazione tra Alt a 1, allergene maggiore di *Alternaria*, e Act d 2. Questa muffa può contaminare il frutto penetrando nella polpa e la proteina Alt a 1, associandosi con Act d 2 mediante interazioni elettrostatiche idrofile e/o idrofobe, può causare interferenza nella ricerca IgE per Act d 2 nativo. La rilevanza clinica di questa associazione è stata confermata dall'alta frequenza di co-sensibilizzazioni osservate tra Act d 2 e Alt a 1 su test multi-molecolare microarray ISAC (*Immuno solid-phase allergen chip*): fino all'85% dei pazienti sensibilizzati ad Act d 2 sono anche sensibilizzati ad Alt a 1. Al contrario, solo il 39% dei pazienti sensibilizzati ad Alt a 1 sono co-sensibilizzati ad Act d 2. Allo stesso modo, Alt a 1 potrebbe associarsi alle proteine PR5 taumatino-simili presenti in altri frutti, come ciliegia (Pru av 2), mela (Mal d 2) e banana (Mus a 4) [13].

Altri allergeni ad oggi identificati e caratterizzati per sequenza aminoacidica, proprietà biochimiche e allergenicità sono il glicoallergene di 45 kDa Act d 3 [9, 14], Act d 4 che agisce come inibitore della cisteina proteinasi [15], Act d 5 Kiwellina, ricca di cisteina, una delle tre proteine più abbondanti presenti nella parte commestibile del kiwi [16], Act d 6, inibitore della pectina metilesterasi e Act d 7, una pectina metilesterasi. Act d 8 PR-10 è un omologo (50%) del principale allergene di polline di betulla Bet v 1 [17]. Altri allergeni minori di kiwi sono: Act d 9, profilina di 14 kDa, Act d 10 nsLTP (*non specific lipid transfer protein*) [15] e Act d 11 (*Major latex protein/ripening-related protein*, MLP/RRP), che cross-reagisce con i membri della famiglia PR-10 [18]. Recentemente sono state descritte e caratterizzate due nuove componenti molecolari nei semi del frutto: Act d 12, 11S globulina di 51 kDa, e Act d 13, 2S albumina di 12 kDa.

Tabella 2 Pazienti suddivisi per fasce d'età e sesso

Età (anni)	N. pazienti	M/F
1-6	15	13/2
7-9	7	4/3
10-14	3	2/1
Totale	25	19/6

Entrambe le molecole condividono epitopi con le rispettive proteine omologhe di arachide, nocciola e noce, suggerendo potenziali meccanismi di cross-reattività con queste fonti allergeniche [19]. Tra i 13 allergeni molecolari di kiwi solo 4 attualmente sono disponibili in commercio per la ricerca di IgE specifiche: Act d 8, molecola ricombinante utilizzabile con test singolo, e Act d 1, Act d 2 e Act d 5 presenti, in forma nativa, solamente nel pannello microarray (Tab. 1).

Scopo di questo studio è stato indagare, nell'ambito di una popolazione pediatrica con forte sospetto di allergia al kiwi IgE mediata, il profilo allergologico, al fine di valutare l'utilità dei test molecolari.

Materiali e Metodi

Tra gennaio 2012 e dicembre 2017 sono giunti, presso il Laboratorio di Allergologia di Udine, 25 pazienti di età compresa tra 1 e i 14 anni (19 maschi/6 femmine), con richiesta di dosaggio IgE specifiche per kiwi (Tab. 2). Tutti presentavano un forte sospetto di allergia al kiwi e l'ipotesi diagnostica era stata formulata in base all'anamnesi, alle manifestazioni cliniche comparse dopo l'ingestione del frutto o, in 3 casi, al solo contatto cutaneo con esso (Tabb. 3 e 4), e al-

Tabella 3 Sintomi e frequenza di presentazione: alcuni bambini hanno 2 o più sintomi

Sintomi	N. pazienti
Sindrome orale allergica (SOA)	5
Orticaria	8
Angioedema	8
Sintomi gastrointestinali	4
Rinocongiuntivite	3
Tosse/Dispnea	1
Dermatite	2
Anafilassi	6

l'esecuzione, in alcuni pazienti, di un prick test con il frutto fresco.

