

European Annals of Allergy and Clinical Immunology

THE OFFICIAL JOURNAL OF AAITO | ASSOCIAZIONE ITALIANA ALLERGOLOGI IMMUNOLOGI TERRITORIALI E OSPEDALIERI

THE OFFICIAL JOURNAL OF SPAIC | SOCIEDADE PORTUGUESA DE ALERGOLOGIA E IMUNOLOGIA CLINICA



5/2015

Work-related respiratory symptoms
in Champagne vineyard workers

Pre-co-seasonal Allergen
Immunotherapy in Parietaria
allergic patients

Different allergenicity of pollen
extracts of three Mediterranean
cypress species accounted
for cytological observations

IL-31 and IL-33 circulating levels
in allergic contact dermatitis

Delayed Anaphylaxis to the
flu vaccine unrelated to known
non-viral components

Alpha-gal anaphylaxis:
the first case report in Italy

What could be the role
of molecular-based allergy
diagnostics in detecting the risk
of developing allergic sensitization
to furry animals?

Intuitivo¹!

Intuitivo per design¹

- Pronto sollevando semplicemente il coperchio¹
- Preciso conteggio delle dosi¹
- Indicato per asma e BPCO²



DuoResp[®]
Spiromax[®]
budesonide/formoterolo



1. Plusa T, Bijos P. Features of an ideal inhaler in testing e new inhaler device. *International review of allergology & clinical immunology in family medicine* 2015; 1(XXI): 21-24.
2. DuoResp Spiromax[®]. Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto.

European Annals of Allergy and Clinical Immunology

THE OFFICIAL JOURNAL OF AAITO
ASSOCIAZIONE ITALIANA ALLERGOLOGI IMMUNOLOGI TERRITORIALI E OSPEDALIERI

THE OFFICIAL JOURNAL OF SPAIC
SOCIEDADE PORTUGUESA DE ALERGOLOGIA E IMUNOLOGIA CLINICA

EDITORS IN CHIEF

R. Asero (Milano – Italy)
M. Morais - Almeida (Lisbon – Portugal)

HONORARY EDITOR

A. Sabbah (Angers – France)

ASSOCIATE EDITORS

S. Bonini (Roma – Italy), A. Tedeschi (Milano – Italy)

EDITORIAL BOARD

M.B. Bilò (Ancona – Italy)
F. Bonifazi (Ancona – Italy)
K. Brockow (München – Germany)
L. Cecchi (Firenze – Italy)
Á.A. Cruz (Salvador – Brasil)
L. Delgado (Oporto – Portugal)
P. Demoly (Montpellier – France)
G. D'Amato (Napoli – Italy)
M. Drouet (Angers – France)
M. Fernandez-Rivas (Madrid – Spain)
A. Fiocchi (Milano – Italy)
D. Macchia (Firenze – Italy)
F. Mastrandrea (Taranto – Italy)
M. Maurer (Berlin - Germany)
D.A. Moneret-Vautrin (Nancy – France)
M. Morais-Almeida (Lisbon – Portugal)
G. Moscato (Pavia – Italy)
C. Nunes (Portimao – Portugal)
M. Olivieri (Verona – Italy)
P. Parronchi (Firenze – Italy)
G. Passalacqua (Genova – Italy)
G. Pauli (Strasbourg – France)
A. Perino (Torino – Italy)
L.K. Poulsen (Copenhagen – Denmark)
O. Quercia (Faenza – Italy)
A. Romano (Roma – Italy)
D. Solé (Sao Paulo – Brazil)
A. Todo Bom (Coimbra – Portugal)
S. Voltolini (Genova – Italy)

SCIENTIFIC COMMITTEE

L. Antonicelli (Italy)
A. Bener (Turkey)
H. Bazin (Belgium)
J. Bellanti (USA)
C. Geller-Bernstein (Israel)
S. Bonini (Italy)
G.W. Canonica (Italy)
M. Cugno (Italy)
B. David (France)
S. Durham (UK)
R. de Marco (Italy)
G.P. Girolomoni (Italy)
R. Jarish (Austria)
S.G.O. Johansson (Sweden)
F. Levi-Shaffer (Israel)
P. Lowenstein (Denmark)
J.L. Malo (Canada)
A.G. Palma-Carlos (Portugal)
G. Scadding (UK)
G. Scadding (UK)
E. Stevens (Belgium)
R. van Ree (Amsterdam)

FOUNDER AND CORRESPONDING MEMBER

G.M. Halpern (USA)



Editors in Chief

Riccardo Asero
Mário Morais-Almeida

Publishing Director

Nicola Miglino

Publishing Editor

Chiara Scelsi
c.scelsi@lswr.it
Tel. 02 88184.257

Production Manager

Walter Castiglione
w.castiglione@lswr.it
Tel. 02 88184.222

Sales & Marketing

Ludovico Baldessin
l.baldessin@lswr.it
Tel. 02 88184.354

Traffic

Donatella Tardini
d.tardini@lswr.it
Tel. 02 88184.292

Subscription

abbonamenti@lswr.it - Tel. 02 88184.317 - Fax 02 88184.151
Italy subscription: 60 euro
World subscription: 85 euro
www.eurannallergyimm.com

Printing

ProntoStampa Srl
Via Praga, 1 - 24040 Verdellino (BG)

EDRA SpA

Via G. Spadolini, 7
20141 Milano - Italy
Tel. 0039 (0)2-88184.1
Fax 0039 (0)2-88184.301
www.edizioniedra.it

"European Annals of Allergy and Clinical Immunology" registered at Tribunale di Milano
- n. 336 on 22.10.2014

© 2015 Associazione Italiana Allergologi Immunologi Territoriali e Ospedalieri - AAITO.
Published by EDRA SpA.
All rights reserved.

The contents of this Journal are indexed in PubMed and SCOPUS®



AAITO
Associazione Italiana Allergologi Immunologi Territoriali e Ospedalieri

DIRECTORY BOARD

President
Maria Beatrice Bilò

Designate President
Antonino Musarra

Vice Presidents
Riccardo Asero
Francesco Murzilli

Treasurer
Oliviero Quercia

Honorary President
Floriano Bonifazi

Members
Lorenzo Cecchi
Domenico Gargano
Giuseppina Manzotti
Lionello Muratore
Susanna Voltolini
Marcello Zambito

AUTHOR GUIDELINES

European Annals of Allergy and Clinical Immunology will accept for publication suitable manuscripts dealing with the aetiology, diagnosis, and treatment of allergic and immunologic diseases. These might include the study of methods of controlling immunologic and allergic reactions, human and animal models of hypersensitivity and other aspects of basic and applied clinical allergy in its broadest sense. We encourage case reports that focus on topic(s) of extreme contemporary interest. Paper reporting the results of drug trials will be considered.

European Annals of Allergy and Clinical Immunology also publishes solicited and unsolicited review articles on subjects of topical interest to clinical and experimental allergy.

Manuscript

We request that all manuscripts should be submitted online through our web-based peer review system.

Submitted contributions are accepted for publication on the basis of scientific interest and relevance, at the final discretion of the Editors in Chief, who will have blinded written evaluations from at least two anonymous reviewers.

Once a manuscript has been accepted for publication, Authors will receive an electronic page proof for review and approval, following which the manuscript is published in the print journal and on the journal website.

Following acceptance, Authors are also requested to return both completed and signed Journal Publishing Agreement and Conflict of interest disclosure forms by e-mail to: c.scelsi@lswr.it

Full Authors Guidelines, online Submission System link, Journal Publishing Agreement and Conflict of interest forms are available on Journal website: www.eurannallergyimm.com

Typed manuscripts at 30 lines per page: maximum length 10 pages, around 300 lines.

Manuscripts should be typewritten (double spacing) on one side of the paper; on a separate sheet, should bear the title of the paper, name, postal and e-mail address of the Author, together with the name of institution where the work was done.

Generally, papers should be divided into the following parts and in the order indicated:

1. **Summary and key words:** english, limited to 15 lines.
2. **Introduction:** containing the reasons for doing the work.
3. **Materials and methods.**
4. **Results:** these should be given concisely; the use of tables and figures to illustrate the same results will only rarely be allowed.
5. **Discussion:** the presentation of results should be separated from a discussion of their significance.
6. **References.**

Units and Abbreviations

European Annals of Allergy and Clinical Immunology recognizes the adoption of the International Systems of Units (SI-Units). Abbreviations to be put in a glossary at the foot of page 1 on the text.

References

References should be in the order:

- the order number corresponding with that of appearance in the text;
- the author's name(s), followed by initial or first name;
- the title of the work, in the original language;
- for journals: usual title abbreviations according to international nomenclature and in the order: year, volume number, issue number (in parenthesis), first and last page numbers of the work.

For example:

Bodtger U, Linneberg A. Remission of allergic rhinitis: An 8-year observational study. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114(6): 1384-8.

- for books: name of the author/editor, title, publisher/institution, town where published, year of publication, first and last page numbers of the work.

For example:

Paupé J, Scheinman P (Eds.). *Allergologie Pédiatrique*. Flammarion, Paris, 1988: 324-42.

Illustrations

- Figures always on separate numbered sheets and legends on the back in pencil
- Figures always saved on separate numbered files
- Figures, diagrams: JPG, 300 dpi minimum
- Radiographs: JPG, 300 dpi minimum

All tables, figures, radiographs, etc. must be referenced in the text.

Legends should be put on a separate sheet, saved on a separate file and have the same numbers as the figures.

The "pdf" of the article will be sent to the author by e-mail.

EDRA SpA

Via Spadolini, 7
20141 Milano - Italy
Tel. 0039 (0)2-88184.1
Fax 0039 (0)2-88184.301
www.eurannallergyimm.com

TABLE OF CONTENTS

Original Articles

Work-related respiratory symptoms in Champagne vineyard workers 140
J-M. PEROTIN, C. BARBE, K.L. NGUYEN, J-F. FONTAINE, Y. GABIGNON, J. NARDI,
C. LAUNOIS, F. LEBARGY, F. LAVAUD, G. DESLEE

Pre-co-seasonal Allergen Immunotherapy in Parietaria allergic patients 145
G. CIPRANDI, M. SILVESTRI, S. BUTTAFAVA, F. FRATI

Different allergenicity of pollen extracts of three Mediterranean cypress species accounted
for cytological observations. 149
S. BARBERINI, G. DELLA ROCCA, R. DANTI, D. ZANONI, B. MORI, R. ARIANO, G. MISTRELLO

IL-31 and IL-33 circulating levels in allergic contact dermatitis 156
F. GUARNERI, P.L. MINCIULLO, C. MANNUCCI, F. CALAPAI, S. SAITTA, S. P. CANNAVÒ, S. GANGEMI

Case Reports

Delayed Anaphylaxis to the flu vaccine unrelated to known non-viral components 159
J. DAVID, J. HORBAL, H. TCHEUREKDJIAN, T. H. SHER, R. HOSTOFFER

Alpha-gal anaphylaxis: the first case report in Italy 161
A.M. CALAMARI, M. POPPA, D. VILLALTA, V. PRAVETTONI

Letter to the editor

What could be the role of molecular-based allergy diagnostics in detecting the risk
of developing allergic sensitization to furry animals? 163
G. LICCARDI, M.B. BILÒ, F. MANZI, A. PICCOLO, E. DI MARO, A. SALZILLO

J-M. PEROTIN^{1,2}, C. BARBE³, K.L. NGUYEN¹, J-F. FONTAINE¹, Y. GABIGNON⁴, J. NARDI¹,
C. LAUNOIS¹, F. LEBARGY¹, F. LAVAUD¹, G. DESLEE^{1,2}

Work-related respiratory symptoms in Champagne vineyard workers

¹Department of Respiratory Medicine, University Hospital, 51100 Reims, France

²INSERM UMRS 903, University Hospital, 51100 Reims, France

³Clinical Research Unit, University Hospital, 51100 Reims, France

⁴Department of Occupational Medicine, Mutualité Sociale Agricole, 51100 Reims, France

KEY WORDS

Rhinitis; respiratory symptoms; vineyard worker; work-related symptom

Corresponding author

Jeanne-Marie Perotin
Department of Respiratory Medicine
INSERM UMRS 903
University Hospital of Reims
45 Rue Cognacq Jay, 51100 Reims, France
Phone: +33 32 67 87 614
Fax: +33 32 678 40 30
E-mail: jimperotin-collard@chu-reims.fr

Summary

Background and aim. Vineyard workers (VW) are exposed to various respiratory allergens. The aims of the study were to determine the prevalence of work related respiratory symptoms (WRS) in Champagne VW in France and to analyze the relationships between symptoms, occupational exposure and sensitization profile. **Methods.** VW of Reims area were prospectively recruited between 2007 and 2010. Demographic and occupational characteristics were recorded. Respiratory symptoms were scored for each month of the past year. Results of respiratory functional tests and skin prick tests for common respiratory allergens, grape moulds and vine pollen were recorded. **Results.** 307 subjects were included. The prevalence of WRS was 11%. Compared to subjects with symptoms unrelated to work, subjects with WRS were more frequently sensitized to gramineae (34% vs 18%, $p = 0.05$), described ocular itching (74% vs 37%, $p < 0.001$) and seasonal symptoms (88% vs 69%, $p = 0.03$) mainly during lifting and trellising (57% vs 17%, $p < 0.001$). **Conclusion.** WRS are frequent in Champagne VW and are associated with a sensitization to gramineae and with activities performed close to vine in late spring.

Introduction

Work related (WR) asthma and rhinitis are frequent diseases with a significant morbidity and a social and economic impact. WR asthma represents 10 to 15% of adult asthma, and WR rhinitis is 2 to 4 times more common than asthma (1-4). Farmers are highly exposed to various inhaled agents such as organic or inorganic dust, endotoxin, micro-organisms, pollen, mites, moulds, animal danders and pesticides, inducing rhinitis, asthma, chronic bronchitis, hypersensitivity pneumonitis and organic dust toxic syndrome (5,6). WR respiratory symptoms are frequent in crop farmers (7). Allergic rhinitis and respiratory symptoms in fruit farmers are mainly related to pollen allergy, especially gramineae pollen (6). They can also be related to the use of pesticides (8) or exposure to mites (9,10). A few studies performed in Greece, Spain and South Africa, focused on occupational respiratory and/or skin symptoms among grape

farmers (6,8-9,11-13). However, the results of these studies are highly variable in terms of prevalence and severity of allergic diseases, which might be related to differences in the populations studied, culture practice, weather conditions, species of the grape and environmental exposure.

The aims of the study were to determine the prevalence of work related respiratory symptoms in workers of Champagne vineyard in France and to analyze the relationships between symptoms, occupational exposure and sensitization profile.

Methods

Study population

Champagne vineyard workers from 6 different Champagne vineyards of Reims area, France, were prospectively recruited

from the Department of Occupational Medicine of the Mutualité Sociale Agricole (MSA) between 2007 and 2010.

Ethics Statement

All subjects gave verbal informed consent for this non interventional study, as approved by the Institutional Review Board of the University Hospital of Reims, France.

Questionnaire

Once verbal informed consent was obtained, demographic data, smoking status, medical and occupational history were recorded on a standard form. Patients were asked to score rhinitis symptoms (sneezing, rhinorrhea, nasal obstruction, ocular itching) and pulmonary symptoms (cough, wheezing, dyspnea) from 0 (no symptom) to 4 (very severe symptom) retrospectively for each month of the last 12 months. Rhinitis was defined as the occurrence of two or more nasal symptoms or one nasal symptom and eye symptom (8,14). Occupational activities were precisely described, and their relationships with symptoms were noted. WR symptoms were defined as symptoms present during working hours and improving during evenings, weekends and/or holidays (6).

Allergy and respiratory functional tests

Skin Prick Tests (SPT) were performed by a trained physician on the volar side of the forearm for 9 different allergens: pollens of gramineae, betulaceae, *Artemisia vulgaris*, *Plantago lanceolata*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *Alternaria alternata* (100 IR/ml) and grape mould (*Botrytis cinerea*, 1000 IC/ml) (Stallergenes, Antony, France). Patients included in 2010 were also tested for grape pollen (*Vitis vinifera*, 1/10) (Stallergenes, Antony, France). Histamine (10 mg/ml) and saline were used as controls. A positive SPT was defined as the presence of a mean wheal diameter of 3 mm or more than the negative control (15). Sensitization was defined by a positive skin reaction to one or more allergens.

A forced expiratory volume ratio in one and six second (FEV1/FEV6) was measured for each patient using an expiratory flow meter (PiKo-6®, FERRARIS Respiratory, Hertford, UK) as previously described (16,17).

Statistical Analysis

Quantitative variables are described as mean $\pm$ standard deviation and qualitative data as number and percentage. Comparisons between groups were performed using Student t test, Wilcoxon test, Chi-square test or Fisher exact test, as appropriate. A p-value < 0.05 was considered as statistically significant. Data

analysis was performed using SAS version 9.0 (SAS Inc, Cary, NC, USA).

Results

Subjects characteristics and symptoms

Three hundred and seven subjects from 6 different Champagne vineyards were included. The mean age was 43 ± 9 years, with 78% men and 42% current or former smokers. Patients were drivers (26%), workers (62%) or managers (12%). Patients were sensitized in 36% of the cases: gramineae (13%), betulaceae (9%), artemisia (8%), *D. pteronyssinus* (20%), *Alternaria* (7%) and *Botrytis* (2%).

Thirty-eight percent of subjects described symptoms with a prevalence of rhinitis and pulmonary symptoms of 19% and 8% respectively. Symptoms were seasonal in 75% of subjects. Compared to subjects with no symptoms, subjects with symptoms were more frequently workers (70% vs 57%, $p = 0.03$) and more rarely drivers (17% vs 31%, $p = 0.006$), had a higher rate of sensitization (47% vs 29%, $p = 0.002$) and were more frequently sensitized to pollens of gramineae (23% vs 7%, $p < 0.001$), betulaceae (14% vs 6%, $p = 0.01$), *Plantago lanceolata* (9% vs 1%, $p = 0.0005$) and *D. farinae* (23% vs 10%, $p = 0.002$). Functional respiratory tests results were not associated with symptoms.

The prevalence of sneeze was associated with worker status, smoking history, and sensitization to gramineae, betulaceae and plantago (**table 1**). The prevalence of runny nose was associated with worker history, and activities of desuckering, lifting and trellising. The prevalence of itchy eye was associated with smoking history, sensitization to gramineae and activities of lifting and trellising. The prevalence of cough and wheezing were only associated with smoking history. The severity of rhinitis symptoms was associated with smoking history, activities of lifting and trellising and sensitization to gramineae, betulaceae, plantago and *Artemisia* (not shown). The severity of pulmonary symptoms was associated with sensitization to *D. farinae* but not with respiratory functional tests results (not shown).

Surprisingly, sensitization to botrytis was not associated with the prevalence, the type and the severity of symptoms.

Symptoms related to work

Twenty-nine percent of subjects with symptoms described symptoms related to work. The prevalence of work-related symptoms, rhinitis and respiratory symptoms were 11%, 6% and 3% respectively. Compared to subjects with symptoms unrelated to work ($n = 84$), subjects with work-related symp-

Table 1 - Relationships between demographic, functional, sensitization profile and occupational activities, and rhinitis and pulmonary symptoms.

	Sneeze		Runny nose		Nasal obstruction		Itchy eye		Cough		Wheezing		Dyspnea	
	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
n	70	49	54	65	87	32	62	57	99	20	111	8	105	14
Working status														
Worker	61%	82%*	59%	78%*	70%	72%	69%	74%	69%	75%	68%	88%	70%	64%
Smoking history														
Current smoker	51%	39%	54%	40%	45%	70%	58%	33%**	40%	75%**	43%	88%*	44%	64%
Pack-year	10 + 11	5 + 7*	10 + 10	7 + 10	8 + 10	8 + 10	10 + 11	5 + 8**	7 + 10	10 + 9	7 + 10	13 + 9	8 + 10	10 + 11
Functional tests results														
FEV1<80% Th	11%	12%	20%	5%**	11%	13%	13%	11%	12%	10%	12%	13%	13%	0%
FEV1/FEV6<0,7	6%	8%	7%	6%	8%	3%	8%	5%	5%	15%	6%	13%	6%	14%
Sensitization														
Gramineae	16%	33%*	19%	26%	21%	39%	15%	32%*	23%	20%	23%	25%	22%	29%
Betulaceae	7%	24%**	15%	14%	13%	26%	13%	16%	14%	15%	14%	25%	12%	29%
Plantago lanceolata	7%	12%	6%	12%	11%	4%	5%	14%	11%	0%	9%	13%	10%	7%
Occupational activity														
Desuckering	13%	14%	6%	20%*	16%	6%	16%	11%	14%	10%	13%	25%	13%	14%
Lifting / Trellising	24%	35%	19%	37%*	31%	22%	18%	40%**	30%	20%	28%	38%	29%	29%

* < 0.05; ** < 0.01

toms (n = 35) were more frequently women (45% vs 20%, p = 0.005), more frequently sensitized to gramineae (34% vs 18%, p = 0.05) and described more frequently seasonal symptoms (88% vs 69%, p = 0.03) and ocular itching (74% vs 37%, p < 0.001). Working status did not differ between subjects with symptoms related and unrelated to work.

Compared to patients with symptoms unrelated to work, patients with symptoms related to work described more frequently symptoms during the activities of lifting and trellising (57% vs 17%, p < 0.001). Analysis of monthly distribution of symptoms showed that patients with symptoms related to work described symptoms mainly in May and June (**figure 1**).

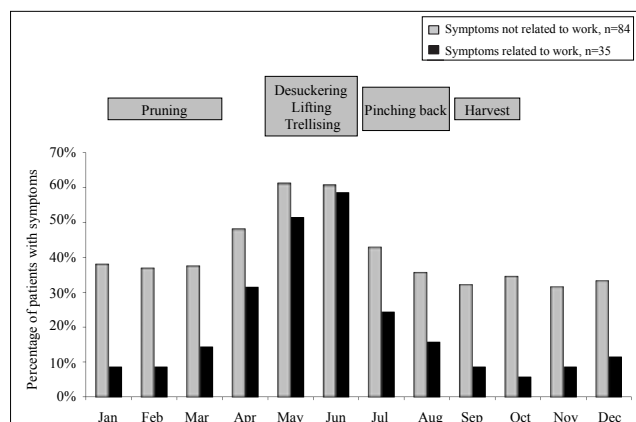
Vine pollen sensitization

To determine if vine pollen sensitization was associated with the high rate of work-related symptoms in the late spring, a sub-population of 76 subjects was tested by SPT with a vine pollen

extract. Eleven subjects (14%) were sensitized to vine pollen (**table 4**). Patients sensitized and not sensitized to vine pollen did not differ in terms of demographic and functional characteristics and working status. Patients sensitized to vine pollen were more frequently co-sensitized to pollens of gramineae (73% vs 15%, p = 0.0002), betulaceae (45% vs 9%, p = 0.007), plantago (36% vs 2%, p = 0.001), artemisia (36% vs 9%, p = 0.03) and to botrytis (27% vs 2%, p = 0.009). We did not find any vine pollen monosensitized worker.

Analysis of symptoms described by patients sensitized and not sensitized to vine pollen did not find any difference in the prevalence of symptoms (63% vs 46% respectively, ns) and work-related symptoms (22% vs 18% respectively, ns), the type or the severity of symptoms (not shown). All 37 subjects with symptoms described symptoms during the activities of desuckering, lifting, trellising and fertilizers use, with no significant difference between patients sensitized and not sensitized to vine pollen.

Figure 1 - Monthly distribution of symptoms related and not related to work.



Discussion

In this study we described for the first time the prevalence of rhinitis and pulmonary symptoms in a large population of Champagne vineyard workers. Subjects were systematically tested for environmental allergens and a subpopulation was tested for vine pollen. We found that the prevalence of WR rhinitis and respiratory symptoms were 6% and 3% respectively, associated with a higher rate of sensitization to gramineae but not to vine pollen and that symptoms occurred mainly in late springs during the activities of lifting and trellising.

In our study, the prevalence of rhinitis and respiratory symptoms were 19% and 8% respectively. These rates were similar to a recent study describing rhinitis in 25% and asthma in 6% of the general French population (14). The prevalence of rhinitis in crop farms is described from 13% to 41% of farmers, symptoms of asthma from 3% to 7%, depending on the studies performed in farmers from different European countries and exposed to different cultures (fruits/vegetables, flowers, grain) (5,6,18,19).

WR symptoms were described by 11% of the subjects in our study: WR rhinitis in 6% and WR pulmonary symptoms in 3% of the subjects. Previous European study described WR symptoms in 25% of fruit farmers (7). Spiewak described occupational sneezing and rhinorrhea in 16% of a population of crop farmers, cough and dyspnea in 9% (20). However, this last study was performed in a farming student population exposed to grain dust. A study comparing grape farmers to a control population in Greece showed that grape farming was a risk factor for occupational sneezing (OR 2.9), rhinorrhea (OR 2.5), cough (OR 3.7), and dyspnea (OR 3.8) (6).

Interestingly, smoking history was associated with the prevalence and the severity of sneeze, itchy eye, cough and wheezing in our study. Cigarette smoke is known as an air pollutant

triggering airway inflammation and increasing the severity of asthma and rhinitis (21). The prevalence of smokers in our study was 42%, higher than French general population (33% in 2006) (22) but similar to previous studies performed in European crop farmers (5,19).

The rate of sensitizations in our study in the whole population was similar to previous study (23). Interestingly, we found an association between the prevalence and the severity of symptoms and sensitization to pollens and mites, but not to botrytis. A sensitization to vine pollen was found in 14% of subjects in our study, whereas a previous study focusing on workers handling grapes found a prevalence of 3.7% (13). In a case report, Feo Brito *et al* clearly demonstrated immunologic sensitization and respiratory allergy to vine pollen by SPT, specific IgE level and provocation test (11). Interestingly, we found frequent co-sensitization with other pollens and botrytis. However, we did not find any association between vine pollen sensitization and the prevalence or the severity of occupational symptoms. Other occupational allergens have been described in vineyard workers or crop farmers: *Diphotaxis erucoides* in vineyard (11), spider mite (*Tetranychus urticae* and *Tetranychus macdanieli*) in grape farms (9,24) and citrus red mite (*Panonychus citri*) in citrus farms (10). Moreover, pesticide use has been shown to be associated with a higher rate of allergic rhinitis symptoms in grape farmers (8). We did not precisely evaluate the impact of pesticides or fertilizer use on rhinitis or respiratory symptoms in our study.

Interestingly, symptoms were associated with occupational activities performed manually close to vine during the late spring: desuckering, lifting and trellising. Desuckering is performed in mid-May and consists in removing any non-fruitful shoots to encourage the vine to focus its energies on the fruit-bearing shoots. Lifting is performed at the end of May and consists in raising the shoots from the ground and attaching them vertically above the main support wires, giving the vines their architecture and making it easier for operators to do their work. Trellising, performed in June, consists in separating the shoots and stapling them to wires in order to allow maximum light penetration and air circulation that prevents rot. These activities are performed during gramineae pollination (June - July) and vine pollination (first 15 days of June).

Conclusion

In summary, we showed that WR symptoms were frequent in Champagne WV, occurring more frequently in women and associated with sensitization to gramineae and with activities of lifting and trellising performed close to vine in late spring. Based on our results, a closer monitoring of such workers could be proposed, including functional respiratory tests, especially in case of pulmonary symptoms (cough, wheezing or dyspnea), and skin prick tests with pollens extracts of gramineae, betula-

ceae and herbaceae (vine pollen is not commercially available), mites and moulds extracts (*alternaria*, *botrytis*). Such a monitoring could help to reduce the impact of symptoms on work and leisure.

