

Angelo Mario Ciria¹, Giuseppe Del Frate²

Polveri di cuoio ed agenti sensibilizzanti. Studio dell'inquinamento allergenico professionale in ambienti di calzaturifici

¹ Divisione Malattie Allergiche CIMAL (DIMAC), Centro Italiano Medicina Ambiente Lavoro (GruppoCIMAL), Milano - Cremona, Italia

² Sezione di Micologia, Dipartimento Ecologia del Territorio, Università degli Studi di Pavia, Pavia, Italia

RIASSUNTO. È stato effettuato uno studio della contaminazione da allergeni acaridici in 15 campioni di polveri di cuoio prelevati in 4 calzaturifici rappresentativi. Le determinazioni analitiche sono state effettuate con metodo immunologico quantitativo e con metodo immunochimico semiquantitativo, pervenendo ad una classificazione comparata di rischio in 5 livelli. I risultati sono stati positivi in tutte le aziende. La concentrazione maggiore di acari piroglifidi e di loro frazioni allergeniche risulta prevalentemente nei contenitori e depositi delle scorie di lavorazione, intorno alle postazioni lavorative, con valori massimi di 15,4 mcg/grammo polvere di allergeni acaridici Der p1 e Der f1. La contaminazione da miceti è stata ricercata con 29 campionamenti di polveri sedimentate in 9 calzaturifici. Dalla crescita in colture specifiche sono risultati presenti i generi *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, tutti di importanza allergologica. Assenti i Dermatofiti e presenti, ma non patogeni, i Chertinofiti. La dispersione di polveri di cuoio in ambiente di lavoro comporta un rischio da agenti sensibilizzanti valutabile come "intermedio per Acari allergenici" e "limitato per miceti allergenici", entrambi non intrinseci al cuoio stesso. Pertanto il rischio deve essere specificamente considerato nelle valutazioni, pervenuto sotto l'aspetto igienico-sanitario e sorvegliato sotto l'aspetto medico e dell'idoneità lavorativa.

Parole chiave: acari polveri, miceti, misura allergeni, rischio allergenico.

ABSTRACT. LEATHER DUST AND SENSITIZING AGENTS. A STUDY ON OCCUPATIONAL INDOOR ALLERGENIC POLLUTION IN SHOES FACTORIES. The study was aimed to ascertain a possible pollution by allergenic Mites in 15 samples of leather dust belonging to occupational environments of 4 Italian shoes factories. All dosages were both performed by a quantitative immunologic and ELISA method (Indoor Biotechnology Lmd) and a semi-quantitative colorimetric method (Aclotest Lofarma) and the results were compared according to a five steps risk-evaluation. In all factories allergenic components of Mites were documented. The highest concentration of Der p1 and Der f1 in dust was 15,4 mcg/g, while allergens prevailed around the working-places, where discards of leather usually were collected. Moulds were studied in 29 samples of 9 shoes factories, adopting specific cultures. In all but one occupational environment moulds were present and taxa of *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* were prevalent, spores of them have known allergenic propert. Besides the identification, quantitative levels were notplanned in this study. Dermatophytes were absent, while four taxa of Keratinophylic non allergenic moulds were observed. When leather dust are dispersed in occupational environments a risk due to allergenic agents as secondary contamination must be carefully considered. Such a risk, according to our results, may be classified as "intermediate for allergenic Mites" and temptatively "light for allergenic moulds". Such a risk might be carefully considered for legal and preventive purposes and also monitored by occupational healthcare professionals.

Key words: dust mites, moulds, allergens measurement, allergenic risk.

Introduzione

L'inhalazione di polveri di cuoio durante le lavorazioni delle calzature è stata in passato genericamente considerata come possibile causa di disturbi respiratori di tipo immunoallergico (17). Si tratta di polveri classificabili come complesse, associabili al manifestarsi di quadri clinici di rinite, di asma o di broncopneumopatia ostruttiva, che venivano riscontrati fra i lavoratori esposti, sia nelle imprese che nel settore artigianale.

Non è lontano il tempo in cui gli allergologi potevano utilizzare estratti diagnostici grezzi commerciali di "polvere di cuoio" per i test cutanei endermici, peraltro senza riuscire a documentare positività credibili e invece fornendo indirettamente alibi alla negazione dell'origine professionale della patologia respiratoria denunciata dai lavoratori.

