

Determinação de IgE específica *in vivo* e *in vitro* após a imunoterapia específica com veneno de himenópteros: é parâmetro para avaliação do sucesso do tratamento?

In vivo and in vitro specific IgE determination after specific immunotherapy with Hymenoptera venom: parameter to evaluate treatment success?

Cynthia Mafra Fonseca de Lima, MD^{1,2}, Alexandra Sayuri Watanabe, MD¹, Jorge Kalil, MD, PhD¹, Fábio Fernandes Morato Castro, MD, PhD¹, Clóvis Eduardo Santos Galvão, MD, PhD¹

RESUMO

Objetivo: Comparar os níveis séricos de anticorpos IgE veneno-específicos e a reatividade em testes cutâneos antes e após 3 anos de imunoterapia específica com veneno de himenópteros.

Método: Pacientes foram selecionados para imunoterapia de acordo com a história clínica e pesquisa de anticorpos IgE veneno-específicos (ImmunoCap, Phadia, Brasil) e testes cutâneos (*prick test* e intradérmico). Após 3 anos de imunoterapia, os pacientes foram avaliados sobre ferroadas acidentais e foram repetidos a IgE sérica e o teste cutâneo. **Resultados:** Trinta e cinco pacientes foram avaliados. Dos que fizeram imunoterapia com veneno de abelha, 56% tiveram diminuição dos níveis de IgE por ImmunoCap, 71% permaneceram com teste cutâneo positivo, e 5% apresentaram sensibilização ao veneno de vespa, que não havia sido detectada na avaliação inicial. Para os que fizeram imunoterapia com veneno de vespa, 80% tiveram diminuição no nível de IgE sérica, 88% apresentaram teste cutâneo negativo, e 5% apresentaram sensibilização ao veneno de abelha. Dos que fizeram imunoterapia com veneno de formiga, 92% tiveram diminuição dos níveis de IgE sérica específica, 78% permaneceram com teste cutâneo positivo, e 10% apresentaram sensibilização para abelha e vespa. Não houve reação sistêmica dos pacientes que apresentaram ferroadas acidentais (86% dos pacientes alérgicos a abelha, 75% a vespa e 82% a formiga). **Conclusão:** A imunoterapia por pelo menos 3 anos foi efetiva, pois todos os pacientes que foram ferroados acidentalmente não apresentaram reações sistêmicas. Nossos resultados também demonstraram que tanto a IgE sérica específica assim como os testes cutâneos não servem como parâmetros de sucesso no tratamento, pois a maioria permanece com positividade, no entanto sem reatividade clínica.

Descritores: Imunoterapia com veneno, ferroadas de inseto, Hymenoptera, anafilaxia, IgE específica.

ABSTRACT

Objective: To compare serum levels of venom-specific IgE antibodies and skin test reactivity before and after 3 years of specific immunotherapy with Hymenoptera venom. **Method:** Patients were selected for immunotherapy according to clinical history, presence of venom-specific IgE (ImmunoCAP, Phadia, Brazil), and positive skin tests (*prick test* and intradermal test). After 3 years of immunotherapy, patients were inquired about accidental stings, and both serum IgE and skin tests were repeated. **Results:** Thirty-five patients were evaluated. Among those who had received bee venom immunotherapy, 56% showed lower levels of specific IgE on ImmunoCAP, 71% had positive skin tests, and 5% showed sensitization to wasp venom that was not detected at baseline. Of those who had received immunotherapy with wasp venom extract, 80% showed lower levels of serum IgE, 88% had negative skin tests, and 5% showed sensitization to bee venom. Finally, among patients treated with fire ant immunotherapy, 92% showed lower specific IgE levels; 78% had positive skin tests, and 10% presented sensitization to bee and wasp venoms. There were no systemic reactions in patients who had been accidentally stung (86% of patients allergic to bee, 75% to wasp, and 82% to fire ant). **Conclusion:** Immunotherapy for at least 3 years was effective, as none of the patients accidentally stung showed systemic reactions. Our results also showed that neither serum specific IgE nor skin tests are reliable parameters for the evaluation of treatment success, as the majority of patients remained positive, however without clinical reactivity.

Keywords: Venom immunotherapy, insect sting, Hymenoptera, anaphylaxis, specific IgE.

¹ Disciplina de Imunologia Clínica e Alergia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP.

² Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, SP.

Correspondência para:
Cynthia Mafra Fonseca de Lima
E-mail:
cmafra@anhembimorumbi.edu.br

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Submetido em 03.09.2012,
aceito em 08.04.2013.

Este trabalho foi vencedor do **Prêmio Lain Pontes de Carvalho**, outorgado no XXXVIII Congresso Brasileiro de Alergia e Imunopatologia 2011.

