



Associazione Allergologi Immunologi
Territoriali e Ospedalieri

LINEE GUIDA AAITO SULLA DIAGNOSI DELLA ALLERGIA A VELENO DI IMENOTTERI

Editori: F. Bonifazi (1), M.B. Bilò (1)

Con la Collaborazione del Consiglio Direttivo AAITO:

S. Amoroso, A. Antico, S. Ardito, G. Cadario, V. Feliziani, M. Galimberti,
C. Lombardi, A. Musarra, G. Senna, G.F. Stefanini, C. Troise

INTRODUZIONE

Nel 1987 è stato pubblicato il primo Position Paper dell'EAACI sulla immunoterapia con veleno di imenotteri (1); sei anni dopo tale documento ha subito una revisione (2).

A livello italiano nel 1997 è stato prodotto un documento che includeva sia la diagnosi che la terapia dell'allergia al veleno di imenotteri (3). E' in corso di pubblicazione il primo Position Paper del Gruppo di Studio Europeo dell'EAACI sulla diagnostica della allergia al veleno di imenotteri.

I molteplici studi apparsi in letteratura da allora ad oggi rendono necessario un ulteriore aggiornamento, con la stesura di un documento italiano che tenga conto delle numerose novità emerse nel campo della storia naturale della malattia, dei fattori di rischio e della diagnostica.

Questo documento tratterà unicamente di allergia a veleno di imenotteri. Le reazioni allergiche da punture di insetti non imenotteri sono infatti più rare, così come è estremamente limitata la disponibilità di estratti standardizzati ai fini diagnostici.

(1) Dipartimento di Malattie Respiratorie e Allergiche, Ospedali Riuniti di Ancona, Ancona.

Scopo della diagnosi è quello di classificare il tipo di reazione, identificare il meccanismo patogenetico sottostante ed identificare l'insetto pungitore; solo in tale modo è garantito il corretto trattamento del paziente allergico al veleno di imenotteri.

TASSONOMIA

La maggior parte degli autori segue la classificazione di Chinery (4), alla quale negli ultimi anni sono state apportate alcune piccole modifiche (Tabella 1).

Dal punto di vista allergologico, il ruolo clinico più importante è svolto dagli *Aculeati sociali*: vespe, api e formiche.

La famiglia *Apidae* include un ampio numero di insetti che si differenziano sia per aspetto che per abitudini; i più importanti dal punto di vista allergologico sono le api (*Apis mellifera*) e i bombi (genere *Bombus*).

La famiglia *Vespidae* comprende le sottofamiglie *Vespinae* e *Polistinae*, che si differenziano nel segmento che unisce il torace all'addome, di aspetto troncato nelle *Vespinae*, di forma arrotondata nelle *Polistinae*.

Delle *Vespinae* fanno parte i generi *Vespula*, *Dolichovespula* e *Vespa*.

ELEMENTI	VESPA		DOLICHOVESPULA		POLISTES		MYRMICA	
	ESPECIE	ESPECIE	ESPECIE	ESPECIE	ESPECIE	ESPECIE	ESPECIE	ESPECIE
STRUTTURA
ANATOMIA
STRUTTURA
ESPECIE
STRUTTURA

Tabella 1: Tassonomia degli Imenotteri.

- *Vespula* (Giallone): le specie più importanti in Europa sono rappresentate da *V. germanica*, *V. Vulgaris* e *V. Rufa*. Il genere *Vespula* si distingue da quello *Vespa* (Calabrone) per le dimensioni inferiori e da *Dolichovespula* per la minore distanza tra gli occhi e le mascelle superiori.
- *Dolichovespula* al contrario ha il capo allungato. *Dolichovespula media*, *D. Saxonica* e *D. Sylvestris* rappresentano le specie prevalenti in Europa.
- Nell'ambito del genere *Vespa*, *Vespa Crabro* è quella predominante in Europa.

Le *Polistinae* si trovano in tutto il mondo. In Europa *Polistes gallicus*, *P. nimpha* e soprattutto *P. dominulus* sono ampiamente rappresentati, soprattutto nelle aree Mediterranee (5).

Per ciò che attiene la famiglia delle *Formicidae*, le specie *Pogonomyrmex* e *Solenopsis* (*S. invicta*) sono le più importanti dal punto di vista allergologico nel nord e centro America (6) e *Myrmecia* (*M. pilosula*) in Australia (7). In Europa sono stati segnalati solo sporadici casi di reazioni allergiche alle formiche, per lo più da *Formica rufa* (8).

ALLERGENI DEI VELENI E CROSS-REATTIVITÀ

Per una corretta diagnosi e terapia della allergia al veleno di imenotteri è essenziale conoscere la composizione dei veleni.

La maggior parte degli allergeni maggiori è stata clonata e sequenziata; molti di essi sono stati prodotti in forma ricombinante. Si tratta per lo più di glicoproteine di 10-50 kDa, costituite da 100-400 residui aminoaci-

dici (9). Altre componenti dei veleni sono più piccole, come la mellitina del veleno dell'ape e l'antigene Api m6, recentemente descritto, di p.m. 7,9 kDa.

■ **La dose di veleno** iniettata con una puntura varia da specie a specie ed anche nell'ambito della stessa specie: le api rilasciano una media di 50 µg (10), fino a 140 µg (11) di proteine di veleno per puntura; tuttavia il sacco velenifero ne può contenere più di 300 µg (12). Il bombo rilascia da 10 a 31 µg di veleno (10). L'attività enzimatica del veleno cambia durante il ciclo vitale dell'insetto: i livelli di fosfolipasi A2 sono bassi nel veleno delle api al momento della nascita e incrementano nei successivi 10 giorni, per mantenersi stabili per tutta la durata della vita (12).

Al contrario i membri della sottofamiglia delle *Vespinae*, che possono pungere ripetutamente, iniettano generalmente meno veleno per singola puntura: *Vespula* rilascia da 1,7 a 3,1 µg di veleno, *Dolichovespula* da 2,4 a 5 µg e *Polistes* da 4,2 a 17 µg di proteine (10). Non si sa esattamente quanto sia il veleno iniettato con una puntura di calabrone Europeo: secondo alcuni Autori il peso secco del veleno contenuto in una sacca velenifera è di 260 µg (13).

■ **Il veleno delle api contiene 5 allergeni** di cui si conoscono le sequenze aminoacidiche: fosfolipasi A2 (Api m1), ialuronidasi (Api m2), mellitina (Api m4), Api m6 e una fosfatasi acida (Api m3) (Tabella 2). L'allergene più importante è rappresentato dalla fosfolipasi A2, una glicoproteina composta da 134 residui aminoacidici, che svolge attività citotossica e citolitica (14).

La ialuronidasi è un altro degli allergeni maggiori del veleno dell'ape; essendo una proteasi, un enzima di circa 39 kDa, probabilmente rappresenta un allergene maggiore.

La mellitina, formata da 26 aminoacidi, è il maggiore costituente del veleno delle api (50% del peso secco), ma solamente il 28% dei pazienti possiede IgE specifiche rivolte contro questo peptide (15).

■ **Il veleno del bombo** contiene la fosfolipasi A2 (Bom p1), la proteasi Bom p4, la ialuronidasi, la fosfatasi acida e molte altre proteine non identificate nel veleno delle api. Nell'ambito del genere Bombo esiste una omologia di sequenza del 83% per la fosfolipasi A2 (16). Del veleno del bombo sono state sequenziate la fosfolipasi A2 (Bom p1) e la proteasi.

■ **Gli allergeni maggiori del veleno dei Vespidi** sono rappresentati da: fosfolipasi A1 (Ves v1), ialuronidasi (Ves v2) e antigene 5 (Ves v5) (10,17) (Tabella 2).

La fosfolipasi A1 costituisce il 6-14% del peso secco del veleno dei Vespidi (18).

L'antigene 5 rappresenta l'allergene maggiore del veleno di tutti i Vespidi ed è strutturalmente correlato con proteine di mammiferi, rettili, insetti, funghi e piante (19).

■ **Il veleno delle formiche contiene 4 allergeni:** fosfolipasi A1 (Sol i 1), Sol i 2, l'antigene 5 (Sol i 3) e Sol i 4 (Tabella 2). Sol i 1 ha una omologia con la fosfolipasi A1 dei Vespidi (20). Le sequenze di Sol i 2, Sol i 3 e Sol i 4 sono state completamente identificate (20). Sol i 4 ha un peso molecolare simile a Sol i 2, anche se le sequenze sono omologhe solo per il 35%. Sol i 3 ha una identità del 50% con l'antigene 5 del veleno dei Vespidi.

VELENI	ALLERGENI	NOME COMUNE	MW KD	MAGGIORE/ MINORE
<i>Apis mellifera</i>	Api m 1	Fosfolipasi A2	16	maggiore
	Api m 2	Ialuronidasi	43	maggiore
	Api m 3	Fosfatasi acida	49	maggiore?
	Api m 4	Mellitina	2.9	minore
	Api m 6	Proteasi	7.9	minore
				39
<i>Bombus pennsylvanicus</i>	Bom p 1	Fosfolipasi A2		maggiore
	Bom p 4	Proteasi serica		maggiore?
<i>Vespula vulgaris</i> V.germanica, maculifrons, pennsylvanica, squamosa ecc.	Ves v 1	Fosfolipasi A1	35	maggiore
	Ves v 2	Ialuronidasi	45	maggiore
	Ves v 5	Antigene 5	25	maggiore
<i>Dolichovespula maculata</i> D. arenaria, D.media etc	Dol m 1	Fosfolipasi A1	35	maggiore
	Dol m 2	Ialuronidasi	45	maggiore
	Dol m 5	Antigene 5	25	maggiore
<i>Polistes annularis</i> P.dominulus, gallicus, fuscatus etc	Pol a 1	Fosfolipasi A1		maggiore
	Pol a 2	Ialuronidasi		maggiore
	Pol a 5	Antigene 5	25	maggiore
<i>Vespa crabro</i>	Vesp c 1	Fosfolipasi A1		maggiore?
	Vesp c 5	Antigene 5	maggiore?	
<i>Solenopsis invicta</i>	Sol i 1	Fosfolipasi A1	37	maggiore?
	Sol i 2		13.2	
	Sol i 3	Antigene 5	24	maggiore?
	Sol i 4		13.4	

Tabella n.2: Allergeni dei veleni di Imenotteri.

Sensibilizzazioni doppie o anche multiple possono essere causate da anticorpi cross-reattivi che riconoscono epitopi simili di differenti veleni o epitopi simili tra veleni e allergeni comuni (21).

La distinzione tra cross-reattività e vera doppia sensibilizzazione è importante per la scelta dei veleni da utilizzare per immunoterapia.

I dati a disposizione indicano che i veleni e gli allergeni maggiori di differenti api nel mondo sono molto simili, e che la struttura dell'allergene maggiore fosfolipasi A2 presenta una elevata omologia (12,22,23). Al contrario, nell'ambito dei bombi, esiste una notevole variabilità allergenica (16). Esiste una cross-reattività immunologica tra i veleni di api e bombi; tuttavia in molti pazienti è possibile riscontrare una sensibilizzazione multipla (16,24,25).

I veleni dei Vespidi sono altamente cross-reattivi in quanto simili nella composizione e nella struttura dei singoli allergeni (26,27). Gli allergeni delle differenti specie di *Vespula* hanno una omologia del 95% (26,27), di conseguenza i differenti veleni cross-reagiscono (18,28). Esiste anche una importante cross-reazione tra i veleni di *Vespula*, *Vespa*, e *Dolichovespula* (29,30).

La cross-reattività di *Vespula*, *Dolichovespula*, e *Vespa* con il *Polistes* è generalmente minore rispetto a quella presente tra le *Vespinae* (17,29,31-33).

La cross-reattività tra le specie Europee di *Polistes* (*P. gallicus*, *P. dominulus*) è molto alta, mentre quella tra specie Europee ed Americane è più debole (5, 34).

Per ciò che attiene la cross-reattività tra i veleni di *Apidae* e *Vespidae*, la ialuronidasi, che ha una sequenza identica per il 50% tra api e vespe (27) è la componente maggiormente cross-reattiva (35), tuttavia non si sa quale sia il significato clinico di questo dato.

Studi di RAST inibizione con veleni di api e vespe (prevalentemente giallone) hanno evidenziato diversi patterns di cross-reattività (36,37).

Un problema particolare nell'ambito della cross-reattività è costituito da IgE specifiche dirette contro epitopi carboidrati (CCD), che possono causare positività dei tests (cutanei ed *in vitro*), il cui significato clinico rimane al momento dubbio (21).

PRESENTAZIONE CLINICA

Secondo una recente revisione della nomenclatura allergologica, si può distinguere l'ipersensibilità verso i veleni mediata da meccanismi immunologici

(allergia IgE-mediata e non-IgE-mediata) da quella mediata da meccanismi non immunologici (38).

Le reazioni a punture di imenotteri sono generalmente classificate in reazioni locali normali, reazioni locali estese, reazioni sistemiche tossiche, reazioni sistemiche di tipo anafilattico e reazioni inusuali.

Le reazioni locali possono riconoscere una eziologia tossica o immunologica.

Sebbene non vi sia una definizione universalmente accettata (39-42), la maggior parte degli Autori identifica la reazione locale estesa in una reazione dal diametro superiore ai 10 cm e dalla durata superiore alle 24 ore (41,43).

Le reazioni sistemiche tossiche sono legate alle proprietà tossiche di alcune componenti del veleno (come ad esempio la fosfolipasi e la ialuronidasi). In linea di principio si verificano dopo punture multiple, generalmente da 50 ad alcune centinaia; possono provocare danni a livello muscolare, ematico, epatico e splenico; il loro grado di severità è probabilmente in relazione anche allo stato di salute del soggetto (44-46).

Le reazioni inusuali possono essere dovute ad meccanismo patogenetico tossico o immunologico non-IgE-mediato e coinvolgere vari organi ed apparati (47-50).

Le reazioni anafilattiche sistemiche presentano generalmente un meccanismo patogenetico IgE mediato, anche se sono stati ipotizzati meccanismi alternativi che implicano la presenza di anticorpi IgG sensibilizzanti o la formazione di immunocomplessi IgG-allergene del veleno, in grado di attivare il complemento.

In alcuni casi di anamnesi di reazione anafilattica sia il dosaggio delle IgE specifiche che i tests cutanei hanno esito negativo; ciò è particolarmente frequente in pazienti affetti da mastocitosi, in cui è ipotizzabile un meccanismo tossico, di rilascio aspecifico dei mediatori dai mastociti (51-53), anche se nella maggior parte di tali pazienti è possibile dimostrare una sensibilizzazione allergica (54).

Sono state proposte molte classificazioni del grado di severità delle reazioni sistemiche, come quella di Mueller (55) (Tabella 3) e di Ring (56) (Tabella 4).

Generalmente i sintomi compaiono poco dopo la puntura, da 5 minuti ad un'ora (43), anche se occasionalmente possono manifestarsi a distanza di ore o anche giorni dopo la puntura (57).

Grado I: Orticaria generalizzata, prurito, malessere, ansia .

