

V. Soriano, J. Fernández,
J. Méndez, S. Cruz,
A. Joral, F. de la Torre,
F. Guerra, R. Leonart,
C. Pérez,
P. de las Heras,
L. A. Navarro, G. Noves,
M. Armisen, A. Luna,
L. Marqués, C. Granel y
A. Miranda

Comité de Alergia a Veneno de
Himenópteros de la SEAIC

Artículo de opinión

Repicaduras intrahospitalarias con himenópteros

La inmunoterapia con veneno de himenópteros es un tratamiento efectivo y seguro que previene la recurrencia de reacciones potencialmente fatales o muy graves por picadura de himenópteros, y reduce a un nivel muy bajo el riesgo después de finalizarla¹. En 1976, Hunt et al² demostraron que los alérgenos contenidos en el veneno de estos insectos eran los responsables directos de la hipersensibilidad inmediata por su picadura. Ellos mismos, dos años después, desarrollaron la inmunoterapia con veneno puro y demostraron su capacidad de prevenir una reacción anafiláctica ante una nueva picadura³.

El riesgo de desarrollar una nueva reacción sistémica después de una repicadura es de alrededor del 20% para aquellos individuos que han sufrido una reacción generalizada previa de carácter leve, es decir, síntomas cutáneos exclusivamente, mientras que en aquellos que previamente sufrieron reacciones más graves es de alrededor del 50%⁴⁻⁶. Estos hallazgos sugieren que el grado de gravedad de la picadura es un factor muy importante para determinar el riesgo de reexposición, es decir, si se producirá una reacción clínica de similares características a la anterior, o si éstas serán superiores o inferiores en intensidad ante una nueva repicadura, porque generalmente los síntomas que aparecen en sucesivas picaduras en un mismo individuo tienden a repetirse⁷.

La repicadura intrahospitalaria (RIH) con himenópteros vivos (abejas y avispas) es un método utilizado, principalmente, para valorar la eficacia de la inmunoterapia con veneno puro⁸. Además, puede ayudar a establecer la indicación de la misma, así como saber qué grado de protección presenta el paciente una vez suspendida. También se ha utilizado, con fines investigadores, para conocer los mecanismos de la anafilaxia⁹⁻¹².

ANTECEDENTES Y SITUACIÓN ACTUAL DEL TEMA

El primer estudio para demostrar la eficacia de la inmunoterapia con veneno frente al extracto de cuerpo entero incluyó una repicadura con insecto vivo³. La RIH con insecto vivo en pacientes con historia previa de reacción sistémica, se ha utilizado con el fin de responder a una serie de preguntas que se presentan en el manejo de los mismos.

1. ¿Cuándo existe mayor riesgo de reacción sistémica en pacientes con una historia de reacción generalizada inducida tras una picadura?

La identificación de pacientes con riesgo de una futura reacción anafiláctica implica, de alguna manera, verificar la necesidad de instaurar tratamiento con inmunoterapia con veneno y permitiría aumentar su rentabilidad diagnóstica y tera-

Correspondencia:
Dr. Víctor Soriano Gomis
Sección de Alergia. Hospital
General Universitario de Alicante.
Maestro Alonso, 109
03010 Alicante
e-mail: vsorianog@meditex.es

péutica. Además, confirmaría los hallazgos epidemiológicos en los que se observa que la anafilaxia por picadura de himenópteros puede ser, en ocasiones, una enfermedad autolimitada. Por estas razones, se han publicado varios estudios prospectivos mediante provocación controlada.

Van der Linden et al¹³, en 138 sujetos con anafilaxia por picadura de himenópteros, tras confirmar su sensibilización mediante pruebas cutáneas e IgE específica sérica, realizaron una provocación con picadura controlada en un hospital, con veneno de avispa o abeja y determinaron las concentraciones plasmáticas de histamina, triptasa y prostaglandina D₂ antes y después de la provocación. Los autores observaron, en este estudio prospectivo, que solamente 39 (28%) pacientes presentaron síntomas tras la picadura (entre 1 y 40 minutos después) y que el grado de gravedad clínica de estas reacciones se correlacionó bien con el de liberación sistémica de mediadores.