References

- Vandenplas O, Toren K, Blanc PD. Health and socioeconomic impact of work-related asthma. *Eur Respir J*. 2003;22:689-97.
- Tarlo SM, Balme J, Balkissoon R, Beach J, Beckett W, Bernstein D, Blanc PD, Brooks SM, Cowl CT, Daroowalla F, Harber P, Lemiere C, Liss GM, Pacheco KA, Redlich CA, Rowe B, Heitzer J. Diagnosis and Management of Work-Related Physicians Asthma: American College of Chest Consensus Statement. *Chest*. 2008;134:1S-41S.
- Moscato G, Vandenplas O, Gerth Van Wijk R, Malo JL, Perfetti L, Quirce S, Walusiak J, Castano R, De Groot H, Folletti I, Gautrin D, Yacoub MR, Perfetti L, Siracusa A. EAACI position paper on occupational rhinitis. *Respir Res*. 2009;10:16.
- Malo JL, Chan-Yeung M. Occupational asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108:317-28.
- Monso E, Magarolas R, Radon K, Danuser B, Iversen M, Weber C, Opravil U, Donham KJ, Nowak D. Respiratory Symptoms of Obstructive Lung Disease in European Crop Farmers. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:1246-50.
- Chatzi L, Prokopakis E, Tzanakis N, Alegakis A, Bizakis I, Siafakas N, Lionis C. Allergic Rhinitis, Asthma and Atopy among Grape Farmers in a Rural Population in Crete, Greece. *Chest*. 2005;127:372-8.
- Radon K, Monso E, Weber C, Danuser B, Iversen M, Opravil U, Donham K, Hartung J, Pedersen S, Garz S, Blainey D, Rabe U, Nowak D. Prevalence and risk factors for airway diseases in farmers - Summary of results of the European farmers' project. *Ann Agric Environ Med*. 2002;9:207-213.
- Chatzi L, Alegakis A, Tzanakis N, Siafakas N, Kogevinas M, Lionis C. Association of allergic rhinitis with pesticide use among grape farmers in Crete, Greece. *Occup Environ Med*. 2007;64:417-21.
- Jeebhay ME, Baatjies R, Chang YS, Kim YK, Kim YY, Major V, Lopata AL. Risk Factors for Allergy due to the Two-Spotted Spider Mite (*Tetranychus urticae*) among Table Grape Farm Workers. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;144:143-9.
- Kim YK, Son JW, Kim HY, Park HS, Lee MH, Cho SH, Min KU, Kim YY. Citrus red mite (*Panonychus citri*) is the most common sensitizing allergen of asthma and rhinitis in citrus farmers. *Clin Exp Allergy*. 1999;29:1102-9.
- Feo Brito F, Martinez A, Palacio R, Mur P, Gómez E, Galindo PA, Borja J, Martínez J. Rhinoconjunctivitis and asthma caused by vine pollen: A case report. *J Allergy Clin Immunol*. 1999;103:262-6.
- Chatzi L, Alegakis A, Kruger-Krasagakis S, Lionis C. Skin Symptoms and Work-Related Skin Symptoms among Grape Farmers in Crete, Greece. *Am J Ind Med*. 2006;49:77-84.
- Kalogeromitros D, Rigopoulos D, Gregoriou S, Mousatou V, Lyris N, Papaioannou D, Katsarou-Katsari A. Asymptomatic sensitisation to grapes in a sample of workers in the wine industry. *Occup Environ Med*. 2004;61:709-11.
- Bauchau V, Durham SR. Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. *Eur Respir J*. 2004;24(5):758-64.
- Dreborg S. Histamine reactivity of the skin. *Allergy*. 2001;56:359-64.
- Frith P, Crockett A, Beilby J, Marshall D, Attewell R, Ratnanesan A, Gavagna G. Simplified COPD screening: validation of the PiKo-6® in primary care. *Prim Care Respir J*. 2011;20(2):190-8.
- Sichletidis L, Spyrtos D, Papaioannou M, Chloros D, Tsiotsios A, Tsagaraki V, Haidich AB. A combination of the IPAG questionnaire and PiKo-6® flow meter is a valuable screening tool for COPD in the primary care setting. *Prim Care Respir J*. 2011;20(2):184-9.
- Elholm G, Omland O, Schlünssen V, Hjort C, Basinas I, Sigsgaard T. The cohort of young Danish farmers - A longitudinal study of the health effects of farming exposure. *Clin Epidemiol*. 2010;2:45-50.
- Monsó E, Schenker M, Radon K, Riu E, Magarolas R, McCurdy S, Danuser B, Iversen M, Saiki C, Nowak D. Region-related risk factors for respiratory symptoms in European and Californian farmers. *Eur Respir J*. 2003;21(2):323-31.
- Spiewak R, Gora A, Horoch A, Dutkiewicz J. Atopy, allergic diseases and work-related symptoms among students of agricultural schools: first results of the Lublin study. *Ann Agric Environ Med*. 2001;8:261-7.
- Peden D, Reed CE. Environmental and occupational allergies. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:S150-60.
- Bogdanovica I, Godfrey F, McNeill A, Britton J. Smoking prevalence in the European Union: a comparison of national and transnational prevalence survey methods and results. *Tob Control*. 2011;20(1):e4.
- Bousquet PJ, Chinn S, Janson C, Kogevinas M, Burney P, Jarvis D; European Community Respiratory Health Survey I. Geographical variation in the prevalence of positive skin tests to environmental aeroallergens in the European Community Respiratory Health Survey I. *Allergy*. 2007;62(3):301-9.
- Carbonelle M, Lavaud F, Bailly R. Les acariens de la vigne sont-ils susceptibles de provoquer une allergie respiratoire? *Rev Fr Allergol*. 1986;26(4):171-8.

G. CIPRANDI¹, M. SILVESTRI², S. BUTTAFAVA³, F. FRATI³

Pre-co-seasonal Allergen Immunotherapy in Parietaria allergic patients

¹IRCCS-A.O.U. San Martino, Genoa, Italy

²IRCCS-Istituto Giannina Gaslini, Genoa, Italy

³Medical and Scientific Department, Stallergenes, Milan, Italy

KEY WORDS

Parietaria; allergic rhinitis; allergen immunotherapy; pre-co-seasonal course; symptoms; medications

Corresponding author

Giorgio Ciprandi
Viale Benedetto XV, 6
16132 Genoa, Italy
Phone: + 39 10 35338120
Fax: + 39 10 5556696
E-mail: gio.cip@libero.it

Summary

Background. Even though the *Parietaria* pollen season may be rather long, many physicians think that *Parietaria* pollen is a perennial allergen present along the whole year. In fact, many doctors prefer to prescribe allergen immunotherapy (AIT) in *Parietaria* allergic patients, using continuous courses. On the other hand, physicians usually prescribe pre-co-seasonal AIT course for other pollen allergies. **Objective.** This study aimed at investigating whether a single pre-co-seasonal AIT course could be effective in *Parietaria* allergic patients. **Methods.** Globally, 59 subjects (31 males, mean age 35.9 years) were retrospectively evaluated. All were treated with SLIT as a pre-co-seasonal course: 33 with *Parietaria* extract and 26 with birch extract. Patients' perception of symptom severity and medication use was assessed by visual analogue scale, comparing the previous pollen season and the present. **Results.** The *Parietaria* 2012 pollen season started from the 60th day and ended at the 205th day of 2012. A single pre-co-seasonal SLIT course was able to significantly ($p < 0.0001$) reduce symptom severity and medication use. **Conclusion.** This preliminary study demonstrates that *Parietaria* pollen season in Genoa lasted about six months and a single pre-co-seasonal SLIT *Parietaria* course could be sufficient to reduce symptom severity and medication use.

Introduction

Allergic rhinitis (AR) is characterized by an IgE-mediated inflammation. Several allergens may cause AR, however pollens are the most common source. It is to note that any pollen has a particular pollination season and overall biological properties, mainly concerning its pro-inflammatory activity (1). In addition, it has been demonstrated that allergic inflammation is closely related to pollen exposure duration and causes symptom occurrence (2).

Parietaria officinalis is a widespread weed in the Mediterranean area, and it is cause of frequent sensitization (3). Even though the *Parietaria* pollen season may be rather long, many physicians think that *Parietaria* pollen is a perennial allergen present along the whole year. This thought may have a practical implication

in allergen immunotherapy (AIT) prescription. In fact, many doctors prefer to prescribe AIT in *Parietaria* allergic patients, using continuous courses. On the other hand, physicians usually prescribe pre-co-seasonal AIT course for other pollen allergies. However, the real duration of *Parietaria* pollen season is never perennial, and also depends on climate factors. In fact, *Parietaria* pollen season usually lasts for about 6-7 months with two peaks: the main during the spring and the second during early autumn, but never for the whole year.

Therefore, the aim of this study was to investigate whether a pre-co-seasonal course is able of improving symptoms and reducing drug use in patients with AR due to *Parietaria* allergy, comparing the findings with patients allergic to a typical seasonal allergen, such as birch, and treated with an identical course.

Materials and Methods

We retrospectively analyzed the data concerning a group of patients with AR, who were consecutively visited during 2011 and treated with AIT at the Allergy Office of Genoa. All patients assumed sublingual immunotherapy (SLIT) closely before and during the beginning of 2012 pollen season (the so called pre-co-seasonal course).

Because SLIT is commercially available and was prescribed for indications that are recognized both nationally and internationally, our ethics committee required written informed consent for the diagnostic tests and the clinical data management only, and this was obtained from each patient.

Inclusion criteria were: i) documented diagnosis of allergic rhinitis based on patient-reported symptoms and physical examination, ii) documented sensitization (such as positive skin prick test and/or presence of allergen-specific serum IgE), iii) clinically relevant allergic symptoms (such as really perceived and bothersome symptoms), iv) demonstration of a consistent relationship between inhalation of sensitizing allergen and occurrence of respiratory symptoms for defining the causal allergen (such as true allergy), and v) AIT prescription for a single allergen: Parietaria or birch.

Exclusion criteria were: i) suffering from other allergic diseases (i.e. atopic dermatitis, eczema), ii) clinically relevant anatomic impairment (such as septum deviation or nasal polyps), iii) acute or chronic disorders representing a contraindication to AIT (e.g. autoimmune disease, malignancy, etc), and iv) polyallergy (such as true allergy to more allergens).

Globally, 59 subjects (31 males) with ages ranging between 17 and 72 years (mean age 35.9 years) were enrolled. All were treated with SLIT as a pre-co-seasonal course: 33 with Parietaria extract and 26 with birch extract.

Sensitization to the most common classes of aeroallergens was assessed by performing a skin-prick test. It was performed as stated by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (4). The allergen panel consisted of the following: house-dust mites (*Dermatophagoides farinae* and *D. pteronyssinus*), cat, dog, grasses mix, Compositae mix, *P. judaica*, birch, hazel trees, olive trees, cypress, *Alternaria tenuis*, *Cladosporium*, and *Aspergilli* mix. The concentration of allergen extracts was 100 immune reactivity/mL (Stallergenes, Milan, Italy). A histamine solution in distilled water (10 mg/mL) was used as positive control and the glycerol-buffer diluent of the allergen preparations was used as negative control. Each patient was skin tested on the volar surface of the forearm using 1-mm prick lancets (Stallergenes). The skin reaction was recorded after 15 minutes by evaluating the skin response in comparison with the wheal given by the positive and the negative control. A wheal diameter of at least 3 mm was considered as a positive reaction. In addition, allergen-specific IgE levels were determined by

using the IFMA procedure (ImmunoCAP Thermo Fisher Scientific Specific). IgE levels were considered positive over 0.35 kU/L.

Clinical evaluations were done at baseline and at the end of the pollen season: late May for birch allergic patients and autumn for Parietaria allergic subjects. Evaluations included assessment of symptoms severity and medication use, compared to the previous pollen season records.

AIT efficacy was assessed by the patient's perception of improvement, using visual analogue scale (VAS) according to validated criteria (5). The AIT effectiveness was evaluated, considering both clinical severity and drug use reduction (6). Patients globally evaluated both parameters, reporting their perception by the VAS. VAS must assess a global evaluation including all symptoms (for eye: itching, tearing and redness; for nose: itching, sneezing, rhinorrhea and obstruction). Antihistamines and intranasal corticosteroids were prescribed on demand and the perception of their use was assessed by VAS. In this study, the VAS was a 10-cm horizontal line on which 0 implied no symptom or drug use, while 10 corresponded to very severe symptom or maximal drug use. With a movable marker, the patient could mark any point on the 10-cm segment which best described his/her perception. No interval marker was visible on the line.

Pollen count was monitored along the 2012. Data concerned the Genoa area and were provided by the "PollinieAllergia" network (info@pollinieallergia.net).

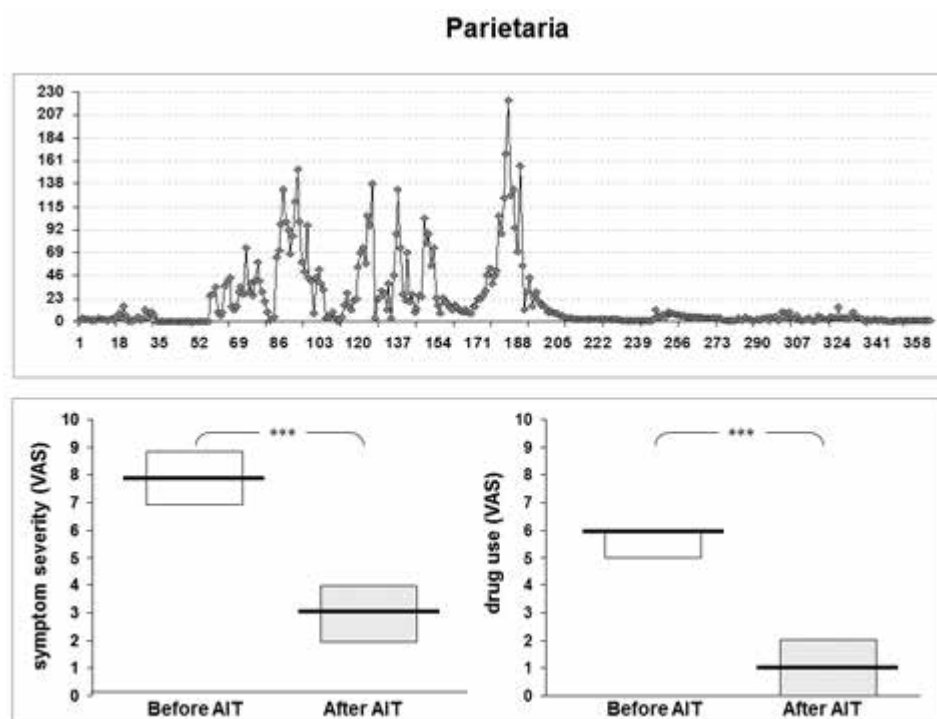
SLIT (Staloral 300, Stallergenes Italia, Milan, Italy) was administered as a pre-co-seasonal course (5 months). The maintenance dose was 4 pressures administered 3 times a week on alternate days. The daily dose was: Bet v 1: 75 mcg/die and Par j 1: 105 mcg/die.

Statistical analysis was performed with the GraphPad software package (analysis (GraphPad Prism Software Inc, San Diego, CA, USA). Wilcoxon signed rank test was performed. Data were reported as median and interquartiles.

Results

The Parietaria 2012 pollen season started from the 60th day and ended at the 205th day of 2012, with three peaks: the first occurred in April, the second in May and the third in June (**figure 1**). The birch 2012 pollen season started from the 58th day and ended at the 125th day of 2012, with an initial peak (**figure 2**). Parietaria allergic patients achieved a significant improvement after the pre-co-seasonal SLIT course: in fact, symptom severity perception assessed by VAS significantly diminished (from 8 (7-9) concerning 2011 pollen season to 3 (2-4) concerning the 2012 pollen season; $p < 0.0001$), as well as perception of medication use assessed by VAS significantly reduced (from 6 (5-6) concerning 2011 pollen season to 1 (0-2) concerning the 2012 pollen season; $p < 0.0001$), as reported in **figure 1**.

Figure 1 - Upper panel: *Parietaria* pollen count during 2012; Lower panel: symptom severity and drug use perception assessed by patients before and after AIT with *Parietaria* extract.



Birch allergic patients also achieved a significant improvement after the pre-co-seasonal SLIT course: in fact, symptom severity perception assessed by VAS significantly diminished (from 8 (7-9) concerning 2011 pollen season to 3 (2-4) concerning the 2012 pollen season; $p < 0.0001$), as well as perception of medication use assessed by VAS significantly reduced (from 5 (5-6) concerning 2011 pollen season to 1.5 (0-2) concerning the 2012 pollen season; $p < 0.0001$), as reported in **figure 2**.

Discussion

Pollen allergy, such as hay fever, is the most common allergic disorder, as it affects up to 25% of general population (7). In this regard, *Parietaria* allergy is very frequent mainly in the Mediterranean area (8). However, many physicians believe that *Parietaria* pollen season may hold over the whole year; this faith may have a consequence in the clinical practice about the schedule of Allergen Immunotherapy (AIT). In fact, most prescriptions for *Parietaria* allergic patients concern perennial course of AIT. The present study addressed this relevant issue: in fact, it aimed at verifying whether a pre-co-seasonal SLIT course was able of affecting symptom severity and medication use in a group of patients with allergic rhinitis due to *Parietaria* allergy. In addition,

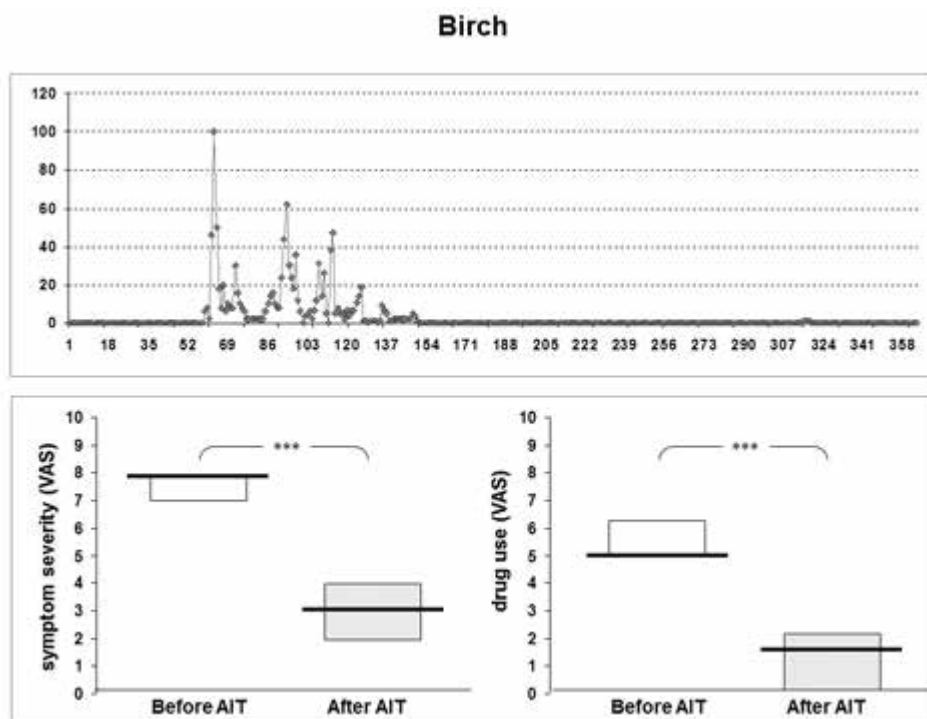
a comparison group was considered, such as patients allergic to a typical spring pollen (birch) and treated with a pre-co-seasonal SLIT course.

The present study demonstrated some relevant findings. First, *Parietaria* pollen 2012 season lasted for about five months: surely a long season, but not perennial. It is noteworthy that this trend occurred also in other years (data not shown). In addition, pollen was typically present with a wave fashion with peaks and absence. Birch pollen season was shorter: about 3 months during 2012.

Second, a pre-co-seasonal *Parietaria* SLIT course was able to significantly reduce the patients' perception of both symptom severity and medication use, compared with the scores of the previous pollen season. This finding may be confirmed considering the efficacy of a pre-co-seasonal SLIT course in birch allergic patients. The outcome was the same in the two groups. It is to note that a pre-co-seasonal AIT course is commonly considered as a reliable schedule in patients with pollen allergy.

The present study suggests relevant clinical information: *Parietaria* allergy, even though long, lasts for less than half year, and overall a single pre-co-seasonal SLIT *Parietaria* course may be sufficient for achieving AIT efficacy. This issue might suggest

Figure 2 - Upper panel: birch pollen count during 2012; Lower panel: symptom severity and drug use perception assessed by patients before and after AIT with birch extract.



a practical implication about AIT prescription: in *Parietaria* allergic patients, a single pre-co-seasonal AIT course may be prescribed, similarly to other pollen species.

The main limitations of this study is that was conducted as a retrospective experience, and its restricted cohort. In this regard, the investigation should be extended to more years and a greater number of subjects. In addition to this, the investigation should be replicated as a longitudinal study.

Conclusions

This preliminary study demonstrates that *Parietaria* pollen season in Genoa lasted about five months in 2012 and a single pre-co-seasonal SLIT *Parietaria* course could be sufficient to reduce symptom severity and medication use.

References

1. Gelardi M, Maselli del Giudice A, Candrea T, Fiorella ML, Allen M, Klersy K, Marseglia GL, Ciprandi G Nasal resistance and allergic inflammation depend on allergen type. *Int Arch Allergy Immunol.* 2006;141:384-9.
2. Ricca V, Landi M, Ferrero P, Bairo A, Tazzer C, Canonica GW, Ciprandi G Minimal persistent inflammation is present also in patients with seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;105:54-7.
3. D'Amato G, Cecchi L, Bonini S, Nunes C, Annesi-Maesano I, Beherend H, Liccardi G, Popov T, van Cauwenberge P. Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy.* 2007;62:976-90.
4. Dreborg S (Ed.). EAACI Subcommittee on Skin Tests. Skin tests used in type I allergy testing. Position Paper. *Allergy.* 1989;44:S22-31.
5. Bousquet PJ, Combescure C, Neukirch F, Klossek JM, Mechin H, Daures JP, et al. Visual analog scales can assess the severity of rhinitis graded according to ARIA guidelines. *Allergy.* 2007;62:367-72.
6. Ciprandi G, Incorvaia C, Dell'Albani I, Ricciardi L, Puccinelli P, Frati F, Rinobit Study Group.. Patient's perception in assessing allergen immunotherapy. *Allergol Immunopathol* doi: 10.1016/j.aller.2013.07.006.
7. Bousquet J, Khaltayev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 Update (in collaboration with the World Health Organization, GA2LEN and AllerGen). *Allergy.* 2008;63(Suppl. 86):8-160.
8. D'Amato G, Gentili M, Russo M, Mistrello G, Saggese M, Liccardi G, Falagiani P. Detection of *Parietaria judaica* airborne allergenic activity: comparison between immunochemical and morphological methods including clinical evaluation. *Clin Exp Allergy.* 1994;24:566-74.
9. Ciprandi G, Incorvaia C, Puccinelli P, Soffia S, Scurati S, Frati F. The polysensitization as a challenge for the allergist: the suggestions provided by the POLISMAIL studies. *Expert Opin Biol Ther.* 2011;11:715-22.

S. BARBERINI¹, G. DELLA ROCCA¹, R. DANTI¹, D. ZANONI², B. MORI¹, R. ARIANO³, G. MISTRELLO²

Different allergenicity of pollen extracts of three Mediterranean cypress species accounted for cytological observations

¹Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante. IPSP-CNR, Sesto Fiorentino, Italy

²Lofarma S.p.A., R & D, Milano, Italy

³Azienda Sanitaria Imperiese (ASL 1 - Liguria) Bordighera, Italy.

KEY WORDS

Cupressaceae; Cupressus macrocarpa; Skin Prick Test; Pollen Cytology; pollinosis

Corresponding author

Gianni Mistrello
Research Department
Lofarma S.p.A. Italy
Viale Cassala, 40
20143 Milano, Italy
Phone: +39 02 581 98 225
Fax: +39 02 581 98 302
E-mail: misgia@lofarma.it

Summary

Background. *Cypresses play an important role in the urban landscape of the Mediterranean region, releasing a huge amount of allergenic airborne pollen which causes a specific pollinosis in exposed people.* **Objective.** *The aim of this work is to evaluate, in vivo and in vitro, the potential allergenicity of Cupressus macrocarpa pollen, and to compare it with the allergenicity observed for C. arizonica and C. sempervirens.* **Methods.** *Pollen extracts of the three species were prepared, to determine their protein profile through SDS PAGE analysis and to evaluate their allergenic potential through EAST inhibition assays and SPT. Pollen grain composition was evaluated using a cytochemical approach with optical microscopy.* **Results.** *SDS PAGE, EAST inhibition and SPT indicated the higher allergenic potential of C. arizonica compared to C. sempervirens and C. macrocarpa. No significant differences in allergenic potential were found between the latter two species. Cytochemical observations reveal higher β -glucans and protein content in the intine of C. arizonica during hydration.* **Conclusion.** *The higher protein content found in C. arizonica pollen grains extract may be due to higher enzyme activity leading to the movement of β -glucans and pectins from the intine to the partially developed pollen cell wall during hydration. This could explain the higher potential allergenicity of C. arizonica in respect to C. macrocarpa and C. sempervirens.*

Introduction

The genus *Cupressus* is one of the largest genera in the Cupressaceae family and includes species that are mainly spread throughout the temperate regions of the Northern hemisphere. In the Mediterranean area, Italian cypress (*Cupressus sempervirens*) is the most common species and has been traditionally cultivated as an ornamental tree, becoming a typical feature of both urban and rural landscapes. Besides Italian cypress, *C. macrocarpa* and *C. arizonica* are two exotic species (native of Northern and Central Americas) which have been widely planted in Europe for decades due to their aesthetic relevance and marked adaptability to different climatic and soil conditions.

These three cypress species influence the pollen map of many cities (1). Cypresses generally release a large amount of anemophilous pollen, and have been recognized to be responsible for a significant component of total annual airborne pollen of Mediterranean areas (2,3). According to recent surveys, sensitization to cypress pollen has increased in central Italy (4), in southern France where it reached more than 20% (5) and in Turkey (6).

The early pollination period (January to March) of Cypress trees makes precise diagnoses difficult because allergic symptoms can be confused with seasonal illness such as flu or common colds. The real incidence of this allergy may therefore be greatly un-

derestimated, despite the availability of more powerful (effective) Cypress pollen extracts which facilitate diagnosis (7,8). Reported divergence in allergenic responses to pollen extracts of different cypress species may be related to the amount of allergens present in the interior wall (intine) of pollen grains, as the pollen exterior wall (exine) is discarded during aqueous extract preparation. It has been demonstrated that the intine contains pectic substances with protein inclusions and a dominant cellulosic component (polymeric carbohydrates) (9); both proteins and carbohydrates could be involved in the reaction with IgE (Immunoglobulin type E) (10).