Il progredire delle conoscenze sui meccanismi delle allergopatie consente attualmente di rifiutare la capacità sensibilizzante diretta delle particelle di cuoio, in base all'assunto che si tratta di pellame conciato e trattato chimicamente in modo da denaturare le proteine ad alto peso molecolare (rimane solo la cheratina modificata), senza neppure determinare la formazione di coniugati intermedi reattivi a basso peso molecolare riconoscibili da parte delle cellule immunocompetenti. Con il migliorare delle condizioni igieniche degli ambienti di lavoro e la riduzione dei livelli di polverosità ambientale l'incidenza della patologia respiratoria si è ridotta, ma l'attenzione si è spostata sul rischio allergico professionale attribuibile ad inquinanti biologici presenti nelle polveri dei calzaturifici. Tutto ciò in un contesto generale di aumentata suscettibilità all'asma dovuta alle condizioni di vita moderne, nonché di maggior rilevanza della rinite allergica come patologia favorente le manifestazioni secretive e costrittive (33).

Alcuni aspetti ambientali specifici degli ambienti dei calzaturifici e suolifici in cuoio possono favorire un inquinamento biologico allergenico sia da Acari che da miceti o muffe. A parte il substrato organico dei pellami conciati e la stessa presenza umana diretta con relativa desquamazione cutanea, si lavora a temperature di 18-26°C, con umidità del 60%-80%, sovente con criteri di pulizia ad umido, con anche possibili accumuli di detriti dimenticati

e poi rimossi con movimentazione tardiva. Gli Acari allergenici che possono svilupparsi con tali parametri ambientali sono pochi: genere Astigmata, famiglia Piroglifidi, specie Dermatophagoides pteronyssinus e Dermatophagoides farinae (4, 12, 18).

Appartengono al gruppo degli "house-dust mites", mentre non è documentata la presenza di Acari non piroglifidi del gruppo "Storage mites" (5, 15, 18), peraltro in parte allergologicamente crocianti con i precedenti (6, 8, 9). Degli Acari Dermatofagoidi sono note la morfologia microscopica (18) e sono identificate le principali molecole allergeniche, che sono enzimi proteolitici ed hanno una nomenclatura internazionale: principalmente Der p 1, Der p 2, Der f 1, Der p 7 (11, 16, 22, 23, 27). Tali frazioni proteiche sono quantificabili nelle polveri con adatti metodi immunochimici (19, 21), sono in grado di indurre nell'organismo anticorpi specifici, vengono utilizzate per la diagnosi e l'immunoterapia dei soggetti allergici (7, 15, 22, 26, 27, 32).

Muffe e miceti contaminanti possono invece essere parecchi. Si distinguono monilie, miceti comuni aerogeni, miceti dermatofiti, miceti cheratinofili (10). L'identificazione di generi e specie richiede l'allestimento di colture in adatti terreni. Le caratteristiche di allergenicità per l'uomo sono conosciute per parecchie specie (10, 32, 33), ma le frazioni allergeniche non sono ancora usualmente quantificabili negli ambienti.

Questo studio è stato inserito nel progetto PPTP della Regione Lombardia ed ha avuto lo scopo di valutare la presenza di allergeni acaridici e di miceti nelle polveri raccolte in un gruppo di calzaturifici, traendo da tale campione rappresentativo gli elementi per classificare il rischio allergico professionale specifico.

Materiali e metodi

Campionamenti - Sono stati eseguiti secondo un protocollo di raccolta delle polveri sedimentate. Sono state identificate postazioni di lavoro rappresentative delle cinque fasi della tecnologia produttiva (4, 7, 14, 15, 19, 29): reparti di taglio e tranciatura cuoio, di giunteria e orlatura, di incollaggio e montaggio, di finissaggio, di deposito e magazzino.

In ogni reparto sono anche stati ispezionati i contenitori di composti chimici (diluenti, solventi, colle, lucidanti) controllandone l'etichettatura, a scopo di individuazione di eventuali indicazioni di rischio allergologico per i componenti chimici (marcatura CEE R42 ed R43). I campioni di polvere, con minimo di almeno 5 grammi, provenivano da

zone di deposito lungo pareti, davanzali, contenitori, scaffali, bancali, macchinari. Secondo indicazioni di buona tecnica (13, 19, 23, 28) una volta identificati e posti in provette sterili, essi sono stati conservati in frigorifero e analizzati entro dieci giorni in laboratorio. I prelievi di polveri sono stati eseguiti in ottobre-novembre 2006.

