

USC

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

TESIS DOCTORAL

**EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA INMUNOTERAPIA ESPECÍFICA EN
PACIENTES ALÉRGICOS AL VENENO DE HIMENÓPTEROS. INFLUENCIA
DEL TRATAMIENTO EN LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA AL VENENO Y A
SUS COMPONENTES MOLECULARES ALERGÉNICOS.**

FRANCISCO JAVIER CARBALLADA GONZÁLEZ
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

2011

ISBN 978-84-9887-728-1 (Edición digital PDF)

D. Manuel Boquete Paris, Doctor en Medicina y Especialista en Pediatría y Alergología, Jefe de Sección de Alergia del Hospital Universitario Lucus Augusti de Lugo y

D. Arturo González Quintela, Doctor en Medicina, Profesor Titular de la Facultad de Medicina de Santiago de Compostela, Especialista en Medicina Interna y Jefe de Sección de Medicina Interna del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago

HACEMOS CONSTAR

Que D. Francisco Javier Carballada González ha realizado bajo nuestra supervisión el presente trabajo: “Eficacia y seguridad de la inmunoterapia específica en pacientes alérgicos al veneno de himenópteros. Influencia del tratamiento en la respuesta inmunológica al veneno y a sus componentes moleculares alergénicos”.

Revisado el mismo, manifestamos nuestra conformidad para su presentación como Tesis para optar el grado de Doctor.

Lugo a 30 de diciembre de 2010

Fdo: Prof. M. Boquete Paris Fdo: Prof. A. González-Quintela

A mis padres María y Alfonso que me lo han dado todo.

A mi mujer Isabel y a mis hijos Alfonso e Isabel.

AGRADECIMIENTOS

A mi Director de tesis Doctor Manuel Boquete por haber iniciado el registro de estos pacientes y transmitir su entusiasmo por esta patología. A lo largo de estos años considero un privilegio, por su compañerismo y amistad, el haber trabajado a su lado, haciendo que el trabajo día a día se aleje de la rutina, encontrando siempre en la actividad diaria aspectos de interés y de estímulo profesional.

A mi Co-Director de tesis, Doctor Arturo González-Quintela por su inestimable apoyo, ayuda, amistad, por su disponibilidad y el ánimo facilitado para completar este estudio.

Al Doctor Manuel Lombardero y Dr Fernando de la Torre del laboratorio ALK-ABELLÓ, por su colaboración y asesoramiento en los estudios “in vitro” y en el tratamiento estadístico de los resultados y por su buena disposición para desarrollar las ideas que surgían en la elaboración de este estudio.

A todo el personal que a lo largo de estos años han pasado por la Unidad de Alergia: médicos, enfermeras y auxiliares, que con su inestimable colaboración han permitido que pudiera realizar este trabajo.

INDICE	Pág.
1. Preámbulo	8
Lista de abreviaturas	12
2. Introducción	13
2.1. Himenópteros	13
2.1.1. Morfología y Clasificación entomológica	13
2.1.2. Distribución de vespídos en Galicia.....	14
2.1.3. Veneno de los himenópteros: características y composición.	
Principales alérgenos. Reactividad cruzada	17
2.2. Enfermedad Alérgica por Veneno de Himenópteros (AVH)	18
2.2.1. Prevalencia e Incidencia. Mortalidad.....	18
2.2.2. Presentación clínica.....	19
2.2.3. Mecanismo de la AVH	21
2.2.4. Historia natural de la AVH	23
2.2.5. Factores de Riesgo	24
2.2.6. Diagnóstico	26
2.2.6.1. Historia clínica	26
2.2.6.2. Determinaciones In vivo	27
2.2.6.3. Determinaciones In vitro.....	28
2.2.6.4. Reactividad cruzada con carbohidratos y alcohol	29
2.2.7. Tratamiento	30
2.2.7.1. Medidas de prevención.	30
2.2.7.2. Tratamiento de urgencia.....	30
2.2.7.3. Tratamiento de fondo: Inmunoterapia	31

2.3. Inmunoterapia con veneno de Himenópteros (ITV)	31
2.3.1. Concepto de inmunoterapia.....	31
2.3.2. Evolución histórica.....	32
2.3.3. Mecanismo de acción de la ITV.....	33
2.3.4. Indicaciones de la ITV	34
2.3.5. Vías de administración de la ITV	34
2.3.6. Pautas de administración de la ITV por vía subcutánea	35
2.3.7. Seguridad de la ITV	36
2.3.8. Eficacia de la ITV.....	37
3. Objetivos	39
4. Material y Métodos	40
4.1. Diseño del estudio	40
4.2. Inclusión de pacientes	40
4.3. Métodos diagnósticos	41
4.4. Tratamiento	44
4.5. Evaluación de la respuesta	46
4.6. Análisis estadístico	47
5. Resultados	48
5.1. Características de la muestra	48
5.2. Historia natural de los pacientes.....	49
5.3. Tolerancia del tratamiento	50
5.4. Evolución pruebas cutáneas.....	57
5.5. Evolución de la IgE a extracto completo.....	59
5.6. Evolución IgE a alérgenos principales de <i>Apis</i> y <i>Vespula</i>	60

5.6.1. Pacientes en tratamiento con extracto de <i>Apis mellifera</i>	62
5.6.2. Pacientes en tratamiento con extracto de <i>Vespula</i>	63
5.7. Eficacia clínica	63
5.7.1. <i>Apis mellifera</i>	64
5.7.2. <i>Vespula spp</i>	67
6. Discusión	71
7. Conclusiones	78
8. Referencias	79
ANEXO I: Estructura de la base de datos	91
ANEXO II: Publicaciones del autor derivadas de los datos de la presente	
Tesis Doctoral	93

1. PREÁMBULO

La alergia a veneno de himenópteros (AVH) es una de las enfermedades menos conocidas fuera del ámbito alergológico. En Junio de 1995 se realizó en Oviedo un Congreso de Medicina de Urgencias. En una encuesta realizada a los médicos de esta especialidad, tan solo el 40% de los encuestados (sobre un total de 147) aconsejaban a los pacientes atendidos en Urgencias, tras una reacción severa por picadura de himenóptero que acudieran al alergólogo (1). Solo un 37% de los pacientes eran remitidos al especialista y, sorprendentemente, el 74% de los encuestados desconocían el tratamiento de estas reacciones mediante inmunoterapia específica con venenos (VIT), cuando estamos hablando de un tratamiento que protege prácticamente a la totalidad de los pacientes afectados.

Los himenópteros constituyen uno de los mayores órdenes de insectos, con cerca de 200.000 especies. El nombre proviene de sus alas membranosas (del griego *hymen*, "membrana" y *pteros*, "ala"). Se trata de insectos que, en general, aportan beneficios socioeconómicos: primero porque incluyen a un gran número de especies que se alimentan de otros insectos y que sirven de control de plagas; segundo, porque incluyen a los polinizadores más importantes y tercero porque, en muchas zonas, como el área sanitaria del Hospital Xeral de Calde, la apicultura es una actividad de importancia económica. Algunos de estos himenópteros (Aculeatae) contienen un aguijón unido a glándulas venenosas. Este veneno es usado por el insecto para paralizar a sus víctimas. En el caso de las especies sociales, como son los ápidos y véspidos, éstas comparten hábitat con el hombre y solo pican a éste como mecanismo de defensa en caso de sentirse atacadas. La sensibilización al veneno de estos insectos suele ocurrir tras varias picaduras y la reacción que producen puede ir desde una simple reacción local hasta

una reacción anafiláctica con el consiguiente riesgo de muerte. Desde el punto de vista histórico, la primera muerte registrada por la picadura de uno de estos insectos figura en un jeroglífico en la tumba del faraón Menes.

Como ya se ha mencionado, la picadura de estos insectos puede provocar una reacción anafiláctica. Por ello, aunque su prevalencia no es demasiado alta, su potencial gravedad hace que resulte de gran importancia el poder llevar a cabo un estudio alergológico, en pacientes presumiblemente alérgicos al veneno de estos insectos. En Galicia, un número amplio de sus habitantes tienen la apicultura y viticultura como afición o como una fuente de ingresos complementaria. Como consecuencia, tienen la amenaza de problemas graves por picadura. Para la Unidad de Alergia ha sido siempre una prioridad el poder establecer un control de estos pacientes, tanto diagnóstico como terapéutico. Este control debería abarcar no solo el periodo de tratamiento, sino el seguimiento posterior de estos pacientes, ya que se considera que el método más eficaz para valorar si el paciente está curado o no es conocer que reacción ha sufrido ante sucesivas picaduras. De acuerdo a las guías internacionales, la indicación de inmunoterapia específica con veneno de himenópteros es para aquellos pacientes que sufran una reacción anafiláctica. Así, si un paciente es picado de nuevo por un himenóptero cuando ha finalizado el tratamiento y la reacción que sufre es una simple reacción local, se puede afirmar que el paciente está curado. Lo que no está perfectamente delimitado es cuanto tiempo dura el efecto protector de la inmunoterapia; responder a ello, implica la adopción de un sistema que garantice el registro de estos eventos para, de acuerdo al tipo de reacción que sufra el paciente, poder adoptar las medidas terapéuticas adecuadas.

Con los objetivos anteriores, en la Unidad de Alergia se desarrolló una sencilla base de datos, diseñada en Access, donde se fueron incluyendo a todos aquellos pacientes que,

una vez confirmado el diagnóstico de AVH, se les iniciaba el tratamiento con inmunoterapia. En esta base de datos (ver Anexo I) se incluían aquellos campos que identificaban los principales factores de riesgo de estos pacientes (edad, sexo, hábitat, reacción a picaduras previas si las hubo, insecto responsable de la picadura que motivó su estudio alergológico, si el paciente es apicultor o está relacionado con esta actividad), diagnóstico (pruebas cutáneas por intradermo-reacción, IgE a extracto completo por el método CAP de Phadia), tratamiento (fecha de inicio y finalización, dosis de mantenimiento, tolerancia) y monitorización (si el paciente fue repicado, en que fecha y que tipo de reacción sufrió, además de determinaciones periódicas de IgE y pruebas cutáneas). En la actualidad, en esta base de datos se han incluido más de 600 pacientes con AVH.

Además, existía la inquietud de saber si los métodos convencionales de diagnóstico y seguimiento de estos pacientes, antes descritos y aceptados hasta ahora por los documentos de consenso y guías de actuación existentes, eran suficientes o no. Al mismo tiempo que se iba avanzando en el desarrollo de la base de datos anterior, mediante la inclusión de más pacientes, surgían nuevas cuestiones: si al adoptar métodos de diagnóstico más precisos se podría mejorar la calidad asistencial, si tendría implicaciones desde un punto de vista coste-beneficio y si habría implicaciones prácticas para los pacientes.

A este respecto, en los últimos años han aparecido diferentes artículos en los que se describe una nueva técnica diagnóstica en alergia: el diagnóstico por componentes moleculares, es decir, la determinación de IgE a cada uno de los alérgenos individuales causantes del desencadenamiento de la reacción alérgica. Se trata de una nueva técnica que incrementa la sensibilidad y especificidad diagnóstica, ya que no analizamos la

aparición de anticuerpos frente a un extracto completo, sino que valoramos la respuesta IgE a cada componente alérgico individual del extracto. Desde hace 3 años, en una serie de pacientes incluidos en la base de datos se les realiza este tipo de técnica mediante determinación de IgE a los alérgenos principales del veneno de abeja y avispa (Api m 1 y Api m 2, Ves v 1, Ves v 2, Ves v 5, Pol d 1, Pol d 5). Esto permite un diagnóstico más preciso y, como consecuencia de ello, poder establecer el tratamiento etiológico más adecuado para proteger al paciente de sufrir una anafilaxia ante futuras picaduras.

El objetivo inicial de esta tesis doctoral fue valorar la eficacia de la ITV, en los pacientes de nuestra área, mediante el control de la intensidad de la reacción en aquellos pacientes que sufrieran repicaduras espontáneas , no sólo durante el tratamiento sino posteriormente, y en base a esto, establecer la seguridad de la pauta de ITV seguida y la duración de la protección una vez finalizado el tratamiento. Adicionalmente, estudiar la modificación de la respuesta inmunológica de la ITV mediante la prueba cutánea y la determinación de IgE al extracto de veneno. Este objetivo inicial se complementó al estudiar si esta nueva técnica de diagnóstico por componentes era más adecuada que las técnicas convencionales para poder efectuar, no solo un diagnóstico más preciso, sino una monitorización de los pacientes más completa.

LISTA DE ABREVIATURAS

APC: Células presentadoras de antígeno

AVH: Alergia al Veneno de Himenópteros

CCD: Determinante carbohidratado del componente

CD: Células dendríticas

EAACI: Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica

ID: Intradérmica (prueba cutánea)

GRL: Gran Reacción Local

IgE: Inmunoglobulina E

IgG: Inmunoglobulina G

IL: Interleuquinas o Citoquinas

ITV: Inmunoterapia con veneno de himenópteros

kU: kilounidades

mPEG: Metoxipolietilenglicol

PRL: Pequeña Reacción Local

RAST: Acrónimo que corresponde a la técnica, en inglés, radioalergosorbent test

RL: Reacción Local

RS: Reacción Sistémica

SQ: Standard Quality Units

µg: microgramos

2. INTRODUCCIÓN

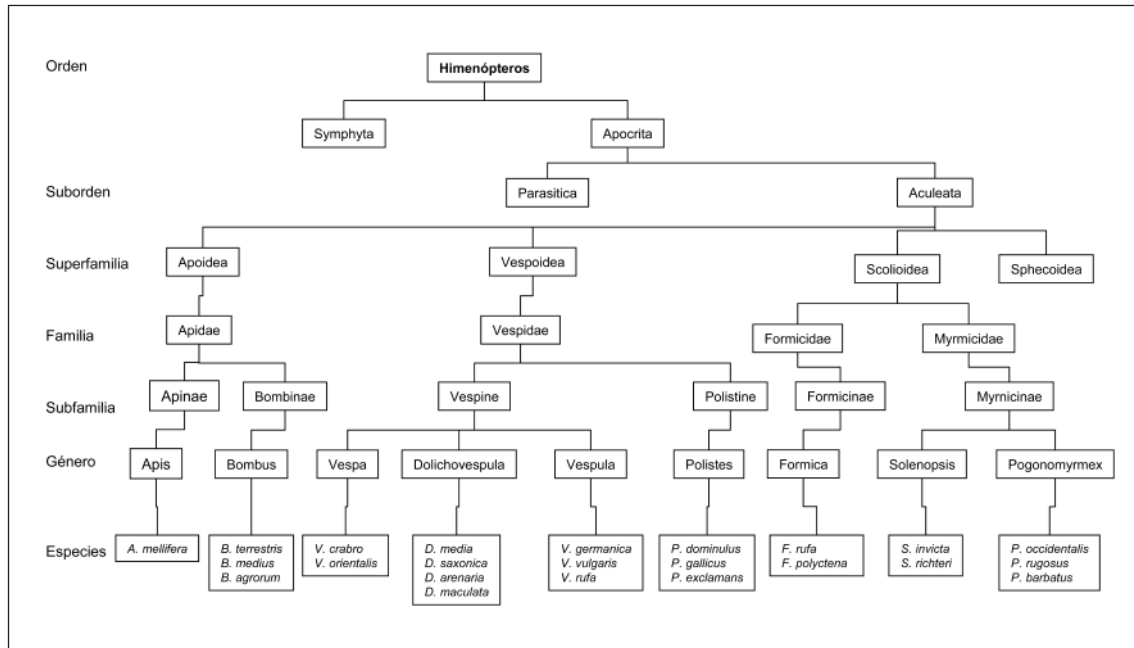
2.1. Himenópteros

2.1.1. Morfología y Clasificación entomológica

El orden de los himenópteros pertenece al subfilo de los insectos, filo de los artrópodos. Son insectos picadores que se caracterizan por el estrechamiento localizado en el segundo segmento abdominal. La cabeza consta de 6 segmentos, 2 ojos compuestos, 3 *ocelli* y un par de antenas. El tórax se compone de 3 segmentos cada uno con un par de patas. Estas, además de cómo método de locomoción, son útiles para la recolección y transporte de polen. El abdomen se compone de 13 segmentos, con un característico estrechamiento en el segundo. Al final del abdomen se encuentra el aguijón por donde inyectan el veneno. Las abejas suelen picar una vez, inyectando en cada picadura unos $50 \pm 7 \mu\text{g}$ de veneno. Al tratar de retirar el aguijón arrastran con él el aparato digestivo, por lo que muchas veces mueren tras la picadura. Por el contrario, las avispas inyectan una cantidad menor de veneno (1,7 a $5 \mu\text{g}$ de veneno) pero pueden picar repetidas veces (2).

La clasificación taxonómica de los himenópteros se puede ver en la Figura 1. En España, las especies más comunes y de mayor interés alergológico son, dentro del género *Apis*, la *Apis mellifera* o abeja de la miel. El género *Bombus* va adquiriendo cada vez mayor importancia por su uso como vector de polinización en los cultivos de invernadero. Dentro del género *Vespula* las especies más comunes son la *V. germanica* y la *V. vulgaris* (3). En el género *Polistinae* la especie más común en nuestro medio es *P. dominula* (4).

Figura 1: Clasificación taxonómica de los himenópteros



2.1.2. Distribución de véspidos en Galicia

De acuerdo a datos obtenidos del Anuario de Estadística Agroalimentaria y Pesquera del año 2007 (Mº de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino) (5) Galicia ocupa el sexto lugar en número de colmenas entre las Comunidades Autónomas de España, con un total de 92.696 colmenas (113.127 en al 2006), ocupando Lugo la primera posición entre las 4 provincias gallegas con un total de 32.627 colmenas. Esto da una idea de la importancia que esta actividad tiene en nuestra Comunidad, además si a ello le unimos que Galicia es la sexta Comunidad de España con mayor porcentaje de habitantes (33.15%) en municipios menores de 10.000 habitantes (INE, Padrón Municipal de Habitantes, 2005) (6), indica la importancia de estos insectos en nuestro entorno y, por ende, la importancia que desde un punto de vista alergológico tiene en el sistema de salud.

A continuación, extraído de la página web de la Asociación Entomológica Galega, AEGA, se expone el mapa de distribución de véspidos en Galicia (7)

-  *Alastor atropos* Lepeletier 1841
Dusmet (1909)
-  *Allodynerus floricola* (Saussure 1853)
Dusmet (1909)
-  *Allodynerus rossii* (Lepeletier 1841)
Dusmet (1909)
-  *Ancistrocerus longispinosus* (Saussure 1855)
Eiroa & Novoa (1985)
-  *Ancistrocerus reconditus* Gusenleitner 1983
Gusenleitner (1985), Castro (1989)
-  *Dolichovespula sylvestris* (Scopoli 1763)
Dusmet (1951); Madero (1988)
-  *Eumenes* sp.
López Seoane (1866); Medina (1894)
-  *Eumenes coarctatus* (Linnaeus 1758)
Eiroa & Novoa (1985)
-  *Euodynerus* sp
Dusmet (1909)
-  *Gymnomerus laevipes* (Shuckard 1837)
Dusmet (1909)
-  *Parodontodynerus ephippium* (Klug 1817) Dusmet (1909)
NOTA: Especie citada como *Odynerus dubius* en Dusmet (1909)
-  *Polistes* sp.
López Seoane (1866); Dusmet (1903); Dusmet (1951)
-  *Polistes dominulus* (Christ 1791) Eiroa & Novoa (1985); Madero (1988)
NOTA: Especie citada en Eiroa & Novoa (1985) como *Polistes gallicus* (L. 1767).

	<i>Polistes nimpha</i> (Christ 1791) Eiroa & Novoa (1985)
	<i>Polistes semenowi</i> Morawitz 1889 Dusmet (1951)
	<i>Pseudepipona herrichii</i> (Saussure 1856) Dusmet (1909)
	<i>Symmorphus bifasciatus</i> (Linnaeus 1761) Dusmet (1909) NOTA: Especie citada como <i>Odynerus sinuatus</i> en Dusmet (1909).
	<i>Symmorphus crassicornis</i> (Panzer 1798) Dusmet (1909)
	<i>Syneudomynerus egregius</i> (Herrich-Schaeffer 1839) Dusmet (1909)
	<i>Vespa crabro</i> Linnaeus 1758 López Seoane (1866); Dusmet (1951); Eiroa & Novoa (1985); Madero (1988)
	<i>Vespula germanica</i> (Fabricius 1793) Eiroa & Novoa (1985); Madero (1988)
	<i>Vespula rufa</i> (Linnaeus 1758) Medina (1894a)
	<i>Vespula vulgaris</i> (Linnaeus 1758) López Seoane (1866); Eiroa & Novoa (1985); Madero (1988)

En una encuesta epidemiológica realizada en España sobre un total de 4828 pacientes alérgicos (8), 76 fueron diagnosticados de AVH. Esto representa un 1.54%, frente 0.7% que se obtuvo en una encuesta similar realizada en 1992. De estos 76 pacientes, Galicia era la segunda comunidad con mayor porcentaje de pacientes (15.8%).

2.1.3. Veneno de los himenópteros: características y composición. Principales alérgenos. Reactividad cruzada.

En las décadas de los 70 y 80 se publicaron diferentes trabajos en los que se identificaba la composición de los venenos de los himenópteros, Apidae y Vespidae (2, 9-14). El veneno más estudiado es el de abeja, que tiene 3 tipos de componentes:

- Sustancias de bajo peso molecular (aminas biógenas, aminoácidos, azúcares, oligopéptidos). Estas sustancias representan el 20-25% del peso seco del veneno.
- Péptidos (melitina, apamina, quinina) Estas sustancias representan el 50-60% del peso seco del veneno. Destaca por su importancia la melitina, ya que por sí sola representa un 50% del peso total.
- Proteínas (fosfolipasa A₂, hialuronidasa) Representan el 15-30% del peso seco. La fosfolipasa A₂ es una glicoproteína de 128 aminoácidos que representa el 12-15% del peso seco total.

A continuación (Tabla 1) se describe la composición alérgica del veneno de los himenópteros (15).

Tabla 1: Alergenos del veneno de himenópteros (15)

Especie	Alérgeno	Peso mol (kD)	Función
Abeja (<i>Apis mellifera</i>)	Api m 1	16	Fosfolipasa A ₂ (alérgeno principal)
	Api m 2	39	Hialuronidasa
	Api m 3	43	Fosfatasa ácida
	Api m 4	3	Melitina
	Api m 5	100	Dipeptidil peptidasa IV
	Api m 6	8	Desconocida
	Api m 7	39	Serín proteasa
	Api m 8	70	Carboxil esterasa
	Api m 9	60	Serín carboxipeptidasa
	Api m 10	50-55	Variante 2 icaparina
Véspidos (<i>Dolichovespula sp.</i> , <i>Vespa sp.</i> , <i>Vespula sp.</i> , <i>Polistes sp.</i>)	Grupo 1	34	Fosfolipasa A ₁ B
	Grupo 2	38	Hialuronidasa
	Grupo 3	100	Dipeptidil peptidasa IV
	Grupo 4	32-34	Serín-proteasa
	Grupo 5	23	Antígeno 5 (alérgeno principal)

Para finalizar el presente capítulo, se exponen algunos datos sobre la **reactividad cruzada** de los venenos de himenópteros. Es un tema de importante trascendencia clínica. Resulta esencial para el correcto tratamiento de un paciente el poder diferenciar si positivities a distintos venenos se deben a un fenómeno de reactividad cruzada o a una sensibilización primaria. En líneas generales, se puede afirmar que entre véspidos y abejas la reactividad cruzada es escasa y que, cuando ésta aparece, parece ser debida bien a la hialuronidasa (16) o bien, como más recientemente se ha postulado, a los carbohidratos presentes en alérgenos de ambas especies (17). Sí se ha encontrado una alta reactividad cruzada entre los venenos de *Vespula*, *Vespa* y *Dolichovespula* (18-19). Sin embargo, la reactividad cruzada entre *Polistes* y *Vespula* es baja (20), siendo solo parcial entre las especies americanas y europeas de *Polistes* (21), pero sí hay una fuerte reactividad entre las especies europeas de *Polistes* (*gallicus* y *dominula*) (22).

2.2. Enfermedad Alérgica por Veneno de Himenópteros (AVH)

2.2.1. Prevalencia e incidencia. Mortalidad

Las cifras de prevalencia de sensibilización a veneno de himenópteros varían mucho de acuerdo al método diagnóstico utilizado (prueba cutánea o IgE), de acuerdo a la metodología del estudio o a la técnica de recolección de datos (encuesta, retrospectivo...). En general, podemos afirmar que esta prevalencia, en población general, está entre el 9 y el 28% aumentando esta cifra, en el caso de los apicultores, hasta el 30-60% (en el estudio realizado en 158 apicultores de la provincia de Lugo, socios de APLA (Asociación Provincial Lucense de Apicultura), pendiente de publicación, el 65% tenían sensibilización, medida por IgE, a *Apis*). Por la misma razón, la frecuencia de reacciones locales se mueve entre el 2.4 y 26.4%, mientras que la de reacciones sistémicas lo hace entre 0.5 y el 3.3%

(23,24). En estudios realizados en España, las cifras son también muy variables. Así, en un estudio realizado en población rural el porcentaje de reacciones sistémicas fue del 2,3% en población rural mediterránea (25) y de tan solo el 0.6% en un estudio realizado entre los trabajadores de Ford en Valencia (26).

Respecto a las cifras de mortalidad, en la Tabla 2 se representan las cifras de diferentes países (24).

Tabla 2. Mortalidad por picadura de himenópteros

País	Mortalidad por 1.000.000 habitantes/año
USA	0.16
Australia	0.10
Dinamarca	0.25
Francia	0.48
Alemania	0.18
Italia	0.03
Inglaterra	0.09
Suiza	0.45

2.2.2. Presentación clínica

Las reacciones a la picadura de un himenóptero pueden ir desde una simple reacción local, pasando por una reacción local extensa hasta una reacción sistémica, presentando ésta última diferentes grados de intensidad.

Las reacciones locales son las más frecuentes. Consisten en hinchazón, dolor, prurito y enrojecimiento en la zona de la picadura. No suelen revestir gravedad alguna y, en muchos casos, se resuelven de forma espontánea en pocas horas. Como reacción local extensa entendemos aquella reacción local mayor de 10 cm de diámetro y que dura más de 24 horas. Este tipo de reacciones, dependiendo de la zona en que se produzcan pueden revestir cierta gravedad, como por ejemplo, la picadura en la región oral.

Respecto a las reacciones sistémicas, existe una clasificación de la Sociedad Española de Alergia (2) que clasifica las anafilaxias en leves (prurito generalizado, eritema, urticaria), moderadas (síntomas respiratorios leves –tos, sibilancias-, síntomas digestivos –náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal-, malestar general y angioedema con o sin síntomas cutáneos) y graves (incontinencia de esfínteres, síntomas cardiorrespiratorios graves –edema de glotis, broncoespasmo, hipotensión, cianosis, shock anafiláctico-, con o sin los síntomas incluidos en el apartado anterior). En nuestra Unidad se utiliza la clasificación (Tabla 3) que, a nivel internacional, ha sido más ampliamente utilizada (14). Aunque posteriormente fue modificada ligeramente y dado que la anterior era la que se había aplicado inicialmente (las modificaciones posteriores tampoco eran sustanciales), se ha continuado con esta clasificación, que se describe a continuación:

Tabla 3. Clasificación reacciones sistémicas

Grado I:	Urticaria generalizada, picor, malestar, ansiedad
Grado II:	Cualquiera de los anteriores y dos o más de los siguientes: Angioedema (también se considera Grado II cuando aparece sin otro síntoma acompañante), opresión torácica, náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, mareo
Grado III:	Cualquiera de los anteriores y dos o más de los siguientes: Disnea, sibilancias, estridor (cualquiera de éstos tres se considera Grado III cuando aparece sin otro síntoma acompañante), disfagia, disartria, ronquera, debilidad, confusión, sensación de muerte inminente
Grado IV:	Cualquiera de los anteriores y dos o más de los siguientes: hipotensión, colapso, pérdida de conocimiento, incontinencia de esfínteres, cianosis.

En algunos casos las reacciones sistémicas han sido reacciones inusuales (14), y se clasifican como se describe en la Tabla 4.

Tabla 4. Clasificación reacciones sistémicas inusuales

Enfermedad del suero, vasculitis generalizada	Fiebre, artralgia, artritis, linfadenopatía, exantema, púrpura
Enfermedad renal	Glomerulonefritis, síndrome nefrótico
Enfermedad del sistema nervioso	Neuritis periférica, poliradiculitis, epilepsia, alteraciones del sistema nervioso central
Enfermedad hematológica	Trombocitopenia, anemia, coagulación intravascular diseminada
Enfermedad cardíaca	Angina de pecho, infarto de miocardio, arritmia

2.2.3. Mecanismo de la AVH

La AVH es una reacción de hipersensibilidad tipo I, según la clasificación de Gell y Coombs, mediada por anticuerpos de tipo IgE. De forma simplificada, se expone esta reacción alérgica como sigue:

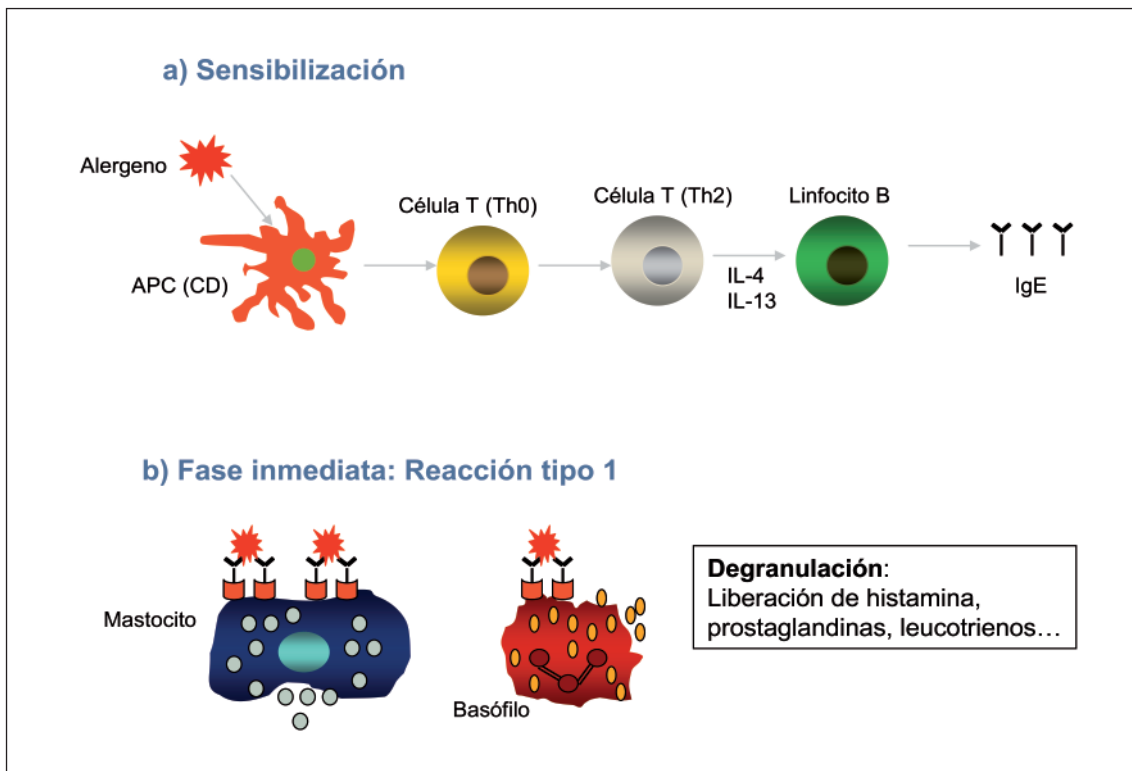
En un primer contacto con el alérgeno, se produce la llamada fase de sensibilización. En ella, el alérgeno es captado por las células presentadoras de antígeno (APC), que lo transportan hasta los nódulos linfáticos. Allí, la interacción de la APC con células Th0 en presencia de ciertas citoquinas (IL), transforman las Th0 en células tipo Th2. Estas células Th2, por mediación de determinadas IL, actúan sobre los linfocitos B y se inicia la producción de anticuerpos IgE. Esta IgE específica del alérgeno, queda en parte fijada a la membrana de los basófilos y mastocitos.

Si se produce un segundo contacto con el alérgeno, se iniciaría la segunda fase de la reacción alérgica, en la cual, el alérgeno se uniría a dos moléculas de IgE, fijadas en la superficie de estas células, iniciándose la liberación de los llamados mediadores preformados y la síntesis de otros. Estos mediadores (histamina, prostaglandinas, leucotrienos, etc...) liberados de estas células, a través del torrente circulatorio, se fijan en ciertos tejidos, iniciándose así los mecanismos (contracción musculatura lisa

bronquial, vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular) que originan la reacción alérgica, que puede ir desde síntomas leves hasta shock anafiláctico. Además, la unión IgE-alérgeno activa a células inflamatorias (neutrófilos, eosinófilos) que serían los responsables del mantenimiento de la reacción alérgica.

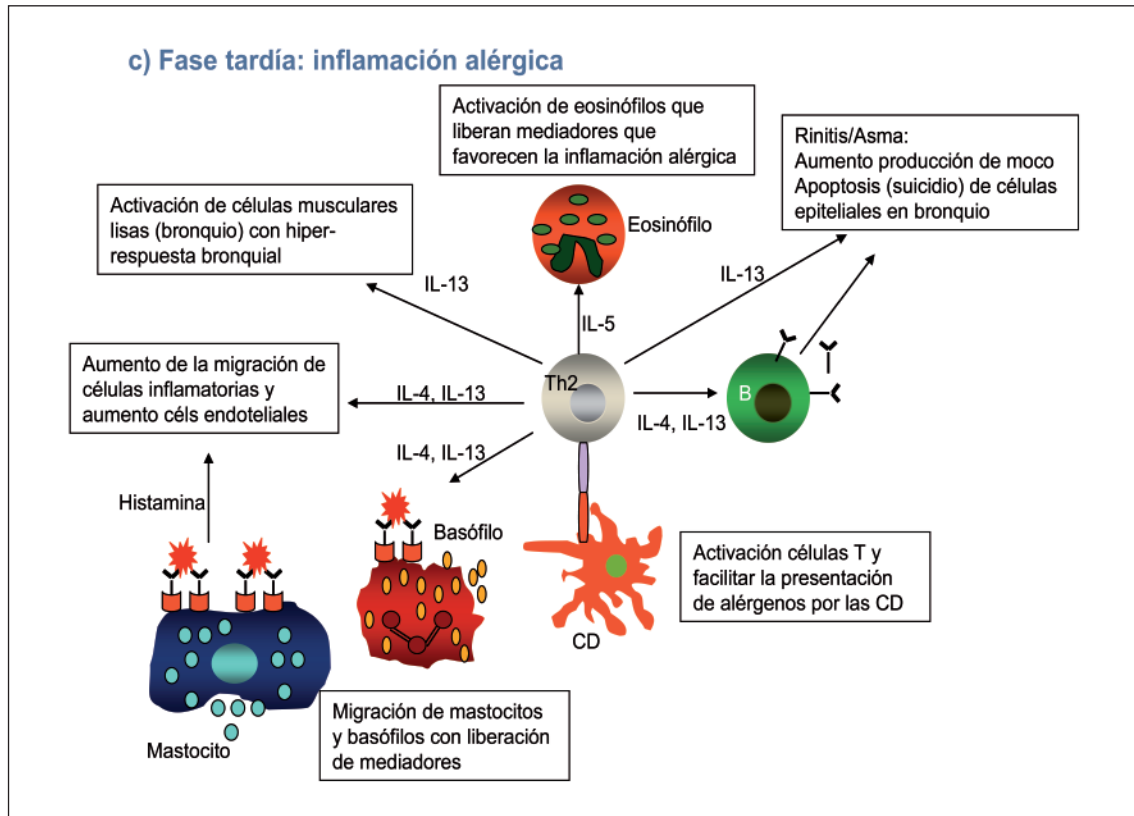
En las Figuras 2 a y b podemos ver de forma gráfica los procesos antes descritos:

Figura 2a: Sensibilización y fase inmediata de la reacción alérgica



Una vez el alérgeno penetra en el organismo, es captado por las APC y transportado a los nódulos linfáticos, donde se encuentran los linfocitos Th (T-helper). Estos, al interactuar con las APC “cargadas” con alérgeno, se diferencian en células de estirpe Th2. Las Th2 producen IL-4 e IL-13 que actúan sobre los linfocitos B induciendo la producción de anticuerpos tipo IgE específicos del alérgeno. Esta IgE se fija a la membrana de ciertas células, como mastocitos en los tejidos y basófilos en la sangre, y tras un segundo contacto con el alérgeno, la fijación de éste a 2 moléculas de IgE induce la liberación de sustancias contenidas o sintetizadas en el interior de estas células (mediadores como histamina, prostaglandinas, leucotrienos y otras) siendo estas sustancias las responsables del desencadenamiento de la reacción alérgica (fase inmediata).