Van Halteren et al¹⁴ estudiaron 490 personas con el objetivo de investigar la relación entre el grado de hipersensibilidad en una provocación con picadura de insecto vivo en un hospital y la reacción por una picadura posterior en el campo; en este estudio, 348 sujetos presentaron una reacción sistémica leve o no presentaron síntomas tras una provocación con picadura en el hospital y, por lo tanto, no recibieron inmunoterapia con veneno. Siguieron a 327 sujetos, que sufrieron 129 (39%) repicaduras en el campo; sólo 110 (33%) presentaron reacciones locales, 13 (4%) reacciones sistémicas leves y 6 (2%), reacciones graves (dos de ellos con hipotensión). Concluyeron que el valor predictivo negativo de la repicadura intrahospitalaria para predecir futuras reacciones sistémicas al padecer futuras repicaduras es muy alto, dado que esta prueba predijo buena tolerancia en el 95% de pacientes con una reacción anafiláctica previa.

Blaauw et al¹⁵ estudiaron 479 pacientes sensibles a veneno de himenópteros¹⁵, de los cuales 360 presentaron un resultado negativo en una provocación controlada con insecto vivo en un hospital; setenta y seis estaban sensibilizados a abeja y solamente 6 de ellos sufrieron una reacción sistémica leve cuando fueron picados nuevamente en el campo. Los 284 sujetos restantes eran sensibles a la picadura de avispa y 127 de ellos experimentaron una nueva picadura en el campo, de los cuales 9 (7%) presentaron reacciones sistémicas leves y 4 (3%), graves. Estos autores deducen que para indicar una inmunoterapia con veneno de abeja o avispa es necesario presentar una provocación positiva con insecto vivo; ello permitiría excluir hasta en el 56% de sujetos sensibilizados a abeja y en el 83% de sensibilizados a avispa el uso de inmunoterapia. Además, ob-

servaron que el riesgo de reacción sistémica tras una repicadura era del 24% para alérgicos a vespídos (*Yellow Jacket*) comparados con el 50% para alérgicos a abeja.

Parker et al¹⁶, al evaluar la prueba de provocación por especie de insectos por separado, encontraron cifras de respuesta superiores en las provocaciones con abejas (36,5-51,9%) que con vespídos (9,1-30%). Realizaron provocaciones con insectos en pacientes sin tratar y con historia de reacción sistémica y demostraron que los pacientes alérgicos a abejas desarrollaron una reacción sistémica después de la primera picadura, mientras que las reacciones con vespídos se presentaron después de repetir varias provocaciones con diferentes especies.

En 113 niños en edades comprendidas entre 2 y 17 años que padecieron, o bien una gran reacción local (16%), o bien, una reacción sistémica moderada (84%) tras una picadura en el campo (aquellos niños que sufrieron una reacción sistémica grave no fueron provocados y se les prescribió inmunoterapia). Hauk et al¹⁷ realizaron dos provocaciones secuenciales con abejas y/o avispas entre 2 a 6 semanas de intervalo. De la primera provocación, el 76% de los niños presentaron una reacción local normal, el 11% una gran reacción local y el 13% tuvieron una reacción sistémica. De la segunda provocación, el 78% de niños presentó una reacción local normal, el 5% una gran reacción local y el 17% una reacción sistémica. Todos los niños fueron seguidos durante 3 años, durante los cuales 45 experimentaron 5 reacciones locales y una reacción sistémica moderada. Los autores concluyeron que una provocación con picadura de estos insectos dual predice bastante mejor el resultado de posteriores picaduras que las pruebas cutáneas, la determinación de IgE o IgG específica y una única provocación. De esta manera, la tolerancia de una única provocación con picadura de insecto no indica de manera absoluta la ausencia de hipersensibilidad.

