

Controvérsias em Imunoalergologia. Venenos, alergia sem IgE?

Controversies in Immunoallergy. Venoms, allergy without IgE?

Data de receção / Received in: 16/12/2008

Data de aceitação / Accepted for publication in: 23/01/2009

Rev Port Imunoalergologia 2009; 17 (1): 7-11

Elisa Pedro¹, Maria da Conceição Pereira Santos²

¹ Serviço de Imunoalergologia do Centro Hospitalar Lisboa Norte – Hospital de Santa Maria

² Unidade de Imunologia Clínica – Instituto de Medicina Molecular/Faculdade de Medicina de Lisboa

RESUMO

As picadas de himenópteros podem desencadear reacções sistémicas graves. Confirmada a alergia com positividade dos testes cutâneos e/ou doseamentos da IgE específica para o veneno, a imunoterapia específica é um tratamento seguro e eficaz. Quando não se consegue demonstrar a existência de reacção mediada por IgE não significa que o doente não seja alérgico ou que não exista risco de reacção sistémica em picadas futuras. Nesta revisão discutem-se as medidas que devem ser tomadas nestes casos: repetir testes cutâneos e doseamentos *in vitro*, melhorando a técnica diagnóstica, manter vigilância clínica, medidas de evicção e estojo com adrenalina.

Palavras-chave: Veneno de himenópteros, testes cutâneos negativos, testes *in vitro*.

ABSTRACT

Insect stings can cause severe systemic reactions. When skin tests and/or venom specific IgE are positive, allergy is confirmed and venom immunotherapy is safe and effective. However, if skin tests or specific IgE are negative this does not exclude venom allergy or risk of systemic reaction in re-stings. In this review we discuss the optimal management of these cases: repeat venom skin tests and in vitro measurements, improving the accuracy of the diagnosis methodology, maintain close surveillance and clinical follow-up, avoidance strategies and use of epinephrine injectors for self administration.

Key-words: Hymenoptera venom, negative skin tests, in vitro tests.

INTRODUÇÃO

As reacções alérgicas ao veneno de himenópteros estão associadas na maioria dos casos a reacções locais de extensão variável, regredindo com tratamento sintomático. No entanto, quer nas crianças, quer nos adultos, podem ocorrer reacções sistémicas graves e por vezes fatais. Nestes casos, a imunoterapia específica com veneno de himenópteros é o único tratamento que pode prevenir futuras reacções sistémicas, com sucesso em cerca de 97% dos casos¹. O diagnóstico de alergia ao veneno de himenópteros baseia-se na história clínica e na demonstração da existência de IgE específica para o veneno do insecto agressor, através da realização de testes cutâneos e/ou doseamentos séricos. Embora na maioria dos doentes com história de reacção sistémica estes parâmetros sejam positivos, a identificação de um número significativo de indivíduos com reacções anafiláticas e testes cutâneos negativos levou à alteração das normas americanas¹ e europeias² para o diagnóstico da alergia ao veneno de himenópteros, que passaram a incluir a repetição dos testes cutâneos na marcha diagnóstica (Quadro 1), já que existe um risco real de

estes doentes voltarem a ter reacções anafiláticas em picadas seguintes, mas uma protecção eficaz com imunoterapia específica só pode ser proposta após a demonstração da existência de um mecanismo alérgico mediado por IgE.

Contudo, uma história clínica de reacção sistémica grave com testes cutâneos negativos e IgE específicas negativas pode também sugerir uma reacção não alérgica (p.ex. ansiedade, reacção vagal ou tóxica) ou reacção não mediada por IgE, como é o caso da mastocitose sistémica que, embora seja uma doença rara, pode afectar cerca de 1% dos doentes alérgicos ao veneno de himenópteros. Estes doentes desenvolvem reacções anafiláticas mais graves quando são picados por himenópteros, sendo o doseamento elevado da triptase sérica um dos critérios *minor* para o diagnóstico³.

Assim, e de acordo com o referido, a revisão da nomenclatura para alergia da *European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI)*⁴ incorpora estes conceitos, classificando as reacções de hipersensibilidade a veneno de himenópteros em reacções alérgicas imediatas mediadas por anticorpos IgE, reacções alérgicas não mediadas por IgE e reacções não alérgicas com mecanismo não imunológico (Figura 1).