Figura 2b: Segunda fase de la reacción alérgica



Tras la fase inmediata de la reacción alérgica viene la fase tardía, en la que se produce un mantenimiento de la reacción alérgica a través de la migración y activación de células inflamatorias (eosinófilos, neutrófilos) lo que favorece la respuesta inflamatoria alérgica.

2.2.4. Historia natural de la AVH

Por historia natural de la enfermedad se entiende la evolución de ésta sin que se administre tratamiento alguno que la modifique. En el caso de la AVH se trataría de conocer que tipo de reacción sufriría un paciente sensibilizado a veneno de himenópteros en caso de ser picado de nuevo. Algunos estudios retrospectivos (27, 28) indican que el porcentaje de pacientes que sufren una reacción sistémica de mayor gravedad en una repicadura (este término define una segunda picadura) es del 13%, mientras que el 43% sufrirían una reacción similar (27). En el otro estudio (28) en el que se incluían también las reacciones locales extensas, estos porcentajes eran del 36% y 47% respectivamente.

En ambos, hay que considerar el sesgo que este tipo de estudios pueden tener debido a su propio carácter retrospectivo, dado que cuando los datos se extraen de estudios prospectivos, estos porcentajes pueden variar. Por ejemplo, tras una reacción local extensa sólo el 5% desarrollan una reacción sistémica (29), mientras que el porcentaje de pacientes que sufren una reacción sistémica tras otra sistémica previa se mueve en torno al 50% (30,31). La cifra de pacientes cuya reacción a la repicadura era más grave que la sufrida previamente oscila entre el 15-30% (32). El riesgo de reacción disminuye regularmente con el paso del tiempo pero nunca llega a desaparecer completamente, manteniéndose en un 20-30% (33). Todos estos datos deben ser considerados analizando los factores de riesgo a los que un paciente pueda estar sometido. A continuación se describen los más relevantes.

2.2.5. Factores de riesgo

Como ya se ha comentado en el punto anterior, el primer factor de riesgo es la gravedad de la reacción previa. En la Tabla 5 (14) podemos ver un resumen de diferentes estudios prospectivos que han analizado este problema, y de lo que se deduce que el riesgo es mayor en pacientes con reacción severa previa.

Otro factor de riesgo importante es la edad. A pesar de que los niños pueden estar más expuestos a picadura por mayor actividad al aire libre, diferentes estudios demuestran que su pronóstico es mejor que en el caso de los adultos (34,35)

Tabla 5: Riesgo de reacción en la repicaduras según reacción previa

Tipo de reacción	Nº de pacientes	Tipo repicadura	Reacción a la repicadura		
			RS (%)	GRL (%)	No RS (%)
GRL	28	E	1 (4)	42/50*(84)	27 (96)
	54	E	2 (4)	43/113*(38)	52 (96)
	5	P	0	NS	5 (100)
	22	E	3 (14)	9 (41)	19 (86)
Total	109		6 (6)		103 (94)
RS leve	85	E	14 (16)	NS	71 (84)
	20	E	3 (15)	6 (30)	17 (85)
	18	E	6 (33)	NS	12 (67)
	30	P	6 (20)	NS	24 (80)
	9	P	4 (44)	NS	5 (56)
Total	162		33 (20)		129 (80)
RS Grave	9	E	4 (44)	0	5 (56)
	7	P	3 (43)	NS	4 (57)
	10	E	8 (80)	NS	2 (20)
	58	P	25 (43)	NS	33 (57)
Total	84		40 (48)		44 (52)

RS: Reacción sistémica GRL: Gran Reacción Local E: Repicadura espontánea P= repicaduras provocada *GRL por nº de picaduras (no se daba el nº de pacientes) NS: No establecido

Un tercer factor es el insecto responsable de la picadura. Se sabe que la abeja inyecta una mayor cantidad de veneno que la avispa, y se ha visto que la reacción a la repicadura es más grave en sujetos sensibilizados a abeja que a avispa (36).

Otro posible factor, si bien controvertido, es el intervalo entre dos picaduras. Hay autores que afirman que cuando el intervalo es corto (2 semanas) el riesgo de reacción tras repicadura es menor por haberse generado en el paciente un cierto estado de anergia, aunque no todos los investigadores están de acuerdo con esta afirmación (2).

Otro factor de riesgo es la apicultura. Así, Müller y cols (36) encontraron que apicultores y familiares tenían mayor riesgo de reacciones cuando recibían menos de 10

picaduras/año, antecedentes personales de atopia o presentaban síntomas respiratorios mientras trabajaban en las colmenas. También se han identificado como factores de riesgo el estar en tratamiento con β -bloqueantes (37) o con IECAs (38).

En un estudio realizado en nuestra Unidad, pendiente de publicación, en 158 apicultores socios de APLA, encontramos una prevalencia de sensibilización a *Apis* (por IgE específica ≥ 0.35 kU/L) del 65%, de los que 6 (3,79%) eran alérgicos (cuatro de ellos pacientes de nuestra Unidad, tres de ellos ya tratados con ITV; a los otros dos se les prescribió el tratamiento específico). La prevalencia de sensibilización a *Vespula* fue del 9%, a *Polistes* del 7% y de doble sensibilización también fue del 9%, todos los reactivos a *Vespula* lo eran también a *Apis*.

2.2.6. Diagnóstico

Como en cualquier otra enfermedad alérgica, el diagnóstico se basa en 3 aspectos fundamentales (14): la historia clínica y las pruebas in vivo (especialmente cutáneas) e in vitro (la más frecuente la determinación de IgE específica). En este capítulo diagnóstico, se comentará la reactividad cruzada entre carbohidratos y alcohol por los posibles errores diagnósticos a que puede conllevar.

2.2.6.1. *Historia clínica*

Lo primero es determinar y clasificar adecuadamente la reacción sufrida por el paciente, tal y como se ha descrito en puntos anteriores. Esto permitirá establecer claramente la indicación o no de tratamiento etiológico.

A continuación, identificar el insecto responsable. En algunos casos el paciente es capaz de diferenciar claramente entre los diferentes himenópteros, pero en otros muchos

casos no. Es clarificante conocer detalles como si el aguijón quedó en la lesión o no, que actividad realizaba cuando sufrió la picadura o conocer los insectos más prevalentes en nuestra área sanitaria. También es importante establecer a que factores de riesgo está sometido el paciente, actividades al aire libre, ya sean profesionales o de ocio, vivir cerca de colmenas o ser apicultor o familiar de apicultor.

2.2.6.2. *Determinaciones in vivo*

La más frecuentemente utilizada por ser una prueba sencilla, barata y rápida es la prueba cutánea. Para la valoración individual de los pacientes las pruebas cutáneas en prick pueden facilitar el diagnóstico, pero en el caso de venenos de himenópteros, este se hace generalmente mediante intradermo-reacción (ID) y para su realización es imprescindible contar con extractos purificados y adecuadamente estandarizados. Es importante tener en cuenta que cerca de un tercio de los pacientes con AVH pueden tener pruebas negativas (39). Generalmente suele iniciarse a concentraciones de 0,01 µg/mL y finalizar la prueba, si antes no dio positivo, con concentraciones de 1 µg/mL. En sujetos muy sensibles o de alto riesgo, la prueba puede iniciarse a concentraciones inferiores (0,0001 µg/mL). Según el Comité de Expertos de la Academia Europea (40) la concentración de 0,1 mcg es la que mejor identifica a los alérgicos.

En la valoración se debe considerar que puede haber falsos negativos y falsos positivos (14). Entre las razones de los primeros está si la prueba se hizo inmediatamente después de la picadura, si el paciente está tomando medicamentos que reduzcan la respuesta cutánea, o bien que se utilicen extractos o soluciones inadecuadas. Entre los segundos la presencia de dermatografismo se considera la causa más frecuente de falsos positivos.

2.2.6.3. *Determinaciones in vitro*

La determinación de IgE específica, bien por RAST o por CAP, constituye el tercer gran pilar en el diagnóstico de la AVH. Con la técnica del RAST, alrededor de un 15-20% de pacientes con pruebas cutáneas positivas dan IgE negativa, pero también un 5-10% de pacientes con prueba cutánea negativa (e historia clara de AVH) dan IgE positiva (2). Sin embargo, hoy en día, el perfeccionamiento de la técnica de determinación de IgE mediante CAP hace que sea una prueba altamente fiable.

Un problema que merece especial atención es el de aquellos pacientes que sufren una reacción anafiláctica a la picadura y que dan negativo en las pruebas *in vivo e in vitro*. Generalmente se trata de un porcentaje de pacientes escaso, inferior al 4% (41) y estos casos se conocen como reacciones con IgE negativa. Varios aspectos pueden explicar esta discordancia: que se trate de un falso negativo (el paciente tiene IgE frente al veneno pero ésta no ha podido detectarse), que se trate de una mastocitosis (enfermedad no mediada por IgE) o que se haya utilizado un extracto que no corresponde al himenóptero responsable de la reacción alérgica.

Por último, hay otras determinaciones *in vitro* (liberación de histamina, activación de basófilos, determinación de IgG) que no han demostrado excesiva utilidad en el diagnóstico de la AVH o que, debido a su complejidad, no son útiles en la práctica diaria. Por tanto, la historia clínica, las pruebas cutáneas por ID y la determinación de IgE son los pilares básicos para el diagnóstico de la AVH.

En la actualidad se dispone de la posibilidad de hacer un diagnóstico mucho más sensible y específico, como es el diagnóstico por componentes moleculares, mediante la determinación de IgE específica a los alérgenos principales de los venenos de

himenópteros. En el actual trabajo, se va a valorar su papel en el diagnóstico y seguimiento de estos pacientes.

2.2.6.4. *Reactividad cruzada con carbohidratos y alcohol*

Uno de los principales problemas a la hora de abordar el diagnóstico de la AVH es poder distinguir, cuando aparecen dobles sensibilizaciones, si éstas son debidas a un problema de reactividad cruzada o si se trata de una sensibilización primaria a más de un alérgeno de diferentes himenópteros. En el caso de la reactividad cruzada, la hialuronidasa es un alérgeno común a diferentes especies de himenópteros y que presenta una identidad de secuencia de al menos un 50% (42). Puede haber reactividad cruzada por el reconocimiento de la IgE a la porción glicosilada de las proteínas de veneno. Esta IgE específica de los determinantes carbohidratados (CCDs) no suele asociarse a síntomas clínicos ni interfiere con resultados de pruebas cutáneas (43,44). Sin embargo sí puede interferir en el diagnóstico *in vitro*, produciendo una IgE positiva a, por ejemplo, alérgenos de himenópteros (43). En una reciente publicación se ha visto que la prevalencia de IgE a CCDs puede incrementarse en sujetos alcohólicos (45). Se observó que en los bebedores intensos, frente a los abstemios y los bebedores leves o moderados, los niveles de IgE a determinados alérgenos (a *Apis mellifera* y *Vespula spp* entre otros) se ven incrementados. Además se observó una fuerte correlación entre la IgE a los CCDs y la IgE a, entre otros alérgenos, *Apis mellifera* y *Vespula spp*, sobre todo en sujetos con pruebas cutáneas negativas. La frecuencia de individuos con IgE positiva a ambos venenos era del 10.6% en abstemios, 9.2 en bebedores leves-moderados y del 34.1% en bebedores intensos. En consecuencia, se debe valorar la ingestión de alcohol a la hora de realizar la anamnesis de los pacientes con AVH, para poder descartar posibles falsos positivos.

2.2.7. Tratamiento

Al hablar del tratamiento de estos pacientes hay que tener en cuenta 3 aspectos: primero las medidas de profilaxis que el paciente debe tener presente para evitar nuevas picaduras, segundo el tratamiento de urgencia de la reacción a la picadura y tercero, el tratamiento potencialmente curativo mediante ITV.

2.2.7.1. *Medidas de prevención*

Una vez diagnosticada la AVH, la primera medida es evitar las picaduras, para ello se dan ciertas normas para minimizar el riesgo (2): evitar actividades cerca de árboles frutales, flores, colmenas, basura, etc, movimientos bruscos cuando se acerque un himenóptero, no manipular nidos de estos insectos, ni caminar descalzo por el campo, no usar perfumes intensos ni ropas de color llamativo, evitar actividades de riesgo y, si no es posible, extremar las precauciones, tapar la basura y no dejar comida al aire libre, sacudir la ropa antes de usarla si ha estado al aire libre y en caso de haber sufrido una reacción anafiláctica llevar consigo medicación de emergencia (adrenalina autoinyectable).

2.2.7.2. *Tratamiento de urgencia*

Se efectúa en función del tipo de reacción sufrida por el paciente, tal y como se describe a continuación:

- ❖ Reacción local: sobre todo si es intensa, la aplicación de frío o amoníaco puede retrasar la absorción del veneno. A continuación administrar antihistamínicos orales o corticoides tópicos u orales para aliviar los síntomas de dolor, hinchazón...
- ❖ Reacción sistémica cutánea: si el paciente no presenta compromiso cardiovascular, respiratorio o digestivo, la administración de antihistamínicos orales y corticoides suele ser suficiente.

- ❖ **Reacción anafiláctica:** en este caso el tratamiento de elección es la adrenalina. La dosis inicial suele ser de 0.3-0.5 mg en adultos y de 0.01 mg/kg de peso en niños. Puede repetirse esta dosis, en caso de no remitir los síntomas, en intervalos de 15-20 minutos. Señalar que los pacientes que han sufrido una reacción anafiláctica deben llevar consigo un autoinyector de adrenalina. También puede ser importante en el tratamiento de la anafilaxia la adopción de otras medidas como la reposición rápida de fluidos por vía intravenosa. En ocasiones la administración de antihistamínicos y corticoides puede aliviar la presencia de síntomas cutáneos. En el caso de los corticoides también su uso permite evitar la aparición de una reacción bifásica.

2.2.7.3. Tratamiento de fondo: Inmunoterapia

El tercer pilar fundamental del tratamiento es el tratamiento etiológico mediante la administración de inmunoterapia específica con veneno de himenópteros. Dada la importancia de este tema, y que forma parte del objetivo fundamental del presente proyecto de tesis doctoral, se le dedica un capítulo específico, presentando un resumen de los aspectos más relevantes en relación a este tratamiento.

2.3. Inmunoterapia con Veneno de Himenópteros (ITV)

2.3.1. Concepto de inmunoterapia

Consiste en la administración de dosis gradualmente crecientes de un extracto de la sustancia alergénica responsable (en este caso *veneno de himenópteros*) a un individuo con enfermedad alérgica mediada por IgE, con el fin de mejorar los síntomas asociados a exposiciones al alérgeno causante de la enfermedad. (46). Es el único tratamiento etiológico capaz de alterar el curso natural de la enfermedad alérgica actuando sobre los mecanismos inmunopatológicos de la reacción alérgica. (47).

2.3.2. *Evolución histórica*

La inmunoterapia con alérgenos se inició a principios del siglo pasado. En el caso de la ITV, ésta se empezó a administrar hacia finales de la década de 1920. Al principio, los extractos utilizados se producían a partir del cuerpo entero del insecto. Diferentes estudios no controlados (48,49) mostraban, al menos aparentemente, la eficacia de este tipo de tratamiento. Sin embargo, esta aparente efectividad se contradecía con diferentes estudios en los que se informaba de pacientes que, pese a haber sido tratados con ITV, fallecían tras sufrir nuevas picaduras (50,51). Al final de la década de 1970, se publican dos trabajos en los que se comparaba la eficacia del veneno puro de himenópteros frente a placebo (52) y frente a extracto de cuerpo completo (53), usando en ambos casos extractos de tipo acuoso (es decir, extractos que no contenían adyuvante de efecto “depot”), demostrándose únicamente la eficacia del tratamiento con veneno puro. En la actualidad en más del 90% en el caso de vespídidos y de cerca de un 80% en el de abejas (40) se obtiene una protección duradera. Esto ha hecho que hoy día la ITV sea el tratamiento de elección en pacientes con AVH.

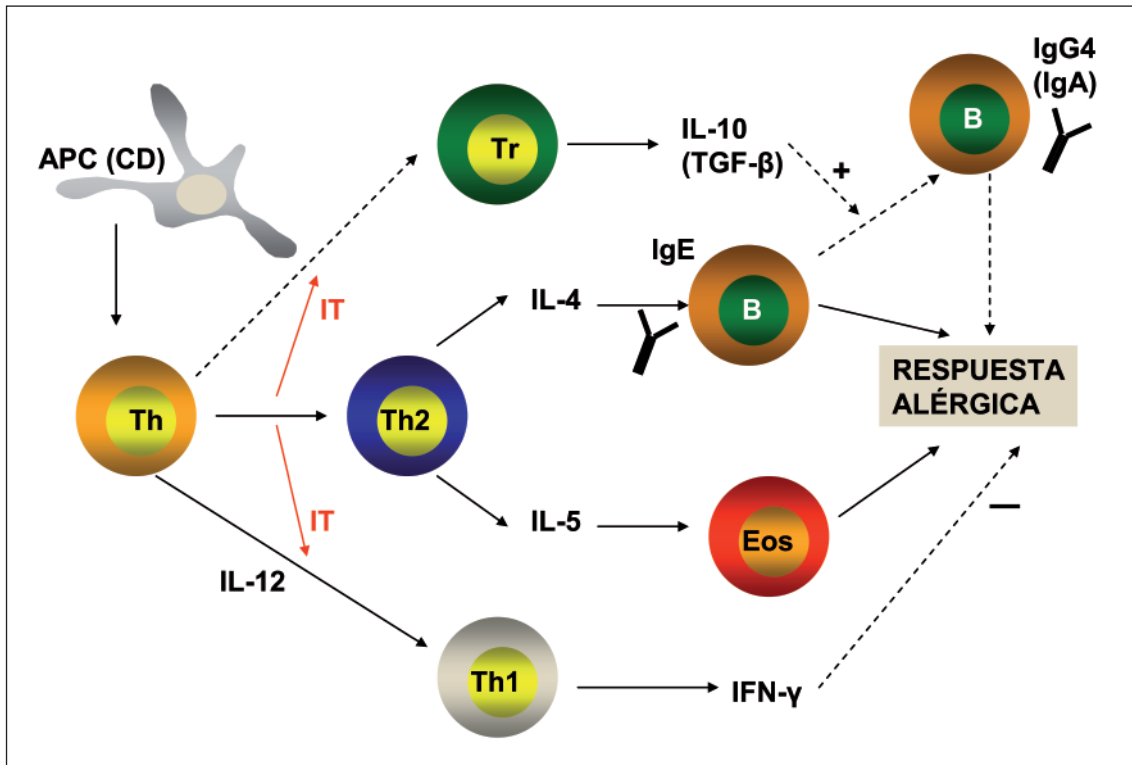
Hoy día, además de con extractos acuosos, la ITV se lleva a cabo también con extractos adsorbidos en gel de hidróxido de aluminio (extractos “depot”) (54). La utilización de uno u otro extracto depende de diferentes factores: su eficacia es similar, pero el extracto “depot” suele provocar reacciones sistémicas tardías de forma más frecuente que el acuoso, mientras que el extracto acuoso suele producir más reacciones inmediatas.

Hay estudios en los que se han utilizado otro tipo de extractos (modificados con mPEG, alérgenos recombinantes) pero que hoy día no se encuentran disponibles para la práctica clínica.

2.3.3. Mecanismo de acción de la ITV

En la Figura 3 se puede ver, de forma resumida, el esquema de actuación de la ITV, que es el mismo que el de cualquier tipo de inmunoterapia con extractos estandarizados.

Figura 3: Mecanismo de acción de la ITV



La Inmunoterapia específica actúa induciendo linfocitos T reguladores (Tr) que producen ciertas interleuquinas, principalmente IL-10. Como consecuencia se produce tolerancia de las células T, y la respuesta Th2, responsable de la reacción alérgica, se transforma parcialmente, en una respuesta de tipo Th1. Adicionalmente, se induce la producción de los llamados anticuerpos bloqueantes no inflamatorios (principalmente IgA e IgG4) que bloquean la interacción alérgeno-IgE en la superficie del mastocito/basófilo, impidiendo, el desencadenamiento de la reacción alérgica.

La ITV es capaz de inducir un incremento de los anticuerpos bloqueantes IgG4 durante los primeros meses de tratamiento, permaneciendo en niveles altos durante la duración del mismo (55). Este aumento de la IgG4 es similar al que se observa en aquellos pacientes que, generalmente por su actividad, han desarrollado una inmunidad natural frente a la picadura de ciertos himenópteros (56). Por otra parte, se ha podido comprobar que la ITV es capaz de modular la respuesta del sistema inmune, produciendo un

descenso de la IL-4 e IL-5 (citoquinas Th2) y un incremento del IFN- γ (citoquina Th1) a los 7 días de haberse llegado a la dosis máxima tras iniciación con pauta ultra-rápida de 1 día (57). Este cambio en los niveles de IL-4, IL-5 y también IL-13 se ha visto en otros estudios (58-59), así como una anergia (falta de respuesta) de linfocitos T específicos (59). Además se ha encontrado un aumento de la IL-10, mediada por linfocitos T reguladores (Tr) (60), similar al que ocurre en los apicultores que toleran el veneno de forma natural tras sucesivas picaduras, y también se ha podido observar que la ITV es capaz de efectuar un papel modulador sobre los linfocitos B (61).

2.3.4. Indicaciones de la ITV

En la Tabla 6 se incluye un resumen de las indicaciones de la ITV (2,14).

Tabla 6: Indicaciones de la ITV

Tipo de reacción	Prueba diagnóstica	Indicación de ITV
Sistémica grave (grados III/IV Müller)	Positiva Negativa	Sí No
Sistémica leve/moderada (grados I/II Müller)	Positiva (adultos) Positiva (niños) Negativa	Sí* Sí/No* No
Local Extensa	Positiva/Negativa	No

* Puede administrarse la ITV en individuos que tengan riesgo elevado y/o alta exposición.

Existen casos especiales, como es el caso de los apicultores: son pacientes de alto riesgo en los que la dosis de mantenimiento debe ser de 200 μ g y no de 100 μ g, que es la dosis habitual en los pacientes con AVH (40). En ancianos si hay riesgo de exposición puede estar indicada, lo que no ocurre con la inmunoterapia con neumoalérgenos.

2.3.5. Vías de administración de la ITV

La vía tradicional por la que se ha administrado, y mayoritariamente se sigue administrando, la ITV es la vía subcutánea, ya que es aquí donde está claramente

establecida la dosis óptima de 100 µg de veneno, salvo casos especiales en los que la dosis debe aumentarse a 200 µg. Se trata de una vía de administración que, como se verá posteriormente, tiene perfectamente documentada su eficacia así como su perfil de tolerancia. Recientemente, ha aparecido un trabajo en el que se postula la vía sublingual para el tratamiento de las reacciones locales extensas (62). Sin embargo, las conclusiones de este trabajo han sido rechazadas por el Comité de expertos de la Academia Europea (63), por lo que se sigue manteniendo la vía subcutánea como única vía de administración de la ITV.

2.3.6. Pautas de administración de la ITV por vía subcutánea

Existen 4 esquemas clásicos de administración de la ITV: ultrarápida (*ultra-rush*), rápida (*rush*), agrupada (*cluster*) y convencional. A continuación se describe brevemente cada una de ellas:

a) Convencional. Es la pauta tradicional de administración. Consiste en la administración diaria de 1 dosis, con un intervalo semanal entre cada una de ellas, hasta alcanzar la dosis de mantenimiento. En general, el número de dosis es elevado (entre 13-19).

b) *Cluster* o agrupadas: consiste en la administración de dos o más dosis en un mismo día, con un intervalo de 30-45 minutos entre cada dos dosis y con un intervalo semanal entre cada grupo de dosis. La seguridad de este tipo de pautas es muy similar al de las convencionales (64,65)

c) *Rush* o rápidas: Consiste en la administración de varias dosis en un mismo día, administrando cada grupo de dosis en días consecutivos. Su tolerancia es peor que la de las pautas anteriores, pero permite alcanzar la dosis máxima en un periodo

breve de tiempo. Se usa solo en pacientes de riesgo y en ámbito exclusivamente hospitalario (66,67).

d) *Ultra-rush o ultra-rápidas*: en ellas se alcanza la dosis máxima en 1 solo día. Se usan exclusivamente en pacientes de muy alto riesgo o en ensayos clínicos. Para su realización el paciente debe permanecer hospitalizado (68).

En nuestra Unidad, se ha desarrollado una pauta acelerada de 9 dosis, con intervalos semanales o dos veces por semana, dependiendo del riesgo individual y de la época del año (69) como se explicará con más detalle en el punto 4.4. Es una pauta en la que el cociente riesgo/beneficio está claramente equilibrado, por lo que es nuestra pauta de elección.

2.3.7. Seguridad de la ITV

La seguridad de la ITV viene condicionada por dos variables: la pauta en la fase de iniciación o incremento de dosis (señalar que cuanto más agresiva es la pauta, mayor es el riesgo de reacciones sistémicas) y en segundo lugar el tipo de veneno. La ITV con veneno de abeja produce más reacciones sistémicas que cuando el veneno utilizado es el de avispa (70). De acuerdo a los datos recogidos por el comité de expertos de la Academia Europea (40), el porcentaje de reacciones es muy variable (5-40%).

En el año 2000 se publicó un estudio multicéntrico sobre la seguridad de la ITV (71) en el que se incluyeron 840 pacientes y se administraron 26.601 inyecciones. Se registraron un total de 299 efectos adversos sistémicos, la mayor parte leves, y tan solo 1/3 requirieron tratamiento. En la Tabla 7 se expone un resumen de los resultados obtenidos, pudiéndose observar en ella algunos de los factores de riesgo ya comentados.

Tabla 7. Efectos adversos sistémicos por ITV según diferentes factores de riesgo

Tipo paciente/tratamiento		Aparición de efectos adversos media (rango)		
		% en iniciación	% en mantenimiento	% de pacientes
Sexo	Femenino	2.0 (0.0-52)*	0.9 (0.0-100)	25*
	Masculino	1.2 (0.0-63)*	1.2 (0.0-100)	15*
Extracto	Depot	1.2 (0.0-21)	0.2 (0.0-14)	17
	No depot	1.6 (0.0-63)	1.3 (0.0-100)	20
Veneno	<i>Vespula</i>	1.5 (0.0-63)	0.6 (0.0-100)*	19
	<i>Apis</i>	1.8 (0.0-52)	2.4 (0.0-100)*	24
	<i>Polistes</i>	0 (0.0-0.0)	0 0.0-0.0)	0
Esquema tratamiento	Semanal	0.8 (0.0-21)*	0.2 (0.0-14)	12*
	Cluster	1.3 (0.0-9.1)*	0.1 (0.0-3.8)	22*
	Rush/ultrarush	2.1 (0.0-63)*	1.5 (0.0-100)	24*
	Mixto	0.5 (0.0-9.1)*	1.0 (0.0-67)	8*
Total		1.6 (0.0-63)	1.1 (0.0-100)	20

2.3.8. Eficacia de la ITV

Desde que se hicieron los ensayos clínicos en los que se demostraba la eficacia del veneno puro de himenópteros frente a placebo (52) y cuerpo entero (53), la eficacia de la ITV ha sido incuestionable, con unos porcentajes del 90% en el caso del veneno de avispa y del 75-80% en el de abeja. Estos porcentajes se refieren a protección total. La forma de valorar la eficacia es compleja. Por un lado, una negatividad solo de las pruebas cutáneas o de la IgE no indicaría una absoluta protección clínica, aunque en el caso de que ambas pruebas se hicieran negativas sí podría pensarse en que la protección clínica tiene un porcentaje altísimo de probabilidad (40). A pesar de ello, la prueba más concluyente es la ausencia de reacción (o reacción local) tras repicaduras. Hay dos tipos de repicaduras: la provocada y la espontánea. La primera debe hacerse bajo estricto control hospitalario. Aunque es una prueba generalmente admitida como una prueba

óptima para valorar la eficacia del tratamiento (72), también tiene sus problemas y limitaciones: entre ellas que la cantidad de veneno que el insecto inyecta va a depender de diferentes factores (tiempo que dure la prueba, de la edad del insecto) que serán abordados en la discusión. La repicadura espontánea tiene el inconveniente de que el paciente no reconozca al insecto, lo que puede conllevar a un error en su interpretación. Sin embargo, tiene la ventaja, de que la repicaduras se hacen en condiciones naturales. Además, como veremos más adelante, la proporción de pacientes que sufren repicaduras espontáneas es relativamente alto, lo que contribuiría a cuestionar la realización de la repicadura provocada por razones de carácter ético.

Otro tema importante a la hora de valorar la eficacia del tratamiento es establecer la duración del mismo. En líneas generales, se admite que debe ser de 3-5 años (40) dependiendo el que sean 3 ó 5 de la severidad de la reacción anafiláctica sufrida (73). En trabajos en donde se valora el tiempo que dura la protección del paciente una vez finalizado el tratamiento, parece que 5 años es la duración óptima del mismo (74). Tras la finalización óptima del procedimiento, el paciente se encuentra protegido de sufrir anafilaxia en repicaduras durante un tiempo que va desde 3 hasta 7 años una vez finalizado el tratamiento (74,75).

3. OBJETIVOS

Objetivos primarios:

1. Valorar la eficacia de la ITV analizando la intensidad de la reacción en aquellos pacientes que sufrieron repicaduras espontáneas durante el tratamiento.
2. Establecer la duración de la eficacia del tratamiento con ITV una vez éste se ha interrumpido tras haber alcanzado los 5 años de tratamiento.
3. Estudiar la seguridad de la pauta acelerada de ITV establecida en la Unidad de Alergia, valorando este aspecto tanto cuando es administrada en la propia Unidad como cuando la administración se efectúa en Atención Primaria.
4. Estudiar la influencia de la ITV en la respuesta inmunológica al veneno y concretamente la posible modificación en parámetros in vivo (prueba cutánea) e in vitro (IgE al extracto completo de venenos e IgE a los componentes moleculares o alérgenos principales contenidos en dicho veneno), durante el tratamiento y una vez éste se ha interrumpido.

Objetivos secundarios.

- Establecer la historia natural de la AVH valorando la intensidad de las reacciones previas en comparación a la que motivó su estudio alergológico.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Diseño del estudio

La creación de la base de datos, que constituye los cimientos del presente estudio, se orientó con un doble objetivo. En primer lugar, llevar un control informatizado de los pacientes que eran tratados con ITV, bajo supervisión directa, o indirecta en el caso de que se administrara el tratamiento en centros de salud vinculados a nuestra área sanitaria. En segundo lugar, para poder evaluar de forma sistematizada la eficacia y seguridad del tratamiento, así como los parámetros óptimos de monitorización, haciendo un seguimiento del paciente una vez hubiera finalizada la inmunoterapia.

Se trata de un estudio observacional, prospectivo y abierto de pacientes en tratamiento con ITV por sensibilización a *Apis* o *Vespula*.

Por otra parte, el diseño de la base de datos, abierta y flexible, permite el que se puedan añadir nuevos parámetros para la monitorización del tratamiento, como es la valoración del diagnóstico molecular por componentes, y su relación con los otros parámetros de seguimiento (prueba cutánea, IgE, repicaduras).

4.2. Inclusión de pacientes

Los pacientes incluidos en la base de datos son aquellos que eran remitidos a la Unidad de Alergia por posible AVH y que, tras el estudio alergológico correspondiente, dicha AVH era confirmada, iniciándose entonces el tratamiento con ITV. Solo se incluyeron pacientes con diagnóstico de certeza, a los que se administraba ITV. En caso de dudas diagnósticas, no se incluían en dicha base.

4.3. Métodos diagnósticos

El diagnóstico se estableció de acuerdo a la historia clínica de cada paciente, presencia de pruebas intracutáneas positivas y determinación de IgE específica frente a cada tipo de veneno.

Respecto a la **intensidad de la reacción** que motivó el que acudiera a la Unidad de Alergia para su evaluación, se siguió el criterio de Müller (14), tal y como se ha mencionado anteriormente (Tabla 3, punto 2.2.2).

Las **pruebas cutáneas** se realizaron de acuerdo a las normas del Comité Europeo (40) mediante inyección intradérmica en la cara volar del antebrazo, de 0.02 ml de solución conteniendo 0.01, 0.1 y 1 µg proteína de veneno/ml (Pharmalgen®, ALK-ABELLÓ, S.A., Madrid, España). Como control positivo se utilizó histamina 10 mg/ml y como control negativo solución salina (ALK-ABELLÓ, S.A.). Se considera positivo cuando se obtenía una pápula de al menos 5 mm de diámetro con eritema, evaluándose a los 20 minutos de iniciar la prueba.

La determinación de IgE específica se efectuó siguiendo el método Immuno-CAP (Phadia, Uppsala, Sweden) realizándose la valoración de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Los resultados de ambas pruebas se adjuntan en la Tabla 8.

Quince pacientes fueron vacunados con dos extractos (*Apis* y *Vespula*). Doce de ellos presentaron reacción anafiláctica con la picadura de ambos venenos, lo que se confirmó con pruebas cutáneas y la determinación de la IgE específica a cada uno de ellos. En 6 de estos 12 pacientes la alergia al segundo veneno apareció en el transcurso del tratamiento con el primer veneno. En otros 3 pacientes no fue posible identificar el insecto

responsable. Al ser las pruebas *in vivo* e *in vitro* positivas a los dos venenos se decidió, dado el alto riesgo que presentaban por su actividad profesional, iniciar la ITV con los dos venenos.