In tutti i sieri sono state determinate le IgE per l'allergene estrattivo di kiwi (ImmunoCAP, Thermo Fisher Diagnostics, Uppsala, Svezia) e per le singole componenti molecolari tramite test multimolecolare microarray ISAC (Thermo Fisher Diagnostics). I *cut-off* utilizzati per definire un risultato positivo sono stati: $\geq 0,15$ kU/L per i test eseguiti sulla piattaforma *singleplex* ImmunoCAP e $> 0,3$ ISU per i test eseguiti sulla piattaforma *multiplex* ISAC. Le molecole considerate sono state: gli allergeni specifici Act d 1, Act d 2 e Act d 5; le proteine cross-reattive tra pollini e frutti appartenenti alle famiglie PR-10 (Act d 8 e Bet v 1), profilina (Bet v 2) e iso-flavone reductasi (IFR); gli antigeni glucidici, definiti "determinanti carboidratici cross-reattivi" (CCD, MUXF3). Per la ricerca delle IgE verso IFR è stato utilizzato Bet v 6, allergene minore di betulla, dotato di discreta identità strutturale con l'omologa molecola del kiwi [20].

Risultati

La distribuzione per sesso ed età dei pazienti studiati è riportata nella Tabella 2. Nella Tabella 4 sono descritti in dettaglio i profili allergologici dei 25 bambini e nella Figura 1 è elencata la frequenza dei singoli allergeni. I test cutanei sono stati eseguiti solo in 10 casi, con esito positivo in 9. In tutti i sieri il dosaggio delle IgE per l'estratto allergenico è risultato positivo (range: 0,27-85,50 kU/L) e in 22 campioni (88%) è stata evidenziata specificità per l'allergene maggiore Act d 1. Act d 2 è risultato positivo in 4 bambini (16%), in 3 dei quali in associazione a IgE per Alt a 1 a titolo elevato (≥ 27 ISU). In 2 soggetti (8%) sono state determinate IgE anti-Act d 5. IgE per più di un allergene indice di sensibilizzazione primaria sono state riscontrate in 4 sieri (16%): Act d 1 + Act d 5 in un caso e Act d 1 + Act d 2 in tre. Se vengono considerate anche le componenti cross-reattive (PR-10, profilina e IFR), indicatori di sensibilizzazione polline-correlata, i soggetti con IgE specifiche per più allergeni salgono a 12

(48%). In particolare, 3 soggetti (12%) sono risultati positivi per Act d 8 (PR-10) e Act d 1 e, tra questi, uno presentava IgE anche per Act d 5 e negatività per tutte le altre proteine PR-10 esposte nel test microarray (Paziente 13, Tab. 4). Un paziente con SOA per kiwi e altri frutti della famiglia delle Rosacee, nocciola e arachide, ha evidenziato positività solo per Bet v 1 e non per l'omologa molecola Act d 8. Le associazioni tra profilina e CCD e altri allergeni del kiwi sono riportate nella Tabella 4 e nella Figura 1. Tra i 25 soggetti allergici al kiwi, infine, 14 risultarono allergici ad altri alimenti e, in particolare, 7 a noce, 5 ad arachide e uovo, 4 a nocciola, sesamo e Anacardiacee, 3 a Rosacee e pesce, 2 ad altri frutti, crostacei/molluschi e legumi, 1 a senape.

Discussione

La valutazione del profilo molecolare della casistica inclusa in questo studio conferma che l'allergia al kiwi in età pediatrica è causata, nella maggior parte dei casi, da sensibilizzazione primaria. La sintomatologia è prevalentemente di grado moderato o severo, e spesso a carico di più apparati. L'età in cui con maggiore frequenza si è manifestata la prima reazione allergica è ≤ 9 anni e il sesso maschile sembra essere quello maggiormente interessato, con un rapporto di 3,2:1 (Tab. 2).

