

Alergia al veneno de himenópteros

Hymenoptera Venom Allergy

Carolina Díaz Gallardo¹, María Angélica Marinovic Mayorga², Jessica Salinas Luybaert²

1. Médico residente Inmunología Clínica, sección de Inmunología, Hospital Clínico Universidad de Chile. 2. Centro de Alergias, Sección Inmunología y Alergología, Hospital Clínico Universidad de Chile.

Autor para correspondencia: María Angélica Marinovic. Avenida La Plaza 560 casa 13, Las Condes, Santiago, Chile. Tel: 562-2144166

E-mail: mamarinovic@gmail.com

Conflicto de intereses: no existen.

ARCHIVOS DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA 2008;39(2):64-73

Resumen

La alergia al veneno de himenópteros es un hecho epidemiológicamente significativo. Alrededor del 0,15% al 3% de la población general tiene historia de reacciones sistémicas causada por picaduras de insectos. Entre los himenópteros más comunes que provocan este tipo de reacciones se encuentran: abejas, abejorros, avispas y hormigas. Las manifestaciones clínicas varían desde reacciones locales (eritema, edema, prurito o dolor) hasta reacciones sistémicas, e incluso shock anafiláctico con riesgo vital. El manejo inmediato depende de la intensidad de la reacción y abarca desde la aplicación de frío local y el uso de antihistamínicos orales y corticoides tópicos u orales hasta, en los casos más severos, la administración de adrenalina inyectable. En relación con el tratamiento a largo plazo, la inmunoterapia específica ha demostrado ser muy efectiva en la reducción del riesgo de reacción severa frente a la posterior picadura de insecto.

Palabras clave: alergia, veneno, himenópteros, cuadro clínico, diagnóstico, tratamiento.

Abstract

The diagnosis of Hymenoptera venom allergy is a significant epidemiological issue. Among 0.15% to 3% of the general population has a history of systemic allergic reactions caused by an insect sting. Hymenoptera that cause this type of reactions are bees, bumblebees, wasps and ants. The clinical manifestations vary from local reactions (redness, swelling, pruritus and/or pain) to systemic reactions, and even anaphylactic shock. The immediate management depends on the intensity of the reaction. It includes the application of local cold, antihistamines, oral or topical glucocorticosteroids and, in severe cases, an intramuscular or subcutaneous injection of epinephrine. The specific immunotherapy has demonstrated to be very effective in reducing the risk of severe reaction following a new Hymenoptera sting.

Keywords: allergy, venom, hymenoptera, clinical manifestations, diagnosis

Introducción

Las primeras referencias del ataque de himenópteros a humanos se encuentran en pinturas rupestres que datan de unos 3.000 años aC [1]. Sin embargo, el primer informe de muerte secundaria a anafilaxia por picadura de avispa se asocia a la muerte del faraón Menes de Egipto en el año 2.641 aC [2].

En Estados Unidos se producen aproximadamente 45 muertes anuales atribuidas a picaduras de insectos. De éstas, entre el 40 y el 85% ocurre en individuos sin historia de reacción alérgica a picadura de himenópteros [3,5,6], y el 80% se produce en hombres mayores de 40 años [3].

La prevalencia de reacciones locales extensas fluctúa entre el 2,4 y el 26,4% en adultos [7-9], el 17 y el 19% en niños [10] y el 38% en los apicultores [11,12]; las reacciones sistémicas varían entre el 0,4 y el 7,5% [7-10], con una tasa muy inferior en infantes (0,1-0,3%) [10]. La relación hombre/mujer es de 2:1 y solamente un tercio de los individuos son atópicos [13].

Taxonomía

Los artrópodos son invertebrados que tienen un exoesqueleto articulado de quitina; dentro de éstos, los insectos son una de las clases más numerosas. Específicamente, dentro de esta clase

se encuentra el orden de los himenópteros, caracterizados por poseer alas membranosas y una organización social compleja. Para lograr uniformar criterios, la mayoría de los autores utilizan la clasificación de Chinery [14], a pesar de que en los últimos años han sido introducidos cambios menores. Este orden se subdividen en 3 familias principales: *Apidae*, *Vespidae* y *Formicidae*. Los véspidos y los ápidos poseen el mayor interés en nuestro medio [9,15,16].

Familia *Apidae*

Conformada por las llamadas abejas y abejorros. Se caracterizan por ser pilosos, lo que les confiere la posibilidad de transportar el polen, y herbívoros, aprovechando el néctar y el polen de las flores. Su aguijón presenta dientes, los cuales impiden su salida una vez clavado, por lo que el insecto muere secundariamente a la evisceración. Dentro de esta familia se distinguen dos géneros principales:

- **Apis melífera.** Corresponde a la abeja de la miel y es el himenóptero más frecuente en nuestro medio. Cada insecto tiene un gran instinto defensivo, por lo que pican cuando se sienten mínimamente agredidas.
- **Bombus o abejorro.** Son más voluminosos que las abejas y poseen varias rayas horizontales de color amarillo o blanco.

Familia *Vespidae*

Son de color negro, con rayas transversales amarillas y escaso vello, de hábito carnívoro. El aguijón es liso, por lo que pueden picar más de una vez. La mayoría de las picaduras se producen entre comienzos del verano y fines de otoño. Los tres géneros más importantes son:

- **Vespa o avispones.** Poseen un tamaño superior a la media, con tonos naranjos característicos. Tienen mayor tendencia a morder más que a picar, y pueden comportarse como depredadoras de otras avispas.
- **Véspula.** Conocidas como avispa chaqueta amarilla. Es característico su abdomen aguzado en el extremo caudal, siendo el extremo cefálico recto. Se alimentan de carnes y pescados, por lo que son atraídas extraordinariamente por las basuras.
- **Polistes o avispas papeleras.** Confeccionan sus nidos con dicho material, siendo siempre de ubicación aérea. Es la especie más abundante y se caracteriza por tener un abdomen aguzado por los dos extremos.

Familia *Formicidae*

Involucra a hormigas de color negro o rojo. Poseen un verdadero aparato venenoso, por lo que cuando muerden abren sus mandíbulas y giran en torno a ellas, administrando múltiples picaduras. Tienen un hábito dietético diversificado (vegetariano-carnívoro) y optan por la vida subterránea. Están ampliamente distribuidas en EE.UU.

Alergenos del veneno

El conocimiento de la composición del veneno y la estructura de los alergenos es un prerrequisito para lograr un diagnóstico certero y un tratamiento eficaz.

En relación con la cantidad de veneno inyectado, ésta varía según las distintas especies e incluso dentro de una misma especie; es así como las abejas son capaces de liberar entre 50-140 µg de proteína durante cada picadura [4]. En contraposición a lo anterior y, dado que las avispas pueden picar en más de una oportunidad, éstas inyectan una cantidad menor en cada ocasión: las véspulas liberan 1,7-3,1 µg de veneno, mientras que las polistes inyectan entre 4,2-17 µg de veneno [4].

Grosso modo, podemos mencionar que los distintos venenos de himenópteros están compuestos por aminas vasoactivas, péptidos, proteínas de alto peso molecular y enzimas. Las primeras son responsables del dolor, de la vasodilatación y la alteración de la permeabilidad vascular, mientras que los efectos citotóxicos, hematotóxicos y neurotóxicos son producto de la acción de los péptidos y enzimas [17-19].