Acari - Per la problematica acari allergenici sono state coinvolte quattro aziende calzaturiere trattanti pellami naturali e cuoio, con un totale di 15 campionamenti (7 su macchine, 8 in postazioni circostanti).

La determinazione delle componenti allergeniche è stata effettuata sugli eluati delle polveri utilizzando due diverse metodiche.

- Quantitativa (Dust Screen, Indoor Biotechnology Limited, UK) basata su monoclonali specifici per Der p1, Der p2, Der f1 e procedimento analitico in immunofluorescenza ELISA. I risultati sono espressi in mcg/grammo polvere (3, 14, 21, 28, 32).
- Semiquantitativa (Aclo Test, Lofarma, IT) basata sul riconoscimento immunochimico specifico della guanina, un prodotto di decomposizione che caratterizza le deiezioni degli acari, con procedimento analitico colorimetrico (2, 13, 20, 24, 25). I risultati sono espressi in classi colorimetriche.

La comparazione delle due misure ha consentito una certezza di risultato e la costruzione di una scala di valutazione del rischio (7), come riportato in Tabella I. Per gli Acari allergenici piroglifidi le categorie di rischio sono basate sulla distinzione introdotta da Platt Mills (22) fra dose potenzialmente sensibilizzante (2 mcg/grammo polvere) e dose scatenante sintomi nei soggetti già sensibilizzati (10 mcg/grammo polvere).

Miceti - Sono state interessate 9 aziende calzaturiere piccole e medie, procedendo in ciascuna da un minimo di 1 ad un massimo di 7 campionamenti di polveri. Il totale dei prelievi è stato di 29: 24 su macchine (smerigliatrice, spianatrice, tranciatrice, fresatrice, equilibratrice) e 5 in postazioni circostanti (Magazzino, area incollaggio, area forno).

In laboratorio ogni campione è stato suddiviso in due piastre di Petri sterili a camera umida; una piastra è stata allestita per l'isolamento delle più comuni specie; l'altra piastra è stata allestita secondo la metodica delle esche cheratiniche di Vanbreuseghem (29), per l'isolamento dei funghi cheratinofili e dermatofiti.

L'umidificazione è avvenuta con soluzione fisiologica addizionata di penicillina (100 U/ml) e streptomycina (0,2

Tabella I. Caratteristiche psicometriche degli strumenti non validati per la popolazione italiana

METODO	RISCHIO ASSENTE (non significativo)	RISCHIO BASSO	RISCHIO MEDIO	RISCHIO MEDIO-ALTO	RISCHIO ALTO
DUST SCREEN (µg/g polvere) quantitativo	0 - 0,9	1.0 - 2,0	2,1 - 5,0	5,1 - 10,0	10,1 - 15,0
ACLO TEST (intensità colore) semiquantitativo	nessuna colorazione	rosa chiaro	rosa scuro	rosso chiaro	rosso scuro

mg/ml), le piastre sono state tenute sempre a temperatura ambiente e osservate per otto settimane, avendo cura di mantenere sempre le condizioni di umidità.

Per l'umidificazione delle piastre per i funghi cheratofili alla fisiologica, oltre ai due antibiotici, è stato aggiunto anche actidione (0,5 mg/ml); le esche cheratiniche aggiunte in superficie erano costituite da piume e crini sterili.

Risultati

Nessuno dei prodotti utilizzati in incollaggio o finitura ed etichettati secondo normativa CEE recanti le frasi R 42 (può provocare sensibilizzazione) o R 43 (può provocare sensibilizzazione per contatto) è risultato classificato come potenzialmente sensibilizzante.

Per gli allergeni acaridici si sono avute positività in tutti i quattro calzaturifici considerati.

La Tabella II raggruppa il totale dei dati classificati secondo la scala di rischio ed evidenza che gli allergeni acaridici sono stati rinvenuti in 13 dei 15 campioni esaminati. Il valore più elevato riscontrato una sola volta per Der p1 e Der f1 è stato di 15,4 mcg/gr.