2. Después de haber empezado la inmunoterapia, ¿es útil para evaluar la eficacia del tratamiento?

Se han encontrado diferencias en los resultados de la provocación, según la clase de veneno empleado. Así, Müller et al.¹⁸ encontraron una mayor proporción de reacción sistémica en las pruebas de RIH en aquellos pacientes tratados con veneno de abeja que en los tratados con veneno de avispa (23% frente al 9%).

Aunque los resultados positivos en cuanto a la eficacia de la inmunoterapia varían según distintas publicaciones^{3,19}, la RIH con insecto vivo durante este tratamiento

origina una protección completa según algunos autores hasta de casi el 100%²⁰⁻²² y solamente del 70 al 80% según otros²³⁻²⁵. Las diferencias encontradas en estos estudios podrían explicarse por los distintos protocolos utilizados, es decir, convencional, *cluster* o *rush*^{19-20,26}, la población tratada, la edad y la gravedad de la reacción previa^{26,27}.

La RIH con insectos en pacientes bajo inmunoterapia proporcionaría confianza en la protección alcanzada por la dosis de mantenimiento que llevan establecida e informaría sobre aquellos que necesitan dosis superiores a los 100 µg mensuales²⁸⁻³².

3. Después de retirar la inmunoterapia, ¿la RIH con insecto vivo sirve o puede servir para monitorizar la persistencia del nivel de protección?

Los resultados encontrados después de cesar el tratamiento son semejantes a los presentados durante la inmunoterapia³³⁻³⁸. Individualmente, si se presentase una recurrencia de la sintomatología durante la provocación, podría considerarse la necesidad de reiniciar de nuevo el tratamiento.

En el Hospital Carlos Haya, de Málaga, se han realizado, en los últimos 13 años, un total de 118 RIH, 48 con abejas (41%) y 70 con vespulas/polistes (59%), con solo 2 reacciones sistémicas (1,7%), una de ellas grave; estas RIH se llevaron a cabo en pacientes vacunados, con la finalidad de valorar cuándo finalizar la inmunoterapia, o bien, evaluar la eficacia del tratamiento una vez administrada la vacuna con el correspondiente veneno (tabla I)³⁹.

4. Cuándo se realiza la prueba de provocación, ¿sirve para conocer mejor toda la secuencia de liberación de mediadores durante una reacción anafiláctica por una picadura?

La provocación con insecto vivo proporciona un mejor conocimiento de la fisiopatología de la anafilaxia *in vivo*.

Tabla I. Repicaduras intrahospitalarias. Resultados del Grupo de Trabajo del Hospital Carlos Haya (Málaga)

	N.º de casos (tanto por ciento)
Abejas	48 (41)
Avispas (Vespulas/Polistes)	70 (59)
% Total	118
Reacciones sistémicas	2 (1,7) ^a

^aSólo una de las reacciones sistémicas fue grave.

tro al poder monitorizar la liberación de mediadores de los mastocitos (histamina, triptasa), catecolaminas, activación del complemento y activación y consumo de los factores de coagulación⁹⁻¹³. El estudio de mediadores puede servir para predecir una potencial reacción sistémica en una futura picadura mediante la liberación de histamina en los primeros minutos después de una provocación con insecto vivo⁴⁰.

Recientemente, se han desarrollado estudios *in vitro*, mediante el Test de Transformación de Linfocitos (TTL) para intentar predecir el tiempo de duración de la inmunoterapia con veneno en pacientes con reacciones sistémicas y obviar los inconvenientes de la provocación con insecto vivo⁴¹.

PROCEDIMIENTO

Cualquier paciente que vaya a ser sometido a una prueba de RIH con insecto vivo debe ser informado ampliamente de los riesgos y consecuencias del procedimiento diagnóstico y tiene que firmar un consentimiento informado.