The main protein allergens of *C. arizonica* and *C. sempervirens* pollen grains have been characterized, showing four main groups of molecular families with diverse biological functions: pectate lyase, polygalacturonase, thaumatin-like proteins and calcium-binding proteins (7,11,12,13,14). Among them, Cup a1 and Cup s1, a 43–45 kDa proteins belonging to pectate-lyase family, are currently recognized as the major cypress pollen allergens (15). The cross-reactivity within cupressaceae family has been demonstrated, in particular between *C. arizonica* and *C. sempervirens* (16); however, no information is available in the literature regarding the potential allergenicity of *C. macrocarpa* pollen and its role in inducing allergies.

The aim of this work is to evaluate, *in vivo* and *in vitro*, the potential allergenicity of *C. macrocarpa* pollen, and to compare it with the allergenicity observed for the more studied *C. sempervirens* and *C. arizonica*. The pollen of the three *Cupressus* species was also observed using transmitted-light and fluorescence microscopy to investigate potential cytological aspects related to allergenicity. Information derived from pollen cytology could provide a new key of interpretation of their potential allergenic effects.

Materials and Methods

Pollen collecting and storage

Cupressus arizonica, *C. sempervirens* and *C. macrocarpa* (Ca, Cs and Cm) pollen was kindly supplied by the Institute for Sustainable Plant Protection (IPSP) of CNR, Florence, Italy. Pollen was obtained from several adult trees belonging to the IPSP-CNR cypress germplasm collection. Five twigs per tree bearing mature microsporophylls (17) were randomly cut, placed in plastic bags and processed in the laboratory within 24 hours. They were arranged in vases placed on a sheet of wrapping paper and maintained at 25°C to collect the shed pollen. The collected pollen was cleaned with a 300 µm sieve and then dehydrated at room temperature under a vacuum using silica gel, until it reached a relative humidity of 30–35%. The pollen was then stored at -20°C in hermetic plastic tubes until analysed.

Preparation of Cypress extracts

Potential cross species contamination of the collected pollen was assessed using light microscopy, with a purity of > 99% being observed in all of the samples. Pollen samples of the three cypress species were defatted separately, before 5% (w/v) aqueous extraction in 0.125 M NH_4HCO_3 for 4h under stirring at 4°C. Suspensions were centrifuged at 20,000 *g* for 1 hour at 20°C and supernatants were dialyzed against distilled water. Pollen extracts were separately then treated with ammonium sulphate in order to obtain precipitated (PPT). To achieve protein precipitation, ammonium sulfate was slowly added to obtain an 80% saturated solution. After 4 h of stirring at 4°C, precipitated proteins from each extract were recovered by centrifugation at 20,000 *g* for 1 hour at 4°C, re-dissolved in 1/10 of the initial volume with water, then dialyzed extensively against water to eliminate the residual salt and finally against 0.05 M NH_4HCO_3 . Protein content of both extracts was determined according to a procedure previously described (18) using the commercial Bio-Rad Protein Assay Dye Reagent (Bio-Rad, Milan, Italy) and BSA reference standard. All extracts were then lyophilized and stored at 4°C until use.

SDS-PAGE analysis

Electrophoresis of Ca, Cs and Cm extracts was carried out in a 10% polyacrylamide precast Nupage Bis-Tris gel according to the manufacturer's instructions (Novex, Prodotti Gianni, Milan, Italy) at 180 mA for 1 h. Thirty µg of each extract was loaded per 1 cm² of gel. The resolved proteins were stained with Coomassie Brilliant Blue.

EAST-inhibition

Extracts of Ca, Cs or Cm (initial concentration of 0.05 mg/l) were diluted two-fold in PBS-1% BSA and used for the EAST analysis. Fifty µl of each extract dilution were added in tubes to 50 µl of a pool of sera from cypress allergic subjects, and incubated 2 hours at room temperature. The sera pool of non allergic individuals was also incubated and used as a negative control. Subsequently, beads coated with Ca extract prepared following a method previously described (7), were added to each tube and incubated overnight. After several washings, specific IgE bounded to the bead was detected by 30 min of incubation with goat peroxidase anti-human IgE. A colorimetric reaction was developed by adding TMB- H_2O_2 , then stopped after 20 min with HCl. Absorbance was measured at 450 nm (PowerWave microplate reader, Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, USA).

Data were expressed as percentage of inhibition in respect to maximum binding obtained without the inhibitor. To compare the relative allergenic potency, the C_{50} (defined as the volume of extract able to inhibit IgE binding by 50% of Ca, Cs or Cm extracts) was calculated.

Human sera and skin prick test

Cypress pollen allergic human sera were provided by Dr. Ariano (Modulo di Allergologia, Bordighera Hospital, Imperia, Italy). Patients referring clinical allergic symptoms were previously subjected to SPT with commercial products (Lofarma S.p.A., Milan, Italy), consisting of a mixture of Ca and Cs pollen extracts. A total of 38 patients (male 20, average age 33.5; female 18, average age 30.3) were included in the study. All these patients were negative for Birch and Grass. Some of them were also positive to mites or Parietaria. Their sera were harvested and used as pool for EAST inhibition experiments. Pool of sera from non allergic patients was used as a negative control. Positive patients were enrolled after having given their informed consent and SPT were performed once more, separately, with Ca Cs and Cm extracts. All the SPT preparations were diluted in saline solution, with 50% glycerol histamine solution (0.1%) used as a positive control.

All the patients subjected to SPT are considered habitually and equally exposed to pollen of the three cypress species because of their widespread distribution in Liguria, the region where the sampled human sera come from.

Cytochemistry

Stored pollen was first kept at room temperature for 10 min and hydrated in 2% sucrose water solution (25,000 grains/ μ l) before analysis. Pollen composition was determined after addition of different dyes to the hydration solution: calcofluor to highlight β -glucans (19), and aniline blue black and a combination of aniline blue black with neutral red for protein staining (20). Observations were carried-out 1-2 min after exine breakage due to hydration and swelling of the intine layer, and repeated at 10 min intervals for 1 hour.

All observations were carried out using transmitted-light and fluorescent microscopy utilizing a Laborlux S (Leitz) combined with a digital camera and dedicated software (Digital Sight DA-5M, Nikon). The excitation wavelength for calcofluor was 405 nm. For all species, measurements were performed on seven replicates of 50 grains each.

Statistical analyses

In SPT, comparison of wheal diameter from patients treated with the three different extracts was performed using the

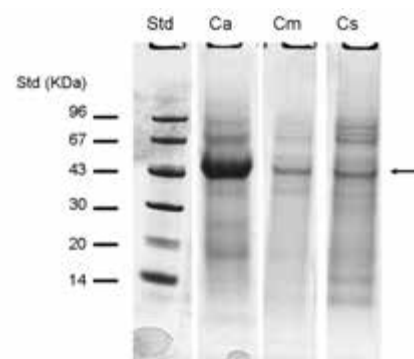
Mann-Whitney test. Statistical significance was assumed at $p = 0.01$, and data are expressed as mean $\pm$ SD.

Results

SDS-PAGE analysis

The SDS profile of the three *Cupressus* species extracts is shown in **figure 1**. A similar profile appears between Cs and Cm extracts in contrast to the Ca extract; in particular as concerning the concentration of Cup a 1-like (protein band of 43 kDa) that is considered to be the major allergen. Other components seem to be present but it is difficult to identify them (for example polcalcin, thaumatin-like) because there is not yet a general consensus on their molecular dimension in different *Cupressus* species. Perhaps the component at 37 kDa could be the polygalacturonase.

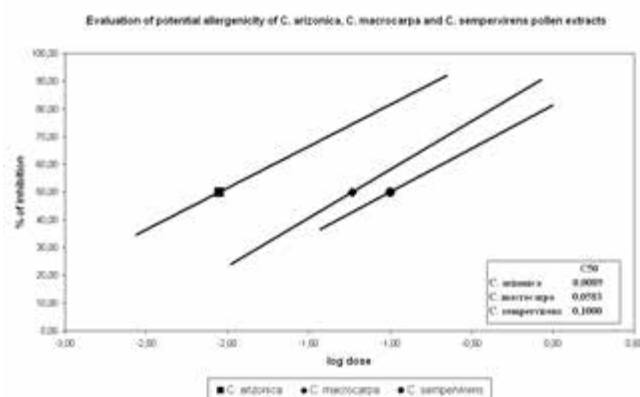
Figure 1 - SDS-PAGE profile of Cs, Cm and Ca pollen extracts. Lanes: Std., molecular weights standard; Ca, *Cupressus arizonica*; Cm, *Cupressus macrocarpa*; Cs, *Cupressus sempervirens*. Arrow indicates the major allergene Cup a 1 (mw ~43 kDa).



EAST-inhibition

In EAST-inhibition experiments (**figure 2**) the C_{50} value is calculated for different extracts; the lower the C_{50} value the higher the allergenic potential of the particular extract. The C_{50} values of the Cypress extracts used in this study are 0.058 for *C. macrocarpa* and 0.100 for *C. sempervirens*, both values being an order of magnitude greater than *C. arizonica* where $C_{50} = 0.0089$, confirming that the allergenic potency expressed by Ca is significantly greater than those of Cs and Cm. No significant difference was observed between the allergenic potential of Cs and Cm. Results (not shown) were very similar using Cm coated-beads, confirming the allergenic relevance of Cup a1 or Cup a1-like allergens.

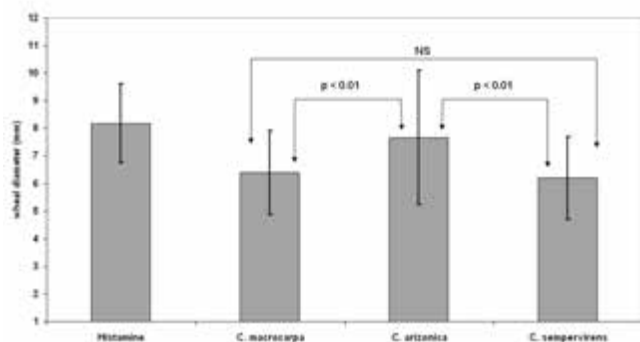
Figure 2 - Comparison of allergenic potency among the three *Cupressus* extracts (Ca, *Cupressus arizonica*; Cm, *Cupressus macrocarpa*; Cs, *Cupressus sempervirens*). The corresponding C_{50} value are showed for each species.



Skin prick test

As shown in **figure 3**, the cutaneous reaction induced by SPT of Ca (7.8 ± 1.9 mm) extract is significantly higher ($p < 0.01$) than those observed using both Cs and Cm extracts (6.1 ± 1.3 mm and 6.3 ± 1.5 mm, respectively). According to the Mann-Whitney rank sum test, no significant difference resulted between Cs and Cm extracts.

Figure 3 - Cutaneous reactivity (SPT) of Cm, Ca and Cs extracts. Histamine solution (0.1%) was used as positive control. *P* values indicates significant differences among groups; NS, not significant.

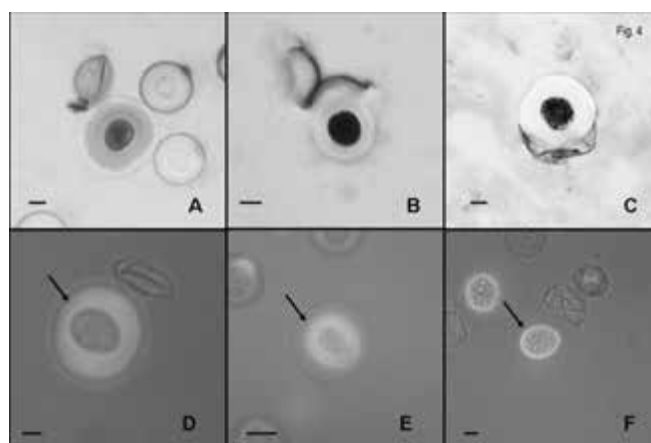


Cytochemistry

Differences in the dye staining pattern of pollen grains were observed among the three cypress species. Immediately after hydration, Ca pollen exhibited a deep stain with both calcofluor and aniline blue black in the middle intine, indicating the presence of β -glucans and proteins in this layer, but not in the inner intine which was not stained (**figure 4A** and **4D**).

In contrast, the inner intine layer of both Cm and Cs pollen grains were deeply stained with calcofluor (**figure 4E** and **4F**), revealing the presence of β -glucans in the layer but not in the middle intine, while aniline blue black stained only the cytoplasm of the pollen nucleus (**figure 4B** and **4C**).

Figure 4 - Pollen grains of *C. arizonica* (A, D), *C. macrocarpa* (B, E) and *C. sempervirens* (C, F) stained with aniline blue black (A, B, C) or calcofluor (D, E, F). Visible light or fluorescence light plus visible light were used to observe the intine staining with aniline blue black or calcofluor, respectively.



However, 60 minutes after hydration and calcofluor staining, the composition of middle and inner intine of Ca pollen grains changed, showing a fluorescence signal similar to that observed in the pollen grains of Cm and Ca which did not change their staining pattern over time (**figure 5**). To more effectively highlight the eventual change in pollen grain protein content of the three cypress species, aniline blue black and neutral red were combined to monitor the dynamic phase occurring after pollen grain swelling. As illustrated in **figure 6**, only *C. arizonica* proteins were deeply stained in the middle intine layer after 60 minutes of swelling before intine dissolution.

Figure 5 - Pollen grains of *C. arizonica* after 60 min of hydration and treatment with calcofluor, showing an even fluorescence in the middle and inner intine layers (bar 10 μ m).

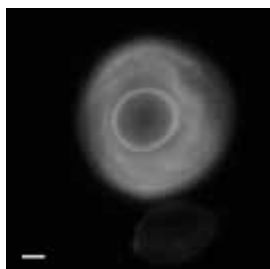
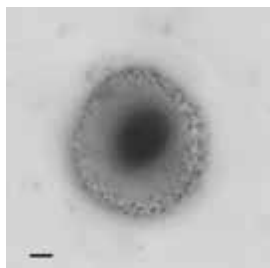


Figure 6 - Pollen grains of *C. arizonica* after 60 min of treatment with neutral red plus aniline blue black (bar 10 μ m).



Discussion

This is the first study reporting the allergenic profile of *C. macrocarpa*, a species imported from California and widely planted in parks and gardens in urban and periurban areas of southern Europe for its ornamental value.

In Liguria region (where the SPT / *in vivo* tests were performed) the three species of cypress are evenly spread (official data on their distribution does not exist because they are not included in forest inventory) and can be observed as single trees or groups in parks and gardens due to their peculiar ornamental value. *C. macrocarpa* is frequently present on the seashore / seafont for its marked tolerance to salty aerosol; *C. sempervirens* has been more commonly planted in the inland countryside, also to form little groves, and *C. arizonica* has met particular interest for the colour of its grey-green foliage, especially to make hedges.

Cupressaceae pollen has been identified as a source of increasing pollinosis in Mediterranean countries, and it is responsible

for winter allergy during a period of the year when no other allergenic plants are flowering (1). Since pollen allergy has a pronounced clinical impact and respiratory allergic reactions induced by pollens are increasing (2), the study of the most abundant cypress species is of great significance. This study takes into consideration the three most widespread cypress species in the Mediterranean basin that are responsible for high airborne pollen dispersion.

Our results demonstrate the great allergenic activity possessed by Ca pollen grain extract compared to extracts of Cs and Cm, illustrated by the very low C_{50} value in the EAST inhibition test. The C_{50} value of the Cm extract was six-fold lower than the allergenic potential of Ca, and twofold higher than Cs (but no significant differences were observed between Cm and Cs). These results are consistent with those previously known (7) regarding the allergenic potential of *C. arizonica* pollen. Confirmation of these findings was obtained through *in vivo* evaluation of cutaneous reactivity on volunteers by specific SPT. This revealed that the diameter of wheals induced by Cm and Cs extracts were similar and significantly smaller than those provoked by Ca extract ($p < 0.01$). Hence the allergenicity of *C. macrocarpa* and *C. sempervirens* extracts are similar to one another, but significantly lower than that of *C. arizonica*: one possible explanation for this difference may be due to the different amount of the allergen Cup a 1 contained in the pollen extracts of the three cypress species, as revealed by the SDS-PAGE profile. Pollen of Ca exhibited greater concentrations of Cup a 1, whereas in Cm and Cs the Cup a 1-like component band appeared to be less intense. Therefore, the higher content of Cup a 1 seems to form the basis of the higher allergenic potential showed by Ca relative to Cs and Cm. On the other hand, Immunoblotting experiment (data not shown) using the pool sera of patients evidenced the presence of band at about 43 kDa, more intense in case of Ca in respect to Cm and Cs extracts, and another, more slightly, at about 37 kDa, much probably polygalacturonase, suggesting that other eventual components (polcalcin or thaumatin-like) are not of relevance at least on the basis of current scientific knowledge.

Allergic symptoms (asthma and rhinitis in particular) start after pollen inhalation, when grains come in contact with the nasal mucosa. The humid conditions of the respiratory tract lead to pollen hydration and exine breakage due to the swelling of the intine, similarly to what observed in pollen grains when hydrated *in vitro*. It was found that during pollen hydration, the protein Cry j 1, the major allergen of *Cryptomeria japonica* (a species belonging to *Cupressaceae*), quickly migrated to the vac-

uole through the intine (21). Furthermore, TEM observations of *C. arizonica* pollen revealed that specific epitopes (glucidic or proteic) were localized in the pollen intine of fixed samples, but not in the hydrated samples (10).

Our observations during the whole hydrating process indicated a different dynamic change in cell wall composition depending on the species. As evidenced by the aniline blue black staining, the protein content, including eventual allergens, was more abundant at the beginning of the pollen grain hydration in the middle intine of *C. arizonica* pollen grains compared to those of *C. macrocarpa* and *C. sempervirens*. The β -glucans content in the middle intine at the beginning of the hydration process was also clearly evident in *C. arizonica* pollen grains stained with calcofluor. During the first 20 minutes of pollen hydration, the observed dynamic 'dissolution' of β -glucans in the middle intine and their concentration in the inner intine imply enzymatic activity in *C. arizonica* pollen that eventually involves allergenic proteins such as Cup a 1. In contrast, β -glucans in Cs and Cm are clearly already present in the inner intine by deep staining with Calcofluor at the beginning of hydration.

It is significant that Cup a 1 belongs to the pectate lyase family and that these proteins are involved in cell wall degradation (22). As pectins were present in all the intine layers (ruthenium red staining (9)), our hypothesis is that proteins in the middle intine of *C. arizonica* (indicated by aniline blue black staining) could be related to intensive enzyme activity, which leads to the complete construction of the cell wall (inner layer) that is only partially formed at the beginning of hydration. This has not been observed in the pollen of *C. macrocarpa* and *C. sempervirens* that have a cell wall that is already fully structured before pollen grain hydration. The pollen extracts used in this study were based on the preparation of a water suspension in which pollen is kept for 4h, thus permitting pollen hydration and swelling accompanied by all the enzymatic processes that lead to the movement of β -glucans from the middle to the inner intine, as observed during hydration. Therefore, the higher amount of proteins contained in the pollen of *C. arizonica* during hydration could be also found in the pollen extract.

Cytological similarities between *C. sempervirens* and *C. macrocarpa* pollen grains were previously evidenced, although *C. macrocarpa* is considered phylogenetically closer to *C. arizonica* (9,23). These cytological observations evidenced some differences among cypress species in the protein content of pollen grains during hydration that may account for the increased potential allergenic activity observed in *C. arizonica* pollen extract, in respect to that of *C. sempervirens* and *C. macrocarpa*.

References

1. Shahali Y, Pourpak Z, Moin M, Mari A, Majd A. Instability of the structure and allergenic protein content in *Arizonica* cypress pollen. *Allergy*. 2009;64:1773-9.
2. D'Amato G, Cecchi L, Bonini S, Nunes C, Annesi-Maesano I, Behrendt H, Liccardi G, Popov T, van Cauwenberge P. Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*. 2007;62:976-90.
3. Torrigiani-Malaspina T, Cecchi L, Morabito M, Onorari M, Domeneghetti MP, Orlandini S. Influence of meteorological conditions on male flower phenology of *Cupressus sempervirens* and correlation with pollen production in Florence. *Trees*. 2007;21:507-14.
4. Sposato B, Liccardi G, Russo M, Folletti, Siracusa A, Scichilone N, Ventura MT, Rolla G, Raie A, Milanese M, Pio R, Pio A, Scala R, Pareo C, Micucci C, Micheletto C, Billeri L, Musarra A, Cavaliere C, Agolli G, Masieri S, Scaless M, Capitani D. Cypress Pollen: An Unexpected Major Sensitizing Agent in Different Regions of Italy. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2014;24(1):23-8.
5. Caimmi D, Raschetti R, Pons P, Dhivert-Donnadieu H, Bousquet PJ, Bousquet J, Demoly P. Epidemiology of Cypress Pollen Allergy in Montpellier. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2012;22:280-5.
6. Sin AZ, Ersoy R, Gulbahar O, Ardeniz O, Gokmen NM, Koku-ludag A. Prevalence of cypress pollen sensitization and its clinical importance in Izmir, Turkey, with cypress allergy assessed by nasal provocation. *J Invest Allergy Clin Immunol*. 2008;18:46-51.
7. Mistrello G, Roncarolo D, Zanoni D, Zanotta S, Amato S, Falagiani P, Ariano R. Allergenic relevance of *Cupressus arizonica* pollen extract and biological characterization of the allergoid. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002;129:296-304.
8. Ariano R, Antico A, Di Lorenzo G, et al. An epidemiological survey of cupressaceae pollenosis in Italy. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2002; 12(4):287-292.
9. Danti R, Della Rocca G, Mori B, Torraca G, Calamassi R, Mariotti-Lippi M. Old World and New World *Cupressus* pollen: morphological and cytological remarks. *Plant Syst Evol*. 2010;287:167-77.
10. Canini A, Giovinnazzi J, Iacovacci P, Pini C, Grilli-Caiola M. Localisation of a carbohydrate epitope recognised by human IgE in pollen of Cupressaceae. *J Plant Res*. 2004;17:147-53.
11. Arilla MC, Ibarrola I, Martínez A, Asturias JA. Quantification assay for the major allergen of *Cupressus sempervirens* pollen, Cup s 1, by sandwich ELISA. *Allergol Immunopathol*. 2004; 32:319-25.
12. Shahali Y, Sutra JP, Haddad I, Vinh J, Guilloix L, Peltre H, Senechal H, Poncet P. Proteomics of cypress pollen allergens using double and triple one-dimensional electrophoresis. *Electroph*. 2012;33:462-69.
13. Cortegano I, Civantos E, Aceituno E, del Moral A, Lopez E, Lombardero M, Del pozo V, Lahoz C. Cloning and expression of a major allergen from *Cupressus arizonica* pollen, Cup a 3, a PR-5 protein expressed under polluted environment. *Allergy*. 2004;59:485-90.
14. Pico de Coana Y, Parody N, Fuertes MA, Carnes J, Roncarolo D, Ariano R, Sastre J, Mistrello G, Alomso C. Molecular cloning and characterization of Cup a 4, a new allergen from *Cupressus arizonica*. *Biochem Biophys Res Comm*. 2010;401:451-7.

15. Charpin D, Calleia M, Lahoz C, Pichot C, Waisel Y. Allergy to cypress pollen. *Allergy*. 2005;60:293-301.
16. Barletta B, Afferni C, Tinghino R, Mari A, Di Felice G, Pini C. Cross-reactivity between *Cupressus arizonica* and *Cupressus sempervirens* pollen extracts. *J Allergy Clin Immunol*. 1996; 98:797-804.
17. Hidalgo PJ, Galan C, Dominguez E. Male phenology of three species of *Cupressus*: correlation with airborne pollen. *Trees*. 2003;17:336-44.
18. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-54.
19. Hughes J, McCully ME. The use of an optical brightener in the study of plant structure. *Stain techn*. 1975;50:319-29.
20. Fisher BD. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemie*. 1968;16:92-6.
21. Suárez-Cervera M, Takahashi Y, Vega-Maray, Seoana-Camba JA. Immunocytochemical localization of Cry j1, the major allergen of *Cryptomeria japonica* (Taxodiaceae) in *Cupressus arizonica* and *Cupressus sempervirens* (Cupressaceae) pollen grains. *Sex Plant Reprod*. 2003;16:9-15.
22. Alisi C, Afferni C, Iacovacci P, Barletta B, Tinghino R, Butteroni C, Puggioni EMR, Wilson IBH, Federico R, Schininà ME, Ariano R, Di Felice G, Pini C. Rapid isolation, characterization, and glycan analysis of Cup a 1, the major allergen of Arizona cypress (*Cupressus arizonica*) pollen. *Allergy*. 2001;56:978-84.
23. Little D, Schwarzbach AE, Adams RP, Hsieh CF. The circumscription and phylogenetic relationship of *Callitropis* and the newly described genus *Xanthocyparis* (Cupressaceae). *Am J Bot*. 2004;91:1871-80.

F. GUARNERI¹, P.L. MINCIULLO², C. MANNUCCI³, F. CALAPAI³, S. SAIITTA², S. P. CANNAVÒ¹,
S. GANGEMI^{2,4}

IL-31 and IL-33 circulating levels in allergic contact dermatitis

¹Department of Clinical and Experimental Medicine-Dermatology, University of Messina, Messina, Italy

²Operative Unit of Allergy and Clinical Immunology, Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Messina, Messina, Italy

³Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Messina, Messina, Italy

⁴Institute of Clinical Physiology, IFC CNR, Messina Unit, Messina, Italy

KEY WORDS

Allergic contact dermatitis; cytokines; interleukin-31; interleukin-33; pruritic skin disease; pruritus

Corresponding Author

Paola Lucia Minciullo
UOC Allergologia e Immunologia
Clinica
Policlinico Universitario
Via Consolare Valeria
98125 Messina, Italy
Phone: +39 090 221 20 49
Fax: +39 090 694 773
E-mail: pminciullo@unime.it

Summary

Enhanced IL-31 expression in skin biopsies is present in allergic contact dermatitis (ACD). IL-33 expression is induced in keratinocytes and in skin of ACD patients. This overexpression is present in both allergic and irritant conditions. The aim of this work was to test the systemic involvement of IL-31 and IL-33 in ACD. IL-31 levels were significantly higher in patients than in controls. IL-33 serum levels, on the contrary, were similar in patients and controls. This work shows a possible systemic involvement of IL-31 and the absence of a systemic involvement of IL-33 in ACD. IL-31 levels do not seem related to the allergen involved, and did not change on the strength of the allergen involved. More likely, IL-31 levels are related to the itch. IL-33, instead, is secreted from damaged or inflamed tissue and might function as an early warning system at the site of skin damage. In the future, IL-31 could be a possible therapeutic target of all pruritic skin diseases resistant to conventional therapies.

Introduction

Allergic contact dermatitis (ACD) involves epidermal cells, such as keratinocytes and Langerhans cells, fibroblasts and endothelial cells, as well as invading leukocytes, interacting amongst themselves under the control of cytokines and mediators network (1). Interleukin (IL)-31, a recently discovered cytokine, is involved in both innate and adaptive immunity in tissues in close contact with the environment, such as the skin (2).

IL-31 is produced by human mast cells, monocytes, macrophages, monocyte-derived dendritic cells, human epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts upon various stimulations (2). Enhanced IL-31 expression in skin biopsies is present in pruritic diseases as atopic dermatitis, ACD and prurigo nodularis, and elevated serum IL-31 levels have been found in chronic urticaria and pruritic skin lesions related to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors treatment (3-7).

IL-33, a cytokine of the IL-1 cytokine family has recently been attributed to the epithelial "alarmin" defense system. IL-33 is released by the epithelial cells in various tissues and organs, including keratinocytes, endothelial cells, and immune cells and, as other cytokines of IL-1 family, by necrotic structural cells, as fibroblasts and keratinocytes (8,9).