In media le quantità di allergeni sono risultate inferiori, ma sono comunque state più elevate nelle polveri campionate non direttamente sulle macchine utensili; la distribuzione dei valori è ampia e se ne può dedurre soltanto che sopra le macchine il rischio è medio-basso, mentre nelle posizioni circostanti esso è medio-alto. La fonte di rischio è stata espressamente studiata in un suolificio, con riferimento a tre postazioni di macchine, come riportato in Tabella III.

Ne emerge che lo sviluppo di Acari allergenici con il relativo permanere nelle polveri di cuoio delle loro proteine sensibilizzanti non sembrerebbe preesistere nei materiali, ma avvenire principalmente nei sacchi di raccolta

dei residui di pellame lavorato, dai quali poi la contaminazione si diffonde con gli spostamenti, e forse con interventi di pulizia a fine turno, sugli scaffali adiacenti le postazioni di lavoro.

La ricerca generale dei miceti è stata effettuata prevalentemente su campioni di polveri prelevati su postazioni dirette sulle macchine utensili (24 su 29 prelievi), partendo dal presupposto che l'inquinamento micologico potesse preesistere sui pellami di cuoio stoccati prima della lavorazione e quindi si depositasse poi nei frammenti.

Dei 29 campioni esaminati solo 3 non hanno dato luogo a crescite fungine, tutti riferiti ad una sola azienda. Per le altre 8 ditte (90%) almeno un genere è stato identificato in coltura. Nel dettaglio 3 o più generi in quattro calzaturifici, mentre solo 1-2 generi per gli altri quattro. La contaminazione da miceti è riconducibile globalmente ad una flora fungina più o meno diversificata di 11 generi o taxa. Non è stato possibile associare taxa fungini a tipologie di lavorazione o a particolari aziende, fatta eccezione per l'unico calzaturificio risultato pressoché esente. La Tabella IV riporta la tipologia e la frequenza dei riscontri.

Si può distinguere un gruppo di generi frequenti: Alternaria, Penicillium, Aspergillus, Cladoisporium, tutti dotati di potenziali proprietà sensibilizzanti. Gli altri taxa invece, isolati da una a tre volte per realtà, possono essere considerati a presenza sporadica.

La metodica utilizzata per l'isolamento dei funghi cheratofili ne ha permesso l'identificazione di 4 specie cheratofile: Paecilomyces lilacinus, Gymnoascus sp., Chrysosporium sp. E Geomyces pannorum. Questi miceti non risultano allergizzanti e non sono implicati in patologia umana o veterinaria. La loro presenza è sporadica ed è giustificata dal fatto che la cheratina viene modificata e deprivata durante il processo di concia delle pelli. Nessun risultato infine a favore della presenza di miceti dermatofiti.

Tabella II. Risultati inquinamento da acari allergenici in 15 campionamenti di 4 calzaturifici

SITUAZIONE AMBIENTALE	NUMERO CAMPIONI	CLASSI DI RISCHIO ALLERGENICO						VALORI (µg/g polvere)
		Assente	Basso	Medio	Medio-alto	Alto	Media	Estremi
SOPRA MACCHINE (1-2 metri da terra)	7	2	2	1	1	1	3,1	0,5 - 15,4
INTORNO A MACCHINE (0,5 - 1,5 metri da terra)	8	0	1	5	1	1	4,62	1,0 - 10,5

Tabella III. Studio inquinamento da acari allergenici in tre postazioni di lavoro di un suolificio in cuoio

POSTAZIONE	CAMPIONE POLVERE	CLASSE DI RISCHIO	VALORI (µg/g polvere)
SMERIGLIATRICE	Sopra la macchina (1 m)	Non significativo	0,7
	Sacco raccolta (0,5 m)	Medio-alto	7,5
	Scaffale adiacente (2 m)	Medio	3,8
TRANCIATRICE	Sopra la macchina (0,5 m)	Basso	1,9
	Sacco raccolta (0,5 m)	Medio-alto	7,5
FRESATRICE	Sacco raccolta (0,5 m)	Medio	2,9
	Scaffale adiacente (2 m)	Medio	3,4