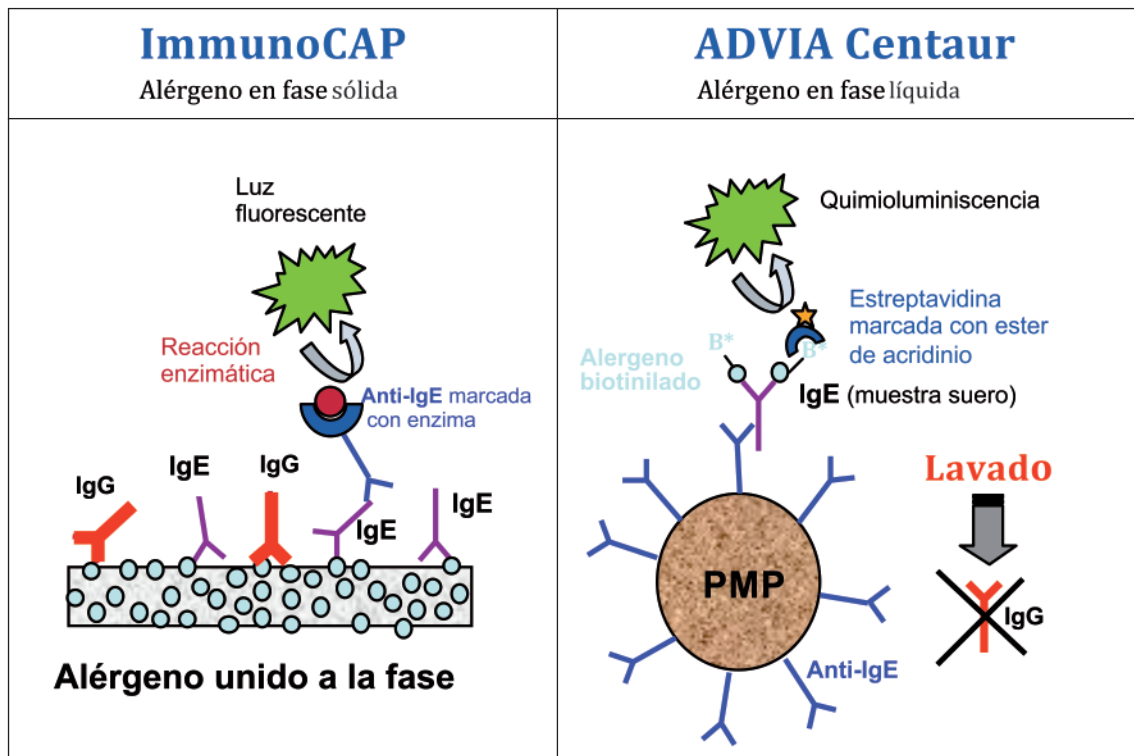
Tabla 8: Resultados de las pruebas diagnósticas de los pacientes.

Prueba cutánea positiva	<i>Apis</i>	<i>Vespula</i>
1 mcg	38 (8.1%)	15 (10.8%)
0,1 mcg	255 (54.6%)	74 (53.2%)
0,01 mcg	174 (37.3%)	50 (36.0%)
Determinación de IgE	<i>Apis</i>	<i>Vespula</i>
Clase 1 (0.35 - 0.69 kU/L)	25 (5.4%)	12 (8.6%)
Clase 2 (0.7 - 3.4 kU/L)	155 (33.2%)	66 (47.5%)
Clase 3 (3.5 - 17.4 kU/L)	190 (40.7%)	48 (34.5%)
Clase 4 (17.5 - 49.9 kU/L)	55 (11.8%)	7 (5.0%)
Clase 5 (50.0 - 99.9 kU/L)	27 (5.8%)	2 (1.4%)
Clase 6 (> 100 kU/L)	8 (1.7%)	2 (1.4%)
No disponible	7 (1.5%)	2 (1.4%)

Desde el año 2007 se ha iniciado la determinación del perfil molecular a los pacientes de nueva incorporación, midiendo la IgE frente a los siguientes alérgenos de himenópteros: fosfolipasa (*Api m 1*, *Ves v 1*, *Pol d 1*), hialuronidasa (*Api m 2*, *Ves v2*) y antígeno 5 (*Ves v 5*, *Pol d 5*). La fosfolipasa A2 (*Api m 1*) se obtuvo de Sigma-Aldrich (Madrid, España). Se expresó hialuronidasa recombinante de veneno de abeja (*Api m 2*) en células infectadas por baculovirus y se purificó siguiendo la técnica publicada (76). Los alérgenos del veneno de avispa se purificaron a partir del veneno liofilizado (ALK-Abelló Source Material, Spring Mills, PA, USA) como se ha indicado (77). Los alérgenos purificados se marcaron con biotina y el nivel de IgE específica frente a ellos se determinó con la plataforma ADVIA Centaur® (Siemens, Tarrytown, NY, EE.UU.) como se ha indicado previamente (78). La determinación de la IgE se basa en un ensayo tipo sándwich inverso. La IgE de cada muestra, 25 µl de

suero del paciente, se inmuoabsorbe con partículas paramagnéticas que contienen un anticuerpo anti-IgE humana unido covalentemente. Los anticuerpos no IgE se eliminan por lavado, y posteriormente se incuba con alérgeno biotinilado. La cantidad de alérgeno biotinilado unido a la IgE capturada en las partículas paramagnéticas se determina mediante la medida de la quimioluminiscencia (unidades relativas de luz, RLU) producida después de la incubación con estreptavidina conjugada con éster de acridinio. Las RLU se transforman en kU/l utilizando un ensayo de referencia basado en el alérgeno Bet v 1 y un pool de sueros, cuya concentración de IgE específica de Bet v 1 se ha calibrado de acuerdo a la preparación de referencia de IgE humana de la OMS. En la figura 4 se indica un esquema del método comparado con el clásico del RAST o CAP. En 89 pacientes se realizó la determinación de IgE por componentes moleculares antes de iniciar la ITV y en 35 de ellos se repitió este análisis tres años después.

Figura 4: Arquitecturas de los ensayos de determinación de IgE ImmunoCAP y ADVIA Centaur.



4.4. Tratamiento

Todos los pacientes han sido tratados con extracto de *Apis mellifera* al 100% o de especies de *Vespula* al 100% (Pharmalgen®, ALK-Abelló S.A.). En dos casos el diagnóstico molecular permitió diagnosticar la sensibilización a *Polistes*, por lo que estos dos pacientes reciben ITV con *Polistes dominula* (100%). En el caso de doble sensibilización a *Vespula* y *Polistes*, la elección del extracto se realizó en base al resultado de las pruebas cutáneas con ambos extractos y de la IgE específica, valorando que el vespido más prevalente en nuestra área sanitaria es del género *Vespula* (2,3).

La pauta de iniciación y concentración del tratamiento se adjunta en la Tabla 9.

Tabla 9. Esquema de tratamiento en la fase de incremento de dosis

	Vial	Concentración (μg proteína de veneno) /mL	Volumen (mL)	Dosis (μg de veneno)
1	1 (100 SQ)	0.1	1.0	0.1
2	2 (1,000 SQ)	1	1.0	1
3	3 (10,000 SQ)	10	0.5	5
4	4 (100,000 SQ)	100	0.1	10
5	4 (100,000 SQ)	100	0.2	20
6	4 (100,000 SQ)	100	0.4	40
7	4 (100,000 SQ)	100	0.6	60
8	4 (100,000 SQ)	100	0.8	80
9	4 (100,000 SQ)	100	1.0	100

Todos los pacientes que han permanecido en terapia de mantenimiento han alcanzado la dosis de 100 μg . Debe señalarse que siete pacientes recibieron una dosis de mantenimiento de 200 μg , cinco de ellos por tratarse de apicultores profesionales que, por ello, debían mantener su actividad apicultora, y los otros dos porque tuvieron una reacción sistémica tras repicadura espontánea durante la ITV. Además, siete pacientes

no toleraron el tratamiento con Pharmalgen®. En uno de esos casos se produjo intolerancia durante la fase de iniciación. En los otros seis casos se toleró la iniciación y el mantenimiento sin reacciones adversas y después de más de un año de recibir una dosis de mantenimiento de 100 µg, experimentaron una reacción adversa consistente en eritema facial, prurito generalizado y en algún caso dificultad respiratoria leve, después de recibir su dosis correspondiente. Tras descartar otras posibles causas, como errores en la administración, mastocitosis o tratamientos concomitantes, y tras repetirse la reacción con dosis menores o con la administración secuencial, se substituyó el extracto Pharmalgen por el Aquagen® (ALK-Abelló S.A.), que fue satisfactoriamente tolerado en todos los casos. Este último extracto es un extracto acuoso disponible solo para *Apis*, en el que se reduce entre un 40-60% la presencia de melitina y otras aminas biógenas en comparación a Pharmalgen, lo que mejora la tolerancia al producto en ciertos pacientes (79).

La fase de iniciación, dado que es la que más riesgos de aparición de reacciones adversas presenta para el paciente, se lleva a cabo en la Unidad de Alergia. A continuación, y en función de si el paciente ha tolerado sin problemas la fase de iniciación y de la disponibilidad de su Médico de Familia, el mantenimiento se realiza en los Centros de Atención Primaria correspondientes, remitiéndolos después de la aceptación del médico y previa información de las características y riesgos del tratamiento. En caso de que el paciente sufra algún tipo de reacción sistémica, bien al tratamiento o bien a causa de una repicadura, es remitido inmediatamente a la Unidad de Alergia para su evaluación alergológica. En caso de no existir este tipo de eventualidades, se hace una revisión anual de todos los pacientes en tratamiento y tras finalizar la ITV.

4.5. Evaluación de la respuesta

De acuerdo a los objetivos señalados en el punto 3, la evolución de la respuesta se efectuó valorando los siguientes parámetros:

1. Eficacia de la ITV. Se valora la intensidad de la reacción, de acuerdo a la clasificación de Müller ya mencionada, sufrida por los pacientes en caso de sufrir una repicadura durante el tratamiento.
2. Duración de la eficacia tras finalizar el tratamiento. Al igual que en el punto anterior, se valoró la intensidad de la reacción sufrida por los pacientes en caso de sufrir repicaduras una vez el tratamiento se hubo finalizado, así como la fecha en que se produjo.
3. Seguridad de la pauta. Para ello se anotaron todas las reacciones adversas sufridas por los pacientes durante la administración del tratamiento. De cada reacción se anotó si fue local o sistémica, su descripción, fecha en que ocurrió, dosis que la produjo, tratamiento requerido, así como la actitud terapéutica referida a la administración de ITV.
4. Influencia de la ITV sobre los parámetros in vivo (prueba cutánea). Se anotó de forma previa al inicio del tratamiento, a su finalización y en visitas posteriores de control una vez el tratamiento hubo finalizado, la concentración de alérgeno que dio respuesta positiva en prueba intradérmica.
5. Influencia de la ITV sobre parámetros in vitro. Se determinó la IgE específica al extracto completo en los mismos periodos señalados en las pruebas cutáneas. Asimismo, en 35 pacientes (27 alérgicos a abeja y 8 a avispa) se determinó la IgE frente a los alérgenos principales del veneno de himenópteros al inicio del tratamiento y a los 3 años de iniciado éste.

4.6. Análisis estadístico

De las variables cuantitativas se describen, dependiendo de su distribución, mediante la mediana y el rango (o el rango intercuartílico) o bien mediante la media y desviación estándar, mientras que las variables cualitativas se describen por su frecuencia absoluta y porcentaje.

Para la reducción de la IgE tras IVT se calculó el intervalo de confianza al 95% de la diferencia entre el valor basal y final. El análisis de las variaciones en la IgE se realizó mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon (prueba pareada).

5. RESULTADOS

5.1. Características de la muestra

En la actualidad la base de datos contiene 606 pacientes. Las características de los pacientes se resumen en la tabla 10:

Tabla 10: Características demográficas de los pacientes

Variable	Categorías	n	%
Sexo	Mujer	200	33
	Varón	406	67
Edad	Adultos (≥ 18 años)	581	95.9
	Adolescentes (15-17 años)	9	1.5
	Niños (≤ 14 años)	16	2.6
Hábitat	Urbano	160	26.4
	Semiurbano	36	5.9
	Rural	410	67.7
Diagnóstico	1. <i>Apis</i>	467	77.1
	2. <i>Vespula</i>	139	22.9
Relación con la apicultura		213	35.2

La edad media de los pacientes, en años, fue de 46.2 ± 16.4 (4-82).

Por lo que respecta al tratamiento con ITV, 462 pacientes han finalizado el tratamiento (de ellos 322, lo que supone un 70%, han alcanzado los 5 años de tratamiento) 130 se encuentran aún en fase de mantenimiento, 14 están en la fase de incremento de dosis. Todos los pacientes han sido tratados con Pharmalgen® (ALK-Abelló, S.A.) excepto 7 de ellos, en que este extracto fue substituido por Aquagen® (100 mcg), del mismo fabricante, como se indicó anteriormente. En siete pacientes se decidió que la dosis de mantenimiento del extracto Pharmalgen® fuera de 200 μ g, por las razones antes reseñadas.

Del total de pacientes, 23 han abandonado o interrumpido el tratamiento. 1 por embarazo de alto riesgo, 2 por problemas familiares y 2 también por imposibilidad de administración, 4 lo han hecho por decisión propia y 4 por traslado laboral fuera del área de influencia del hospital, 5 por aparición de enfermedades graves que contraindicaban el uso de inmunoterapia y 5 fallecieron por causas ajenas a su enfermedad alérgica.

El total de dosis administradas ha sido de 31.111, de las que 5256 pertenecen a la fase de incremento de dosis y 25.855 a la de mantenimiento.

5.2. Historia natural de los pacientes

Un aspecto importante en los pacientes con AVH es conocer que tipo de reacción sufrieron en picaduras anteriores a la que motivó el estudio alergológico, con el fin de poder determinar cual ha sido la evolución natural de la enfermedad desde la primera picadura hasta que el paciente acude a la Unidad para su estudio alergológico.

En la Tabla 11 podemos ver el tipo de reacción que sufrieron los pacientes y que motivó su estudio alergológico:

Tabla 11: Reacción que motivó el estudio alergológico de los pacientes

Reacción sistémica:	<i>Apis mellifera</i>		<i>Vespula spp</i>	
	n	%	n	%
Grado 1 de Müller	35	7.5	14	10.1
Grado 2 de Müller	123	26.3	32	23.0
Grado 3 de Müller	225	48.2	64	46.0
Grado 4 de Müller	84	18.0	29	20.9
Total	467		139	

De los 467 pacientes con alergia a abeja, se pudo recabar el tipo de reacción a picadura anterior en 414 (88.7%), mientras que en el caso de los alérgicos a avispa, este dato se obtuvo en 103 (74.1).

En la Tabla 12 podemos ver los resultados obtenidos, observando que el 74.2% de los alérgicos a abeja y el 75.7% de los alérgicos a avispa tuvieron una reacción menor en la picadura previa.

Tabla 12: Reacción que motivó el estudio alergológico en relación a la reacción en la picadura anterior (las celdas sombreadas en amarillo corresponden a aquellos pacientes en los que la reacción anterior fue de menor intensidad)

		Intensidad de la reacción que motivó el estudio alergológico (Abeja/Avispa)				Total
		1. Grado 1 Müller	2. Grado 2 Müller	3. Grado 3 Müller	4. Grado 4 Müller	
Intensidad de la reacción en picaduras anteriores	0. No reacción	2/1	12/2	15/6	9/3	38/12
	1. Grado 1 Müller	7/2	3/0	11/2	5/2	26/6
	2. Grado 2 Müller	0/0	30/6	8/1	1/0	39/7
	3. Grado 3 Müller	0/0	4/0	52/12	9/2	65/14
	4. Grado 4 Müller	0/0	0/1	2/1	12/3	14/5
	5. PRL	15/4	44/9	78/12	16/7	153/32
	6. GRL	7/4	16/2	35/16	21/5	79/27
Total		31/11	109/20	201/50	73/22	414/103

PRL= Pequeña Reacción Local GRL= Gran Reacción Local (>10 cm, >24 horas)

5.3. Tolerancia al tratamiento

En la base de datos se han registrado tanto las reacciones locales como las reacciones sistémicas. Se hará un especial énfasis en las segundas dada su mayor relevancia clínica.

Reacciones Locales

Cincuenta y tres (11.3%) pacientes tratados con un extracto de *Apis* sufrieron reacciones locales. El 63.1% ocurrieron de forma inmediata (dentro de los 30 minutos siguientes a la administración del extracto) y las restantes fueron tardías.

En el caso de los pacientes tratados con un extracto de *Vespula*, 18 pacientes (12.9%) registraron 45 reacciones locales. Inmediatas fueron 29 (64.4%) y tardías 16.

Tanto con el extracto de *Apis* como con el de *Vespula*, alrededor del 50% de las reacciones ocurrieron con las dos dosis superiores (80 y 100 µg de veneno)

Reacciones Sistémicas

Con el extracto de *Apis* se recogieron 108 reacciones (todas inmediatas) en 51 pacientes. La frecuencia de reacciones por dosis se recoge en la Tabla 13. Resaltar que con el extracto de *Vespula* no se han registrado reacciones sistémicas.

Tabla 13: Frecuencia de reacciones sistémicas con el extracto de Apis/dosis

Dosis (µg de veneno)	<i>Apis</i>
0.1	1
1	0
5	1
10	10
20	10
30	1
40	22
60	13
80	14
100	33
200	2
No precisado	1

Si se analiza la tolerancia al tratamiento de acuerdo a la reacción sufrida por el paciente en la última picadura, se registra la mayor frecuencia de reacciones en los pacientes con reacción previa grado 3-4 de Müller. Así, en los pacientes que tuvieron una reacción grado 1 de Müller, no se produjeron reacciones sistémicas. En los que tuvieron una reacción grado 2 se registraron el 10.4% de las reacciones en 7 pacientes (el 13.7% de los pacientes que tuvieron reacciones sistémicas y el 20% sobre todos los pacientes que tuvieron una reacción grado 2 en el diagnóstico). En los que tuvieron una reacción grado 3 se registraron el 66%

de las reacciones en 34 pacientes (el 66.7% de los pacientes que tuvieron reacciones sistémicas y el 27.6% sobre todos los pacientes que tuvieron una reacción grado 3 en el diagnóstico) y en aquellos que tuvieron una reacción grado 4 ocurrieron el 23.6% de las reacciones en 10 pacientes (el 19.6% de los pacientes que tuvieron reacciones sistémicas y el 11.9% sobre todos los pacientes que tuvieron una reacción grado 4 en el diagnóstico)

A continuación (Tabla 14) se detallan cada una de ellas, tal y como aparecen recogidas en la base de datos (descripción, tratamiento y actitud ante la reacción).

Tabla 14: Descripción de las reacciones sistémicas, tratamiento de las mismas y actitud ante la reacción

Sistemicas_descripcion	Sistemicas_tratamiento	Sistemicas_actitud
Prurito faríngeo, tos y ansiedad	Antihistamínico	Con 5 µg se repite dosis
Prurito faríngeo y tos	Antihistamínico	Reducir dosis al 50%
Prurito palmar y facial 15 minutos tras la administración	Antihistamínico oral	Se repetirá dosis
Rubeosis y hormigueo facial, malestar y prurito generalizado	Antihistamínico oral	Repetir dosis de 40µg con tolerancia adecuada
Rubeosis facial con inquietud y prurito generalizado	Antihistamínico oral	Mantiene dosis
Disnea y sibilantes	Salbutamol inhalado y elastina. Respuesta adecuada.	Se reduce la dosis a 5 µg con buena tolerancia
Rinitis	Antihistamínico	Antihistamínico antes de administrar la ITV
Reacción grado 3 de Müller (urticaria y dificultad respiratoria)	ADRENALINA	Se reduce dosis a 50%
Reacción grado 3 de Müller (urticaria, dificultad respiratoria, malestar general).	Adrenalina 0,5 subcutánea (sc)	Se reduce dosis a 50%
Urticaria y malestar general (grado 1 de Müller)	Antihistamínico y corticoide oral	Premedicación con antihistamínicos. Se reparte la dosis 0,5+0,5
Urticaria y malestar general	Antihistamínico previo a ITV	0,5 cc y pasada media hora 0,5 cc en el otro brazo

Sistemicas_descripcion	Sistemicas_tratamiento	Sistemicas_actitud
Prurito palmar	Antihistamínico	Repetimos dosis con buena tolerancia
Reacción grado 1 de Müller (prurito generalizado)	Antihistamínico y corticoide oral	Se mantuvo dosis
Prurito palmo plantar (reacción grado 1 de Müller)	Antihistamínico	Repetir dosis
Prurito palmo-plantar (reacción grado 1 de Müller)	Antihistamínico	Se repitió dosis hasta tolerancia adecuada.
Prurito generalizado, malestar general y rubeosis facial.	Adrenalina 0,3 cc	Repartir dosis 0,5+0,5
Reacción grado 1 Müller (prurito generalizado).	Antihistamínico.	Se repitió dosis
Reacción grado 2 Müller (prurito palmo plantar y angioedema).	Antihistamínicos y corticoides	Disminución de dosis al 50%.
Prurito generalizado, urticaria	Antihistamínico+corticoide oral	Disminución de dosis a 50%
Prurito palmo-plantar+ malestar general+hiperemia ocular	Adrenalina s.c.	Reducción y fraccionamiento de dosis a 50%.
Rubeosis facial+prurito generalizado a la dosis de 1cc (100 µg) que había tolerado anteriormente varias veces	ADRENALINA 0,5 CC	Premedicación y repartir dosis 0,5+0,5
Urticaria generalizada	Adrenalina+Antihistamínico	Premedicación+repartir dosis+mantener dosis
Rubeosis facial, urticaria y angioedema	Adrenalina	Se reduce dosis a 0,6 cc
Prurito palmar y generalizado (reacción grado1 de Müller).	Antihistamínico	Se repitió dosis
Rinoconjuntivitis y prurito generalizado: reacción grado1 de Müller	Antihistamínico en preadministración	Se mantiene pauta
Prurito palmo-plantar	Antihistamínicos+corticoides orales	Reducir dosis 50%
Prurito palmo-plantar, Rinoconjuntivitis, dolor abdominal	Adrenalina+corticoide+ Antihistamínico	Repartir dosis 0,5+0,5
Prurito palmo-plantar, sensación de mareo	Adrenalina	Reducir dosis

Sistemicas_descripcion	Sistemicas_tratamiento	Sistemicas_actitud
Reacción grado 1 de Müller (prurito palmoplantar y rubeosis facial)	Antihistamínico	Reducir dosis 50%
Reacción grado 1 de Müller	Antihistamínico	Reducir dosis al 50%
Reacción grado3 de Müller (urticaria y dificultad respiratoria)	Adrenalina 0,3 cc	Reducir dosis a la última tolerada
Reacción grado3 de Müller	Adrenalina 0,3	Se mantuvo dosis
Eritema facial	Antihistamínicos	Premedicación+disminuir a última tolerada
Urticaria generalizada y dolor cólico abdominal,	Adrenalina 0,3	Repartir dosis
Urticaria generalizada	Corticoide oral	Se reduce dosis a 0,4+0,4
Prurito, urticaria , angioedema	Adrenalina 0,3 cc	Reducción de dosis a la última tolerada
Prurito facial y rubeosis	Adrenalina	Disminución de dosis a la última tolerada; repartir dosis
Prurito generalizado, rubeosis facial	Antihistamínicos+corticoide oral	Se redujo la dosis a la última tolerada+repartir dosis
Prurito generalizado, rubeosis facial	Antihistamínico+corticoide oral	Se redujo a la última tolerada+repartir dosis
Grado 3 Müller	Adrenalina	Repartir dosis 0,5 + 0,5
Rubeosis facial, disnea, se substituyo Pharmalgen por Aquagen.	Antihistamínico + corticoide	Disminución de dosis a la última tolerada
Tras administración de 0,4 cc prurito palmo-plantar, rubeosis facial y urticaria	Adrenalina	Se pasa a Aquagen
Purito palmoplantar reacción grado 1 de Müller	Antihistamínico	Repetir dosis
Reacción grado3 de Müller	Adrenalina	Reducción de dosis a la última tolerada
Reacción grado 3 de Müller	Adrenalina	Reducción a la última tolerada
Reacción grado 3 de Meller	Adrenalina	Disminución a la ultima tolerada
Reacción grado 3 de Müller	Adrenalina	0,5 + 0,5 con buena tolerancia
Urticaria...	Adrenalina	Disminución de dosis a última tolerada

Sistemicas_descripcion	Sistemicas_tratamiento	Sistemicas_actitud
Prurito generalizado	Antihistamínico	Repetir dosis
Prurito generalizado reacción grado 1 de Müller	Antihistamínicos	Reducción dosis a ultima tolerada
Prurito generalizado		Repartir dosis. Premedicación con Antihistamínico
Prurito palmoplantar y generalizado	Antihistamínico	0,5+ 0,5 (hasta febr2004 1 cc adecuada tolerancia)
El 06 de febrero de 2008 tras 1 año en dosis de mantenimiento presentó 15 minutos tras la dosis prurito palmo-plantar, rubeosis facial y ocular, no disnea...	Se administró 0,3 cc de adrenalina cediendo la reacción.	Actitud: próxima dosis 0,5+0,5 en dos tiempos. AQUAGEN DESDE MAYO 2008.
Reacción grado 1 de Müller	Antihistamínicos + corticoide	Repite dosis
Reacción grado 1 de Müller	Antihist	Repetir dosis
Reacción grado 1 de Müller	Antih corticost	Repetir y repartir dosis
Reacción grado 1 de Müller	Antihist	Repartir dosis
Prurito palmo-plantar. Grado 1 de Müller	Antihistamínico y corticoide oral	Repartir dosis. Antihistamínico premedicación
Prurito y rubeosis facial	Antihistamínico+ corticoide oral	Antihistamínico premedicación+ repartir dosis en dos tiempos
Urticaria, disnea, mareo, hipotensión	Adrenalina	0,5 + 0,5 cc premedic
Prurito generalizado reacción grado 1 de Müller	Antihistamínico y corticoide oral	Repartir dosis
Reacción grado 4 de Müller tras administración de 100 µg (había tolerado antes la dosis de 100 µg). Se repitió la dosis 1 mes después repartida en dos tiempos (1/2 h + 1/2 h) a la segunda dosis reacción semejante pero mucho menos intensa.	Adrenalina 3 dosis en una hora	Disminuir dosis y repartir 0,4+ 0,4. Premedicación. Se pasa a AQUAGEN tolerancia adecuada
Prurito palmo-plantar y tos	Adrenalina	Disminuir dosis

Sistemicas_descripcion	Sistemicas_tratamiento	Sistemicas_actitud
En enero de 2005 tras año y medio de ITV sin problemas tras las administración de 100 µg presentó malestar general y rubeosis facial, con edema palpebral (no disnea). En las siguientes dosis se repartió la administración en dos tiempos (0,5+0,5) repitiéndose la reacción.	Adrenalina	AQUAGEN: 1cc cada mes: TOLERANCIA ADECUADA
Rubeosis facial,	Adrenalina + antihistamínicos	0,5+ 0,5 en dos tiempos, Antihistamínico preadministración
Rubeosis y urticaria sin disnea tras vacuna	Adrenalina	0,5+0,5 cc + Antihistamínico
Prurito palmo-plantar (no urticaria)	Antihistamínico	Repetir dosis Antihistamínico preadministración
Prurito faríngeo, cuero cabelludo y labios (no urticaria)	Antihistamínico	Antihistamínico preadministración
Prurito palmo plantar	Antihistamínico	Premedicación con antihistamínico
Prurito generalizado	Ebastel	Repetimos dosis de 0,6
Urticaria	Adrenalina	Premedicación + sustituir Pharmalgen por Aquagen
Rubeosis facial	Antihistamínico premedicación	0,5+ 0,5 cc en dos tiempos
Prurito facial	Ebastel	Repetir dosis + Ebastel premedicación
Prurito faríngeo, malestar	Antihistamínico	Antihistamínico premedicación. 0,5 + 0,5 en dos tiempos
Rubeosis, urticaria, no disnea. Diagnostico urticaria facticia. Triptasa: < 1 mcg/l	Adrenalina	0,5+0,5 en dos tiempos. Antihistamínico premedicación
Tras 6 dosis de 1 cc (100 µg) presentó urticaria+ disnea, que requirió adrenalina. A la siguiente dosis se repartió en 0,5+0,5 en dos tiempos (intervalo de media hora) presentando urticaria+disnea (TRIPTASA: 8,14 mcg/L).	Adrenalina	0,5+0,5 y al persistir la reacción: AQUAGEN

Sombreados en amarillo aparecen los pacientes a los que se sustituyó el tratamiento habitual (Pharmalgen) por Aquagen, por las razones anteriormente expuestas.

Todas las reacciones cedieron con adrenalina y medicación sintomática sin ningún accidente grave.

De los 242 pacientes que recibieron la dosis de mantenimiento de la ITV en sus Centros de Salud sólo se han registrado dos reacciones: la primera una probable reacción vasovagal, la segunda una reacción urticariforme surgida dos horas tras la administración de la ITV. De ello se desprende que las reacciones adversas en Centros de Salud son anecdóticas, aunque hay que considerar que los pacientes remitidos al ambulatorio eran seleccionados fundamentalmente por cuestiones de tolerancia al tratamiento.

5.4. Evolución de las pruebas cutáneas

Uno de los parámetros clásicos a la hora de monitorizar a los pacientes con AVH es ver la evolución de las pruebas cutáneas por intradermo-reacción, considerando que un incremento de la concentración de extracto para obtener una respuesta cutánea equivalente a la basal refleja un cierto grado de respuesta protectora.

De los pacientes en los que la prueba cutánea con el extracto de *Apis* resultó positiva, se hace un resumen en la Tabla 15. Los resultados de los que dieron positivo con el extracto de *Vespula* se registran en la Tabla 16.

Tabla 15: Evolución pruebas cutáneas (basal – final) en pacientes tratados con Apis

		Pos-Tratamiento			
		1 mcg	0,1 mcg	0,01 mcg	NEGATIVA
Pre-Tratamiento	1 mcg	17	5	0	8
	0,1 mcg	59	126	4	15
	0,01 mcg	35	69	15	5

Vemos que, de los 358 pacientes a los que se realizó la prueba, al final del tratamiento se necesitó una concentración superior a la basal, para que la respuesta fuera positiva, en 163 (45.5%) y la prueba se hizo negativa en 28 pacientes (7.8%).

Tabla 16: Evolución pruebas cutáneas basales y tras finalizar el tratamiento con *Vespula*

		Pos-Tratamiento			
		1 mcg	0,1 mcg	0,01 mcg	NEGATIVA
Pre-Tratamiento	1 mcg	8	0	0	1
	0,1 mcg	27	17	1	5
	0,01 mcg	16	16	3	2

En el caso de *Vespula*, de los 96 pacientes a los que se realizó la prueba, al final del tratamiento se necesitó una concentración superior a la basal, para que la respuesta fuera positiva, en 59 (61.5%, porcentaje superior al obtenido con el extracto de abeja) y la prueba se transformó en negativa en 8 pacientes (8.3%).

En el seguimiento que se hizo a los pacientes tras finalizar el tratamiento, de los vacunados con un extracto de abeja, la prueba cutánea se hizo negativa en 72 pacientes más. De los 28 en los que se hizo negativa justo al finalizar el tratamiento, en 27 continuó siendo negativa. Solo en 1 se hizo la prueba cutánea positiva. Esto significa que la prueba se ha hecho negativa en un total de 99 pacientes.

En el caso de los vacunados con un extracto de avispa, además de los 8 pacientes en los que la prueba fue negativa justo al finalizar el tratamiento (y continuó siéndolo en el seguimiento posterior a la finalización del tratamiento), la prueba se hizo negativa en 13 pacientes más, lo que hace un total de 21 pacientes.

En el punto 5.7 se analizará la evolución de las pruebas cutáneas en los pacientes que sufrieron repicaduras espontáneas durante y tras el tratamiento.

5.5. Evolución de la IgE a extracto completo

En los pacientes vacunados con un extracto de *Apis*, se dispone de datos basal y final en 349 pacientes. La media de IgE desciende en estos pacientes -8.93 kU/L (basal: 12.35, final: 4.13, IC 95%: -11.1, -6.75). Si analizamos estos datos de forma cualitativa, podemos ver que la IgE se hace negativa (<0,35 kU/L) en 39 pacientes (11.2%). Estos datos se pueden ver en la Tabla 17.

Tabla 17: Cambios en la IgE por paciente vacunado con extracto de *Apis*

		IgE al finalizar el tratamiento						
		Clase 0	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5	Clase 6
IgE Basal	Clase 1	8	9	1	0	0	0	0
	Clase 2	20	23	70	4	0	0	0
	Clase 3	8	13	79	41	1	0	0
	Clase 4	1	1	16	22	2	0	0
	Clase 5	2	1	3	14	3	0	0
	Clase 6	0	0	0	3	3	1	0

Durante la monitorización posterior a la finalización del tratamiento, la IgE al extracto completo se hizo negativa en 35 pacientes más, lo que hace un total de 74 pacientes.

En los vacunados con el extracto de *Vespula* esta reducción fue de -5.00 (basal: 8.05, final: 3.77, IC 95%: -9.1, -0.90). Aunque esta caída es menor que en los vacunados con *Apis*, el porcentaje de pacientes en los que la IgE se hace negativa es sensiblemente superior (33 pacientes ,36.3%, Tabla 18).

Tabla 18: Cambios en la IgE por paciente vacunado con extracto de *Vespula*

		IgE al finalizar el tratamiento						
		Clase 0	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5	Clase 6
IgE Basal	Clase 1	6	1	2	1	0	0	0
	Clase 2	23	6	11	2	0	0	0
	Clase 3	4	3	15	8	1	0	0
	Clase 4	0	0	2	2	0	0	0
	Clase 5	0	0	0	2	0	0	0
	Clase 6	0	0	0	1	1	0	0

Durante la monitorización posterior a la finalización del tratamiento, la IgE al extracto completo se hizo negativa en 7 pacientes más, lo que hace un total de 40 pacientes.

5.6. Determinación de la IgE a los alérgenos principales de *Apis* y *Vespula*.

En 89 pacientes se analizó el perfil molecular de sensibilización, antes del inicio de la ITV. Los alérgenos más prevalentes fueron la fosfolipasa A2 (Api m 1), y la hialuronidasa (Api m 2) en el caso de los pacientes diagnosticados de hipersensibilidad a abeja, y el Antígeno 5 (Ves v 5 / Pol d 5), y la fosfolipasa (Ves v 1 / Pol d 1) en el caso de los diagnosticados de hipersensibilidad a vespídos (Figura 5), Los valores medios de concentración de IgE a los diferentes alergenios (Figura 6) están de acuerdo con los datos de prevalencia. Un gran porcentaje de pacientes mostró sensibilización conjunta a hialuronidasa de abeja y de *Vespula*. El 46,2% de los pacientes alérgicos a abeja fueron positivos a Api m 2 y Ves v 2. En los pacientes alérgicos a *Vespula*, este porcentaje fue del 41,7%. En contraste, la fosfolipasa (Api m 1, Ves v 1, Pol d 1) y el antígeno 5 (Ves v 5, Pol d 5) fueron mucho más discriminantes del tipo de sensibilización (abeja o avispa). En el caso de los pacientes alérgicos a avispa, se detecta una mayor prevalencia y nivel de IgE de los alergenios de *Vespula* respecto a los de *Polistes*, de acuerdo con la prevalencia de las especies en nuestra área geográfica.

Figura 5. Perfil de sensibilización basal a alérgenos principales del veneno de abeja y avispa.