Grado II: Ciascuno dei precedenti, con due o più dei seguenti: angioedema, costrizione toracica, nausea, vomito, diarrea, dolore addominale, vertigini.

Grado III: Ciascuno dei precedenti, con due o più dei seguenti: dispnea, sibilo, stridore, disartria, raucedine, astenia, confusione, sensazione di morte imminente.

Grado IV: Ciascuno dei precedenti, con due o più dei seguenti: calo pressorio, collasso, perdita di coscienza, incontinenza, cianosi.

Tabella n. 3 - Classificazione delle reazioni sistemiche da punture di imenotteri secondo H. L. Mueller

Grado I: Sintomatologia cutanea generalizzata (es. arrossamento, orticaria generalizzata, angioedema).

Grado II: Sintomatologia respiratoria, cardiovascolare e/o gastrointestinale di lieve-media gravità .

Grado III: Shock anafilattico, perdita di coscienza.

Grado IV: Arresto cardiaco, arresto respiratorio.

Tabella n. 4: Classificazione delle reazioni sistemiche da punture di imenotteri secondo J. Ring

L'anafilassi può essere bifasica, con un rapido esordio dei sintomi, una apparente risoluzione e una successiva ricomparsa dopo 4-24 ore.

Le reazioni più gravi possono esitare in danni permanenti, come ischemia cerebrale o infarto del miocardio o addirittura essere fatali: autopsie effettuate su pazienti deceduti a seguito di puntura di imenottero mostrano una co-morbilità cardiopolmonare nel 50% o più dei casi (58,59).

Una reazione anafilattica da puntura di imenottero costituisce un evento traumatico per il paziente e per i familiari. Pertanto i pazienti tendono a sviluppare una sindrome ansiosa che li spinge ad adottare una serie di comportamenti di evitamento tali da compromettere in maniera significativa la qualità della vita, con condizionamento del carattere, della vita sociale e a volte dell'attività lavorativa.

Recentemente sono stati costruiti e validati questionari specifici (60,61), con i quali è stato possibile confermare che l'allergia al veleno degli imenotteri, indipendentemente dalla gravità della reazione, è in grado di incidere pesantemente sulla qualità della vita dei soggetti che ne soffrono (60,61).

EPIDEMIOLOGIA

La prevalenza di **sensibilizzazione asintomatica** al veleno di imenotteri è piuttosto elevata nella popolazione generale: IgE specifiche sono state riscontrate nel 16%-24% (62-64) della popolazione, mentre tests cutanei positivi nel 15%-29% (65,66) degli adulti.

Molti studi epidemiologici indicano che la frequenza di sensibilizzazione è legata al grado di esposizione alle punture (43,66-69), all'intervallo di tempo tra le punture (43,66,70,71), all'atopia (64) e al tipo di insetto, in quanto le api sembrano indurre sensibilizzazione con maggiore frequenza rispetto ai vespidi (63,64).

La prevalenza delle **reazioni locali estese** varia tra il 2,4%, il 4,6%, il 18,6%, fino al 26,4% (65,66,72); nei bambini è del 19% (73) e negli apicoltori arriva fino al 38% (71,74).

Gli studi epidemiologici indicano una frequenza di reazione anafilattica sistemica (basata su dati anamnestici) tra lo 0,3% ed il 7,5 (43,63,64,66-68,72,73), negli apicoltori tra il 14% ed il 43% (70,71,74).

Sono disponibili pochi dati per ciò che attiene la prevalenza della sensibilizzazione allergica al veleno del bombo (25).

Nei bambini la prevalenza di reazioni sistemiche che emerge da studi ormai datati, che tuttavia includono più di 10.000 soggetti, si posiziona su valori dello 0,15-3,9% (73,75-77).

L'incidenza di **mortalità** da puntura di insetto è bassa: 0,03 a 0,48 decessi per 1.000.000 abitanti/anno (43,58,63,67,78,79). Tuttavia il numero reale di decessi potrebbe essere sottostimato (80), dal momento che è stata riportata una frequenza di IgE specifiche per i veleni nel 23% dei sieri post-mortem di pazienti deceduti per morte improvvisa e senza causa apparente tra la fine di maggio e l'inizio di novembre.

Dal 40% all'85% (58,67) di soggetti con reazioni fatali da puntura di imenottero ha una anamnesi negativa per precedenti reazioni anafilattiche.

FATTORI DI RISCHIO PER ALLERGIA A VELENO DI IMENOTTERI

E' importante distinguere i fattori di rischio che condizionano la ripuntura da quelli che condizionano la gravità della reazione. Il luogo, il clima, la temperatura, le abitudini degli insetti e l'esposizione individuale (attività lavorativa o hobbistica) sono fattori

che determinano la probabilità di essere punti e il tipo di insetto pungitore.

I fattori di rischio associati alla comparsa di una reazione anafilattica sistemica e alla severità della stessa finora identificati sono molteplici. Tuttavia non si conosce ancora il motivo per cui alcuni pazienti sensibilizzati verso i veleni, quando ripunti, non sviluppino alcuna reazione, mentre altri manifestino sintomi di varia gravità o anche fatali.

Il 5- 15% (40,43) dei soggetti con reazione locale estesa sviluppa una reazione sistemica ad una successiva puntura. In quelli con reazione sistemica lieve il rischio di reazione sistemica successiva è del 18% tra i bambini (81,82) e del 14-79% tra gli adulti (83,84).

Nella popolazione adulta, maggiore è la gravità della prima reazione sistemica, maggiore è il rischio di una reazione sistemica severa ad una puntura successiva (84).

Negli adulti con anamnesi negativa per precedente reazione anafilattica sistemica e test cutaneo positivo è emerso un rischio di reazione sistemica ad una puntura successiva del 17% rispetto allo 0% nei soggetti con test negativo (85).

Un breve intervallo tra una puntura precedentemente tollerata e quella che induce la reazione allergica sembra costituire un fattore di rischio per lo sviluppo di reazione sistemica (86).

Studi a lungo termine su soggetti allergici con precedente reazione anafilattica hanno mostrato che il rischio di sviluppare la reazione ad una puntura successiva si riduce con il tempo, senza tuttavia scomparire completamente anche a distanza di dieci anni (85).

D'altronde, un altissimo numero di punture sembra indurre la tolleranza, come pare verificarsi negli apicoltori (70).

Nei bambini circa il 60% delle reazioni sistemiche è di grado lieve (87) mentre negli adulti si verifica un coinvolgimento cardiovascolare e respiratorio in circa il 70% dei casi (88).

I pazienti più anziani sviluppano più spesso reazioni particolarmente severe (88,89); la mortalità è maggiore rispetto ai bambini o ai giovani adulti (43). Sia gli studi che includono il challenge con insetto sia quelli con puntura sul campo (81,82,84,90) hanno mostrato che bambini e giovani adulti hanno un rischio alquanto basso di ulteriori reazioni sistemiche alla ripuntura.

Trials effettuati su ampie casistiche hanno identificato nelle malattie cardio-vascolari (58,91) e nel trattamento con beta-bloccanti (91) ulteriori fattori di rischio per gravità della reazione.

I beta-bloccanti non sembrano incrementare di per sé il rischio di reazione sistemica, ma nel caso in cui questa si manifesti, è da temere una evoluzione peggiore.

I pazienti allergici al veleno di api hanno un rischio maggiore di reazione sistemica alla ripuntura rispetto a quelli allergici ai vespidi (92-95). Un studio recente condotto nell'area mediterranea ha evidenziato che il rischio relativo di sviluppare reazioni sistemiche gravi è tre volte superiore se si viene punti dal calabrone rispetto alle api o alle vespe (96).

Pazienti affetti da mastocitosi sistemica o orticaria pigmentosa possono manifestare reazioni particolarmente gravi, anche fatali (51,53,97-99). D'altra parte, in pazienti allergici al veleno di imenotteri elevati livelli di triptasi sierica, indipendentemente dalla presenza di mastocitosi, si associano a reazioni anafilattiche molto gravi (100-102).

DIAGNOSI

La diagnosi di avvale di una accurata anamnesi, di tests cutanei e sierologici.

L'**anamnesi** deve essere orientata verso la raccolta del maggior numero possibile di informazioni: insetto pungitore, caratteristiche del nido, orario della giornata in cui si è stati punti, punture multiple da parte dello stesso imenottero, assenza o presenza del pungiglione, numero delle punture, tempo intercorso tra puntura ed esordio della sintomatologia, tipologia della manifestazione clinica, attività del paziente, condizioni generali di salute, con particolare attenzione a quelle cardiovascolari in relazione sia alla possibile necessità di utilizzo di adrenalina sia al possibile trattamento con beta-bloccanti.

L'indicazione alla effettuazione di tests diagnostici per l'allergia al veleno di imenotteri si basa fondamentalmente sull'anamnesi del paziente, in particolare si applica ai soggetti con una storia di pregressa reazione sistemica (43,103).

Generalmente si raccomanda di eseguire i **tests cutanei** almeno due settimane dopo la reazione per evitare false negatività durante il periodo refrattario; in presenza di anamnesi suggestiva per reazione sistemica, se i tests sono negativi, essi vanno ripetuti dopo 1-2 mesi.

Le norme procedurali generali, le misure di precauzione da adottare, le interferenze con i farmaci e la lettura dei tests cutanei (prick e intradermostest) sono descritti altrove (104). La possibilità di indurre reazioni sistemiche fa raccomandare l'effettuazione dei tests in ambiente idoneo, aumentando la concentrazione gradualmente ed interrompendo il test in presenza di positività.

Per il prick test si utilizzano concentrazioni da 0,01 fino a 100 µg/ml, per l'intradermoreazione da 0,001 a 1 µg/ml. A seconda degli studi, la sensibilità dei prick tests alle varie concentrazioni varia tra il 50% e il 90% (105,106), mentre la sensibilità dei tests intradermici può essere stimata complessivamente in circa il 90% per la concentrazione di 1mg/ml, variabile dal 65 al 94% per la concentrazione di 0,1 µg/ml (107-111).

E' difficile definire la specificità dei tests cutanei con veleni dal momento che i soggetti esposti che non hanno mai sviluppato una reazione sistemica possono essersi sensibilizzati a seguito dell'ultima puntura; infatti il 10-49% di tali individui presenta test cutanei intradermici positivi alla concentrazione di 1 µg/ml (107-111).

Non esiste alcuna correlazione tra il grado di sensibilità cutanea e gravità della reazione; le reazioni più intense ai tests cutanei si verificano spesso in pazienti con reazioni locali estese, per contro alcuni pazienti con reazioni gravissime dimostrano una debolissima reattività cutanea (o sierologica) (110,112).

Per la determinazione delle IgE specifiche possono essere utilizzati **tests in vitro** come il RAST (Radio Allergo Sorbent Test) ed altre metodiche da esso derivate, fra cui le più recenti sono generalmente dotate di maggiore sensibilità.

Nei primi giorni dopo la puntura i livelli IgE specifiche per il veleno iniettato possono essere molto bassi o addirittura non determinabili, pertanto il test dovrebbe essere ripetuto a poche settimane di distanza (113). Generalmente la puntura agisce da stimolo iniziale, le IgE aumentano con il passare dei giorni e delle settimane dalla puntura; dopo questa fase iniziale si riducono progressivamente di circa il 20-25% l'anno (114).

Come per i tests cutanei, non c'è alcuna correlazione tra concentrazione delle IgE specifiche e la gravità della reazione.

La sensibilità dei test in vitro per la determinazione delle IgE specifiche in pazienti con anamnesi di reazione sistemica rimane tuttavia minore di quella dei

tests cutanei, soprattutto dopo il primo anno dalla reazione (43); per la specificità, si ripropongono le stesse problematiche osservate per i test *in vivo*.

La determinazione delle IgG specifiche non costituisce una indagine diagnostica di routine.

I livelli di IgG in primo luogo sono un indice di esposizione, non correlano con la gravità della reazione, incrementano dopo una puntura, si riducono più rapidamente rispetto alle IgE (114).

La metodica della "RAST"-inibizione nei soggetti polisensibili consente di distinguere tra cross-reattività o sensibilizzazioni distinte verso più veleni contemporaneamente (37); questo riveste un ruolo importante soprattutto qualora si debba avviare il paziente all'immunoterapia specifica (32).

Nei soggetti con anamnesi di reazione anafilattica, qualora i tests cutanei e la determinazione delle IgE specifiche con il RAST o con un metodo equivalente abbiano dato esito negativo, possono essere effettuati tests in vitro aggiuntivi, generalmente caratterizzati da costi più elevati (115-121). Non essendo ancora sufficientemente standardizzati, i risultati di tali tests effettuati in centri diversi non sono comparabili.

Nel CAST (cellular antigen stimulation test), i leucociti pre-stimolati con IL-3 vengono incubati con gli allergeni, con conseguente attivazione cellulare e liberazione di sulfidoleucotrieni, a loro volta individuati mediante metodica ELISA (116).

Il test di attivazione dei basofili rappresenta la più nuova delle metodiche in vitro introdotte in commercio ed è basata sulla dimostrazione citofluorimetrica di un marker di attivazione superficiale dei basofili, generalmente rappresentato dal CD63 (117).

Sulla base dei fattori di rischio per gravità della reazione recentemente identificati (99-101), è consigliabile eseguire il dosaggio della triptasi sierica basale in tutti i pazienti con anamnesi di reazione sistemica severa.

Deve essere sottolineato che a tutt'oggi non è stato identificato un marker sicuro in grado di predire future reazioni sistemiche. Infatti l'esito dei tests cutanei o di altri tests in vitro non può essere considerato predittivo delle reazioni successive sia nei pazienti trattati con immunoterapia specifica che nei non trattati, dal momento che fino all'84% dei soggetti cutipositivi non reagisce a successive punture dell'insetto responsabile e fino al 31% di soggetti cutinegativi sviluppa una reazione sistemica a seguito di ripuntura (92,93,122,123).

Una minoranza di pazienti con reazione sistemica da puntura di insetto presenta livelli di IgE specifiche non dimostrabili e tests cutanei negativi (124). L'impossibilità di dimostrare le IgE specifiche non garantisce che anche la reattività clinica sia scomparsa.

Il 22% (11 soggetti) di un gruppo di 51 pazienti con anamnesi positiva e tests intradermici negativi fino alla concentrazione di 1 μ g/ml ha sviluppato reazioni sistemiche al challenge; di questi, la maggior parte (9 soggetti) aveva livelli sierici molto bassi di IgE specifiche, indicando come anche livelli minimi di anticorpi siano sufficienti ad evocare una reazione sistemica grave (125).

Nei pazienti allergici al veleno di imenotteri il **challenge** con dosi crescenti di veleno iniettato sottocute o per via intradermica non è affidabile, dal momento che è stato dimostrato come pazienti che tollerano l'immunoterapia possono ugualmente sviluppare reazioni sistemiche a nuove punture dello stesso insetto (95).

Il challenge dovrebbe essere pertanto effettuato con insetti vivi; procedure e misure precauzionali sono state descritte altrove in maniera dettagliata (126).