Tabella IV. Tipologia (Taxa) e frequenza dei miceti identificati in 26 su 29 campionamenti di 9 calzaturifici

TIPOLOGIA MICETI	TAXA FUNGINI	NUMERO CAMPIONAMENTI POSITIVI	NUMERO AZIENDE POSITIVE
COMUNI	Alternaria	13	7
	Penicillium	13	7
	Aspergillus niger	7	2
	Aspergillus	5	3
	Cladosporium	3	3
	Chaeyomium	3	2
	Mucor	2	1
	Cunninghamella	1	1
CHERATINOFILI	Paecilomyces lilacinus	3	1
	Gymnoascus	2	2
	Chrysosporium	2	1
	Geomyces pannorum	1	1
DERMATOFITI	-	0	0

Discussione e conclusioni

La ricerca ha documentato che nelle polveri derivate dalla lavorazione del cuoio per calzature e suole si sviluppano Acari piroglifidi del genere Astigmata, gli stessi degli ambienti interni domestici, ben noti per la capacità sensibilizzante sul sistema immunologico dell'uomo (5, 6, 22, 26, 27). Un loro residuo (guanina) e soprattutto le loro frazioni molecolari allergeniche (Der p1, Der p2, Der F1) sono state identificate e dosate nei campioni sedimentati raccolti negli ambienti di lavoro di aziende rappresentative del ciclo produttivo delle calzature in pelle. La contaminazione biologica, più che primaria nello stesso cuoio immagazzinato, sembra soprattutto derivare dal raccogliersi dei residui di lavorazione in sacchi e depositi tenuti nei reparti con microclima caldo umido.

Lo studio ha anche evidenziato che nelle polveri considerate riveste importanza l'isolamento frequente di miceti come *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Hormodendrum* (*Cladosporium*), tutti dotati di potenziale nota allergenicità, in particolare il genere *Alternaria* (33). La loro abbondanza nelle polveri depositate rappresenta un potenziale rischio per la salute dei lavoratori, particolarmente in concomitanza con eventi più o meno occasionali, situazioni di umidità e/o temperatura elevata nei locali. In tali situazioni queste cariche fungine, che nello studio non sono state quantificate in quanto si richiederebbe una serie integrativa di altri prelievi, sarebbero in grado di proliferare e di liberare nell'aria ambiente spore che possono essere responsabili di vari quadri clinici delle vie respiratorie e delle parti esposte, la cui gravità è correlata anche alla concentrazione raggiunta (10, 33). L'abbondanza di *Alternaria* e *Penicillium* in questa indagine non può sorprendere, in quanto sono miceti tipici del clima umido padano e continentale. L'elevata frequenza di *Aspergillus* è invece abbastanza anomala, essendo tali miceti più segnalati nei climi aridi e caldi. La loro relativa abbondanza nelle

polveri di cuoio, che risulta pari a quella di *Alternaria* e *Penicillium*, potrebbe essere correlata come ipotesi con la loro capacità di degradare l'acido tannico del pellame conciato (31). Anche specie del genere *Penicillium* producono anch'esse tannasi (1), enzima che dall'acido tannico libera acido gallico, che viene prontamente metabolizzato dai miceti (30).

Nessun rischio invece è stato documentato per Dermatofiti e nessun rischio allergico per i miceti cheratinofili.

In conclusione un reale rischio da sostanze allergeniche si configura per le polveri di cuoio, così come vengono attualmente utilizzate nell'industria calzaturiera.

Si tratta di un rischio ambientale connesso ai compiti lavorativi, che rientra fra quelli causati da agenti chimici e da agenti biologici. Il fenomeno della sensibilizzazione allergica ha come determinanti sia l'esposizione ad agenti specifici, sia la suscettibilità individuale. Dal punto di vista dell'esposizione si tratta di un rischio classificabile in base a parametri semplici che noi stessi abbiamo proposto (7) e che riassumiamo brevemente.

Rischio irrilevante - quando l'agente non è presente nelle attività e nelle lavorazioni, in alcuna occasione prevedibile; esposizione improbabile.

Rischio limitato - quando l'agente normalmente contamina poco l'ambiente, oppure la lavorazione è aspirata o a ciclo chiuso; esposizione episodica e/o accidentale.