La prueba de RIH con insecto debe realizarse con la especie de insecto responsable de la reacción clínica y lo ideal es que el paciente lo aporte unas horas antes de la provocación. Además, se llevará a cabo durante la época del año en que predomine el insecto responsable de la picadura. El paciente ha de estar en ayunas y debe estar ingresado en una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), bajo monitorización de frecuencia cardíaca, presión arterial, saturación de O₂ y ritmo cardíaco, con una vía venosa cubital canalizada y personal y medicación de emergencia.

El insecto se introduce en un contenedor transparente de plástico, con las paredes perforadas, junto con un algodón empapado con suero glucosado al 5%. Dicho contenedor se tapa con una cubierta de plástico blando con disposición triangular con el fin de facilitar la introducción de una jeringa de 50 ml⁴². A ésta, a su vez, se le ha cortado la punta y unos 3 cm por encima se le ha practicado una ranura por donde se mete una lámina fina de cartón.

Cuando el insecto se ha introducido por encima de la ranura, es decir, queda situado entre la misma y el émbolo, se pone la lámina y se sitúa la jeringa sobre la superficie anterior del antebrazo. Se retira la lámina y se empuja con el émbolo al insecto contra la piel del paciente. Cuando el paciente nota la picadura se espera durante 1 minuto, se retira la jeringa y con unas pinzas se coge el insecto; en

el caso de que fuera una abeja se debe retirar con mucho cuidado el aguijón.

La metodología seguida por el Grupo del Hospital Carlos Haya de Málaga es parecida a la descrita en el párrafo anterior. Una vez conseguidos los insectos a utilizar en la picadura, se monitoriza al paciente (constantes vitales, extracción basal de muestra de sangre para IgE específica, canalización de vía venosa periférica), el cual permanece en observación durante las 2 horas siguientes a la repicadura, con monitorización de constantes; no se hace en la UCI, si bien se dispone de ambú y laringoscopio y otras medidas de reanimación cardiopulmonar; la Unidad está ubicada en las proximidades de la UCI. En ocasiones, a pacientes sensibles a vespula y polistes se les repica en días distintos con ambos insectos.

VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LAS PRUEBAS DE RIH

Las pruebas de RIH con insecto vivo constituyen una herramienta interesante para el diagnóstico alergológico, ya que pueden reproducir los síntomas alérgicos producidos por el veneno. El resultado de la prueba dependerá de una correcta selección de la especie responsable de la picadura, del grado de sensibilización del paciente y de otros factores (intervalo de tiempo transcurrido desde la última picadura, estrés físico o psíquico, enfermedades subyacentes).

Sin embargo, el resultado de la RIH no siempre resulta congruente ante una futura picadura. Tiene ventajas sobre la picadura en el campo, ya que permite la identificación del insecto responsable y el registro de la sintomatología.

La cantidad de veneno producida por una picadura puede variar considerablemente, dependiendo de la clase de insecto. Casi todos los vespídos inyectan menos cantidad de veneno que las abejas; éstas son capaces de liberar hasta 150 µg de veneno en una sola picadura^{43,44}. Por ello, las RIH con vespídos son menos fiables y es más frecuente encontrar resultados positivos con abeja que con vespídos, no solamente en tratados con inmunoterapia (12% frente al 2%), sino también en pacientes no tratados con reacciones sistémicas (50-60% frente al 20-30%)^{7,13,14,45}. La presencia de un resultado negativo en una RIH con pacientes alérgicos a vespídos es poco valorable: 23% de 61 pacientes con una primera RIH negativa sufrieron una reacción sistémica en una reprovocación dentro de los siguientes

6 meses⁴⁶. Golden et al.⁴⁷ encontraron un grado de reacción superior en picaduras en el campo que después de una RIH controlada con vespídos. Además, con la provocación con estos insectos existe un riesgo significativo de reacciones importantes y una limitada reproducibilidad en comparación con picaduras sufridas en el campo. Todo ello son argumentos que limitan el uso de este procedimiento diagnóstico, teniendo en cuenta sobre todo que la inmunoterapia con veneno puede suspenderse con seguridad tras 3-5 años de tratamiento.