Tale procedura è stata utilizzata da alcuni Autori in soggetti con anamnesi di reazioni sistemiche non trattate con immunoterapia (92,94,122,125) o con anamnesi negativa ma ad alto rischio di ripuntura (122), allo scopo di individuare i pazienti che necessitano realmente di immunoterapia. Il valore prognostico di un challenge tollerato verso l'outcome di una successiva puntura appare compreso tra il 85% (127) e il 95% in pazienti selezionati (128). Tuttavia, in considerazione del fatto che il 6,5% dei pazienti pediatrici (125) e il 21% degli adulti (94) ha manifestato una reazione sistemica solo a seguito di un secondo challenge e del rischio di sviluppare reazioni anche molto gravi (93), tale procedura non è consigliabile come indagine diagnostica di routine in soggetti non in trattamento immunoterapico (129-131).

Il challenge nei pazienti in fase di mantenimento con immunoterapia consente di identificare i soggetti non protetti (126,130,131), con la possibilità di incrementare il dosaggio. Ciò è particolarmente importante nei pazienti altamente esposti al rischio di ripuntura o in quelli che tendono a sviluppare reazioni molto gravi.

Il challenge eseguito dopo la sospensione della immunoterapia permette di verificare la persistenza della protezione (132-134). Tuttavia questo tipo di indagine, se consentita a scopo scientifico, non è consigliata come test diagnostico di routine, poiché potrebbe riattivare una ridotta sensibilizzazione o risensibilizzare il paziente.

In conclusione, i tests diagnostici devono essere effettuati a tutti i pazienti con anamnesi di reazione sistemica. I tests cutanei devono essere eseguiti in ambiente idoneo, utilizzando concentrazioni progressivamente crescenti di veleno.

Se i prick tests sono negativi, si deve procedere con i tests intradermici; in caso di negatività, i test cutanei dovrebbero essere ripetuti a distanza di alcune settimane.

Nell'ambito delle metodiche *in vitro*, si consiglia di scegliere i tests più sensibili e di ripeterli in caso di negatività. Se i risultati permangono negativi, si può ricorrere ad altre metodiche *in vitro*.

Infine il livello di triptasi sierica dovrebbe essere misurato in tutti i pazienti con anamnesi di reazione grave.

STRATEGIE FUTURE PER LA DIAGNOSI DELLA ALLERGIA AL VELENO DI IMENOTTERI

Grazie alla moderna tecnologia della biologia molecolare possiamo oggi disporre di un considerevole numero di allergeni maggiori del veleno sia delle api che dei diversi vespidi in forma ricombinante (15,135).

L'utilizzo di allergeni ricombinanti potrebbe migliorare la specificità delle procedure diagnostiche (15,135): la reattività immunologica di forme ricombinanti degli allergeni dei veleni è stata confrontata con quella delle forme native purificate dello stesso allergene, dimostrando una correlazione molto stretta (136).

I ricombinanti potrebbero inoltre fornire un valido aiuto nel chiarire le cross-reattività esistenti tra gli allergeni dei veleni di specie, generi o addirittura famiglie diverse di imenotteri (15,135).

Infine si sta rivelando promettente l'uso di miscele di ricombinanti, che potrebbero esprimere il pattern di specificità anticorpale IgE tipico del singolo paziente. In uno studio preliminare (137) che ha misurato gli anticorpi IgE specifici in pazienti allergici al veleno di ape e in controlli non allergici, è stata documentata per la miscela di ricombinanti una specificità simile a quella riscontrata per l'intero veleno di ape (1 vs 0,85), ma una sensibilità lievemente inferiore (0,87 vs 0,95), potenzialmente migliorabile con l'aggiunta di ulteriori allergeni rilevanti, come la fosfatasi acida e la proteasi in forma ricombinante.

Bibliografia

1. Bousquet J., Muller U.-R., Dreborg S. *et al.* - Immunotherapy with Hymenoptera venoms. *Allergy* 1987;42:401-13.

2. Muller U., Mosbech H. - Position Paper: Immunotherapy with Hymenoptera venoms. *EAAACI. Allergy* 1993;48:36-46.
3. Gruppo di Studio Italiano sull'Allergia al Veleno di Imenotteri. EA. Pastorello *et al.* - L'allergia al veleno di Imenotteri. *Giorn It Allergol Immunol Clin* 1997;7:121-136.
4. Chinery M. - A field guide to the insects of Britain and Northern Europe. 1984. William Collins Sons & Co. Ltd., London.
5. Sánchez F., Blanca M., Fernández J. *et al.* - Comparative study between European and American species of polistes using sera from European sensitised subjects. *Clin Experimental Allergy* 1995;25:281-87.
6. Caplan E.-L., Ford J.-L., Young P.-F., Ownby D.-R. - Fire ants represent an important risk for anaphylaxis among residents of an endemic region. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1274-7.
7. Brown S.-G., Heddle R.-J. - Prevention of anaphylaxis with ant venom immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:511-6.
8. Seebach J.-D., Bucher Ch., Anliker M., Schmid-Grendelmeier P. & Wüthrich B. - Ameisengift: ein seltene Ursache für allergische Reaktionen in der Schweiz (Ant venoms: a rare cause of allergic reactions in Switzerland). *Schweiz Med Wochenschr* 2000;13 (Nr47):1805-13.
9. King T.-P., Spangfort M.-D. - Structure and biology of stinging insect venom allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123:99-106.
10. Hoffman D.-R., Jacobson R.-S. - Allergens in Hymenoptera venom XII: How much protein is in a sting? *Ann Allergy* 1984;52:276-278.
11. Schumacher M.-J., Tveten M.-S., Egen N.-B. - Rate and quality of delivery of venom from honeybee stings. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:831-5.
12. Schumacher M.-J., Schmidt J.-O., Egen N.-B., Dillon K.-A. - Biochemical variability of venoms from individual European and Africanized honeybees (*Apis mellifera*). *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:59-65.
13. Ederly H., Ishay J., Gitter S., Joshua H. - Venoms of Vespidae. In: S. Bettini Ed. *Arthropod Venoms*. Springer Verlag Berlin, New York 1978;691-77.
14. Owen M.-D., Pfaff L.-A., Reisman R.-E., Wypych J. - Phospholipase A2 in venom extracts from honey bees (*Apis mellifera* L.) of different ages. *Toxicon* 1990;28:813-20.
15. Müller U. - Recombinant venom allergens. *Allergy* 2002; 57:570-576.
16. Hoffman D.-R., El-Choufani S.-E., Smith M.-M., de Groot H. - Occupational allergy to bumblebees: allergens of *Bombus terrestris*. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:855-60.
17. King T.-P., Kochoumian L., Joslyn A. - Wasp venom proteins: phospholipase A1 and B. *Arch Biochem Biophys* 1984; 230:1-12.
18. King T.-P., Alagon A.-C., Kuan J., Sobotka A.-F., Lichtenstein L.-M. - Immunochemical studies of yellow jacket venom proteins. *Mol Immunol* 1983;20:297-308.
19. Henriksen A., King T.-P., Mirza O., Monsalve R.-I., Meno K., Ipsen H., Larsen J.-N., Gajhede M., Spangfort M.-D. - Major venom allergen of yellow jackets, Ves v 5: structural characterization of a pathogenesis-related protein superfamily. *Proteins* 2001; 45:438-48.
20. Hoffman D. - Hymenoptera venom XXIV: The amino acid sequences of imported fire ant venoms allergens Sol i 2, Sol i 3 and Sol i 4. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:71-78.
21. Hemmer W., Focke M., Kolarich D., Wilson I.-B., Altmann F., Wöhrl S., Götz 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;108:1045-1052.
22. Nelson D.-R., Collins A.-M., Hellmich R.-L., Jones R.-T., Hel R.-M. *et al.* - Biochemical and immunochemical comparison of Africanized and European honeybee venoms. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:80-5.
23. Schuhmacher M.-J., Schmidt J.-O., Egen N.-B., Lowry J.-E. - Quantity, analysis, and lethality of European and Africanized honey bee venoms. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 43:79-86.
24. Stapel S.-O., Waanders-Lijster de Raadt J., van Toorenenbergen A.-W., de Groot H. - Allergy to bumblebee venom. II. IgE cross-reactivity between bumblebee and honeybee venom. *Allergy* 1998;53:769-77.
25. Bucher C., Korner P., Wüthrich B. - Allergy to bumblebee venom. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1:361-5.
26. Hoffman D.-R. - Allergens in Hymenoptera venom. XXV: The amino acid sequences of antigen 5 molecules and the structural basis of antigenic cross-reactivity. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:707-16.
27. King T.-P., Lu G., Gonzales M., Qian N., Soldatova L. - Yellow jacket venom allergens, hyaluronidase and phospholipase. Sequence similarity and antigenic cross-reactivity with hornet and wasp homologs and possible implications for clinical allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:588-600.
28. Wicher K., Reisman R.-E., Wypych J., Elliott W., Steger R., Mathews R.-S., Arbesman C.-E. - Comparison of the immunogenicity of venoms of various species of yellow jackets (genus *Vespula*). *J Allergy Clin Immunol* 1980;66:244-249.
29. Hoffman D.-R. - Allergens in Hymenoptera venoms XVI. Studies of the structures and cross-reactivities of vespid venom phospholipases. *J Allergy Clin Immunol* 1986;78:337-343.
30. Panzani R., Blanca M., Sanchez F., Juarez C. - Sensitivity to European wasps in a group of allergic patients in Marseille: preliminary results. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1994;4:42-46.
31. Blanca M., Garcia F., Miranda A., Carmona M.-J., Garcia J., Fernandez J., Terrados S., Vega J.-M., Juarez C. - Determination of IgE antibodies to *Polistes dominulus*, *Vespula germanica* and *Vespa crabro* in sera of patients allergic to vespids. *Allergy* 1991;46:109-114.
32. Hamilton R.-G., Wiesenauer J.-A., Golden DBK., Valentine M.-D., Adkinson F.-A. Selection of Hymenoptera venoms for immunotherapy on the basis of patient's IgE antibody cross-reactivity. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:651-659.
33. Hoffman D.-R. - Allergens in Hymenoptera venoms XV. The immunologic basis of vespid venom cross-reactivity. *J Allergy Clin Immunol* 1985;75:611-613.
34. Pantera B., Hoffman D.-R., 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;13;1623:72-81.
35. Wypych J., Abenounis C., Reisman R. - Analysis of differing patterns of cross-reactivity of honey bee and yellowjacket venom-specific IgE: use of purified venom fractions. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989;89:60-66.
36. Reisman R.-E., Wypych J.-., Lazell M.-I. - Further studies in patients with both honeybee- and yellow-jacket-venom-specific IgE. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987;82:190-194.
37. Straumann F., Bucher C., Wüthrich B. - Double sensitization to honeybee and wasp venom: immunotherapy with one or with both venoms? Value of FEIA inhibition for the identification of the cross-reacting IgE antibodies in double-sensitized patients to honeybee and wasp venom. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123:268-74.
38. Johansson SGO., Hourihane JO'B., Bousquet J. *et al.* - A revised nomenclature for allergy. An EAAACI position statement from the EAAACI nomenclature task force. *Allergy* 2001;56:813-824.
39. Green A.-W., Reisman R.-E., Arbesman C.-E. - Clinical and immunologic studies of patients with large local reactions following insect stings. *J Allergy Clin Immunol* 1980;66:186-189.
40. Graft D.-F., Schuberth K.-C., Kagey-Sobotka A. *et al.* - A prospective study on the natural history of large local reactions after Hymenoptera stings in children. *J Pediatr* 1984;104:664-668.
41. Abrecht I., Eichler G., Müller U., Hoigné R. - On the significance of severe local reactions to Hymenoptera stings. *Clin Allergy* 1980;10:675-682.