La sensibilità per l'estratto di kiwi si è dimostrata pari al 100%, in disaccordo con quanto riportato in letteratura, dove viene descritta una minore sensibilità dell'estratto allergenico sia commerciale, che *homemade* [6, 15, 21]. Ciò potrebbe trovare giustificazione nel diverso *cut-off* IgE utilizzato in altri studi (0,35 kU/L), nelle caratteristiche delle popolazioni valutate e nell'attività proteasica di Act d 1 che, soprattutto in alcune preparazioni *homemade*, potrebbe causare la degradazione delle proteine dell'estratto [22].

IgE specifiche per Act d 1 sono risultate presenti nell'88% dei casi a conferma che la maggior parte delle sensibilizzazioni nella fascia pediatrica sono primarie e non secondarie polline-correlate a causa di cross-reazione con Act d 8 (PR-10) e profilina, come avviene nella popolazione adulta [8, 23].

Uno studio policentrico europeo [10], che ha coinvolto 12 centri e arruolato 311 pazienti allergici al kiwi, di età media di 31 anni (range 1-87 anni), ha evidenziato che i primi sintomi di allergia si sono manifestati a un'età media di 28 anni. L'età della prima manifestazione, nella nostra casistica pediatrica, seppure limitata, dimostra una maggiore frequenza per età ≤ 9 anni, con sintomi di grado moderato/severo nella maggior parte dei casi. Lo studio europeo sopra citato [10] suddivide i pazienti in 4 gruppi a seconda delle fasce geoclimatiche di appartenenza, in modo da stratificare la popolazione in base all'ambiente e alle peculiarità polliniche

Tabella 4 Pazienti: età, sesso, sintomi principali, allergeni IgE positivi ($> 0,15$ KU/L) e allergie alimentari associate

N. pazienti	Età	Sesso	Sintomi principali	SPT	f84 kiwi estrattivo	Act d 8 PR10	Bet v 1 PR10	Bet v 6 isoflavone reductasi	Bet v 2 profilina	CCD	Act d 1 cisteina proteasi	Act d 2 TLP taumatin-like protein	Act d 5 kiwellina	Altre allergie alimentari
1	9	M*	Anafilassi	N.E.	P		P				P			
2	4	M	DER, T/D	P	P						P			
3	5	M*	R, U	N.E.	P	P			P		P			uovo, noce, legumi
4	7	F	U	P	P						P			
5	3	F	R, AE, U	P	P						P			senape
6	4	M	SOA	N.E.	P	P	P			P	P			pesce, crostacei, noce molluschi, sesamo
7	14	M	SOA, R, U	N.E.	P						P			crostacei, molluschi, Anacardiacee
8	10	F	AE	N.E.	P						P			banana, cocco
9	11	M	Anafilassi	N.E.	P					P				arachide
10	6	M	U, GI	N.E.	P				P				P	sesamo, pesce
11	4	M	AE	N.E.	P						P			
12	3	M	AE, U	N.E.	P						P			
13	4	M	Anafilassi	P	P	P					P		P	anguria, melone
14	9	M	U, DER, GI	N.E.	P						P			albume, noce, arachide, nocciola, Anacardiacee
15	5	M	U	N.E.	P		P				P			noce
16	5	M	SOA, GI	N.E.	P	P	P				P			mela
17	9	F	SOA	N.E.	P	P	P							SOA: Rosacee, nocciola, arachide
18	9	M	AE	P	P	P	P				P			noce
19	2	M	Anafilassi	N	P						P			sesamo, nocciola, noce, arachide, legumi
20	7	M*	AE	N.E.	P	P	P				P			sesamo
21	8	F	Anafilassi	N.E.	P	P	P				P			uovo
22	3	F	Anafilassi	P	P						P			albume, pesce, noce, nocciola, Anacardiacee
23	5	M	GI	P	P						P			albume, arachide, Anacardiacee, Rosacee
24	5	M	SOA, AE	P	P				P		P			
25	1	M	AE	P	P						P			

Legenda Sintomi: AE – angioedema; SOA – sindrome orale allergica; DER – dermatite; T/D – tosse/dispnea; GI – sintomi gastrointestinali; U – orticaria; R – rinocongiuntivite