Composición del veneno de abejas

Aminas vasoactivas. La **histamina** representa el 1% del peso seco del veneno, con bajas cantidades (<1%) de **noradrenalina** y **dopamina** [20].

Péptidos. La **melitina** (Api m 4) es el componente más abundante (50-60% del peso seco del veneno). Es poco alergénica, sólo el 28% de los pacientes presentan IgE específica contra este péptido [21]. Altera la permeabilidad de las membranas plasmáticas, además de tener actividad citolítica. Otros péptidos activos son la **apamina** y la **proteína degranuladora de mastocitos**.

Enzimas. La **fosfolipasa A2 (PLA2)** (Api m 1) hidroliza los ácidos grasos de los fosfolípidos, originando lipofosfolípidos, los cuales son sumamente tóxicos para el organismo. Es decir, son capaces de actuar directamente como citotoxina e indirectamente como citolisina [22]. Representa el 5-20% del peso seco del veneno de abeja y es considerado el principal alérgeno (más del 90% de los pacientes sensibles al veneno de abeja poseen IgE específica para ésta) [23]. Otra enzima muy alergénica es la **hialuronidasa** (Api m 2), la que posee una actividad sinérgica con el resto de los componentes, dado que rompe los mucopolisacáridos del tejido conectivo y favorece la penetración de éstos a las capas más profundas de la piel. Posee especial relevancia, ya que comparte una similitud del 50% con las secuencias génicas de la hialuronidasa contenida en el veneno de avispas [24]. Otros componentes de este grupo son la **fosfatasa ácida** y **distintas proteasas**.

Composición del veneno de avispas

Aminas vasoactivas. Éstas son las mismas que se explican en el grupo anterior.

Péptidos. Las **quininas** son responsables de la contracción de la musculatura, de la alteración de la permeabilidad vascular y de los cambios de la presión arterial.

Enzimas. La **fosfolipasa A1** hidroliza los grupos acilos, liberando lipofosfolípidos que son capaces de alterar las funciones de las membranas plasmáticas. Representa entre el 6-14% del peso

seco del veneno y corresponde a uno de los alérgenos mayores [25]. La **hialuronidasa** también cumple con las características de alérgeno mayor, tiene la misma actividad que en las abejas, y es responsable de la débil reactividad cruzada existente entre los vespídeos y las abejas [4]. El **antígeno 5** (función biológica aún desconocida), es un alérgeno mayor presente en los diferentes venenos de esta familia [26].

Composición del veneno de hormigas

Dentro de los alérgenos encontramos la **fosfatasa** y la **hialuronidasa**, con características biológicas similares a las mencionadas previamente [27,28].

Reactividad cruzada entre los venenos de las distintas especies

La presencia de prick test positivos a múltiples venenos tiene al menos dos posibles explicaciones: 1) Que los pacientes tengan una sensibilización verdadera a cada uno de los extractos testeados o 2) la existencia de anticuerpos IgE con reactividad cruzada, los cuales reconocen alérgenos comunes así como epítopos similares en diferentes venenos, especialmente aquéllos que contienen hidratos de carbono [29]. La distinción entre estos dos fenómenos es de suma importancia al momento de decidir una inmunoterapia con veneno de himenóptero (VIT).

Reactividad cruzada entre la familia Apidae

Los datos existentes sugieren que tanto los venenos en su conjunto como los alérgenos mayores de los diferentes tipos de abejas son mundialmente similares y que la estructura del alérgeno mayor, PLA2, es altamente idéntica [30,31].

En contraposición, la variabilidad de los alérgenos dentro del grupo de los abejorros es mayor [32]. La PLA2 de este grupo comparte una similitud de sólo 53% con la PLA2 de las abejas. Sin embargo, a pesar de lo anterior, puede existir reactividad cruzada entre abejas y abejorros y la sensibilización puede ocurrir en algunos individuos [33,34].

Reactividad cruzada entre la familia Vespidae

La reactividad cruzada entre los integrantes de este grupo es mucho mayor, debido a las grandes similitudes existentes tanto en la composición como en la estructura de los alérgenos [35,36]. La semejanza entre los alérgenos de las diferentes especies de vespúlas es superior al 95% [35,36], lo que explica la gran reactividad cruzada existente entre las vespúlas, vespas y las dolichovespúlas (subfamilia *Vespinae*).

Sin embargo, la reactividad cruzada entre esta subfamilia y los polistes es generalmente de menor cuantía [38].

Reactividad cruzada entre el veneno de las Apidae y las Vespidae

Existe aproximadamente un 50% de secuencias idénticas entre la hialuronidasa del veneno de las abejas y la de las avispas [36];

se la reconoce como el componente de mayor relevancia en la reactividad cruzada existente entre las distintas especies.

Presentación clínica

Como ya es conocido, las reacciones de hipersensibilidad pueden ser mediadas tanto por mecanismos inmunológicos (ya sean IgE o no IgE mediados) como no inmunológicos [40] y éstas determinan las diferentes manifestaciones clínicas, las cuales se clasifican en:

Reacción local normal

Presentación más frecuente; caracterizada por aumento de volumen localizado, eritema circundante, prurito y dolor, de un diámetro menor a 10 cm, que se inicia al momento de la picadura, es de carácter transitorio, con una duración promedio de 2-3 horas [3]. Corresponde a una reacción no mediada inmunológicamente, sino de tipo tóxica, inducida por la melitina; cuando el número de picaduras es elevado puede desencadenar una reacción sistémica similar a la anafilaxia [41].

Las reacciones locales, secundarias a la mordedura de hormigas, son muy dolorosas (el dolor persiste aproximadamente por 72 horas), el sello es la presencia de pseudopústulas estériles, que aparecen 24 horas posteriores a la mordedura. El contenido de las vesículas corresponde a material necrótico y deben mantenerse de manera intacta para prevenir la sobreinfección [42].

Reacción local extensa

Se caracterizan por aumento de volumen mayor de 10 cm, con eritema circundante, que incluso puede llegar a comprometer la totalidad de la extremidad. A menudo continúa creciendo hasta las 48 horas, disminuyendo lentamente con el paso de los días. Es una reacción dolorosa y/o pruriginosa. Frecuentemente existe un error diagnóstico al ser confundida con una celulitis, especialmente si existe un trayecto linfático hacia la región axilar o inguinal. Entre el 10 y el 15% de la población adulta presenta este tipo de manifestación clínica [41].

El mecanismo inmunopatogénico es desconocido. En algunos pacientes tanto el curso clínico, el prick test como los estudios in vitro sugieren que correspondería a la fase tardía de una reacción de hipersensibilidad IgE mediada [43]. Sin embargo, los pacientes que manifiestan este tipo de reacción no presentan mayor riesgo para futuras reacciones sistémicas [41] ($\approx 10\%$), lo que ha llevado a proponer mecanismos mediados por células [44] o la combinación de ambos como base de esta reacción.