The aim of this study was to measure the circulating IL-31 and IL-33 levels in patients with ACD to test the hypothesis that these cytokines could have a systemic involvement in this pruritic skin disease.

Material and Methods

We enrolled 20 patients (15 females, 5 males), with ACD (mean age 36.84 ± 12.62 years; range 18-62 years), diagnosed by patch testing with SIDAPA (Italian Society of Allergological, Occupational and Environmental Dermatology) series, in accordance

with the International Contact Dermatitis Research Group guidelines. The three main allergens involved in manifestations were nickel sulphate (15 patients), potassium dichromate (11 patients) and cobalt chloride (4 patients). At the moment of blood collection all patients presented moderate-severe skin manifestations. All patients signed an informed consent to the study. Twenty-five sex- and age-matched healthy subjects were used as controls.

Serum IL-31 and IL-33 concentrations were measured by a standard sandwich ELISA kit (USCN Life Science, Houston, USA). All samples were analyzed in duplicate.

Data were expressed as median $\pm$ SEM. Differences between two unpaired groups were analyzed by Mann-Whitney test using SPSS for Windows (version 17.0). Statistical significance was set at $P < 0.05$.

Results

IL-31 levels were significantly higher in patients than in controls (8.27 ± 2.04 vs. 5.18 ± 1.46 pg/ml; $P = 0.034$) (**figure 1**). IL-33 serum levels were similar in patients and controls (2.67 ± 2.38 vs. 2.48 ± 1.29 pg/ml; $P = 0.668$) (**figure 2**). No correlation between cytokines levels and age of patients and duration of disease was found.

Discussion and conclusions

ACD is usually considered a Th1-driven disease; however, in some patients a mixed Th1/Th2 phenotype can be observed (3). Therefore, cytokines expression in ACD could be heterogeneous: in previous works elevated serum levels of IL-18 (10) and IL-22 (11) cytokines produced by different cellular subsets were found.

IL-31 is usually expressed by Th2 clones and not by Th1, Th17 or Th22. However, this expression depends on the microenvi-

ronment: indeed, it is linked to autocrine IL-4 expression, and, in presence of IL-4, Th1 clones can also express IL-31 (12).

Moreover, IL-31 seems to play an important role in pruritic skin diseases.

To our knowledge this is the first work showing a possible systemic involvement of IL-31 in ACD, one of the most common pruritic skin diseases. IL-31 levels do not seem to be related to the allergen involved, as our patients were positive to different allergens and the cytokine level did not change on the strength of the allergen involved. More likely, IL-31 levels are related to the itch.

IL-33 has been found to play a role in the pathogenesis of ACD by promoting Th2 immune responses (8,13). The expression of this cytokine is induced in human keratinocytes cell line (8) and in involved and uninvolved skin of ACD patients (9) and its blockade attenuates ACD in a murine model (8). However, the overexpression of IL-33 in ex vivo skin culture was detected in both allergic and irritant conditions (9).

We did not find significant differences in IL-33 serum levels between ACD patients and controls. This could mean that in ACD there is not a systemic involvement of this cytokine. Therefore, these data suggest that IL-33 is secreted from damaged or inflamed tissue and might function as an early warning system at the site of skin damage.

In the future, IL-31 could be a possible therapeutic target of all pruritic skin diseases resistant to conventional therapies.

References

1. Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system: progress in cutaneous biology. *Immunol Today*. 1993;14:75-8.
2. Cornelissen C, Lüscher-Firzlaff J, Baron JM, et al. Signaling by IL-31 and functional consequences. *Eur J Cell Biol*. 2012;91:552-66.
3. Neis MM, Peters B, Dreuw a, et al. Enhanced expression levels of IL-31 correlate with IL-4 and IL-13 in atopic and allergic contact dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;118:930-7.

Figure 1 - IL-31 serum levels in ACD patients and controls; lines represent medians.

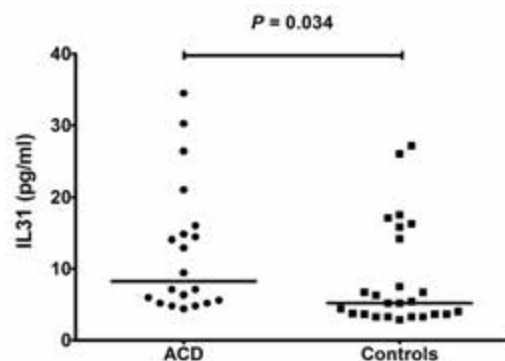
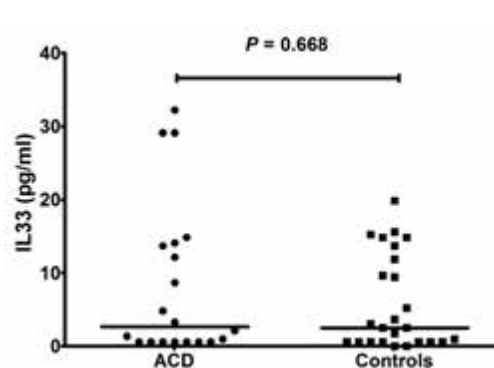


Figure 2 - IL-33 serum levels in ACD patients and controls; lines represent medians.



4. Sonkoly E, Muller A, Lauerma AI, et al. IL-31: a new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117:411-7.
5. Raap U, Wiczorek D, Gehring M, et al. Increased levels of serum IL-31 in chronic spontaneous urticaria. *Exp Dermatol.* 2010;19:464-6.
6. Rabenhorst A, Hartmann K. Interleukin-31: a novel diagnostic marker of allergic diseases. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2014;14:423.
7. Gangemi S, Franchina T, Minciullo PL, et al. IL-33/IL-31 axis: a new pathological mechanisms for EGFR tyrosine kinase inhibitors-associated skin toxicity. *J Cell Biochem.* 2013;114:2673-6.
8. Taniguchi K, Yamamoto S, Hitomi E, et al. Interleukin 33 is induced by tumor necrosis factor alpha and interferon gamma in keratinocytes and contributes to allergic contact dermatitis. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2013;23:428-34.
9. Mattii M, Ayala F, Balato N, et al. The balance between pro- and anti-inflammatory cytokines is crucial in human allergic contact dermatitis pathogenesis: the role of IL-1 family members. *Exp Dermatol.* 2013;22:813-9.
10. Gangemi S, Merendino RA, Minciullo PL, et al. Serum levels of interleukin-18 in subjects affected by occupational allergic contact dermatitis. *J Dermatol Sci.* 2003;33:187.
11. Ricciardi L, Minciullo PL, Saitta S, et al. Increased serum levels of IL-22 in patients with nickel contact dermatitis. *Contact Dermatitis.* 2009;60:57-8.
12. Stott B, Lavender P, Lehmann S, et al. Human IL-31 is induced by IL-4 and promotes TH2-driven inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132:446-54.
13. Komai-Koma M, Gilchrist DS, McKenzie ANJ et al. IL-33 activates B1 cells and exacerbates contact sensitivity. *J Immunol.* 2011;186:2584-91.

J. DAVID¹, J. HORBAL¹, H. TCHEUREKDJIAN^{1,2}, T. H. SHER^{1,2}, R. HOSTOFFER^{1,2}

Delayed Anaphylaxis to the flu vaccine unrelated to known non-viral components

¹University Hospitals Regional Hospitals, Richmond Heights, Ohio, USA

²Allergy/Immunology Associates Inc, South Euclid, Ohio, USA

KEY WORDS

Vaccine; anaphylaxis; influenza

Summary

On February 4, 2010 the CDC's Advisory Committee on Immunization Practices voted for universal flu vaccination to expand protection against the flu throughout the United States. In addition to this administration expansion, six new influenza vaccines have been introduced into the market possibly introducing new allergenic potentials. We report two cases of delayed anaphylaxis to the flu vaccine.

Corresponding author

Joel David
27100 Chardon Rd
Richmond Heights OH, 44143
USA
Phone: +1 216 347 735 8757
E-mail: joel.david@uhhospitals.org

On February 4, 2010 the CDC's Advisory Committee on Immunization Practices voted for universal flu vaccination to expand protection against the flu throughout the United States (1). In addition to this administration expansion, six new influenza vaccines have been introduced into the market since 2012 (2). Although patients are screened for sensitivity to vaccine components prior to administration to avoid Vaccine Adverse Reactions (3,4), we report two cases consistent with multisystem allergy, one 3 hours and the other 5 hours post administration of Fluzone Intradermal and Fluzone High-Dose vaccination, unrelated to known non-viral components. While anaphylactic reactions typically occur within minutes (5), delayed onset reactions have been reported after the administration of omalizumab (6) and Japanese encephalitis vaccine (7) and the ingestion of red meat containing galactose-alpha-1,3-galactose (alpha-gal) (8). Furthermore, it has been reported in the Institute of Medicine Report (9) that there have been 8 reports of anaphylaxis following Fluzone administration, of which the onset interval of 7 of the cases occurred within 24 hrs.

Case 1

A 71-year-old woman received the Fluzone High-Dose vaccine 0.5 mL intramuscularly and reported throat pain, shortness of breath, chest pain, erythematous hands, and generalized urticaria 5 hours post-vaccination. She proceeded to the Emergency Room and was treated with methylprednisolone and diphenhydramine. Symptomatic resolution occurred within 72 hours. She received prior influenza vaccination without incident. Past allergic history is significant for latex for which she reports an immediate rash reaction with no other associated symptoms, and radiocontrast media sensitivity for which she developed flushing and shortness of breath minutes after administration. The patient denies allergic reactions to eggs. Past medical history includes diverticulosis. Medications include Evista 60 mg oral daily, aspirin 81 mg oral daily and a daily multi-vitamin. The components of the Fluzone High-Dose vaccine include 60 mcg HA of A (H1N1), A (H3N2) and B. Other reported in-

gredients include sodium phosphate-buffered isotonic sodium chloride solution, formaldehyde (< 100 mcg) and octylphenol ethoxylate (< 250 mcg), and the vaccine does not contain mercury or other preservatives, antibiotics or gelatin nor does the syringe contain natural rubber latex (10). It contains approximately 0.1 mcg of ovalbumin per dose (11). Intradermal testing showed no reactivity to saline control and a 10 mm wheal and 25 mm of erythema to both Fluzone High-Dose vaccine at 1:100 concentration and histamine 0.1 mg/ml (**figure 1**). Additional skin testing showed no reactivity to latex.

Figure 1 - Intradermal testing showing high sensitivity to the Fluzone high-dose vaccine.



Case 2

A 42-year-old woman received the Fluzone Intradermal vaccine 0.1 mL and developed dry cough, chest pain, dyspnea, palpitations and bilateral periorbital angioedema 3 hours post-vaccination. Her symptoms resolved within 24 hours without treatment. She tolerated her first influenza vaccination 2 years prior without incident. The patient reports a rash with amoxicillin but denies allergies to egg or latex. The patient otherwise denies any past medical history and currently does not report taking any medications. The components of the Fluzone intradermal vaccine include 9 mcg HA of A (H1N1), A (H3N2) and B. Other reported ingredients include sodium phosphate-buffered isotonic sodium chloride solution, formaldehyde (< 20 mcg) and octylphenol ethoxylate (< 50 mcg) and does not contain mercury or other preservatives, antibiotics or gelatin, nor does the syringe contain natural rubber latex (12). It contains approximately 0.02 mcg of ovalbumin per dose (11). Prick testing to Fluzone Intradermal and Fluvarin vaccine, an influenza vaccine containing egg proteins (≤ 1 mcg ovalbumin), polymyxin (≤ 3.75 mcg), neomycin (≤ 2.5 mcg), betapropiolactone (not more than 0.5 mcg) and nonylphenol ethoxylate (not more than 0.015% w/v), and the tip caps of the prefilled syringes may contain natural rubber latex (13), both showed a 3-4mm wheal and 10 mm of erythema, and intradermal testing showed a 6-7

mm wheal and 12 mm of erythema for the same at 1:100 concentrations. Prick testing was negative to egg yolk/white. Latex prick testing was negative.

Since 2012, six new influenza vaccines have been approved by the FDA (2). As more variations of the influenza vaccine become available, as developed by different manufacturers, each of the viral components pose potential new allergens, thereby increasing the potential risk of sensitization and reaction as described in the cases above. With new influenza vaccines reaching the market, health care providers who administer vaccinations need to be cognizant of the potential for adverse effect that may occur immediately or delayed.

References

1. Fiore AE, Uyeki TM, Broder K, et al. Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *MMWR Recomm Rep.* 2010;59(RR-8):1-62.
2. Center for Disease Control and Prevention. Prevention and Control of Seasonal Influenza with Vaccines: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices - United States, 2013-2014. 2013. Available at <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr6207a1.htm>. Accessed August 4, 2014.
3. Moro PL, Arana J, Cano M et al. *Clin Infect Dis.* 2012;54(11):1608-14.
4. Moro PL, Harrington T, Shimabukuro T et al. *Vaccine.* 2013;31(43):4984-7.
5. Lieberman P, Nicklas RA, Oppenheimer J, et al. The diagnosis and management of anaphylaxis practice parameter: 2010 update. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(3):477-80.e1-42.
6. Limb SL, Starke PR, Lee CE, Chowdhury BA. Delayed onset and protracted progression of anaphylaxis after omalizumab administration in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120(6):1378-81.
7. Japanese encephalitis vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Fischer M, Lindsey N, Staples JE, Hills S; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *MMWR Recomm Rep.* 2010;59(RR-1):1-27.
8. Tripathi A, Commins SP, Heymann PW, Platts-mills TA. Delayed anaphylaxis to red meat masquerading as idiopathic anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2014;2(3):259-65.
9. Institute of Medicine. Influenza vaccines. In: Adverse effects of vaccines: evidence and causality. Washington, DC: The National Academies Press, 2011: 257-368.
10. Sanphoni Pasteur (2014) Fluzone High-Dose: Package Insert. Available at <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM305079.pdf>. Accessed September 23, 2014.
11. Recommendations for prevention and control of influenza in children, 2012-2013. *Pediatrics* 2012;130:780-92.
12. Sanphoni Pasteur (2014) Fluzone Intradermal: Package Insert. Available at <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM305080.pdf>. Accessed September 23, 2014.
13. Novartis (2014) Fluvirin: Package Insert. Available at <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM123694.pdf>. Accessed September 23, 2014.

A.M. CALAMARI¹, M. POPPA², D. VILLALTA³, V. PRAVETTONI⁴

Alpha-gal anaphylaxis: the first case report in Italy

¹ Ospedale Castelli, Via Crocetta, 28921 Pallanza (VB), Italy

² Ambulatorio di Allergologia, Ospedale San Biagio, Domodossola (ASL VCO)

³ Allergologia e Immunologia Clinica, Ospedale S. Maria degli Angeli, Pordenone, Italy

⁴ Department of Internal Medicine, Clinical Allergy and Immunology, IRCCS Foundation Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy

KEY WORDS

Galactose-alpha-1,3-galactose (alpha-gal); red meat; Food allergy; delayed anaphylaxis

Summary

We report the case of a 55-year-old man who went into anaphylactic shock six hours after eating a meal containing meat. He reported having had several tick bites in months before the reaction. The serum specific IgE showed strong positivity to alpha-gal. This is clearly alpha-gal anaphylaxis with delayed onset after meat ingestion caused by tick bite, confirmed by alpha-gal IgE positivity.

Corresponding author

Ambra Marianna Calamari

Ospedale Castelli

Verbania, Italy

E-mail: marianna.calamari@libero.it

A new form of delayed anaphylaxis has been observed in the United States since 2009 (1), due to IgE antibody directed at a mammalian oligosaccharide epitope, galactose-alpha-1,3-galactose (alpha-gal).

Alpha-gal has been associated with two distinct forms of anaphylaxis: immediate-onset anaphylaxis during first exposure to intravenous cetuximab (2) and delayed-onset anaphylaxis 3-6 hours after meat ingestion.

Further studies strongly suggested that tick bites were a cause, if not the only significant cause, of IgE Ab responses to alpha-gal in the United States (3).

In Australia (4) and in Europe (5) cases of delayed anaphylaxis related to IgE-mediated alpha-gal sensitisation were subsequently observed, although the tick responsible seems to be *Ixodes*, whereas *Amblyoma americanum* seems to be the vector in the USA.

We report the case of a 55-year-old man who, in February and March 2013, experienced two generalised urticaria episodes,

the second one with associated angioedema and dyspnea. He was cared for in the Allergy Unit of Castelli Hospital, Verbania, Italy. The patient presented a personal history of hypertension treated with diuretic and sartanic, while no history of allergies or asthma had been reported in the past. Skin-prick tests, performed with commercial extracts for a standard panel of food allergens, resulted negative.

In August 2013 he reported itching, angioedema, dysphasia and dyspnea about six hours after having a meal containing meat. His wife administered betamethasone and marked bronchospasm was diagnosed in the Emergency Department. The patient was treated with methylprednisolone and epinephrin.

The patient reported not having taken any unusual medication or having eaten any food in the 6 hours prior to the anaphylactic episode. He also reported that he had not been stung or bitten by any insects. Skin-prick tests for food and inhalant allergens were again performed, with negative results. His basal serum

tryptase level was normal. The final diagnosis was “idiopathic anaphylaxis” and the epinephrine autoinjector was prescribed. In light of the time span since the meal, the reaction suggested alpha-gal anaphylaxis. In fact, the patient reported several tick bites during the summer as well as the previous summers.

So prick-to-prick tests were performed with fresh meats (lamb, pork and beef) and sIgE for pork, beef, chicken and lamb and resulted negative.

In addition, prick-to-prick tests with beef liver and pork kidney (the alpha-gal richest organ) were performed and resulted positive. Finally the ImmunoCap technique (ThermoFisher, Sweden) was used to measure sIgE antibodies to alpha-gal *in sera*, which were collected in October 2013 and June 2014. The results were >100 kU/L and 41 kU/L, respectively.

Several species of tick are endemic in the alpine environment near Lake Maggiore. The patient was probably bitten by the *Ixodes ricinus* species, predominant in rural and woodland areas. The last episode described is clearly alpha-gal anaphylaxis with delayed onset after meat ingestion, caused by tick bite, confirmed by alpha-gal sIgE positivity.

In any case, we cannot rule out that the previous two cases of urticaria were due to an allergic pathogenesis. These episodes could have been milder as the most recent tick bite occurred the previous summer with a consequent decrease in sIgE level to alpha-gal. In fact, as reported in the literature, the temporal

proximity of tick bites - as well as the composition of meat - is the main trigger for allergic reactions (6). Consistent with the above observations, the patient reported having eaten roast beef at lunch the day the anaphylaxis occurred. Unfortunately we don't know what he had eaten in the two previous cases.

In conclusion, to our knowledge this is the first reported case of alpha-gal anaphylaxis in Italy.

References

1. Commins SP, Platt-Mills TA Anaphylaxis syndrome related to a new mammalian cross-reactive carbohydrate determinant. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124(4):652-7.
2. Chung Ch, Mirakhhur B et al. Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactose-alpha-1,3-galactose. *N Engl J Med.* 2008;358(11):1109-17.
3. Commins SP, Platt-Mills TA Tick bites and red meat allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2013;13(4):354-9.
4. Van Nunen SA, O'Connor KS et al. An association between tick bite reactions and red meat allergy in humans. *Med J Aust.* 2009;190(9):510-1.
5. Nunez R, Carballada F et al. Delayed mammalian meat-induced anaphylaxis due to galactose in 5 European patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128(5):1122-3.
6. Commins SP, Thomas A, Platt-Mills E. Delayed anaphylaxis to red meat in patients with IgE specific for galactose alpha-1,3-galactose (alpha-gal). *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013;13:

G. LICCARDI¹, M.B. BILÒ², F. MANZI¹, A. PICCOLO¹, E. DI MARO¹, A. SALZILLO¹

What could be the role of molecular-based allergy diagnostics in detecting the risk of developing allergic sensitization to furry animals?

¹Department of Pulmonology, Haematology and Oncology, Division of Pneumology and Allergology, High Speciality "A. Cardarelli" Hospital, Naples, Italy

²Allergy Unit, Department of Immunology, Allergy and Respiratory Diseases, University Hospital Ancona, Italy

KEY WORDS

Allergic rhinitis; allergic sensitization; bronchial asthma; cat; Component Resolved Diagnostic (CRD); dog; exotic animals; pet allergy

Corresponding author

Gennaro Liccardi
Department of Pulmonology,
Haematology and Oncology
Division of Pneumology and Allergology
High Speciality "A. Cardarelli" Hospital
Piazzetta Arenella 7, 80128 Naples, Italy
Phone: +39 081 747 333 5-4-3
Fax: + 39 081 747 333 1
E-mail: gennaro.liccardi@tin.it

Summary

Although this highly refined diagnostic approach has been used in several fields of allergy diagnosis, we noticed the scarcity of data on the role of CDR in detecting current sensitization to the allergens of common pets (cat / dog) and, especially, its potential usefulness in predicting the risk of sensitization to other furry animals.

Reported data suggest that cross-reacting mechanisms might play an important role in a significant proportion of allergic sensitizations to furry animals (common pets and unusual / exotic mammals) especially in the absence of any possible direct / indirect contact.

In this context an evaluation of specific IgE by using the micro-array technique ImmunoCAP ISAC (ThermoFisher Scientific - Immuno-Diagnostics, Sweden) for lipocalins (Can f 1, Can f 2, Equ c 1, Fel d 4, Mus m 1) and albumins (Bos d 6, Can f 3, Equ c 3, Fel d 2) might be very useful to evaluate the possibility of cross-reactions between the allergens of different animals. In fact, allergic sensitization without animal exposure is a relevant risk for patients, because they are not aware about the possibility that even severe respiratory symptoms may develop after an occasional animal contact. This aspect should be taken into account by susceptible individuals before acquiring new pets, after removal of common pets or beginning a contact for working / leisure activity with a common as well as uncommon animal.

Summary statement

Component Resolved Diagnostic (CRD) could be useful in detecting the risk of developing allergic sensitization to furry animals.

To the Editor

Component Resolved Diagnostic (CRD) allows to map allergic sensitization of patients at molecular level by using purified natural or recombinant allergenic molecules (1-4). Although this highly refined diagnostic approach has been used in several fields of allergy diagnosis, we noticed the scarcity of data on the role of CDR in detecting current sensitization to the allergens of

common pets (cat / dog) and, especially, its potential usefulness in predicting the risk of sensitization to other furry animals.

Exposure to animal allergens constitutes a relevant risk factor for the development of allergic sensitization and respiratory allergic diseases such as asthma and rhino-conjunctivitis in susceptible individuals (5).

The frequency of ownership and the prevalence of allergic sensitization to cats / dogs varies in different countries according to cultural differences and environmental factors. Their values are particularly high in some Northern European countries (e.g. Denmark and Finland) (6) and in the US (7).

In all industrialized countries, more and more people become owners of less common small mammals as pets (8-10) or are in contact with bigger animals for work or leisure. Although

many allergens from these animals have been identified, several problems still exist on epidemiology, characteristics of exposure and sensitization to these allergens / animals. For example, it has been widely recognized that cat and dog allergens should be considered as ubiquitous since they are found not only in indoor environments containing these animals but also in other indoor private / public places where cats / dogs have been never kept (11).

Accumulation of pet allergens in indoor environments without animals has been demonstrated to correlate with the number of visitors owning a pet or with those who are in regular contact with these animals. Therefore, the higher the pet ownership in a given community, the higher the presence of pet allergens in apparently pet-free spaces (12). In westernized countries, the consequence of pet allergen ubiquity is a persistent stimulation of airways similar to that induced by dust mite. This indirect modality of exposure is likely to be involved also for other animals (13,14).

Another important aspect is that allergic sensitization to furry animals can be induced not only by direct / indirect exposure but also by a cross-reaction mechanism involving some families of allergenic proteins. (15,16).

Lipocalins constitute the most important group of mammalian inhalant allergens because they are the major allergenic materials derived from dog (Can f 1-2), cattle (Bos d 2), horse (Equ c 1), rat (Rat n 1), mouse (Mus m 1), guinea pig (Cav p 1), rabbit (Ory c 1), hamster (Pho s 21) (3). The role of lipocalins is to carry small hydrophobic molecules and pheromones. Some lipocalins show a very low amino-acid identity whereas others greater homologies and IgE cross-reactivity (between 47-67%) such as Fel d 4, Can f 6, Equ c 1, Ory c 4, Mus m 1 and Rat n 1 (17).

Serum albumins represent the major component of proteins in the circulatory system of mammals, their functional role is the control of colloid osmotic blood pressure and the transport of ligands. The molecular weight of serum albumins is 66-69 kDa. It has been shown that mammalian serum albumins exhibit a very high amino-acid identity to human serum albumins (about 72-82%) (18).

Although their diffusion and cross-reactivity are high in mammals, the role of serum albumins in clinical practice is relatively low. Some case reports have shown that albumins are involved in anaphylactic reactions after artificial insemination (19), episodes of food allergy (20) and asthmatic reactions (21,22).

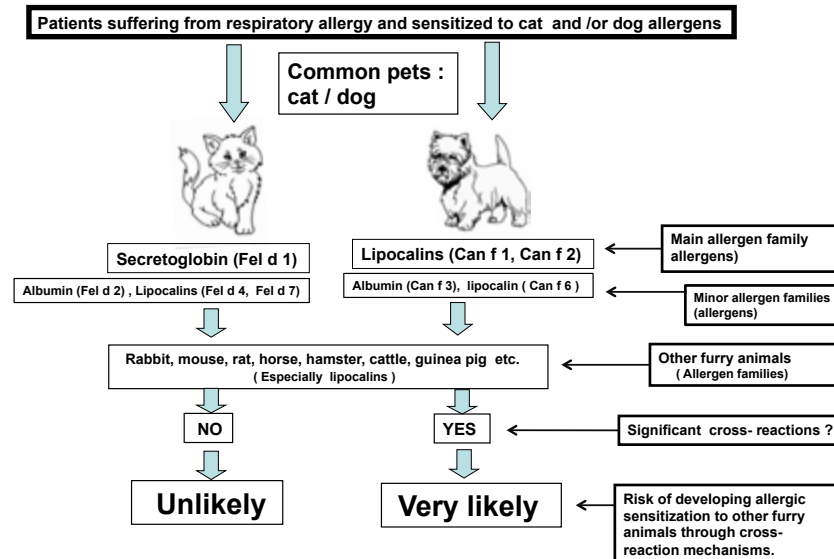
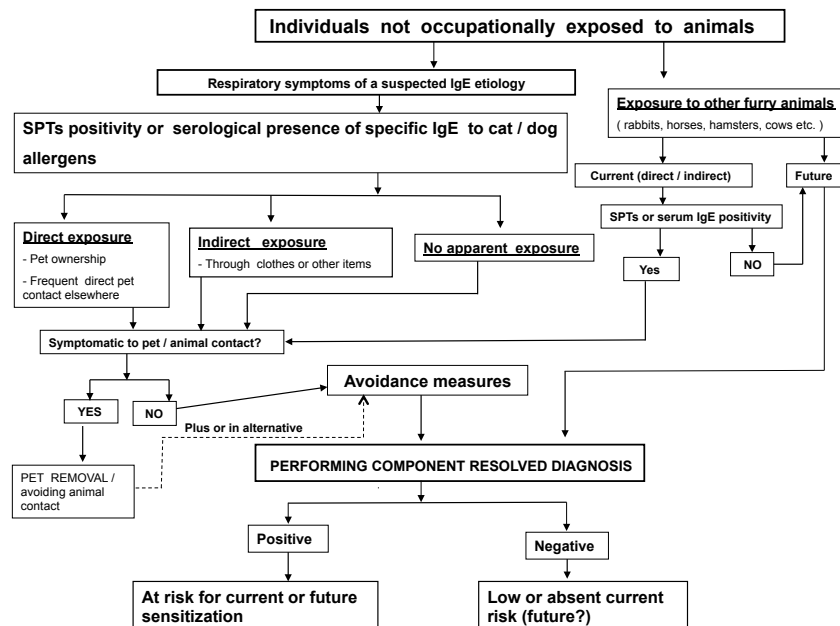
The most important animal allergen of **secretoglobins** family is Fel d 1, the main cat allergen. Recently, Hilger et al. described a second allergen, a rabbit lipophilin Ory c 3 which shares a 24% of sequence identity with Fel d 1 (23). This means that secretoglobins are not involved in any significant cross-reaction with other described animal allergen families.