Quadro 1. Diagnóstico de alergia a veneno de himenópteros

Reacção sistémica	TC intradérmicos	Conclusão dos TC	Doseamento IgE específica	Imunoterapia específica
NÃO	NÃO	–	NÃO	NÃO
SIM	POSITIVOS	Reacção mediada por IgE	Pode não ser necessário	SIM
SIM	NEGATIVOS	Não exclui reacção IgE Repetir TC	SIM se TC continuarem negativos	Continuar investigação e decisão clínica

Legenda: **TC** – Testes cutâneos

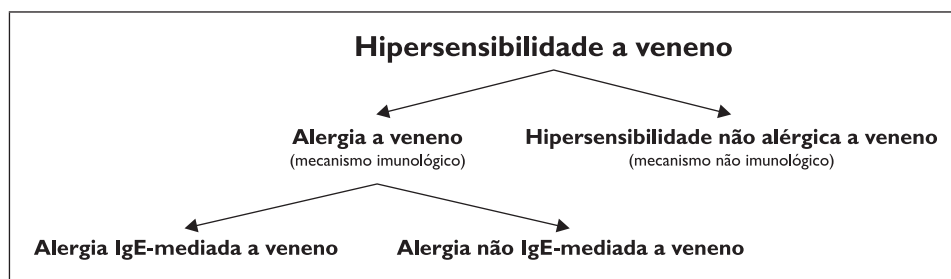


Figura 1. Classificação das reacções de hipersensibilidade a veneno de himenópteros

PROBLEMAS DIAGNÓSTICOS

Identificação do insecto / Escolha do veneno

Um primeiro problema prende-se com a identificação do insecto responsável pela reacção, o que nem sempre é fácil para o doente. Por outro lado, há também a considerar a existência de reactividade cruzada entre os venenos das várias espécies de himenópteros. Embora esta possa ser variável, aceita-se que existe forte reactividade cruzada entre vespa e *vespula*, mas fraca entre *vespula*/vespa e *polistes* e entre abelhas e vespas, estando estas últimas apenas limitadas aos alergénios menos importantes. Egner *et al.*⁵ verificaram que cerca de 30 a 50% dos doentes alérgicos a veneno de himenópteros tinham testes cutâneos e/ou evidência serológica de dupla positividade ao veneno de abelha e de vespa. Ambos os venenos possuem hialuronidase, que se pensa ser a responsável por esta dupla positividade. Outro factor importante a ser considerado na reactividade entre os venenos de abelha e de vespa é o papel dos determinantes dos carboidratos (CCD)⁶. Apesar de se considerar que os anticorpos IgE específicos para carboidratos possam apresentar pouca relevância clínica, podem confundir o resultado dos testes cutâneos ou serológicos e interferir na identificação correcta de qual o veneno sensibilizante. É ainda importante conhecer as espécies existentes em cada país para seleccionar os venenos adequados, sabendo-se que, por exemplo, em relação à *Polistes*, na Europa predomina a espécie *Polistes dominulus*, que apresenta fraca reactividade cruzada com a *Polistes americana*⁷. Por todos estes motivos, considera-se importante testar sempre todos os venenos disponíveis.

Testes cutâneos / Doseamentos de IgE específica sérica

Embora nos últimos anos tenha havido uma melhoria significativa dos métodos de diagnóstico *in vitro* para doseamento da IgE específica (melhor capacidade dos materiais de adsorção dos alergénios, utilização de venenos mais purificados, caracterizados e reprodutíveis, aumento da sensibilidade de 0-100 KUA/l), estes não são 100% sensíveis

nem 100% específicos, podendo apresentar resultados falsos positivos ou falsos negativos. Cerca de 20% dos doentes com testes cutâneos positivos podem ter testes *in vitro* negativos e cerca de 10% dos doentes com IgE específicas elevadas podem ter testes cutâneos negativos². De facto, nem os testes cutâneos nem os testes *in vitro* têm valor preditivo para o grau de gravidade de futuras reacções, estando mesmo referidos na literatura casos de anafilaxia grave em doentes com níveis baixos de IgE específica.

A este respeito, alguns autores referem que cerca de um terço dos doentes com história de reacção sistémica grave com picada de himenóptero têm testes cutâneos negativos⁸. Inclusivamente, mesmo em casos fatais de anafilaxia, estudos *in vitro* revelaram níveis muito baixos ou mesmo indetectáveis de IgE específica em cerca de 34% dos doentes⁹.