Altre sigle/simboli: * – solo contatto cutaneo / mucose; SPT – test cutanei; P – positività; N – negatività; N.E. – non eseguito

Fig. 1 Profilo allergologico complessivo dei 25 pazienti e frequenza di positività IgE per gli allergeni specifici

	f84 kiwi estrattivo	Act d 8 PR10	Bet v 1 PR10	Bet v 6 IFR	Bet v 2 profilina	CCD	Act d 1 cisteina proteasi	Act d 2 TLP	Act d 5 kiwellina
IgE pos/tot	25 / 25	3 / 25	9 / 25	3 / 25	3 / 25	2 / 25	22 / 25	4 / 25	2 / 25
0.27-85.5 kU/l	+Act d 1 (1), +Act d 1 e Act d 2 (1), +Act d 1 e Act d 5 (1)	+Act d 1 (6), +Act d 1 e Act d 2 (2)	+Act d 1 (1), +Act d 1 e Act d 2 (1), +Act d 2 (1)	+Act d 1 (1), +Act d 1 e Act d 2 (1)	+Act d 1 (1), +Act d 5 (1), +Act d 1 e Act d 2 (1)	+Act d 1 (1), +Act d 2 (1)	+Act d 2 (2), +Act d 5 (1), +Bet v 6 (1), +Act d 2 e Bet v 6 (1)	+Act d 1 (2), +Act d 1 e Bet v 6 (1), +Bet v 6 (1)	+Act d 1 (1)
Frequenza	Bassa: Act d 5 = 8 %			Act d 2 = 16 %		Alta: Act d 1 = 88 %			

dello stesso. La sensibilizzazione verso Act d 1 si è dimostrata maggiore nei soggetti del Nord Europa (32%) e, come atteso, la maggior parte dei pazienti presentava sintomi moderati o severi. Tra i soggetti dell'Islanda con clinica di grado severo, tuttavia, non è stata individuata positività per alcun allergene, molecolare ed estrattivo, nel 24% dei casi, indicando che può esserci una reattività IgE per un allergene non ancora presente nel pannello e nell'estratto. Nelle Regioni centro-occidentale e del sud Europa, la sintomatologia era SOA rispettivamente nel 65% e 64%, ma con specificità IgE diverse: prevalenza per Act d 8 nella prima area e per Act d 9 nella seconda. Nella zona del sud Europa (Spagna e Grecia) veniva rilevata un'elevata positività per Act d 10 LTP (22%), allergene non ancora disponibile in commercio e quindi da noi non inserito nel pannello di studio. Infine, la sensibilizzazione riportata verso Act d 2 e Act d 5 è tra 2% e 18% e non presenta sostanziale differenza tra le 4 Regioni prese in esame. Act d 5 ha una prevalenza più elevata nel Sud Europa (18%), superiore anche ad Act d 1 (16%). La percentuale di pazienti con IgE anti-Act d 2 e Act d 5, nella nostra casistica, è in linea con questi dati (16% e 8%, rispettivamente). La componente molecolare Act d 2, come in precedenza riportato, si può trovare legata all'allergene maggiore di *Alternaria Alt a 1*, muffa che penetra nella polpa del frutto dopo averlo contaminato esteriormente [13]. Poiché la molecola Act d 2 esposta nel microchip (ISAC) è di natura nativa, si può supporre che nel processo di estrazione possa rimanere legata tramite legami stabili ad Alt a 1, inducendo false positività in soggetti sensibilizzati all'*Alternaria*. È stato dimostrato, infatti, che nella maggior parte dei sieri Act d2 positivi è presente una co-sensibilizzazione per Alt a 1 [13]. Dei nostri 4 pazienti reattivi per Act d 2, 3 sono sensibilizzati, ad alto titolo IgE, verso Alt a 1 con coesistente positività IgE per l'allergene maggiore Act d1, mentre un terzo bambino è negativo per Alt a 1. Quest'ultimo aveva già manifestato allergia a banana e presentava IgE anche per IFR, allergene indice di allergia a frutta polline-correlata anche in assenza di positività PR-10. Si può ritenere quindi che, tra i 25 pazienti, la "vera" sensibilizzazione per Act d 2 sia una sola (4%). Act d 2, in questo caso, è associato a manifestazioni cliniche severe. Il paziente, infatti,