42. Wright D.-N., Lockey R.-F. - Local reactions to stinging insects (Hymenoptera). *Allergy Proc* 1990; 11:23-8.
43. Muller U.-R. - Insect Sting Allergy 1990. Gustav Fischer, Stuttgart.
44. Waterberg N., Weizman Z., Shahak E., Aviram M., Maor E. - Fatal multiple organ failure following massive hornet stings. *J Toxicol Clin Toxicol* 1995;33:471-4.
45. Daher Ede F, da Silva Junior G.-B., Bezerra G.-P., Pontes L.-B., Martins A.-M., Guimaraes J.-A. - Acute renal failure after massive honeybee stings. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2003;45:45-50.
46. Korman S.-H., Jabbour S., Harari M.-D. - Multiple hornet (*Vespa orientalis*) stings with fatal outcome in a child. *J Paediatr Child Health* 1990;26:283-5.
47. Light W.-C., Reisman R.-E., Shimizu M., Arbesman C.-E. - Unusual reactions following insect stings. Clinical features and immunologic analysis. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 59:391-7.
48. De Bandt M., Atassi-Dumont M., Kahn M.-F., Herman D. - Serum sickness after wasp venom immunotherapy: clinical and biological study. *J Rheumatol* 1997;24:1195-7.
49. Tauk B., Hachem H., Bastani B. - Nephrotic syndrome with mesangial proliferative glomerulonephritis induced by multiple wasp stings. *Am J Nephrol* 1999;19:70-2.
50. Zhang R., Meleg-Smith S., Batuman V. - Acute tubulointerstitial nephritis after wasp stings. *Am J Kidney Dis* 2001 38: E33.
51. Müller U.-R., Horat W., Wüthrich B., Conroy M., Reisman R.-E. - Anaphylaxis after Hymenoptera stings in three patients with urticaria pigmentosa. *J Allergy Clin Immunol* 1983;72:685-689.
52. Kors J.-W., van Doormaal J.-J., de Monchy J.-G. - Anaphylactoid shock following Hymenoptera sting as a presenting symptom of systemic mastocytosis. *J Intern Med* 1993;233(3):255-8.
53. Bücher C., Simic P., Furrer J., Wüthrich B. - Mastocytosis: an important differential diagnosis in anaphylactoid reactions to Hymenoptera sting. A case report and overview of clinical aspects, diagnosis and current therapy of mastocytosis. *Schweiz Rundsch Med Prax* 2000;89:411-418.
54. Fricker M., Helbling A., Schwartz L., Muller U. - Hymenoptera sting anaphylaxis and urticaria pigmentosa: clinical findings and results of venom immunotherapy in ten patients. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:11-5.
55. Mueller H.-L. - Diagnosis and treatment of insect sensitivity. *J Asthma Res* 1966;3:331-333.
56. Ring J., Messmer K. - Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *Lancet* 1977:466-469.
57. Reisman R.-E., Livingston A. - Late-onset allergic reactions, including serum sickness, after insect stings. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:331-7.
58. Mosbech H. - Death caused by wasp and bee stings in Denmark 1960-1980. *Allergy* 1983;38:195-200.
59. McGain F., Winkel K.-D. - Ant sting mortality in Australia. *Toxicon* 2002;40:1095-100.
60. Oude Elberink JNG., de Monchy JGR., Brouwer JLP, Golden DBK., Guyatt G.-H., Dubois AEJ. - Development and validation of the Vespid allergy quality of Life questionnaire (VQLQ). *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:162-70.
61. Bilò M.-B. - Health-related quality of life in Hymenoptera venom allergic patients. In: Insect Allergy. Up to date 2000. Proceedings of the International Symposium. Editors: Bonifazi F, Bilò MB, Antonicelli L. JGC Editions 2002:155-162.
62. Fernandez J., Blanca M., Soriano J. et al. - 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.
63. Kalyoncu A.-F., Demir A.-U., Ozcan U., Ozkuyumcu C., Sahin A.-A., Baris Y.-I. - Bee and wasp venom allergy in Turkey. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997; 78:408-12.
64. Schäfer T., Przybilla B. - IgE antibodies to Hymenoptera venoms in the serum are common in the general population and are related to indications of atopy. *Allergy* 1996; 51: 372-377.
65. Golden DBK., Marsh D.-G., Kagey-Sobotka A. et al. - Epidemiology of insect venom sensitivity. *JAMA* 1989;262:240-4.
66. Grigoreas Ch., Galatas I.-D., Kiamouris Ch. et al. - Insect venom allergy in Greek adults. *Allergy* 1997;52: 51-7.
67. Charpin D., Birnbaum J., Vervloet D. - Epidemiology of hymenoptera allergy. *Clin Exp Allergy* 1994;24:1010-15.
68. Björnsson E., Janson C., Plaschke P. et al. - Venom allergy in adult Swedes: a population study. *Allergy* 1995;50:800-5.
69. Shimizu T., Hori T., Tokuyama K., Morikawa A., Kuroume T. - Clinical and immunologic surveys of Hymenoptera hypersensitivity in Japanese forestry workers. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995 ;74:495-500.
70. Bousquet J., Menardo J.-L., Aznar R. et al. - Clinical and immunological survey in beekeepers in relation to their sensitization. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:332-40.
71. de la Torre-Morin F., Garcia-Robaina J.-C., Vazquez-Moncholi C., Fierro J., Bonnet-Moreno C. - Epidemiology of allergic reactions in beekeepers: a lower prevalence in subjects with more than 5 years exposure. *Allergol Immunopathol (Madr)* 1995; 23:127-32.
72. Incorvaia C., Mauro M., Pastorello E.-A. - Hymenoptera stings in conscripts. *Allergy* 1997; 52:680-1.
73. Novembre E., Cianferoni A., Bernardini R.-A. et al. - Epidemiology of insect venom sensitivity in children and its correlation to clinical and atopic features. *Clin Exp Allergy* 1998;28:834-8.
74. Annala I.-T., Karjalainen E.-S., Annala P.-A. et al. - Bee and wasp sting reactions in current beekeepers. *Ann Allergy asthma Immunol* 1996;77:423-7.
75. Abrishami M.-H., Boyd G.-K., Settipane G.-A. - Prevalence of bee sting allergy in 2010 girl scouts. *Acta Allergol* 1971;26:117-120.
76. Settipane G.-A., Boyd G.-K. - Prevalence of bee sting allergy in 4992 boy scouts. *Acta Allergol* 1970;25:286-91.
77. Settipane G.-A., Newstead G.-J., Boyd G.-K. - Frequency of Hymenoptera allergy in an atopic and normal population. *J Allergy Clin Immunol* 1972;50:146-150.
78. Barnard J.-H. - Studies of 400 Hymenoptera sting deaths in the United States. *J Allergy Clin Immunol* 1973;52:259-64.
79. Antonicelli A., Bilò M.-B., Bonifazi F. - Epidemiology of Hymenoptera allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002;2:1-6.
80. Schwartz H.-J., Squillace D.-L., Sher T.-H., Teigland J.-D., Yunginger J.-W. - Studies in stinging insect hypersensitivity: postmortem demonstration of antivenom IgE antibody in possible sting-related sudden death. *Am J Clin Pathol* 1986;85:607-610.
81. Schuberth K.-C., Lichtenstein L.-M., Kagey-Sobotka A., Szklo M., Kwitrovich K.-A., Valentine M.-D. - Epidemiologic study of insect allergy in children. II. Effect of accidental stings in allergic children. *J Pediatr* 1983;102:361-5.
82. Valentine M.-D., Schuberth K.-C., Kagey-Sobotka A. et al. - The value of immunotherapy with venom in children with allergy to insect stings. *N Engl J Med* 1990;323:1601.
83. Engel T., Heinig J.-H., Weeke E.-R. - Prognosis of patients reacting with urticaria to insect sting. Results of an in-hospital sting challenge. *Allergy* 1988;43:289-93.
84. Reisman R.-E. - 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.
85. Golden DBK., Marsh D.-G., Freidhoff L.-R. et al. - Natural history of Hymenoptera venom sensitivity in adults. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:760-6.
86. Pucci S., Antonicelli L., Bilò M.-B. et al. - The short interval between two stings as a risk factor for developing hymenoptera venom allergy. *Allergy* 1994;49:894-6.
87. Chipps B.-E., Valentine M.-D., Kagey-Sobotka A., Schuberth K.-C., Lichtenstein L.-M. - Diagnosis and treatment of anaphylactic reactions to Hymenoptera stings in children. *J Pediatr* 1980;97:177-84.

88. Lockett R.-F., Turkeltaub P.-C., Baird-Warren I.-A., Olive C.-A., Olive E.-S., Peppe B.-C., Bukantz S.-C. - The Hymenoptera venom study I, 1979-1982: demographics and history-sting data. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:370-81.
89. Przybilla B., Ring J., Grieshammer B. - Association of features of atopy and diagnostic parameters in hymenoptera venom allergy. *Allergy* 1991;46:570-6.
90. Schuetze G.-E., Forster J., Hauk P.-J., Friedl K., Kuehr J. - Bee-venom allergy in children: long-term predictive value of standardized challenge tests. *Pediatr Allergy Immunol* 2002;13:18-23.
91. Lantner R., Reisman R.-E. - Clinical and immunologic features and subsequent course of patients with severe insect-sting anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:900-6.
92. Blaauw P.-J., Smithuis L.-O. - 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.
93. van der Linden P.-W., Hack C.-E., Struyvenberg A., van der Zwan J.-K. - Insect-sting challenge in 324 subjects with a previous anaphylactic reaction: current criteria for insect-venom hypersensitivity do not predict the occurrence and the severity of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:151-9.
94. Franken H.-H., Dubois A.-E., Minkema H.-J., van der Heide S., de Monchy J.-G. - 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.
95. Hunt K., Valentine M., Sobotka A., Benton A., Amodio F., Lichtenstein L. - A controlled trial of immunotherapy in insect hypersensitivity. *N Engl J Med* 1978; 299: 157-161.
96. Antonicelli L., Bilò M.-B., Napoli G., Farabollini B., Bonifazi F. - European hornet (*Vespa crabro*) sting: a new risk factor for life-threatening reaction in hymenoptera allergic patients? *Allerg Immunol (Paris)* 2003;35:199-203.
97. Biedermann T., Rueff F., Sander C.-A., Przybilla B. - Mastocytosis associated with severe wasp sting anaphylaxis detected by elevated serum mast cell tryptase levels. *Br J Dermatol* 1999;14:1110-2.
98. Kors J.-W., van Doormaal J.-J., de Monchy J.-G. - Anaphylactoid shock following Hymenoptera sting as a presenting symptom of systemic mastocytosis. *J Intern Med* 1993;233:255-8.
99. Oude Elberink J.-N., de Monchy J.-G., Kors J.-W., van Doormaal J.-J., Dubois A.-E. - Fatal anaphylaxis after a yellow jacket sting, despite venom immunotherapy in two patients with mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:153-4.
100. Ludolph-Hauser D., Rueff F., Fries C., Schopf P., Przybilla B. - Constitutively raised serum concentrations of mast-cell tryptase and severe anaphylactic reactions to Hymenoptera stings. *Lancet* 2001;357:361-2.
101. Haeberli G., Bronnimann M., Hunziker T., Muller U. - Elevated basal serum tryptase and hymenoptera venom allergy: relation to severity of sting reactions and to safety and efficacy of venom immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1216-20.
102. Schwartz L.-B., Bradford T.-R., Rouse C., Irani A.-M., Rasp G., Van der Zwan J.-K., Van der Linden P.-W. - Development of a new, more sensitive immunoassay for human tryptase: use in systemic anaphylaxis. *J Clin Immunol* 1994;14:190-204.
103. Portnoy J.-M., Moffitt J.-E., Golden BDK. et al. - Stinging insect hypersensitivity: a practice parameter. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:963-980.
104. Position paper: Allergen standardisation and skin tests. - The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1993;48(14 Suppl):48-82.
105. Bjorkander J., Belin L. - Diagnostic skin testing in Hymenoptera sensitivity. In Oehling A (ed): *Advances in allergology and applied immunology*. New York, Pergamon Press. 1980:733.
106. Bar-Sela S., Shalit M., Kalbfleisch J.-H., Fink J.-N. - The relative value of skin tests and radioallergosorbent test in the diagnosis of bee sting hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1983;72:690-694.
107. Hunt K.-J., Valentine M.-D., Sobotka A.-K., Lichtenstein L.-M. - Diagnosis of allergy to stinging insects by skin testing with Hymenoptera venoms. *Ann Intern Med* 1976;86:56-59.
108. Patrizzi R., Müller U., Yman L., Hoigné R. - Comparison of skin tests and RAST for the diagnosis of bee sting allergy. *Allergy* 1979;34:249-256.
109. Meriney D., Nall T.-H., Wallace D., Rosenzweig D., Goel Z. - Comparison of venom and whole-body RAST and intradermal testing in vespid-sensitive patients. *Int Archs Allergy Appl Immunol* 1980;62:442-452.
110. Wüthrich B., Wick H., Crass B., Wyss S. - Zur Diagnostik der Hymenopterenstich-Allergie: ein Vergleich zwischen Anamnese, Hauttesten und IgE-Bestimmungen (RAST) mit Giftextrakten. *Praxis* 1981;70:934-943.
111. Georgitis J.-W., Reisman R.-E. - Venom skin tests in insect-allergic and insect-nonallergic populations. *J Allergy Clin Immunol* 1985;76:803-807.
112. Day J.-H., Buckeridge D.-L., Welsh A.-C. - Risk assessment in determining systemic reactivity to honeybee stings in sting-threatened individuals. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:691-705.
113. Goldberg A., Confino-Cohen R. - Timing of venom skin tests and IgE determinations after insect sting anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:182-4.
114. Mosbech H., Christensen J., Dirksen A., Söborg M. - Insect allergy. Predictive value of diagnostic tests: a three-year follow-up study. *Clin Allergy* 1986;16:433-440.
115. Zollner T.-M., Spengler K., Podda M., Ergezinger K., Kaufmann R., Boehncke W.-H. - The Western blot is a highly sensitive and efficient technique in diagnosing allergy to wasp venom. *Clin Exp Allergy* 2001;31:1754-61.
116. Maly F.-E., Marti-Wyss S., Blumer S., Cuhat-Stark I., Wüthrich B. - Mononuclear blood cell sulfidoleukotriene generation in the presence of interleukin-3 and whole blood histamine release in honey bee and yellow jacket venom allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1997;7:217-24.
117. Sainte-Laudy J., Sabbah A., Drouet M., Lauret M.-G., Loiry M. - Diagnosis of venom allergy by flow cytometry. Correlation with clinical history, skin tests, specific IgE, histamine and leukotriene C4 release. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1166-71.
118. Santos M.-C., Carlos M.-L., Pedro E., Carlos A.-G. - Laboratory diagnosis of hymenoptera venom allergy: comparative study between specific IgE, Western blot and allergen-leukocyte stimulation (CAST). *Allerg Immunol (Paris)* 2002;34:6-9.
119. Ebo D., Hagendorens M., Bridts C. et al. - *In vitro* allergy diagnosis: should we follow the flow? *Clin Exp Allergy* 2004;34:332-339.
120. Lambert C., Guilloux L., Dzviga C. et al. - Flow cytometry versus histamine release analysis of *in vitro* basophil degranulation in allergy to hymenoptera venom. *Cytometry* 2003;52B:13-19.
121. Binder M., Fierbeck G., King T.-P. et al. - Individual hymenoptera venom compounds induce up regulation of the basophil activation marker ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3(CD203c) in sensitized patients. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:160-168.
122. Parker J.-L., Santrach P.-J., Dahlberg MJE Yunginger J.-W. - Evaluation of Hymenoptera-sting sensitivity with deliberate sting challenges: inadequacy of present diagnostic methods. *J Allergy Clin Immunol* 1982;96:200-207.
123. Mosbech H. - Insect allergy. A comparative study including case histories and immunological parameters. *Allergy* 1984;39:543-9.
124. Kontou-Fili K. P. - Patients with negative skin tests. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002; 2:353-7.
125. Golden DBK., Kagey-Sobotka A., Norman P.-S., Hamilton R.-G., Lichtenstein M. - Insect sting allergy with negative venom skin test responses. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:897-901.

126. Ruëff F, Przybilla B, Müller U, Mosbech H. - The sting challenge test in Hymenoptera venom allergy. *Allergy* 1996;51:216-225.
127. Blaauw P.-J., Smithuis LOMJ. - Report of the meeting of the Dutch Society for Allergology. *Ned Tijdschr Geneesk* 1993;137:1903.
128. Van Halteren H.-K., van der Linden P.-W.G., Burgers S.-A., Bartelink AKM. - Hymenoptera sting challenge of 348 patients: Relation to subsequent field stings. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1058-63.
129. Hauk P, Friedl K, Kaufmehl K, Urbanek R, Forster J. - Subsequent insect stings in children with hypersensitivity to Hymenoptera. *J Pediatr* 1995;126:185-90.
130. Dubois A. - Investigational and clinical use of the sting challenge. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3: 283-285.
131. Bilò M.-B., Brianzoni M.-F., Garritani M.-S., Antonicelli L., Farabollini B., Bonifazi F. - The sting challenge test in Hymenoptera venom allergy: pros and cons. *Allerg Immunol (Paris)*. 2003;35:377-81.
132. Golden D.-B., Addison B.-I., Gadde J., Kagey-Sobotka A., Valentine M.-D., Lichtenstein L.-M. - Prospective observations on stopping prolonged venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:162-7.
133. Lerch E., Müller U. - Long-term protection after stopping venom immunotherapy: Results of re-stings in 200 patients. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:606-612.
134. Müller U., Berchtold E., Helbling A. - Honeybee venom allergy: results of a sting challenge 1 year after stopping successful venom immunotherapy in 86 patients. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:702-9.
135. Müller U. - Recent developments and future strategies for immunotherapy of insect venom allergy. *Current Opin Allergy Clin Immunol* 2003; 3:299-303
136. Müller U., Fricker M., Wymann D., Blaser K., Cramer R. - Increased specificity of diagnostic tests with recombinant major bee venom allergen phospholipase A2. *Clin Exp Allergy* 1997; 27:915-20.
137. Müller U., Soldatova L., Weber M. - Bee venom allergy: Comparison of IgE-binding capacity of purified natural and recombinant-synthetic venom allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101, 33.