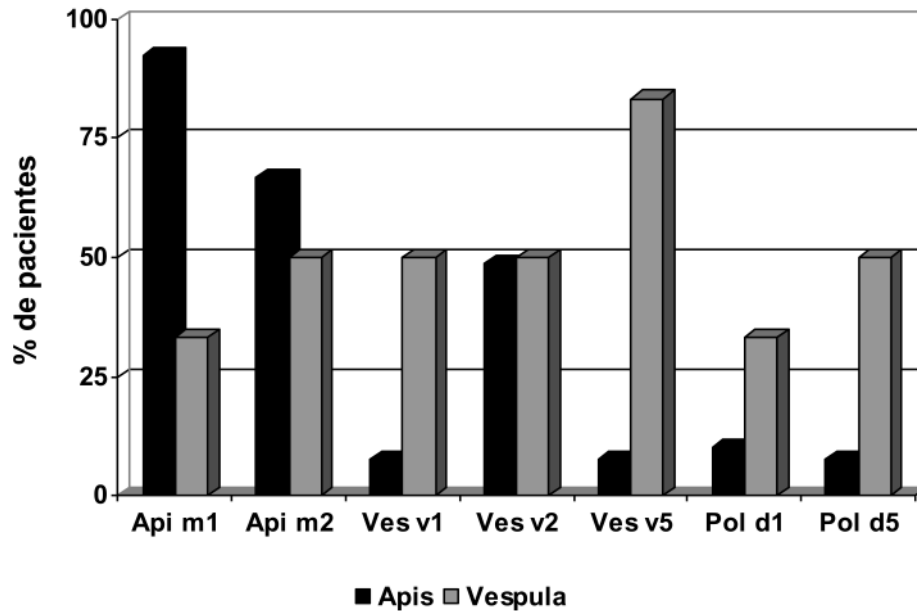
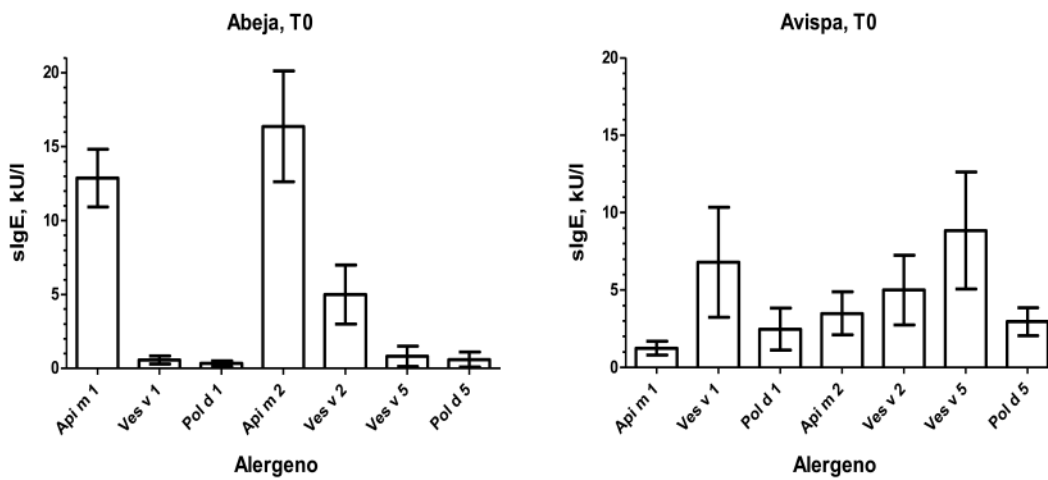


Figura 6. Concentración basal media (kU/l) de los alérgenos principales de abeja y avispa. Se indica el valor medio y su error estándar.



Se analizó la evolución de la IgE a los alérgenos principales del veneno de *Apis* y *Vespula* (fosfolipasa, hialuronidasa de abeja y antígeno 5) en 35 pacientes tras 3 años de tratamiento con inmunoterapia específica. La comparación se realizó respecto a los valores obtenidos de forma previa al inicio del tratamiento. Para poder analizar

adecuadamente la evolución sufrida en cada alérgeno, el análisis se efectuó de acuerdo al tipo de sensibilización y, en consecuencia, al tratamiento recibido por cada paciente (27 pacientes en el caso de abeja y 8 para avispa).

5.6.1. Pacientes en tratamiento con extracto de *Apis mellifera*

5.6.1.1. Fosfolipasa (*Api m 1*)

En el grupo de pacientes en tratamiento con un extracto de *Apis* se observa un descenso significativo, tras 3 años de tratamiento, en el valor de la IgE a la fosfolipasa A2, al aplicar el test no paramétrico de los signos, tal y como se observa en la siguiente tabla:

Tabla 19: Variación en los valores de IgE a *Api m 1*

Api m 1	N	Mediana	Rango intercuartílico	p-valor
T0	89	5.05	18.13	
T36	27	1.83	3.75	
DIFF	27	1.52	13.45	<.0001

5.6.1.2. Hialuronidasa (*Api m 2*)

Se observa un descenso significativo, tras 3 años de tratamiento, en el valor de la IgE a hialuronidasa de abeja (*Api m 2*), tal y como se observa en la Tabla 20.

Tabla 20: Variación en los valores de IgE a *Api m 2*

Api m 2	N	Mediana	Rango intercuartílico	p-valor
T0	89	6.43	33.19	
T36	27	5.27	11.98	
DIFF	27	0.79	29.68	0.0270

5.6.2. Pacientes en tratamiento con extracto de *Vespula*

5.6.2.1. *Fofolipasa (Ves v1)*

No se observa un descenso significativo en los niveles de IgE a fosfolipasa (Ves v 1) en los 8 pacientes analizados en tratamiento con un extracto de *Vespula* (Tabla 21)

Tabla 21: Variación en los valores de IgE a Ves v 1

Ves v 1	N	Mediana	Rango intercuartílico	p-valor
T0	36	0.39	4.21	
T36	8	0.20	0.35	
DIFF	8	-0.01	0.18	0.5781

5.6.2.2. *Antígeno 5 (Ves v 5)*

Se observa un descenso significativo, tras 3 años de tratamiento, en los valores de IgE a antígeno 5 (ves v 5) en los 8 pacientes analizados como se observa en la Tabla 22.

Tabla 22: Variaciones en la IgE a Ves v 5

Ves v 5	N	Mediana	Rango intercuartílico	p-valor
T0	36	2.30	6.14	
T36	8	0.53	1.90	
DIFF	8	-1.96	5.59	0.0234

5.7. Eficacia clínica

La única forma real de valorar la eficacia del tratamiento es determinando la reacción que sufra el paciente tras una nueva picadura. El paciente puede ser picado de dos maneras: provocada o espontánea. Por motivos que en la discusión se explicarán en detalle, en nuestra Unidad no se realiza la repicadura provocada para valorar la eficacia del tratamiento.

Un total de 219 pacientes, lo que supone un 36.1% del total, han sufrido repicaduras durante y/o tras finalizar el tratamiento. De ellos, 159 (34.0%) estaban tratados con un extracto de *Apis* y sufrieron repicaduras con esta clase de insecto, y 60 (43.2%) estaban tratados con un extracto de *Vespula* y les repicó este insecto.

Si bien estos porcentajes pueden parecer insuficientes para hablar de eficacia clínica, los resultados obtenidos avalan la afirmación de que se trata de un tratamiento de probada eficacia que se mantiene, incluso años después de finalizado el tratamiento. Para poder analizar este tema con detalle, para cada uno de los dos venenos se especifica una tabla resumen y a continuación una descripción detallada de los casos, de acuerdo a la reacción inicial sufrida por el paciente y la reacción a la repicadura.

5.7.1. *Apis mellifera*

De los 159 pacientes que fueron repicados, en 141 se registró la reacción sufrida durante el tratamiento con ITV (ver Tabla 23).

Tabla 23: Reacción a la repicadura durante el tratamiento con *Apis*

		Reacción durante el tratamiento con <i>Apis</i>							TOTAL
		No reacción	PRL	GRL	Grado 1 Müller	Grado 2 Müller	Grado 3 Müller	Grado 4 Müller	
Reacción previa al inicio del tratamiento	Grado 1 Müller	8	3						11
	Grado 2 Müller	20	13		1				34
	Grado 3 Müller	40	22		3				65
	Grado 4 Müller	14	13	2	1		1		31
TOTAL		82	51	2	5		1		141

PRL= Pequeña Reacción Local GRL= Gran Reacción Local (>10 cm de Ø y duración >24 horas)

De los 141 pacientes en los que se registró la reacción a la repicadura durante el tratamiento, en 135 (95.7%) la reacción sufrida fue local o inexistente. En los 6 casos restantes, en los que se registró una reacción sistémica, ésta fue siempre inferior a la sufrida de forma previa al inicio del tratamiento, aunque en estos casos no se puede hablar de eficacia total y sí de eficacia relativa.

Respecto a los datos de repicadura durante el seguimiento posterior a la finalización de los pacientes, los datos los tenemos en la Tabla 24.

Tabla 24: Reacción a la repicadura tras finalizar el tratamiento con Apis

		Reacción durante el tratamiento con Apis						TOTAL
		No reacción	PRL	GRL	Grado 1 Müller	Grado 2 Müller	Grado 3 Müller	
Reacción previa al inicio del tratamiento	Grado 1 Müller	4	2					6
	Grado 2 Müller	13	6		2			21
	Grado 3 Müller	20	6		1		1	28
	Grado 4 Müller	11	6		1			18
TOTAL		48	20		4		1	73

PRL= Pequeña Reacción Local GRL= Gran Reacción Local (>10 cm de Ø y duración >24 horas)

En este caso, en 68 pacientes (93.2%) el tratamiento fue clínicamente eficaz, es decir, tras la repicadura sufrieron solo reacción local o bien no sufrieron reacción alguna. Si tabulamos el tiempo transcurrido entre la finalización del tratamiento y la repicadura, tendremos una idea exacta de la duración de la eficacia. La tabla de datos clasifica a los pacientes en función de la severidad de la reacción a la picadura en el momento del diagnóstico, durante el tratamiento y en el seguimiento posterior, una vez finalizados los 5 años de tratamiento (Tabla 25).

Tabla 25: Reacción sufrida a la repicadura durante y tras finalizar el tratamiento con Apis y tiempo transcurrido entre el fin del tratamiento y la repicadura

Severidad de la reacción			Tiempo (años) entre fin tratamiento y picadura posterior								TOTAL
Int.	Fin	Mon.	<1	1-2	2.1-3	3.1-4	4.1-5	5.1-6	6.1-7	7.1-8	
	NR	NR	2		1						6
		PRL		1	1						
	PRL	NR						1			
	NR	NR		2	2	1		1			21
		PRL				1	1				
	PRL	NR				1				1	
		PRL	1		1						
		1M	1								
	NP	NR	2	1	1				1		
		PRL	1	2							
	NR	NR	1	3	3	2	3		1		28
		PRL		1		1				1	
		3M			1						
	PRL	NR		2					1		
		PRL		1		1					
	NP	NR		3	1						
		PRL	1								
		1M				1					
	4M	NR	NR	2	1		1				
PRL						1					
PRL		NR		1					1		
		PRL	1	1					1		
1M		PRL							1		
NP		NR		2	1	1					
		PRL		1							
		1M				1					

Int.= Intensidad de la reacción en el diagnóstico Fin= Intensidad de la reacción durante el tratamiento
 Mon.= Intensidad de la reacción tras finalizar el tratamiento. PRL= Pequeña reacción local
 GRL=Gran reacción local (>10 cm de Ø y duración >24 horas) NR= Sin reacción a la repicadura.
 1M= reacción grado 1 de Müller. 2M= reacción grado 2 de Müller. 3M= reacción grado 3 de Müller.
 4M= reacción grado 4 de Müller NP= No picado

Vemos que la eficacia se mantiene incluso 8 años después de finalizado el tratamiento. Sólo 4 pacientes sufrieron una reacción sistémica aunque en todos ellos la intensidad de la reacción sufrida fue de menor intensidad que la que motivó el inicio del tratamiento. Resaltar que dos pacientes que habían sufrido una reacción sistémica durante el tratamiento, en uno la reacción a la repicadura tras finalizar la ITV fue inexistente 7 años después y el otro sufrió solo una reacción local a los 8 años de finalizado el tratamiento.

5.7.2. *Vespula spp*

De los 60 pacientes que fueron repicados, en 53 se registró la reacción sufrida durante el tratamiento (ver Tabla 26).

Tabla 26: Reacción a la repicadura durante el tratamiento con *Vespula*

		Reacción durante el tratamiento con <i>Vespula</i>						TOTAL
		No reacción	PRL	GRL	Grado 1 Müller	Grado 2 Müller	Grado 3 Müller	
Reacción previa al inicio del tratamiento	Grado 1 Müller	3	3					6
	Grado 2 Müller	3	9					12
	Grado 3 Müller	15	9	1				25
	Grado 4 Müller	5	5					10
	TOTAL	26	26	1				53

PRL=Pequeña reacción local GRL=Gran reacción local (>10 cm de Ø y duración >24 horas)

De los 53 pacientes en los que se registró la reacción a la repicadura durante el tratamiento, en el 100% de ellos la reacción sufrida fue local o inexistente.

Respecto a los datos de repicadura durante el seguimiento posterior a la finalización de los pacientes, los datos los tenemos en la Tabla 27.

Tabla 27: Reacción a la repicadura tras finalizar el tratamiento con Vespula

		Reacción durante el tratamiento con <i>Vespula</i>						TOTAL
		No reacción	PRL	GRL	Grado 1 Müller	Grado 2 Müller	Grado 3 Müller	
Reacción previa al inicio del tratamiento	Grado 1 Müller	1	1					2
	Grado 2 Müller	2	1	1				4
	Grado 3 Müller	5	4	1				10
	Grado 4 Müller	5	2	1				8
	TOTAL	14	8	3				24

PRL=Pequeña reacción local GRL=Gran reacción local (>10 cm de Ø y duración >24 horas)

En el 100% de los pacientes el tratamiento fue clínicamente eficaz, es decir, tras la repicadura espontánea presentaron solo una reacción local o no sufrieron reacción alguna. Se tabuló también el tiempo transcurrido entre la finalización del tratamiento y la repicadura, lo que nos dará una idea exacta de la duración de la eficacia. La tabla se construyó de igual forma que se hizo en la tabla 28.

Tabla 28: Reacción sufrida a la repicadura durante y tras finalizar el tratamiento con Vesputa y tiempo transcurrido entre el fin del tratamiento y la repicadura

Severidad de la reacción			Tiempo (años) entre fin tratamiento y picadura posterior								TOTAL
Int.	Fin	Mon.	<1	1-2	2.1-3	3.1-4	4.1-5	5.1-6	6.1-7	7.1-8	
1M	NR	NR		1							2
	PRL	PRL				1					
	NR	NR	1								4
	PRL	NR		1							
		PRL				1					
	NP	GRL		1							10
	NR	NR		3					1		
		PRL	NR					1			
	PRL	PRL	1	2							
	GRL	NR		1							8
	NP	GRL			1						
		NR	NR		1						
	PRL	NR		1	1						
	PRL	GRL				1					8
		NR	NR		1			1			
	NP	NR		1							8
		PRL		1						1	

Int.= Intensidad de la reacción en el diagnóstico Fin= Intensidad de la reacción durante el tratamiento
 Mon.= Intensidad de la reacción tras finalizar el tratamiento PRL=Pequeña reacción local
 GRL=Gran reacción local (>10 cm de Ø y duración >24 horas) NR= Sin reacción a la repicadura
 1M= reacción grado 1 de Müller 2M= reacción grado 2 de Müller 3M= reacción grado 3 de Müller
 4M= reacción grado 4 de Müller NP= No picado

La eficacia se mantiene años después de finalizado el tratamiento, y que se mantiene en el 100% de los pacientes. Ninguno sufrió una reacción sistémica tras repicadura una vez finalizado el tratamiento.

Como complemento a estos datos, se analizó la evolución de la IgE y pruebas cutáneas en los pacientes repicados, comparando estas cifras con las obtenidas en el global de la muestra.

En el caso de las pruebas cutáneas, los resultados obtenidos son muy semejantes (Tabla 29) entre ambos grupos de pacientes (global y repicados) y, como ocurría en la muestra total, los porcentajes son superiores en los tratados con *Vespula* que en los tratados con *Apis*.

Tabla 29: Resultados de la prueba cutánea (expresados en porcentaje de pacientes) al finalizar el tratamiento en pacientes repicados y en la muestra total

	Negativa		Positiva a una concentración superior a la basal	
	Global	Repicados	Global	Repicados
<i>Apis</i>	7.8%	8.6%	45.5%	51.0%
<i>Vespula</i>	8.3%	5.7%	61.5%	67.9%

En el caso de la IgE a extracto completo, en los tratados con un extracto de *Apis* la IgE se hace negativa en el 9.3% de los repicados (11.2% en el total de la muestra), mientras que en los tratados con *Vespula* estos porcentajes fueron del 22.6% y 36.3% respectivamente.

6. DISCUSIÓN

La alergia al veneno de himenópteros es una patología que, si bien no tiene una alta prevalencia, puede suponer un riesgo vital para el paciente que la sufre. Por ello, su abordaje terapéutico comprende, no solo el tratamiento inmediato de la reacción alérgica y la aplicación de medidas preventivas que disminuyan la posibilidad de que el paciente sea picado, sino también el tratamiento etiológico mediante la administración de extractos alérgicos (inmunoterapia específica, ITV) con el veneno de himenópteros. La eficacia de la ITV está claramente establecida a partir de los estudios realizados en los años 70 en los que se comparó el veneno puro de himenópteros frente a placebo y frente a un extracto preparado con el cuerpo entero del insecto, que era la forma en que se inició la inmunoterapia frente a estos insectos (52, 53). A partir de esta fecha, se han publicado numerosos trabajos que han ido abordando diferentes aspectos del tratamiento con ITV. Estos trabajos han ido encaminados a constatar el grado de eficacia y seguridad del tratamiento mediante el uso de nuevas pautas que permitieran reducir la duración de la fase de iniciación o de incremento de dosis y así poder alcanzar en el menor tiempo posible la dosis óptima de mantenimiento y tener al paciente protegido frente a la reacción que pudiera ocasionar una nueva picadura. Otros trabajos inciden en hacer una valoración real de la eficacia del tratamiento. Establecer durante cuanto tiempo se mantiene ésta una vez el procedimiento se haya completado con éxito.

Junto con la eficacia, existe otro punto importante para el clínico: poder hacer un seguimiento y monitorización adecuados. Esto conlleva, en primer lugar, establecer un sistema que permita tabular a los pacientes y, de esta manera, poder saber cual ha sido su evolución desde la última revisión. En segundo lugar, establecer en la práctica clínica que pruebas son las que, de la forma más objetiva posible, permitan emitir un juicio

clínico sobre la evolución de los pacientes. En este último caso, a las pruebas tradicionalmente usadas en la práctica clínica alergológica (repicadura, pruebas cutáneas y determinación de IgE al extracto completo), se ha sumado en los últimos tiempos el diagnóstico por componentes, es decir, la determinación de IgE frente a los alérgenos más relevantes.

Uno de los principales retos diagnósticos en la AVH es establecer cual es el veneno responsable de la reacción alérgica en caso de que el paciente presente doble sensibilización. El primer paso sería descartar una posible reactividad cruzada debida a los carbohidratos presentes en ciertos alérgenos principalmente hialuronidasa y fosfolipasa A2, tal y como describen algunos trabajos recientemente publicados (80,81). Una vez descartada dicha posibilidad, la determinación de IgE a los alérgenos principales, nos puede ofrecer una mayor certeza diagnóstica y, al mismo tiempo, permitiría establecer con mayor seguridad el tratamiento más adecuado para proteger de la forma más efectiva a los pacientes con anafilaxia por AVH. Los resultados que se han obtenido en la muestra de pacientes a los que se les realizó la determinación de IgE a alérgenos individuales indican la importancia de la fosfolipasa A2 y del antígeno 5 como alérgenos principales del veneno de abeja y avispa respectivamente. Estos alérgenos se pueden considerar como marcadores específicos de sensibilización a esos venenos, en contraste con la hialuronidasa. Un punto importante en el caso de los pacientes alérgicos a avispa es la naturaleza de la especie sensibilizante (*Vespula* o *Polistes*). La mayoría de los pacientes a los que se realizó el diagnóstico molecular tenían IgE a antígeno 5 y/o fosfolipasa de *Vespula* (Ves v 5 y/o Ves v 1), si bien, un porcentaje importante de estos pacientes también tenían IgE a los correspondientes alérgenos de *Polistes* (Pol d 5 y/o Pol d 1), aunque el nivel de IgE era en general menor. Estos

resultados podrían explicarse por la existencia de reactividad cruzada parcial entre los antígenos 5 y las fosfolipasas de *Vespula* y *Polistes*. Aunque estos alergenicos no están glicosilados, presentan una identidad en su secuencia de aminoácidos en torno al 50-60% (22,82). No obstante, pueden existir sensibilizaciones específicas de *Vespula* o *Polistes*. En nuestra área geográfica la mayor parte de los pacientes específicos lo eran a *Vespula*, probablemente debido a que es el género predominante en el ambiente.

También se determinó la IgE a los alergenicos principales de *Apis* y *Vespula* tras 3 años de tratamiento. Se detectó un descenso significativo en el nivel de la IgE a la fosfolipasa de abeja (Api m 1), en los pacientes tratados con un extracto de *Apis*, así como en el nivel de la IgE a antígeno 5 (Ves v 5) en los pacientes tratados con un extracto de *Vespula*. Estos resultados resultan prometedores, pero para poder establecer su verdadero valor pronóstico en relación a la eficacia del tratamiento, hubiera sido necesario valorar si estos cambios son diferentes en los pacientes con reacción positiva o negativa a la repicadura. Solo un reducido número de estos pacientes ha sufrido repicadura en estos 3 años de tratamiento, por lo que no ha sido posible establecer si existen diferencias o no. Esperemos que el seguimiento de estos pacientes en un futuro pueda dar respuesta a esta hipótesis.

Otro aspecto clínicamente relevante en la ITV es establecer la duración de la eficacia del tratamiento una vez éste se ha interrumpido tras 5 años de administración. La única prueba que hoy día continúa siendo definitiva para poder constatar si el tratamiento ha sido eficaz o no es la repicadura. Como ya se mencionó existen dos tipos de repicadura: la espontánea (el paciente es picado de forma accidental) y la provocada (el paciente es picado en el hospital). La repicadura espontánea da una medida real de la eficacia del tratamiento. Esto se fundamenta en los siguientes puntos: dejando aparte cuestiones

éticas inherentes al procedimiento, la cantidad de veneno inyectada en una picadura depende, no solamente de la duración de la picadura, sino también de la edad del insecto y de la cantidad de veneno que contiene el saco en el momento de la picadura (83,84). Generalmente los insectos usados en las Unidades de Inmunoterapia para hacer la prueba de provocación provienen de las colmenas, los apicultores saben que las abejas que permanecen en las colmenas son las más jóvenes: por tanto, su saco de veneno contiene menos veneno que el de una abeja adulta (85). La cantidad de veneno puede verse notablemente reducida si el insecto ha picado previamente sin perder su aguijón. Cuando una avispa se siente amenazada (lo que puede ocurrir en una prueba de repicadura) puede expulsar parte de su veneno antes de realizar la picadura. Por otra parte se sabe que un resultado negativo en una prueba de repicadura no es suficiente para descartar que el paciente sufra una reacción sistémica en una picadura espontánea posterior (86). Así mismo, no puede descartarse que la prueba de provocación pueda sensibilizar o actuar como un efecto “booster”, especialmente cuando la prueba se realiza después de haber finalizado la inmunoterapia. En nuestra Unidad, se considera que la repicadura espontánea reproduce mejor las condiciones naturales de la exposición que la provocación en laboratorio y que, por tanto, es un marcador más fiable de la eficacia del tratamiento, especialmente en una zona con mucha población rural como es la que cubre nuestra área sanitaria. Para apoyar este argumento valgan los siguientes datos: del total de pacientes analizados, 219 sufrieron una o varias repicaduras espontáneas, el 43% de los alérgicos a avispa y el 34% de los alérgicos a abeja. Los resultados obtenidos señalan que el 95% de los pacientes vacunados con un extracto de *Apis* y el 100% de los tratados con un extracto de *Vespula* no sufrieron más que una reacción local a la repicadura. En definitiva, el tratamiento resulta eficaz y su eficacia se mantiene

después de finalizado el tratamiento. Al analizar la base de datos se observa que, hasta 8 años después que el tratamiento finalizara, el 100% de los pacientes tratados con *Vespula* que sufrieron una nueva picadura, y todos menos cuatro de los tratados con un extracto de *Apis*, no sufrieron reacción sistémica alguna. Estos datos permiten afirmar que nuestros objetivos primarios han sido plenamente alcanzados, demostrando una eficacia, contrastada por repicadura en el medio natural, que se mantiene a largo plazo.

Otro aspecto importante de la AVH es valorar la historia natural de la enfermedad. Estudios previos (27-32) indicaban que había un riesgo de que la reacción sufrida en picaduras posteriores a la primera fuera más grave. Pero estos estudios presentaban una gran variabilidad, dependiendo de la metodología empleada en la recogida de información. En nuestro estudio, en 414 pacientes de los alérgicos a abeja y en 103 de los alérgicos a avispa se pudo recoger el dato de la severidad de la reacción sufrida en la picadura anterior a la que originó una reacción anafiláctica y motivó su estudio en la Unidad. En el 56.0% de los alérgicos a abeja y en el 57.3% de los alérgicos a *Vespula*, la reacción previa fue local y en 74,2% de abeja y 75,6% en el caso de avispa, la reacción fue globalmente de menor intensidad que la que motivó el diagnóstico. Independientemente de la fiabilidad del dato, ya que se basa en la subjetividad de la valoración del paciente, las cifras señalan con precisión que se trata de una enfermedad que, si no es diagnosticada y tratada a tiempo, puede suponer un importante riesgo para los pacientes.

El poder contar con extractos bien caracterizados en lo referente a su contenido en alérgenos mayoritarios, nos permite el poder acortar la fase de incremento de dosis sin que ello vaya en decremento de la seguridad del paciente. Acortar esta fase del tratamiento supone un importante ahorro tanto de los costes directos como de los costes

indirectos que este tratamiento conlleva, ya que las dosis deben ser administradas en la Unidad de Alergia, al menos en esta primera fase. La pauta desarrollada en la Unidad para los pacientes con AVH es una pauta convencional acelerada de 9 dosis (69). Frente a las pautas agrupadas hoy en día usadas frecuentemente (64,65), el esquema utilizado permite reducir el tiempo de permanencia en el hospital tras la administración de cada dosis, no sobrecargando la actividad asistencial de la Unidad y permitiendo que el paciente mantenga su actividad laboral diaria. Aunque el número de visitas es superior al de estos otros esquemas de tratamiento, el balance riesgo/beneficio de esta pauta, es muy favorable ya que, de acuerdo a los resultados de seguridad registrados, el porcentaje de pacientes con reacciones severas fue muy bajo y, en todos los casos, la reacción revertió adecuadamente tras el tratamiento, alcanzándose la dosis óptima de mantenimiento de 100 ó 200 µg de veneno en la totalidad de los pacientes. Se produjeron reacciones sistémicas únicamente en pacientes tratados con extracto de *Apis mellifera*: 108 reacciones sistémicas entre las 31.111 inyecciones administradas lo que da un porcentaje de 0,34%, notablemente inferior a las aparecidas en el estudio multicéntrico de la EAACI (71) que fue del 1,12% (299 reacciones sistémicas de 26.601 inyecciones), aunque en este estudio las pautas son variables y diferentes. En cuanto al porcentaje de reacciones locales, que se registraron en el 11,3% y 12,9% de los pacientes alérgicos a abeja y avispa respectivamente, los valores son superponibles a los publicados previamente (69). Por otra parte, en el estudio de la EAACI (71) se constata que en varios centros la dosis de mantenimiento era administrada por médicos generales, pero que carecen de información suficiente para analizar datos de estos pacientes tratados en Atención Primaria. En nuestro caso, 242 (40%) pacientes recibieron la dosis de mantenimiento de la vacuna en sus centros de salud. Se registraron únicamente dos

reacciones (69): en un caso se trató de una reacción vaso-vagal y en el otro de una reacción urticariforme surgida 2 horas después de administrada la vacuna; en ninguno de los dos casos se modificó el tratamiento. Estos números avalan la administración de la ITV en mantenimiento en Atención Primaria con disponibilidad y contacto directo con las Unidades de Alergia.

Es importante también tratar de establecer el valor de las pruebas cutáneas y de la IgE en la monitorización de los pacientes. Si bien es cierto que resultan imprescindibles a la hora de poder establecer un adecuado diagnóstico de los pacientes, su valor en la monitorización de éstos queda más en duda. En los tratados con un extracto de *Apis*, el porcentaje de pacientes en los que la prueba se hace negativa y que sufrieron repicadura al finalizar el tratamiento o durante el tiempo posterior es inferior al 10%. En los tratados con un extracto de *Vespula*, el porcentaje de pacientes en los que las pruebas cutáneas se hacían negativas era muy bajo, cercano al 6%, mientras que el porcentaje de pacientes en los que la IgE se hacía negativa era notablemente superior.

7. CONCLUSIONES

1. La ITV es eficaz pues protege de reacciones sistémicas a las repicaduras espontáneas (95.7% en el caso de *Apis* y 100% en el caso de *Vespula*).
2. La eficacia de la ITV es duradera y se mantiene hasta 8 años después de haberla finalizado, tanto en los pacientes tratados con un extracto de *Apis* como en los tratados con un extracto de *Vespula*.
3. La pauta utilizada de ITV es segura pues las reacciones adversas son mayoritariamente de poca gravedad y todas controlables con tratamiento.
4. La ITV de mantenimiento se puede administrar con seguridad en centros de Atención Primaria debidamente entrenados.
5. La ITV se acompaña de disminución de la respuesta in vivo al veneno (pruebas cutáneas), así como de la reactividad in vitro mediada por IgE frente al veneno completo y sus componentes moleculares principales (Api m 1 y Ves v 5).
6. A pesar de la disminución de la reactividad in vivo e in vitro frente al veneno, ésta se mantiene en un porcentaje importante de los pacientes tratados con ITV, por lo que su presencia no es predictiva de intolerancia clínica.
7. En ausencia de ITV, las reacciones alérgicas al veneno de himenópteros pueden aumentar de gravedad con picaduras sucesivas.

8. REFERENCIAS

1. M Boquete Paris, FJ Carballada González. Tratamiento de Las reacciones por hipersensibilidad a veneno de himenópteros. JANO 1996; 1152: 228-30
2. Soriano V, Fernández FJ, Cruz MS, Jorró G. Alergia a veneno de himenópteros. Introducción, epidemiología, clínica. En: Peláez A, Dávila IJ, editores. Tratado de Alergología. Ergon, Madrid; 2007. pp 1263-1276. (12)
3. Ávila ML, Blanca M, Miranda A, García J, Rico C, Vega JM. Reacciones alérgicas a véspidos II. Estudio de la distribución de las sensibilidades y reactividades cruzadas de los véspidos frecuentemente encontradas en España. Rev Esp Alergol Inmunol Clin 1989;4:103-10
4. Fernández J. Distribution of vespid species in Europe. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2004;4:319-24
5. <http://www.mapa.es/estadistica/pags/anuario/2007/capitulos/AEA-C24.pdf>
6. http://www.ine.es/prodyser/pubweb/anuario06/anu06_02demog.pdf
7. Castro L. 2003. Hym., VESPIDAE. Asociación Entomológica Galega, AEGA. Documento en línea creado en Enero 2003. Actualizado el 14.12.2003. Disponible desde Internet en: www.aegaweb.com/inventario/hymenoptera/vespidae.htm.
8. ALERGOLOGICA 2005. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica.
9. Habermann E. Bee and wasp venoms. Science 1972;177:314-22

10. Hoffman DR. Allergy to bee venom: In Vitro diagnosis and identification and isolation of allergens. *Cutis NY* 1977;19:763-7.
11. King TP, Sobotka AK, Alagon A, Kochoumian L, Lichtenstein LM. Protein allergens of white-faced hornet, yellow hornet and yellow jacket venoms. *Biochemistry* 1978;17:5165-74.
12. Kemeny DM, Banks B, Lawrence A, Pearce F. The purification of hyaluronidase from the venom of the honey bee (*Apis mellifera*). *Biochem Int* 1981;2:145-51
13. Einarsson R. Components in insect venom and analytical methods. *Allergologie* 1986; 9/1:24-9
14. Müller U R. Insect Sting Allergy: clinical picture, diagnosis and treatment. Gustav Fisher Verlag/VCH Publishers. Stuttgart, New York;1990
15. www.allergen.org
16. Wypych J, Abenounis C, Reisman R. Analysis of differing patterns of cross-reactivity of honey bee and yellow jacket venom-specific IgE: use of purified venom fractions. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989;89:60-6
17. Hemmer W, Focke M, Kolarich D et al. Antibody binding to venom carbohydrate is frequent cause for double positivity to honeybee and yellow jacket venom in patients with stinging-insect allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:1045-52
18. Hoffman DR. Allergens in Hymenoptera venom. XVI: Studies of the structure and cross-reactivities of vespid venom phospholipases. *J Allergy Clin Immunol* 1986;78:337-43

19. Reisman RE, Müller U, Wypych J, Elliot W, Arbesman CE. Comparison of the allergenicity and antigenicity of yellow jacket and hornet venoms. *J Allergy Clin Immunol* 1982;69:268-74

20. Blanca M, García F, Miranda A, Carmona MJ, García J, Fernández J, Terrados S, Vega JM, Juárez C. Determination of IgE antibodies to *Polistes dominulus*, *vespula germanica* and *Vespa crabro* in sera of patients allergic to vespids. *Allergy* 1991;46:109-14.