We investigated the role of distinct modalities of exposure to animals (direct, indirect, no contact) in sensitized individuals living in urban areas of Naples and Italy and non-occupationally exposed to any animal. Urban area represents a good model to study all possible modalities of exposure to different animals because the population is not extensively exposed.

In Naples area, only about fifty percent of atopic patients sensitized to common pets (cats / dogs) are directly exposed to these animals, whereas the other half are indirectly exposed or not exposed (24). If we consider allergic sensitization and modalities of exposure to other furry animals such as rabbits, hamsters, rats, horses, guinea pigs, cows and mouse the percentage of sensitized individuals exposed directly to these animals ranges between 0-33.3%, whereas patients sensitized to the same animals with indirect or no contact ranges between 66.7-100% (24). These last percentages regard some animals with unlikely "indirect exposure" in urban areas such as horses / cows or animals rarely kept as pets (hamsters and guinea pigs). A cross-reacting mechanism between lipocalins is the only plausible explanation for these allergic sensitizations. High percentages of allergic sensitization to rabbits and horses without any known direct / indirect contact with these animals have been also shown in two Italian multicenter studies (25,26).

Finally, we have recently shown that exposure and allergic sensitization to common pets (cats / dogs) increases by about fourteen-fold the risk of developing sensitization to other furry animals (rabbits, hamsters, rats, horses, guinea pigs, cows and mouse) suggesting a possible predisposition to develop multiple sensitization to animal allergens (allergic phenotype?) (27).

Reported data suggest that cross-reacting mechanisms might play an important role in a significant proportion of allergic sensitizations to furry animals (common pets and unusual / exotic mammals) especially in the absence of any possible direct / indirect contact. In our opinion, an important question is the risk of developing allergic sensitization to "other" furry animals in individuals already sensitized to common pets (cat / dog). If we consider the aforementioned animal allergen families, the risk of becoming sensitized to less common pets or animals is likely much higher in dog in comparison to cat-sensitized individuals, because of the common presence of lipocalins in the most of allergenic materials (**figure 1**). In this context, an evaluation of specific IgE by using the micro-array technique ImmunoCAP ISAC (ThermoFisher Scientific - Immuno-Diagnostics, Sweden) for lipocalins (Can f 1, Can f 2, Equ c 1, Fel d 4, Mus m 1) and albumins (Bos d 6, Can f 3, Equ c 3, Fel d 2) might be very useful to evaluate the possibility of cross-reactions between the allergens of different animals. In fact, allergic sensitization without animal exposure is a relevant risk for patients because they are not aware about the possibility that even severe respiratory symptoms may develop after an occasional animal contact (28-

Figure 1 - Possible risk of developing allergic sensitization to furry animals in individuals already sensitized to cat / dog.**Figure 2** - Suggested diagnostic flow-chart.

30). This aspect should be taken into account by susceptible individuals before acquiring new pets after removal of common pets or beginning a contact for working / leisure activity with a common as well as uncommon animal.

In **figure 2** we suggest a possible flow chart in which CRD could be useful to discriminate individuals with a “selective” allergic sensitization (e.g to cat) and showing no IgE production against albumins and lipocalins from patients producing IgE to a wide spectrum of mammal allergens. These last individuals are likely at higher risk of developing future sensitization if directly exposed, for whatever reasons, to furry animals. Recently, we have confirmed these hypotheses by using an *in vitro* model (the micro-array technique ImmunoCAP ISAC, Thermofisher Scientific - Immuno-Diagnostics, Sweden, in 741 subjects referred to the Allergy Unit of Fondazione Salvatore Maugeri, Pavia). These *in vitro* data suggest that allergic sensitization to common pets increases the risk of sensitization to horse and mouse because of the presence of lipocalins. Since lipocalins show a certain degree of cross-reactivity, a similar finding for other furry animals is likely (31).

In conclusion, although CRD has been less studied / used in diagnosis of animal allergy in comparison to other topics (e.g. food / pollen allergy) we think that this diagnostic approach could be very useful in many human / clinical situations if we consider the worldwide interest in owning / working / having leisure with common / less common furry animals.

References

1. Canonica GW, Ansotegui JJ, Pawankar R, Schmid-Grendelmeier P, van Hage M, Baena-Cagnani CE, Melioli G, Nunes C, Passalacqua G et al. A WAO-ARIA-GA²LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organ J.* 2013; 6:17.
2. Nettis E, Bonifazi F, Bonini S, Di Leo E, Maggi E, Melioli G, Passalacqua G, Senna G, Triggiani M, Vacca A, Canonica GW. Molecular diagnosis and the Italian Board for ISAC. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2014;46:68-73.
3. Konradsen JR, Fujisawa T, van Hage M, Hedlin G, Hilger C, Kleine-Tebbe J, Matsui EC, Roberts G, Ronmark E, Platts-Mills T. Allergy to furry animals: New insights, diagnostic approaches, and challenges. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135:616-25.
4. Konradsen JR, Nordlund B, Onell A, Borres MP, Gronlund H, Hedlin G. Severe childhood asthma and allergy to furry animals: refined assessment using molecular-based allergy diagnostics. *Pediatr Allergy Immunol.* 2014;25:187-92.
5. Liccardi G, D'Amato G, D'Amato L, Salzillo A, Piccolo A, De Napoli I, Dente B, Cazzola M. The effect of pet ownership on the risk of allergic sensitization and bronchial asthma. *Respir Med.* 2005;99:227-33.
6. Heinzerling LM, Burbach GJ, Edenharten G, Bachert C, Bind-slev-jensen C, Bonini S. et al. GA²LEN harmonization of skin prick testing: novel sensitization patterns for inhalant allergens in Europe. *Allergy.* 2009;64:1498-506.
7. Gruchalla RS, Pougirac J, Plant M, Evans R, Visness CM, Walter M, Crain E, Kattan M, Morgan WJ, Steinbach S. Inner City Asthma Study: Relationship among sensitivity, allergen exposure, and asthma morbidity. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:478-85.
8. Phillips JF, Lockey RF. Exotic pet allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:513-5.
9. Pauli G, Bessot JC. Rare indoor allergens. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2009;41:99-105.
10. Diaz-Perales A, Gonzalez-de-Olano D, Perez-Gordo M, Pastor-Vargas C. Allergy to uncommon pets: new allergies but the same allergens. *Front Immunol.* 2013;4:492. eCollection 2013-
11. Liccardi G, D'Amato G, Russo M, Canonica GW, D'Amato L, Passalacqua G. Focus on cat allergen (Fel d 1): immunological and aerodynamic characteristics, modality of airway sensitization and avoidance strategies. *Int Arch Allergy Immunol.* 2003;132:1-12.
12. Heinrich J, Bedana GB, Zock JP et al. For The Indoor Working Group of The European Community Health Survey II. Cat allergen level: its determinants and relationship to specific IgE to cat across European centers. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118:674-81.
13. Emenius G, Merritt AS, Harfast H. Dispersion of horse allergen from stables and areas with horses into homes. *Int Arch Allergy Immunol.* 2009;150:335-42.
14. Liccardi G, D'Amato G, Canonica GW, Dente B, Passalacqua G. Severe respiratory allergy induced by indirect exposure to rabbit dander: a case report. *Allergy.* 2004;59:1237-8.
15. Liccardi G, Asero R, D'Amato M, D'Amato G. Role of sensitization to mammalian serum albumin in allergic disease. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2011;11:421-6.
16. Nordlund B, Konradsen JR, Kull I, Borres MP, Onell A, Hedlin G, Gronlund H. IgE antibodies to animal-derived lipocalin, kallikrein and secretoglobulin are markers of bronchial inflammation in severe childhood asthma. *Allergy.* 2012;67:661-9.
17. Hentges F, Leonard C, Arumugan K, Hilger C. Immune response to mammalian allergens. *Front Immunol.* 2014;5:234. doi: 10.3389/fimmu.2014.00234. eCollection 2014.
18. Chruszcz M, Mikolajczak K, Mauk N, Majorek KA, Porebski PJ, Minor W. Serum albumins-unusual allergens. *Biochem Biophys Acta.* 2013;1830:5375-81.
19. Orta M, Ordogui E, Azanzabal A, Fernandez C, Bartolomé C, Sanz ML. Anaphylactic reaction after artificial insemination. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003;90:446-51.
20. Choi GS, Kim JH, Shin YS, Nahm DH, Park HS. Food allergy to meat and milk in adults. *Allergy.* 2010;65:1065-7.
21. Choi GS, Kim JM, Lee HN, Sung JM, Park HS. Occupational asthma caused by inhalation of bovine serum albumin powder. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2009;1:45-7.
22. Liccardi G, Dente B, Restani P, Senna GE, Falagiani P, Ballabio C et al. Respiratory allergy induced by poly-sensitization to serum albumins of furry animals. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2010;42:127-30.
23. Hilger C, Kler S, Arumugam K, Revets D, Muller CP, Charpentier C et al. Identification and isolation of a Fel d 1-like molecule as a major rabbit allergen. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133:759-66.
24. Liccardi G, Salzillo A, Piccolo A, Russo M, D'Amato G. Sensitization to furry animals in an urban atopic population living in Naples, Italy. *Allergy.* 2011;66:1500-1.
25. Liccardi G, Passalacqua G on behalf of the Allergy Study Group of the Italian Society of Respiratory Medicine (SImeR). Sensitization to rabbit allergens in Italy - A multicentre study in atopic subjects without occupational exposure. *Int Arch Allergy Immunol.* 2006;141:295-9.

26. Liccardi G, D'Amato G, Antonicelli L, Berra A, Billeri L, Canonica GW, Casino G, Cecchi L, Folletti I, Gani F, Lombardi C, Lo Schiavo M, Meriggi A, Milanese M, Passalacqua G, Pio R, Rolla G, Russo M, Scaccianoce S, Senna GE, Scavalli P, Scichilone N, Sposato B, Siracusa A, Ventura MT. Sensitization to horse allergens in Italy: a multicentre study in urban atopic subjects without occupational exposure. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;155:412-7.
27. Liccardi G, Passalacqua G, Salzillo A, Piccolo A, Falagiani P, Russo M et al. Is sensitization to furry animals an independent allergic phenotype in nonoccupationally exposed individuals? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21:137-41.
28. Liccardi G, Dente B, Senna GE, De Martino M, D'Amato M, D'Amato G. Sensitization to horse allergens without apparent exposure to horse. Report of two cases. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2005;37:350-2.
29. Liccardi G, Salzillo A, Steinhilber G, Meriggi A, Piccolo A, D'Amato G. Is generalized reaction after exposure to big cats at the circus really unpredictable in highly cat-allergic individuals? *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2015; 43:115-16.
30. Liccardi G, D'Amato M, Pio A, Montera MC, Lo Schiavo M, Sappio C, D'Amato G. Are new pets really responsible for development of new allergies? *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2012;40:326-7.
31. Liccardi G, Meriggi A, Russo M, Croce S, Salzillo A, Pignatti P. The risk of sensitization to furry animals in patients already sensitized to cat/dog: An in vitro evaluation using molecular-based allergy diagnostics. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135:1664-6.

THE OFFICIAL JOURNAL OF AAITO
ASSOCIAZIONE ITALIANA
ALLERGOLOGI IMMUNOLOGI
TERRITORIALI E OSPEDALIERI

European Annals of Allergy and Clinical Immunology

THE OFFICIAL JOURNAL OF SPAIC
SOCIEDADE PORTUGUESA
DE ALERGOLOGIA
E IMUNOLOGIA CLINICA

NEW

more
international

more
complete

new
website

new
publisher

ITALY SUBSCRIPTION
only 60,00 Euro

INTERNATIONAL
SUBSCRIPTION
only 85,00 Euro

SUBSCRIBE NOW!

www.eurannallergyimm.com

- 6 print issues per year
- full access to www.eurannallergyimm.com, featuring all current and archived issues



European Annals of Allergy and Clinical Immunology
is a bimonthly peer-reviewed publication

- The official Journal of the "Associazione Italiana Allergologi Immunologi Territoriali e Ospedalieri" (Italian Association of Hospital Allergists and Immunologists - AAITO) and the "Sociedade Portuguesa de Alergologia e Imunologia Clinica" (Portuguese Society of Allergology and Clinical Immunology - SPAIC)
- indexed in PubMed and Scopus
- collects reviews, original works and case reports concerning etiology, diagnosis and treatment of allergic and immunological disorders
- includes a section of information coming from the main international health associations and authorities.



To submit your paper go to <http://eaaci.edmgr.com>

edra

Riassunto delle caratteristiche del prodotto

1. DENOMINAZIONE DEL MEDICINALE DuoResp Spiromax 160 microgrammi/4,5 microgrammi polvere per inalazione. 2. COMPOSIZIONE QUALITATIVA E QUANTITATIVA Ogni dose erogata (dose che fuoriesce dal boccaglio di Spiromax) contiene 160 microgrammi di budesonide e 4,5 microgrammi di formoterolo fumarato diidrato. Ciò equivale a una dose preimpostata da 200 microgrammi di budesonide e 6 microgrammi di formoterolo fumarato diidrato. Eccipienti con effetti noti: ogni dose contiene circa 5 milligrammi di lattosio (monoidrato). Per l'elenco completo degli eccipienti, vedere paragrafo 6.1. **3. FORMA FARMACEUTICA** Polvere per inalazione. Polvere bianca. Inhalatore bianco con un cappuccio protettivo semitrasparente di colore bordeaux. **4. INFORMAZIONI CLINICHE 4.1 Indicazioni terapeutiche** DuoResp Spiromax è indicato esclusivamente negli adulti di età pari o superiore ai 18 anni. **Asma** DuoResp Spiromax è indicato per il regolare trattamento dell'asma quando è appropriato l'uso di un'associazione (corticosteroidi per via inalatoria e β_2 -adrenocettori agonisti a lunga durata d'azione): • in pazienti non adeguatamente controllati con corticosteroidi per via inalatoria e con β_2 -adrenocettori agonisti a breve durata d'azione usati "al bisogno" o • in pazienti già adeguatamente controllati sia con corticosteroidi per via inalatoria sia con β_2 -adrenocettori agonisti a lunga durata d'azione. **Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO)** Trattamento sintomatico di pazienti con BPCO grave (FEV₁ < 50% del normale) e anamnesi di ripetute riacutizzazioni, con sintomi significativi nonostante la terapia regolare con broncodilatatori a lunga durata d'azione. **4.2 Posologia e modo di somministrazione** DuoResp Spiromax è indicato esclusivamente negli adulti di età pari o superiore ai 18 anni. DuoResp Spiromax non è indicato per l'uso nei bambini di età pari o inferiore ai 12 anni o negli adolescenti dai 13 ai 17 anni di età. **Posologia Asma** DuoResp Spiromax non è destinato alla gestione iniziale dell'asma. DuoResp Spiromax non è indicato per il trattamento del paziente adulto che presenta solo asma lieve non adeguatamente controllata con un corticosteroide per via inalatoria e β_2 -adrenocettori agonisti a rapida azione "al bisogno". Il dosaggio di DuoResp Spiromax è individuale e deve essere adattato in relazione alla gravità della malattia. Ciò deve essere tenuto in considerazione non solo quando si inizia un trattamento con combinazioni di medicinali, ma anche quando la dose di mantenimento viene modificata. Se un singolo paziente necessita di una combinazione di dosi diversa da quelle disponibili nell'inhalatore combinato, si devono prescrivere dosi appropriate di β_2 -adrenocettori agonisti e/o corticosteroidi con inalatori separati. Una volta raggiunto il controllo dei sintomi dell'asma, si potrà prendere in considerazione una riduzione graduale della dose di DuoResp Spiromax. I pazienti devono essere rivalutati regolarmente dal medico prescrittore/personale sanitario in modo che la dose di DuoResp Spiromax rimanga ottimale. La dose deve essere ridotta gradualmente al livello di dose più basso che consente di mantenere un efficace controllo dei sintomi. Se si ritiene di poter effettuare una riduzione graduale a un dosaggio inferiore a quello disponibile per DuoResp Spiromax, è necessario passare a una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato alternativa contenente una dose inferiore del corticosteroide per via inalatoria. Quando il controllo dei sintomi viene mantenuto nel lungo periodo con la dose più bassa raccomandata, come fase successiva si potrebbe provare il solo corticosteroide per via inalatoria. Nella pratica corrente, quando viene raggiunto il controllo dei sintomi con il regime posologico di due volte al giorno con un prodotto con dosaggio inferiore, la riduzione graduale alla dose efficace più bassa potrebbe includere un dosaggio di una volta al giorno, nel caso in cui, nell'opinione del medico, sia richiesto un broncodilatatore a lunga durata d'azione per il mantenimento del controllo piuttosto che per il trattamento con solamente un corticosteroide inalatorio. Per DuoResp Spiromax ci sono due modalità di trattamento: **Terapia di mantenimento con DuoResp Spiromax:** DuoResp Spiromax viene utilizzato come regolare trattamento di mantenimento con un altro broncodilatatore a rapida azione da utilizzare come inalatore di sollievo. **Terapia di mantenimento e sollievo con DuoResp Spiromax:** DuoResp Spiromax viene utilizzato come regolare trattamento di mantenimento e al bisogno in risposta ai sintomi. **Terapia di mantenimento con DuoResp Spiromax** Ai pazienti si deve consigliare di tenere sempre a disposizione l'inalatore broncodilatatore di sollievo a rapida azione da utilizzare al bisogno. **Dosi raccomandate:** Adulti (di età pari o superiore ai 18 anni): 1-2 inalazioni due volte al giorno. Alcuni pazienti potrebbero richiedere fino a un massimo di 4 inalazioni due volte al giorno. Un ricorso crescente a un altro broncodilatatore a rapida azione indica un peggioramento della condizione di base e richiede una rivalutazione della terapia per l'asma. **Terapia di mantenimento e sollievo con DuoResp Spiromax** I pazienti assumono una dose di mantenimento giornaliera di DuoResp Spiromax, oltre a utilizzare DuoResp Spiromax al bisogno in risposta ai sintomi. Ai pazienti si deve consigliare di tenere sempre a disposizione DuoResp Spiromax da utilizzare al bisogno. La terapia di mantenimento e sollievo con DuoResp Spiromax deve essere presa in considerazione soprattutto in pazienti con: • controllo inadeguato dell'asma e necessità frequente di un inalatore di sollievo; • riacutizzazioni dell'asma che hanno richiesto intervento medico in passato. Nei pazienti che assumono un elevato numero di inalazioni al bisogno con DuoResp Spiromax è necessario un attento monitoraggio delle reazioni avverse correlate alla dose. **Dosi raccomandate:** Adulti (di età pari o superiore ai 18 anni): la dose di mantenimento raccomandata è di 2 inalazioni al giorno, un'inalazione mattina e sera o 2 inalazioni al mattino o alla sera. Per alcuni pazienti potrebbe essere indicata una dose di mantenimento di 2 inalazioni due volte al giorno. I pazienti devono assumere 1 ulteriore inalazione al bisogno in risposta ai sintomi. Se i sintomi persistono dopo alcuni minuti, si deve assumere un'ulteriore inalazione. Non si devono superare le 6 inalazioni contemporaneamente. Una dose giornaliera totale superiore alle 8 inalazioni di norma non è necessaria; tuttavia, per un periodo di tempo limitato si potrebbe ricorrere a una dose giornaliera totale fino a 12 inalazioni. Ai pazienti che effettuano più di 8 inalazioni al giorno si deve fortemente raccomandare di consultare un medico. Tali pazienti dovranno essere rivalutati e si dovrà riconsiderare la loro terapia di mantenimento. **Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) Dosi raccomandate:** Adulti (di età pari o superiore ai 18 anni): 2 inalazioni due volte al giorno. **Popolazioni speciali: Anziani (>65 anni di età)** Non vi sono requisiti particolari per quanto riguarda il dosaggio nei pazienti anziani. **Pazienti con compromissione renale o epatica** Non vi sono dati disponibili sull'uso di una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrato in pazienti con compromissione epatica o renale. Poiché budesonide e formoterolo sono eliminati principalmente tramite metabolismo epatico, nei pazienti con grave cirrosi epatica ci si può attendere una maggiore esposizione. **Popolazione pediatrica** La sicurezza e l'efficacia di DuoResp Spiromax nei bambini di età pari o inferiore ai 12 anni e negli adolescenti dai 13 ai 17 anni di età non sono state ancora stabilite. Non ci sono dati disponibili. Non è raccomandato l'uso di questo medicinale nei bambini e negli adolescenti di età inferiore ai 18 anni. **Modo di somministrazione Uso inalatorio** L'inalatore Spiromax è azionato dalla respirazione e dal flusso inspiratorio, il che significa che i principi attivi vengono erogati nelle vie respiratorie quando il paziente inala attraverso il boccaglio. È stato dimostrato che i pazienti moderatamente e gravemente asmatici sono in grado di generare un flusso inspiratorio sufficiente affinché Spiromax eroghi la dose terapeutica (vedere paragrafo 5.1). Per ottenere un trattamento efficace, DuoResp Spiromax deve essere utilizzato correttamente. Per questa ragione, i pazienti devono essere invitati a leggere attentamente il foglio illustrativo e a seguire le istruzioni per l'uso descritte in dettaglio al suo interno. L'uso di DuoResp Spiromax segue tre semplici passaggi, di seguito illustrate: aprire, respirare e chiudere. **Aprire:** tenere lo Spiromax con il cappuccio protettivo in basso e aprire il cappuccio piegandolo verso il basso finché non risulta completamente aperto e si avverte un clic. **Respirare:** posizionare il boccaglio tra i denti chiudendolo fra le labbra; non mordere il boccaglio dell'inalatore. Respirare vigorosamente e profondamente attraverso il boccaglio. Rimuovere lo Spiromax dalla bocca e trattenerne il respiro per 10 secondi o finché possibile per il paziente. **Chiudere:** espirare delicatamente e richiudere il cappuccio protettivo. È anche importante consigliare ai pazienti di non agitare l'inalatore prima dell'uso, a non espirare attraverso lo Spiromax e a non ostruire le prese d'aria quando si stanno preparando alla fase del "Respirare". Si deve inoltre consigliare ai pazienti di sciacciarsi la bocca con acqua dopo l'inalazione (vedere paragrafo 4.4). Il paziente potrebbe avvertire un certo sapore dovuto all'eccipiente lattosio quando utilizza DuoResp Spiromax. **4.3 Controindicazioni** Ipersensibilità ai principi attivi o ad uno qualsiasi degli eccipienti elencati al paragrafo 6.1. **4.4 Avvertenze speciali e precauzioni d'impiego** **Informazioni generali** Si raccomanda una diminuzione graduale della dose quando si pone fine al trattamento, che non deve essere interrotto improvvisamente. Se i pazienti rilevano inefficacia del trattamento o eccedono la dose massima raccomandata di DuoResp Spiromax, si deve richiedere un parere medico (vedere paragrafo 4.2). Un improvviso e progressivo peggioramento nel controllo dell'asma o della BPCO rappresenta un potenziale pericolo di vita e il paziente deve sottoporsi a una valutazione medica d'urgenza. In tale situazione, si deve considerare la necessità di aumentare la terapia con corticosteroidi, per esempio con un ciclo di corticosteroidi per via orale o un trattamento antibiotico in caso di infezione. Ai pazienti si deve consigliare di tenere sempre a disposizione l'inalatore da utilizzare al bisogno, che si tratti di DuoResp Spiromax (per i pazienti asmatici che utilizzano DuoResp Spiromax come terapia di mantenimento e sollievo) o un altro broncodilatatore a rapida azione (per i pazienti asmatici che utilizzano DuoResp Spiromax solo come terapia di mantenimento). Si deve ricordare ai pazienti di assumere la dose di mantenimento di DuoResp Spiromax secondo la prescrizione medica, anche in assenza di sintomi. L'uso profilattico di DuoResp Spiromax, per esempio prima dell'esercizio fisico, non è stato studiato. Le inalazioni al bisogno di DuoResp Spiromax devono essere effettuate in risposta ai sintomi, ma non sono destinate al regolare uso profilattico, per esempio prima dell'esercizio fisico. A questo fine, si deve prendere in considerazione un altro broncodilatatore a rapida azione. **Sintomi dell'asma** I pazienti devono essere regolarmente riesaminati dal medico prescrittore/personale sanitario in modo che la dose di DuoResp Spiromax resti ottimale. La dose deve essere ridotta gradualmente al livello di dose più basso che consente di mantenere un efficace controllo dei sintomi. Una volta raggiunto il controllo dei sintomi dell'asma, si potrà prendere in considerazione una riduzione graduale della dose di DuoResp Spiromax. Se è appropriato effettuare una riduzione graduale a un dosaggio inferiore a quello disponibile per DuoResp Spiromax, è necessario passare a un'associazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato alternativa contenente una dose inferiore del corticosteroide per via inalatoria. È importante esaminare regolarmente i pazienti durante la riduzione graduale della dose. I pazienti non devono iniziare il trattamento con DuoResp Spiromax durante una riacutizzazione o qualora presentino un peggioramento significativo o deterioramento acuto dell'asma. Durante il trattamento con DuoResp Spiromax possono verificarsi gravi reazioni avverse e riacutizzazioni correlate all'asma. Ai pazienti deve essere richiesto di proseguire il trattamento, ma di consultare un medico se i sintomi dell'asma rimangono incontrollati o peggiorano dopo l'inizio del trattamento con DuoResp Spiromax. Dopo la somministrazione si può osservare broncospasmo paradossale, con un aumento immediato di sibilo e affanno. Se il paziente manifesta broncospasmo paradossale, DuoResp Spiromax deve essere immediatamente interrotto, il paziente deve essere valutato e, se necessario, si deve istituire una terapia alternativa. Il broncospasmo paradossale risponde all'inalazione di broncodilatatori a rapida azione e deve essere trattato immediatamente (vedere paragrafo 4.8). **Effetti sistemici** Effetti sistemici possono verificarsi con qualsiasi corticosteroide per via inalatoria, soprattutto a dosi elevate prescritte per lunghi periodi. La comparsa di questi effetti è molto meno probabile con il trattamento per via inalatoria che con i corticosteroidi per via orale. I possibili effetti sistemici comprendono sindrome di Cushing, caratteristiche cushingoidi, soppressione surrenale, ritardi della crescita nei bambini e negli adolescenti, diminuzione della densità minerale ossea, cataratta e glaucoma e, più raramente, una gamma di effetti psicologici e comportamentali che includono iperattività psicomotoria, disturbi del sonno, ansia, depressione o aggressività (in particolare nei bambini) (vedere paragrafo 4.8). Si raccomanda di controllare periodicamente la statura dei bambini in trattamento prolungato con corticosteroidi per via inalatoria. Se la crescita risulta rallentata, la terapia deve essere rivalutata al fine di ridurre la dose di corticosteroide inalatorio fino alla dose più bassa alla quale si ha un effettivo controllo dell'asma, se possibile. I benefici della terapia con corticosteroidi e i possibili rischi di soppressione della crescita devono essere attentamente ponderati. Inoltre, si deve prendere in considerazione l'eventualità di rinviare il paziente a uno specialista in pneumologia pediatrica. Dati limitati provenienti da studi a lungo termine suggeriscono che la maggior parte dei bambini e degli adolescenti trattati con budesonide per via inalatoria, raggiunge un'adeguata statura da adulto. Tuttavia è stata osservata una piccola riduzione iniziale, ma transitoria, nell'accrescimento (circa 1 cm). Ciò si verifica in genere entro il primo anno di trattamento. **Effetti sulla densità ossea** Si devono prendere in considerazione i potenziali effetti sulla densità ossea, in particolare nei pazienti trattati a dosi elevate per periodi prolungati e con coesistenti fattori di rischio per l'osteoporosi. Studi a lungo termine con budesonide per via inalatoria nei bambini a dosi giornaliere medie da 400 microgrammi (dose preimpostata) o negli adulti a dosi giornaliere da 800 microgrammi (dose preimpostata) non hanno mostrato effetti significativi sulla densità minerale ossea. Non sono disponibili informazioni sull'effetto di una combinazione a dose fissa di budesonide/formoterolo fumarato diidrato a dosi più elevate. **Funzione surrenale** Se sussistono ragioni per supporre una compromissione della funzione surrenale causata da una precedente terapia sistemica con steroidi, si deve prestare attenzione quando si avviano i pazienti a una terapia di associazione a dose fissa di budesonide/formoterolo fumarato. I benefici della terapia con budesonide per via inalatoria dovrebbero di norma ridurre la necessità di steroidi orali, ma nei pazienti che provengono da una terapia con steroidi orali può permanere il rischio di compromissione della riserva surrenale per un periodo di tempo considerevole. La guarigione potrebbe richiedere una notevole quantità di tempo in seguito alla sospensione della terapia con steroidi orali e per questo nei pazienti steroide-dipendenti avviati a budesonide