Reacción sistémica

Ésta puede ser leve, manifestándose como una respuesta cutánea generalizada, con urticaria y/o angioedema asociado, o severa, con síntomas potencialmente letales. La escala de severidad más utilizada es la de Mueller [45]. Se presenta de forma menos severa en niños: de las 45 muertes anuales que ocurren en Estados Unidos, sólo 2 corresponden a niños [3]; el 85% de los adultos atacados que presentan reacciones sistémicas ten-

drán riesgo vital, en contraste con sólo el 40% de los niños [3]. Las variantes descritas son el inicio tardío, el curso prolongado y la anafilaxis bifásica [49]. Esta última ha sido bien documentada en el marco de la hipersensibilidad a la picadura de insectos [50], por lo que no debe ser menospreciada la estrategia de observación intrahospitalaria postratamiento [41].

Reacción sistémica tóxica

Muchas veces resulta indistinguible de una reacción alérgica. Se desarrolla luego de múltiples picaduras simultáneas, variando el número de picaduras requeridas entre individuos, pero la mayoría de las comunicaciones refieren pacientes que han recibido más de 50 picaduras [41]. Corresponde a una reacción de tipo anafilactoidea.

Reacción inusual

Forma de presentación muy poco frecuente, descrita solo como informes de casos aislados. Difiere de la sintomatología típica de una reacción alérgica y, dado que la relación temporal no es tan directa (desde algunas horas hasta una semana postpicadura), muchas veces la relación causal no es sospechada [51]. Clínicamente posee una amplia gama de presentaciones, dependiendo del órgano afectado, de la existencia de compromiso sistémico y del tiempo transcurrido desde la picadura [51]. Son ejemplos:

- **Sistema nervioso.** Encefalomiелitis aguda diseminada, neuritis periférica, miastenia gravis, enfermedad desmielinizante e infarto cerebral.
- **Renal.** Falla renal aguda, nefritis aguda intersticial, necrosis tubular aguda, síndrome nefrótico.
- **Cardíaco.** Infarto miocárdico (silente), arritmias.
- **Pulmonar.** Hemorragia alveolar.
- **Ocular.** Catarata, conjuntivitis, infiltración corneal, neuropatía óptica.
- **Otros.** Púrpura trombocitopénica, púrpura de Schönlein Henoch, vasculitis.

Numerosos mecanismos fisiopatológicos han sido postulados y es así como cada una de estas formas de presentación posee una patogenia diferente. La encefalomiелitis aguda diseminada sería consecuencia de la reactividad cruzada existente entre constituyentes del veneno y la mielina del sistema nervioso central [51]. En cambio, la falla renal primaria se explicaría por los efectos tóxicos directos sobre el tejido renal de la hialuronidasa, PLA2, melitina y apamina [51]. En varias entidades el mecanismo es aún desconocido.

Factores de riesgo

Los diferentes factores de riesgo [4] asociados a una reacción alérgica se subdividen en los que están asociados a un mayor riesgo de picadura y los que se relacionan a un incremento de las reacciones severas. Se destacan:

- **Intervalo del tiempo entre picaduras y número de éstas.** Un corto intervalo entre picaduras incrementa el riesgo de una reacción sistémica posterior [52]; el incremento de este período determina que el riesgo decline gra-

dualmente, permaneciendo en el rango de 20-30% a los 10 años [53]. En contraposición, ser picado muy frecuentemente pareciese inducir tolerancia: los apicultores atacados menos de 25 veces/año tienen un historial de reacciones sistémicas, en comparación con aquéllos que fueron picados más de 200 veces/año [11].

- **Sensibilización.** Individuos sin historia previa de reacción anafiláctica sistémica secundaria a picadura de insectos, pero con prick test positivo, presentan un riesgo de reacción anafiláctica posterior de 17% vs 0% en comparación con individuos con prick test negativo [53].
- **Severidad de la reacción previa.** Con posterioridad a una reacción local extensa, entre el 5 y el 15% de los individuos desarrollarán una reacción de tipo sistémica en la próxima oportunidad; en aquéllos con historia de reacción sistémica leve el riesgo de una subsecuente reacción sistémica bordea el 18% en niños [55] y el 14-20% en adultos [56] alcanzando hasta el 79% si la reacción inicial fue severa [57] (**Tabla 1**).
- **Edad.** Cerca del 60% de las reacciones sistémicas en niños son de carácter leve [58], mientras que en adultos los síntomas respiratorios y/o cardíacos ocurren en alrededor del 70% [59]. Los adultos mayores desarrollan aún más frecuentemente reacciones severas, y la tasa de mortalidad es superior a la de los adultos jóvenes y niños [44].
- **Enfermedades cardiovasculares, uso de β -bloqueadores.** Los β -bloqueadores no incrementan el riesgo global de una reacción sistémica; sin embargo, las reacciones severas son de más difícil manejo [60].
- **Tipo de insecto involucrado.** Los individuos alérgicos al veneno de abejas presentan un riesgo superior de reacción sistémica durante el próximo episodio que aquellos pacientes alérgicos al veneno de avispas [61].
- **Triptasa sérica elevada, mastocitosis.** La mastocitosis sistémica ha sido asociada a un riesgo aumentado de reacciones severas secundarias a picadura natural o provocada, a baja sensibilización a veneno en prick test o estudios *in vitro*, a una tasa incrementada de reacciones adversas durante la VIT, con reducción de la efectividad de ésta y fallas del tratamiento. Una forma simple de diagnóstico consiste en la medición de la triptasa sérica total basal, la que se encuentra elevada (> 20 ng/ml) a expensas de la α -triptasa, a diferencia de lo que ocurre durante las reacciones anafilácticas en las cuales hay una elevación transitoria a expensas de la β -triptasa [62].

Un reciente estudio australiano [48] reportó, contrario a lo previamente descrito, que las picaduras en la región de cabeza y cuello no se asocian a mayor número de reacciones con riesgo vital ni determinan necesariamente cuadros más severos en el futuro. Un segundo hecho relevante se refiere a que el asma preexistente debe ser considerada como factor de riesgo para el desarrollo de una respuesta asmática severa [21]. Sin embargo, no existen aún estudios concluyentes que relacionen la atopia como factor de riesgo para alergia a veneno de himenópteros.

Métodos de estudio diagnóstico

Si bien en la gran mayoría de los casos es suficiente con la anamnesis, resulta relevante utilizar siempre un algoritmo diagnóstico, con el objetivo de llegar a un diagnóstico de certeza y así poder ofrecerle al paciente un tratamiento adecuado.

Anamnesis

Los datos de mayor relevancia son el número y fecha de las reacciones, tipo y severidad de éstas, intervalo de tiempo transcurrido entre la picadura y el inicio de los síntomas y el tratamiento requerido, junto a los factores de riesgo para reacciones severas y para picaduras reiteradas. También se debe indagar sobre las características del insecto, con el objetivo de identificar el agente causal.

Test cutáneos

Incluye el prick test y la intradermorreacción (IDR). Es recomendable realizarlos 2-3 semanas posteriores a la reacción, para así evitar la posibilidad de resultados falsamente negativos durante el período refractario (secundario a la depleción de mediadores mastocitarios) [44].

La IDR se debe realizar después del prick test y sólo si éste resultó previamente negativo. La sensibilidad de la IDR se ha estimado cercana al 90%, siendo aún mayor a una concentración de 1 mg/ml [4]. Sin embargo, ante una IDR negativa en un paciente con historia clínica sugerente de reacción sistémica a picadura de insectos, resulta indispensable repetir el examen uno a dos meses posteriores al evento, dado que el período refractario puede ser de mayor duración [4].