presentava una diagnosi di anafilassi (sintomi gastrointestinali e respiratori). Non può essere escluso, comunque, che questo paziente possa aver avuto delle sensibilizzazioni verso altri allergeni del kiwi non ancora disponibili come test diagnostico. Mentre Act d 2 sembra essere in questa casistica un allergene minore, nello studio di Moreno Alvarez et al si evidenzia come, in una popolazione pediatrica di 24 bambini allergici al kiwi, Act d 1 e Act d 2 siano allergeni maggiori, con maggiore frequenza di Act d 1, seguita da Act d 2 e Act d 8 [4]. IgE anti-Act d 8 sono state evidenziate in 3 casi (12%), 2 positivi anche per Bet v 1 e tutti associati a sensibilizzazione verso l'allergene maggiore Act d 1. Dall'altro lato, la positività IgE per la proteina PR-10 di betulla (Bet v1), nella nostra casistica, risultata decisamente più elevata (36%), rispetto a quella per PR-10 di kiwi (Act d 8). La discrepanza rilevata tra Act d 8 e Bet v 1 è da ricondurre, con buona probabilità, alla bassa sensibilità nel microarray di Act d 8, come in precedenza descritto da Villalta e Asero [24]. Un solo bambino di questo ultimo gruppo, positivo per Bet v 1, non ha presentato positività per alcuna molecola di kiwi e, come sintomatologia, riferiva SOA per kiwi, per frutti della famiglia delle Rosacee, per nocciola e arachide, compatibile con la classica sindrome polline-frutta.

In conclusione, nella casistica pediatrica presentata, l'utilizzo del profilo allergenico Act d 1, Act d 2 e Act d 5 ha rivelato una sensibilità elevata, pari al 96%, con la conferma che Act d 1 è allergene maggiore (sensibilità 88%), e che la sensibilizzazione verso una o più di queste 3 molecole può associarsi a sintomi sistemici. Le positività IgE per l'allergene estrattivo dovrebbero essere sempre approfondite con l'utilizzo del profilo molecolare allargato, disponibile per ora solo nel microarray ISAC. Ciò permette di distinguere le sensibilizzazioni primarie dalle cross-reattività con i pollini, con un importante impatto sulle indicazioni dietetiche. La presenza di IgE per uno degli allergeni specifici, infatti, anche se associata a positività per PR-10 (Act d 8 e/o Bet v 1), rafforza la diagnosi di rischio di allergia severa e raccomanda l'eliminazione dell'alimento dalla dieta. L'ampliamento del pannello molecolare, con Act d 10 LTP e le proteine dei semi (Act d 12 e Act d 13), potrebbe infine aumentare ulteriormente la sensibilità dei test IgE e completare i profili allergologici.