Rischio intermedio - quando l'agente contamina l'ambiente di lavoro solo in alcune fasi produttive; esposizione indiretta e/discontinua, per durata dell'attività o collocazione ambientale

Rischio elevato - quando l'agente viene normalmente e direttamente prodotto/lavorato; esposizione diretta e ripetuta.

Per quanto constatato nell'indagine il rischio da agenti allergenici connesso alla dispersione di polveri di cuoio nei calzaturifici può essere classificato come "intermedio per gli Acari allergenici" e "limitato per i miceti".

Riguardo agli Acari tale valutazione si accorda anche con lo schema dose-risposta che abbiamo tenuto come riferimento nell'interpretazione dei dosaggi (21, 22). Per i

miceti l'indicazione ha carattere provvisorio, fino ad eventuale approfondimento dei livelli quantitativi di contaminazione almeno per *Alternaria* e *Penicillium*.

In riferimento alla legislazione vigente in Italia per salute e sicurezza durante il lavoro (D.Lgs. 81/08 e 106/09) i dati di questo studio indicano che il rischio da agenti allergizzanti deve essere preso in considerazione nel Documento di Valutazione dei Rischi dei calzaturifici, sotto l'aspetto degli agenti chimici e biologici. Da tale impostazione primaria il Datore di Lavoro potrà far conseguire gli adatti interventi di contenimento del rischio mediante prevenzione ambientale, specialmente per i metodi di raccolta dei residui di cuoio e di pulizia delle postazioni. Il Medico Competente, oltre a collaborare per un corretto inquadramento dei rischi, potrà attuare una sorveglianza sanitaria mirata sulla eventuale patologia delle vie respiratorie e delle parti esposte. Si deve tener presente che, per l'esposizione ad agenti sensibilizzanti, nell'assegnazione dei compiti lavorativi è proprio il medico che deve previamente considerare e possibilmente classificare (7) il fenotipo individuale, cioè la suscettibilità dei lavoratori a manifestare allergie e intolleranze.

In tal modo una possibilità di ammalare, finora confusamente considerata, potrà essere oggetto di una prevenzione organizzata.

Ringraziamenti

Si ringraziano Ottorina Bodini e Patrizia Dilda della U.O.O.M.L. A.O. "Istituti Ospitalieri di Cremona" per la fattiva collaborazione nelle analisi di laboratorio immunologico.