Associazione Allergologi Immunologi
Territoriali e Ospedalieri

LINEE GUIDA AAITO SULLA TERAPIA DELLA ALLERGIA A VELENO DI IMENOTTERI

Editori: F. Bonifazi ⁽¹⁾, M.B. Bilò ⁽¹⁾

Con la Collaborazione del Consiglio Direttivo AAITO:

S. Amoroso, A. Antico, S. Ardito, G. Cadario, V. Feliziani, M. Galimberti,
C. Lombardi, A. Musarra, G. Senna, G.F. Stefanini, C. Troise

INTRODUZIONE

A tutt'oggi non esistono studi scientifici sulle misure preventive più idonee per evitare le punture di insetti né norme di profilassi dettagliate. Pertanto il buon senso e i consigli derivati dalla conoscenza di quanto è ormai acquisito sul comportamento degli insetti, soprattutto se messi per iscritto, costituiscono l'unico modo possibile per aiutare i pazienti allergici a ridurre al minimo il rischio di ripuntura.

Ai pazienti allergici deve essere prescritta una terapia di emergenza, pronta per una autosomministrazione immediata; la terapia deve essere spiegata in maniera esaustiva con dimostrazione pratica, sotto la supervisione di un medico o di un infermiere esperto (1).

Infine il medico dovrebbe informare il paziente che ha manifestato reazioni sistemiche della possibilità di intraprendere l'immunoterapia specifica (IT). L'immunoterapia verso il veleno di imenotteri è un trattamento sicuro ed efficace, in grado di prevenire la morbilità e la mortalità, ridurre in maniera significativa il rischio di sviluppare una reazione sistemica da ripuntura durante e dopo sospensione della IT e migliorare la qualità della vita dei pazienti, diminuendo l'ansia e talvolta l'angoscia manifestata dal paziente allergico e dalla sua famiglia.

⁽¹⁾ Dipartimento di Malattie Respiratorie e Allergiche, Ospedali Riuniti di Ancona, Ancona.

Nel 1987 è stato pubblicato il primo Position Paper dell'Accademia Europea sulla immunoterapia verso veleno di imenotteri (2); nel 1993 il documento è stato aggiornato dal Sottocomitato Europeo sulla allergia a veleno di insetti (3). A livello italiano nel 1997 è stato prodotto un documento che includeva sia la diagnosi che la terapia della allergia al veleno di imenotteri (4).

E' in corso di pubblicazione il terzo Position Paper del Gruppo di Studio Europeo dell'EAACI sulla terapia e prevenzione della allergia al veleno di imenotteri.

La copiosa letteratura pubblicata da allora rende necessaria la stesura di un nuovo documento italiano, aggiornato e revisionato secondo i recenti criteri di produzione delle linee Guida (5).

TERAPIA DI EMERGENZA

Le reazioni locali estese possono essere trattate con crioterapia, eventualmente associata a terapia farmacologica con antistaminici e steroidi per uso topico (6,7).

In caso di reazioni particolarmente estese e persistenti può essere utile un breve ciclo di steroidi per os; qualora la reazione si verifichi a livello del cavo orale, il paziente deve essere tenuto sotto stretta sorveglianza per la possibilità di ostruzione delle vie aeree (6).

L'orticaria lieve e moderata può rispondere ad antistaminici e cortisonici, mentre l'orticaria più grave può richiedere il trattamento con adrenalina (6,7).

L'adrenalina rappresenta il trattamento di scelta per l'anafilassi acuta (1,8-11).

Tale farmaco deve essere prontamente somministrato in caso di shock anafilattico, poiché il raggiungimento di concentrazioni elevate nel plasma e nei tessuti è essenziale per la sopravvivenza del paziente. In un modello animale, è stato recentemente confermato che l'adrenalina somministrata nel *nadir* dello shock non è in grado di determinare il recupero emodinamico, nonostante l'innalzamento della sua concentrazione plasmatica (12).

Pertanto per una corretta gestione dell'anafilassi è fondamentale riconoscere i primi segni e sintomi della reazione e iniziare rapidamente il suo trattamento.

Dopo avere messo il paziente in posizione supina, è indispensabile somministrare ossigenoterapia, reperire un accesso venoso e mantenerlo pervio per eventuale utilizzo di liquidi, somministrare adrenalina; successivamente vanno aggiunti gli antistaminici e i cortisonici, i quali non debbono mai essere utilizzati da soli nel trattamento dell'anafilassi.

Persistono tuttora alcune false convinzioni che possono portare ad un trattamento ritardato dell'anafilassi, come il fatto che la reazione anafilattica sia sempre preceduta da sintomi lievi e che quindi c'è tempo per intervenire e che l'adrenalina sia sempre efficace anche se non somministrata con rapidità. In realtà non esiste la possibilità di prevedere la progressione di una reazione allergica, vari organi possono essere interessati contemporaneamente, l'assenza di sintomi cutanei non esclude l'insorgenza dell'anafilassi e quindi può contribuire a ritardare l'utilizzo della adrenalina.

Nel corso degli ultimi anni, è stata messa in discussione la somministrazione convenzionale della adrenalina per via sottocutanea. È stato dimostrato sia su di un modello animale (13) che mediante uno studio prospettico, randomizzato in cieco su pazienti a rischio di anafilassi (14) che l'iniezione intramuscolo di adrenalina produce un più rapido incremento della sua concentrazione plasmatica e quindi dei suoi effetti fisiologici rispetto alla somministrazione sottocutanea. Sulla base di ciò le più recenti Linee Guida Inglesi (10) e Americane (15) sul trattamento dell'emergenza stabiliscono che la modalità di somministrazione dell'adrenalina nella anafilassi deve essere intramuscolare sia negli adulti che nei bambini.

I pazienti che utilizzano beta-bloccanti possono necessitare di un dosaggio maggiore e ripetuto di adrenalina e di fluidi endovena; se l'ipotensione non

risponde alla adrenalina, può essere utile l'aggiunta del glucagone.

Alcuni Autori focalizzano l'attenzione sui suoi effetti collaterali, che comprendono aritmie, angina, infarto del miocardio, distress respiratorio, edema polmonare ed emorragia cerebrale, osservabili in genere a seguito della infusione endovena di elevate dosi di adrenalina (16).

Su 164 casi di anafilassi fatale (comprendenti l'anafilassi da puntura di imenotteri) riportati in Inghilterra dal 1992 al 1998 il sovradosaggio di adrenalina ha rappresentato la causa certa di decesso in tre pazienti (17).

Alcuni soggetti, come quelli con patologia cardiovascolare o cerebrovascolare, sono a maggior rischio di effetti avversi; tuttavia, anche in questi soggetti, in caso di anafilassi il beneficio tratto dalla terapia con adrenalina, è generalmente maggiore rispetto al rischio degli effetti indesiderati.

Nella tabella 1 è riportata la terapia delle reazioni sistemiche (orticaria, angioedema, edema laringeo, asma bronchiale, shock anafilattico).

KIT DI TERAPIA MEDICA D'EMERGENZA (ADRENALINA AUTOINIETTABILE)

I pazienti allergici al veleno di imenotteri dovrebbero portare con sé un kit di emergenza per l'auto-somministrazione, soprattutto durante la stagione degli insetti.

L'aspirazione di una soluzione di adrenalina dalla fiala richiede tempo, può ritardare la somministrazione e quindi l'effetto del farmaco. Per ovviare a tale problema, sono attualmente disponibili in vari paesi dell'Europa numerose formulazioni di adrenalina per uso immediato (1).

Alcuni soggetti con anafilassi non rispondono immediatamente alla adrenalina; tra i motivi che possono spiegare tale evenienza citiamo una anafilassi rapidamente progressiva, il concomitante utilizzo di farmaci beta-bloccanti (18), la somministrazione tardiva del farmaco (non disponibile oppure disponibile ma non utilizzata), un dosaggio sub-ottimale (iniezione sottocutanea, per via inalatoria), dose non adeguata (es. prodotto scaduto).

Alcuni studi sottolineano la necessità che le indicazioni e le modalità di somministrazione della adrenalina autoiniettabile siano frequentemente ripetute ai pazienti e ai loro familiari (19,20).

Tipo di reazione	Farmaco e posologia	Note
Orticaria lieve	Antistaminici, per os o per via parenterale	Tenere in osservazione per almeno 60'
Orticaria, angioedema	Misurare PA e FC Incannulare una vena e mantenerla pervia con SF Antistaminici per os o parenterali Corticosteroidi per os o parenterali In caso di progressione dei sintomi: Adrenalina (1 mg/ml): - Adulti 0.30-0,50 mg I.M. - Bambini 0,01 ml/kg I.M.	Il paziente deve essere tenuto sotto osservazione sino alla completa scomparsa della sintomatologia
Edema laringeo	Adrenalina per inalatoria e IM	Nei casi di edema laringeo severo possono rendersi necessari intubazione, tracheotomia o cricotirotomia Tutti i pazienti con sintomatologia respiratoria protratta debbono essere ospedalizzati; quelli con edema laringeo devono essere trasferiti in terapia intensiva.
Ostruzione bronchiale	Lieve-moderata: β_2 -agonisti per via inalatoria Severa: adrenalina per via inalatoria β_2 -agonisti (0,5 mg/ml) 1 aa: 0,05-0,1 mg; 7 aa: 0,2-0,4 mg; adulti 0,25-0,5 mg E.V.	
Shock anafilattico	Adrenalina (1 mg/ml): - Adulti 0.30-0,50 mg I.M. - Bambini 0,01 ml/kg I.M. Può essere ripetuta dopo 5-15 min. eccezionalmente E.V. Posizionare il paziente in Trendelenburg Misurare PA e FC Incannulare una vena Infondere liquidi Ossigeno 5-10 l/min. Antistaminici E.V. Corticosteroidi E.V. Dopamina o norepinefrina Glucagone: 0,1 mg/kg E.V. (nausea, vomito)	Necessaria l'ospedalizzazione per il rischio di anafilassi ritardata Se l'adrenalina con o senza antistaminici e i liquidi non consentono di correggere l'ipotensione Per l'ipotensione refrattaria e il broncospasmo che non rispondono al trattamento nei pazienti in terapia con beta-bloccanti

Tabella n.1: Trattamento delle reazioni sistemiche da puntura di imenotteri.

IMMUNOTERAPIA SPECIFICA

Meccanismo di azione

Nonostante gli innumerevoli studi sull'argomento, il meccanismo d'azione con cui l'IT agisce non è completamente chiarito. Le evidenze scientifiche dimostrano che l'immunoterapia modifica la risposta immunitaria alterata nei soggetti allergici, indirizzandola di nuovo verso la normalità.

E' stato dimostrato che un aumento delle IgG (in particolare IgG4), la produzione di linfociti TCD8+ regolanti le IgE e una riduzione nel rilascio dei mediatori sono associati ad una immunoterapia efficace (21-25).

In fase più avanzata della immunoterapia si verifica una riduzione della produzione IL4 e IL5 da parte delle cellule CD4+ ed uno shift verso un incremento della produzione di IFN- γ (26-33).

Tuttavia il meccanismo di ripolarizzazione delle cellule T da una predominanza di TH2 verso una di TH1 non è completamente chiarito.

Le modificazioni nella risposta immune verso il veleno delle api sono state ampiamente studiate durante l'immunoterapia classica, durante l'immunoterapia con PLA-peptide (26-30,34-36) e durante l'esposizione spontanea all'allergene in soggetti sani come gli apicoltori (26).

Sembra che l'induzione di uno stato di anergia nelle cellule T periferiche e la sua riattivazione da parte di citochine del microambiente tissutale siano fasi essenziali nel meccanismo della immunoterapia (26-28).

Lo stato di anergia deriva da un aumento della secrezione di IL-10 (29). E' stato dimostrato che IL-10 viene prodotta dalla popolazione di cellule T antigene-specifiche e da linfociti T attivati CD4+ CD25+, da monociti e cellule B (29). Sembra che le cellule T osservate durante l'immunoterapia o durante l'esposizione ad antigeni naturali rappresentino le cellule "T-regolatorie 1" (T reg) nell'uomo; esse producono alti livelli di IL10 e derivano da una attivazione cronica di CD4+ in presenza di IL-10, così come le Th3, indotte dalla somministrazione orale dell'antigene, e secernenti prevalentemente TGF-b. La tolleranza verso gli aeroallergeni è associata ad una incrementata secrezione di TGF-b (37). Lo stesso meccanismo non sembra sia attivo nella allergia a veleno di imenotteri. Le differenze nei meccanismi di controllo che regolano le risposte immuni verso i veleni e gli aeroallergeni, potrebbero derivare da differenti modalità di contatto con l'allergene,

con il coinvolgimento dell'immunità delle mucose nel caso delle allergopatie respiratorie.

IL-10 indotta dalla immunoterapia inoltre down-regola la sintesi di IgE specifiche e di IgG4; è infatti un potente soppressore della sintesi di IgE sia totali che specifiche, mentre la sintesi di IgG4 viene contemporaneamente aumentata (27,29).

Sono state osservate alcune differenze nell'effetto sulla reattività delle cellule T a seconda che l'immunoterapia venga somministrata con protocolli rapidi oppure convenzionali. Sebbene entrambe siano associate ad uno shift di produzione di citochine dal profilo TH2 a Th1, nel secondo caso tale modulazione si verifica in molto più tempo (38).

Inoltre, a differenza della immunoterapia con schema ultra-rush che induce rapidamente l'anergia delle cellule T, quella convenzionale determina un temporaneo incremento della proliferazione delle cellule T in risposta all'allergene durante la fase di incremento, seguita da una tolleranza specifica delle cellule T (38). Le implicazioni di tali osservazioni in termini di efficacia clinica necessitano di ulteriori approfondimenti.

Si è visto infine che durante l'immunoterapia si verifica una riduzione del rilascio di alcuni mediatori (es.: istamina o sulfidoleucotrieni) della anafilassi (25,39-41), verosimilmente attribuibile alla attività soppressiva di IL-10 sulle cellule effettrici (mastociti, basofili).

Selezione dei pazienti per l'immunoterapia

La selezione dei pazienti per l'avvio alla immunoterapia specifica si basa prevalentemente sulla storia naturale della malattia allergica. Studi prospettici hanno mostrato che il 20-75% dei pazienti con anamnesi di reazione sistemica (RS), test cutanei e sierologici positivi, qualora ripunti, manifestano nuovamente una RS al differenza degli altri soggetti, i quali pur con le stesse caratteristiche non reagiscono ad una ripuntura.

I fattori di rischio per la comparsa di una nuova RS possono essere così schematizzati (per un approfondimento vedi Linee Guida AAITO sulla Diagnostica): 1) Intervallo di tempo tra le punture: il rischio è maggiore se l'intervallo di tempo trascorso tra due punture successive della stessa specie di insetto è breve (alcune settimane o mesi). 2) Numero di punture: negli apicoltori il rischio è maggiore quando il numero annuo di punture di api è inferiore a 25. 3) Gravità della precedente reazione: il rischio di RS è maggiore nei pazienti con anamnesi di precedente RS rispetto

alla reazione locale estesa e in quelli con grave reazione sistemica rispetto ai soggetti con lieve RS.