Las concentraciones utilizadas para el prick test fluctúan entre 0,01-100 mg/ml, mientras que en las IDR varían entre 0,001-1 mg/ml. La sensibilidad del prick test es definitivamente menor, incluso a los 100 mg/ml [4].

Test *in vitro*

Incluye la medición de IgE e IgG alérgeno-específicas y la medición de la triptasa basal sérica.

- **IgE alérgeno-específica.** En los primeros días posteriores a la picadura, los niveles de IgE específica pueden ser bajos e incluso no demostrables, incrementándose con el paso de los días y semanas. Ante un cuadro clínico sugerente de reacción sistémica con niveles de IgE específica bajos o indetectables, el examen debe repetirse unas cuantas semanas después [63]. Luego de esta fase inicial, se evidencia un descenso gradual de los títulos de anticuerpos [63]. En pacientes con historia de reacción sistémica esta medición posee una sensibilidad algo menor que los test cutáneos (*in vivo*), especialmente cuando ha transcurrido más de un año desde el último episodio [44]. Aproximadamente el 15 al 20% de los pacientes con prick test positivo tienen IgE específica negativa (<http://www.theallergyreport.com/>).

La doble positividad, es decir, que tanto la IgE contra el veneno de abejas como de avispa sean positivas, no es infre-

Tabla 1. Riesgo de desarrollar una reacción anafiláctica secundaria a una picadura de himenópteros luego de una determinada reacción inicial.

Historia del paciente	Riesgo de anafilaxis (%)
Desconocida	3
Local extensa	5-15
Anafilaxis cutánea en niños	10-18
Anafilaxis cutánea en adultos	14-20
Anafilaxis sistémica en niños	30-40
Anafilaxis sistémica en adultos	50-60
En tratamiento con VIT	2

Tabla 2. Algoritmo diagnóstico para alergia a veneno de himenóptero, modificado en 2003 por el Comité de la Academia Americana de Alergias, Asma e Inmunología.

Historia de reacción sistémica postpicadura de himenóptero	No	Sí	Sí
Prick test/ IDR con veneno de himenóptero	No recomendada	Positiva	Negativa
Conclusión del test cutáneo	No aplicable	Se demuestra la presencia de IgE específicas	Puede no excluir la presencia de IgE específicas; repetir IDR
IgE específica	No considerado en algoritmo diagnóstico	Si IDR es (+), no es necesario. Complementar con otros tests en paciente con dermatografismo o reacción severa.	Realizar sólo si IDR se mantiene negativa. Complementar con otros tests diagnósticos.
Candidato a VIT	No indicada	Indicada	Requiere juicio clínico e investigación en curso

cuenta y, como fue mencionado, puede deberse a doble sensibilización o a la reactividad cruzada entre los epitopos de la hialuronidasa, presente en ambos venenos [36].

- **IgG alérgeno-específica.** Los niveles de éstas reflejan sólo exposición, incrementándose luego de la picadura, pero sin correlacionarse con la presencia o ausencia de alergia [44] y decreciendo más rápidamente que las IgE [63]. La evaluación rutinaria del nivel de IgG alérgeno-específica antes, durante o posterior a la VIT no es recomendada.
- **Triptasa basal sérica.** Su concentración debería ser evaluada en todo paciente con historia de reacciones sistémicas severas, con el objetivo de descartar una mastocitosis y evitar las complicaciones que estos pacientes presentan durante la VIT [66].

En la **Tabla 2** se presenta un algoritmo diagnóstico que engloba todo lo anterior y nos otorga una mirada práctica a lo previamente descrito.

Métodos diagnósticos alternativos

Existen diferentes métodos diagnósticos alternativos, tanto *in vivo*, *in vitro* como celulares, que se utilizan de manera complementaria.

Provocación *in vivo*

Es considerada en algunos países europeos como el método confirmatorio definitivo de alergia a veneno de himenóptero [67,68]. Sin embargo, desde hace algunos años estos test han sido puestos en tela de juicio por su baja reproducibilidad y porque el resultado de una provocación única debe ser interpretado con cautela, ya que muchos pacientes con una prueba de provocación negativa sí refieren síntomas durante picaduras “en el campo” [43,69].

Provocación *in vitro*

Involucra la activación de basófilos y la medición de los mediadores o marcadores de activación ubicados en la superficie celular [68]. Tanto la medición de histamina como del leucotrieno C4 neoformado liberado pertenecen a este grupo.

Medición de CD63 por citometría de flujo

CD63 es una molécula normalmente expresada en la cara interna de las membranas vesiculares, donde la histamina es almacenada en los basófilos. Una vez producido el entrecruzamiento de dos moléculas de IgE contiguas, las vesículas se fusionan con la membrana plasmática, permitiendo la expresión de este marcador en la superficie celular externa. La expresión de CD63 en la superficie del basófilo se usa para cuantificar la presencia y extensión del basófilo activado por la unión del veneno de abeja u otro alergeno a la molécula de IgE, lo cual puede o no corresponderse con liberación de histamina. La magnitud de esta expresión en la membrana celular de los basófilos puede ser cuantificada utilizando citometría de flujo [68]. Lambert y cols. [70] determinaron que este método es al menos tan sensible y específico como el ensayo de liberación de histamina para la detección de anticuerpos IgE alergeno-específicos en basófilos.

Medición de CD203c por citometría de flujo

CD203c actúa como una ectonucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa y corresponde a otro marcador de activación basofílica. Se expresa selectivamente en la superficie de basófilos, mastocitos y sus progenitores CD34+ [71]. Una vez activada la célula, el CD203c incrementa su expresión entre 2 a 11 veces, y puede cuantificarse mediante citometría de flujo [72]. Eberlein-König y cols. [73] lograron demostrar la confiabilidad de los tests de activación celular, utilizando ya sea el CD63 o el CD203c como marcador de alergia a veneno de abeja o avispa. Encontraron que la sensibilidad del protocolo con CD203c es levemente superior.

Estrategias futuras

Gracias a las nuevas tecnologías de biología molecular, un considerable número de alergenitos mayores de veneno de abeja y avispa están

disponibles en forma recombinante [21]. Diversos estudios han evidenciado la existencia de una estrecha correlación con su capacidad de unir IgE (en comparación con las respectivas preparaciones naturales purificadas). Algunas disparidades, sin embargo, se han encontrado en investigaciones que utilizan Western blot, las que revelan que las preparaciones naturales están contaminadas con trazas de otros alergenitos. Dado lo anterior, los alergenitos recombinantes deberían ser superiores en el diagnóstico y determinación de la relevancia clínica de un alergeno en particular [4,21].

Manejo terapéutico

El tratamiento debe ser abordado por dos frentes: el manejo del cuadro agudo y aquel dirigido a evitar nuevos episodios sistémicos, con riesgo vital.

Terapia aguda

Si el individuo sólo presenta aumento de volumen local leve y prurito, se prefiere el uso de compresas frías, antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y antihistamínicos orales [3,19]. También pueden ser utilizados corticoides tópicos y/o antihistamínicos locales [19]. Schumacher y cols. [3] demostraron que el contenido total del saco se inyecta en menos de 20 segundos, por lo cual, si el aguijón está presente aún, éste debe ser retirado inmediatamente para evitar la entrada de una mayor cantidad de veneno.