Bibliografia

- Batra A, Saxena R. Potential tannase producers from the genera *Aspergillus* and *Penicillium* Process. Biochemistry 2005; 40: 1553-1557.
- Bronswijk J. Evaluating mite(Acari) allergenicity of house dust by guanine quantification. J Med Entomol 1989; 26: 55-59.
- Chapman M, Heynemann P, Wilkins S, et al. Monoclonal immunoassay for major dust mite (*Dermatophagoides*) allergens Der p 1 and Der f 1 and quantitative analysis of the allergen content concentrations of mite and house-dust extracts. J All Clin Immunol 1987; 80: 184-194.
- Cirla AM, Lava R. Valutazione del rischio allergologico da acari piroglifidi nelle polveri di ambienti abitativi e lavorativi di città e di campagna Abs Book 5° Congr Naz Aerobiologia, Montecatini A.I.E. Ed. Bologna 1992: 3-4.
- Cirla AM. Inquinamento indoor e sensibilizzazione allergica. Valutazione del rischio da allergeni abitativi in ambienti urbani e rurali nell'ambito di Cremona Atti 10° Convegno Centro Studi Regionale Salute-Ambiente "Infortunistica domestica e inquinamento indoor". USSL 51, Lombardia Ed, Cremona 1992: 153-156.
- Cirla AM. Inquinamento "outdoor" e "Indoor" nella genesi delle allergopatie respiratorie da ambiente Atti Convegno Interregionale Allergopatie Respiratorie, Mantova, A.I.A Ed. 1998: 1-10.
- Cirla AM. Il lavoratore allergico e la sua gestione nell'artigianato e nella piccola impresa G Ital Med Lav Erg 2009; 31: 312-316.
- Charpin D, Parola P, Arezky I, et al. House-dust mites on wall surfaces of damp dwellings belong to storage mites genus. Allergy 2010; 65: 274-275.
- Drias-Iripoyen J, Lombardero M, Arteaga C, et al. Limited IgE cross-reactivity between *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Glycyphagus domesticus* in patients exposed to both species. J All Clin Immunol 2007; 120: 98-104.
- Federal-Provincial Committee on Environmental and Occupational Health. Fungal contamination in public buildings: a guide to recognition and management Environmental Health Dir, Health Canada, Tunney's Pasture, Ottawa 1995: 88-981.
- Gross I, Heinrich J, FahlBusch B, et al. Indoor determinants of Der p 1 and Der f 1 concentrations in house dust are different. Clin Exp Allergy 2000; 30: 376-382.
- Hart BJ. Life cycle and reproduction of house-dust mites: environmental factors influencing mite populations. Allergy 1998; 53 (suppl 48): 13-17.
- LeMao J, Pauli G, Tekaia F, et al. Guanine content and *Dermatophagoides pteronyssinus* allergens in house dust samples. J All Clin Immunol 1089; 83: 926-933.
- Mistrello G, Roncarolo D, Ottoboni F, et al. Quantitative determination of Der p 1 allergen levels in allergenic extracts and house-dust samples. Aerobiologia 1992; 8: 429-434.
- Munir AK. Risk levels for mite allergen: are they meaningful, where should samples be collected, and how should they be analyzed? Allergy 1998; 53 (suppl 48): 84-87.
- Mueller G, Edwards L, Aleor J, et al. The structure of the dust allergen Der p7 reveals similarities to innate immunoproteins group 2. J All Clin Immunol 2010; 125: 909-917.
- Nava C. Le allergopatie professionali. Cortina Ed, Milano 1982.
- Ottoboni F, Piu G. Gli acari allergenici. Guida al loro riconoscimento. i. Utet Ed, Torino 1991: 1-64.
- Pate A, Hamilton R, Ashley P, et al. Proficiency testing of allergens measurements in residential dust. J All Clin Immunol 2005; 116: 844-850.
- Pauli G, Hoyet C, Tenabene A, et al. Guanine and mite allergenicity in house-dust mite. Clin Exp Allergy 1988; 18: 383-392.
- Platt Mills T. Measurement of indoor airborne allergens using immunoassay. Immunol Allergy Clin N Am 1989; 9: 269-283.
- Platt Mills T, Chapmann M. Dust mites: immunology, allergic disease and environmental control. J All Clin Immunol 1987; 80: 755-775.
- Price J. Measurement of airborne mite antigen in homes of asthmatic children. Lancet 1990; 336: 895-897.
- Quoix E, LeMao J, Hoyet C, et al. Prediction of mite allergen levels by guanine measurements in house-dust samples. Allergy 1993; 48: 306-309.
- Ridout S. Acarex test in the control of house-dust mite allergens in the home. Brit J Cl Pract 1993; 47: 141-144.
- Rose G, Arlian L, Bernstein D, et al. Evaluation of household dust mite exposure and levels of specific IgE and IgG antibodies in asthmatic patients enrolled in a trial of immunotherapy. J All Clin Immunol 1996; 97: 1071-1078.
- Sidenius K, Hallas T, Brygge T, et al. House-dust mites and their allergens at selected locations in the home of house-dust mite allergic patients. Clin Exp Allergy 2002; 32: 1299-1304.
- Tovey E, Mitakakis T, Sercombe J, et al. Four methods of sampling for dust mite allergen: differences in "dust". Allergy 2003; 58: 790-794.
- Vanbreuseghem R. Technique biologique pour l'isolament des dermatophytes du sol. Ann Soc Belge Med Trop 1952; 32: 173-178.
- Van De Lagemaat J, Pyle DL. Modelling the uptake and growth kinetics of *Penicillium glabrum* in a tannic acid-containing solid-state fermentation for tannase production. Process Biochemistry 2005; 40: 1773-1782.
- Van Diepeningen A, Depets AJ, Varga J, et al. Efficient degradation of tannic acid by *Aspergillus* species. 2004; 108: 919-92532).
- Van Ree R. Indoor allergens: relevance of major allergen measurements and standardization. J All Clin Immunol 2007; 119: 270-275.
- Zayres JC, Fersberg B, Annesi-Maesano I, et al. Climate change and respiratory disease: European Respiratory Society position statement. Eur Respir J 2009; 34: 295-302.