21. Severino M. European *Polistes* venom allergy. *Ital J Allergol Immunol Clin* 1998;8:527-34

22. Pantera B, Hoffman DR, Carresi L, Cappugi G, Turillazzi S, Manao G, Severino M, Spadolini I, Orsomando G, Moneti G, Pazzagli L. Characterization of the major allergens purified from the venom of the paper wasp *Polistes gallicus*. *Biochim Biophys Acta* 2003;1623:72-81

23. Clark S, Camargo CA. Epidemiology of anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin North Am* 2007;27:145-163

24. Biló BM, Bonifazi F. Epidemiology of insect-venom anaphylaxis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008; 330-7

25. Fernández J, Blanca M, Soriano V, 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;29:1069-74

26. Navarro LA, Peláez A, de la Torre F. Epidemiological factor on hymenoptera venom allergy in a Spanish adult population. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2004;14:134-41

27. Settipane GA, Chafee FH. Natural history of allergy to Hymenoptera. Clin Allergy 1979;9:385-90
28. Woermann U. Untersuchungen zur Naturgeschichte der Insektenstichallergie. Diss. Bern (1985)
29. Mauriello PM, Barde SH, Georgitis JW, Reisman RE. Natural history of large local reactions from stinging insects. J Allergy Clin Immunol 1984;74:494-8
30. Reisman RE, Dvorin DJ, Randolph CC, Georgitis GW. Stinging insect allergy: Natural history and modification with venom immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 1985;76:735-40
31. Van der Zwan JC, Van der Linden PWG. Anaphylactic reactions to bee or wasp stings: results of 308 insect sting provocations. Schweiz Med Wochenschr 1991;121:63-66.
32. Schubert KC, Graft DF, Sobotka AK et al. Do all children with insect allergy need venom therapy? J Allergy Clin Immunol 1983;71:140-6
33. 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: 335-9.
34. Schubert KC, Lichtenstein LM, Sobotka AK et al. Epidemiologic study of insect allergy in children. II. Effect of accidental stings in allergic children. J Pediatr 1983,102:361-5
35. Graf DF, Schubert KC, Sobotka Ak et al. A prospective study of the natural history of large local reactions after Hymenoptera stings in children. J Pediatr 1984;104:664-8

36. Blaauw PJ, Smithuis LO. The evaluation of the common diagnostic methods of hypersensitivity for bee and yellow jacket venom by means of an in-hospital insect sting. *J Allergy Clin Immunol* 1985;75:556-62
37. Müller UR. Bee venom allergy in beekeepers and their family members. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5:343-7
38. Charpin D, Birnbaum J, Vervloet D. Epidemiology of hymenoptera allergy *Clin Exp Allergy* 1994; 24:1010-5
39. Golden DBK, Kagey-Sobotka A, Norman PS et al. Insect sting allergy with negative venom skin test responses. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:897-901
40. EAACI Position Paper. Immunotherapy with hymenoptera venoms. Müller U, Mosbech H editores. *Allergy* 1993; 48 (sup. 14): 37-46.
41. Kontou-Fili K. IgE negative venom anaphylaxis. En: Bonifazi F, Biló MB, Antonicelli E eds. *Insect Allergy, up to date 2000*. Napoles: JGC s.r.l.;2002, p.45-58
42. Chunseng J, Focke M, Léonard R, Jarisch R, Altmann F, Hemmer W. Reassessing the role of hyaluronidase in yellow jacket venom allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 184-90.
43. Altmann F. The role of protein glycosylation in allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;142:99-115
44. Van Ree R. Carbohydrate epitopes and their relevance for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:189-97

45. González-Quintela A, Garrido M, Gude F, Campos J, Linneberg A, Lojo S, Vidal C. Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants in relation to alcohol consumption. *Clin Exp Allergy* 2007;38:152-60
46. Alvarez-Cuesta E, Bousquet J, Canonica WG, Durham SR, Malling HJ, Valovirta E. Standards for practical allergen-specific immunotherapy. *Allergy* 2006;61 (sup. 82):1-20.
47. WHO Position Paper. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. Bousquet J, Lockey RF, Malling HJ, editores. *Allergy* 1998; 44(53):1-42
48. Frazier CA. Allergic reactions to insect sting: A review of 180 cases. *Souther Med J* 1964;57:1028-34
49. Frazier CA. Defence of whole body extract in hyposensitization to insect venom. *Cutis NY* 1977;19:770-2
50. Torsney PJ. Treatment failure: Insect desensitization. *J Allergy Clin Immunol* 1973;52:303-6
51. Reisman RE. Stinging insect allergy-treatment failures. *J Allergy Clin Immunol* 1973;52:257-8
52. Hunt KJ, Valentine MD, Sobotka AK, Benton AW, Amodio FJ, Lichtenstein LM. A controlled trial of immunotherapy in insect hypersensitivity. *N Engl J Med* 1978;299:369-78
53. Müller U, Thurnheer U, Patrizzi R, Sipess J, Hoigne R. Immunotherapy in bee sting hypersensitivity. Bee venom versus wholebody extract. *Allergy* 1979; 34: 369-78

54. Müller UR. Venom immunotherapy: aqueous vs aluminium hydroxide adsorbed extracts. *Allergy* 2004;59:589-95.
55. Golden DB, Lawrence ID, Hamilton RH, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstentein LM. Clinical correlation of the venom-specific IgG antibody level during maintenance venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:386-93
56. Akdis CA, Blesken T, Akdis M, Wütrich B, Blaser K. Role of interleukin 10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998;102:98-106
57. Jutel M, Pichler WJ, Skribic D, Urwyler A, Dahinden C, Müller UR. Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of IFN- γ secretion in specific allergen-stimulated T cell cultures. *J Immunol* 1995;154:4187-94
58. McHugh SM, Deighton J, Stewart AG, Lanchmann PJ, Ewan PW. Bee venom immunotherapy induces a shift in cytokine responses from a TH1 to Th2 dominant pattern: comparison of rush and conventional immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1995;25:828-38
59. Akdis CA, Akdis M, Blesken T, Wymann D, Alkan SS, Müller U, Blaser K. Epitope-specific T cell tolerance to phospholipase A2 in bee venom immunotherapy and recovery by IL-2 and IL-5 in Vitro. *J Clin Invest* 1996;98:1676-83
60. Till SJ, Francis Jn, Nouri-Aria K, Durham SR. Mechanisms of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:1025-34
61. Roever AC, Nenz BM, Worm M. Wasp venom rush immunotherapy induces transient downregulation of B cell surface molecule expression. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;127:226-33.

62. Patriarca G, Nucera E, Roncallo C, Aruanno A, Lombardo C, Decinti M, Pascolini L, Milani M, Buonomo A, Schiavino D. Sublingual immunotherapy with venom for patients with Hymenoptera venom allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:44-8
63. Ruëff F, Bilò MB, Jutel M, Mosbech H, Müller U, Przybilla B; Interest group on Hymenoptera venom allergy of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Sublingual immunotherapy with venom is not recommended for patients with Hymenoptera venom allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123:272-3
64. Moreno C, Guerra F. Inmunoterapia con veneno de himenópteros. Seguridad de una pauta agrupada. *Allergol Inmunol Clin* 1999;89:1198-9
65. Tahini H, Knani J, Michel FB, Bousquet J. Safety of venom immunotherapy administered by a cluster schedule. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:928-33
66. Wenzel J, Meissner-Kraemer M, Bauer R, Bieber T, Gerdson R. Safety of rush insect venom immunotherapy. The results of a retrospective study on 178 patients. *Allergy* 2003;58:1176-9
67. Sturm G, Kränker B, Rudolph C, Averer W. Rush hymenoptera venom immunotherapy: A safe and practical protocol for high-risk patients. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110:928-33.
68. Birnbaum J, Ramadour M, Magnan A, Vevloet D. Hymenoptera ultra-rush venom immunotherapy (210 min): a safety study and risk factors. *Clin Exp Allergy* 2003;33:58-64
69. Carballada F, Martin S, Boquete M. High efficacy and absence of severe systemic reactions after Venom Immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2003; 13: 43-49.

70. Lockey RF, Turkeltaub PC, Olive ES, Hubbard JM, Baird-Warren IA, Bukantz SC. The hymenoptera venom study III. Safety of venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:775-80
71. Mosbech H, Müller U. Side-effects of insect venom immunotherapy: results from an EAACI multicenter study. *Allergy* 2000;55:1005-10
72. Rüeff F, Przybilla B, Müller U, Mosbech H. Position paper. The sting Challenger test in hymenoptera venom allergy. *Allergy* 1996;51:216-25
73. Reisman R. Duration of venom immunotherapy: relationship to the severity of symptoms of initial insect sting anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:831-6
74. Golden DBK, Kwiterovich KA, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Discontinuing venom immunotherapy: Extended observations. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:298-305
75. Lerch E, Müller U. Long-term protection after stopping venom immunotherapy: results of re-stings in 200 patients. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:606-12.
76. Soldatova LN, Cramer R, Gmachl M, Kemeny DM, Schmidt M, Weber M, Müller UR. Superior biologic activity of the recombinant bee venom allergen hyaluronidase expressed in baculovirus-infected insect cells as compared with *Escherichia coli*. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:691-8
77. King TP, Kochoumian L, Joslyn A. wasp venom proteins: phospholipase A1 and B. *Arch Biochem Biophys* 1984; 280: 1-12
78. Petersen AB, Gudmann P, Milvang-Gronager P, Morkeberg R, Bogestrand S, Linneberg A, Johansen W . Performance evaluation of a specific IgE assay

- developed for the ADVIA centaur immunoassay system. Clin Biochem 2004;37:882-892.
79. Biló B, Severino M, Cilia M, Pio A, Casino G, Ferrarini E, Campodonico P, Milani M, The VISYT trial: venom immunotherapy safety and tolerability with purified vs nonpurified extracts. Ann Allergy Asthma Immunol 2009;103:57-61.
80. Jappe U, Raulf-Heimsoth M, Hoffmann M, Burow G, Hübsch-Müller C, Enk A. In Vitro hymenoptera venom allergy diagnosis: improved by screening for cross-reactive carbohydrate determinants and reciprocal inhibition. Allergy 2006; 61: 1220-1229.
81. Müller UR, Johansen N, Petersen AB, Fromberg-Nielsen J, Haeberli G. Hymenoptera venom allergy: analysis of double positivity to honey bee and *Vespula* venom by estimation of IgE antibodies to species-specific major allergens Api m 1 and Ves v 5. Allergy 2009; 64: 543-548.
82. King TP, Jim SY, Monsalve R, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM, Spangfort MD. Recombinant allergens with reduced allergenicity but retaining immunogenicity of the natural allergens: hybrids of yellow jacket and paper wasp venom allergen antigen 5s. J Immunol 2001;166:6057-65
83. Hoffman OR, Jacobson RS. Allergens in hymenoptera venom. How much protein is in a sting? Ann Allergy 1984; 52: 276-278
84. Schumacher MJ, Tveten MS, Egen NBJ. Rate and quantity of delivery of venom from Honey bee stings. Allergy Clin Immunol 1994; 93: 831-835.
85. Pena L, Pineda ME, Hernández M. Toxinas naturales: abejas y sus venenos. AVFT 2006; 25: 6-10.

86. Franken HH, Dubois AEJ, Minkema HJ, van der Heide S, de Monchy JG. Lack of reproducibility of a single negative sting Challenger response in the assessment of anaphylactic risk in patients with suspected yellow jacket hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93:431-436.

ANEXOS

ANEXO I: Estructura de la base de Datos

Ejemplo de un paciente del que se han omitido los datos personales:

Venenos V99.2

File Edit View Insert Format Records Tools Window Help Adobe PDF Type a question for help

Valoración de la I.T. en alérgicos a veneno de himenopteros Índice: 2

Nombre: N° Historia:
 Dirección: Fecha de nac: 03/11/1960
 Profesión: FUNCIONARIA, APICULTORA AFICIONADA
 Diagnóstico: Abeja Urbano: Semiurbano: Rural:

1. PRIMERA REACCIÓN SISTÉMICA **2. DIAGNÓSTICO**

Edad: 34 P.C. Positivas: 0.01 mcg
 Intensidad/Tipo Reacción: 2 de Mueller 0.1 mcg
 Síntoma más prominente: Prurito 1 mcg
 Picaduras Anteriores: Pequeña RL Tamaño: 12 x 12 mm
 IgE Específica: Clase 5
 87.4 UI/ml

3. PAUTA DE VACUNACIÓN

Frecuencia: Bimensual Modificaciones: NO
 Otra: IgE: 87.4 mg/d (dc35) Mantenimiento: 100 mcg/mL
 Otra Pauta: IT CS

4. TOLERANCIA

Nº Registro: 2

Reacción Local
 Inmediata Fecha:
 Tardia Tratamiento:
 Diámetro: Actitud:
 Dosis: mcg/mL

Reacción Sistémica
 Inmediata Fecha:
 Tardia Tratamiento:
 Descripción: Dosis: mcg/mL
 Actitud:

Otras Reacciones
 Descripción: DOLOR EN EXTREM. SUP. DERECHA QUE SE M Fecha: 12/95
 Dosis: 80 mcg/mL

Record: 1 of 570

Form View NUM

Start Inbox - Microsoft Outlook TESIS FCO CARBALLADA... Venenos V99.2 99% 13:45

Venenos V99.2

File Edit View Insert Format Records Tools Window Help Adobe PDF Type a question for help

Venenos

Valoración de la I.T. en alérgicos a veneno de himenopteros Índice: 2

Descripción: DOLOR EN EXTREM. SUP. DERECHA QUE SE M Dosis: 00 mcg/mL

5. MONITORIZACIÓN

Nº Registro: 1

Clínica (repicaduras): Fecha:

Pruebas Cutáneas: 0.01 mcg Tamaño: Fecha: 12/96
0.1 mcg 12 X 12 mm
1 mcg

IgE Específica: Clase 4 39.5 KU/L Fecha: 12/96

IgG Específica:

6. DURACIÓN DE LA I.T.

En Iniciación En Mantenimiento Finalizado

Iniciación: DICIEMBRE 95

Mantenimiento: FEBRERO 96

Fin I.T. OCTUBRE 2000

Duración: 4.5 AÑOS

Pruebas Cutáneas: 0.01 mcg
0.1 mcg
1 mcg

Tamaño: 10 X 10 mm

IgE Específica: Clase 3 9.44 UI/mL

Clínica: Sin picadura

Record: 1 of 570

Form View NUM

Start Inbox - Microsoft Outlook TESIS FCO CARBALLADA... Venenos V99.2 99%

ANEXO II: Publicaciones del autor derivadas de los datos de la presente Tesis Doctoral

1. Boquete Paris, FJ Carballada González. Tratamiento de Las reacciones por hipersensibilidad a veneno de himenópteros. JANO 1996; 1152: 228-30.
2. F Carballada, S Martin, M Boquete. High efficacy and absence of severe systemic reactions after Venom Immunotherapy. J Investig Allergol Clin Immunol 2003;13: 43-49.
3. Carballada González F.J, Crehuet Almirall M, Manjón Herrero A, de la Torre F and Boquete París M. Hymenoptera venom allergy: characteristics, tolerance and efficacy of immunotherapy in the paediatric population. Allergol et Immunopathol 2009; 37: 111-5.
4. Carballada F. Boquete M, Nuñez R, Lombardero M. De la Torre F. Follow-up of Venom Immunotherapy (VIT) based on conventional techniques and monitoring of Immunoglobulin E to individual venom allergens. J Investiga Allergol Clin Immunology 2010; Vol. 20 (6): 506-513.
5. Carballada FJ, Gonzalez-Quintela A, Nuñez-Orjales R, Vizcaino L, Boquete M. Double (honeybee and wasp) Immunoglobulin-E reactivity in patients allergic to Hymenoptera venom. The role of cross-reactive carbohydrates and alcohol consumption. J Investig Allergol Clin Immunology 2010; Vol 20 (6): 484-489.

Tratamiento de las reacciones por hipersensibilidad a veneno de himenópteros

M. Boquete París y F.J. Carballada González
Unidad de Alergia. Hospital Xeral-Calde. Calde. Lugo.

La alergia al veneno de himenópteros se conoce desde hace muchos siglos, aunque sólo en épocas relativamente recientes la ciencia médica ha tenido capacidad para tratar con éxito las reacciones potencialmente fatales que se derivan de esta hipersensibilidad. Sin embargo, en una reciente encuesta realizada en Oviedo en junio de 1995, aprovechando un congreso de médicos de urgencias, el 74% de los encuestados manifestaban no conocer las posibilidades de tratamiento inmunoterápico de estos pacientes y solamente se recomendaba la utilización de adrenalina a posteriori al 50% de los afectados, a pesar de que todos los pacientes habían presentado reacciones sistémicas graves. Esto refleja un cierto desconocimiento del problema, que trataremos de paliar a lo largo de las siguientes líneas.

EPIDEMIOLOGÍA

No existen datos referentes al conjunto de España respecto a la prevalencia de reacciones sistémicas por picadura de himenópteros. Algunos estudios parciales^{1,2} realizados en nuestro país dan una tasa de reacciones sistémicas del 1-3%.

Estas cifras son superponibles a las publicadas en el artículo de opinión de la Academia Europea de Alergia³. Según esta publicación un 2-19% de la población adulta en Europa y Estados Unidos presenta una historia de grandes reacciones locales, y un 0,8-5% una historia de reacciones alérgicas generalizadas tras picadura de himenópteros.

Para la población española estos datos significan que un 2-19% de la población adulta (800.000-7,6 millones de personas) manifiestan fuertes reacciones locales y un 0,8-5% (320.000-2 millones) reacciones generalizadas.

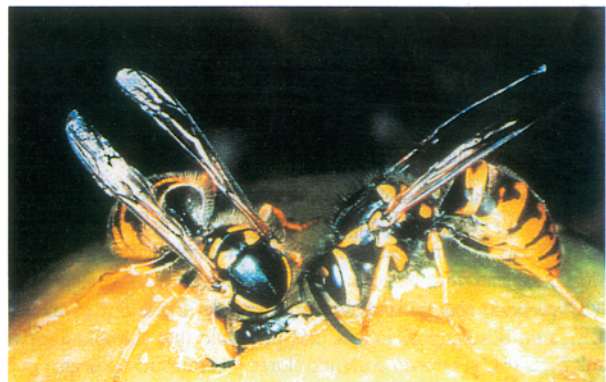
Datos procedentes de Francia⁴ revelan que en el período 1981-1991 han muerto 16-38 personas cada año, contabilizando en este período 263 fallecimientos, es decir 0,43 muertos por año por millón de habitantes. El estilo de vida francés es similar al español, por lo que extrapolando resultados, podríamos estimar que más de 100.000 españoles presentan reacciones alérgicas cada año, aunque sólo 20 mueren a causa de una picadura.

Müller⁵ describe las características del paciente que sufre una picadura con desenlace fatal (tabla I).

AGENTES ETIOLÓGICOS

Existen 2 grandes grupos de himenópteros: *ápidos*, cuya especie más común es la abeja común o *Apis mellifera*, y *véspidos*, con 2 grandes familias: polistes y vespula (figs. 1 y 2).

La composición de los venenos de ápidos y véspidos es diferente, por lo que si un paciente es alérgico a un grupo no tiene por qué serlo al otro, de ahí la importancia de la identificación del agente agresor. Asimismo, si un paciente resulta ser alérgico a abeja y avispa, tendría que ser inmunizado con ambos venenos.



Figuras 1 y 2 Fotografías de abeja y avispa. Cortesía de Laboratorio ALK-Abelló.

DIAGNÓSTICO

La historia clínica es la base del diagnóstico. La mayoría de los pacientes serán capaces de relacionar la picadura con la presentación de síntomas.

A lo largo de la historia clínica habrá que responder a 3 cuestiones fundamentales:

- Insecto responsable.
- Tipo de reacción: alérgica o no alérgica.
- Riesgo del paciente en sucesivas picaduras.

Insecto responsable

Pueden ayudar las siguientes preguntas:

1. ¿Permaneció el aguijón en la piel? Es casi la regla para las abejas y muy raro en las avispas.

2. ¿En qué estación ocurrió? Las picaduras de abeja son más frecuentes en la primavera tardía e inicios del verano, mientras que las de avispa son más comunes al final del verano e inicios del otoño, cuando sus colonias son más numerosas.

TABLA I Características del paciente con desenlace fatal

El "muerto típico" es:
Un varón (77%)
Que tiene más de 40 años (71%)
Y muere durante la primera hora (60%)
Tras una sola picadura (78%)
De una avispa (50%)
En la cabeza (42%)

Tomada de U.R. Müller⁵.**TABLA II** Clasificación de las reacciones alérgicas

Reacciones locales grandes	Hinchazón en el sitio de picadura con un diámetro > 10 cm durando > 24 horas
Reacciones sistémicas	
Grado I	Urticaria generalizada, prurito, malestar, inquietud
Grado II	Angiedema o Cualquiera de las reacciones descritas antes, más dos de las siguientes: constricción pulmonar, náuseas, vómitos, diarrea, dolores intestinales, vértigo
Grado III	Disnea, broncospasmo, estridor o Cualquiera de las reacciones descritas antes arriba, más dos de las siguientes: disfagia, disartria, ronquera, debilidad, confusión, miedo
Grado IV	Cualquiera de las reacciones descritas antes, más dos de las siguientes: hipotensión, colapso, inconsciencia, incontinencia (orina, heces), cianosis

Tomada de U.R. Müller⁵.**TABLA III** Tratamiento de las reacciones sistémicas

Obligatorio e inmediato
Adrenalina AL 1:1000
0,5 ml vía subcutánea; puede repetirse a los 15 minutos dos o más veces
Torniquete por encima del lugar de la picadura
Infiltración de adrenalina (hasta 0,3 ml) en el lugar de la picadura

Después de la adrenalina
Valoración clínica:
Si hay urticaria: antihistamínicos
Si hay broncospasmo: betaadrenérgicos inhalados
Si hay hipotensión: reposición de líquidos, esteroides, etc.
Los corticoides pueden ser útiles en el tratamiento de las manifestaciones tardías. No ayudan en los primeros estadios

3. ¿Dónde ocurrió la picadura? Cerca de donde hay comida o frutos en descomposición es más probable que sea una avispa, mientras que si ocurrió cortando flores o caminando descalzo por el césped las probabilidades son mayores para las abejas.

4. ¿Qué aspecto tenía el insecto? Intentar que el paciente lo describa y, si están disponibles, enseñarle fotografías.

A pesar de todo, muchas veces la identidad del insecto no llega a conocerse y es en estas ocasiones cuando son de gran ayuda las pruebas cutáneas y las determinaciones serológicas.

Tipo de reacción

La picadura de himenóptero es dolorosa y puede causar síntomas no alérgicos de tipo neurovegetativo: síndrome de hiperventilación, síncope vasovagal... Además la propia toxicidad del veneno puede originar síntomas, sobre todo en las picaduras múltiples: parestesias, picor, náuseas, vómitos, taquicardia, etc.

Las reacciones alérgicas tras picaduras de himenópteros pueden graduarse de acuerdo al esquema de la tabla II.

Riesgo del paciente en sucesivas picaduras

Para establecer este riesgo habría que valorar la gravedad de las reacciones previas y el grado de exposición. Ambos factores son importantes para decidir el tipo de tratamiento, particularmente cuando se considera el tratamiento inmunoterápico.

Las grandes reacciones locales no presuponen una progresión a reacciones sistémicas en subsecuentes picaduras. La gran mayoría

de los pacientes que experimentan estas reacciones suelen repetir las en la repicadura, y no existe ningún parámetro clínico ni inmunológico que pueda distinguir a los pacientes con riesgo de presentar reacciones sistémicas.

La edad es un factor importante respecto a la posibilidad de mostrar una reacción sistémica grave, puesto que los niños presentan reacciones graves recurrentes en una proporción mucho menor que los adultos. Así, se sabe que aproximadamente el 50-60% de los adultos con reacción sistémica grave van a presentar una reacción similar en subsecuentes picaduras⁶, mientras que los niños con reacciones sistémicas exclusivamente cutáneas sólo van a presentar reacciones sistémicas en un 10% de casos y de éstos sólo un 0,4% son reacciones graves con síntomas respiratorios y/o circulatorios⁷.

El grado de exposición puede estimarse por el número de veces que el paciente ha sido picado anteriormente, por el área en que vive: rural o urbana, y por su actividad: jardinero, apicultor, agricultor...

Establecido el diagnóstico clínico, quedaría su confirmación por el especialista. Esta confirmación se basa en pruebas alérgicas: tests cutáneos con los venenos supuestamente implicados, y pruebas in vitro con la determinación en sangre de la IgE específica frente al veneno sospechoso.

TRATAMIENTO

Las tres piedras angulares en el tratamiento de la alergia a veneno de himenópteros son:

- Prevención de la picadura.
- Educación sobre el tratamiento de la reacción sistémica.
- Inmunoterapia.

Prevención

Consiste en evitar las posibilidades de picadura, extremando las precauciones cuando el paciente salga al campo. No debe hacer comidas campestres ni caminar alrededor de colmenas. Para los alérgicos a las avispas se debe evitar la proximidad de frutas en descomposición y pasear por el campo con los pies descalzos. Hay que asegurarse siempre que no haya insectos en el automóvil y viajar con las ventanillas cerradas. Los perfumes y lacas del pelo pueden atraer a los insectos, lo mismo que las ropas coloreadas, por lo que deben evitarse. Si en un momento dado se produce un contacto con el insecto deben evitarse los movimientos bruscos.

Educación

En el caso de que un paciente haya experimentado una reacción sistémica, debe de serle facilitada información por escrito acerca de:

- Prevención de las picaduras.
- Tratamiento de las reacciones, entregándole la medicación de emergencia.
- Debe ser remitido a un alergólogo para que evalúe la indicación de la inmunoterapia.

Tratamiento de la reacción sistémica (tabla III)

Las reacciones sistémicas son reacciones anafilácticas cuya intensidad puede variar desde urticaria moderada hasta shock. En todas ellas la piedra angular del tratamiento es la *adrenalina al 1 por mil*, como en cualquier tipo de anafilaxia.

Todo paciente con historia de reacciones sistémicas debe llevar consigo *adrenalina* y tan pronto sufra picadura inyectarse por vía subcutánea 0,5 ml, dosis que puede repetirse a los 15 minutos. Es-

TABLA IV Indicaciones para la inmunoterapia con venenos

Tipo de reacción tras picadura	Prueba diagnóstica PC y/o IgE específica	Indicación para la inmunoterapia
Sistémica grave (grado III o IV)	Positiva	+
	Negativa	+/-°
Sistémica leve o moderada (grado I o II)	Positiva (adultos)	+/-°
	Positiva (niños)	-
	Negativa	-
Local grande	Positiva/negativa	-

PC: prueba cutánea.

°La inmunoterapia está especialmente indicada en personas muy expuestas, con reacciones repetidas o en aquellas en las cuales su calidad de vida puede empeorar por el miedo a estos insectos.

Tomada de U.R. Müller y H. Mosbech³.

te es el tratamiento fundamental; posteriormente, según evolucione el cuadro de anafilaxia, pueden necesitarse otros medicamentos, antihistamínicos, corticoides, etc. Aunque la mayor parte de las veces el problema suele ceder, en ocasiones el cuadro de anafilaxia puede ser progresivo. Por ello después de administrar adrenalina será bueno remitir al paciente a un centro donde puedan tratar adecuadamente su problema.

Si el veneno fue inyectado en una extremidad, puede ser útil un torniquete por encima del punto de la picadura y la inyección a ese nivel de una dosis de 0,3 ml de adrenalina. El torniquete debe aflojarse periódicamente cada 10-15 minutos.

Tratamiento de la reacción local

Las reacciones locales intensas se tratan con aplicación de hielo, elevación del miembro, si es posible, antihistamínicos orales y corticoides tópicos³.

Si las reacciones son muy grandes y dolorosas pueden administrarse corticoides orales (prednisona, 20-40 mg/día durante 4-5 días).

Inmunoterapia

Consiste en la administración por vía subcutánea de dosis progresivamente crecientes del veneno del insecto implicado, hasta llegar a una dosis de mantenimiento que, generalmente, es de 100 µg de proteína de veneno. Esta dosis corresponde aproximadamente a 2 picaduras de abeja y probablemente a muchas más picaduras de avispa⁸.

Las indicaciones para la inmunoterapia con veneno se resumen en la tabla IV.

Las indicaciones en situaciones especiales³ son:

Apicultores. Se debe ofrecer a todos los que hayan presentado una reacción anafiláctica reciente, incluso si deciden dejar su trabajo con las abejas.

Niños. Durante la infancia y la preadolescencia las reacciones alérgicas graves son muy raras, y los casos fatales casi desconocidos. En casos muy expuestos a picaduras, y con reacciones graves, por ejemplo, hijos de apicultores, se debe comenzar la inmunoterapia.

Paciente. Al contrario de las alergias por inhalantes, la inmunoterapia para himenópteros está muy indicada en pacientes mayores muy expuestos, con historia de reacciones graves y pruebas alérgicas positivas.

La eficacia de la inmunoterapia con venenos de himenópteros es en general muy alta. Aproximadamente un 90% de los pacientes tolera una reexposición con menor gravedad o sin ninguna reacción en absoluto. Esta eficacia es ligeramente superior con veneno de avispa en comparación a veneno de abeja³.

Por otra parte, la eficacia depende de la dosis, recomendándose generalmente 100 µg como dosis de mantenimiento^{9,10}.

Tolerancia de la inmunoterapia

Ante todo, se debe señalar que la inmunoterapia con venenos no es más peligrosa que con otros alérgenos. Comparando diferentes estudios se demuestra que tanto las reacciones locales como las sistémicas son similares a las producidas con otros aeroalérgenos, estimándose la tasa de reacciones sistémicas en un 0,3%^{11,12}.

No obstante, a menudo se recomienda (en folletos de productos, en conferencias, también en nuestros materiales, aunque no es una recomendación oficial de la Academia Europea) que el tratamiento con venenos debe realizarse en hospitales. El motivo de esta recomendación es que la mayoría de los tratamientos se llevan a cabo con pautas rápidas o semirrápidas, y es bien sabido que estas pautas proporcionan más reacciones adversas que las convencionales.

Por último se debe destacar que por razones desconocidas los venenos de abeja inducen más efectos secundarios que los de avispa³.

Duración de la inmunoterapia

Este tema se halla actualmente en discusión. Los criterios que se barajan como posible guía pueden resumirse en:

- Negativización de pruebas cutáneas.
- Negativización de pruebas in vitro (IgE específica en suero menor de 1 µg/ml).
- Mantenimiento de la inmunoterapia 3-5 años, independientemente de la persistencia de pruebas cutáneas positivas o RAST positivo.

La recomendación oficial de la Academia Europea³ es que la inmunoterapia con venenos puede ser suspendida cuando ha durado al menos 3-5 años y no ha inducido reacciones secundarias sistémicas.

Además es deseable que la eficacia sea demostrada por una picadura en el campo bien tolerada, o por una prueba de provocación con picadura. Sin embargo, somos conscientes de que en muchos lugares no es posible realizar pruebas de provocación con picadura e incluso este procedimiento diagnóstico está prohibido por la ley en algunos países. ■

Bibliografía

1. Muñoz P, Bernal G, Fernández E et al. Estudio epidemiológico de picadura de himenópteros en la provincia de Álava. Rev Esp Alerg Inm Clin 1988; 3 (2) 54 [resumen].
2. Juárez C et al. Epidemiologic study of the prevalence of specific IgE antibodies to hymenoptera in a exposed population. En: Pérez Santos C, Moreno AG, eds. Alergia a venenos de himenópteros ibéricos. Laboratorio Dome Ibérica.
3. Müller UR, Mosbech H. Artículo de opinión: inmunoterapia con venenos de himenópteros. Allergy 1993; 48: 37-46.
4. Charpin D, Birnaum J, Vervloet D. Epidemiology of hymenoptera allergy. Clin Exp Allergy 1994; 24: 1.010-1.015.
5. Müller UR. Insect sting allergy. Nueva York: Gustav Fischer, 1990; 183.
6. Reisman R. Insect allergy. En: Reed ME et al, eds. Allergy principles and practice. S. Louis: Mosby, 1988.
7. Boquete M. Alergia a picaduras de insectos. En: Requés G, Nieto A, Boquete M, Pelta R, eds. El enfermo alérgico en atención primaria. León: EDILESA, 1992.
8. Hoffman DR, Jacobson RS. Allergens in hymenoptera venom XII. How much protein is in sting? Ann Allergy 1984; 52: 276.
9. Mosbech H, Malling HJ, Bierin I et al. Immunotherapy with yellow jacket venom. A comparative study including three different extracts, one absorbed to aluminium hydroxide and two unmodified. Allergy 1986; 41: 95-103.
10. Golden D, Sobotka AK, Valentine MD et al. Dose dependence of hymenoptera venom immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 1981; 67: 370-374.
11. Lockett RF, Turkeltaub PC, Olive SM et al. The hymenoptera venom study III: safety of venom immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 1990; 86: 775-780.
12. Tabar AI, García RE, Rodríguez A et al. A prospective safety-monitoring study of immunotherapy with biologically standardized extracts. Allergy 1993; 48: 450-453.

High Efficacy and Absence of Severe Systemic Reactions after Venom Immunotherapy

F. Carballada¹, S. Martín², and M. Boquete¹

¹Unidad de Alergia. Hospital Xeral de Calde, Lugo, Spain, ²ALK-ABELLÓ, S.A., Madrid, Spain

Summary. The efficacy of immunotherapy with venom (ITV) is supported by many studies. However, the key point for ITV is the balance between safety and efficacy, as concern for adverse events may restrict its use, and limit the administration of this treatment to the hospital, exclusively. The objectives of the present study were, first, to analyze the characteristics and incidence of ITV-related adverse events and to determine whether the administration of this treatment exclusively in hospitals is justified, and second, to assess the efficacy of a semi-rush dosage schedule, which is being used in our department. We analyzed the data of 241 patients with known allergy to hymenoptera venom (208 sensitive to *Apis mellifera* and 33 to *Vespula spp.*), who were treated with ITV (Pharmalgen, ALK-ABELLÓ) for an average period of 32 months. The initial treatment was performed at the Allergy Department, administering nine increasing doses of the venom once or twice a week. Maintenance treatment, whenever possible, was performed at primary care centers (PCCs). In this study, 95 patients (39%) were referred to their corresponding PCC. A total of 3697 doses were administered, and 37 systemic reactions (SR) and 37 local reactions (LR) were recorded; the overall frequency of occurrence of adverse events was 1.97%, 1% corresponding to SR, and 1% related to LR. The severity of most of SR was mild and the response to treatment with oral antihistamines and corticoids was good. Administration of adrenaline was required in 14 cases. Regarding the maintenance treatment administered at PCCs, only two adverse events were recorded, one case of vaso-vagal symptomatology and one case of urticaria-like reaction two hours after the administration. Eighty-four cases of spontaneous field stings, corresponding to 58 patients, were reported; in 82 cases (97.6%) the reaction was less severe than that experienced before the administration of ITV. The severity of the other two reactions was the same as previously recorded, though they occurred in patients during the build-up phase of the treatment. In any case, a reaction with a higher grade of severity was recorded. The dosage schedule administered is efficient, the frequency of occurrence of adverse events is low, their intensity is generally mild, and minimum medication is required to control them (antihistamines, corticosteroids). Taking into account the tolerance observed during the maintenance treatment, we consider that its administration at PCCs is appropriate.

Keywords: hymenoptera venom, immunotherapy, tolerance, efficacy

Introduction

Allergy to hymenoptera venom is a phenomenon well known since antiquity. However, only early in the 20th century were the systemic reaction (SR) caused by hymenoptera stings related to anaphylaxis, and only recently has medical science been able to apply a successful treatment for the potentially fatal reactions resulting from this hypersensitivity [1].

During the first years of the administration of ITV, venom-sac extracts were used [2] and subsequently, entire-body extracts. At the end of the 1970s, two controlled prospective trials [3, 4] clearly demonstrated that the efficacy of preparations containing pure venom for immunotherapy was considerably higher than extracts derived from the entire body.

Today, the efficacy of this kind of treatment is unquestionable; about 80% to 100% of the patients who had previously experienced a SR will show no reaction to a later sting once the treatment has been initiated [5].

There is no doubt about the efficacy of this kind of treatment; however, it is well recognized that serious events are likely to occur during the administration of immunotherapy with venom (ITV), occasionally leading to a fatal outcome [6, 7, 8]; likewise there is some fear of improper management of the possible adverse events. These considerations led a group of experts in allergology and immunology to issue some guidelines that are widely accepted in current clinical practice [9, 10], though their fulfillment is not compulsory.

Before starting ITV, patients must be informed about the efficacy and safety of the therapy; patients should also understand the principle of the treatment as well as the risks and benefits it entails.