El tratamiento óptimo para una reacción local extensa incluye las medidas nombradas y corticoides por vía sistémica (prednisona 40-60 mg/d) [3].

Si ocurre una reacción de tipo anafiláctica, la epinefrina es la piedra angular del tratamiento, ya que detiene la liberación de mediadores. Además, la acción de ésta sobre los receptores α -1-adrenérgicos induce vasoconstricción arteriolar, sobre los receptores β -1 induce una respuesta cronótropa e inótropa positiva y la estimulación de los receptores β -2 induce vasodilatación arteriolar, relajación de la musculatura lisa bronquial y aumento de la glicogenólisis.

La indicación de hospitalización está supeditada a las características de la reacción y se sugiere en los pacientes que presentaron una reacción severa o comorbilidades complicadas [3].

Profilaxis y tratamiento de largo plazo

Tres son las medidas aquí incluidas: la prevención de picaduras, el uso de epinefrina auto-inyectable y la VIT.

- **Prevención de picaduras.** Pueden ser evitadas con medidas básicas, de sentido común y que disminuyen significativamente la exposición. Entre éstas destacan: evitar el uso de ropa de colores brillantes, perfumes, cremas o champú de olores intensos; ser cuidadoso durante los picnics al aire libre; no caminar descalzos en el pasto; en los paseos en bicicleta o moto, llevar casco, guantes y chaqueta. Resulta importante llevar siempre a mano un kit de emergencia en salidas al campo, con adrenalina, corticoides y antihistamínicos [3,19].

- **Uso de epinefrina de emergencia.** Con el objetivo de lograr un tratamiento de instauración rápida, se encuentra disponible epinefrina en kits de emergencia autoadministrables. Ésta debe aplicarse inmediatamente después de la picadura, con el propósito de “ganar tiempo” para llegar a un centro asistencial. El uso de un brazalete con el diagnóstico es recomendable.
- **Inmunoterapia.** La VIT es un método seguro y efectivo para prevenir futuras reacciones a picadura de himenópteros en pacientes alérgicos. Fue la primera IT en lograr una estandarización universal y mundialmente aceptada como el modelo de IT más eficaz, que proporcionando un nivel de protección de entre el 92 y el 98% [1,28]. Se ha demostrado que la protección clínica puede lograrse en menos de dos meses, con un perfil de seguridad similar al de otras IT [39]. La selección de pacientes está determinada por la probabilidad (sobre la base de la historia clínica y los resultados de los test cutáneos) de que una nueva picadura pueda causar una reacción alérgica sistémica. En la **Tabla 3** se esquematizan las indicaciones de VIT, tanto en niños como en adultos.

Los niños que presentan reacciones cutáneas generalizadas tienen riesgo bajo de desarrollar una reacción sistémica que involucre el sistema respiratorio y/o cardiovascular posteriormente ($\approx 10\%$) [3]. Si han experimentado una reacción moderada o severa deben comenzar con VIT, ya que poseen el riesgo de reacción es similar a los adultos ($\approx 30\%$) (**Tabla 1**) [3].

En contraposición, algunos médicos recomiendan iniciar VIT en todo paciente adulto que haya experimentado cualquier grado de reacción sistémica. Sin embargo, la mayoría de los individuos presentan respuestas estereotipadas en las reacciones siguientes, con características similares a las presentadas durante el primer episodio [3]. Por lo tanto, cuando ocurre una reacción leve, el médico en conjunto con el paciente debe decidir si es necesario embarcarse en una VIT. Cuando las reacciones son severas, la recomendación de inicio de VIT es perentoria.

Todos los pacientes, independientemente de la edad de éstos, que presenten reacciones locales extensas o test cutáneos negativos no tienen indicación de iniciar terapia, ya que el riesgo de una futura anafilaxia es cercano al 5-10% [3]. Resulta importante destacar que el grado de reactividad cutánea y los niveles de IgE plasmática están pobremente correlacionados con el riesgo de desarrollar reacciones sistémicas graves [74]. Del mismo modo, un test cutáneo o *in vitro* positivo no debe ser considerado como indicación de VIT, tomando en cuenta que aproximadamente el 25% de la población general está sensibilizada a estos antígenos, aparentemente como resultado de antiguas picaduras; esta sensibilización sería de carácter transitorio y desaparecería 1-3 años postpicadura [13].

Características generales de la VIT

Tipo de extracto

Actualmente, con excepción de la IT de hormigas, se utilizan extractos de veneno puro. De éstos existen 2 tipos: los acuosos

Tabla 3. Selección de pacientes para VIT, de acuerdo a la presentación clínica y el resultado de los test cutáneos y/o IgE.

Tipo de reacción	Resultado del test cutáneo o IgE	¿Requiere VIT?
Niños		
Sistémica, sin riesgo vital, inmediata, urticaria generalizada, angioedema, eritema, prurito	+ o -	No
Sistémica, con riesgo vital, posibles síntomas cutáneos, pero con síntomas respiratorios (edema laríngeo o broncoespasmo) o cardiovasculares (hipotensión, shock)	+ -	Sí No
Adultos		
Sistémico	+ -	Sí No
Niños o adultos		
Local extensa (> 10cm. diámetro, > 24 hs. de duración)	+ o -	No
Local normal	+ o -	No
Reacción tóxica		NO

y los de depósito (depot) (extractos modificados físicamente). Comparaciones efectuadas entre ambos determinaron que estos últimos presentan menor frecuencia de manifestaciones locales extensas (7% *vs.* 20%) y reacciones sistémicas severas, además de requerir una menor frecuencia de inyección y tienen un mayor efecto adyuvante (logra mayores niveles de IgG).

Dosis y eficacia

La dosis de mantención es 100 μg de cada veneno, tanto en niños como en adultos. Dosis menores no son completamente efectivas ni confiables en adultos; no existen datos específicos en menores. Sin embargo, la VIT con dosis de 300 μg de mezclas de venenos de vespídos posee una eficacia cercana al 98% (se incluyen 2 venenos cuando se trata de pacientes sensibilizados a integrantes de la subfamilia *Vespinae* y a polistes, ya que la reactividad cruzada entre ellos es limitada) [28]. La efectividad de las terapias con 100 μg de cualquier veneno es menor [52-54]; se logra protección completa en el 85-90% de los casos de VIT con veneno de avispa y en el 75-85% de los de VIT con veneno de abejas. En pacientes que no logran una protección completa, la respuesta puede ser incrementada administrando 150-250 μg de cada veneno [54,55].

Regímenes

Las diferencias entre los diversos regímenes se basan en la fase de ascenso de VIT. Las 2 terapias tradicionales tienen como objetivo alcanzar los 100 μg en 8 o 15 semanas. El régimen usado en estudios iniciales se describió como “régimen rush modificado” y la dosis de mantención se alcanzaba en 7-10 semanas, con inyecciones semanales. Éste es considerado como un esquema intermedio entre el régimen rush (logra la dosis de mantención en 2-3 días) y el tradicional (la alcanza en 15-20 semanas). A dife-

rencia de los informes existentes de IT con alérgenos inhalatorios, los regímenes más rápidos (ultra-rush) parecen tener la misma e incluso –según algunas comunicaciones– mayor seguridad y eficacia que los esquemas tradicionales (7% vs. 28%) [82,83]. Sin embargo, han surgido algunas evidencias de que la terapia rush podría afectar la respuesta a largo plazo [79].