Conflitti di interesse Nessuno

Studi condotti su esseri umani e animali Non pertinente

Consenso informato Non applicabile

Bibliografia

1. Fine AJ (1981) Hypersensitivity reaction to kiwi fruit (Chinese gooseberry, *Actinidia chinensis*). *J Allergy Clin Immunol* 68:235–237
2. Bublin M, Dennstedt S, Buchegger M et al (2011) The performance of a component-based allergen microarray for the diagnosis of kiwifruit allergy. *Clin Exp Allergy* 41:129–136
3. Ferguson AR (1983) EH Wilson, Yichang, and the kiwifruit. *Arnoldia* 43:24–35
4. Moreno Álvarez A, Vila Sexto LV, Bardina L et al (2015) Kiwifruit allergy in children: characterization of main allergens and patterns of recognition. *Children (Basel)* 2:424–438
5. Popović M, Grozdanović M, Gavrović-Jankulović M (2013) Kiwifruit as a food allergen source. *J Serb Chem Soc* 78:333–352
6. Lucas JS, Grimshaw KE, Collins K et al (2004) Kiwi fruit is a significant allergen and is associated with differing patterns of reactivity in children and adults. *Clin Exp Allergy* 34:1115–1121
7. NIAID-Sponsored Expert Panel, Boyce JA, Assa'ad A et al (2010) Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *J Allergy Clin Immunol* 126:S1–S58
8. Pastorello EA, Pravettoni V, Ispano M et al (1996) Identification of the allergenic components of kiwi fruit and evaluation of their cross-reactivity with timothy and birch pollens. *J Allergy Clin Immunol* 98:601–610
9. Palacin A, Rodriguez J, Blanco C et al (2008) Immunoglobulin E recognition patterns to purified kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) allergens in patients sensitized to Kiwi with different clinical symptoms. *Clin Exp Allergy* 38:1220–1228
10. Le TM, Bublin M, Breiteneder H et al (2013) Kiwifruit allergy across Europe: clinical manifestation and IgE recognition patterns to kiwifruit allergens. *J Allergy Clin Immunol* 131:164–171
11. Hassan AK, Venkatesh YP (2015) An overview of fruit allergy and the causative allergens. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 47:180–187
12. Fernández-Rivas M, Bolhaar S, González-Mancebo E et al (2006) Apple allergy across Europe: how allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *J Allergy Clin Immunol* 118:481–488
13. Barre A, Bienvenu F, Caze-Subra S et al (2016) L'association Alt a 1 (Alternaria)–Act d 2 (kiwi): origine et pertinence clinique possible. *Revue Française d'Allergologie* 56:84–89
14. Gavrović-Jankulović M, Čirković T, Vucković O et al (2002) Isolation and biochemical characterization of a thaumatin-like kiwi allergen. *J Allergy Clin Immunol* 110:805–810
15. Bublin M, Pfister M, Radauer C et al (2010) Component-resolved diagnosis of kiwifruit allergy with purified natural and recombinant kiwifruit allergens. *J Allergy Clin Immunol* 125:687–694
16. Tamburrini M, Cerasuolo I, Carratore V et al (2005) Kiwel-lin, a novel protein from kiwi fruit. Purification, biochemical characterization and identification as an allergen*. *Protein J* 24:423–429
17. Oberhuber C, Bulley SM, Ballmer-Weber BK et al (2008) Characterization of Bet v 1-related allergens from kiwifruit relevant for patients with combined kiwifruit and birch pollen allergy. *Mol Nutr Food Res* 52:S230–S240
18. D'Avino R, Bernardi ML, Wallner M et al (2011) Kiwifruit Act d 11 is the first member of the ripening-related protein family identified as an allergen. *Allergy* 66:870–877
19. Sirvent S, Cantó B, Gómez F et al (2014) Detailed characterization of Act d 12 and Act d 13 from kiwi seeds: implication in IgE cross-reactivity with peanut and tree nuts. *Allergy* 69:1481–1488
20. Karamloo F, Wangorsch A, Kasahara H et al (2001) Phenylcoumaran benzylic ether and isoflavonoid reductases are a new class of cross-reactive allergens in birch pollen, fruits and vegetables. *Eur J Biochem* 268:5310–5320
21. Alemán A, Sastre J, Quirce S et al (2004) Allergy to kiwi: a double-blind, placebo-controlled food challenge study in patients from a birch-free area. *J Allergy Clin Immunol* 113:543–550
22. Bublin M, Radauer C, Knulst A et al (2008) Effects of gastrointestinal digestion and heating on the allergenicity of the kiwi allergens Act d 1, actinidin, and Act d 2, a thaumatin-like protein. *Mol Nutr Food Res* 52:1130–1139
23. Asaumi T, Yanagida N, Sato S et al (2017) Negative Act d 8 indicates systemic kiwifruit allergy among kiwifruit-sensitized children. *Pediatr Allergy Immunol* 28:291–294
24. Villalta D, Asero R (2010) Is the detection of IgE to multiple Bet v 1-homologous food allergens by means of allergen microarray clinically useful? *J Allergy Clin Immunol* 125:1158–1161