Con la prueba de RIH se obtiene información sobre la reactividad del sujeto alérgico cuando el resultado es positivo y aparecen los síntomas sistémicos. Una prueba de RIH positiva en el paciente bajo tratamiento con inmunoterapia informaría sobre una protección insuficiente, lo cuál tendría como consecuencia un aumento de la dosis de mantenimiento para obtener una protección completa.

Cuando un individuo no reacciona, ello implica ausencia de sensibilización, aunque podría haber otros motivos que lleven a la pérdida de la reactividad alérgica. Si se tiene en cuenta esta circunstancia, la protección alcanzada por la inmunoterapia no puede ser valorada por una prueba de RIH, aunque es evidente que el grado de reacción con una prueba de RIH es menor en pacientes con inmunoterapia que en aquellos sin ella.

En un paciente el riesgo de una RIH con insecto vivo es menor que una picadura accidental en el campo ya que, en caso de presentarse una reacción anafiláctica, el tratamiento de emergencia está disponible de inmediato.

Un resultado negativo en una prueba de RIH no es suficiente para descartar que el paciente sufra de nuevo una reacción sistémica en caso de una nueva picadura, por lo que se sometería al paciente a un riesgo innecesario. Una segunda prueba de RIH en 61 sujetos alérgicos a veneno de vespídos que habían tolerado sin consecuencias clínicas una primera RIH originó reacciones sistémicas en 13 de ellos (21%); en 6 casos se precisó la administración de adrenalina.

Sin embargo, por razones éticas muchos especialistas rechazan realizar una RIH con insecto vivo en pacientes no tratados porque ello podría implicar una reacción grave. Por esta razón, la provocación es un método diagnóstico todavía discutible y que tiene sus limitaciones.

La probabilidad de que la prueba de RIH pueda sensibilizar o actuar como un efecto *booster*, no puede descartarse, especialmente cuando la prueba se realiza después de que el paciente haya finalizado la inmunoterapia.