sonide per via inalatoria può permanere il rischio di compromissione della funzione surrenale per un periodo di tempo considerevole. In tali circostanze si deve effettuare il regolare monitoraggio della funzione dell'asse ipotalamico-pituitario-corticosurrenale (hypothalamic pituitary adrenocortical, HPA). **Corticosteroidi ad alte dosi** Il trattamento prolungato con dosi elevate di corticosteroidi per via inalatoria, soprattutto a dosi superiori a quelle raccomandate, può determinare anche una soppressione surrenale clinicamente significativa. In periodi di stress, come infezioni gravi o interventi chirurgici di elezione, deve quindi essere presa in considerazione una copertura aggiuntiva con corticosteroidi sistemici. Una rapida riduzione della dose di steroidi può indurre una crisi surrenale acuta. I sintomi e i segni che si potrebbero osservare in una crisi surrenale acuta possono essere alquanto vaghi, ma possono includere anoressia, dolore addominale, perdita di peso, stanchezza, cefalea, nausea, vomito, ridotto livello di coscienza, convulsioni, ipotensione e ipoglicemia. Il trattamento con steroidi sistemici aggiuntivi o budesonide per via inalatoria non deve essere interrotto bruscamente. **Passaggio dalla terapia orale** Durante il passaggio da una terapia orale a una terapia combinata a dose fissa con budesonide/formoterolo fumarato, si osserverà un'azione sistemica degli steroidi generalmente inferiore, che potrà dar luogo all'insorgenza di sintomi allergici o artrici quali rinite, eczema e dolore muscolare e articolare. In queste condizioni si deve iniziare un trattamento specifico. Si deve sospettare un effetto generale insufficiente dei glucocorticoidi qualora, in rari casi, dovessero verificarsi sintomi quali stanchezza, cefalea, nausea e vomito. In questi casi è talvolta necessario un aumento temporaneo della dose dei glucocorticoidi orali. **Infezioni del cavo orale** Per ridurre al minimo il rischio di infezione da candida nel tratto orofaringeo, si deve istruire il paziente a sciacquarsi la bocca con acqua dopo l'inalazione della dose. In caso di mugugno, il paziente deve sciacquarsi la bocca con acqua anche dopo le inalazioni effettuate al bisogno. **Interazioni con altri medicinali** Il trattamento concomitante con itraconazolo, ritonavir o altri potenti inibitori del CYP3A4 deve essere evitato (vedere paragrafo 4.5). Se ciò non fosse possibile, l'intervallo di tempo tra le somministrazioni dei medicinali che interagiscono tra loro deve essere il più lungo possibile. La combinazione di budesonide/formoterolo fumarato a dose fissa non è raccomandata nei pazienti che utilizzano potenti inibitori del CYP3A4. **Precauzioni con malattie speciali** Una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrata deve essere somministrata con cautela nei pazienti con tireotossicosi, feocromocitoma, diabete mellito, ipopotassiemia non trattata, cardiomiopatia ipertrofica ostruttiva, stenosi subvalvolare aortica idiopatica, ipertensione grave, aneurisma o altri gravi disturbi cardiovascolari quali cardiopatia ischemica, tachiaritmia o insufficienza cardiaca grave. Deve essere osservata cautela nel trattamento di pazienti con prolungamento dell'intervallo QTc. Il formoterolo stesso può indurre un prolungamento dell'intervallo QTc. La necessità e la dose di corticosteroidi per via inalatoria devono essere rivalutate nei pazienti con tubercolosi polmonare attiva o quiescente, e infezioni micotiche e virali delle vie aeree. Nei pazienti diabetici devono essere presi in considerazione controlli supplementari della glicemia. **β_2 -adrenocettori agonisti** Dosi elevate di β_2 -adrenocettori agonisti possono determinare un'ipotassiemia potenzialmente grave. L'effetto di un trattamento concomitante con β_2 -adrenocettori agonisti e medicinali che possono causare ipotassiemia o potenziare un effetto ipotassiemicco, per esempio derivati xantici, steroidi e diuretici, può sommarsi a un possibile effetto ipotassiemicco del β_2 -adrenocettore agonista. Il trattamento con β_2 -adrenocettori agonisti può determinare un aumento dei livelli ematici di insulina, acidi grassi liberi, glicero e corpi chetonici. Si raccomanda particolare cautela nell'asma instabile che necessita di un uso variabile di broncodilatatori per l'uso al bisogno, nell'asma acuta grave, in quanto il rischio associato può essere aumentato dall'ipossia, e in altre condizioni in cui la probabilità di ipotassiemia è maggiore. Si raccomanda in tali circostanze di monitorare i livelli di potassio sierico. **Eccipienti** Questo medicinale contiene lattosio. I pazienti affetti da rari problemi ereditari di intolleranza al galattosio, deficit di lattasi di Lapp o malassorbimento di glucosio-galattosio non devono assumere questo medicinale. L'eccipiente lattosio contiene piccole quantità di proteine del latte che possono causare reazioni allergiche. **4.5 Interazione con altri medicinali ed altre forme d'interazione** **Interazioni farmacocinetiche** È probabile che potenti inibitori del CYP3A4 (es. ketoconazolo, itraconazolo, voriconazolo, posaconazolo, claritromicina, telitromicina, nefazodone e inibitori dell'HIV-proteasi) aumentino notevolmente i livelli plasmatici di budesonide e l'uso concomitante deve essere evitato. Se ciò non fosse possibile, l'intervallo di tempo tra la somministrazione dell'inibitore e quella di budesonide deve essere il più lungo possibile (vedere paragrafo 4.4). La terapia di mantenimento e sollievo con una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrata non è raccomandata nei pazienti che utilizzano potenti inibitori del CYP3A4. Il ketoconazolo, un potente inibitore del CYP3A4, 200 mg una volta al giorno, ha aumentato in media di sei volte i livelli plasmatici di budesonide somministrata in concomitanza per via orale (dose singola da 3 mg). Se somministrato 12 ore dopo budesonide, la concentrazione di ketoconazolo è risultata aumentata in media solo di tre volte, il che dimostra che la separazione dei tempi di somministrazione può ridurre l'aumento dei livelli plasmatici. Dati limitati riguardo a questa interazione relativi a budesonide per via inalatoria a dosi elevate indicano che può verificarsi un notevole aumento dei livelli plasmatici (in media di quattro volte) se itraconazolo, 200 mg una volta al giorno, viene somministrato in concomitanza con budesonide per via inalatoria (dose singola da 1000 microgrammi). **Interazioni farmacodinamiche** I β -bloccanti adrenergici possono indebolire o inibire l'effetto del formoterolo. Pertanto, una terapia con una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrata non deve essere somministrata contemporaneamente ai β -bloccanti adrenergici (inclusi i colliri) salvo in casi di necessità. Il trattamento concomitante con chinidina, disopiramide, procainamide, fenotiazine, antistaminici (terfenadina), inibitori delle monoamino ossidasi e antidepressivi triciclici può prolungare l'intervallo QTc e aumentare il rischio di aritmie ventricolari. Inoltre, L-Dopa, L-tiroxina, ossitocina e l'alcool possono indebolire la tolleranza cardiaca nei confronti dei β_2 -simpaticomimetici. Il trattamento concomitante con inibitori delle monoamino ossidasi, compresi medicinali con proprietà simili come furazolidone e procarbazine, può scatenare reazioni ipertensive. Sussiste un rischio elevato di aritmie in pazienti sottoposti contemporaneamente ad anestesia con idrocarburi alogenati. L'uso concomitante di altri medicinali β -adrenergici e anticolinergici può avere un potenziale effetto broncodilatatorio additivo. L'ipotassiemia può accrescere la tendenza alle aritmie nei pazienti trattati con glicosidi digitali. Non sono state osservate interazioni di budesonide e formoterolo con altri medicinali utilizzati nel trattamento dell'asma. **Popolazione pediatrica** Sono stati effettuati studi d'interazione solo negli adulti. **4.6 Fertilità, gravidanza e allattamento** **Gravidanza** Per una terapia con una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrata o il trattamento concomitante con formoterolo e budesonide non sono disponibili dati clinici relativi a gravidanze esposte. Dati di uno studio sullo sviluppo embrio-fetale nel ratto non hanno evidenziato prove di ulteriori effetti dovuti all'associazione. Non sono disponibili dati adeguati sull'uso del formoterolo nelle donne in gravidanza. In studi su animali, il formoterolo ha causato reazioni avverse in relazione alla riproduzione a livelli di esposizione sistemica molto elevati (vedere paragrafo 5.3). Dati su circa 2000 gravidanze esposte indicano che non vi è alcun aumento del rischio di teratogenicità associato all'uso di budesonide per via inalatoria. In studi su animali, è stato dimostrato che i glucocorticoidi inducono malformazioni (vedere paragrafo 5.3), fatto probabilmente non rilevante per l'uomo alle dosi raccomandate. Studi su animali hanno inoltre rilevato la correlazione fra un eccesso di glucocorticoidi in età prenatale e l'aumento del rischio di crescita intrauterina ritardata, malattia cardiovascolare nell'adulto e modifiche permanenti nella densità dei recettori dei glucocorticoidi nonché nel turnover e nel comportamento dei neurotrasmettitori a esposizioni inferiori all'intervallo di dose teratogenico. Una terapia con una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrata deve essere usata in gravidanza solo se i benefici sono superiori ai potenziali rischi. La budesonide deve essere utilizzata alla dose efficace più bassa necessaria per il mantenimento di un adeguato controllo dell'asma. **Allattamento** La budesonide viene escreta nel latte materno. Tuttavia, alle dosi terapeutiche non sono attesi effetti sul lattante. Non è noto se il formoterolo passi nel latte materno umano. Nei ratti, piccole quantità di formoterolo sono state riscontrate nel latte materno. La somministrazione di una terapia con una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrata in donne in allattamento deve essere presa in considerazione solo se il beneficio atteso per la madre è maggiore di ogni possibile rischio per il bambino. **Fertilità** Non sono disponibili dati sulla fertilità. **4.7 Effetti sulla capacità di guidare veicoli e sull'uso di macchinari** DuoResp Spiromax non altera o altera in modo trascurabile la capacità di guidare veicoli o di usare macchinari. **4.8 Effetti indesiderati Riassunto del profilo di sicurezza** Poiché DuoResp Spiromax contiene sia budesonide sia formoterolo, può verificarsi lo stesso quadro di reazioni avverse riportato per queste sostanze. Non sono stati osservati aumenti nell'incidenza di reazioni avverse in seguito alla somministrazione concomitante dei due composti. Le reazioni avverse più comuni sono reazioni avverse farmacologicamente prevedibili della terapia con β_2 -adrenocettori agonisti, come tremore e palpitazioni. Tali reazioni tendono a essere di grado lieve e solitamente scompaiono entro pochi giorni di trattamento. In una sperimentazione clinica di 3 anni con budesonide per la BPCO, si sono verificate ecchimosi e polmonite con una frequenza rispettivamente del 10% e del 6%, rispetto al 4% e al 3% del gruppo placebo (rispettivamente $p < 0,001$ e $p < 0,01$). DuoResp Spiromax non è indicato nei bambini e negli adolescenti di età inferiore ai 18 anni (vedere paragrafo 4.2). **Tabella delle reazioni avverse** Le reazioni avverse associate a budesonide o formoterolo sono riportate di seguito ed elencate in base alla classificazione per sistemi e organi e frequenza. Le frequenze sono definite come: molto comune ($\geq 1/10$), comune ($\geq 1/100$, $< 1/100$), non comune ($\geq 1/1.000$, $< 1/100$), raro ($\geq 1/10.000$, $< 1/1.000$), molto raro ($< 1/10.000$) e non nota (la frequenza non può essere definita sulla base dei dati disponibili).

Classificazione per sistemi e organi	Frequenza	Reazione avversa
Infezioni e infestazioni	Comune	Infezioni da candida del tratto orofaringeo
Disturbi del sistema immunitario	Raro	Reazioni di ipersensibilità immediate e ritardate, es. esantema, orticaria, prurito, dermatite, angioedema e reazione anafilattica
Patologie endocrine	Molto raro	Sindrome di Cushing, soppressione surrenale, ritardi nella crescita, riduzione della densità minerale ossea
Disturbi del metabolismo e della nutrizione	Raro	Ipotassiemia
	Molto raro	Iperglicemia
Disturbi psichiatrici	Non comune	Aggressività, iperattività psicomotoria, ansia, disturbi del sonno
	Molto raro	Depressione, modificazioni comportamentali (prevalentemente nei bambini)
Patologie del sistema nervoso	Comune	Cefalea, tremore
	Non comune	Capogiri
	Molto raro	Disturbi del gusto
Patologie dell'occhio	Molto raro	Cataratta e glaucoma





Patologie cardiache	Comune	Palpitazioni
	Non comune	Tachicardia
	Raro	Aritmie cardiache, es. fibrillazione atriale, tachicardia sopraventricolare, extrasistoli
	Molto raro	Angina pectoris. Prolungamento dell'intervallo QTc
Patologie vascolari	Molto raro	Variazione della pressione arteriosa
Patologie respiratorie, toraciche e mediastiniche	Comune	Lieve irritazione alla gola, tosse, raucedine
	Raro	Broncospasmo
	Molto raro	Broncospasmo paradossoso
Patologie gastrointestinali	Non comune	Nausea
Patologie della cute e del tessuto sottocutaneo	Non comune	Ecchimosi
Patologie del sistema muscoloscheletrico e del tessuto connettivo	Non comune	Crampi muscolari

Descrizione di reazioni avverse selezionate L'infezione da candida nel tratto orofaringeo è dovuta al deposito dei principi attivi. Consigliando al paziente di sciacquarsi la bocca con acqua dopo ogni dose si ridurrà al minimo tale rischio. L'infezione da candida nel tratto orofaringeo solitamente risponde al trattamento topico con antimicotici senza la necessità di sospendere i corticosteroidi per via inalatoria. La possibilità di broncospasmo paradossoso è molto rara - interessa 1 persona su 10.000 - con un aumento immediato del sibilo e dell'affanno. Il broncospasmo paradossoso risponde ai broncodilatatori per via inalatoria a rapida azione e deve essere trattato immediatamente. DuoResp Spiromax deve essere immediatamente interrotto, il paziente deve essere valutato e, se necessario, si deve istituire una terapia alternativa (vedere paragrafo 4.4). Effetti sistemici dei corticosteroidi per via inalatoria si possono verificare soprattutto a dosi elevate prescritte per lunghi periodi. La comparsa di questi effetti è molto meno probabile che con i corticosteroidi per via orale. I possibili effetti sistemici includono sindrome di Cushing, caratteristiche cushingoidi, soppressione surrenale, ritardi della crescita nei bambini e negli adolescenti, diminuzione della densità minerale ossea, cataratta e glaucoma. Può inoltre verificarsi una maggiore suscettibilità alle infezioni e una compromissione della capacità di adattarsi allo stress. Gli effetti probabilmente dipendono da dose, tempo di esposizione, esposizione concomitante e precedente a steroidi e sensibilità individuale. Il trattamento con β_2 -adrenocettori agonisti può determinare un aumento dei livelli ematici di insulina, acidi grassi liberi, glicero e corpi chetonici. **Segnalazione delle reazioni avverse sospette** La segnalazione delle reazioni avverse sospette che si verificano dopo l'autorizzazione del medicinale è importante, in quanto permette un monitoraggio continuo del rapporto beneficio/rischio del medicinale. Agli operatori sanitari è richiesto di segnalare qualsiasi reazione avversa sospetta tramite il sistema nazionale di segnalazione all'indirizzo: <http://www.agenziafarmaco.gov.it/it/responsabili>. **4.9 Sovradosaggio** Un sovradosaggio di formoterolo produrrebbe effetti tipici dei β_2 -adrenocettori agonisti: tremore, cefalea, palpitazioni. Sono stati riportati casi isolati di sintomi di tachicardia, iperglicemia, ipopotassiemia, prolungamento dell'intervallo QTc, aritmia, nausea e vomito. Può essere indicato il trattamento sintomatico e di supporto. Una dose da 90 microgrammi somministrata nell'arco di tre ore in pazienti con ostruzione bronchiale acuta non ha destato preoccupazioni circa la sicurezza. Non si prevede che un sovradosaggio acuto di budesonide, anche a dosi eccessive, possa essere un problema clinico. L'uso cronico a dosi eccessive può dar luogo a effetti sistemici dovuti ai glucocorticoidi, come ipercorticismismo e soppressione surrenale. Qualora si renda necessaria una sospensione della terapia con DuoResp Spiromax a causa di un sovradosaggio del formoterolo, un componente del medicinale, si deve prendere in considerazione una adeguata terapia con un corticosteroide per via inalatoria. **5. PROPRIETÀ FARMACOLOGICHE 5.1 Proprietà farmacodinamiche** Categoria farmacoterapeutica: adrenergici ed altri farmaci per le sindromi ostruttive delle vie respiratorie. Codice ATC: R03AK07 **Meccanismo d'azione ed effetti farmacodinamici** DuoResp Spiromax contiene formoterolo e budesonide, che presentano un meccanismo d'azione diverso e mostrano effetti additivi in termini di riduzione delle riacutizzazioni dell'asma. Le proprietà specifiche di budesonide e formoterolo consentono di utilizzarne l'associazione come terapia di mantenimento e sollievo o come trattamento di mantenimento per l'asma. I meccanismi di azione delle due sostanze rispettivamente sono descritti di seguito. **Budesonide** Budesonide è un glucocorticoide che, quando inalato, esercita un'azione antinfiammatoria dose-dipendente sulle vie respiratorie, con conseguente riduzione dei sintomi e diminuzione delle riacutizzazioni dell'asma. La budesonide per via inalatoria comporta meno reazioni avverse gravi rispetto ai corticosteroidi per via sistemica. L'esatto meccanismo responsabile dell'effetto antinfiammatorio dei glucocorticoidi non è noto. **Formoterolo** Formoterolo è un β_2 -adrenocettore agonista che, quando inalato, induce un rapido e prolungato rilassamento della muscolatura bronchiale liscia nei pazienti con ostruzione reversibile delle vie aeree. L'effetto broncodilatatore è dose-dipendente e si manifesta entro 1-3 minuti. La durata dell'effetto è di almeno 12 ore dopo una singola dose. **Efficacia e sicurezza clinica Asma Terapia di mantenimento con budesonide/formoterolo** Studi clinici condotti su soggetti adulti hanno dimostrato che l'aggiunta di formoterolo a budesonide migliora i sintomi dell'asma e la funzione polmonare, oltre a ridurre le riacutizzazioni. In due studi di 12 settimane, l'effetto di budesonide/formoterolo sulla funzione polmonare è risultato uguale a quello della libera combinazione di budesonide e formoterolo e ha superato quello della sola budesonide. Tutti i bracci di trattamento prevedevano l'utilizzo al bisogno di un β_2 -adrenocettore agonista a rapida azione. Non sono emersi segni di attenuazione dell'effetto antiasmatico nel corso del tempo. Sono stati effettuati due studi pediatrici di 12 settimane, nei quali 265 bambini di età compresa tra i 6 e gli 11 anni sono stati trattati con una dose di mantenimento di budesonide/formoterolo (2 inalazioni da 80 microgrammi/4,5 microgrammi/inalazione due volte al giorno) e un β_2 -adrenocettore agonista a breve durata d'azione al bisogno. In entrambi gli studi, la funzione polmonare è risultata migliorata e il trattamento ben tollerato rispetto alla dose corrispondente di sola budesonide. **Terapia di mantenimento e sollievo con budesonide/formoterolo per l'asma** Un totale di 12.076 pazienti asmatici sono stati inclusi in 5 studi clinici condotti in doppio cieco (4447 sono stati randomizzati per la terapia di mantenimento e sollievo con budesonide/formoterolo) per 6 o 12 mesi. I pazienti dovevano essere sintomatici nonostante l'uso di glucocorticoidi per via inalatoria. La terapia di mantenimento e sollievo con budesonide/formoterolo ha prodotto riduzioni statisticamente significative e clinicamente importanti delle riacutizzazioni gravi per tutti i casi confrontati nei 5 studi. In particolare un confronto con budesonide/formoterolo a una dose di mantenimento più alta con terbutalina per il sollievo dei sintomi (studio 735) e budesonide/formoterolo alla stessa dose di mantenimento con formoterolo o terbutalina per il sollievo dei sintomi (studio 734) (vedere tabella seguente). Nello Studio 735, funzione polmonare, controllo dei sintomi e utilizzo del medicinale di sollievo sono risultati simili in tutti i gruppi di trattamento. Nello Studio 734, i sintomi e l'uso del medicinale di sollievo sono apparsi ridotti e la funzione polmonare migliorata, rispetto a entrambi i trattamenti di confronto. Nei 5 studi combinati, i pazienti che hanno ricevuto la terapia di mantenimento e sollievo con budesonide/formoterolo non hanno fatto ricorso a inalazioni di sollievo in media nel 57% dei giorni di trattamento. Non sono emersi segni di sviluppo di tolleranza nel corso del tempo.

Panoramica delle riacutizzazioni gravi negli studi clinici				
Numero dello studio, durata	Gruppi di trattamento	N	Riacutizzazioni gravi ^a	
			Eventi	Eventi/paziente-anno
Studio 735 6 mesi	Budesonide/formoterolo fumarato diidrato 160/4,5 µg BD + al bisogno	1103	125	0,23 ^b
	Budesonide/formoterolo fumarato diidrato 320/9 µg BD + terbutalina 0,4 mg al bisogno	1099	173	0,32
	Salmeterolo/fluticasone 2 x 25/125 µg BD + terbutalina 0,4 mg al bisogno	1119	208	0,38
Studio 734 12 mesi	Budesonide/formoterolo fumarato diidrato 160/4,5 µg BD + al bisogno	1107	194	0,19 ^b
	Budesonide/formoterolo fumarato diidrato 160/4,5 µg BD + formoterolo 4,5 mg al bisogno	1137	296	0,29
	Budesonide/formoterolo fumarato diidrato 160/4,5 µg BD + terbutalina 0,4 mg al bisogno	1138	377	0,37

^aTrattamento in regime di ospedalizzazione/pronto soccorso o trattamento con steroidi per via orale
^bLa riduzione del tasso di riacutizzazioni è statisticamente significativa (valore P<0,01) per entrambi i confronti