INTRODUÇÃO

A imunoterapia específica com veneno de hime-nópteros (ITV) representa o único tratamento eficaz para pacientes que apresentaram reações anafiláticas induzidas pelas ferroadas destes insetos, trazendo benefícios como a prevenção de morbimortalidade das reações sistêmicas após nova ferroadada e melhorando a qualidade de vida pela diminuição da ansiedade nos pacientes sensibilizados e seus familiares. É um procedimento que envolve risco de reações potencialmente graves e deve ser realizado por médicos especialistas treinados, em ambiente equipado para atendimento de emergência^{1,2}.

Deve ser recomendada a todos os pacientes que apresentam anafilaxia grave causada por ferroadada de insetos e com teste cutâneo positivo para o veneno responsável, pois nestes indivíduos, o risco de reação sistêmica em uma reexposição pode chegar a 60%³. A ITV nestes casos reduz o risco para menos de 2%, que é o mesmo risco de reação sistêmica na população geral⁴. A eficácia deste tratamento já está estabelecida^{4,5}, mas algumas questões ainda precisam ser elucidadas. Não existe consenso sobre o tempo em que a ITV deve ser realizada. A maioria dos autores considera o prazo de 3 a 5 anos suficiente^{6,7}, no entanto, há relatos de reações graves após a descontinuação da ITV ao fim deste período, demonstradas pela provocação com ferroadada intencional do inseto envolvido ou por ferroadada acidental^{8,9}. Também não se conhece quais as variáveis que seriam capazes de prever esta falha.

Apesar de ser um método eficiente para comprovar a eficácia da ITV⁵, a provocação com o próprio inseto apresenta várias limitações, como o risco de reação grave, o inconveniente da dor, assim como a expectativa em relação à ferroadada e a dificuldade de realização devido à captura do inseto e viabilidade do teste.

Na tentativa de padronizar variáveis capazes de prever o momento em que a ITV pode ser descontinuada com segurança, alguns autores têm estudado a correlação entre os níveis de IgE sérica antes e depois da ITV e do grau de proteção, assim com também o diâmetro da pápula do teste cutâneo (TC) antes e depois do tratamento.

Em 1997, van Halteren HK et al. estudaram 75 pacientes que receberam ITV para veneno de vespa com o propósito de avaliar critérios que poderiam prever uma possível falha na proteção após sua descontinuação. Esses autores observaram que esta descontinuação parece ser segura nos pacientes nos quais os níveis de IgE sérica que estavam presentes antes do tratamento não puderem mais ser detectados ao final ou durante o curso da ITV⁸. Por outro lado, outros estudos que objetivaram comprovar a eficácia de ITV, observaram pouca correlação entre proteção

conferida ao término da ITV e a presença de imunoglobulinas séricas veneno-específicas⁵.

Neste e em outros estudos semelhantes, algumas falhas têm sido apontadas. Por exemplo, acredita-se que o número reduzido de pacientes estudados poderia estar relacionado ao baixo número de pacientes que apresentaram reações graves após o término da ITV. Também, alguns estudos prévios têm demonstrado que a anafilaxia a veneno de insetos pode ser uma doença autolimitada^{10,11}. Finalmente, em todos os trabalhos realizados, a decisão de descontinuar a IT foi baseada em diferentes razões.

Por estas razões, ainda permanece controverso o momento em que a ITV deve ser descontinuada com segurança e quais as variáveis que poderiam prever esta segurança. Na tentativa de contribuir para este conhecimento, avaliamos, no presente estudo, 35 pacientes que apresentaram reações anafiláticas a venenos de insetos e comparamos os níveis séricos de IgE específica e a reatividade em testes cutâneos antes e após 3 anos de imunoterapia específica.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Pacientes

Participaram deste estudo 35 pacientes de ambos os sexos com reações anafiláticas alérgicas graves que receberam ITV por pelo menos 3 anos. Os pacientes eram selecionados para iniciar imunoterapia específica de acordo com os seguintes critérios: história clínica detalhada quanto ao inseto responsável e gravidade das reações, e determinação da IgE veneno-específica. O diagnóstico clínico foi baseado nos critérios atualmente propostos para o diagnóstico de anafilaxia e a gravidade das reações foi classificada segundo os critérios descritos por Mueller HL et al.^{12,13}.

O inseto causador foi identificado através da história clínica e dos resultados da IgE sérica e dos testes cutâneos de leitura imediata. Nos casos em que houve dúvidas na identificação do inseto, o paciente foi excluído.

Para a realização dos testes *in vivo* e/ou *in vitro*, bem como para iniciar a ITV, todos os pacientes deram o consentimento por escrito após receberam informações sobre o procedimento. Todos os pacientes consentiram em participar deste estudo.