CONCLUSIONES

La RIH con insecto vivo es una prueba de provocación mayoritariamente aceptada y recomendable como monitorización de la inmunoterapia con veneno de himenópteros, sobre todo para demostrar la eficacia del tratamiento en pacientes que no padecieron repicaduras espontáneas, antes de suspenderles el tratamiento. Como prueba de valor predictivo o prueba diagnóstica requiere más estudios, ya que, la mayoría de los que hay publicados^{14,15} se refieren en su mayoría a vespídos y no a abejas. La RIH no está exenta de riesgo, es dolorosa y estresante para el paciente. Además, existen estudios que demuestran que el 17% de pacientes sensibilizados al veneno de himenópteros no sufren reacción sistémica tras una RIH, pero podrían tenerla en una picadura posterior⁴⁸. Por ello, la práctica de RIH sigue siendo un debate de actualidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Müller U, Mosbech H, eds. Position paper. Immunotherapy with Hymenoptera venoms. *Allergy* 1993; 48 (14): 37-46.
- Hunt KJ, Valentine MD, Sobotka AK, Lichtenstein LM. Diagnosis of allergy stinging insects by skin testing with hymenoptera venoms. *Ann Intern Med* 1976; 85: 56-59.
- Hunt KJ, Valentine MD, Sobotka AK, Benton AW, Amodio FJ, Lichtenstein LM. A controlled trial of immunotherapy in insect hypersensitivity. *N Engl J Med* 1978; 299: 157-161.
- Reisman RE. Natural history of insect sting allergy: Relationship of severity of symptoms of initial sting anaphylaxis to re-sting reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 335-339.
- Reisman RE, Dvorin DJ, Randolph CC, Georgitis JW. Stinging insect allergy: natural history and modification with venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76: 735-740.
- Schubert KC, Lichtenstein LM, Sobotka AK, Szklo M, Kwitnerovich KA, Valentine MD. An epidemiological study of insect allergy in children. I. Characteristics of the disease. *J Pediatr* 1982; 100: 546-551.
- Day JH, Buckeridge DL, Welsh AC. Risk assessment in determining systemic reactivity to honeybee stings in sting-threatened individuals. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 691-705.
- Ruëff F, Przybilla B, Müller, Mosbech H. Position paper. The sting challenge test in Hymenoptera venom allergy. *Allergy* 1996; 51: 216-225.
- Van der Linden PWG, Hack CE, Anke JME, Struyvenberg A, van der Zwan JK. Activation of the contact system in insect-sting anaphylaxis: association with the development of angioedema and shock. *Blood* 1993; 82: 1732-1739.
- Van der Linden PWG, Hack CE, Struyvenberg A, Roem D, Brouwer MC, de Boer JP, et al. Controlled insect-sting challenge in 55 patients: correlation between activation of plasminogen and the development of anaphylactic shock. *Blood* 1993; 82: 1740-1748.
- Van der Linden PWG, Struyvenberg A, Kraaijenhagen RJ, Hack CE, van der Zwan JK. Anaphylactic shock after insect-sting challenge in 138 persons with a previous insect-sting reaction. *Ann Intern Med* 1993; 118: 161-168.
- Hermann K, Ring J. The renin-angiotensin system in patients with repeated anaphylactic reactions during Hymenoptera venom hyposensitization and sting challenge. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 112: 251-256.
- Van der Linden PW, Hack CE, Poortman J, Vivie-Kipp YC, Struyvenberg A, Van der Zwan JK. Insect sting challenge in 138 patients: relation between clinical severity of anaphylaxis and mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 110-118.
- Van Halteren HK, Van der Linden PW, Burgers SA, Bartelink AK. Hymenoptera sting challenge of 348 patients: relation to subsequent field stings. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 1058-1063.
- Blaauw PJ, Smithuis OL, Elbers AR. The value of an in-hospital sting challenge as a criterion for application or omission of venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 96: 39-47.
- Parker JL, Santrach PJ, Dahlberg JE, Yunginger JW. Evaluation of Hymenoptera-sting sensitivity with deliberate sting challenges: inadequacy of present diagnostic methods. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 69: 200-207.
- Hauk P, Friedl K, Kaufmehl K, Urbanek R, Foster J. Subsequent insect stings in children with hypersensitivity to Hymenoptera. *J Pediatr* 1995; 126: 185-190.
- 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.
- Müller U, Thurnheer U, Patrizzini R, Spiess J, Hoigné R. Immunotherapy in bee sting hypersensitivity: bee venom versus whole body extract. *Allergy* 1979; 34: 369-378.
- Golden DBK, Valentine MD, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Regimens of Hymenoptera venom immunotherapy. *Ann Intern Med* 1980; 92: 620-624.
- Golden DBK, Sobotka AK, Valentine MD. Doses dependence of Hymenoptera venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 67: 370-375.
- Nataf P, Guinneeain MT, Herman D. Rush immunotherapy: a 3-day programme for Hymenoptera sting allergy. *Clin Allergy* 1984; 14: 269-275.
- Gillman SA, Cummins LH, Kozak PP, Hoffman DR. Venom immunotherapy: comparison of "rush" vs "conventional" schedules. *Ann Allergy* 1980; 45: 351-354.
- Müller U, Helbling A, Bischof M. Predictive value of venom specific IgE, IgG and IgG subclass antibodies in patients on immunotherapy with honey bee venom. *Allergy* 1989; 44: 412-418.
- Thurnheer U, Müller U, Stoller R, Lanner A, Hoigné R. Venom immunotherapy in Hymenoptera sting allergy. *Allergy* 1983; 38: 465-475.
- Müller UR. Insect sting allergy. Nueva York: Gustav Fischer, Verlag, 1990.
- Lantner R, Reisman RE. Clinical and immunologic features and subsequent course of patients with severe insect-sting anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 900-906.
- Bousquet J, Menardo JL, Velasquez G, Michel FB. Systemic reactions during maintenance immunotherapy with honey bee venom. *Ann Allergy* 1988; 61: 63-68.