In altri 2 studi su pazienti che si sono rivolti al medico per sintomi acuti dell'asma, budesonide/formoterolo hanno fornito un sollievo rapido ed efficace della broncocostrizione, simile a salbutamolo e formoterolo. **Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO)** In due studi di 12 mesi si è valutato l'effetto sulla funzione polmonare e il tasso di riacutizzazioni (definito come cicli di steroidi per via orale e/o cicli di antibiotici e/o ospedalizzazioni) nei pazienti con BPCO grave. La FEV1 mediana all'inclusione nelle sperimentazioni era pari al 36% del valore normale previsto. Il numero medio di riacutizzazioni per anno (come definito sopra) è risultato significativamente ridotto con budesonide/formoterolo rispetto al trattamento con formoterolo da solo o placebo (tasso medio 1,4 rispetto all'1,8-1,9 nel gruppo placebo/formoterolo). Il numero medio di giorni di trattamento con corticosteroidi orali/paziente durante i 12 mesi è apparso leggermente ridotto nel gruppo con budesonide/formoterolo (7-8 giorni/paziente/anno rispetto a 11-12 e 9-12 giorni, rispettivamente nei gruppi placebo e formoterolo). Per quanto concerne le variazioni nei parametri della funzione polmonare, come FEV1, la combinazione budesonide/formoterolo non è risultata superiore al trattamento con formoterolo da solo. **Picco di flusso inspiratorio mediante il dispositivo Spiromax** Per valutare il picco di flusso inspiratorio (Peak Inspiratory Flow Rate, PIFR) e altri parametri di inalazione correlati, è stato effettuato uno studio con placebo, randomizzato e in aperto, su bambini e adolescenti con asma (età 6-17 anni), adulti con asma (età 18-45 anni), adulti con broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) (età >50 anni) e volontari sani (età 18-45 anni), attraverso il confronto tra l'inalazione con il dispositivo Spiromax (contenente placebo) e l'inalazione con un inalatore a polvere secca multidose reperibile in commercio (contenente placebo). In questi gruppi di soggetti è stato valutato anche l'impatto del potenziamento della formazione nella tecnica di inalazione mediante inalatore a polvere secca sulla velocità e sul volume di inalazione. I dati dello studio indicano che, a prescindere dall'età e dalla gravità della patologia sottostante, i bambini, gli adolescenti e gli adulti con asma nonché i pazienti con BPCO erano in grado di generare un flusso inspiratorio sufficiente attraverso il dispositivo Spiromax simile a quello generato attraverso il dispositivo di inalazione a polvere secca multidose reperibile in commercio. Il PIFR medio generato dai pazienti con asma o BPCO era superiore ai 60 l/min, un tasso di flusso con il quale entrambi i dispositivi studiati sono noti per erogare ai polmoni quantità paragonabili di farmaco. Pochissimi pazienti hanno avuto valori PIFR inferiori a 40 l/min; nei casi in cui i PIFR sono risultati inferiori a 40 l/min non è stato evidenziato alcun raggruppamento per età o gravità della malattia. **5.2 Proprietà farmacocinetiche Assorbimento** La combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo e i corrispondenti monoproducti hanno dimostrato di essere bioequivalenti per quanto riguarda l'esposizione sistemica rispettivamente di budesonide e formoterolo. Nonostante ciò, un leggero aumento della soppressione del cortisolo è stato osservato dopo la somministrazione della combinazione a dose fissa rispetto ai singoli prodotti. La differenza è considerata priva di impatto sulla sicurezza clinica. Non vi è alcuna evidenza di interazioni farmacocinetiche tra budesonide e formoterolo. I parametri farmacocinetici per le rispettive sostanze sono risultati comparabili dopo la somministrazione di budesonide e formoterolo singolarmente o in combinazione a dose fissa. Per la budesonide, la AUC è risultata leggermente più elevata, la velocità di assorbimento più rapida e la concentrazione plasmatica massima più alta dopo la somministrazione della combinazione fissa. Per il formoterolo, la concentrazione plasmatica massima è risultata simile dopo la somministrazione della combinazione fissa. Budesonide per via inalatoria viene assorbita rapidamente e la concentrazione plasmatica massima viene raggiunta entro 30 minuti dall'inalazione. Negli studi, la deposizione polmonare media di budesonide dopo l'inalazione tramite l'inalatore a polvere variava dal 32% al 44% della dose erogata. La biodisponibilità sistemica è pari a circa il 49% della dose erogata. Nei bambini di 6-16 anni di età, la deposizione polmonare rientra nel medesimo intervallo di valori degli adulti a parità di dose somministrata. Le concentrazioni plasmatiche derivanti non sono state determinate. Formoterolo per via inalatoria viene assorbito rapidamente e la concentrazione plasmatica massima viene raggiunta entro 10 minuti dall'inalazione. Negli studi, la deposizione polmonare media del formoterolo dopo l'inalazione tramite l'inalatore a polvere variava dal 28% al 49% della dose erogata. La biodisponibilità sistemica è pari a circa il 61% della dose erogata. **Distribuzione** Il legame alle proteine plasmatiche è di circa il 50% per il formoterolo e del 90% per la budesonide. Il volume di distribuzione è di circa 4 l/kg per il formoterolo e 3 l/kg per la budesonide. Il formoterolo è inattivato tramite reazioni di coniugazione (si formano metaboliti O-demetilati e deformilati, per lo più rilevati come coniugati inattivi). Budesonide subisce un notevole livello (circa il 90%) di biotrasformazione in metaboliti a bassa attività glucocorticoide al primo passaggio epatico. L'attività glucocorticoide dei metaboliti principali, 6-beta-idrossi-budesonide e 16-alfa-idrossi-prednisolone, è inferiore all'1% rispetto a quella di budesonide. Non esistono indicazioni di interazioni metaboliche o reazioni da sostituzione tra formoterolo e budesonide. **Eliminazione** La maggior parte di una dose di formoterolo viene trasformata tramite il metabolismo epatico seguito da eliminazione renale. Dopo l'inalazione, dall'8% al 13% della dose erogata di formoterolo viene escreta non metabolizzata nelle urine. Formoterolo ha un elevato livello di clearance sistemica (circa 1,4 l/min) e l'emivita terminale è in media di 17 ore. Budesonide viene eliminata per via metabolica principalmente catalizzata dall'enzima CYP3A4. I metaboliti della budesonide vengono eliminati nelle urine come tali o in forma coniugata. Nelle urine sono stati riscontrati solo livelli trascurabili di budesonide immodificata. Budesonide ha un'elevata eliminazione sistemica (circa 1,2 l/min) e l'emivita di eliminazione plasmatica dopo somministrazione EV è in media di 4 ore. **Relazioni farmacocinetiche/farmacodinamiche** La farmacocinetica di budesonide o formoterolo nei bambini e nei pazienti con insufficienza renale non è nota. L'esposizione di budesonide e formoterolo può risultare aumentata nei pazienti con epatopatia. **Profilo farmacocinetico di DuoResp Spiromax** In studi farmacocinetici con e senza blocco con carbone, DuoResp Spiromax è stato valutato attraverso un confronto con un prodotto di combinazione per via inalatoria a dose fissa autorizzato alternativo contenente gli stessi principi attivi (budesonide e formoterolo), dimostrandone l'equivalenza in termini sia di esposizione sistemica (sicurezza) sia di deposizione polmonare (efficacia). **5.3 Dati preclinici di sicurezza** La tossicità osservata negli studi condotti su animali con budesonide e formoterolo somministrati in combinazione o separatamente si è dimostrata sotto forma di effetti associati ad attività farmacologica esagerata. Negli studi di riproduzione su animali, i corticosteroidi come budesonide hanno dimostrato di indurre malformazioni (palatoschisi, malformazioni scheletriche). Tuttavia, tali risultati sperimentali nell'animale non sembrano rilevanti nell'uomo alle dosi raccomandate. Gli studi di riproduzione su animali con formoterolo hanno dimostrato una certa riduzione della fertilità nei ratti maschi dopo elevata esposizione sistemica e perdite degli impianti embrionali, così come sono state osservate, ad una esposizione molto più elevata rispetto a quella osservata durante l'uso clinico, una riduzione della sopravvivenza post-natale e del peso alla nascita. Tuttavia, tali risultati sperimentali nell'animale non sembrano rilevanti nell'uomo. **6. INFORMAZIONI FARMACEUTICHE** **6.1 Elenco degli eccipienti** Lattosio monoidrato. **6.2 Incompatibilità** Non pertinente. **6.3 Periodo di validità** 2 anni. Dopo l'apertura dell'involucro di alluminio: 6 mesi. **6.4 Precauzioni particolari per la conservazione** Non conservare a temperatura superiore ai 25°C Tenere chiuso il cappuccio protettivo dopo la rimozione dell'involucro di alluminio. **6.5 Natura e contenuto del contenitore** L'inalatore è bianco, con un cappuccio protettivo semitrasparente di colore bordeaux ed è costituito da acrilonitrile butadiene stirene (ABS), polietilene tereftalato (PT) e polipropilene (PP). Ogni inalatore contiene 120 dosi ed è avvolto in un involucro di alluminio. Confezioni multiple contenenti 1, 2 o 3 inalatori. È possibile che non tutte le confezioni siano commercializzate. **6.6 Precauzioni particolari per lo smaltimento e la manipolazione** Nessuna istruzione particolare. **7. TITOLARE DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO** Teva Pharma B.V. - Computerweg 10, 3542 DR Utrecht - Paesi Bassi **8. NUMERO(I) DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO** EU/1/14/920/001 - EU/1/14/920/002 - EU/1/14/920/003 **9. DATA DELLA PRIMA AUTORIZZAZIONE/RINNOVO DELL'AUTORIZZAZIONE** Data della prima autorizzazione: 28 Aprile 2014. Data del rinnovo più recente: **10. DATA DI REVISIONE DEL TESTO** Luglio 2014. Informazioni più dettagliate su questo medicinale sono disponibili sul sito web dell'Agenzia europea dei medicinali: <http://www.ema.europa.eu> Classe A - RR - Prezzo al pubblico 2015: € 49,31

Riassunto delle caratteristiche del prodotto

1. DENOMINAZIONE DEL MEDICINALE DuoResp Spiromax 320 microgrammi/9 microgrammi polvere per inalazione **2. COMPOSIZIONE QUALITATIVA E QUANTITATIVA** Ogni dose erogata (dose che fuoriesce dal boccaglio di Spiromax) contiene 320 microgrammi di budesonide e 9 microgrammi di formoterolo fumarato diidrato. Ciò equivale a una dose preimpostata di 400 microgrammi di budesonide e 12 microgrammi di formoterolo fumarato diidrato. Eccipienti con effetti noti: ogni dose contiene circa 10 milligrammi di lattosio (monoidrato). Per l'elenco completo degli eccipienti, vedere paragrafo 6.1. **3. FORMA FARMACEUTICA** Polvere per inalazione. Polvere bianca con un cappuccio protettivo semitrasparente di colore bordeaux. **4. INFORMAZIONI CLINICHE** **4.1 Indicazioni terapeutiche** DuoResp Spiromax è indicato esclusivamente negli adulti di età pari o superiore ai 18 anni. **Asma** DuoResp Spiromax è indicato per il regolare trattamento dell'asma quando è appropriato l'uso di un'associazione (corticosteroidi per via inalatoria e β_2 -adrenocettori agonisti a lunga durata d'azione): • in pazienti non adeguatamente controllati con corticosteroidi per via inalatoria e con β_2 -adrenocettori agonisti a breve durata d'azione usati "al bisogno" o • in pazienti già adeguatamente controllati sia con corticosteroidi per via inalatoria sia con β_2 -adrenocettori agonisti a lunga durata d'azione. **Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO)** Trattamento sintomatico di pazienti con BPCO grave (FEV₁ < 50% del normale) e anamnesi di ripetute riacutizzazioni, con sintomi significativi nonostante la terapia regolare con broncodilatatori a lunga durata d'azione. **4.2 Posologia e modo di somministrazione** DuoResp Spiromax è indicato esclusivamente negli adulti di età pari o superiore ai 18 anni. DuoResp Spiromax non è indicato per l'uso nei bambini di età pari o inferiore ai 12 anni o negli adolescenti dai 13 ai 17 anni di età. **Posologia Asma** DuoResp Spiromax non è destinato alla gestione iniziale dell'asma. DuoResp Spiromax non è indicato per il trattamento del paziente adulto che presenta solo asma lieve non adeguatamente controllato con un corticosteroide per via inalatoria e β_2 -adrenocettori agonisti a rapida azione "al bisogno". Il dosaggio di DuoResp Spiromax è individuale e deve essere adattato in relazione alla gravità della malattia. Ciò deve essere tenuto in considerazione non solo quando si inizia un trattamento con combinazioni di medicinali, ma anche quando la dose di mantenimento viene modificata. Se un singolo paziente necessita di una combinazione di dosi diversa da quelle disponibili nell'inalatore combinato, si devono prescrivere dosi appropriate di β_2 -adrenocettori agonisti e/o corticosteroidi con inalatori separati. Una volta raggiunto il controllo dei sintomi dell'asma, si potrà prendere in considerazione una riduzione graduale della dose di DuoResp Spiromax. I pazienti devono essere rivalutati regolarmente dal medico prescrittore/personale sanitario in modo che la dose di DuoResp Spiromax rimanga ottimale. La dose deve essere ridotta gradualmente al livello di dose più basso che consente di mantenere un efficace controllo dei sintomi. Se è appropriato effettuare una riduzione graduale a un dosaggio inferiore a quello disponibile per DuoResp Spiromax, è necessario passare a un'associazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato alternativa contenente una dose inferiore del corticosteroide per via inalatoria. Quando il controllo dei sintomi viene mantenuto nel lungo periodo con la dose più bassa raccomandata, come fase successiva si potrebbe provare il solo corticosteroide per via inalatoria. Nella pratica corrente, quando viene raggiunto il controllo dei sintomi con il regime posologico di due dosi al giorno con un prodotto con dosaggio inferiore, la riduzione graduale alla dose efficace più bassa potrebbe includere un dosaggio di una volta al giorno, nel caso in cui, nell'opinione del medico, sia richiesto un broncodilatatore a lunga durata d'azione per il mantenimento del controllo piuttosto che per il trattamento con solamente un corticosteroide inalatorio. Ai pazienti deve essere consigliato di tenere sempre a disposizione l'inalatore broncodilatatore di sollievo a rapida azione da utilizzare "al bisogno". **Dosi raccomandate:** Adulti (di età pari o superiore ai 18 anni): 1 inalazione due volte al giorno. Alcuni pazienti potrebbero richiedere fino a un massimo di 2 inalazioni due volte al giorno. Un ricorso crescente a un altro broncodilatatore a rapida azione indica un peggioramento della condizione di base e richiede una rivalutazione della terapia per l'asma. DuoResp Spiromax 320 microgrammi/9,0 microgrammi deve essere utilizzato esclusivamente come terapia di mantenimento. La dose inferiore di DuoResp Spiromax è disponibile per il regime terapeutico di mantenimento e sollievo. **Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) Dosi raccomandate:** Adulti (di età pari o superiore ai 18 anni): 1 inalazione due volte al giorno. **Popolazioni speciali: Anziani (>65 anni di età)** Non vi sono requisiti particolari per quanto riguarda il dosaggio nei pazienti anziani. **Pazienti con compromissione renale o epatica** Non vi sono dati disponibili sull'uso di una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrato in pazienti con compromissione epatica o renale. Poiché budesonide e formoterolo sono eliminati principalmente tramite metabolismo epatico, nei pazienti con grave cirrosi epatica ci si può attendere una maggiore esposizione. **Popolazione pediatrica** La sicurezza e l'efficacia di DuoResp Spiromax nei bambini di età pari o inferiore ai 12 anni e negli adolescenti dai 13 ai 17 anni di età non sono state ancora stabilite. Non ci sono dati disponibili. Non è raccomandato l'uso di questo medicinale nei bambini e negli adolescenti di età inferiore ai 18 anni. **Modo di somministrazione Uso inalatorio** L'inalatore Spiromax è azionato dalla respirazione e dal flusso inspiratorio, il che significa che i principi attivi vengono erogati nelle vie respiratorie quando il paziente inala attraverso il boccaglio. È stato dimostrato che i pazienti moderatamente e gravemente asmatici sono in grado di generare un flusso inspiratorio sufficiente affinché Spiromax





eroghi la dose terapeutica (vedere paragrafo 5.1). Per ottenere un trattamento efficace, DuoResp Spiromax deve essere utilizzato correttamente. Per questa ragione, i pazienti devono essere invitati a leggere attentamente il foglio illustrativo e a seguire le istruzioni per l'uso descritte in dettaglio al suo interno. L'uso di DuoResp Spiromax segue tre semplici passaggi, di seguito illustrate: aprire, respirare e chiudere. **Aprire:** tenere lo Spiromax con il cappuccio protettivo in basso e aprire il cappuccio piegandolo verso il basso finché non risulta completamente aperto e si avverte un clic. **Respirare:** posizionare il bocchaglio tra i denti chiudendolo fra le labbra; non mordere il bocchaglio dell'inalatore. Respirare vigorosamente e profondamente attraverso il bocchaglio. Rimuovere lo Spiromax dalla bocca e trattenere il respiro per 10 secondi o finché possibile per il paziente. **Chiudere:** espirare delicatamente e richiudere il cappuccio protettivo. È anche importante consigliare ai pazienti di non agitare l'inalatore prima dell'uso, non espirare attraverso lo Spiromax e non ostruire le prese d'aria quando si stanno preparando alla fase del "Respirare". Si deve inoltre consigliare ai pazienti di sciacquarsi la bocca con acqua dopo l'inalazione (vedere paragrafo 4.4). Il paziente potrebbe avvertire un certo sapore dovuto all'eccezionale lattosio quando utilizza DuoResp Spiromax.

4.3 Controindicazioni Ipersensibilità ai principi attivi o ad uno qualsiasi degli eccipienti elencati al paragrafo 6.1. **4.4 Avvertenze speciali e precauzioni d'impiego** **Informazioni generali** Si raccomanda una diminuzione graduale della dose quando si pone fine al trattamento, che non deve essere interrotto bruscamente. Se i pazienti rilevano inefficacia del trattamento o eccedono la dose massima raccomandata di DuoResp Spiromax, si deve richiedere un parere medico (vedere paragrafo 4.2). Un improvviso e progressivo peggioramento nel controllo dell'asma o della BPCO rappresenta un potenziale pericolo di vita e il paziente deve sottoporsi a una valutazione medica d'urgenza. In tale situazione, si deve considerare la necessità di aumentare la terapia con corticosteroidi, per esempio con un ciclo di corticosteroidi per via orale o un trattamento antibiotico in caso di infezione. Ai pazienti si deve consigliare di tenere sempre a disposizione l'inalatore da utilizzare al bisogno, che si tratti di DuoResp Spiromax (per i pazienti asmatici che utilizzano DuoResp Spiromax come terapia di mantenimento e sollievo) o un altro broncodilatatore a rapida azione (per i pazienti asmatici che utilizzano DuoResp Spiromax solo come terapia di mantenimento). Si deve ricordare ai pazienti di assumere la dose di mantenimento di DuoResp Spiromax secondo la prescrizione medica, anche in assenza di sintomi. L'uso profilattico di DuoResp Spiromax, per esempio prima dell'esercizio fisico, non è stato studiato. Le inalazioni al bisogno di DuoResp Spiromax devono essere effettuate in risposta ai sintomi, ma non sono destinate al regolare uso profilattico, per esempio prima dell'esercizio fisico. A questo fine, si deve prendere in considerazione un altro broncodilatatore a rapida azione. **Sintomi dell'asma** I pazienti devono essere regolarmente riesaminati dal medico prescrittore/personale sanitario in modo che la dose di DuoResp Spiromax resti ottimale. La dose deve essere ridotta gradualmente al livello di dose più basso che consente di mantenere un efficace controllo dei sintomi. Una volta raggiunto il controllo dei sintomi dell'asma, si potrà prendere in considerazione una riduzione graduale della dose di DuoResp Spiromax. Se è appropriato effettuare una riduzione graduale a un dosaggio inferiore a quello disponibile per DuoResp Spiromax, è necessario passare a un'associazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato alternativa contenente una dose inferiore del corticosteroide per via inalatoria. È importante esaminare regolarmente i pazienti durante la riduzione graduale della dose. I pazienti non devono iniziare il trattamento con DuoResp Spiromax durante una riacutizzazione o qualora presentino un peggioramento significativo o deterioramento acuto dell'asma. Durante il trattamento con DuoResp Spiromax possono verificarsi gravi reazioni avverse e riacutizzazioni correlate all'asma. Ai pazienti deve essere richiesto di proseguire il trattamento, ma di consultare un medico se i sintomi dell'asma rimangono incontrollati o peggiorano dopo l'inizio del trattamento con DuoResp Spiromax. Dopo la somministrazione si può osservare broncospasmo paradossale, con un aumento immediato di sibilo e affanno. Se il paziente manifesta broncospasmo paradossale, DuoResp Spiromax deve essere immediatamente interrotto, il paziente deve essere valutato e, se necessario, si deve istituire una terapia alternativa. Il broncospasmo paradossale risponde all'inalazione di broncodilatatori a rapida azione e deve essere trattato immediatamente (vedere paragrafo 4.8). **Effetti sistemici** Effetti sistemici possono verificarsi con qualsiasi corticosteroide per via inalatoria, soprattutto a dosi elevate prescritte per lunghi periodi. La comparsa di questi effetti è molto meno probabile con il trattamento per via inalatoria che con i corticosteroidi per via orale. I possibili effetti sistemici comprendono sindrome di Cushing, caratteristiche cushingoidi, ritardi della crescita nei bambini e negli adolescenti, soppressione surrenale, diminuzione della densità minerale ossea, cataratta e glaucoma e, più raramente, una gamma di effetti psicologici e comportamentali che includono iperattività psicomotoria, disturbi del sonno, ansia, depressione o aggressività (in particolare nei bambini) (vedere paragrafo 4.8). Si raccomanda di controllare periodicamente la statura dei bambini in trattamento prolungato con corticosteroidi per via inalatoria. Se la crescita risulta rallentata, la terapia deve essere rivalutata al fine di ridurre la dose di corticosteroide inalatorio fino alla dose più bassa alla quale si ha un effettivo controllo dell'asma, se possibile. I benefici della terapia con corticosteroidi e i possibili rischi di soppressione della crescita devono essere attentamente ponderati. Inoltre, si deve prendere in considerazione l'eventualità di rinviare il paziente a uno specialista in pneumologia pediatrica. Dati limitati provenienti da studi a lungo termine suggeriscono che la maggior parte dei bambini e degli adolescenti trattati con budesonide per via inalatoria, raggiunge un'adeguata statura da adulto. Tuttavia è stata osservata una piccola riduzione iniziale, ma transitoria, nell'accrescimento (circa 1 cm). Ciò si verifica in genere entro il primo anno di trattamento. **Effetti sulla densità ossea** Si devono prendere in considerazione i potenziali effetti sulla densità ossea, in particolare nei pazienti trattati a dosi elevate per periodi prolungati e con coesistenti fattori di rischio per l'osteoporosi. Studi a lungo termine con budesonide per via inalatoria nei bambini a dosi giornaliere medie da 400 microgrammi (dose preimpostata) o negli adulti a dosi giornaliere da 800 microgrammi (dose preimpostata) non hanno mostrato effetti significativi sulla densità minerale ossea. Non sono disponibili informazioni sull'effetto di una combinazione a dose fissa di budesonide/formoterolo fumarato diidrato a dosi più elevate. **Funzione surrenale** Se sussistono ragioni per supporre una compromissione della funzione surrenale causata da una precedente terapia sistemica con steroidi, si deve prestare attenzione quando si avviano i pazienti a una terapia di associazione a dose fissa di budesonide/formoterolo fumarato. I benefici della terapia con budesonide per via inalatoria dovrebbero di norma ridurre al minimo la necessità di steroidi orali, ma nei pazienti che provengono da una terapia con steroidi orali può permanere il rischio di compromissione della riserva surrenale per un periodo di tempo considerevole. La guarigione potrebbe richiedere una notevole quantità di tempo in seguito alla sospensione della terapia con steroidi orali e per questo nei pazienti steroide-dipendenti avviati a budesonide per via inalatoria può permanere il rischio di compromissione della funzione surrenale per un periodo di tempo considerevole. In tali circostanze si deve effettuare il regolare monitoraggio della funzione dell'asse ipotalamico-pituitario-corticosurrenale (hypothalamic pituitary adrenal cortical, HPA). **Corticosteroidi ad alte dosi** Il trattamento prolungato con dosi elevate di corticosteroidi per via inalatoria, soprattutto a dosi superiori a quelle raccomandate, può determinare anche una soppressione surrenale clinicamente significativa. In periodi di stress, come infezioni gravi o interventi chirurgici di elezione, deve quindi essere presa in considerazione una copertura aggiuntiva con corticosteroidi sistemici. Una rapida riduzione della dose di steroidi può indurre una crisi surrenale acuta. I sintomi e i segni che si potrebbero osservare in una crisi surrenale acuta possono essere alquanto vaghi, ma possono includere anoressia, dolore addominale, perdita di peso, stanchezza, cefalea, nausea, vomito, ridotto livello di coscienza, convulsioni, ipotensione e ipoglicemia. Il trattamento con steroidi sistemici aggiuntivi o budesonide per via inalatoria non deve essere interrotto bruscamente. **Passaggio dalla terapia orale** Durante il passaggio da una terapia orale a una terapia combinata a dose fissa con budesonide/formoterolo fumarato, si osserverà un'azione sistemica degli steroidi generalmente inferiore, che potrà dar luogo all'insorgenza di sintomi allergici o artrici quali rinite, eczema e dolore muscolare e articolare. In queste condizioni si deve iniziare un trattamento specifico. Si deve sospettare un effetto generale insufficiente dei glucocorticoidi qualora, in rari casi, dovessero verificarsi sintomi quali stanchezza, cefalea, nausea e vomito. In questi casi è talvolta necessario un aumento temporaneo della dose dei glucocorticoidi orali. **Infezioni del cavo orale** Per ridurre al minimo il rischio di infezione da candida nel tratto orofaringeo, si deve istruire il paziente a sciacquarsi la bocca con acqua dopo l'inalazione della dose. In caso di mugugno, il paziente deve sciacquarsi la bocca con acqua anche dopo le inalazioni effettuate al bisogno. **Interazioni con altri medicinali** Il trattamento concomitante con itraconazolo, ritonavir o altri potenti inibitori del CYP3A4 deve essere evitato (vedere paragrafo 4.5). Se ciò non fosse possibile, l'intervallo di tempo tra le somministrazioni dei medicinali che interagiscono tra loro deve essere il più lungo possibile. La combinazione di budesonide/formoterolo fumarato a dose fissa non è raccomandata nei pazienti che utilizzano potenti inibitori del CYP3A4. **Precauzioni con malattie speciali** Una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrato deve essere somministrata con cautela nei pazienti con tireotossicosi, feocromocitoma, diabete mellito, ipopotassiemia non trattata, cardiomiopatia ipertrofica ostruttiva, stenosi subvalvolare aortica ipertrofica, ipertensione grave, aneurisma o altri gravi disturbi cardiovascolari quali cardiopatia ischemica, tachiaritmia o insufficienza cardiaca grave. Deve essere osservata cautela nel trattamento di pazienti con prolungamento dell'intervallo QTc. Il formoterolo stesso può indurre un prolungamento dell'intervallo QTc. La necessità e la dose di corticosteroidi per via inalatoria devono essere rivalutate nei pazienti con tubercolosi polmonare attiva o quiescente, e infezioni micotiche e virali delle vie aeree. Nei pazienti diabetici devono essere presi in considerazione controlli supplementari della glicemia. **β₂-adrenocettori agonisti** Dosi elevate di β₂-adrenocettori agonisti possono determinare un'ipotassiemia potenzialmente grave. L'effetto di un trattamento concomitante con β₂-adrenocettori agonisti e medicinali che possono causare ipopotassiemia o potenziare un effetto ipopotassiemico, per esempio derivati xantici, steroidi e diuretici, può sommarsi a un possibile effetto ipopotassiemico del β₂-adrenocettore agonista. Il trattamento con β₂-adrenocettori agonisti può determinare un aumento dei livelli ematici di insulina, acidi grassi liberi, glicerolo e corpi chetonici. Si raccomanda particolare cautela nell'asma instabile che necessita di un uso variabile di broncodilatatori per l'uso al bisogno, nell'asma acuta grave, in quanto il rischio associato può essere aumentato dall'ipossia, e in altre condizioni in cui la probabilità di ipopotassiemia è maggiore. Si raccomanda in tali circostanze di monitorare i livelli di potassio sierico. **Eccipienti** Questo medicinale contiene lattosio. I pazienti affetti da rari problemi ereditari di intolleranza al galattosio, deficit di lattasi di Lapp o malassorbimento di glucosio-galattosio non devono assumere questo medicinale. L'eccipiente lattosio contiene piccole quantità di proteine del latte che possono causare reazioni allergiche. **4.5 Interazione con altri medicinali ed altre forme d'interazione** **Interazioni farmacocinetiche** È probabile che potenti inibitori del CYP3A4 (p.es. ketoconazolo, itraconazolo, voriconazolo, posaconazolo, claritromicina, telitromicina, nefazodone e inibitori dell'HIV-proteasi) aumentino notevolmente i livelli plasmatici di budesonide e l'uso concomitante deve essere evitato. Se ciò non fosse possibile, l'intervallo di tempo tra la somministrazione dell'inibitore e quella di budesonide deve essere il più lungo possibile (vedere paragrafo 4.4). Il ketoconazolo, un potente inibitore del CYP3A4, 200 mg una volta al giorno, ha aumentato in media di sei volte i livelli plasmatici di budesonide somministrata in concomitanza per via orale (dose singola da 3 mg). Se somministrato 12 ore dopo budesonide, la concentrazione di ketoconazolo è risultata aumentata in media solo di tre volte, il che dimostra che la separazione dei tempi di somministrazione può ridurre l'aumento dei livelli plasmatici. Dati limitati riguardo a questa interazione relativi a budesonide per via inalatoria a dosi elevate indicano che può verificarsi un notevole aumento dei livelli plasmatici (in media di quattro volte) se itraconazolo, 200 mg una volta al giorno, viene somministrato in concomitanza con budesonide per via inalatoria (dose singola da 1000 microgrammi). **Interazioni farmacodinamiche** I beta-bloccanti adrenergici possono indebolire o inibire l'effetto del formoterolo. Pertanto, una terapia con una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrato non deve essere somministrata contemporaneamente ai beta-bloccanti adrenergici (inclusi i colliri) salvo in casi di necessità. Il trattamento concomitante con chinidina, disopiramide, procainamide, fenotiazine, antistaminici (terfenadina), inibitori delle monoamino ossidasi e antidepressivi triciclici può prolungare l'intervallo QTc e aumentare il rischio di aritmie ventricolari. Inoltre, L-Dopa, L-tiroxina, ossitocina e l'alcool possono indebolire la tolleranza cardiaca nei confronti dei β₂-simpaticomimetici. Il trattamento concomitante con inibitori delle monoamino ossidasi, compresi medicinali con proprietà simili come furazolidone e procabazina, può scatenare reazioni ipertensive. Sussiste un rischio elevato di aritmie in pazienti sottoposti contemporaneamente ad anestesia con idrocarburi alogenati. L'uso concomitante di altri medicinali beta-adrenergici e anticolinergici può avere un potenziale effetto broncodilatatorio additivo. L'ipotassiemia può accrescere la tendenza alle aritmie nei pazienti trattati con glicosidi digitali. Non sono state osservate interazioni di budesonide e formoterolo con altri medicinali utilizzati nel trattamento dell'asma. **Popolazione pediatrica** Sono stati effettuati studi d'interazione solo negli adulti. **4.6 Fertilità, gravidanza e allattamento** **Gravidanza** Per una terapia con una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrato o il trattamento concomitante con formoterolo e budesonide non sono disponibili dati clinici relativi a gravidanze esposte. Dati di uno studio sullo sviluppo embrio-fetale nel ratto non hanno evidenziato prove di ulteriori effetti dovuti all'associazione. Non sono disponibili dati adeguati sull'uso del formoterolo nelle donne in gravidanza. In studi su animali, il formoterolo ha causato reazioni avverse in relazione alla riproduzione a livelli di esposizione sistemica molto elevati (vedere paragrafo 5.3). Dati su circa 2000 gravidanze esposte indicano che non vi è alcun aumento del rischio di teratogenicità associato all'uso di budesonide per via inalatoria. In studi su animali, è stato dimostrato che i glucocorticoidi inducono malformazioni (vedere paragrafo 5.3). Ciò non sembra rilevante per l'uomo se somministrato alle dosi raccomandate. Studi su animali hanno inoltre rilevato la correlazione fra un eccesso di glucocorticoidi in età prenatale e l'aumento del rischio di crescita intrauterina ritardata, malattia cardiovascolare nell'adulto e modifiche permanenti nella densità dei recettori dei glucocorticoidi nonché nel turnover e nel comportamento dei neurotrasmettitori a esposizioni inferiori all'intervallo di dose teratogenico. Una terapia con una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrato deve essere usata in gravidan-