Intervalo entre inyecciones

Una vez finalizada la fase de ascenso, se inicia la de mantención, en la cual la VIT se coloca cada cuatro semanas durante todo el primer año de tratamiento, que puede prolongarse hasta 6 semanas durante el segundo año y hasta 8 semanas desde el tercero [39,85]. Sin embargo, en algunos pacientes este período debe reducirse a 2-3 semanas con el objetivo de disminuir las reacciones adversas [39].

Duración

Inicialmente se pensó que sería por un tiempo indefinido, ya que la discontinuación luego de uno o dos años de tratamiento se asociaba a un 25% de recaídas [39]. Estudios ulteriores demostraron que el 80-90% de los pacientes no presentaban reacciones sistémicas luego de 3 a 5 años de tratamiento, a pesar de que los prick test persistiesen positivos [39,84,85].

Existe un grupo de pacientes que presentan una mayor tasa de recaídas y en los cuales la duración del tratamiento debería ser indefinida o al menos más prolongada: son aquellos que presentan reacciones sistémicas durante la VIT, alergia al veneno de abejas, historia de reacciones severas y los que se mantuvieron en VIT por un tiempo menor a 5 años [85]. Estas características han demostrado ser más predictivas que cualquier parámetro inmunológico.

Las recomendaciones propuestas por la Academia Americana de Alergia, Asma e Inmunología [39] para discontinuar la VIT son:

- La negativización del test cutáneo es uno de los criterios de suspensión.
- Pacientes con cuadros leves o moderados antes del inicio de la VIT pueden discontinuarla luego de 3-5 años de tratamiento.
- En pacientes con reacciones severas (hipotensión, edema laríngeo, broncoespasmo) puede aconsejarse una prolongación de la terapia e incluso que ésta sea de duración indefinida.

Uso de antihistamínicos pretratamiento

Se ha informado que el uso de antihistamínicos pretratamiento juega un rol importante en el incremento de la eficacia clínica de la VIT [79], con reducción tanto de la frecuencia como de la severidad de las reacciones locales y disminución del número de fallas de tratamiento asociadas a las reacciones inducidas por la VIT [86]; pero estos beneficios se registraron exclusivamente durante la fase de inducción de la VIT [86].

Muller y cols. [87] comunicaron los resultados del seguimiento a largo plazo de 47 pacientes sometidos a VIT incluidos en un estudio doble ciego, controlado por placebo, en el cual habían sido asignados a recibir, previo a la VIT, antihistamínicos o placebo. Cuarenta y un pacientes fueron picados durante la fase de mantención de la VIT (21 en el grupo placebo y 20 en el grupo activo).

Seis (29%) de los 21 pacientes pertenecientes al grupo placebo presentaron reacciones sistémicas, frente a la ausencia de manifestaciones en el grupo tratado con antihistamínicos. Aunque las reacciones fueron generalmente leves (urticaria y angioedema), esos 6 pacientes del grupo placebo estaban incompletamente protegidos.

La asociación de reacciones sistémicas y uso de antihistamínicos pre-VIT es controversial; la mayoría de los estudios no han logrado demostrar una reducción en la incidencia de este tipo de reacción.

Las investigaciones sugieren que la histamina tendría un rol inmunomodulador. Específicamente, la histamina induce la producción de IL-10 por las células dendríticas y por las células Th2 e incrementa la acción supresora del TGF- β en los LT. Todos estos efectos son mediados vía receptores de histamina tipo 2 (HR2), los cuales se expresan en alto grado en las células Th2 y suprimen la producción de IL-4 e IL-13 y la proliferación de LT. Además, es capaz de disminuir la proliferación linfocítica-mitógeno y antígeno-inducida, efecto que también sería mediado por los HR2, ya que se bloquea con el uso de antagonistas H2.

El valor de usar antagonistas H2 (ranitidina, famotidina) administrados solos o en combinación con los bloqueadores H1 no ha logrado ser corroborado [86].

Seguridad

Es generalmente bien tolerada; aproximadamente el 20% de los pacientes presentará algún tipo de reacción adversa, pero éstas son mayoritariamente leves y sólo un tercio requiere tratamiento médico [43].

La frecuencia de reacciones sistémicas durante la terapia es similar a la observada con los aeroalérgenos (3-12%), habitualmente de leve cuantía (96%), y ocurren durante la fase de ascenso [43]. Sin embargo, las reacciones locales resultan un problema de mayor frecuencia. Lo que explicaría ambos fenómenos mencionados es el consenso existente en la dosis final que se debe alcanzar; en contraposición, una reacción local similar durante una IT para inhalantes obliga muchas veces a disminuir la dosis. Las reacciones locales extensas se presentan en alrededor del 25% de los niños y el 50% de los adultos, usualmente con dosis entre 20 y 30 μ g, pero éstas no se asocian a un mayor riesgo de reacciones sistémicas posteriores [3]. Como se mencionó, el pretratamiento con antihistamínicos reduce las reacciones locales a VIT, con mantención del número de reacciones sistémicas severas [15] e incremento de su eficacia [87].

En cuanto a la VIT durante el embarazo, se han publicado algunos informes. Si bien es cierto que no se sugiere iniciar VIT durante el embarazo, Schwartz y cols. (88) publicaron un estudio de pacientes que se embarazaron durante la VIT. Un total de 22 embarazos (en 15 mujeres) fueron reportados, de los cuales 19 no presentaron problemas, hubo un aborto de primer trimestre, uno de segundo trimestre (placenta previa) y un niño con múltiples malformaciones congénitas de causa desconocida. Esta tasa no fue más alta que la encontrada en embarazos de la población normal.

Un problema creciente son los pacientes usuarios de β -bloqueadores, lo que se considera una contraindicación relativa de iniciar VIT [39]. Hasta el momento no existen datos que acrediten un mayor riesgo de reacciones sistémicas en estos pacientes, pero si éstas ocurren, los síntomas son severos y de difícil manejo [39]. Existen informes aislados de reacciones sistémicas en pacientes en tratamiento con inhibidores de la angiotensina II (IECA), sin que hasta el momento exista una evidencia convincente de esta asociación [39].

Conclusiones

La alergia al veneno de himenópteros ha servido como un excelente modelo para el estudio de los procesos alérgicos en los siglos pasados. Particularmente, durante los últimos 30 años, se han creado nuevos test diagnósticos y el tratamiento con extracto de veneno puro ha sido uno de las más exitosas en el campo de la alergia.

La VIT reduce el riesgo de reacción sistémica con compromiso vital desde el 60% a menos del 2%.

Sin embargo, aún quedan preguntas por resolver y en las cuales se sigue trabajando arduamente, entre ellas el desarrollo de test diagnósticos más sensibles, que puedan predecir el riesgo de futuras reacciones sistémicas, así como definir cuándo y en quiénes es posible cesar la VIT y en quiénes lo anterior no es recomendable.