5) Malattie cardiovascolari concomitanti o trattamenti con beta-bloccanti: associati a reazioni particolarmente gravi. 6) Insetto pungitore: rischio maggiore per api e calabroni. 7) Mastocitosi o elevati livelli basali di triptasi.

I soggetti a rischio maggiore sono quelli punti più frequentemente o che abbiano manifestato reazioni particolarmente gravi. Nella gestione di questi pazienti è di fondamentale importanza considerare alcuni elementi: 1) Malattie internistiche concomitanti dovrebbero essere trattate e stabilizzate prima di iniziare l'immunoterapia. 2) Tutte le attività ad elevato rischio di ripuntura dovrebbero essere interrotte, fintanto che non si è raggiunto il dosaggio di mantenimento dell'immunoterapia. 3) In pazienti a rischio di grave reazione sistemica (es. età avanzata, anamnesi di precedente RS severa, mastocitosi, uso di beta-bloccanti) è molto importante prolungare il trattamento nel tempo (in alcuni casi forse per tutta la vita).

Indicazioni alla immunoterapia

L'immunoterapia non è consigliata qualora non si dimostri una sensibilizzazione allergica IgE-mediata mediante positività dei tests cutanei e delle IgE specifiche o in caso di reazioni rare, come ad esempio vasculiti, nefrosi, febbre, trombocitopenia (6).

IT è raccomandata nei bambini e negli adulti con precedente reazione sistemica, con interessamento cardiovascolare e respiratorio, che metta il paziente in pericolo di vita (2,3).

Non è consigliabile né a bambini né ad adulti con reazione locale estesa (42-44).

Nelle reazioni sistemiche, non pericolose per la vita (es. orticaria, eritema, prurito generalizzato) altri fattori possono contribuire alla decisione di intraprendere l'immunoterapia, come le attività lavorative o gli hobbies ad alto rischio di esposizione, il tipo di insetto pungitore, la presenza concomitante di malattie cardiovascolari o di altre patologie (come la mastocitosi) e una compromissione significativa della qualità della vita.

Le indicazioni per l'immunoterapia sono schematizzate nella Tabella 2.

La gravidanza non è generalmente considerata una controindicazione per la IT se la paziente è in fase di mantenimento ben tollerato; si sconsiglia invece di iniziare il trattamento durante la gravidanza (45).

Le controindicazioni generali per la IT sono le stesse della immunoterapia con altri allergeni. In particolare, relativamente all'utilizzo di beta-bloccanti (46), la decisione dovrebbe sempre essere presa confrontando il rischio di patologia cardiaca da sospensione del beta-bloccante con il rischio di reazione sistemica da immunoterapia. Se il rischio cardiologico è maggiore rispetto al rischio di reazione sistemica durante l'IT, la terapia con beta-bloccanti non deve essere sospesa e l'IT effettuata con maggiori precauzioni, che includono il monitoraggio pressorio ed elettrocardiografico durante la fase di incremento.

Scelta dei veleni per l'immunoterapia

Il veleno da utilizzare per l'immunoterapia viene scelto sulla base della anamnesi, del riconoscimento dell'insetto (ad eccezione degli apicoltori e dei loro familiari, i pazienti sono spesso incapaci di identificare l'insetto pungitore), del risultato dei tests cutanei e

Tipologia della reazione	Tests Diagnostici Test cutanei e/o sierologici (IgE)	Indicazione alla immunoterapia
Adulti/ Bambini		
Sintomi respiratori e cardiovascolari	Positivi Negativi	SI NO
Orticaria se presenti fattori di rischio o compromissione della qualità della vita	Positivi Negativi	SI NO
Orticaria	Positivi Negativi	NO NO
Reazioni locali estese	Positivi o negativi	NO
Inusuali	Positivi o negativi	NO

Tabella n.2: Indicazioni alla immunoterapia specifica con veleni.

della determinazione delle IgE specifiche e sulla conoscenza della cross-reattività tra i veleni (per un approfondimento vedi Linee Guida AAITO sulla Diagnostica).

In pazienti non esposti professionalmente con una concomitante sensibilizzazione a veleno di ape e di bombo, è indicata l'immunoterapia con veleno di ape, dal momento che la cross-reattività è elevata e le punture delle api sono molto più frequenti rispetto a quelle del bombo (47). E' verosimile, tuttavia, che questo approccio non sia efficace per tutti i pazienti, soprattutto per quelli che si sono sensibilizzati al bombo per motivi professionali (48-50). Studi di RAST-inibizione possono aiutare a comprendere se la doppia sensibilizzazione al veleno delle api e del bombo sia reale o dovuta ad una cross-reattività.

La cross-reattività è molto *elevata tra i veleni di *Vespula*, *Dolichovespula* e *Vespa**, mentre è meno marcata tra i veleni di *Vespula* e *Polistes*. Nell'Europa centrale e del nord, le *Vespule* sono responsabili della maggior parte di reazioni allergiche, pertanto in queste zone il trattamento con il solo veleno di *Vespula sp.* è generalmente protettivo. Nel bacino mediterraneo, il *Polistes* può essere ugualmente o maggiormente diffuso. In caso di doppia positività e di difficoltà a distinguere tra *Vespula* e *Polistes*, è opportuno il trattamento con entrambi i veleni.

Si può supporre che molti pazienti con reazioni allergiche da *Vespa Crabro* siano stati sensibilizzati da una precedente puntura da *Vespula*; pertanto nei soggetti che hanno sviluppato una reazione sistemica alla puntura del calabrone, può essere sufficiente il trattamento con il veleno di *Vespula sp.* In presenza di IgE specifiche solo per il veleno di *Vespa Crabro*, l'immunoterapia dovrebbe essere effettuata con questo veleno.

La cross-reattività tra i veleni di *Apidae* e *Vespidae* è modesta e principalmente dovuta alla ialuronidasi (51). Recentemente è stata dimostrata la presenza di IgE specifiche dirette contro epitopi carboidrati (CCD) comuni che può determinare la positività dei tests (cutanei ed in vitro) per entrambi i veleni (52). Gli studi di RAST inibizione consentono di distinguere la cross-reattività da una doppia sensibilizzazione (53,54), nel qual caso è indicato il trattamento con entrambi i vaccini.

Protocolli di trattamento e sicurezza della immunoterapia

L'immunoterapia specifica rappresenta attualmente l'unico presidio terapeutico in grado di prevenire efficacemente le reazioni anafilattiche da punture di imenotteri nei soggetti sensibilizzati (2,3,55-57).

Nel corso degli anni sono stati proposti vari schemi di trattamento, allo scopo di migliorare la protezione, ridurre l'incidenza degli effetti collaterali e favorire la compliance del paziente. Pertanto la VIT può essere effettuata con metodiche classiche di tipo ambulatoriale, con schemi di trattamento "clustered" (caratterizzati da sedute settimanali durante le quali vengono somministrate più dosi) o con protocolli ad incremento rapido o ultra-rapido, che consentono di completare la fase di incremento in tempi variabili compresi tra poche ore ed alcuni giorni (58-71).

Il dosaggio di mantenimento abitualmente raccomandato è di 100 mcg di veleno (72), corrispondente a circa due punture di Ape e ad un numero maggiore di punture di Vespa (73);

Tale dosaggio è indubbiamente più protettivo di quello di 50 mcg (73), raccomandato da alcuni Autori. Un dosaggio di 200 mcg può essere riservato agli apicoltori e ai pazienti non protetti dalla dose di 100 mcg (74,75).

L'intervallo generalmente raccomandato per effettuare le iniezioni di mantenimento è di 4 settimane (76). L'allungamento dell'intervallo tra le somministrazioni durante il primo anno di IT da 4 a 6 settimane consente di mantenere la protezione (77); se invece viene effettuato un allungamento a 8 settimane subito dopo avere raggiunto il dosaggio di mantenimento, è stato documentato un rischio del 20% di RS durante il secondo anno di IT a seguito di puntura sul campo (77). Questo ha portato a stabilire che il mantenimento dovrebbe essere eseguito ad intervalli di 4 settimane il primo anno di IT, di 6 settimane il II anno e prolungato successivamente a 8 settimane. Negli ultimi anni alcuni studi hanno sottolineato la possibilità di estendere ulteriormente gli intervalli tra le somministrazioni a 12 settimane, conservando l'efficacia e la sicurezza dell'IT (78-80); va tuttavia sottolineato che si tratta di studi che includono un numero limitato di pazienti, prevalentemente allergici al veleno di Vespidi e spesso ripunti solo sul campo.

In un recente studio su 166 soggetti allergici al veleno di ape, sono state osservate RS nel 2,6% dei pazienti in corso di mantenimento ad intervalli di tre mesi, il 2,8% dei soggetti hanno sviluppato una RS durante una ripuntura sul campo e il 4,5% durante challenge con insetto (81).

Reazioni avverse di tipo sistemico in corso di IT sono state segnalate in letteratura in percentuali variabili comprese tra lo 0% e il 46% (3,6,82-94); in molti studi le metodiche rapide non si dimostrano più pericolose di quelle convenzionali (87,88,89,91-93),

Un lavoro più recente ha documentato una minore percentuale di reazioni sistemiche con una metodica ultra-rapida in 210 minuti rispetto a protocolli di 6 ore e di 4 giorni (95).

In alcuni trials in cui sono state utilizzate le metodiche veloci di IT erano inclusi bambini (91), anche molto piccoli (93); dal momento che i soggetti che hanno sviluppato reazioni severe erano adulti, se ne desume che l'età pediatrica non rappresenta un fattore di rischio per utilizzo di tali schemi di terapia e, in generale, per nessuna fase della IT.

Sebbene le cause siano tuttora non completamente conosciute (96-97), indipendentemente dalla metodica utilizzata, l'ITs con veleno di Ape presenta una tollerabilità minore di quella con veleno di Vespidi (86,90).

Nel tentativo di individuare potenziali fattori di rischio per insorgenza di reazioni sistemiche (RS) in corso di VIT, una policentrica europea (94) che ha raccolto i dati di 840 soggetti ha confermato nel sesso femminile, nel veleno di ape e nello schema rapido di incremento, ma non nella severità pre-VIT della reazione, alcuni fattori di rischio per RS.

Sebbene la maggior parte dei soggetti allergici ai veleni ed affetti da mastocitosi siano in grado di tollerare la IT (98,99), occasionalmente la comparsa di RS ha reso necessario in questi pazienti la sospensione della terapia (100,101).

Sono stati tentati diversi approcci allo scopo di minimizzare la possibilità di RS in corso di VIT, come ad esempio il pre-trattamento con antistaminici (102-106), la somministrazione di gamma-globuline (107), di veleni modificati (108-114) e di allergeni ricombinanti (115).

In particolare gli estratti depot sembrano dotati di un migliore profilo di sicurezza rispetto alle preparazioni acquose e, secondo uno studio recente, equiparabili sul piano della efficacia (113); ovviamente non possono essere usati per i protocolli ad incremento rapido o ultra-rapido, ma in questi casi si può passare al loro utilizzo nella fase di mantenimento.

Efficacia e durata della immunoterapia

L'efficacia della immunoterapia specifica è stata dimostrata in passato in due studi controllati (55,56) (Livello di Evidenza Ib) e in un successivo ampio numero di studi prospettici non controllati (66,103,116-119).

Considerando globalmente gli studi prospettici in cui l'efficacia della VIT è stata valutata mediante utilizzo del challenge con insetto (66,103,116-119), solo lo 0-9% dei soggetti allergici al veleno dei Vespidi e circa il 20% di quelli allergici al veleno di Ape ha reagito al test di provocazione, sebbene la reazione fosse stata di entità minore rispetto a quella pre-VIT.

Dalla maggior parte degli studi emerge una percentuale di insuccesso terapeutico inferiore nei bambini rispetto agli adulti (120-122).

Oltre alla nota allergia al veleno di Ape, la presenza di mastocitosi e di elevati livelli basali di triptasi sembra rappresentare un altro fattore di rischio per RS in corso di IT (99,100).

Del tutto recentemente è stata riportata una percentuale significativamente maggiore di reazioni indesiderate in corso di IT in pazienti allergici al veleno di Vesputa, ma non in soggetti allergici al veleno di ape con elevati livelli basali di triptasi (99).

L'IT si è inoltre dimostrata in grado di migliorare la qualità della vita dei pazienti allergici (123,124), al contrario della terapia di emergenza (adrenalina autoiniezzabile) che sembra possa addirittura peggiorarla (124); di ciò probabilmente si dovrà tenere in conto in futuro nel momento di decidere chi avviare alla VIT.

Appare inoltre opportuno segnalare che i prodotti disponibili per immunoterapia specifica con veleni rispondono alla definizione di "Specialità Farmaceutica" (European Directive 89/342/EEC/explanatory note CPMP/BWP243/96): è auspicabile che prodotti validati in maniera tale da garantire qualità, efficacia e sicurezza siano registrati in tutti i paesi europei.

Per ciò che attiene la durata, dopo la sua introduzione nel 1979 l'effettuazione della IT è stata inizialmente raccomandata per tutta la vita o comunque fintanto che i tests allergologici (sia tests cutanei che IgE specifiche su siero) non diventassero negativi. Poiché si tratta tuttora di una evenienza rara, anche allo scopo di migliorare la compliance del paziente, numerosi studi hanno valutato la persistenza della protezione dopo un periodo limitato di IT. Se la IT viene eseguita per almeno 3 anni, negli 1-3 anni successivi alla sua sospensione la protezione si mantiene nel 83-100% dei casi, con risultati più favorevoli nei bambini rispetto agli adulti e nella allergia al veleno di Vespidi rispetto all'ape (119,125-129).

Negli studi che hanno valutato la protezione a più lungo termine (fino a 7 anni dalla sospensione) utiliz-

zando sia il challenge con insetto sia la ripuntura spontanea, è emersa una persistenza della protezione nell'81-92% dei casi (122,130-132).

I fattori di rischio implicati nella insorgenza di nuove RS alla ripuntura dopo sospensione della IT sono elencati nella Tabella n.3.

Elevato in

- Adulti vs bambini
- Pazienti allergici al veleno di Api rispetto al veleno di Vespidi
- Pazienti con gravi reazioni pre-IT
- Pazienti con gravi reazioni in corso di IT o da puntura spontanea in corso di IT
- Durata IT 3 anni vs > 5 anni
- Elevati livelli basali di triptasi
- Mastocitosi
- Elevata reattività cutanea alla sospensione

Non influenzato da

- Sesso
- Atopia
- Livello di IgE specifiche alla sospensione
- Livello di IgG specifiche alla sospensione
- Negatività dei test cutanei o delle IgE specifiche alla sospensione

Tabella 3: Rischio di reazione sistemica alla ripuntura dopo sospensione della immunoterapia (per gentile concessione del Prof. Muller U).

In particolare si sottolinea che il bambino ha una prognosi migliore rispetto all'adulto anche per ciò che attiene la persistenza della protezione dopo sospensione della IT (119,122).