At the Immunotherapy Unit of the Hospital Allergy Department (IUA), we followed a semi-rush dosage schedule during the build-up phase, administering one or two weekly doses of the extract corresponding to *Apis mellifera* or *Vespula spp.* Whenever possible, the maintenance doses are administered at the selected primary care centers (PCCs) and directly supervised by the general practitioners.

In this study, we intended to determine the tolerance and efficacy of the dosage schedule administered in our IUA, and to assess whether it would be justified to recommend that the administration of this kind of treatment should be entirely performed at reference hospital centers.

Material and Methods

Patients

We evaluated the data of 241 patients, average age 41.9 years (range from 4 to 81), 88 women and 153 men, on treatment in our IAU for allergy to hymenoptera venom, 208 (86.3%) cases of bee venom, and 33 (13.7%) cases of wasp venom, during an average period of 32 months (range 3–93 months). Four patients showed an allergy to both venoms (Table 1).

Almost 35% were beekeepers, and 89.7% were working in an environment in which exposure to hymenoptera (bee and/or wasp) was highly possible.

The diagnosis was established according to each patient's medical history, positive intracutaneous tests, and specific IgE against the respective venom.

In all cases, the reaction to the sting was diagnosed as a systemic event, and the intensity was graded according to Müller criteria [8]. Likewise, the reactions that had occurred previous to the diagnosis were also evaluated.

Seven patients were children (age below 14 years), and they all had type III reactions to the sting (cutaneous symptoms and shortness of breath). All of them were at high risk of new exposure to the allergen because of their living conditions or their parents' profession.

The cutaneous tests were performed according to the European Committee rules [11], through intradermal injections of 0.02 ml of the solution containing 0.01, 0.1, and 1 µ/ml on the volar side of the forearm, including negative and positive controls (saline and histamine solution). We considered the test to be positive when we obtained at least a 5 mm wheal with erythema, 20 minutes after the test had been performed.

Specific IgE determination was performed using commercial RAST (Pharmacia AB) following the manufacturers' recommendations.

Table 1. Patients' clinical data

		<i>Apis</i>	<i>Vespula</i>	Total
N		208 (86.3%)	33 (13.4%)	241 (100%)
Age	x (sd)	41.5 (16.3)	44.1 (14.1)	41.9 (16.0)
SRD	gI*	16 (7.7%)	0 (0%)	16 (6.6%)
	gII*	52 (25%)	5 (15.2%)	57 (23.7%)
	gIII*	96 (46.2%)	19 (57.6%)	115 (47.7%)
	gIV*	44 (21.2%)	9 (27.3%)	53 (22%)
R Ant	No R	18 (10%)	3 (12%)	21 (10.2%)
	RLp*	94 (52.2%)	10 (40%)	104 (50.7%)
	RLg*	33 (18.3%)	3 (12%)	36 (17.6%)
	gI*	10 (5.6%)	1 (4%)	11 (5.4%)
	gII*	9 (5%)	2 (8%)	11 (5.4%)
	gIII*	13 (7.2%)	6 (24%)	19 (9.3%)
	gIV*	3 (1.7%)	0 (0%)	3 (1.5%)
ITC (µg/ml)	0.01	31 (14.9%)	7 (21.2%)	38 (15.8%)
	0.1	157 (75.5%)	22 (66.7%)	179 (74.3%)
	1	20 (9.6%)	4 (12.1%)	24 (10%)
IgE	1	10 (4.9%)	4 (12.9%)	14 (5.9%)
	2	63 (30.6%)	11 (35.5%)	74 (31.2%)
	3	89 (43.2%)	15 (48.4%)	104 (43.9%)
	4	26 (12.6%)	1 (3.2%)	27 (11.4%)
	5	16 (7.8%)	0 (0%)	16 (6.8%)
	6	2 (1%)	0 (0%)	2 (0.8%)

SRD = Systemic reaction at the time of the diagnosis, ICT = Intracutaneous test, *According to Müller [8]

Immunotherapy

The same allergen extracts (Pharmalgen, ALK-ABELLÓ) were always used both for cutaneous tests and ITV.

For the build-up phase, the dosage schedule consisted of administering nine increasing doses of the venom once or twice per week (Table 2). The dosage schedule was selected according to the season of the year and the evaluation of each patient's risk of being stung.

In all cases, the maintenance dose was established at 100 mg, except for two beekeepers who could not interrupt their activities, and for whom a maintenance dose of 200 mg was administered.

The ITV was maintained for a period of 5 years, provided that the allergology study did not prove to be negative. Thereafter, the ITV was discontinued even if cutaneous tests and specific IgE were still positive [13].

In all cases, the build-up dosage was administered at our AIU, and once the maintenance dose was reached—as well as in some selected cases—patients were referred to their corresponding PCCs. Thus, of the 241 patients, 146 remained at the IUA, and 95 were referred to their PCC.

The selection of the PCCs was based on the availability of the required material to deal with anaphylaxis

Table 2. Treatment schedule

Dose	Vial	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$ of venom)	Volume (mL)	Dose (μg of venom)
1	1 (100 SQ)	0.1	1.0	0.1
2	2 (1,000 SQ)	1	1.0	1
3	3 (10,000 SQ)	10	0.5	5
4	4 (100,000 SQ)	100	0.1	10
5	4 (100,000 SQ)	100	0.2	20
6	4 (100,000 SQ)	100	0.4	40
7	4 (100,000 SQ)	100	0.6	60
8	4 (100,000 SQ)	100	0.8	80
9	4 (100,000 SQ)	100	1.0	100

and/or any adverse event, as well as of a physician responsible for the administration, who had to be familiar with immunotherapy administration and staff who could maintain close collaboration with our IUA.

Adverse events were recorded according to the EAACI [13, 14] Committee rules and Müller classification [8]:

1. Local reaction (LR) (immediate or delayed): size of the reaction (diameter), dose at which it occurred, treatment applied, and physician's assessment (if a dose modification was required in the subsequent administrations).
2. Systemic reaction (immediate or delayed): dose at which it occurred, treatment applied, and if a reduced dose was required.
3. Other kind of reaction.

Before the beginning of ITV, patients received detailed information about the characteristics of the treatment, its clinical efficacy, and the risk of side effects. Treatment only started after the patient agreed to follow the immunotherapy course, and their motivation for the treatment was clear. No premedication was used during the study.

Yearly controls were performed, during which the patient's clinical condition was assessed—mainly whether they had suffered spontaneous field stings, and whether they were able to identify with absolutely no doubt at all the kind of hymenoptera responsible for these stings; the intensity of the reaction comparing it with the diagnosed reaction prior to the ITV administration; the kind of reaction, local or systemic, classifying it according to Müller scale [8]; the treatment administered and if they visited a medical center. Likewise, the overall tolerance to the treatment was evaluated and cutaneous tests, as well as specific IgE were performed, comparing them with the basal values.

Results

Table 1 shows patients' demographic and clinical characteristics. No significant differences were observed be-

tween patients who were sensitive to *Apis mellifera* and *Vespal spp.*, neither in the symptomatology subsequent to the sting, nor in the diagnosed symptomatology, nor in the previous ones. Likewise, skin sensitivity and IgE assessment were similar in both groups of patients.

Of the 3697 doses administered, 37 SRs and 37 LR were observed, with a frequency of occurrence of 1.97%, 1% of SR, and 1% of LR. The number of patients affected was 52 (21.6%), 22 SR (9.1%) and 31 LR (12.9%). The rate of SR was significantly higher in the case of *Apis mellifera* extract (Table 3).

The onset of all SR was immediate: 35 (94.5%) during the build-up phase of the treatment and 2 (5.4%) during the maintenance phase, though these 2 patients had already experienced side effects during the up-dosing period. No grade IV reaction was observed; 62.2% were grade I, 24.3 grade II, and 13.5% grade III.

SR were treated with oral antihistamines and corticosteroids, and in 14 cases it was necessary to administer adrenaline (37.8%).

It was not considered necessary to modify the dosage schedule in four out of 37 SR (10.8%). In seven cases (18.9%), the corresponding volume was divided in two injections, in eight cases (21.6%), the dose that had caused the reaction was repeated, and in 18 cases (48.6%) the dose was reduced to the last tolerated dose.

In the younger group of patients (under 14 years old), only one extensive LR was recorded, which was treated with ice, and one SR (rhinitis and asthma) in an atopic girl who did not require adrenaline, and was treated with inhaled antihistamines, and bronchodilators.

Among the group of patients treated with the ITV at their PCC, only two adverse events were recorded that might be defined as atypical or vegetative SR (one case of vaso-vagal symptomatology and one case of urticaria-like reaction 2 h after the administration). In the first case, the reaction abated after setting the patient at rest in supine decubitus position, and in the second case through the administration of oral antihistamines. Both were solved at the respective PCC, and the patients were subsequently referred to our IUA for their assessment.

With respect to the clinical efficacy, 84 cases of spon-

Table 3. Adverse events related to ITV

		<i>Apis</i>	<i>Vespula</i>	Total
Patients		208	33	241
Dose		3269	428	3697
SR	% patients	22 (10.6%)	–	22 (9.1%)
	% dose	37 (1.1%)	–	37 (1.0%)
LR	% patients	26 (12.5%)	5 (15.2%)	31 (12.9%)
	% dose	31 (0.9%)	6 (1.4%)	37 (1.0%)
SR*	gI	23 (0.7%)	–	23 (0.6%)
	gII	9 (0.3%)	–	9 (0.2%)
	gIII	5 (0.1%)	–	5 (0.1%)
	gIV	–	–	0 (0%)
LR*	immediate	15 (0.5%)	1 (0.2%)	16 (0.4%)
	delayed	16 (0.6%)	5 (1.2%)	21 (0.6%)

*Percentage referred to doses

Table 4. Reactions to spontaneous field stings

	<i>Apis</i>	<i>Vespula</i>	Total
Without R	18 (23.7%)	2 (25.0%)	20 (23.8)
SLR*	42 (55.3%)	5 (62.5%)	47 (56%)
LLR*	4 (5.3%)	1 (12.5%)	5 (6.0%)
gI*	7 (9.2%)	–	7 (8.3%)
gII*	3 (3.9%)	–	3 (3.6%)
gIII*	1 (1.3%)	–	1 (1.2%)
gIV*	1 (1.3%)	–	1 (1.2%)

*According to Müller [8], SLR = small local reactions, LLR = large local reactions, g = grade

taneous field sting were recorded, corresponding to 58 patients (9 allergic to bee venom and 49 to wasp venom).

In all cases, the patients identified with no doubt at all the kind of hymenoptera responsible for the sting. Table 4 shows the reactions obtained. The two most severe SRs (grade III and grade IV) occurred during the build-up phase of ITV when the patients had not reached the maintenance dose. In comparison to the sting at the time of the diagnosis, in 82 cases (97.6%) the reaction to the new sting was less severe, and in 2 cases (2.4%) it had the same intensity; in the latter two cases patients were on the build-up phase of treatment. In no case was the intensity of the reaction to the spontaneous sting higher.

At the end of the treatment, the cutaneous responses and specific IgE were lower, with a significant change in both parameters ($p = 0.006$ and $p = 0.0002$, respectively, Wilcoxon test). In six patients (four with allergy to bee venom and two to wasp venom) these parameters turned to negative values (Figures 1 and 2).

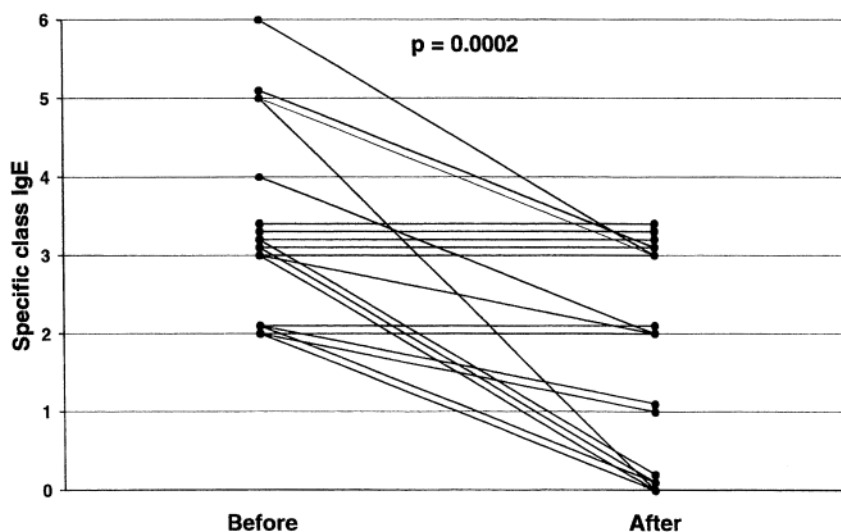


Figure 1. Specific IgE value before, and at the end of, ITV

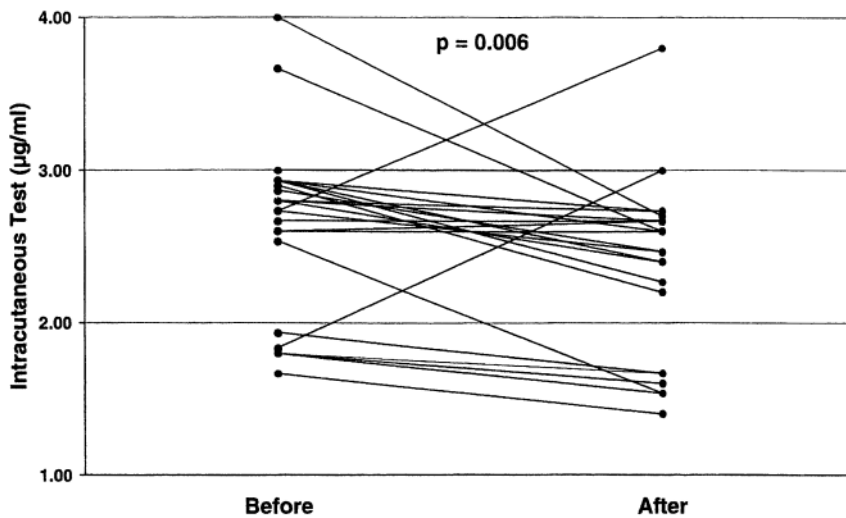


Figure 2. Cutaneous tests before, and at the end of, ITV

Discussion

We have been using this semi-rush dosage schedule for several years in our IUA, and for the monthly administration of the maintenance treatment our patients are referred to selected PCCs. We decided to follow this procedure for several reasons, first of all, because of the low frequency of occurrence of adverse events once the maintenance dose has been reached. Second, because of patients' geographic peculiarities and professional activities prevailing in our health area, which can make the transfer to a hospital very expensive and very difficult; and, last but not least, at the specific request of our patients.

In this study, we intended to analyze in detail the tolerance and clinical efficacy of this treatment.

The first conclusion of this analysis is that the adverse events related to ITV with venom are infrequent: 1.97% of frequency of occurrence of adverse events, 1% corresponding to SR, and 1% to LR.

These data are comparable to the results of the EAACI multicentric study [11] performed with 840 patients allergic to hymenoptera venom, who were treated with a total of 26,601 injections. ITV-related adverse events were reported in 1.9% of the injections during the build-up phase of treatment and in 0.05% during the maintenance. It must be stressed that most of the reactions were mild and only one-third of them required medical treatment, which were generally treated with antihistamines, and confirms that the severity of the reactions was low. Only six patients required the administration of adrenaline.

In our study, adverse reactions were observed in 52 patients (21.6%): 22 (9.1%) were SR and 31 (12%) were LR.

At first glance, the percentage of affected patients might seem excessively high, but two basic factors should be considered: first, the lack of severity of these reactions, confirmed by the small amount of medication required for the treatment of them. Adrenaline was required in less

than 40% of the cases suffering SR. Furthermore, the average percentage of adverse events of 1.97% is generally lower than the average rate that has been reported in the case of other allergens administered in less serious diseases [14, 15]. Finally, it is important to remember that ITV is the only efficient etiological treatment, and that the alternative treatment for ITV is the symptomatic treatment by self-injection of adrenaline at the moment of the sting; however, this treatment is contraindicated in many patients and it is not always 100% effective [16].

In the EAACI study [17], it is observed that in various centers the maintenance dose was administered by general practitioners, though unfortunately there is not enough information available to allow the analysis of the data of these patients treated at PCCs.

Among the 241 patients included in our study, 95 were treated at their PCC according to the above-mentioned conditions. We only referred patients with excellent (or good) tolerance to the ITV, and those patients showing any reaction or excessive concern about their disease continued the treatment at our hospital department.

Only two "atypical" reactions were recorded, symptoms usually named as vegetative events, one case of vaso-vagal reaction and one case of urticaria-like reaction that appeared 2 h after the administration of the vaccine; in neither case was a modification of the treatment required.

Taking into account these, as well as other authors' [17, 18, 19] results, the administration of ITV maintenance treatment to outpatients may be considered as an option that should be assessed for every patient, depending on the available resuscitation equipment and resources.

ITV with venom is very effective in preventing SR in case of a further sting. The percentage of efficacy is higher than 95%. Reactions following a sting have been described in a small percentage of individuals, generally less than 5% of the patients on treatment with ITV [19]. This

efficacy is further supported by a recently published meta-analysis [20], in which the data of eight studies published between 1966 and 1996 are analyzed, indicating that the hypersensitivity to venom was avoided in 79% of the cases, in comparison to 36% of the subjects of the control group without immunotherapy.

Our study confirms this efficacy, subsequent, spontaneous, field stings were reported in 84 cases, corresponding to 58 (24%) patients. In 20 cases, no reaction was observed, in 61% of subsequent stings the reaction was local, and in 97.6% the severity was lower. In the two cases in which the severity of the reaction was the same as prior to the ITV, the patients were on the build-up phase and had not reached the maintenance dose.

Several authors [21, 22, 24] have suggested that all patients with a history of allergy to hymenoptera stings should be submitted to a challenge test through a live insect sting before initiating the ITV treatment, and that only those patients who respond to the challenge test should be treated. They believe that challenge tests are a basic tool for the management of this kind of patient in order to evaluate the efficacy of the immunotherapy, because it can be used as an objective parameter that will indicate the time when ITV should be discontinued.

In our opinion, this can be refuted: Besides the ethical problems implied by this kind of challenge test, one should also bear in mind that this kind of test is not without limitations since the amount of venom injected during a sting depends not only on the duration of the sting, but also on the age of the insect, as well as on the amount of venom contained in the sac at the moment of the sting [25, 26]. This amount may be significantly lower if the insect had previously stung without losing its stinger. When these insects feel threatened, the vespidae may throw out a jet of their venom without stinging, which may occur in a challenge test.

Moreover, a negative result in a challenge test is not enough to rule out the possibility of a SR in a patient who has been stung. Franken et al. [27] described a second challenge test performed on 61 patients with allergy to vespidea venom, who had tolerated a first challenge test without clinical consequences, and found that a SR was observed in 20% of them. The possibility that the challenge test may cause sensitivity or act as a booster effect should not be ruled out, especially when the test is performed after the end of the ITV.

About one-fourth of our patients had a spontaneous field sting, all of them being under ITV. This data, together with the fact that 40 patients had suffered a SR before that reaction for which they visited the allergist, suggests that people in our environment are at high risk of being stung; hence, besides the above mentioned reasons, there might be no need for a challenge test.

Clinical assessments are the only methods that actually show the efficacy of a treatment, in this case the ITV. The results of *in vivo* and *in vitro* tests are only relevant when they are associated with the clinical efficacy. How-

ever, if while on treatment with ITV the cutaneous test and specific IgE were negative again, it was assumed that the clinical protection was reached [28]. After an initial increase in the sensitivity of the cutaneous tests and specific IgE serum antibodies, these slowly decrease during the ITV, and after one year of treatment they are usually below the basal values [29]. It is obvious that both tests have no predictive value during the early, up-dosing phase of the immunotherapy. In our study, we confirmed a decrease in the cutaneous reactivity and specific IgE throughout the immunotherapy treatment. We maintain the immunotherapy for 5 years, unless the results of the cutaneous and specific IgE tests are negative (which occurred in six patients of our study), in which case we discontinue the immunotherapy. According to Müller [13], if cutaneous sensitivity and specific serum IgE disappear, the treatment may be stopped. Our results increase the body of evidence in favor of the good tolerance and clinical efficacy of the ITV.

References

1. Boquete, M., Carballada, F. Tratamiento de las reacciones de hipersensibilidad a veneno de himenópteros. *JANO* 1996, L(1152):228–230.
2. Benson, R.L., Semerov, H. Allergy in its relation to bee sting. *J Allergy* 1930, 1:105–116.
3. Hunt, K.J., Valentine, M.D., Sobotka, A.K., Benton, A.W., Amodio, F.J., Lichtenstein, L.M. A controlled trial of immunotherapy in insect hypersensitivity. *New Engl J Med* 1978, 299:157–161.
4. Müller, U., Thurnheer, U., Patrizzi, R., Spiess, J., Hoigne, R. Immunotherapy in bee sting hypersensitivity. Bee venom versus wholebody extract. *Allergy* 1979, 34:369–378.
5. Rueff, F., Przybilla, B., Müller, U., Mosbeck, H. The sting challenge test in hymenoptera venom allergy. Position paper of the subcommittee on insect venom allergy of the EAACI. *Allergy* 1996, 51:216–255.
6. Barnard, J.H. Studies of 400 hymenoptera sting deaths in the United States. *J Allergy Clin Immunol* 1973, 52:259–264.
7. Mosbeck, H. Death caused by wasp and bee stings. *Allergy* 1983, 38:195–200.
8. Müller, U.R. *Insect sting allergy: clinical picture, diagnosis and treatment*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag 1990.
9. Position paper on allergen immunotherapy. Report of a BSACI working party January–October 1992. *Clin Exp Allergy* 1993, 23(Suppl. 3):1–44.
10. Bousquet, J., Lockey, R.F., Malling, H.J. (Eds.). WHO position papers. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. *Allergy* 1998, 53(Suppl. 44):1–42.
11. Dreborg, S., Backman, A., Basomba, A., Bousquet, J., Dieges, P., Malling, H.J. Skin tests used in type I allergy testing. Position paper. Subcommittee on skin tests of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 1989, 44(Suppl. 10):1–59.
12. Malling, H.J., Weeke, B. (Eds.). Immunotherapy. Position paper. *Allergy* 1993, 48(Suppl. 14):51–61.
13. Müller, U.R., Mosbeck, H. Position paper. Immunotherapy

- with Hymenoptera venoms. *Allergy* 1993, 48(Suppl.):37–46.
14. Mosbech, H., Dirksen, A., Dreborg, S., Frolund, L., Heinig, J.H., Svendsen, U.G., Soborg, M., Tandorf, E. Hyposensitization in asthmatics with mPEG modified and unmodified house dust mite extract. IV: Occurrence and prediction of side effects. *Allergy* 1990, 45(2):142–150.
 15. Tabar, A.I., García, R.E., Rodríguez, A., Oláguibel, J.M., Muro, M.D., Quirce, S. A prospective safety-monitoring study of immunotherapy with biologically standardized extracts. *Allergy* 1993, 48(6):450–453.
 16. Müller, U., Mosbech, H., Blaauw, P., Dreborg, S., Malling, H.J., Przybilla, B., Urbanek, R., Pastorello, E., Blanca, M., Bousquet, J. Emergency treatment of allergic reactions to hymenoptera stings. *Clin Exp Allergy* 1991, 21(3):281–288.
 17. Mosbech, H., Müller, U. Side effects of insect venom immunotherapy: results from an EAACI multicenter study. European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 2000, 55(11):1005–1010.
 18. Lockey, R.F., Turkeltaub, P.C., Olive, E.S., Hubbard, J.M., Baird-Warren, I.A., Bukantz, S.C. The hymenoptera venom study.III. Safety of venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1990, 86(5):775–780.
 19. Youlten, L.J., Atkinson, B.A., Lee, T.H. The incidence and nature of adverse reactions to injection immunotherapy in bee and wasp venom allergy. *Clin Exp Allergy* 1995, 25: 159–165.
 20. Reisman, R.E., Livingston, A. 10 years of experience with administration of single venoms and 50 micrograms maintenance dosis. *J Allergy Clin Immunol* 1992, 89:1189–1195.
 21. Ros, R.N., Nelson, H.S., Finegold, I. Effectiveness of specific immunotherapy in the treatment of hymenoptera venom hypersensitivity: a meta-analysis. *Clin Ther* 2000, 22(3): 351–358.
 22. Blaauw, P.J., Smithius, L.O.M.J. The evaluation of the common diagnostic methods of hypersensitivity for bee and yellow jacket venom by means of an in-hospital insect sting. *J Allergy Clin Immunol* 1985, 75:556–562.
 23. Kampelmacha, M.J., Van der Zwan, J.C. Provocation tests with a living insect as a diagnostic tool in systemic reactions to bee and wasp venom: a prospective study with emphasis on the clinical aspects. *Clin Allergy* 1987, 17:317–327.
 24. Van Halteren, H.K., Van der Linden, P.W., Burgers, S.A., Bartelink, A.K. Hymenoptera sting challenge of 348 patients: relation to subsequent fields stings. *J Allergy Clin Immunol* 1996, 97(5):1058–1063.
 25. Blaauw, P.J., Smithius, O.L., Elbers, A.R. The value of an in-hospital sting challenge as a criterion for application or omission of venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1996, 96:39–47.
 26. Hoffman, O.R., Jacobson, R.S. Allergens in hymenoptera venom. How much protein is in a sting? *Ann Allergy* 1984, 52:276–278.
 27. Schumacher, M.J., Tveten, M.S., Egen, N.B. Rate and quantity of delivery of venom from honey bee stings. *J Allergy Clin Immunol* 1994, 831–835.
 28. Franken, H.H., Dubois, A.E.J., Minkema, H.J., van der Heide, S., de Monchy, J.G. Lack of reproductibility 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.
 29. Reisman, R.E. Venom immunotherapy: when is it reasonable to stop? *J Allergy Clin Immunol* 1991, 87:618–620.
 30. Thurnheer, U., Müller, U., Stoller, R., Lanner, A., Hoigné, R. Venom immunotherapy in Hymenoptera sting allergy. *Allergy* 1983, 38:465–475.

Dr. Francisco Carballada

Hospital Xeral De Calde
Unidad de Alergia – Planta Baja
Ctra. Lugo a Santiago, Km 6
Calde, Lugo 27210
Spain
Tel. +34 982 296852
Fax +34 982 296281
E-mail fcarballada59@hotmail.com



Allergologia et immunopathologia

www.elsevier.es/ai



ORIGINAL ARTICLE

Hymenoptera venom allergy: characteristics, tolerance and efficacy of immunotherapy in the paediatric population

Francisco J. Carballada González^{a,*}, Mireia Crehuet Almirall^a,
Alba Manjón Herrero^a, Fernando De la Torre^b, and Manuel Boquete París^a

^aAllergy Unit, Department of Pediatrics, Hospital Xeral-Calde, Lugo, Spain

^bAlk-Abello, Madrid, Spain

KEYWORDS

Venom
immunotherapy;
Hymenoptera
venom allergy;
Apis;
Vespula

Abstract

Hymenoptera venom allergy is a growing problem in Spain. This problem has a special relevance in areas where population is frequently exposed to hymenoptera stings, being paediatric patients a high risk population. Immunotherapy with hymenoptera venom is an effective and safe treatment for these patients. However, there is a lack of data on the role of this treatment on paediatric population. For this reason, from the data base of the Allergy Unit from Hospital Xeral (Lugo, Spain) which includes 560 patients, have been analyzed the 21 paediatric patients, all of them treated with venom immunotherapy.

Eighteen patients completed the treatment. The maintenance dose administered was 100 µg. Two systemic reactions (both with an Apis extract) were registered. Cutaneous test and specific IgE shown a statistical significant reduction at the end of treatment ($p = .0004$ and $p < .0001$ respectively). Seven patients (33%) suffered a spontaneous re-stung during maintenance phase or after immunotherapy was completed. In 4 patients there was no allergic reaction and the other 3 children suffered a mild local reaction.

In conclusion, venom immunotherapy is a safe and effective treatment in paediatric patients with hymenoptera venom allergy, being necessary to increase the experience on this specific segment of the allergic population.

© 2008 SEICAP. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introduction

Hymenoptera venom allergy in Spain is a growing problem: in the last 10 years the number of patients diagnosed in allergy clinics has increased by nearly 100%. Paediatric pa-

tients are at increased risk for stings¹, probably because of their greater exposure. However, no studies to date have reported the exact incidence of allergic reactions to hymenoptera venom or their natural course in the paediatric population². The problem should not be considered trivial

*Correspondence author.

E-mail: francisco.carballada.gonzalez@sergas.es (F. Carballada).

because reports appear yearly in the lay press of deaths due to bee or hornet stings-deaths which might have been prevented if knowledge about allergic reactions to hymenoptera venom were more widespread and immunotherapy (IT) were more widely available³.

At the Allergy Unit of the Xeral-Calde Hospital in Lugo, northwestern Spain, we have compiled a database comprising a total of 560 patients with hymenoptera venom allergy, 21 of whom are children.

The decision to start IT should be based on the severity of reactions to stings and the degree of exposure⁴. For paediatric patients this decision may be harder to reach because traditionally children, unlike adults, have been believed to outgrow their spontaneous sensitivity to hymenoptera venom. Accordingly, a number of studies have claimed that IT is not indicated in children with mild systemic reactions involving only the skin⁵⁻⁷.

Published articles about hymenoptera venom allergy specifically in children are scarce^{2,5,8-9}. The aim of the present study was thus to report our experience with an evaluation of IT with hymenoptera venom in the paediatric population at risk of being stung. Here we analyse the tolerance and efficacy of this treatment in paediatric patients diagnosed at our allergy unit as having hymenoptera venom allergy.

Material and methods

Patients

We reviewed the medical records of 21 patients aged from 4 to 16 years (mean age 11.8 years; 8 girls, 13 boys) followed at the Allergy Unit of the Xeral Hospital in Lugo, Spain, between January 1997 and February 2008. All patients included in our data base were first seen for an allergic reaction (anaphylaxis grade 1-4 according to Müller criteria) to a bee or hornet sting. The diagnosis of allergic reaction was based on clinical history, positive intradermal skin tests and detection of specific IgE to the type of venom

involved. The insect responsible for the sting and allergic reaction was a bee in 17 children (80.9%) and a hornet in 4 (19.1%).

Reactions

The reaction to the sting at the time of diagnosis was a systemic reaction in all patients, and severity was classified according to Müller criteria¹. The reaction was moderate to severe in 19 patients (grade 2-4) and mild in the other 2 patients (grade 1) (Table I). Table I shows the type of reaction that led the patient to seek medical care at our unit, and the type of reaction prior to the patients' first visit at our unit.

Skin tests

Skin tests were done in accordance with European guidelines with intradermal injections of a volume of 0.02 ml of solution that contained 0.0, 0.01, 0.1 or 1.0 µg/ml of the extract, applied on the anterior surface of the forearm along with positive and negative controls (saline solution and histamine). Tests were considered positive when the wheal, observed 20 min after injection, measured at least 5 mm in diameter and was accompanied by erythema.

The same allergenic extracts (Pharmalgen, ALK-Abelló S.A) were used for all skin tests and all IT injections.

In vitro tests

Specific IgE was measured with a commercial CAP assay (Pharmacia, Uppsala, Sweden) in accordance with the manufacturer's instructions.

Immunotherapy

We used a semirush procedure for initial desensitisation, consisting of one or two weekly injections of nine increasing doses of venom (*Apis mellifera* or *Vespula*). This schedule has been previously published³. The choice of frequency of

Table I. Characteristics of patients

		<i>Apis</i>	<i>Vespula</i>	Total
Number of patients		17 (80.9%)	4 (19.1%)	21 (100%)
Age (years)	Mean	11.4	13.8	11.8
Systemic reaction at the time of diagnosis	Grade 1	1 (5.9%)	1 (25%)	2 (9.5%)
	Grade 2	4 (23.5%)	2 (50%)	6 (28.6%)
	Grade 3	11 (64.7%)	1 (25%)	12 (57.1%)
	Grade 4	1 (5.9%)	0 (0%)	1 (4.8%)
Type of previous reaction	No reaction	3 (17.6%)	0 (0%)	3 (14.3%)
	Local reaction	4 (23.5%)	1 (25%)	5 (23.8%)
	Large local reaction	4 (23.5%)	1 (25%)	5 (23.8%)
	Grade 1	2 (11.8%)	0 (0%)	2 (9.5%)
	Grade 2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Grade 3	2 (11.8%)	1 (25%)	3 (14.3%)
	Grade 4	1 (5.9%)	0 (0%)	1 (4.8%)

administration was based on the season of the year and risk of being stung. The maintenance dose in all patients was 100 µg/ml.

Immunotherapy lasted for 5 years or until allergological tests became negative. After 5 years IT was stopped even if skin tests and specific IgE levels remained positive.

All patients received initial IT at our allergy unit, and after the maintenance dose was reached 6 patients were referred to their primary health care centre for further treatment after consultation with their paediatrician, and 15 patients continued to receive IT at our allergy unit.

Monitoring

Most patients were seen annually for follow-up examinations in which the following information was recorded:

1. Clinical manifestations: We recorded spontaneous stings by identified insects, severity of the reaction compared to severity of the reaction that motivated the first visit to our unit (i.e., before IT was started), type of local or systemic reaction according to the Müller classification¹, and type of treatment of the reactions.
2. Tolerance of IT: Adverse reactions to vaccination were recorded with the EAACI criteria and the Müller system¹. Local reactions (immediate or delayed) were recorded as diameter of the wheal, dose that caused the reaction, treatment of the reaction, and outcome (change in the dose for subsequent injections). Systemic reactions (immediate or delayed) were recorded as dose that caused the reaction, treatment, and whether the dose was reduced because of the reaction.
3. Skin tests and specific IgE: We recorded skin test results (wheal diameter in mm) and specific IgE values (in IU/ml) for each patient before and after IT. The skin test results were recorded for each concentration of extract used for each injection (0.0, 0.01, 0.1 or 1.0 µg/ml).

Study method and statistical analysis

Descriptive statistics were used to report the results for IgE measurements and skin tests before and after IT. Intragroup comparisons (before and after IT) were done with the Wilcoxon signed-rank test, and *P* values lower than 0.05 were considered statistically significant. Regression analysis was done with pre-treatment values for IgE and skin tests as the dependent variable in order to determine the influence of treatment on efficacy (post-treatment IgE and skin test values).

Results

Tolerance

A total of five adverse reactions, three local and two systemic grade 3, were registered. All these reactions occurred using an extract of *Apis*. Due to this limited number of patients it has not been possible to identify possible risk factors of the appearance of adverse reactions. No adverse reactions were registered with the *Vespula* extract. In the 18 patients who completed IT, mean duration of treatment

was 4.2 years in the 14 who received one weekly injection and in the 4 who received two weekly injections. The frequency of administration was chosen on the basis of the season of the year and the risk of being stung again after IT had begun.

Clinical efficacy

Reactions in patients who were re-stung during or after the IT was completed are summarised in Table II. Seven patients (33.3%), all of whom were allergic to bee venom, were stung again by a bee during IT: five during the maintenance phase and one a few months after completing IT. In four of these seven patients there was no allergic reaction, and in the other three children there was a mild local reaction. In all children the reaction to re-sting was weaker than the allergic reaction that motivated their diagnosis. None of the children who were stung again after IT had a reaction that was more severe than the reaction that motivated IT.