29. Lichtenstein LM, Valentine MD, Sobotka AK. Insect allergy: the state of the art. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 64: 5-12.
30. Menardo JL, Bousquet J, Delair L, Michel FB. Treatment failures during maintenance therapy in honey bee venom allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 188.
31. Miranda A, Blanca M, Avila MJ, Terrados S, Torres MJ, Vega JM. Monitorization of immunotherapy to hymenoptera by determination of specific IgE and IgG, skin test and controlled challenge. *Allergie Immunol* 1989; 12: 92(A).
32. Burgos F, Miranda A, Fernández S, Acebes JM, Vega JM, Pérez-Estrada M. Immunotherapy follow up by re-sting in Honey bee venom allergic patients. *Allergy* 1992; 47 (suppl): 254.
33. Bousquet J, Knani J, Velasquez G, Menardo JL, Guilloux L, Michel FB. Evolution of sensitivity of Hymenoptera venom in 200 allergy patients followed for up to 3 years. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 944-950.
34. Golden DBK, Kwiterovich KA, Kagey Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Discontinuing venom immunotherapy: outcome after five years. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 579-587.
35. Golden DBK, Kwiterovich KA, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Discontinuing venom immunotherapy: extended observations. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 298-305.
36. Müller U, Berchtold E, Helbling A. Honeybee venom allergy: results of sting challenge 1 year after stopping of successful venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 702-709.
37. Haugaard L, Norregaard OFH, Dahl R. In hospital sting challenge in insect venom allergy patients after stopping venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 699-702.
38. Keating MU, Kagey-Sobotka A, Hamilton RG, Yunginger JW. Clinical and immunologic follow-up of patients who stop venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 339-348.
39. Miranda A, Muñoz C, Torrecillas M, Carmona MJ, Fernández S, García JJ. Venom immunotherapy: effectiveness after discontinuing therapy. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: 141(A).
40. Halmerbauer G, Hauk P, Forster J, Urbanek R, Kaufmehl K, Koller DY. In vivo histamine release during the first minutes after deliberate sting challenges correlates with the severity of allergic symptoms. *Pediatr Allergy Immunol* 1999; 10: 53-57.
41. Stevens WJ, Ebo DG, de Clerck LS, Bridts CH, de Gendt CM, Mertens AV. Evolution of lymphocyte transformation to wasp venom antigen during immunotherapy for wasp venom anaphylaxis. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 249-252.
42. Goldberger A, Confino Cohen R. A simple device for deliberate Hymenoptera sting challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 139-141.
43. Hoffman DR, Jacobson RS. Allergens in Hymenoptera venom. XII. How much protein is in a sting? *Ann Allergy* 1984; 52: 276-278.
44. Schumacher MJ, Tveten MS, Egen NB. Rate and quantity of delivery of venom from honey bee stings. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 831-835.
45. Blaauw PJ, Smithuis LO. The evaluation of the common diagnostic methods of hypersensitivity for bee and yellow jacket venom by means of an in-hospital insect sting. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 75: 556-562.
46. Franken HH, Dubois AEJ, Minkema HJ, van der Heide S, De Monchy JGR. Lack of reproducibility of a single negative sting challenge response in the assessment of anaphylactic risk in patients with suspected yellow jacket hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 431-436.
47. Golden D, Kwiterovich KA, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Discontinuing venom immunotherapy (VIT): determinants of clinical reactivity. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 83: 273.
48. Golden D, Marsh D, Freidhoff D, et al. Natural history of Hymenoptera venom sensitivity in adults. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 760-766.