Tra i fattori di rischio in grado di condizionare una maggiore incidenza di RS dopo interruzione della IT si ribadisce il tipo di insetto (ape) (122), la severità della reazione pre-IT (125,127,130,132) le reazioni sistemiche in corso di immunoterapia (6,128) e patologie concomitanti come la mastocitosi e l'orticaria pigmentosa che sembrano rappresentare fattori di rischio anche per morte da ripuntura dopo sospensione della VIT (101).

I tests diagnostici attualmente disponibili presentano un valore limitato nel predire la persistenza della protezione dopo interruzione della IT; solo la combinazione di un test cutaneo intradermico negativo alla concentrazione di 1 mcg/ml con l'assenza di IgE specifiche su siero si associa ad un rischio nettamente ridotto di nuova reazione alla ripuntura dopo interruzione del vaccino (6).

In conclusione, la VIT può essere sospesa dopo 3 anni in presenza di tests cutanei negativi e assenza di IgE specifiche su siero.

La maggior parte dei soggetti con reazioni sistemiche di gravità medio-lieve rimane protetto dopo 3-5 anni di VIT, pur persistendo la cutipositività.

Un trattamento di più lunga durata (o addirittura per tutta la vita) potrebbe essere ipotizzato in soggetti con: 1) elevato rischio di sviluppare reazioni gravi (es. anziani, anamnesi di gravi reazioni pre-VIT, mastocitosi o elevati livelli basali di triptasi, necessità di utilizzo di beta-bloccanti); 2) reazioni sistemiche in corso di VIT o da puntura "sul campo"; 3) pazienti altamente esposti, come gli apicoltori o i loro familiari.

Il rischio di una nuova RS dopo interruzione della IT rende necessario valutare la necessità di munire di nuovo il paziente di adrenalina autoiniezzabile.

PROSPETTIVE FUTURE

Dal momento che la specificità dei principali test diagnostici non è elevata, la protezione offerta dalla VIT non è assoluta ed esiste il rischio di RS in corso di IT, si comprende come possa esistere un ampio margine di intervento per migliorare sia la diagnosi che la terapia della allergia al veleno di imenotteri.

Alcuni recenti lavori indicano che nell'utilizzo di allergeni ricombinanti la possibilità di migliorare la diagnostica in un prossimo futuro (133-135).

Per ciò che attiene la terapia, il pre-trattamento con antistaminici, oltre che ridurre in maniera significativa il rischio di effetti indesiderati sistemiche di severità medio-lieve in corso di immunoterapia (103), sembra potenziarne l'efficacia clinica (104).

Una volta che il pattern di sensibilizzazione individuale del paziente sia stato determinato e siano disponibili tutti gli allergeni rilevanti per un determinato veleno sotto forma di ricombinanti, sarà possibile preparare una miscela personalizzata per ciascun soggetto allergico (133,135-137).

Infine, anche per i veleni si sta tentando una vaccinazione con DNA-plasmidi, sebbene ancora su modello animale (138).

Bibliografia

1. Muller U., Mosbech H., Aberer W., Dreborg S., Ewan P., Kunkel G., Malling H.-J., Przybilla B, Vervloet D. - EAACI Position Paper. Adrenaline for emergency kits. *Allergy* 1995;50:783-7.

2. Bousquet J., Muller U.-R., Dreborg S. *et al.* - Immunotherapy with Hymenoptera venoms. *Allergy* 1987 ; 42 :401-13.
3. Muller U., Mosbech H. - Position Paper: Immunotherapy with Hymenoptera venoms. EAACI. *Allergy* 1993;48:36-46.
4. Gruppo di Studio Italiano sull'Allergia al Veleno di Imenotteri. EA. Pastorello *et al.* - L'allergia al veleno di Imenotteri. *Giorn It Allergol Immunol Clin* 1997;7:121-136.
5. Harbour R., Miller J. - A new system for grading recommendations in evidence based guidelines. *BMJ* 2001;323:334-336.
6. Muller UR. Insect sting allergy. - Clinical picture, diagnosis and treatment. Stuttgart-New York;Gustav Fischer Verlag 1990.
7. Portnoy J.-M., Moffitt J.-E., Golden DBK., Bernstein I.-L. *et al.* - Stinging insect hypersensitivity: a practice parameter. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:963-80.
8. Muller U., Mosbech H., Blaauw P. *et al.* - Emergency treatment of allergic reactions to Hymenoptera stings. *Clin Exp Allergy* 1991;21:281-8.
9. AAAI Board of Directors. - The use of epinephrine in the treatment of anaphylaxis. Position Statement. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:666-8.
10. Project Team of the Resuscitation Council (UK). Emergency medical treatment of anaphylactic reactions. *J Accid Emerg Med* 1999;16:243-247.
11. Simons FER. - First aid treatment of anaphylaxis to food: Focus on epinephrine. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113:837-844.
12. Bautista E., Simons E., Simons K., Becker A., Duke K. *et al.* - Epinephrine fails to hasten hemodynamic recovery in fully developed canine anaphylactic shock. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;128:151-164.
13. Gu X., Simons FER., Simons K.-J. - Epinephrine absorption after different routes of administration in an animal model. *Biopharm Drug Dispos* 1999;20:401-5.
14. Simons FER., Gu X., Simons K.-J. - Epinephrine absorption in adults: Intramuscular versus subcutaneous injections. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:871-3.
15. Cummins R.-O., Hazinski M.-R., Baskett PJF. *et al.* - Guidelines 2000 for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care: An international consensus on science: American Heart Association in collaboration with the international Liaison Committee on Resuscitation (ILCOR). Part 8: Advanced challenges in resuscitation. *Circulation* 2000;102(suppl):1241-1243.
16. Hoffman B.-B., Lefkowitz R.-J. - Catecholamines, sympathomimetic drugs, and adrenergic receptor antagonists. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG, eds. Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th Ed. New York: McGraw-Hill Companies, Inc. 1996:204-9.
17. Pumphrey RSH. - Lessons for management of anaphylaxis from a study of fatal reactions. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1144-50.
18. Toogood J.-H. - Betablocker therapy and the risk of anaphylaxis. *Can Med Assoc J* 1987;136:929-933.
19. Grouhi M., Alshehri M., Hummel D., Roifman C.-M. - Anaphylaxis and epinephrine auto-injector training: who will teach the teachers? *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:190-3.
20. Gold M.-S., Sainsbury R. - First aid anaphylaxis management in children who were prescribed an epinephrine autoinjector device (Epipen). *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:171-6.
21. Devey M.-E., Wilson D.-V., Wheller A.-W. - The IgG subclasses of antibodies to grass pollen allergens produced in hay fever during hyposensitization. *Clin Allergy* 1976;6:227-33.
22. Creticos P.-S., Franklin Adkinson Jr. N., Kagey-Sabotka A., Proud D., Meier H.-L., Naclerio R.-M., Lichtenstein L.-M., Norman P.-S. - Nasal challenge with ragweed in hay fever patients: Effect of immunotherapy. *J Clin Invest* 1985;76:2247-2253.
23. Wetterwald A., Skvaril F., Müller U., Blaser K. - Isotypic and idiotypic characterization of anti-bee venom phospholipase A2 antibodies. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1985;77:195-197.
24. Rak S., Rowhagen O., Venge P. - The effect of immunotherapy on bronchial hyper-responsiveness and eosinophil cationic protein in pollen allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:470-480.
25. Jutel M., Müller U.-R., Fricker M., Rihs S., Pichler W.-J., Dahinden C. - Influence of bee venom immunotherapy on degranulation and leukotriene generation in human blood basophils. *Clin Exp Allergy* 1996;26:1112-8.
26. Akdis C.-A., Akdis M., Blesken T., Wymann D., Alkan S.-S., Müller U., Blaser K. - Epitope specific T cell tolerance to phospholipase A2 in bee venom immunotherapy and recovery by IL-2 and IL-15 *in vitro*. *J Clin Invest* 1996;98:1676-1683.
27. Akdis C.-A., Blesken T., Akdis M., Wüthrich B., Blaser K. - Role of IL-10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998;102:98-106.
28. Akdis C.-A., Blesken T., Wymann D., Akdis M., Blaser K. - Differential regulation of human T cell cytokine patterns and IgE and IgG4 responses by conformational antigen variants. *Eur J Immunol* 1998;28:914-925.
29. Akdis C.-A., Blaser K. - IL-10 induced anergy in peripheral T cell and reactivation by microenvironmental cytokines: two key steps in specific immunotherapy. *FASEB J* 1999; 13:603-609.
30. Müller U.-R., Akdis C.-A., Fricker M., Akdis M., Bettens F., Blesken T., Blaser K. - Successful immunotherapy with T cell epitope peptides of bee venom phospholipase A2 induces specific T cell anergy in bee sting allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:747-754.
31. Jutel M., Pichler W.-J., Skrbic D., Urwyler A., Dahinden C., Müller U.-R. - Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of IFN-g secretion in specific allergen stimulated T cell cultures. *J Immunol* 1995;154:4178-4194.
32. Bellinghausen I., Metz G., Enk A.-H., Christmann S., Knop J., Saloga J. - Insect venom immunotherapy induces interleukin-10 production and a Th2-to-Th1 shift, and changes surface marker expression in venom-allergic subjects. *Eur J Immunol* 1997; 27:1131-1139.
33. Marcotte G.-V., Braun C.-M., Norman P.-S., Nicodemus C.-F., Kagey-Sabotka A., Lichtenstein L.-M., Essayan D.-M. - Effects of peptide therapy on ex vivo T cell responses. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:506-513.
34. Akdis C.-A., Blesken T., Akdis M., Alkan S.-S., Heusser C.-H., Blaser K. - Glucocorticoids inhibit human antigen-specific and enhance total IgE and IgG4 production due to differential effects on T and B cells *in vitro*. *Eur J Immunol* 1997;27:2351-2357.
35. Akdis C.-A., Blesken T., Akdis M., Alkan S.-S., Wüthrich B., Heusser C.-H., Blaser K. - Induction and differential regulation of bee venom phospholipase A2-specific human IgE and IgG4 antibodies *in vitro* requires allergen-specific and non-specific activation of T and B cells. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:345-352.
36. Carballido J.-M., Carballido-Perrig N., Kägi M.-K., Meloen R.-H., Wüthrich B., Heusser C.-H., Blaser K. - T cell epitope specificity in human allergic and non-allergic subjects to bee venom phospholipase A2. *J Immunol* 1993;150:3582-3591.
37. Jutel M., Akdis M., Budak F., Aebischer-Casaulta C., Wrzyszc M., Blaser K., Akdis C.-A. - IL-10 and TGF b cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy. *Eur J Immunol* 2003;33, 233-41.
38. Kammerer R., Chvatchko Y., Kettner A., Dufour N., Corradin G., Spertini F. - Modulation of T-cell responses to phospholipase A2 and phospholipase A2-derived peptides by conventional be venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:96-103.
39. Stephan V., Kuhr J., Urbanek R. - Relevance of basophil histamine release changes during venom immunotherapy. *Allergy* 1989;44:453-9.
40. Bernstein D.-I., Mittman R.-J., Kagen S.-L. *et al.* - Clinical and immunologic studies of rapid immunotherapy in hymenoptera sensitive patients. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:951-9.