za solo se i benefici sono superiori ai potenziali rischi. La budesonide deve essere utilizzata alla dose efficace più bassa necessaria per il mantenimento di un adeguato controllo dell'asma. **Allattamento** La budesonide viene escreta nel latte materno. Tuttavia, alle dosi terapeutiche non sono attesi effetti sul lattante. Non è noto se il formoterolo passi nel latte materno umano. Nei ratti, piccole quantità di formoterolo sono state riscontrate nel latte materno. La somministrazione di una terapia con una combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo fumarato diidrato in donne in allattamento deve essere presa in considerazione solo se il beneficio atteso per la madre è maggiore di ogni possibile rischio per il bambino. **Fertilità** Non sono disponibili dati sulla fertilità. **4.7 Effetti sulla capacità di guidare veicoli e sull'uso di macchinari** DuoResp Spiromax non altera o altera in modo trascurabile la capacità di guidare veicoli o di usare macchinari. **4.8 Effetti indesiderati Riassunto del profilo di sicurezza** Poiché DuoResp Spiromax contiene sia budesonide sia formoterolo, può verificarsi lo stesso quadro di reazioni avverse riportato per queste sostanze. Non sono stati osservati aumenti nell'incidenza di reazioni avverse in seguito alla somministrazione concomitante dei due composti. Le reazioni avverse più comuni sono reazioni avverse farmacologicamente prevedibili della terapia con β_2 -adrenocettori agonisti, come tremore e palpitazioni. Tali reazioni tendono a essere di grado lieve e solitamente scompaiono entro pochi giorni di trattamento. In una sperimentazione clinica di 3 anni con budesonide per la BPCO, si sono verificate ecchimosi e polmonite con una frequenza rispettivamente del 10% e del 6%, rispetto al 4% e al 3% del gruppo placebo (rispettivamente $p<0,001$ e $p<0,01$). DuoResp Spiromax non è indicato nei bambini e negli adolescenti di età inferiore ai 18 anni (vedere paragrafo 4.2). **Tabella delle reazioni avverse** Le reazioni avverse associate a budesonide o formoterolo sono riportate di seguito ed elencate in base alla classificazione per sistemi e organi e frequenza. Le frequenze sono definite come: molto comune ($\geq 1/10$), comune ($\geq 1/100$, $<1/10$), non comune ($\geq 1/1.000$, $<1/100$), rare ($\geq 1/10.000$, $<1/1.000$), molto rare ($<1/10.000$) e non nota (la frequenza non può essere definita sulla base dei dati disponibili).

Classificazione per sistemi e organi	Frequenza	Reazione avversa
Infezioni e infestazioni	Comune	Infezioni da candida del tratto orofaringeo
Disturbi del sistema immunitario	Raro	Reazioni di ipersensibilità immediate e ritardate, es. esantema, orticaria, prurito, dermatite, angioedema e reazione anafilattica
Patologie endocrine	Molto raro	Sindrome di Cushing, soppressione surrenale, ritardi nella crescita, riduzione della densità minerale ossea
Disturbi del metabolismo e della nutrizione	Raro	Ipotassiemia
	Molto raro	Iperglicemia
Disturbi psichiatrici	Non comune	Aggressività, iperattività psicomotoria, ansia, disturbi del sonno
	Molto raro	Depressione, modificazioni comportamentali (prevalentemente nei bambini)
Patologie del sistema nervoso	Comune	Cefalea, tremore
	Non comune	Capogiri
	Molto raro	Disturbi del gusto
Patologie dell'occhio	Molto raro	Cataratta e glaucoma
Patologie cardiache	Comune	Palpitazioni
	Non comune	Tachicardia
	Raro	Aritmie cardiache, es. fibrillazione atriale, tachicardia sopraventricolare, extrasistoli
	Molto raro	Angina pectoris. Prolungamento dell'intervallo QTc
Patologie vascolari	Molto raro	Variazione della pressione arteriosa
Patologie respiratorie, toraciche e mediastiniche	Comune	Lieve irritazione alla gola, tosse, raucedine
	Raro	Broncospasmo
	Molto raro	Broncospasmo paradossico
Patologie gastrointestinali	Non comune	Nausea
Patologie della cute e del tessuto sottocutaneo	Non comune	Ecchimosi
Patologie del sistema muscoloscheletrico e del tessuto connettivo	Non comune	Crampi muscolari

Descrizione di reazioni avverse selezionate L'infezione da candida nel tratto orofaringeo è dovuta al deposito dei principi attivi. Consigliando al paziente di sciacquarsi la bocca con acqua dopo ogni dose si ridurrà al minimo tale rischio. L'infezione da candida nel tratto orofaringeo solitamente risponde al trattamento topico con antimicotici senza la necessità di sospendere i corticosteroidi per via inalatoria. La possibilità di broncospasmo paradossico è molto rara - interessa 1 persona su 10.000 - con un aumento immediato del sibilo e dell'affanno. Il broncospasmo paradossico risponde ai broncodilatatori per via inalatoria a rapida azione e deve essere trattato immediatamente. DuoResp Spiromax deve essere immediatamente interrotto, il paziente deve essere valutato e, se necessario, si deve istituire una terapia alternativa (vedere paragrafo 4.4). Effetti sistemici dei corticosteroidi per via inalatoria si possono verificare soprattutto a dosi elevate prescritte per lunghi periodi. La comparsa di questi effetti è molto meno probabile che con i corticosteroidi per via orale. I possibili effetti sistemici includono sindrome di Cushing, caratteristiche cushingoidi, soppressione surrenale, ritardi della crescita nei bambini e negli adolescenti, diminuzione della densità minerale ossea, cataratta e glaucoma. Può inoltre verificarsi una maggiore suscettibilità alle infezioni e una compromissione della capacità di adattarsi allo stress. Gli effetti probabilmente dipendono da dose, tempo di esposizione, esposizione concomitante e precedente a steroidi e sensibilità individuale. Il trattamento con β_2 -adrenocettori agonisti può determinare un aumento dei livelli ematici di insulina, acidi grassi liberi, glicerolo e corpi chetonici. **Segnalazione delle reazioni avverse sospette** La segnalazione delle reazioni avverse sospette che si verificano dopo l'autorizzazione del medicinale è importante, in quanto permette un monitoraggio continuo del rapporto beneficio/rischio del medicinale. Agli operatori sanitari è richiesto di segnalare qualsiasi reazione avversa sospetta tramite il sistema nazionale di segnalazione all'indirizzo: <http://www.agenziafarmaco.gov.it/it/responsabili>. **4.9 Sovradosaggio** Un sovradosaggio di formoterolo produrrebbe effetti tipici dei β_2 -adrenocettori agonisti: tremore, cefalea, palpitazioni. Sono stati riportati casi isolati di sintomi di tachicardia, iperglicemia, ipotassiemia, prolungamento dell'intervallo QTc, aritmia, nausea e vomito. Può essere indicato il trattamento sintomatico e di supporto. Una dose da 90 microgrammi somministrata nell'arco di tre ore in pazienti con ostruzione bronchiale acuta non ha destato preoccupazioni circa la sicurezza. Non si prevede che un sovradosaggio acuto di budesonide, anche a dosi eccessive, possa essere un problema clinico. L'uso cronico a dosi eccessive può dar luogo a effetti sistemici dovuti ai glucocorticoidi, come ipercorticismismo e soppressione surrenale. Qualora si renda necessaria una sospensione della terapia con DuoResp Spiromax a causa di un sovradosaggio del formoterolo, un componente del medicinale, si deve prendere in considerazione una adeguata terapia con un corticosteroide per via inalatoria. **5. PROPRIETÀ FARMACOLOGICHE 5.1 Proprietà farmacodinamiche** Categoria farmacoterapeutica: adrenergici ed altri farmaci per le sindromi ostruttive delle vie respiratorie. Codice ATC: R03AK07 **Meccanismo d'azione ed effetti farmacodinamici** DuoResp Spiromax contiene formoterolo e budesonide, che presentano un meccanismo d'azione diverso e mostrano effetti additivi in termini di riduzione delle riacutizzazioni dell'asma. I meccanismi d'azione delle due sostanze sono descritti di seguito. **Budesonide** Budesonide è un glucocorticoide che, quando inalato, esercita un'azione antinfiammatoria dose-dipendente sulle vie respiratorie, con conseguente riduzione dei sintomi e diminuzione delle riacutizzazioni dell'asma. La budesonide per via inalatoria comporta meno reazioni avverse gravi rispetto ai corticosteroidi per via sistemica. L'esatto meccanismo responsabile dell'effetto antinfiammatorio dei glucocorticoidi non è noto. **Formoterolo** Formoterolo è un β_2 -adrenocettore agonista che,



quando inalato, induce un rapido e prolungato rilassamento della muscolatura bronchiale liscia nei pazienti con ostruzione reversibile delle vie aeree. L'effetto broncodilatatore è dose-dipendente e si manifesta entro 1-3 minuti. La durata dell'effetto è di almeno 12 ore dopo una singola dose. **Efficacia e sicurezza clinica Asma Terapia di mantenimento con budesonide/formoterolo** Studi clinici condotti su soggetti adulti hanno dimostrato che l'aggiunta di formoterolo a budesonide migliora i sintomi dell'asma e la funzione polmonare, oltre a ridurre le riacutizzazioni. In due studi di 12 settimane, l'effetto di budesonide/formoterolo sulla funzione polmonare è risultato uguale a quello della libera combinazione di budesonide e formoterolo e ha superato quello della sola budesonide. Tutti i bracci di trattamento prevedevano l'utilizzo al bisogno di un β_2 -adrenocettore agonista a rapida azione. Non sono emersi segni di attenuazione dell'effetto antiasmatico nel corso del tempo. Sono stati effettuati due studi pediatrici di 12 settimane, nei quali 265 bambini di età compresa tra i 6 e gli 11 anni sono stati trattati con una dose di mantenimento di budesonide/formoterolo (2 inalazioni da 80 microgrammi/4,5 microgrammi/inalazione due volte al giorno) e un β_2 -adrenocettore agonista a breve durata d'azione al bisogno. In entrambi gli studi, la funzione polmonare è risultata migliorata e il trattamento ben tollerato rispetto alla dose corrispondente di sola budesonide. **Broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO)** In due studi di 12 mesi si è valutato l'effetto sulla funzione polmonare e il tasso di riacutizzazioni (definito come cicli di steroidi per via orale e/o cicli di antibiotici e/o ospedalizzazioni) nei pazienti con BPCO grave. La FEV1 mediana all'inclusione nelle sperimentazioni era pari al 36% del valore normale previsto. Il numero medio di riacutizzazioni per anno (come definito sopra) è risultato significativamente ridotto con budesonide/formoterolo rispetto al trattamento con formoterolo da solo o placebo (tasso medio 1,4 rispetto all'1,8-1,9 nel gruppo placebo/formoterolo). Il numero medio di giorni di trattamento con corticosteroidi orali/paziente durante i 12 mesi è apparso leggermente ridotto nel gruppo con budesonide/formoterolo (7-8 giorni/paziente/anno rispetto a 11-12 e 9-12 giorni, rispettivamente nei gruppi placebo e formoterolo). Per quanto concerne le variazioni nei parametri della funzione polmonare, come FEV₁, la combinazione budesonide/formoterolo non è risultata superiore al trattamento con formoterolo da solo. **Picco di flusso inspiratorio mediante il dispositivo Spiromax** Per valutare il picco di flusso inspiratorio (Peak Inspiratory Flow Rate, PIFR) e altri parametri di inalazione correlati, è stato effettuato uno studio con placebo, randomizzato e in aperto, su bambini e adolescenti con asma (età 6-17 anni), adulti con asma (età 18-45 anni), adulti con broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) (età >50 anni) e volontari sani (età 18-45 anni), attraverso il confronto tra l'inalazione con il dispositivo Spiromax (contenente placebo) e l'inalazione con un inalatore a polvere secca multidose reperibile in commercio (contenente placebo). In questi gruppi di soggetti è stato valutato anche l'impatto del potenziamento della formazione nella tecnica di inalazione mediante inalatore a polvere secca sulla velocità e sul volume di inalazione. I dati dello studio indicano che, a prescindere dall'età e dalla gravità della patologia sottostante, i bambini, gli adolescenti e gli adulti con asma nonché i pazienti con BPCO erano in grado di generare un flusso inspiratorio sufficiente attraverso il dispositivo Spiromax simile a quello generato attraverso il dispositivo di inalazione a polvere secca multidose reperibile in commercio. Il PIFR medio generato dai pazienti con asma o BPCO era superiore ai 60 l/min, un tasso di flusso con il quale entrambi i dispositivi studiati sono noti per erogare ai polmoni quantità paragonabili di farmaco. Pochissimi pazienti hanno avuto valori PIFR inferiori a 40 l/min; nei casi in cui i PIFR sono risultati inferiori a 40 l/min non è stato evidenziato alcun raggruppamento per età o gravità della malattia. **5.2 Proprietà farmacocinetiche Assorbimento** La combinazione a dose fissa di budesonide e formoterolo e i corrispondenti monoproducti hanno dimostrato di essere bioequivalenti per quanto riguarda l'esposizione sistemica rispettivamente di budesonide e formoterolo. Nonostante ciò, un leggero aumento della soppressione del cortisolo è stato osservato dopo la somministrazione della combinazione a dose fissa rispetto ai singoli prodotti. La differenza è considerata priva di impatto sulla sicurezza clinica. Non vi è alcuna evidenza di interazioni farmacocinetiche tra budesonide e formoterolo. I parametri farmacocinetici per le rispettive sostanze sono risultati comparabili dopo la somministrazione di budesonide e formoterolo singolarmente o in combinazione a dose fissa. Per budesonide, la AUC era leggermente più elevata, la velocità di assorbimento più rapida e la concentrazione plasmatica massima più alta dopo la somministrazione della combinazione fissa. Per il formoterolo, la concentrazione plasmatica massima è risultata simile dopo la somministrazione della combinazione fissa. Budesonide per via inalatoria viene assorbita rapidamente e la concentrazione plasmatica massima viene raggiunta entro 30 minuti dall'inalazione. Negli studi, la deposizione polmonare media di budesonide dopo l'inalazione tramite l'inalatore a polvere variava dal 32% al 44% della dose erogata. La biodisponibilità sistemica è pari a circa il 49% della dose erogata. Nei bambini di 6-16 anni di età, la deposizione polmonare rientra nel medesimo intervallo di valori degli adulti a parità di dose somministrata. Le concentrazioni plasmatiche derivanti non sono state determinate. Formoterolo per via inalatoria viene assorbito rapidamente e la concentrazione plasmatica massima viene raggiunta entro 10 minuti dall'inalazione. Negli studi, la deposizione polmonare media del formoterolo dopo l'inalazione tramite l'inalatore a polvere variava dal 28% al 49% della dose erogata. La biodisponibilità sistemica è pari a circa il 61% della dose erogata. **Distribuzione** Il legame alle proteine plasmatiche è di circa il 50% per il formoterolo e del 90% per la budesonide. Il volume di distribuzione è di circa 4 l/kg per il formoterolo e 3 l/kg per la budesonide. Il formoterolo è inattivato tramite reazioni di coniugazione (si formano metaboliti O-demetilati e deformilati, per lo più rilevati come coniugati inattivi). Budesonide subisce un grado esteso (circa il 90%) di biotrasformazione in metaboliti a bassa attività glucocorticoidale al primo passaggio epatico. L'attività glucocorticoidale dei metaboliti principali, 6-beta-idrossi-budesonide e 16-alfa-idrossi-prednisolone, è inferiore all'1% rispetto a quella di budesonide. Non esistono indicazioni di interazioni metaboliche o reazioni da sostituzione tra formoterolo e budesonide. **Eliminazione** La maggior parte di una dose di formoterolo viene trasformata tramite il metabolismo epatico seguito da eliminazione renale. Dopo l'inalazione, dall'8% al 13% della dose erogata di formoterolo viene escreta non metabolizzata nelle urine. Formoterolo ha un elevato livello di clearance sistemica (circa 1,4 l/min) e l'emivita terminale è in media di 17 ore. Budesonide viene eliminata per via metabolica principalmente catalizzata dall'enzima CYP3A4. I metaboliti della budesonide vengono eliminati nelle urine come tali o in forma coniugata. Nelle urine sono stati riscontrati solo livelli trascurabili di budesonide immutata. Budesonide ha un'elevata eliminazione sistemica (circa 1,2 l/min) e l'emivita di eliminazione plasmatica dopo somministrazione EV è in media di 4 ore. **Relazioni farmacocinetiche/farmacodinamiche** La farmacocinetica di budesonide o formoterolo nei bambini e nei pazienti con insufficienza renale non è nota. L'esposizione di budesonide e formoterolo può risultare aumentata nei pazienti con epatopatia. **Profilo farmacocinetico di DuoResp Spiromax** In studi farmacocinetici con e senza blocco con carbone, DuoResp Spiromax è stato valutato attraverso un confronto con un prodotto di combinazione per via inalatoria a dose fissa autorizzato alternativo contenente gli stessi principi attivi (budesonide e formoterolo), dimostrandone l'equivalenza in termini sia di esposizione sistemica (sicurezza) sia di deposizione polmonare (efficacia). **5.3 Dati preclinici di sicurezza** La tossicità osservata negli studi condotti su animali con budesonide e formoterolo somministrati in combinazione o separatamente si è dimostrata sotto forma di effetti associati ad attività farmacologica esagerata. Negli studi di riproduzione su animali, i corticosteroidi come budesonide hanno dimostrato di indurre malformazioni (palatoschisi, malformazioni scheletriche). Tuttavia, tali risultati sperimentali nell'animale non sembrano rilevanti nell'uomo alle dosi raccomandate. Gli studi di riproduzione su animali con formoterolo hanno dimostrato una certa riduzione della fertilità nei ratti maschi dopo elevata esposizione sistemica e perdite degli impianti embrionali, così come sono state osservate, ad una esposizione molto più elevata rispetto a quella osservata durante l'uso clinico, una riduzione della sopravvivenza post-natale e del peso alla nascita. Tuttavia, tali risultati sperimentali nell'animale non sembrano rilevanti nell'uomo. **6. INFORMAZIONI FARMACEUTICHE 6.1 Elenco degli eccipienti** Lattosio monoidrato. **6.2 Incompatibilità** Non pertinente. **6.3 Periodo di validità** 2 anni. Dopo l'apertura dell'involucro di alluminio: 6 mesi. **6.4 Precauzioni particolari per la conservazione** Non conservare a temperatura superiore ai 25°C. Tenere chiuso il cappuccio protettivo dopo la rimozione dell'involucro di alluminio. **6.5 Natura e contenuto del contenitore** L'inalatore è bianco, con un cappuccio protettivo semitrasparente di colore bordeaux ed è costituito da acrilonitrile butadiene stirene (ABS), polietilene tereftalato (PT) e polipropilene (PP). Ogni inalatore contiene 60 dosi ed è avvolto in un involucro di alluminio. Confezioni multiple contenenti 1, 2 o 3 inalatori. È possibile che non tutte le confezioni siano commercializzate. **6.6 Precauzioni particolari per lo smaltimento e la manipolazione** Nessuna istruzione particolare. **7. TITOLARE DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO** Teva Pharma B.V. - Computerweg 10, 3542 DR Utrecht - Paesi Bassi. **8. NUMERO(I) DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO** EU/1/14/920/004 - EU/1/14/920/005 - EU/1/14/920/006 **9. DATA DELLA PRIMA AUTORIZZAZIONE/RINNOVO DELL'AUTORIZZAZIONE** Data della prima autorizzazione: 28 Aprile 2014. Data del rinnovo più recente: **10. DATA DI REVISIONE DEL TESTO** Luglio 2014. Informazioni più dettagliate su questo medicinale sono disponibili sul sito web dell'Agenzia europea dei medicinali: <http://www.ema.europa.eu> Classe A - RR - Prezzo al pubblico 2015: € 49,31



European Annals of Allergy and Clinical Immunology

The new online submission system

European Annals of Allergy and Clinical Immunology is proud to announce that a fully online submission and review system for all papers has been recently implemented.

Electronic submission will allow a more efficient processing of manuscripts and will offer authors the option to track the progress of the review process whenever they need to.

The link to this system has been made available on the new journal website, that has been launched simultaneously with the submission system at: www.eurannallergyimm.com.

We encouraged all Authors to submit manuscripts through our dedicated online peer review system; manuscripts will no longer be accepted for review by email or in paper form.

We advise all the authors to carefully read the instructions for authors before starting the submissions.

During submission, Authors will be first asked to select the article type, enter the manuscript title and provide author information. Through a menu, a general topic area should be selected: these will help us match manuscripts to the best available editors and reviewers.

Reviewers will access papers via the system website and will be directed to it when requested by email to evaluate submissions.

For full information on the manuscript preparation Authors are invited to read our updated Guide for Authors available on the Journal website.

Full Authors Guidelines, online Submission System link, Journal Publishing Agreement and Conflict of interest forms are available on new Journal website:
www.eurannallergyimm.com

The screenshot displays the Editorial Manager interface for the European Annals of Allergy and Clinical Immunology. The top navigation bar includes links for HOME, LOGIN, HELP, REGISTER, UPDATE MY INFORMATION, JOURNAL OVERVIEW, MAIN MENU, CONTACT US, SUBMIT A MANUSCRIPT, and INSTRUCTIONS FOR AUTHORS. The main content area features a login form with fields for Username and Password, and buttons for Author Login, Reviewer Login, Editor Login, and Publisher Login. Below the login form are links for Send Username/Password, Register Now, and Login Help. The footer indicates the software is copyrighted by Aries Systems Corporation in 2014. On the left side, there is a sidebar with links to Journal Home, Instructions for Authors, EM Author Tutorial, EM Reviewer Tutorial, System Requirements, File Formats, and Contact. A small image of the journal cover is also visible in the sidebar.

European Annals of Allergy and Clinical Immunology

Editorial Manager

Not logged in.

HOME • LOGIN • HELP • REGISTER • UPDATE MY INFORMATION • JOURNAL OVERVIEW
MAIN MENU • CONTACT US • SUBMIT A MANUSCRIPT • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

European Annals of Allergy and Clinical Immunology

THE OFFICIAL JOURNAL OF AAITO | ASSOCIAZIONE ITALIANA ALLERGOLOGI IMMUNOLOGI TERRITORIALI E OSPEDALIERI
THE OFFICIAL JOURNAL OF SPAIC | SOCIEDADE PORTUGUESA DE ALERGOLÓGIA E IMUNOLOGIA CLÍNICA

Journal Home
Instructions for Authors
EM Author Tutorial
EM Reviewer Tutorial
System Requirements
File Formats
Contact

Please Enter the Following

Username:

Password:

Author Login Reviewer Login Editor Login Publisher Login

Send Username/Password Register Now Login Help

Software Copyright © 2014 Aries Systems Corporation.

First-time users

Please click on the word "Register" in the navigation bar at the top of the page and enter the requested information. Upon successful registration, you will be sent an e-mail with instructions to verify your registration. NOTE: if you received an e-mail from us with an assigned user ID and password, DO NOT REGISTER AGAIN. Simply use that information to login. Usernames and passwords may be changed after registration (see instructions below).

Repeat users

Please click the "Login" button from the menu above and proceed as appropriate.

Authors

Please click the "Login" button from the menu above and login to the system as "Author." You may then submit your manuscript and track its progress through the system.



**L'INFORMATORE
FARMACEUTICO**



Vuoi evitare errori su farmaci e prodotti salutistici?

da 75 anni il partner quotidiano
di clinici e farmacisti
per l'appropriatezza della cura



13.000 confezioni
20.000 interazioni tra farmaci
90 forme farmaceutiche
40 vie di somministrazione

"Chimica.Perfetta" di Alex Braga,
vincitore del concorso artistico "L'Informatore Farmaceutico",
un'opera d'arte per celebrare il 75° anniversario dell'annuario.

L'INFORMATORE FARMACEUTICO

sicuro di non sbagliare



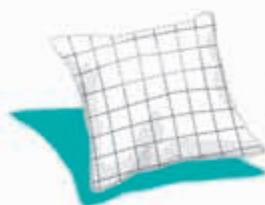
ACQUISTA SUBITO L'EDIZIONE SPECIALE
www.edizioniedra.it - Tel. 02 88184 520

edra

EDRA SpA

Via Spadolini, 7 - 20141 Milano
Tel 02 88184 520 - Fax 02 9366 4151
eMail: clienti.codifa@lswr.it

Allergopharma



ALLERGOCOVER®

Buona notte. Buon giorno.



MADE IN GERMANY

www.allergopharma.it

A subsidiary of  **MERCK**