Bibliografía

- Peláez A, Alonso E. Alergia a venenos de himenópteros. En: Roberto Pelta y Mar Gandolfo, Guía de alergia para residentes y atención primaria. Madrid: Ediciones Díaz de Santos S.A.; 2001. Capítulo 14, pp. 207-223.
- Gruchalla R. Immunotherapy in allergy to insect sting in children. *N Engl J Med* 2004;351:707-709.
- Graft D. Insect sting allergy. *Med Clin N Am* 2006;90:211-232.
- Biló B, Rueff F, Mosbech H, Bonifazi F, Oude-Elberlink J. Diagnosis of hymenoptera venom allergy. *Allergy* 2005;60:1339-1349.
- Mosbech H. Death caused by wasp and bee stings in Denmark 1960-1980. *Allergy* 1983;38:195-200.
- Sasvari T, Muller U. Fatalities from insect stings in Switzerland 1978 to 1987. *Schweiz Med Wochenschr* 1994;124:1887-1894.
- Incorvaia C, Mauro M, Pastorello EA. Hymenoptera stings in conscripts. *Allergy* 1997;52:680-681.
- Grigoreas Ch, Galatas ID, Kiamouris Ch, Papaioannou D. Insect venom allergy in Greek adults. *Allergy* 1997;52:51-57.
- Fernández J, Blanca M, Soriano J, Sánchez J, Juárez C. Epidemiological study of the prevalence of allergic reactions to Hymenoptera in a rural population in the Mediterranean area. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1069-1074.
- Novembre E, Cianferoni A, Bernardini RA, Ingargiola A, Lombardi E, Vierucci A. Epidemiology of insect venom sensitivity in children and its correlation to clinical and atopic features. *Clin Exp Allergy* 1998;28:834-838.
- de la Torre-Morin F, García-Robaina JC, Vázquez-Moncholi C, Fierro J, Bonnet-Moreno C. Epidemiology of allergic reactions in beekeepers: a lower prevalence in subjects with more than 5 years exposure. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1995;23:127-132.
- Annila IT, Karjalainen ES, Annila PA, et al. Bee and wasp sting reactions in current beekeepers. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996;77:423-427.
- Lockey R, Turkelstaub P, Baird-Warren I, et al. The hymenoptera venom study I, 1979-1982: demographics and history data. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:370-381.
- Chinery M. A field guide to the insects of Britain and Northern Europe. London, UK: William Collins Sons & Co. Ltd.; 1984.
- Schwartz HJ, Sutheimer C, Gauerke MB, Yunginger JW. Hymenoptera venom-specific IgE antibodies in post-mortem sera from victims of sudden, unexpected death. *Clin Allergy* 1988;18:461-468.
- Armisen M, Vidal C, López-Carballoa C, Purriñosa M, Fernández-Ovide E, Piñeiro J. Alergia a veneno de himenópteros: epidemiología del área sanitaria de Santiago de Compostela. *Alergol Inmunol Clin* 2001;16:213-216.
- King TP, Spangfort MD. Structure and biology of stinging insect venom allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123:99-106.
- Kettner A, Hughes GJ, Frutiger S, Astori M, Roggero M, Spertini F, et al. Api m 6: a new bee venom allergen. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:914-920.
- Freeman T. Hypersensitivity to hymenoptera stings. *NEJM* 2004;351:1978-1984.
- Birnbaum J, Vervloet D. Allergie aux piqûres d'hyménoptères. En: Vervloet D, Magnan A. *Traité d'allergologie*. Paris: Edit Flammarion; 2003. Cap 60, pp. 867-884.
- Muller U. Recombinant venom allergens. *Allergy* 2002;57:570-576.
- Owen MD, Pfaff LA, Reisman RE, Wypych J. Phospholipase A2 in venom extracts from honey bees (*Apis mellifera* L.) of different ages. *Toxicol* 1990;28:813-820.
- Habermann E. Bee and wasp venoms. *Science* 1972;177:314-322.
- Markovic-Housley Z, Miglierini G, Soldatova L, Rizkallah PJ, Muller U, Schirmer T. Crystal structure of hyaluronidase, a major allergen of bee venom. *Structure Fold Des* 2000;15:1025-1035.
- King TP, Alagon AC, Kuan J, Sobotka AF, Lichtenstein LM. Immunological studies of yellow jacket venom proteins. *Mol Immunol* 1983;20:297-308.
- Henriksen A, King TP, Mirza O, Monsalve RI, Meno K, Ipsen H, et al. Major venom allergen of yellow jackets, Ves v 5: structural characterization of a pathogenesis-related protein superfamily. *Proteins* 2001;45:438-448.
- Venegas O. Hipersensibilidad a venenos de himenópteros. En: M Antonieta Guzmán. *Alergias, Guía clínica*. Editorial Mediterráneo; 2004. Cap 9, pp. 165-174.
- Jorro Martínez G, Brasó Aznar JV. Alergia al veneno de himenópteros. En: *Manual de Alergia Clínica*. Editorial Masson; 2003. Cap 32, pp. 521-531.
- Hemmer W, Focke M, Kolarich D, Wilson IB, Altmann F, Wohrl S, et al. Antibody binding to venom carbohydrates is a frequent cause for double positivity to honeybee and yellow jacket venom in patients with stinging-insect allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:1045-1052.
- Nelson DR, Collins AM, Hellmich RL, Jones RT, Helm RM, Squillace DL, et al. Biochemical and immunochemical comparison of Africanized and European honeybee venoms. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:80-85.
- Schumacher MJ, Schmidt JO, Egen NB, Lowry JE. Quantity, analysis, and lethality of European and Africanized honey bee venoms. *Am J Trop Med Hyg* 1990;43:79-86.
- Hoffman DR, Jacobson RS. Allergens in Hymenoptera venom: XXVII. Bumblebee venom allergy and allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:812-821.
- Stapel SO, Waanders-Lijster Raadt de J, van Toorenenbergen AW, de Groot H. Allergy to bumblebee venom: II. IgE cross-reactivity between bumblebee and honeybee venom. *Allergy* 1998;53:769-777.
- Bucher C, Korner P, Wüthrich B. Allergy to bumblebee venom. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:361-365.
- Hoffman DR. Allergens in Hymenoptera venom: XXV. The amino acid sequences of antigen 5 molecules and the structural basis of antigenic cross-reactivity. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:707-716.
- King TP, Lu G, Gonzales M, Qian N, Soldatova L. Yellow jacket venom allergens, hyaluronidase and phospholipase. Sequence similarity and antigenic cross-reactivity with hornet and wasp homologs and possible implications for clinical allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:588-600.
- Panzani R, Blanca M, Sanchez F, Juarez C. Sensitivity to European wasps in a group of allergic patients in Marseille: preliminary results. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1994;4:42-46.
- Pantera B, Hoffman DR, Carresi L, Cappugi G, Turillazzi S, Manao G, et al. Characterization of the major allergens purified from the venom of the paper wasp *Polistes gallicus*. *Biochim Biophys Acta* 2003;1623:72-81.
- Golden D. Insect sting allergy and venom immunotherapy: A model and a mystery. *JACI* 2005;115:439-447.