Cutaneous tests

In two patients the skin prick tests became negative after 3 and 5 years of IT. When we compared skin tests before and after IT, we found a decrease in wheal diameter of 2.5 mm which was statistically significant (median difference: -2.50, 95% CI: -4.40, -1.33; *p* = 0.0004).

Specific IgE

In four patients specific IgE became negative after IT (< 0.35 IU/ml). Comparing specific IgE values before and after IT we have found a decrease of 5.78 (median difference: -5.78, 95% CI: -33.67, -4.81, *p* < 0.0001). Regression analysis performed on these data showed a statistically significant difference (*r*² = 0.54, *p* = 0.001).

Discussion

Despite published studies on allergy to hymenoptera venom in adults, few studies have appeared which focus on this allergy in the paediatric population. Although severe allergic reactions to hymenoptera insect stings are admittedly rare⁷,

Table II. Reactions in patients who were re-stung

Patient identification	Reaction prior to diagnosis	Reaction at time of diagnosis	Reaction to re-sting after immunotherapy
7	Unknown	SR Grade 3	LR
10	LR	SR Grade 2	No reaction
12	SR Grade 1	SR Grade 2	No reaction
13	SR Grade 3	SR Grade 3	No reaction
14	LLR	SR Grade 2	LR
19	LR	SR Grade 2	LR
20	SR Grade 1	SR Grade 3	No reaction

SR: Systemic reaction; LR: Local reaction; LLR: Large local reaction.

the spontaneous desensitisation assumed to occur in children has not been consistently supported by well-designed studies. Golden et al.² reported that in their study population the percentage of systemic reactions to insect stings in children who had not received IT was 17%, whereas in treated patients the figure was 3%. Valentine et al.⁵ found figures of 1.2% vs. 9.2% respectively in patients who had and had not received specific IT. In our series, 7 of 21 patients (33%) were stung again after IT without showing any systemic reaction.

The population served by the local health service is at increased risk for exposure to hymenoptera insects. This is due, in part, to the socioeconomic characteristics of the province, where farming (e.g., vineyards and fruit orchards) and other outdoor activities such as hunting and fishing are common. In addition, a considerable percentage of the population, despite living in an urban environment during the working week, spends the weekends in rural environments where beekeeping is a traditional hobby. Often the whole family takes part in honey harvesting, an activity that involves an increased likelihood of being stung.

In the population we studied, systemic reactions at the time of diagnosis were moderate to severe in 19 patients (Müller grades 2, 3 or 4) and mild in 2 patients (Müller grade 1). When we compared patients who had been stung on a previous occasion before the sting that brought them to our allergy unit, we found that 6 had had a systemic reaction, 10 a local reaction, and 3 had not had any type of allergic reaction. Two patients were unable to recall having been stung before. These findings confirm the difficulty of predicting individual responses in different patients, and together with the fact that one third of the patients in our series were stung again after IT, emphasize that the decision as to whether IT is indicated for children who have had only mild systemic reactions should be made on a case-by-case basis. The decision should take into account the patient's personal circumstances and the type of environment (e.g., urban vs. rural) where the patient usually lives.

The efficacy of IT with insect venom in our paediatric patients is supported by the finding that 33% of our patients who were stung again after IT had no systemic reactions, and also by the overall decrease in their skin prick and specific IgE reactions. In four patients specific IgE titer became negative, and in two the skin prick tests became negative.

Our allergy unit has 15 years' experience administering a semirush procedure with an aqueous hymenoptera venom extract. When we analysed tolerance in our paediatric patients, we found that two children (9%) had a systemic reaction during the initial phase of IT. One child required adrenaline and the other was treated with antihistamines and bronchodilators. In both children we resumed IT with the previously tolerated dose, and therapy was adequately tolerated thereafter. Two children (9%) had large local reactions which were treated with ice packs, and neither child required a change in the immunisation schedule.

After the initial phase of IT, six of our patients were referred for maintenance therapy with specific vaccines to their primary health care centre. Immunotherapy was continued in close collaboration with the paediatrician, and no adverse reactions were recorded in any of these children.

There may be reluctance to indicate IT for children because of the prospect of initiating costly, lengthy treatment

for a diagnosis with a presumably favourable prognosis. Some authors¹⁰ have suggested that sequential provocation with live insect stings should be the main parameter for deciding whether IT is indicated in children. Apart from the ethical issues which provocation testing may involve, we do not support this approach, for several reasons. The amount of venom injected during a sting depends not only on the duration of the sting, but also on the age of the insect and amount of venom in the venom sac at the time of the attack^{11,12}. Beehives are usually the source of insects used at allergy units for provocation testing. Beekeepers are aware that bees which remain in the hive are younger; consequently their venom sac contains less venom than older bees¹³. The amount of venom can be significantly reduced if the insect has stung previously without losing its sting. When threatened (as may occur during provocation testing), hornets can eject part of their venom without stinging. A negative result in provocation testing may thus not be solid enough evidence to rule out a systemic reaction after a subsequent sting¹⁴. From an immunological point of view, repeated provocation may itself induce sensitisation or have a booster effect in patients who later receive IT. One third of our patients were stung after they had completed IT, an incidence which suggests that the risk of being stung in our setting is high, and that, we feel, makes daily provocation testing in the laboratory unnecessary.

Few studies have investigated the efficacy and safety of IT with insect venom in children, probably because of the assumption that children outgrow their allergy, despite evidence to the contrary. The present study provides data on the safety and efficacy of a semirush procedure for patients who had severe systemic reactions. The cost-benefit ratio appears reasonable in the light of earlier publications and available data. In children who experience a mild systemic reaction, the indication for IT should be decided on a case-by-case basis with due regard for the child's living environment, parents' profession and risk of exposure.

Acknowledgments

We thank K. Shashok for translating the original manuscript into English. Ms Shashok's fee was paid by ALK-Abello, Madrid.

References

1. Müller UR. Insect sting allergy: clinical picture, diagnosis and treatment. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1990.
2. Golden DB, Kagey-Sobotka A, Norman PS, Hamilton RG, Lichtenstein LM. Outcomes of allergy to insect stings in children, with and without venom immunotherapy. *N Engl J Med* 2004; 351:668-74.
3. Carballada FJ, Martín F, Boquete M. High Efficacy and Absence of Severe Systemic Reactions after Venom Immunotherapy. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2003;13:43-49.
4. Müller U, Mosbeck H. Position Paper. Immunotherapy with Hymenoptera venoms. *Allergy* 1993;14(48):37-46.
5. Valentine MD, Schuberth KC, Kagey-Sobotka A, Graft DF, Kwitrovich KA, Szkló M, Lichtenstein LM. The value of immunothera-

- py with venom in children with allergy to insect stings. *N Engl J Med* 1990;323:1601-3.
6. Schuberth KC, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Szklo M, Kwiterovich KA, Valentine MD. An epidemiologic study of insect allergy in children. I. Characteristics of the disease. *J Pediatr* 1982;100:546-51.
 7. Schuberth KC, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Szklo M, Kwiterovich KA, Valentine MD. An epidemiologic study of insect allergy in children. II. Effect of accidental stings in allergic children. *J Pediatr* 1983;102:361-5.
 8. Steiss JO, Jödicke B, Lindemann H. A modified ultrarush insect venom immunotherapy protocol for children. *Allergy Asthma Proc* 2006;27:148-50.
 9. Golden DB. Insect allergy in children. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;6:289-93.
 10. Schuetze GE, Forster J, Hauk PJ, Friedl K, Kuehr J. Bee-venom allergy in children: long-term predictive value of standardized challenge tests. *Pediatr Allergy Immunol* 2002;13:18-23.
 11. Hoffman OR, Jacobson RS. Allergens in hymenoptera venom. How much protein is in a sting? *Ann Allergy* 1984;52:276-8.
 12. Schumacher MJ, Tveten MS, Egen NBJ. Rate and quantity of delivery of venom from honey bee stings. *Allergy Clin Immunol* 1994;93:831-5.
 13. Pena L, Pineda ME, Hernandez M et al. Toxinas naturales: abejas y sus venenos. *AVFT* 2006;25:6-10.
 14. Franken HH, Dubois AEJ, Minkema HJ, van der Heide S, de Monchi 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;93:431-6.

Follow-up of Venom Immunotherapy (VIT) Based on Conventional Techniques and Monitoring of Immunoglobulin E to Individual Venom Allergens

F Carballada,¹ M Boquete,¹ R Núñez,¹ M Lombardero,² F de la Torre²

¹Allergy Unit, Hospital Xeral Calde, Lugo, Spain

²ALK-ABELLO, S.A., Madrid, Spain

■ Abstract

Objectives: To assess the efficacy of venom immunotherapy (VIT) and monitor changes in in vivo and in vitro test results after 5 years of treatment and subsequent follow-up. To study the profile of immunoglobulin (Ig) E to individual allergens prior to treatment and 1 year afterwards.

Methods: We studied 562 patients with hymenoptera venom allergy (438 to bee, 124 to wasp), all of whom underwent immunotherapy with *Apis* or *Vespula* extract. The patients were followed up using conventional in vivo and in vitro tests, and in 51 cases, specific IgE against the main hymenoptera allergens was measured before starting and after 1 year of treatment.

Results: Of the 387 patients who completed VIT, 130 sensitized to *Apis* and 68 to *Vespula* suffered spontaneous re-stings during treatment. Of these, 123 (94.6%) did not suffer any reaction and 64 (94.1%) suffered only a local reaction. Sixty-two patients sensitized to *Apis* and 14 sensitized to *Vespula* suffered spontaneous re-stings after stopping treatment. Only 3 patients suffered a systemic reaction (grade I Müller). At the end of treatment, the results of skin tests and specific IgE to whole extract improved significantly. Reductions in IgE to the main allergens were observed after 1 year of treatment (median differences in Ves v 5, -238.0 , $P=.0425$; and in Api m 1, -183.0 , $P=.0024$).

Conclusion: The high rate of spontaneous re-stings shows that efficacy is maintained for years after completing treatment in a real-world setting. Determination of IgE to individual venom allergens may offer new perspectives in the diagnosis and follow-up of these patients.

Key words: *Apis*. *Vespula*. Hymenoptera venom allergy. Venom immunotherapy. Component-resolved diagnosis.

■ Resumen

Antecedentes: La inmunoterapia con veneno de himenópteros (ITV) es un tratamiento eficaz. Existen diferentes herramientas para monitorización durante y tras el tratamiento. El objetivo de este estudio es valorar la efectividad del tratamiento y monitorizar cambios *in vivo* e *in vitro* durante y tras 5 años de tratamiento, y estudiar el perfil de la IgE a los alérgenos individuales de venenos antes y al año de tratamiento.

Métodos: Se han estudiado 562 pacientes con alergia a veneno de himenópteros (438 a abeja, 124 a avispa). Todos iniciaron ITV con extracto de *Apis* o *Vespula*. Los pacientes fueron seguidos mediante pruebas cutáneas e IgE específica y en 51 se valoró la IgE a alérgenos individuales.

Resultados: De los 387 pacientes que completaron el ITV, 130 sensibilizados a *Apis* y 68 a *Vespula* sufrieron repicaduras espontáneas durante el tratamiento, de los que 123 (94.6%) no sufrieron reacción alguna y 64 (94.1%) respectivamente sólo sufrieron reacción local. Además, 62 pacientes sensibilizados a *Apis* y 14 a *Vespula* sufrieron picaduras una vez finalizada la ITV, de los que sólo 3 presentaron una reacción sistémica grado I de Mueller. Al final del tratamiento, las pruebas cutáneas e IgE específica a extracto completo mejoraron significativamente. Asimismo, la IgE a alérgenos individuales disminuyó tras 1 año de tratamiento (diferencias en mediana para Ves v 5: -238.0 , $p=0.425$ y para Api m 1: -183.0 , $p=0.0024$).

Conclusión: La eficacia persiste años después de finalizado el tratamiento. La IgE a los alérgenos individuales de venenos puede ofrecer nuevas perspectivas, por su especificidad, en el seguimiento de estos pacientes.

Palabras clave: *Apis*. *Vespula*. Alergia a veneno de himenópteros. Inmunoterapia con veneno de himenópteros.

Introduction

Hymenoptera venom allergy (HVA) is an important health problem. In Spain, 2 epidemiology surveys on the prevalence of allergic diseases conducted in 1992 and 2005 (3905 and 4991 allergic patients, respectively) revealed that the prevalence of HVA increased from 0.7% to 1.5% during this period [1,2].

Hymenoptera venom immunotherapy (VIT) has proven efficacious since pure venom extracts have been used [3,4], and its efficacy persists years after treatment has been completed [5,6]. Although there are no doubts about the efficacy of treatment, further information is necessary on optimal follow-up and monitoring, not just during the treatment phase but also afterwards. Essential issues include reaching an optimal dose in the shortest time possible, individualizing treatment regimens, adjusting the number of doses required to obtain the lowest possible rate of adverse reactions, providing an immediate record of what happens when a patient suffers a re-sting, and analyzing new tools that could result in more effective patient monitoring. We studied the molecular profile of sensitization to different Hymenoptera venom allergens in order to improve monitoring.

A few years ago, we published an interim analysis of half the sample included in this study [7]. In the present analysis, we studied whether the efficacy of VIT continues beyond the end of treatment by means of field re-sting monitoring, as well as the correlation between efficacy and in vivo (skin tests) and in vitro tests (immunoglobulin [Ig] E). We also studied the sensitization profile of our patients to the main hymenoptera allergens and determined how this profile changes with immunotherapy.

Material and Methods

Patients

We evaluated 562 patients, 163 (29.0%) of whom were professional or amateur beekeepers. Mean (SD) age was 45.7

(16.5) years (range, 4-82 y). Of these patients, 438 (77.9%) were sensitized to *Apis* and 124 (22.1%) were sensitized to *Vespula*. The demographic characteristics of the patients are summarized in Table 1. Eight patients (1.4%) were allergic to both *Apis* and *Vespula*. Only patients with anaphylaxis to hymenoptera venom and who required VIT were included in the database. The ethics committee of the hospital approved the study and all patients gave their informed consent.

Diagnostic Tests and Follow-up

Diagnosis was based on the clinical history, positive results for intradermal tests, and specific IgE determination to each type of venom. We used Müller's criteria to assess the severity of the reaction that caused referral to the Allergy Unit [8].

Skin Tests

Skin tests were performed in accordance with European Committee Guidelines [9] by means of intradermal injection on the volar surface of the forearm of 0.02 mL of solution containing 0.01, 0.1, and 1 µg/mL of venom protein (Pharmalgen, ALK-ABELLÓ, S.A., Madrid, Spain). Histamine 10 mg/mL was used as the positive control and saline solution was used as the negative control (ALK-ABELLÓ, S.A., Madrid, Spain). The response was assessed 20 minutes after the test started and a wheal diameter of ≥5 mm with erythema was considered a positive result.

Determination of Specific IgE

Specific IgE was determined for the total venom extract and measured in kU_A/L, following the CAP method (Phadia, Uppsala, Sweden).

In addition, 1 year ago, we started to determine patients' molecular profile by measuring IgE to the following hymenoptera allergens: phospholipases (Api m 1, Ves v 1, Pol d 1), hyaluronidases (Api m 2, Ves v 2), and antigen 5

Table 1. Patient Characteristics^a

		Total (n=562)	<i>Apis</i> (n=438)	<i>Vespula</i> (n=124)
Environment	Urban	187 (33.3)		
	Rural	375 (66.7)		
Sex	Female	188 (33.5)		
	Male	374 (66.5)		
Age	≤14 y	14 (2.5)		
	15-17 y	9 (1.6)		
	≥18 y	539 (95.9)		
SRD	Grade I ^b	43 (7.7)	32 (7.3)	11 (8.9)
	Grade II ^b	142 (25.3)	114 (26.0)	28 (22.6)
	Grade III ^b	272 (48.4)	212 (48.4)	60 (48.4)
	Grade IV ^b	105 (18.7)	80 (18.3)	25 (20.2)

Abbreviation: SRD, systemic reaction at the time of diagnosis

^aAll values are expressed as No. (%)

^bMüller classification (See Reference 8)

(Ves v 5, Pol d 5). Phospholipase A2 (Api m 1) was obtained from Sigma-Aldrich (Madrid, Spain). Recombinant bee venom hyaluronidase (Api m 2) was expressed in baculovirus-infected cells and purified as reported elsewhere [10]. Wasp venom allergens were purified from lyophilized venom (ALK-Abelló Source Material, Spring Mills, Pennsylvania, USA) as indicated [11]. Purified venom allergens were biotin-labelled, and the levels of specific IgE to these allergens were tested using the ADVIA Centaur platform (Bayer HealthCare Diagnostics Division, Tarrytown, New York, USA) and expressed in kU_A/L, as previously described [12].

Immunotherapy

All patients were treated with 100% *Apis mellifera* extract or 100% *Vespula* spp. extract (Pharmalgen, ALK-Abelló S.A., Madrid, Spain). The initiation schedule consisted of 9 increasing doses of venom (0.1, 1, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg). Procedure and follow-up have been described elsewhere [7]. All patients on maintenance therapy attained the dose of 100 µg administered at 1-month intervals. A maintenance dose of 200 µg was administered to 6 patients, 4 of whom were professional beekeepers who needed to continue their work; the other 2 experienced systemic reactions from spontaneous re-stings when they were in the maintenance phase (100 µg). Furthermore, 7 patients did not tolerate Pharmalgen. During the initiation phase, 1 patient could not tolerate treatment. In the other 6 cases, initiation and maintenance treatment were well tolerated for more than 1 year; however, unexpected reactions occurred after a maintenance dose. These consisted of facial erythema, generalized pruritus, and mild respiratory distress, some of them requiring adrenaline to control the reaction. Once administration errors, mastocytosis, and concomitant medication were ruled out, and since the reaction occurred again at lower doses, the Pharmalgen extract was changed to Aquagen (ALK-Abelló S.A., Madrid, Spain), which all 7 patients tolerated. Aquagen contains a lower concentration of certain low-molecular-weight substances (eg, melittin) and peptides other than Pharmalgen.

Statistical Methods

Descriptive statistical techniques were applied. Quantitative variables were described using the mean (SD), 95% confidence interval (CI), size, and minimum and maximum values. The median and interquartile range (IQR) were also described.

The Cochran-Armitage trend test was used to analyze global changes in skin response. A logistic regression model was constructed to analyze changes in concentrations for positive skin test results before and at the end of treatment. A successful outcome was defined as a negative skin test result at the end of treatment or a positive one at a higher concentration than the one used at the start of treatment. The Wilcoxon signed-rank test was used to compare initial and final values of specific IgE.

Results

To date, 387 patients have completed treatment, with a mean duration of 54.7 (12.2) months. Of all the patients

in the database, 22 were not able to finish treatment for personal reasons, onset of diseases requiring treatment with immunosuppressants, and reasons unrelated to treatment.

Tolerability to Immunotherapy

No systemic adverse reactions were recorded with the *Vespula* extract. With the *Apis* extract, 100 reactions were recorded in 50 patients (11.4%). Of these, 72 were Müller grade I, 4 were grade II, 10 were grade III, and 1 was grade IV. Patients treated with Aquagen did not suffer any adverse reactions.

Treatment Monitoring

Skin tests: Skin tests were performed before and after immunotherapy in 385 patients. Table 2 shows the results obtained according to whether the patient's condition improved, did not change, or worsened. Two aspects are of particular interest: first, the test became negative in 28 patients (22 with *Apis* and 6 with *Vespula*), and second, a statistically significant higher proportion of patients treated with *Vespula* had better test results than those treated with *Apis* (66.7% and 49.4% respectively, $P=.0049$ [Cochran-Armitage test]).

Table 2. Changes in Skin Test Results Before and After Immunotherapy^a

	Total	<i>Apis</i>	<i>Vespula</i>
Improvement ^b	203 (52.7)	153 (49.4)	50 (66.7)
No change	177 (46.0)	152 (49.0)	25 (33.3)
Worse	5 (1.3)	5 (1.6)	0
Total	385	310	75

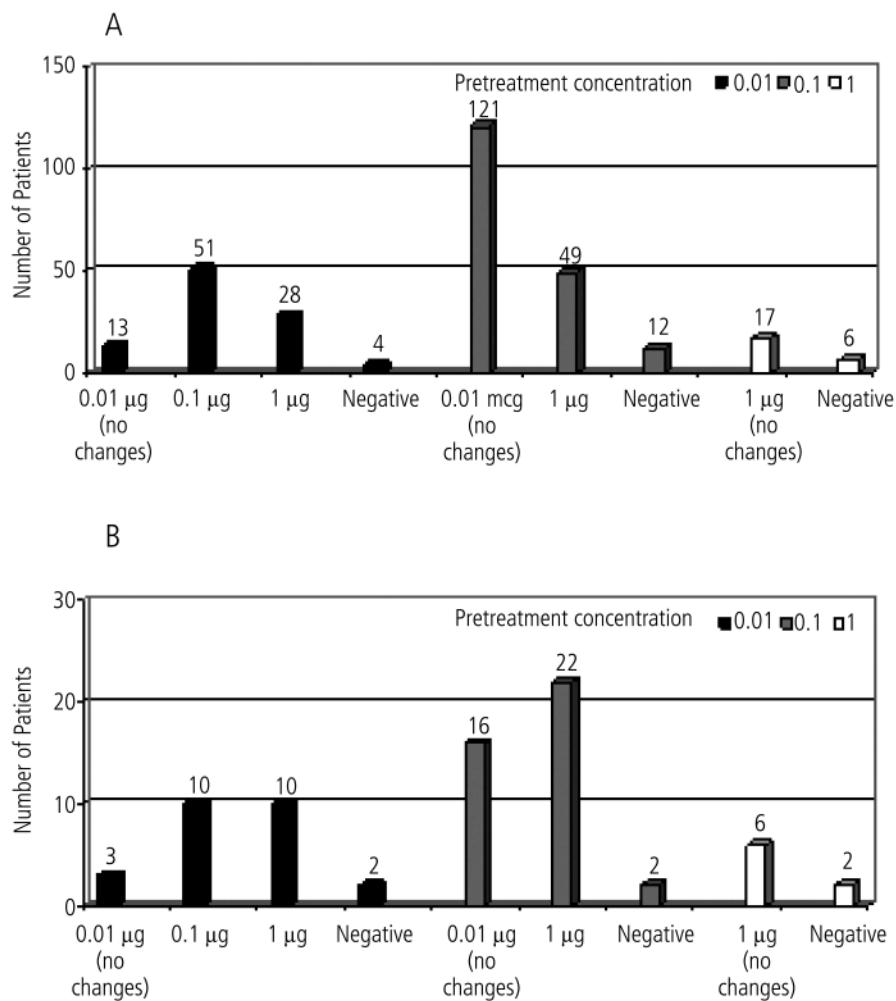
^aAll values are expressed as No. (%)

^bImprovement is considered as a negative test result or a positive test result with a higher concentration than the pretreatment one. $P=.0048$ (Cochran-Armitage trend test)

With regard to prognosis, one parameter that may be of interest is the percentage of improvement in the skin test result according to the concentration at which the skin test was positive before treatment. Figures 1A and 1B show these changes in patients sensitized to *Apis* and *Vespula*. Patients treated with a *Vespula* extract had a 2.3-fold higher odds ratio of a successful outcome than patients treated with *Apis*. The statistical significance for testing equality between the 2 patient groups was .0063.

Specific IgE: In the case of *Apis*, mean IgE values fell -8.93 (12.35 [before treatment]; 4.13 [after treatment]; 95% CI, -11.1 to -6.75) at the end of treatment with respect to baseline, while the reduction was -5.00 (8.05 [before treatment]; 3.77 [after treatment]) in the case of *Vespula* (95% CI, -9.1 to -0.9).

In the case of the 291 patients sensitized to *Apis* in whom IgE was measured before and after treatment, this parameter became negative (<0.35 kU_A/L) in 36 patients (12.4%). In the 63 patients sensitized to *Vespula*, IgE was measured before and after treatment and it became negative in 30 (47.6%). In subsequent yearly control visits after the end of treatment, IgE to *Apis* became negative in a further 25 patients (61 patients



Each histogram bar represents the number of patients (figures above the bars) in which skin testing was positive at a specific allergen concentration (post-treatment concentration), classified by the pretreatment concentration (black bars: 0.01 mg, grey bars: 0.1 mg, white bars: 1 mg) that was needed to obtain a positive test. When building the logistic regression model, a successful outcome was considered as a negative skin test at the end of treatment or a positive one at a higher concentration to the one used at baseline.

Figure 1. Skin test results after treatment compared with the baseline concentration that gave a positive result. A, *Apis*. B, *Vespula*. The baseline concentration is shown on the horizontal axis.

[21.2%]) and IgE to *Vespula* became negative in another 6 patients (36 patients [57.1%]).

Molecular profiling was performed on 82 patients who were included consecutively over a period of several months. Fifty-one of these were re-assessed after the first year of treatment: 39 had been treated with *Apis* extract and 12 with *Vespula* extract. Figure 2 shows the results at baseline. The most prevalent allergens were phospholipase A2 (Api m 1) in the case of patients diagnosed with *Apis* hypersensitivity and Antigen 5 (Ves v 5) in the case of patients diagnosed with *Vespula* hypersensitivity. It is remarkable that in patients sensitized to *Apis*, almost 50% were sensitized to *Vespula*

hyaluronidase (Ves v 2), which is a very similar percentage to that found in the patients diagnosed with *Vespula* allergy. Among patients sensitized to *Vespula*, 50% were sensitized to bee hyaluronidase (Api m 2), and 33% of these patients were also sensitized to phospholipase A2 (Api m 1).

Many patients were sensitized to allergens from both species. Of these patients, 46.2% who were allergic to *Apis* presented positivity to both Api m 2 and Ves v 2. This figure stood at 41.7% in patients with *Vespula* allergy. In this last group, we observed that the same percentage of patients were jointly sensitized to Pol d 5 and Ves v 5, 33% were jointly sensitized to Pol d 1 and Ves v 1, and 25% to Ves v 1 and

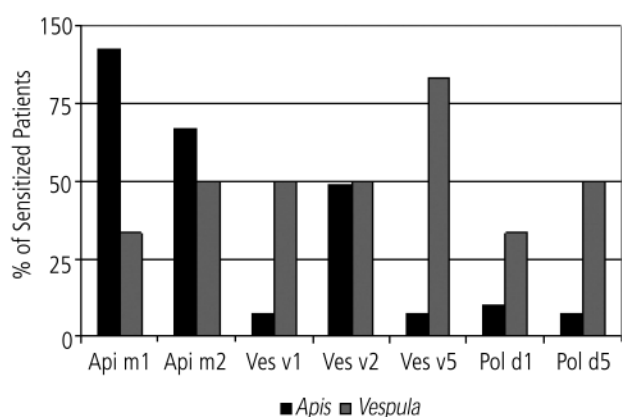


Figure 2. Percentage of patients sensitized to the principal allergens contained in hymenoptera venom (*Apis*, *Vespula*) before treatment, according to the type of clinical sensitization diagnosed in patients.

Api m 1. All these patients were treated with *Vespula* venom, since *Vespula* is the predominant insect in our area. However, determination of IgE to individual allergens performed in the last year has made it possible to detect allergic reactions to *Polistes*, and administration of this extract has been initiated in 2 patients.

The patients' molecular profiles are shown in Table 3. Those values showing significant differences reveal that, in patients treated with *Apis* after 1 year of treatment, sIgE levels for Api m 1 fell in 69.2% of cases and sIgE levels for Ves v 1 fell in 60.5%. In the case of patients treated with a *Vespula* extract, Ves v 5 levels fell in 66.7% of patients. In these patients, the selection of venom for VIT was performed according to the insect responsible for the sting.

It has been hypothesized that immunotherapy can cause new sensitizations to proteins in the extract in patients who have shown no previous sensitization [13]. Thus, when we analyzed the type of patient in which new sensitizations appear

Table 3. Molecular Profile After 1 Year of Immunotherapy

Allergen	Extract	No.	Median	P Value ^a	
Phospholipase	Api m 1	<i>Apis</i>	39	-183	.0024
		<i>Vespula</i>	12	0.0	.2969
	Ves v 1	<i>Apis</i>	38	-1.0	.0017
		<i>Vespula</i>	12	-16.0	.3394
Hyaluronidase	Api m 2	<i>Apis</i>	39	0.0	.1830
		<i>Vespula</i>	12	0.0	.0625
	Ves v 2	<i>Apis</i>	38	0.0	.5190
		<i>Vespula</i>	12	0.0	.9453
Antigen 5	Ves v 5	<i>Apis</i>	39	-2.0	.0051
		<i>Vespula</i>	12	-238.0	.0425

^aWilcoxon signed rank test

(patients with negative IgE at baseline that becomes positive after a year) and whether IgE to different allergens becomes negative, we found that, in the case of patients treated with *Apis*, IgE to Api m 1 and Api m 2 became negative in 2 and 1 patients, respectively, while positive sensitization occurred in 1 and 4 patients, respectively.

In the case of Ves v 1, 2, and 5, new sensitizations were observed after the first year of treatment with *Vespula* extract in 3, 1, and 1 patients, respectively. In the same group of patients, Ves v 2 became negative in 6 patients and Ves v 5 became negative in 1.

Re-sting

Although the above factors may have a certain prognostic value, the only way of appropriately assessing treatment response is to observe the reaction to a re-sting, especially if this occurs in the field. Tables 4 (*Apis*) and 5 (*Vespula*) show the severity of the reaction that caused referral for an

Table 4. Severity of Initial Reaction and of Re-sting in the Case of Patients Sensitized to *Apis*

	Re-stung Patients	Reaction to Re-sting, No.				
		No reaction	LR	LLR	Müller grade I	Müller grade III
SRD	Müller grade I (n=32)	9	7	2		
	Müller grade II (n=114)	32	19	12	1	
	Müller grade III (n=212)	58	34	22	2	
	Müller grade IV (n=80)	31	14	13	2	1

Abbreviations: LLR, large local reaction (>10 cm in diameter and lasting for more than 24 h); LR, local reaction (<10 cm in diameter or lasting for more than 24 h); SRD, reaction at the time of diagnosis

Table 5. Severity of Initial Reaction and of Re-sting in the Case of Patients Sensitized to *Vespula*

	Re-stung Patients	Reaction to Re-sting, No.			
		No reaction	LR	LLR	Müller Grade I
SRD	Müller grade I (n=11)	9	4	5	
	Müller grade II (n=28)	14	3	10	1
	Müller grade III (n=60)	30	17	11	1
	Müller grade IV (n=25)	15	9	5	1

Abbreviations: LLR, large local reaction (>10 cm in diameter and lasting for more than 24 h); LR, local reaction (<10 cm in diameter or lasting for more than 24 h); SRD, reaction at the time of diagnosis.

allergy workup and the severity of the reaction on re-sting in the last years of treatment. The results show that of the patients sensitized to both bee and wasp, 94.6% and 94.1%, respectively, did not suffer any reaction at all, or just a local reaction, on re-sting. The results of skin testing in *Apis*-sensitized patients who were re-stung improved at the end of treatment in 47.3% (previously negative in 18%), became worse in 3 patients (2 suffered a Müller grade 1 reaction to re-sting), and in 50.4% there was no change. In the case of patients sensitized to *Vespula*, the skin test result improved in 62.5% (previously negative in 8%) and did not change in 37.5%. When we consider changes in IgE among re-stung patients, in those sensitized to *Apis*, the mean difference between the pretreatment evaluation and that carried out 5 years later was -8.23 (95% CI, -11.17 to -5.29 , $P<.0001$). In patients sensitized to *Vespula*, these values were -4.28 (95% CI, -8.42 to -0.14 , $P<.0001$). Moreover, we recorded the reaction to re-sting experienced by some patients once treatment was stopped. The time from the end of immunotherapy to re-sting varied considerably, from 3 months to 11 years. In the case of patients treated with *Apis* extract, we registered these reactions in 62 patients. Forty patients (65.6%) did not have any reaction at all to re-sting, 19 patients (29.5%) had a small local reaction only, and 3 patients suffered a systemic reaction (Müller grade I). In order to assess the long-term effect of VIT, it is remarkable that 10 of the 61 patients sensitized to *Apis* had been re-stung more than 5 years after ending treatment. Eight of these patients did not experience any reaction and 2 had a small local reaction.

In the case of patients sensitized to *Vespula*, 14 were re-stung after treatment. Seven patients (50%) did not have any reaction at all, 4 (28.6%) had a small local reaction, and 3 (21.4%) had a large local reaction. There were no systemic reactions. In 2 cases, re-sting occurred more than 5 years after the end of treatment: one had no reaction and the other suffered a small local reaction.

Discussion

Hymenoptera venom allergy is a major health problem. It was observed to be more pronounced in our patients, since almost 30% of those who had a systemic reaction to a first sting had a more severe reaction to the following sting, which

led to referral for an allergy workup (data not shown). Our allergy unit covers a largely rural area, and the population is widely dispersed in small villages, with a high risk of re-sting in the field. Therefore, ongoing monitoring is important. Of our patients, 35.2% (198/562) suffered re-stings during the last years of treatment and 13.3% (75) reported further re-stings after the end of treatment.

In the case of the 7 patients with venom allergy who had adverse reactions to Pharmedgen, as described above, the change to Aquagen, an aqueous treatment with a lower concentration of melittin and other low-molecular-weight substances, led to improved tolerance. This extract has been documented previously [14]. Molecular analysis revealed serum specific IgE to melittin in 4 of the 7 patients (data not shown).

Although the efficacy of venom immunotherapy is clear [4,15], it is worth clarifying specific aspects of this treatment.

First, it is agreed that treatment should last at least 3 years. The different risk factors involved—age, insect, severity of reactions prior to treatment, and other [8]—reveal the need for a longer or shorter length of treatment. In a study published in 1998 [6], the percentage of systemic reactions on re-sting was about 5% in patients who received treatment for at least 50 months, increasing to almost 18% in treatments lasting 33–49 months. Therefore, we maintained treatment for 5 years in most patients.

Second, parameters that are useful in monitoring must be identified. In our patients, IgE became negative in 96 patients and skin tests became negative in 28 patients. The overall reduction was significant in both tests at the end of treatment. Although these parameters are not indicative of clinical efficacy, they do provide a means of monitoring changes in sensitization [16]. At our unit, we follow the recommendations of the Subcommittee on Venom Allergy of the European Academy [17], namely, we maintain treatment for 5 years, unless test results become negative at yearly controls. If this is not the case, we discontinue VIT at 5 years regardless of test results, and always if there is no systemic reaction after re-sting in the field.

Determination of IgE to individual venom allergens is a new technique that may prove useful in the diagnosis and treatment of sensitization to vespids. However, further studies are necessary to confirm the usefulness of this approach and its

role as a monitoring method in immunotherapy. We observed that the predominant allergens before starting immunotherapy were clearly Api m 1 in bee-sensitized patients and Ves v 5 in wasp-sensitized patients. After 1 year of treatment we found significant reductions in IgE levels to these 2 main allergens. As ADVIA-Centaur is not subject to interference from non-IgE antibodies (unlike methods based on solid phase-bound allergens, such as the CAP system), these reductions were real. The titer of non-IgE antibodies is expected to increase during the course of immunotherapy. The percentage of patients with joint sensitization to bee and wasp hyaluronidase ranges from 40% to almost 50%, suggesting significant cross-reactivity between these 2 allergens. It is important to note that both are strongly glycosylated, which could suggest that cross-reactivity is glycan-mediated [18]. We are currently analyzing the possible influence of alcohol intake on cross-reactivity. Joint sensitization was also observed for phospholipases in patients diagnosed with wasp allergy, of whom 25% were sensitized to both Api m 1 and Ves v 1. Finally, a large percentage (41.7%) of *Vespula*-sensitized patients showed joint sensitization to Pol d 5 and Ves v 5. In principle, *Polistes dominula* is not relevant in the area where our patients live, thus suggesting that cross-reactivity between the 2 allergens is not glycan-mediated, since the wasp Antigen 5 allergen is not glycosylated.