41. Eberlein-Konig B., Ullmann S., Thomas P., Przybilla B. - Tryptase and histamine release due to a sting challenge in bee venom allergic patients treated successfully or unsuccessfully with hyposensitisation. *Clin Exp Allergy* 1995;25:704-12.
42. Schuberth K.-C., Lichtenstein L.-M., Kagey-Sobotka A.-K. et al. - Epidemiologic study of insect allergy in children. II. Effect of accidental stings in allergic children. *J Pediatr* 1983;102:361-365.
43. Graft D.-F., Schuberth K.-C., Kagey-Sobotka A.-K. et al. - A prospective study of the natural history of large local reactions after Hymenoptera stings in children. *J Pediatr* 1984;104:664-668.
44. Mauriello P.-M., Barde S.-H., Georgitis J.-W., Reisman R.-E. - Natural history of large local reactions from stinging insects. *J Allergy Clin Immunol* 1984;74:494-498.
45. Schwartz H.-J., Golden DBK., Lockey R.-F. - Venom immunotherapy in the Hymenoptera-allergic pregnant patient. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:709-712.
46. Hepner M.-J., Ownby D.-R., Anderson J.-A. et al. - Risk of systemic reactions in patients taking beta-blocker drugs receiving allergy immunotherapy injections. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:407-411.
47. Bucher C., Korner P., Wuthrich B. - Allergy to bumblebee venom. *Curr Opin Allergy Immunol* 2001;1:361-365.
48. Kochuyt A.-M., Van Hoeyveld E., Stevens EAM. - Occupational allergy to bumble bee venom. *Clin Exp Allergy* 1993;23:190-195.
49. Stern A., Mullner R.-G., Wuthrich B. - Successful treatment of occupational allergy to bumble-bee venom after failure with honeybee venom extract. *Allergy* 2000;55:88-91.
50. Van Der Zwan J.-C., Van Der Linden P.-W., De Maat-Bleeker F. et al. - Anaphylactic systemic reactions after a bumble-bee sting. *Allergy* 1992;47(suppl. 12):52.
51. 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;89:60-66.
52. Hemmer W., Focke M., Kolarich D., Wilson I.-B., Altmann F., Wöhrl S., Götz 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;108:1045-1052.
53. Reisman R.-E., Müller U.-R., Wypych J.-I., Lazell M.-I. - Studies of coexisting honeybee and vespid-venom sensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:246-252.
54. Straumann F., Bucher C., Wuthrich B. - Double sensitization to honeybee and wasp venom: immunotherapy with one venom or with both venoms? *Int Arch Immunol* 2000;123:268-274.
55. 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.
56. Müller U., Thurnheer U., Patrizzi R. et al. - Immunotherapy in bee sting hypersensitivity. Bee venom versus wholebody extract. *Allergy* 1979;34:369-378.
57. Ross R.-N., Nelson H.-S., Finegold I. - Effectiveness of specific immunotherapy in the treatment of hymenoptera venom hypersensitivity: a meta-analysis. *Clin Ther* 2000;22:351-358.
58. Lichtenstein L.-M., Valentine M.-D., Sobotka A.-K. - A case for venom treatment in anaphylactic sensitivity to Hymenoptera sting. *N Engl J Med* 1974;290:1223-1227.
59. Golden DBK., Valentine M.-D., Kagey-Sobotka A., Lichtenstein L.-M. - Regimens of Hymenoptera venom immunotherapy. *Ann Intern Med* 1980;92:620-624.
60. Ramirez D.-A., Londono S.-A., Evans R. - Adverse reactions to venom immunotherapy. *Ann Allergy* 1981;47:435.
61. Yunginger J.-W., Paull B.-R., Jones R.-T., Santrach P.-J. - Rush venom immunotherapy program for honeybee sting sensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1979;63:340-347.
62. Bousquet J., Fontez A., Aznar R. et al. - Combination of passive and active immunization in honeybee venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:947-954.
63. Müller U., Morris T., Bischof M. et al. - Combined active and passive immunotherapy in honeybee-sting allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1986;78:115-122.
64. Gillman S.-A., Cummins L.-H., Kozak P.-P., Hoffman D.-R. - Venom immunotherapy : comparison of "rush" vs "conventional" schedules. *Ann Allergy* 1980;45:351-354.
65. Gomez D., Gancedo Q., De Paramo J. - Venom immunotherapy : tolerance to a 3-day protocol of rush-immunotherapy. *Allergol Immunopathol* 1995;23:277-284.
66. Laurent J., Smiejan J.-M., Bloch-Morot E., Herman D. - Safety of Hymenoptera venom rush immunotherapy. *Allergy* 1997;52:94-96.
67. Michils A., Baldassarre S., Ledent C., Mairesse M., Gossart B., Duchateau J. - Early effect of ultrarush venom immunotherapy on the IgG antibody response. *Allergy* 2000;55:455-462.
68. De Jong N.-W., Vermeulen A.-M., De Groot H. - Allergy to bumblebee venom. III. Immunotherapy follow-up study (safety and efficacy) in patients with occupational bumblebee-venom anaphylaxis. *Allergy* 1999;54:980-984.
69. De Groot H., De Graaf-in't Veld C., Van Wijk R.-G. - Allergy to bumblebee venom. I. Occupational anaphylaxis to bumblebee venom: diagnosis and treatment. *Allergy* 1995;50:581-584.
70. Divanovic A., Melac M., Herman D. - Cétirizine (20 mg/j) versus placebo dans la prévention des réactions secondaires de la désensibilisation accélérée aux venins d'hyménoptères. *Rev fr Allergol* 1997;37:741-745.
71. Michils A., Baldassarre S., Ledent C., Mairesse M., Gossart B., Duchateau J. - Early effect of ultrarush venom immunotherapy on the IgG antibody response. *Allergy* 2000;55:455-462.
72. Golden DBK. - Practical considerations in venom immunotherapy. *Allergy and Asthma Proc* 1997;18:79-8.
73. Golden D., Kagey-Sobotka A., Valentine M., Lichtenstein L. - Dose dependence of Hymenoptera venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1981;67:370-374.
74. Rueff F., Wenderoth A., Przybilla B. - Patients still reacting to a sting challenge while receiving conventional Hymenoptera venom immunotherapy are protected by increased venom doses. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:1027-1032.
75. Bousquet J., Menardo J.-L., Michel F.-B. - Systemic reactions during maintenance immunotherapy in honeybee venom. *Ann Allergy* 1988;61:63-68.
76. Golden DBK., Kagey-Sobotka A., Valentine M.-D., Lichtenstein L.-M. - Prolonged-maintenance interval in Hymenoptera venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1981;67:482-484.
77. Gadde J., Sobotka A., Valentine M., Lichtenstein L., Golden D. - Intervals of six and eight weeks in maintenance venom immunotherapy. *Ann Allergy* 1985;54:348.
78. Goldberg A., Reisman R.-E. - Prolonged interval maintenance venom immunotherapy. *Ann Allergy* 1988;6:177-179.
79. Goldberg A., Confino-Cohen R., Mekori Y. - Deliberate bee sting challenge of patients receiving maintenance venom immunotherapy at 3-months intervals. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:997-1001.
80. Kochuyt A.-M., Stevens EAM. - Safety and efficacy of a 12-week maintenance interval in patients treated with Hymenoptera venom immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1994;24:35-41.
81. Goldberg A., Confino-Cohen R. - Maintenance venom immunotherapy administered at 3-month intervals is both safe and efficacious. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:902-906.
82. Gillman S.-A., Cummins L.-H., Kozak P.-P., Hoffman D.-R. - Venom immunotherapy : comparison of "rush" vs "conventional" schedules. *Ann Allergy* 1980;45:351-354.
83. Van Der Zwan J.-C., Flinterman J., Jankowski I.-G., Kerckhaert JAM. - Hyposensitization to wasp venom in six hours. *BMJ* 1983;287:1329-1331.
84. Lockey R.-F., Turkeltaub P.-C., Olive E.-S. et al. - The Hymenoptera venom study. III. Safety of venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:775-780.

85. Tarhini H., Knani J., Michel F.-B., Bousquet J. - Safety of venom immunotherapy administered by cluster schedule. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:1198-1199.
86. Müller U., Helbling A., Berchtold E. - Immunotherapy with honeybee venom and yellow jacket venom is different regarding efficacy and safety. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:529-535.
87. Birnbaum J., Charpin D., Vervloet D. - Rapid Hymenoptera venom immunotherapy : comparative safety of three protocols. *Clin Exp Allergy* 1993;23:226-230.
88. Bernstein A.-J., Kagen S.-I., Bernstein D.-I. - Rapid venom immunotherapy is safe routine in the treatment of patients with Hymenoptera anaphylaxis. *Ann Allergy* 1994;73:423-442.
89. Gomez D., Gancedo Q., De Paramo J. - Venom immunotherapy : tolerance to a 3-day protocol of rush-immunotherapy. *Allergol Immunopathol* 1995;23:277-284.
90. Youlten L., Atkinson B., Lee T. - The incidence and the nature of adverse reaction to injection immunotherapy in bee and wasp venom allergy. *Clin Exp Allergy* 1995;25:159-165.
91. Laurent J., Smiejan J.-M., Bloch-Morot E., Herman D. - Safety of Hymenoptera venom rush immunotherapy. *Allergy* 1997;52:94-96.
92. Van der Brempt X., Ledent C., Mairesse M. - Accelerated desensitization for hymenoptera venom allergy in 30 hours: efficacy and safety in 150 cases. *Rev Med Brux* 1997;18:120-124.
93. Brehler R., Wolf H., Kutting B., Schnitker J., Luger T. - Safety of a two-day ultrarush insect venom immunotherapy protocol in comparison with protocols of longer duration and involving a larger number of injections. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:1231-1235.
94. Mosbech H., Müller U. - Side-effects of insect venom immunotherapy : results from an EAACI multicenter study. *Allergy* 2000;55:1005-1010.
95. Birnbaum J., Ramadour M., Magnan A., Vervloet D. - Hymenoptera ultra-rush venom immunotherapy (210 min): a safety study and risk factors. *Clin Exp Allergy* 2003;33:58-64.
96. Hoffman D.-R., Jacobson R.-S. - Allergens in Hymenoptera venoms. XII. How much protein is in a sting? *Ann Allergy* 1984;52:276-278.
97. Sanchez F., Blanca M., Miranda A., Carmona M., Garcia J., Fernandez X. et al. - Comparison of *Vespula Germanica* venoms obtained from different sources. *Int Arch Immunol* 1994;104:385-389.
98. Fricker M., Helbling A., Schwartz L., Müller U. - Hymenoptera sting anaphylaxis and urticaria pigmentosa : Clinical findings and results of venom immunotherapy in ten patients. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:11-15.
99. Haerberli G., Bronnimann M., Hunziker T., Muller U. - Elevated basal serum tryptase and hymenoptera venom allergy: relation to severity of sting reactions and to safety and efficacy of venom immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1216-20.
100. Ruëff F., Ludolph-Hauser D., Przybilla B. - Erhöhte basale Serumtryptase als Risikofaktor der Insektengiftallergie. *Allergo J* 2003;12 (Sonderheft 1): S32-S38.
101. Oude Elberink JNG., De Monchy JGR., Kors J.-W., Van Doormaal J.-J., Dubois AEJ.- Fatal anaphylaxis after a yellow jacket sting, despite venom immunotherapy, in two patients with mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:153-154.
102. Berchtold E., Maibach R., Müller U. - Reduction of side effects from rush-immunotherapy with honey bee venom by pre-treatment with terfenadine. *Clin Exp Allergy* 1992;22:59-65.
103. Brockow K., Kiehn M., Riethmuller C., Vieluf D., Berger J., Ring J. - Efficacy of antihistamine pretreatment in the prevention of adverse reactions to Hymenoptera immunotherapy: a prospective, randomized placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:458-63.
104. Müller U., Hari Y., Berchtold E. - Premedication with antihistamines may enhance efficacy of specific-allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:81-6.
105. Brehler R., Wolf H., Kutting B., Schnitker J., Luger T. - Safety of a two-day ultrarush insect venom immunotherapy protocol in comparison with protocols of longer duration and involving a larger number of injections. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:1231-1235.
106. Stern A., Wuthrich B., Mullner G. - Successful treatment of occupational allergy to bumblebee venom after failure with honeybee venom extract. *Allergy* 2000;55:88-91.
107. Przybilla B., Ring J., Galosi A. et al. - Bee venom immunoglobulin for prophylaxis of anaphylactic reactions during bee venom immunotherapy (rush hyposensitization). *Immunol Allergy Pract* 1986;8:107-111.
108. Malling H.-J., Djurup R., Sondergaard I., Weeke B. - Clustered immunotherapy with yellow jacket venom. *Allergy* 1984;39:373-383.
109. Müller U., Rabson A., Bischof M. et al. - A double-blind study comparing monomethoxy polyethylene glycol modified honeybee venom and unmodified honeybee venom for immunotherapy. I. Clinical results. *J Allergy Clin Immunol* 1987;80:52-261.
110. Wyss M., Scheitlin T., Stadler B.-M., Wuthrich B. - Immunotherapy with aluminium hydroxide absorbed insect venom extracts (Alutard SQ): immunologic and clinical results of a prospective study over 3 years. *Allergy* 1993;48:81-86.
111. Quercia O., Rafanelli S., Puccinelli P., Stefanini G.-F. - The safety of cluster immunotherapy with aluminium hydroxide-absorbed honeybee venom extract. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2001;11:27-33.
112. Poli F., Longo G., Parmiani S. - The safety and efficacy of immunotherapy with aluminium hydroxide-absorbed venom extract of *Vespula* spp. An open, retrospective study. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2001;29:191-196.
113. Rueff F., Wolf H., Schnitker J., Ring J., Przybilla B. - Specific immunotherapy in honey bee venom allergy: a comparative study using aqueous and aluminium adsorbed preparations. *Allergy* 2004;59:589-95.
114. Muller U.-R. - Venom immunotherapy: aqueous vs aluminium hydroxide adsorbed extracts. *Allergy* 2004;59:577-8.
115. Müller U.-R. - Recombinant Hymenoptera venom allergens. *Allergy* 2002;57:570-576.
116. Chipps B., Velentine M., Kagey-Sobotka A., Schuberth K., Lichtenstein L. - Diagnosis and treatment of anaphylactic reactions to Hymenoptera stings in children. *J Allergy Clin Immunol* 1980;97:177-184.
117. Hoffman D., Gillman S., Cummins L., Kozak P., Oswald A. - Correlation of IgG and IgE antibody levels to honey bee venom allergens with protection to sting challenge. *Ann Allergy* 1981;46:17-23.
118. Mosbech H., Malling H., Biering I., Böwadt H., Sooborg M., Weeke B., Löwenstein H. - Immunotherapy with yellow jacket venom. *Allergy* 1984;39:543-549.
119. Urbanek R., Forster J., Kuhn W., Ziupa J. - Discontinuation of bee venom immunotherapy in children and adolescents. *J Pediatrics* 1985;107:367-71.
120. Graft D.-F., Schubert K.-C., Kagey-Sobotka A., Kwiterovoch K.-A., Niv Y., Lichtenstein L.-M., Valentine M.-D. - Assessment of prolonged venom immunotherapy in children. *J Allergy Clin Immunol* 1987;80:162-169.
121. Valentine M.-D., Schubert K.-C., Kagey-Sobotka A., Graft D.-F., Kwiterovoch K.-A., Szklo M., Lichtenstein L.-M. - The value of immunotherapy with venom in children with allergy to insect stings. *N Engl J Med* 1990;323:1601-1603.
122. Lerch E., Muller U.-R. - Long-term protection after stopping venom immunotherapy: results of re-stings in 200 patients. *J Allergy Clin Immunol*. 1998 May;101(5):606-12.
123. Bilò M.-B. - Health-related quality of life in Hymenoptera venom allergic patients. In: Insect Allergy. Up to date 2000. Proceedings of the International Symposium. Editors: Bonifazi F, Bilò MB, Antonicelli L. JGC Editions 2002:155-162.
124. Oude Elberink J., de Monchy J., van der Heide S., GUYatt G., Dubois A. - Venom immunotherapy improves health related quality of life in patients allergic to yellow jacket venom. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:174-182.

125. Golden DBK., Addison B.-I., Gadde J., Kagey-Sobotka A., Valentine M.-D., Lichtenstein L.-M. - Prospective observations on stopping prolonged venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:162-7.
126. Müller U., Berchtold E., Helbling A. - Honeybee venom allergy: Results of a sting challenge 1 year after stopping successful venom immunotherapy in 86 patients. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:702-9.
127. Haugaard L., Nørregaard O.-F., Dahl R. - In-hospital sting challenge in insect venom-allergic patients after stopping venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:699-702.
128. Keating M.-U., Kagey-Sobotka A., Hamilton R.-G., Yunginger J.-W. - Clinical and immunologic follow-up of patients who stop venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:339-48.
129. van Halteren H.-K., van der Linden PWG., Burgers J.-A., Bartelink AKM. - Discontinuation of yellow jacket venom immunotherapy: Follow-up of 75 patients by means of deliberate sting challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:767-70.
130. Reisman R.-E. - Duration of venom immunotherapy: relationship to the severity of symptoms of initial insect sting anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:831-6.
131. Golden DBK., Kwitrovich K.-A., Kagey-Sobotka A., Valentine M.-D., Lichtenstein L.-M. - Discontinuing venom immunotherapy: Outcome after five years. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:579-87.
132. Golden DBK. et al. - Discontinuing venom immunotherapy: Extended observations. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:298-305.
133. Müller U.-R., Akdis C.-A., Fricker M., Akdis M., Bettens F., Blesken T., Blaser K. - Successful immunotherapy with T cell epitope peptides of bee venom phospholipase A2 induces specific T cell energy in bee sting allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:747-754.
134. Müller U., Fricker M., Wymann D., Blaser K., Cramer R. - Increased specificity of diagnostic tests with recombinant major bee venom allergen phospholipase A2. *Clin Exp Allergy* 1997;27:915-20.
135. Müller U. - Recent developments and future strategies for immunotherapy of insect venom allergy. *Current Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:299-303.
136. Valenta R., Lidholm J., Niederberger V., Hajek B., Kraft D., Gronlund H. - The recombinant allergen-based concept of component resolved diagnostics and immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1999;29:896-904.
137. Carballido J., Carballido M., Kägi M., Meloen T., Wüthrich B., Heusser C., Blaser K. - T cell epitope specificity in human allergic and non allergic subjects to bee venom phospholipase A2. *J Immunol* 1993;150:3582-91.
138. Jilek S., Barbey C., Spertini F., Corthesy B. - Antigen independent suppression of the allergic immune response to bee venom phospholipase A2 by DNA vaccination in CBA/J mice. *Immunology* 2001;166: 3612-3621.