Os critérios para um diagnóstico de reacção anafiláctica a veneno de himenópteros nos doentes com testes cutâneos e IgE específica negativa são os seguintes¹⁰:

1. História de anafilaxia induzida pela picada de himenóptero;
2. Testes cutâneos intradérmicos negativos com veneno puro para todos os himenópteros relevantes;
3. Testes *in vitro* negativos para todos os venenos;
4. Ausência de imunoterapia com veneno de himenóptero, prévia ou actual;
5. Reacção anafiláctica numa nova picada.

COMO MELHORAR A EFICIÊNCIA DIAGNÓSTICA?

Dos testes cutâneos

É de salientar que, mesmo nos doentes com alergia IgE-mediada a veneno de himenópteros, vários factores podem contribuir para o aparecimento de resultados falsos negativos, alguns dos quais relacionados com deficiente técnica, como por exemplo má qualidade dos extractos de veneno ou um volume insuficiente de veneno injectado nos testes

intradérmicos, outros relacionados com um tempo inadequado da realização dos testes cutâneos, quer por serem realizados muito tardiamente, em que pode ter já ocorrido perda de sensibilidade por parte do doente, quer por serem realizados no período refractário (anergia), que se pode estender entre alguns dias a semanas após uma reacção e durante o qual os testes cutâneos podem ser negativos.

Assim, para evitar falsos negativos, recomenda-se que a execução dos testes cutâneos com venenos obedeça às seguintes regras:

1. Os venenos devem ser diluídos no próprio dia em que se realizam os testes cutâneos, já que perdem validade cerca de 24 horas depois de preparados;
2. Devem ser realizados 4 a 6 semanas depois da ocorrência de uma picada, para tentar garantir que já se ultrapassou o período refractário;
2. Devem efectuar-se primeiro testes cutâneos em picada, na face anterior do antebraço, nas concentrações de 0,01 a 1 µg/ml (embora nem todos os autores os utilizem);
3. Nos testes intradérmicos deve injectar-se 0,02-0,03 ml (de modo a obter uma pápula com cerca de 2-3 mm de diâmetro) das concentrações de 0,001 a 0,01 µg/ml. Se forem negativos, deve-se progredir até ao máximo de 1 µg/ml (concentrações superiores são irritativas);
4. Devem testar-se todos os venenos disponíveis;
5. Se os testes cutâneos forem negativos, devem ser repetidos 4 a 6 semanas depois e em locais diferentes da pele.

Dos doseamentos *in vitro*

Em relação aos métodos de diagnóstico *in vitro* e perante a negatividade recorrente dos doseamentos das IgE específicas séricas através dos métodos habituais, sugere-se a utilização de metodologias alternativas:

1. *Western blot / Immunoblotting*, em que a mistura complexa de proteínas que constitui o extracto alergénico é separada electrofóreticamente por SDS-PAGE e

transferida para uma membrana de nitrocelulose, incubada com o soro do doente e posteriormente incubada com um anticorpo monoclonal anti-IgE marcado com um enzima que reage com uma substância cromogénica, revelando assim o padrão individual de reconhecimento antigénico das diferentes IgE específicas, o que fornece uma informação mais detalhada¹¹. É um método qualitativo/semiquantitativo com elevada sensibilidade e especificidade e com valor diagnóstico neste tipo de alergia, podendo ser também utilizado em estudos de inibição, reactividade cruzada e monitorização de imunoterapia específica;

2. Provas de provocação *in vitro* que envolvem activação celular após incubação com os vários alergénios:
 - a) *Cellular Antigen Stimulation Test* – CAST consiste na medição quantitativa de sulfidoleucotrienos (LTC4, LTD4, LTE4)
 - b) Teste de activação de basófilos – TAB, teste com avaliação por citometria de fluxo que utiliza marcadores de activação (CD63) ou a molécula CD203c. Consiste na quantificação de alterações na expressão destes marcadores na superfície da membrana de basófilos após a sua estimulação com o alergénio respectivo.