After 1 year of immunotherapy, new specific IgE appeared against some allergens. However, the prevalence of these new sensitizations and the level of specific IgE were low (in all but 1 patient the IgE was <1 kU_A/L). Regarding possible causes of these new sensitizations, other than proper immunotherapy, we cannot rule out a new natural exposure to the allergen or the influence of external factors such as alcohol intake, which could modulate the presence of specific IgE against the glycan moiety of glycosylated allergens.

The most conclusive test of treatment efficacy is a patient's reaction to re-sting. Of all the patients included in our database, 38% experienced re-stings in the field, either during treatment or after completing it. The percentage of patients with no reaction or a small local reaction was 94.6% in those sensitized to bee and 94.1% in those sensitized to wasp. This percentage is maintained even in the case of re-stings several years after the end of treatment, although there are a smaller number of patients in this situation; therefore, we must be careful when drawing conclusions. Some authors report that VIT can be discontinued after 5 to 6 years of treatment with a 5% to 10% residual risk of systemic reaction. Severity of pretreatment reaction is considered to be one such factor [5]. In our patients, 22 out of 105 of those who had a grade IV pretreatment reaction suffered a spontaneous re-sting. Twenty patients (90.9%) had no reaction or a small local reaction. The other 2 patients had a large local reaction and a grade 1 reaction, respectively.

Patients with hymenoptera venom allergy who live in zones of high risk of exposure should be closely monitored, especially in the case of spontaneous re-stings. Monitoring should be a priority objective in allergy units. Taking into account the high rate of spontaneous re-stings, we believe that efficacy is maintained for years after completing treatment in a real-world setting. Other parameters considered when monitoring our patients have different outcomes. A significant decrease in specific IgE to whole venom extract was observed

in the total patient sample and in those who suffered a re-sting alike. A future challenge is to prove whether this decrease in specific IgE titers to whole venom extract is associated with a significant variation in major allergens (Ves v 5 and Api m 1) after stopping VIT, especially in patients who do not have significant reactions to field re-stings. Skin tests have not shown clear value as a monitoring parameter, especially in re-stung patients (bee), despite their indisputable value in the initial diagnosis.

Acknowledgments

We are grateful to Dr Zora Husley for providing us with the rApi m 2 sample.

Conflicts of Interest

M Lombardero and F de la Torre work for ALK-ABELLÓ, S.A.

References

1. ALERGOLÓGICA. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, Alergia e Inmunología Abelló, S.A. eds. Madrid, 1995.
2. ALERGOLÓGICA. Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica, Schering-Plough. Eds. Madrid, 2005.
3. Hunt KJ, Valentine MD, Sobotka AK, Benton AW, Amodio FJ, Lichtenstein LM. A controlled trial of immunotherapy in insect hypersensitivity. *N Engl J Med.* 1978;299:369-78.
4. Müller U, Thurnheer U, Patrizzi R, Sipess J, Hoigne R. Immunotherapy in bee sting hypersensitivity. Bee venom versus wholebody extract. *Allergy.* 1979;34:369-78.
5. Golden DBK, Kwiterowich A, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Discontinuing venom immunotherapy: Extended observations. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;101:298-305.
6. Lerch E, Müller U. Long-term protection after stopping venom immunotherapy: Results of re-stings in 200 patients. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;101:606-12.
7. Carballada F, Martín S, Boquete M. High efficacy and absence of severe systemic reactions after venom immunotherapy. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 2003;13:43-49.
8. Mueller UR. Insect sting allergy: clinical picture, diagnosis and treatment. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag 1990.
9. Dreborg S, Backman A, Basomba A, Bousquet J, Dieges P, Malling HJ. Skin tests used in type I allergy testing. Position Paper. Subcommittee on skin tests of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy.* 1989;44:1-59.
10. Soldatova LN, Cramer R, Gmachl M, Kemeny DM, Schmidt M, Weber M, Mueller UR. Superior biologic activity of the recombinant bee venom allergen hyaluronidase expressed in baculovirus-infected insect cells as compared with *Escherichia coli*. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;101:691-8.
11. King TP, Kochoumian L, Joslyn A. wasp venom proteins:

- phospholipase A1 and B. Arch Biochem Biophys. 1984;280:1-12.
12. Petersen AB, Gudmann P, Milvang-Gronager P, Morkeberg R, Bogestrand S, Linneberg A, Johansen W. Performance evaluation of a specific IgE assay developed for the ADVIA centaur immunoassay system. Clin Biochem. 2004;37:882-92.
 13. Sastre J, Raulf-Heimsoth M, Rihs H-P, Fernández-Nieto M, Barber D, Lombardero M, Martín S, Quirce S. IgE reactivity to latex allergens among sensitized healthcare workers before and after immunotherapy with latex. Allergy. 2006;61:206-10.
 14. Golden DBK, Kwiterovich KA, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Discontinuing venom immunotherapy: outcome after five years. J Allergy Clin Immunol. 1996;97:579-87.
 15. Jappe U, Raul-Heimsoth M, Hoffmann M, Burow G, Hübsch-Müller C, Enk A. In vitro hymenoptera venom allergy diagnosis: improved by screening for cross-reactive carbohydrate determinants and reciprocal inhibition. Allergy. 2006;61:1220-9.
 16. Müller UR, Johansen N, Petersen AB, Fromberg-Nielsen J, Haerberli G. Hymenoptera venom allergy: analysis of double positivity to honey bee and Vespula venom by estimation of IgE antibodies to species-specific major allergens Api m 1 and Ves v 5. Allergy. 2009;64:543-8.
 17. Müller UR, Mosbech H. Position paper. Immunotherapy with Hymenoptera venoms. Allergy 1993;14:37-46.
 18. Gonzalez-Quintela A, Garrido M, Gude F, Campos J, Linneberg A, Lojo S, Vidal C. Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants in relation to alcohol consumption. Clin Exp Allergy. 2008;38:152-60.

■ *Manuscript received November 17, 2009; accepted for publication February 24, 2010.*

■ **Francisco Carballada**

Unidad de Alergia. CH Xeral-Calde de Lugo
27210 Lugo
Spain
E-mail: francisco.carballada.gonzalez@sergas.es

Double (Honeybee and Wasp) Immunoglobulin E Reactivity in Patients Allergic to Hymenoptera Venom: The Role of Cross-reactive Carbohydrates and Alcohol Consumption

FJ Carballada,¹ A González-Quintela,² R Núñez-Orjales,¹ L Vizcaino,³ M Boquete¹

¹Department of Allergy, Hospital Xeral, Lugo, Spain

²Department of Medicine, Hospital Clínico Universitario, Santiago de Compostela, Spain

³Department of Biochemistry, Hospital Clínico Universitario, Santiago de Compostela, Spain

■ Abstract

Background: Immunoglobulin (Ig) E-mediated sensitization to N-glycans (cross-reactive carbohydrate determinants, CCDs) may induce double IgE reactivity to honeybee venom (HBV) and yellow jacket venom (YJV) in patients who are monosensitized to either of these venoms. Alcohol consumption is associated with increased IgE levels and possibly with sensitization to CCDs in the general population.

Objectives: This study investigated the factors associated with double (HBV and YJV) IgE reactivity in patients who are allergic to Hymenoptera venom, and in particular, alcohol consumption.

Methods: Ninety-one patients with Hymenoptera allergy (68 to HBV, 19 to YJV, and 4 to both venoms) were studied. Determinations included a multiallergen IgE test and IgE to HBV, YJV, natural (glycosylated) HBV phospholipase-A2 (nPLA2), recombinant (nonglycosylated) HBV phospholipase-A2 (rPLA2), MUXF (the N-glycan from bromelain), natural (glycosylated) rubber latex, total IgE. Double reactivity was defined as an IgE level >0.35 kU_A/L to HBV and YJV.

Results: Double reactivity was observed in 28/87 (32%) clinically monosensitized patients. Double reactivity was associated with high levels of total IgE, MUXF-specific IgE, nPLA2-specific IgE, latex-specific IgE, and false-positive results in the multiallergen IgE test, but not with rPLA2-specific IgE. Alcohol consumption was associated with double reactivity and with high levels of IgE to glycosylated allergens after adjusting for confounders in the multivariate analysis.

Conclusions: Sensitization to CCDs and clinically irrelevant double (honeybee and wasp) IgE reactivity are common among Hymenoptera venom-allergic patients who drink alcohol. A simple questionnaire about alcohol consumption could be useful when interpreting levels of specific IgE in these patients.

Key words: Hymenoptera venom allergy. Carbohydrate epitopes. Environmental factors. Immunoglobulin E. Cross-reactivity. Alcohol.

■ Resumen

Antecedentes: La sensibilización mediada por IgE a los N-glicanos (carbohidratos con reactividad cruzada, CCDs) puede inducir doble reactividad al veneno de abeja (HBV) y al veneno de avispa (YJV) en pacientes mono-sensibilizados a alguno de esos venenos. El consumo de alcohol se asocia con niveles elevados de IgE y posiblemente con sensibilización a CCDs en la población general.

Objetivo: En el presente estudio se han investigado los factores asociados a doble reactividad (a HBV y YJV) en pacientes alérgicos a veneno de himenópteros, especialmente el consumo de alcohol.

Metodos: Se estudiaron 91 pacientes con alergia a veneno de himenópteros (68 a HBV, 19 a YJV, y 4 a ambos venenos). Las determinaciones realizadas incluyeron IgE específica a HBV, YJV, fosfolipasa-A2 natural (glicosilada) de HBV (nPLA2), fosfolipasa-A2 recombinante (no glicosilada) de HBV (rPLA2), MUXF (el N-glicano de la bromelaina), latex natural (glicosilado), IgE total y un test de IgE multi-alérgico. Se definió la doble reactividad como la presencia de una IgE específica >0.35 kU/L frente a HBV y YJV.

Resultados: Se observó doble reactividad en 28/87 (32%) de los pacientes clínicamente mono-sensibilizados. La doble reactividad se asoció con niveles altos de IgE, de IgE específica a MUXF, a nPLA2, a latex y con falsos positivos del test multialérgico, pero no con IgE frente a rPLA2. El consumo de alcohol se asoció con doble reactividad y con niveles altos de IgE frente a alérgenos glicosilados tras ajustar por factores de confusión en los análisis multi-variable.

Conclusiones: La sensibilización a CCDs y la doble reactividad (clínicamente irrelevante) frente a HBV y YJV son frecuentes en los pacientes alérgicos a himenópteros que beben alcohol. Un cuestionario simple sobre el consumo de alcohol podría ser útil a la hora de interpretar los niveles de IgE específica en los pacientes con alergia al veneno de himenópteros.

Palabras clave: Alergia a veneno de himenópteros. Carbohidratos. Factores ambientales. Inmunoglobulina E. Reactividad cruzada. Alcohol.

Introduction

N-glycans in many plant and invertebrate allergens are a common cause of immunoglobulin (Ig) E cross-reactivity in vitro and are commonly known as cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs) [1-3]. Current evidence indicates that CCDs have poor activity in vivo; therefore, IgE sensitization to CCDs is considered clinically irrelevant, because sensitized individuals do not develop allergic symptoms when exposed to CCDs [1,4]. However, widespread cross-reactivity induced by CCDs interferes with the performance of in vitro allergy tests [1-3,5].

Hymenoptera stings are a probable cause of IgE-mediated sensitization to CCDs [6,7]. In turn, CCD sensitization causes in vitro double reactivity, namely, the presence of IgE to wasp (yellow jacket) venom (YJV) in patients who are only allergic to honeybee venom (HBV), and vice versa, because YJV and HBV glycoproteins share the same CCDs [8-10]. This double reactivity is important, because determination of specific IgE is a standard test for the diagnosis of Hymenoptera venom allergy in allergy clinics [11]. Recently, increased total serum IgE was shown to be associated with both sensitization to CCDs and clinically asymptomatic double reactivity to HBV and YJV [12].

Alcohol is a powerful immunomodulatory drug [13] and consumption is associated with increased serum levels of total IgE [14,15] and specific IgE to CCDs [16-19]. Heavy drinking, in particular, is associated with in vitro reactivity to pollens [16], plant food allergens [18], latex [17], and Hymenoptera venoms [16], and positive multiallergen test results [20] in populations of asymptomatic individuals (ie, individuals with no clinical manifestations of allergy). The aim of the present study was to investigate the factors associated with double (HBV and YJV) IgE reactivity in patients who are allergic to Hymenoptera venom, with special emphasis on alcohol consumption.

Methods

Study Population

The study included 91 consecutive patients (66 males [72%]; median age, 44 y [range, 16-75 y]) who were newly diagnosed with Hymenoptera venom allergy at a single

institution during a 3-year period (2005-2007). All participants had a systemic (Mueller grade I or higher) [21] reaction to honeybee sting, yellow jacket sting, or both. Patients were carefully classified as allergic to HBV (n=68), YJV (n=19), or both (n=4) after identification of the offending insect, tolerance to the other insect, and positive skin test results, following standard criteria [11]. No patients were receiving specific immunotherapy. Most patients (79%) lived in a rural environment. Thirty-four patients (29%) were current or former beekeepers. Fourteen (15%) were atopic, as shown by a history of typical respiratory symptoms and positive skin prick tests to inhalant allergens. All individuals consented to participate in the study, which was approved by the Institutional Review Board and conformed to the Declaration of Helsinki (Sixth Revision).

Main Determinations

Alcohol consumption was evaluated using standard drinking units [22], which is the sum of the number of glasses of wine, bottles of beer, and measures of spirits regularly consumed per week (each of these was considered 1 unit, or approximately equivalent to 10 g of alcohol). Similar to earlier reports [16,17], patients were classified as abstinent/occasional drinkers (0-1 units/wk), light-to-moderate drinkers (2-27 units/wk), or heavy drinkers (≥ 28 units/wk). Patients were classified as smokers when they regularly consumed at least 1 cigarette per day.

Total serum IgE was determined using chemiluminescent immunoassay (Immulate-2000, Siemens Medical Solutions, Llanberis, Gwynedd, UK). Specific IgE was determined using the Immuno-CAP-250 system (Phadia, Uppsala, Sweden) for the following allergens: HBV (i1), YJV (i3), natural (glycosylated) honeybee phospholipase-A2 (nPLA2), recombinant (nonglycosylated) honeybee phospholipase-A2 (rPLA2), MUXF (Ro214, the N-glycan from bromelain, a standard CCD marker) [1-3], and natural (glycosylated) rubber latex (NRL, *Hevea brasiliensis*, k82). The reportable range with this system is 0.01-100 kU_A/L. Following traditional classifications, IgE levels >0.35 kU_A/L were considered positive, and individuals with an IgE level >0.35 kU_A/L to both HBV and YJV were considered to have double in vitro reactivity. Determinations also included a multiallergen test (Phadiatop, Phadia), which measures IgE to a mixture of common inhalant allergens and was considered positive or negative according to the manufacturer's instructions.

Statistical Analysis

The χ^2 test (with trend analysis when appropriate) was used to compare proportions. The Mann-Whitney test was used to compare numerical variables between groups. The Spearman rank test was used to assess correlation. Logistic regression was used for multivariate analysis.

Results

Double IgE reactivity was observed in 28 of 87 (32%) clinically monosensitized patients. Clinically irrelevant

double reactivity was associated with higher levels of total IgE (Table 1). Among patients who were clinically monosensitized to HBV, levels of IgE to MUXF correlated with levels of IgE to YJV ($\rho=0.670$, $P<.001$). Among patients who were clinically monosensitized to YJV, levels of IgE to MUXF correlated with levels of IgE to HBV ($\rho=0.795$, $P<.001$). Double reactivity was strongly associated with higher levels of IgE to glycosylated HBV nPLA2, but was not associated with IgE to nonglycosylated HBV rPLA2 (Table 1).

Clinically irrelevant double reactivity was strongly associated with IgE reactivity to NRL. Levels of IgE to MUXF were strongly correlated at a 1:1 ratio with levels of IgE to NRL ($\rho=0.907$, $P<.001$) (Figure 1). Levels of IgE >0.35 kU_A/L to

Table 1. Demographic, Epidemiological, and Immunological Characteristics of Patients With and Without Clinically Irrelevant Double (Honeybee and Wasp) Immunoglobulin E Reactivity^{a,b,c}

	Patients With Double Reactivity ^a (n=28)	Patients With Single Reactivity to Either HBV or YJV (n=59)	P Value
Epidemiologic factors			
Age, y	41 (16-75)	48 (17-72)	.20
Sex, male	23 (82)	41 (69)	.21
Residence, rural	23 (82)	45 (76)	.53
Beekeeping	7 (25)	26 (44)	.08
Smoking	7 (27)	18 (30)	.73
Alcohol consumption, units/wk	23 (0-70)	7 (0-70)	.03
Clinical factors			
Mueller grade			
I	1 (4)	3 (5)	
II	8 (29)	22 (37)	
III	15 (53)	24 (41)	.72
IV	4 (14)	10 (17)	
Atopy ^d	6 (21)	8 (14)	.35
In vitro test results			
Positive multiallergen IgE test ^e	23 (85)	15 (26)	<.001
False-positive multiallergen IgE test ^f			
IgE to MUXF, kU _A /L ^c	0.75 (0-8.3)	0.01 (0-1.24)	<.001
IgE to natural rubber latex, kU _A /L ^c	1.1 (0.04-8.8)	0.04 (0.03-0.69)	<.001
IgE to natural HBV PLA2, kU _A /L	3.5 (1.1-40.3)	1.1 (0-41.3)	<.001
IgE to recombinant HBV PLA2, kU _A /L	0.81 (0-16.7)	0.59 (0-24.7)	.45
Total IgE, IU/mL ^e	144 (13-1265)	81 (4-609)	.002

Abbreviation: HBV, honeybee venom; Ig, immunoglobulin; MUXF, the N-glycan from bromelain; PLA2, phospholipase-A2; YJV, yellow jacket venom.

^aDouble reactivity is defined by an IgE level >0.35 kU_A/L to both venoms.

^bData are expressed as median (range) or absolute number (%).

^cPatients with clinically relevant double sensitization are not included.

^dClinical history of respiratory allergy plus positive skin prick tests to inhalant allergens.

^eData available for 27 and 57 individuals, respectively.

^fPositive multiallergen IgE test (Phadiatop) without evidence of atopy.

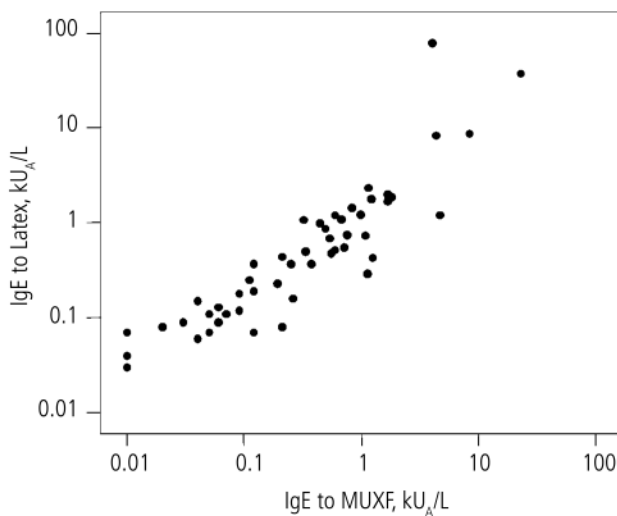


Figure 1. Correlation between serum levels of IgE to MUXF, the N-glycan from bromelain, and serum levels of IgE to natural rubber latex. Only cases with detectable levels of specific IgE are represented. All cases were included in the analysis. IgE indicates immunoglobulin.

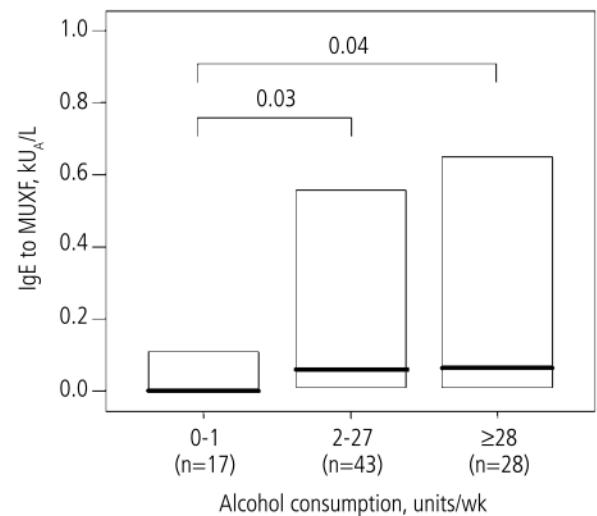


Figure 2. Serum levels of IgE to MUXF, the N-glycan from bromelain, in relation to alcohol consumption. Boxes represent the interquartile range and horizontal lines represent median values. All patients with an available determination were included. IgE indicates immunoglobulin.

Table 2. Factors Associated With Total and Specific Immunoglobulin E: Multivariate Analysis (Logistic Regression)^a

Factor	Double Reactivity (>0.35 kU _A /L) to Honeybee and Wasp Venom ^b	Positive (>0.35 kU _A /L) IgE to MUXF ^c	Positive (>0.35 kU _A /L) IgE to Natural Rubber Latex ^c	Positive Multiallergen IgE Test ^c	High (>100 IU/mL) Total IgE ^c
Age, y	0.966 (0.932-1.002)	0.939 (0.901-0.979) ^e	0.943 (0.908-0.980) ^e	0.930 (0.891-0.971) ^d	0.984 (0.951-1.017)
Sex (1=male)	0.94 (0.27-4.04)	0.95 (0.27-3.98)	0.87 (0.24-3.06)	0.67 (0.18-2.48)	2.82 (0.82-9.74)
Atopy (1=yes)	2.13 (0.55-8.22)	1.11 (0.24-4.98)	0.71 (0.16-3.17)	37.7 (3.50-407.3) ^e	5.57 (1.06-29.4) ^d
Residence (1=rural)	1.26 (0.34-4.62)	1.30 (0.33-5.16)	1.22 (0.33-4.46)	1.73 (0.45-6.63)	2.95 (0.80-10.8)
Beekeeping (1=yes)	0.39 (0.12-1.19)	0.48 (0.16-1.48)	0.61 (0.21-1.72)	0.95 (0.32-2.79)	0.68 (0.25-1.87)
Smoking (1=yes)	0.37 (0.10-1.32)	0.68 (0.20-2.24)	0.45 (0.14-1.46)	0.55 (0.16-1.80)	0.74 (0.24-2.27)
Alcohol, units/wk	1.053 (1.017-1.091) ^e	1.042 (1.006-1.079) ^d	1.038 (1.004-1.073) ^d	1.050 (1.013-1.087) ^e	0.972 (0.939-1.006)

^aData are expressed as odds ratios and 95% confidence intervals (within parentheses). Odds ratios were adjusted for all listed variables.

^bIncludes patients without clinically relevant double reactivity (n=87).

^cIncludes all patients with available determinations (n=88).

^dP<.05

^eP<.01

NRL were found in 30 of 88 (34%) patients for whom results were available. However, only 1 patient was truly allergic to latex. This patient, who had an NRL-IgE level of 80.0 kU_A/L and an MUXF-IgE level of 3.97 kU_A/L, was the only outlier in the correlation. Likewise, double reactivity was associated with positivity of the multiallergen IgE test (Phadiatop) (Table 1). In most cases, however, these positive results were not consistent with the clinical data (ie, in patients without evidence of sensitization to inhalant allergens) (Table 1). Double reactivity was associated with higher levels of total IgE (Table 1).

Clinically irrelevant double reactivity was associated with alcohol consumption (Table 1). The proportion of patients

with double reactivity increased from 17% (3/18) in alcohol abstainers/occasional drinkers to 29% (12/42) in light-to-moderate drinkers and to 48% (13/27) in heavy drinkers (*P* for trend, .02). The association between alcohol consumption and double reactivity was independent of potential confounders such as age, gender, smoking status, history of beekeeping, atopy, and residence (rural/urban) (Table 2). These factors were not associated with double reactivity (Tables 1 and 2).

Alcohol consumption was associated with increased levels of IgE to CCDs (MUXF) (Figure 2). The association between alcohol consumption and positivity of IgE to MUXF, positivity of IgE to natural rubber latex, and positivity of the

multiallergen IgE test was still present after adjusting for confounders (Table 2).

Discussion

This study shows that alcohol consumption, particularly heavy drinking, is associated with clinically irrelevant double (HBV and YJV) IgE reactivity in patients who are allergic to either HBV or YJV. Such double reactivity is a characteristic feature of CCD interference [8-10]. In fact, alcohol consumption was linked to increased levels of CCD-specific IgE. These findings were independent of potential confounders such as age, gender, smoking status, rural residence, and atopy.

The results are consistent with previous findings on CCD-IgE sensitization in epidemiological studies in general adult populations of asymptomatic individuals [16]. Importantly, this finding was confirmed in the clinical setting, where IgE to HBV and YJV is used as a diagnostic tool in patients with symptoms of Hymenoptera venom allergy. In this setting, clinical manifestations, identification of the offending insect, and skin tests are of paramount importance [11]. However, the results of IgE to HBV and YJV are routinely requested and should be interpreted with caution. Hymenoptera venom hypersensitivity is a high-risk allergy. Correct diagnosis of allergy to either HBV or YJV is necessary to indicate the appropriate immunization protocol. Double HBV and YJV reactivity should always raise the suspicion of interference by CCD [1,2,8-10]. Our results show that this interference should be taken into consideration, particularly in patients who drink alcohol.

Consistent with the results of previous reports [10,17,18], our findings showed that CCD sensitization and double venom reactivity were strongly associated with asymptomatic reactivity to CCD-bearing allergens such as NRL, but not to recombinant, nonglycosylated allergens. Similarly, CCD sensitization and double venom reactivity were strongly associated with discordant positivity of multiallergen IgE tests (ie, positive IgE tests to a mixture of inhalant allergens in patients with no history of respiratory allergy) [17,20]. Taken together, these results serve to emphasize both the common interference with *in vitro* tests and the clinical irrelevance of IgE to CCD *in vivo*.

The mechanisms underlying CCD sensitization and double IgE reactivity to HBV and YJV in alcohol drinkers are not entirely known. Alcohol consumption has been shown to induce a type 2 helper T cell deviation of the immune response [23-25], thus increasing serum IgE in observational studies [14,15,23] and in experimental animal models [24,25]. Children born to mothers who consumed alcohol during pregnancy show higher cord blood levels of IgE than those born to abstinent mothers [26]. Of note, individuals with high IgE levels are prone to IgE sensitization when exposed to a given allergen [27]. High total IgE levels are associated with sensitization to CCDs and subsequent *in vitro* reactivity to Hymenoptera venom [12]. In fact, double (HBV and YJV) reactivity was associated with total IgE levels in the present study. To the best of our knowledge, there is no evidence to support that

alcohol drinkers are more frequently exposed to Hymenoptera stings. Thus, it could be argued that alcohol drinkers are prone to become sensitized to CCD when exposed to Hymenoptera stings. Additional exposures favoring sensitization to CCD and subsequent double reactivity could include respiratory exposure to pollens [5] and, hypothetically, digestive exposure to CCD-bearing food allergens or allergens contained in beverages [28], including Hymenoptera-like allergens [29], which are favored by alcohol-induced gut permeability [30]. These hypotheses are currently under investigation.

Methodological issues to be considered include the quantification of alcohol consumption. Therefore, the system of standard drinking units is widely accepted and used [22]. Of note, similar interference by CCDs has been confirmed in alcohol drinkers from Portugal [17], which is near Spain, and in populations with different environmental exposures and drinking patterns such as Denmark [19]. The IgE assay method (ImmunoCAP system) is also a common reference, although some reports suggest that this system may be more prone to interference by CCDs than other commercial IgE assays [31].

In conclusion, clinically irrelevant double IgE reactivity is common in Hymenoptera-allergic patients who drink alcohol, probably due to interference by CCDs. Routine administration of a simple questionnaire to determine alcohol consumption could help physicians to interpret specific IgE levels in patients with Hymenoptera venom allergy.

Acknowledgments

The study was supported by the Instituto de Salud Carlos III (Fondo de Investigaciones Sanitarias, Spanish Ministry of Health, PI071173), and the Spanish Society for Allergy and Clinical Immunology (SEAIC)

References

1. Altmann F. The role of protein glycosylation in allergy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007;142:99-115.
2. Malandain H. IgE-reactive carbohydrate epitopes--classification, cross-reactivity, and clinical impact (2nd part) *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2005;37:247-56.
3. van Ree R. Carbohydrate epitopes and their relevance for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002;129:189-97.
4. Mari A, Ooievaar-de Heer P, Scala E, Giani M, Pirrotta L, Zuidmeer L, Bethell D, van Ree R. Evaluation by double-blind placebo-controlled oral challenge of the clinical relevance of IgE antibodies against plant glycans. *Allergy.* 2008;63:891-6.
5. Mari A. IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis of the distribution and appraisal of the *in vivo* and *in vitro* reactivity. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002;129:286-95.
6. Aalberse RC, Koshte V, Clemens JG. Immunoglobulin E antibodies that crossreact with vegetable foods, pollen, and Hymenoptera venom. *J Allergy Clin Immunol.* 1981;68:356-64.

7. Kochuyt AM, Van Hoeyveld EM, Stevens EA. Prevalence and clinical relevance of specific immunoglobulin E to pollen caused by sting-induced specific immunoglobulin E to cross-reacting carbohydrate determinants in Hymenoptera venoms. *Clin Exp Allergy*. 2005;35:441-7.
8. Egner W, Ward C, Brown DL, Ewan PW. The frequency and clinical significance of specific IgE to both wasp (*Vespula*) and honey-bee (*Apis*) venoms in the same patient. *Clin Exp Allergy*. 1998;28:26-34.
9. Hemmer W, Focke M, Kolarich D, Wilson IB, Altmann F, Wohrl S, Gotz M, Jarisch R. 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;108:1045-52.
10. Jappe U, Raulf-Heimsoth M, Hoffmann M, Burow G, Hubsch-Muller C, Enk A. In vitro hymenoptera venom allergy diagnosis: improved by screening for cross-reactive carbohydrate determinants and reciprocal inhibition. *Allergy*. 2006;61:1220-9.
11. Biló BM, Rueff F, Mosbech H, Bonifazi F, Oude-Elberink JN; the EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy*. 2005;60:1339-49.
12. Sturm GJ, Schuster C, Kranzelbinder B, Wiednig M, Groselj-Strele A, Aberer W. Asymptomatic sensitization to hymenoptera venom is related to total immunoglobulin E levels. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009;148:261-4.
13. Szabo G. Consequences of alcohol consumption on host defence. *Alcohol Alcohol*. 1999;34:830-41.
14. Hallgren R, Lundin L. Increased total serum IgE in alcoholics. *Acta Med Scand*. 1983;213:99-103.
15. González-Quintela A, Vidal C, Gude F. Alcohol, IgE, and allergy. *Addict Biol*. 2004;9:195-204.
16. González-Quintela A, Garrido M, Gude F, Campos J, Linneberg L, Lojo S, Vidal C. Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants in relation to alcohol consumption. *Clin Exp Allergy*. 2008;38:152-60.
17. Coutinho V, Vidal C, Garrido M, Gude F, Lojo S, Linneberg A, Gonzalez-Quintela A. Interference of cross-reactive carbohydrates in the determination of specific IgE in alcohol drinkers and strategies to minimize it: the example of latex. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2008;101:394-401.
18. Vidal C, Vizcaino L, Diaz-Peromingo JA, Garrido M, Gomez-Rial J, Linneberg A, Gonzalez-Quintela A. Immunoglobulin-E reactivity to a glycosylated food allergen (peanuts) due to interference with cross-reactive carbohydrate determinants in heavy drinkers. *Alcohol Clin Exp Res*. 2009;33:1322-8.
19. Linneberg A, Fenger RV, Husemoen LLN, Vidal C, Vizcaino L, Gonzalez-Quintela A. Immunoglobulin E sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants: epidemiological study of clinical relevance and role of alcohol consumption. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;153:86-94.
20. González-Quintela A, Garrido M, Gude F, Campos J, Linneberg A, Lojo S, Vidal C. Discordant positive results of multiallergen immunoglobulin E tests in relation to cross-reactive carbohydrate determinants and alcohol consumption. *J Invest Allergy Clin Immunol*. 2009;19:70-1.
21. Mueller U. Insect sting allergy: clinical picture, diagnosis and treatment. New York: Gustav Fischer, Stuttgart; 1990; pp. 100-5.
22. Gual A, Martos AR, Lligona A, Llopis JJ. Does the concept of a standard drink apply to viticultural societies? *Alcohol Alcohol*. 1999;34:153-60.
23. González-Quintela A, Vidal C, Lojo S, Pérez LF, Otero-Antón E, Gude F, Barrio E. Serum cytokines and increased total serum IgE in alcoholics. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1999;83:61-7.
24. Heinz R, Waltenbaugh C. Ethanol consumption modifies dendritic cell antigen presentation in mice. *Alcohol Clin Exp Res*. 2007;31:1759-71.
25. Linneberg A, Roursgaard M, Hersoug LG, Larsen ST. Effects of alcohol consumption on the allergen-specific immune response in mice. *Alcohol Clin Exp Res*. 2008;32:553-6.
26. Bjerke T, Hedegaard M, Henriksen TB, Nielsen BW, Schiøtz PO. Several genetic and environmental factors influence cord blood IgE concentration. *Pediatr Allergy Immunol*. 1994;5:88-94.
27. Horner AA, Kawakami T. Allergen-independent immunomodulatory activities of immunoglobulin E. *Clin Exp Allergy*. 2009;39:304-6.
28. Kirschner S, Belloni B, Kugler C, Ring J, Brockow K. Allergenicity of wine containing processing aids: a double-blind, placebo-controlled food challenge. *J Invest Allergy Clin Immunol*. 2009;19:210-7.
29. Armentia A, Pineda F, Fernández S. Wine-induced anaphylaxis and sensitization to hymenoptera venom. *N Engl J Med*. 2007;357:719-20.
30. Parlesak A, Schäfer C, Schütz T, Bode CJ, Bode C. Increased intestinal permeability to macromolecules and endotoxemia in patients with chronic alcohol abuse in different stages of alcohol-induced liver disease. *J Hepatol*. 2000;32:742-7.
31. Guilloux L, Morisset M, Codreanu F, Parisot L, Moneret-Vautrin DA. Peanut allergy diagnosis in the context of grass pollen sensitization for 125 patients: roles of peanut and cross-reactive carbohydrate determinants specific IgE. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009;149:91-7.

■ *Manuscript received January 4, 2010; accepted for publication February 10, 2010.*

■ **A González-Quintela**

Department of Internal Medicine
Hospital Clínico Universitario
15706 Santiago de Compostela, Spain
E-mail: arturo.gonzalez.quintela@usc.es