40. Johansson SGO, Hourihane JO, Bousquet J, Bruijnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, et al. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy* 2001; 56:813-824.
41. Ellis A, Day J. Clinical reactivity to insect stings. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5:349-354.
42. Moffitt JE, Golden DBK, Reisman RE, et al. Stinging insect hypersensitivity: a practice parameter update. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:869-886.
43. Rueff F, Przybilla B. Venom immunotherapy: adverse reactions and treatment failure. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004; 4: 307-11.
44. Muller UR. Insect sting allergy. Stuttgart, Germany: Gustav Fischer, 1990.
45. Mueller HL. Diagnosis and treatment of insect sensitivity. *J Asthma Res* 1966;3:331-333.
46. Ring J, Messmer K. Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *Lancet* 1977;1(8009):466-469.
47. Ellis AK, Day JH. Diagnosis and management of anaphylaxis. *CMAJ* 2003;169:307-312.
48. Solley GO. Stinging and biting insect allergy: an Australian experience. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004;93:532-537.
49. Stark BJ, Sullivan TJ. Biphasic and protracted anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1986;78:76-83.
50. Ellis AK, Day JH. A prospective evaluation of 103 patients with biphasic anaphylaxis [abstract 935]. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:S259.
51. Reisman R. Unusual reactions to insect stings. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5:355-358.
52. Pucci S, Antonicelli L, Bilo MB, Garritani MS, Bonifazi F. The short interval between two stings as a risk factor for developing Hymenoptera venom allergy. *Allergy* 1994;49:894-896.
53. Golden DBK, Marsh DG, Freidhoff LR, Kwitrovich KA, Addison B, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Natural history of Hymenoptera venom sensitivity in adults. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:760-766.
54. Annala IT, Annala PA, Morsky P. Risk assessment in determining systemic reactivity to honeybee stings in beekeepers. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997;78:473-477.
55. Valentine MD, Schuberth KC, Kagey-Sobotka A, Graft DF, Kwitrovich KA, Szklo M, Lichtenstein LM. The value of immunotherapy with venom in children with allergy to insect stings. *N Engl J Med* 1990;323:1601.
56. Engel T, Heinig JH, Weeke ER. Prognosis of patients reacting with urticaria to insect sting. Results of an in-hospital sting challenge. *Allergy* 1988; 43:289-293.
57. Reisman RE. Natural history of insect sting allergy: relationship of severity of symptoms of initial sting anaphylaxis to re-sting reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:335-339.
58. Chipps BE, Valentine MD, Kagey-Sobotka A, Schuberth KC, Lichtenstein LM. Diagnosis and treatment of anaphylactic reactions to Hymenoptera stings in children. *J Pediatr* 1980;97:177-184.
59. Lockey RF, Turkeltaub PC, Baird-Warren IA, Olive CA, Olive ES, Peppe BC, et al. The Hymenoptera venom study I, 1979-1982: demographics and history-sting data. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:370-381.
60. Lantner R, Reisman RE. Clinical and immunologic features and subsequent course of patients with severe insect sting anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:900-906.
61. Franken HH, Dubois AE, Minkema HJ, van der Heide S, de Monchy JG. Lack of reproducibility of a single negative sting challenge response in the assessment of anaphylactic risk in patients with suspected yellow jacket hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:431-436.
62. Dubois A. Mastocytosis and hymenoptera allergy. *Curr Opin Allergy Immunol* 2004;4:291-295.
63. Goldberg A, Confino-Cohen R. Timing of venom skin tests and IgE determinations after insect sting anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100:182-184.
64. Rueff F, Werfel S, Przybilla B. Change of the serum concentration of Hymenoptera venom-specific IgE antibodies after a systemic sting reaction - a possible diagnostic tool? *Allergy* 2003;58(Suppl. 74):99 [abstract].
65. Annala I, Hurme M, Miettinen A, Kuusisto P, Nieminen MM. Lymphocyte subpopulations, cytokine release and specific immunoglobulin G in reactive and nonreactive beekeepers. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1998;8:109-114.
66. Ludolph-Hauser D, Rueff F, Fries C, Schopf P, Przybilla B. Constitutively raised serum concentrations of mast-cell tryptase and severe anaphylactic reactions to Hymenoptera stings. *Lancet* 2001;357:361-362.
67. Dubois AE. Investigational and clinical use of the sting challenge. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:283-285.
68. Hamilton R. Diagnostic methods for insect sting allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004;4:297-306.
69. Golden D, Kagey-Sobotka A, Norman P, Hamilton R, Lichtenstein L. Insect sting allergy with negative venom skin test responses. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:897-901.
70. Lambert C, Guilloux L, Dzvinga C, et al. Flow cytometry versus histamine release analysis of in vitro basophil degranulation in allergy to Hymenoptera venom. *Cytometry* 2003;52B:13-19.
71. Binder M, Fierlbeck G, King TP, et al. Individual hymenoptera venom components induce up regulation of the basophil activation marker ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 (CD203c) in sensitized patients. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:160-168.
72. Platz IJ, Binder M, Marxer A, et al. Hymenoptera venom induced upregulation of the basophil activation marker ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 in sensitized individuals. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;126:335-342.
73. Eberlein-Konig B, Varga R, Mempel M, Darsow U, Behrendt H, Ring J. Comparison of basophil activation tests using CD63 or CD203c expression in patients with insect venom allergy. *Allergy* 2006;61:1084-1085.
74. Hunt V, Sobotka A. Diagnosis of allergy to stinging insects by skin testing with hymenoptera venoms. *Ann Intern Med* 1976;85:56-59.
75. Graft D. Never say never: exchange of comments on negative VST responses. *JACI* 2001;108:875-876.
76. Ewan P. Mew insight into immunological mechanism of venom immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:367-374.
77. Jutel M, Akdis M, Blaser K, Akdis C. Are regulatory T cells the target of venom immunotherapy? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5:365-369.
78. Amsen D, Blander JM, Lee GR, et al. Instruction of distinct CD4 T helper cell fates by different notch ligands on antigen-presenting cells. *Cell* 2004; 117:515-526.
79. Akdis CA, Blesken T, Akdis M, et al. Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998;102:98-106.
80. McHugh SM, Deighton J, Stewart AG, et al. Bee venom immunotherapy induces a shift in cytokine responses from a TH-2 to a TH-1 dominant pattern: comparison of rush and conventional immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1995;25:828-838.
81. Smits HH, van Rietschoten JGI, Hilken CMU, et al. IL-12 induced reversal of human TH2 cells is accompanied by full restoration of IL-12 responsiveness and loss of GATA-3 expression. *Eur J Immunol* 2001; 31:1055-1065.
82. Birnbaum J, Charpin D, Vervloet D. Rapid Hymenoptera venom immunotherapy: comparative safety of three protocols. *Clin Exp Allergy* 1993;23:226-230.
83. Bernstein JA, Kagan SL, Bernstein DI, Bernstein IL. Rapid venom immunotherapy is safe for routine use in the treatment of patients with Hymenoptera anaphylaxis. *Ann Allergy* 1994;73:423-428.
84. Graft DF, Golden DBK, Reisman RE, Valentine MD, Yunginger JW. The discontinuation of Hymenoptera venom immunotherapy. Report from the Committee on Insects of the American Academy of Allergy Asthma and Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:573-575.
85. Golden DBK, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Survey of patients after discontinuing venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105: 385-390.
86. Scribner T, Bernstein D. Rapid venom immunotherapy update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:295-298.
87. Muller U, Hari Y, Berchtold E. Premedication with antihistamines may enhance efficacy of specific-allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:81-86.
88. Schwartz H, Golden D, Lockey R. Venom immunotherapy in the hymenoptera-allergic pregnant patient. *JACI* 1990;85:709-712.
89. Graft D. Immunotherapy during pregnancy. *Allergy Proc* 1988; 9: 563-565.