Num estudo comparativo entre testes cutâneos, IgE específica, *Western blot* e CAST, verificou-se haver correlação entre IgE específica, *Western blot* e testes cutâneos, não existindo correlação significativa entre estes três métodos e o CAST¹². Os autores concluíram, por um lado, que o *immunoblotting* poderá ser uma mais valia neste diagnóstico, uma vez que foi positivo num dos 4 doentes com testes cutâneos negativos e IgE específicas negativas e, por outro lado, que os resultados positivos obtidos no CAST poderão traduzir mecanismos de activação celular não dependentes da IgE que tenham estado na base das reacções sistémicas observadas após a picada de himenóptero.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Muitos dos problemas no diagnóstico que se relacionam com a estrutura tridimensional dos alérgenos estão a ser superados com a substituição dos alérgenos naturais por alérgenos recombinantes geneticamente desenhados. No caso concreto da alergia ao veneno de himenópteros, estudos efectuados por Müller¹³ demonstraram um aumento da sensibilidade e especificidade com o uso de recombinantes *versus* a decorrente da utilização de extracto de veneno puro. Assim, nas situações em que haja história de reacção sistémica grave e a detecção de anticorpos IgE específicos seja negativa, a utilização de alérgenos recombinantes poderá contribuir para um aperfeiçoamento significativo no diagnóstico da alergia à picada de himenópteros.

CONCLUSÕES

Num número significativo de doentes com história de reacção sistémica após picada de himenóptero pode-se constatar a presença de testes cutâneos negativos, os quais, contudo não excluem definitivamente a presença de anticorpos IgE específicos para o veneno em causa. A este respeito, os testes cutâneos e os doseamentos *in vitro* devem ser considerados complementares, podendo ser necessária a sua repetição, particularmente indicada em doentes que apresentem reacções sistémicas graves. Nalguns casos, outros métodos laboratoriais que permitam maior sensibilidade diagnóstica (*immunoblotting*), ou que avaliem mecanismos IgE ou não IgE mediados (CAST e TAB) e a utilização de alérgenos recombinantes, poderão estar indicados no seguimento e investigação continuada destes doentes.

No entanto, uma vez que a negatividade dos testes cutâneos e/ou testes *in vitro* não exclui nem a presença de sensibilização ao veneno nem a possibilidade de reacção em futuras picadas, os doentes devem adoptar medidas de evicção eficazes e ser portadores de adrenalina para autoadministração no caso de se registarem reacções sistémicas.

Declaração de potenciais conflitos de interesse: Nenhum declarado.

Potential conflicts of interest disclosure: None declared.

REFERÊNCIAS / REFERENCES

1. Golden DB, Tracy JM, Freeman TM, Hoffman DR. Insect Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. Negative venom skin test results in patients with histories of systemic reaction to a sting. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:495-8.
2. Bilò MB, Rueff F, Mosbech H, Bonifazi F, Oude-Elberink JNG, Birnbaum J, et al. EAACI Position Paper: Diagnosis of hymenoptera venom allergy. *Allergy* 2005;60:1339-49.
3. Ruëff F, Placzek M, Przybilla B. Mastocytosis and hymenoptera venom allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;6:284-8.
4. Johansson GO, Hourihane JB, Bousquet J, Brujinzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, et al. Position paper: A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy* 2001;56:813-24.
5. Egner W, Ward C, Brown DL, Ewan PW. The frequency and clinical significance of specific IgE to both wasp (*Vespula*) and honeybee (*Apis*) venoms in the same patient. *Clin Exp Allergy* 1998;28:26-34.
6. Hemmer W, Focke M, Kolarich D, Wilson BH, Altmann FWöhrl S, et al. Antibody binding to venom carbohydrates is a frequent cause for double positivity to honeybee and yellow jacket venom in patients with stinging insect allergy. *J Clin Immunol* 2001;108:1045-52.
7. Fernandez J, Soriano V, Mayorga L, Mayor M. Natural history of hymenoptera venom allergy in Eastern Spain. *Clin Exp Allergy* 2005;35:179-85.
8. Golden DBK, Kagey-Sobotka A, Hamilton RG, Norman PS, Lichtenstein LM. Insect allergy with negative venom skin tests. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:897-901.
9. Hoffman DR. Fatal reactions to Hymenoptera stings. *Asthma Allergy Proc* 2003;24:116-20.
10. Kontou-Fili K. Patients with negative skin tests. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002;2:353-7.
11. Zollner TM, Spengler K, Podda M, Ergezinger K, Kaufmann R, Boehncke WJ. The Western blot is a highly sensitive and efficient technique in diagnosing allergy to wasp venom. *Clin Exp Allergy* 2001;31:1754-61.
12. Santos MCP, Palma-Carlos ML, Pedro E, Palma-Carlos AG. Laboratory diagnosis of hymenoptera venom allergy: comparative study between specific IgE, Western blot and allergen-leucocyte stimulation (CAST). *Allerg Immunol (Paris)* 2002;34:6-9.
13. Müller UR. Recombinant hymenoptera venom allergens. *Allergy* 2002;57:570-6.