Pesquisa de anticorpos IgE veneno-específicos

Amostras de soro dos pacientes foram coletadas e analisadas por ImmunoCAP® (Phadia, Brasil) para os venenos de abelha, vespa e formiga antes e após a imunoterapia. Os testes cutâneos foram realizados antes e após a imunoterapia, conforme técnica descrita previamente¹⁴ com extratos fornecidos pela FDA Allergenic Ltda.

Inicialmente realizamos o teste epicutâneo com doses progressivas do respectivo veneno: 0,001 µg/ml, 0,01 µg/ml; 0,1 µg/ml e 1 µg/ml para abelha e vespa; e 1/1.000.000; 1/100.000; 1/10.000 e 1/1.000 para o veneno de formiga (extrato de corpo total) conforme técnica descrita anteriormente¹⁴. A leitura foi realizada após 15 minutos da puntura, sendo considerados positivos todos os testes cujas pápulas apresentassem médias de diâmetro, no mínimo, 3 mm maiores que o controle negativo¹⁴. No caso de resultados negativos, o paciente foi submetido ao teste intradérmico, também com as mesmas concentrações. Foram considerados positivos todos os testes onde a pápula, após 15 minutos, foi maior que a pápula inicial formada pela aplicação do extrato. O teste foi interrompido quando considerado positivo ou até que se atingisse a dose máxima da concentração permitida.

O esquema de administração da ITV foi o regime semirrápido (*cluster*) com o respectivo veneno. Este tipo de imunoterapia implica administrar várias injeções em doses crescentes, em geral 2 a 4 doses por visita¹⁵⁻¹⁷. Inicialmente aplicamos a dose de 0.1 cc e em seguida aplicamos 0.2 cc, 0.3 cc e 0.4 cc, sempre com a mesma concentração, chegando ao volume total final de 1 ml, com intervalo de 15 minutos entre cada aplicação. As doses foram aplicadas sequencialmente, num único dia de tratamento, em dias não consecutivos. A dose de manutenção foi geralmente alcançada dentro de 4 a 8 semanas, sendo 100 mg/ml para vespa e abelha e 1:100 para formiga (extrato de corpo total). A dose de manutenção foi administrada no intervalo de 28/28 dias.

Antes de cada aplicação de imunoterapia os pacientes foram orientados a relatar qualquer ferroadada acidental e os sintomas relacionados a elas. Apesar de todos os cuidados em evitar o contato com o inseto, as ferroadadas mediante contato acidental podem ocorrer, levando a sintomas clínicos compatíveis com reação de hipersensibilidade tipo I, de variada gravidade. No caso de história positiva para ferroadadas acidentais no período de intervalo entre as aplicações, foi suspensa a aplicação da ITV. Nos meses seguintes ao término do tratamento com a imunoterapia, o paciente foi novamente orientado a relatar a presença de ferroadadas acidentais e sintomas relacionados, durante o acompanhamento no ambulatório.

Compararam-se os parâmetros antes e depois da imunoterapia quanto aos seguintes aspectos: tipo de inseto, faixa etária, valores séricos da IgE específica, resultado dos testes cutâneos, presença de novas sensibilizações, ferroadadas acidentais durante o tratamento e sintomatologia apresentada.

RESULTADOS

Na Figura 1 observamos que houve diminuição dos níveis de anticorpos IgE medidos por ImmunoCAP® em 78% dos pacientes avaliados, observada em 92% dos pacientes alérgicos a formiga, em 80% dos pacientes alérgicos a vespa (Polistes) e em 56% dos pacientes alérgicos ao veneno de abelha. Em relação ao gênero, houve redução em 83% das mulheres, e em 73% dos homens.

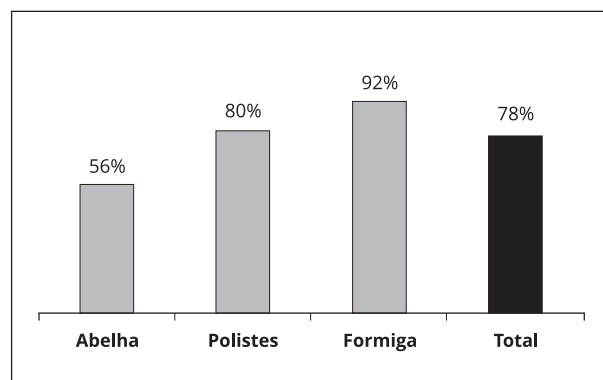


Figura 1 - Percentual de pacientes que apresentaram redução nos níveis séricos de IgE específica por veneno

Quando separamos por faixa etária, 100% dos pacientes de 0 a 20 anos tiveram diminuição dos valores de IgE sérica específica; 67% na faixa etária de 21 a 40 anos, e queda menor (60%) no grupo de pacientes com mais de 40 anos.

Com relação ao resultado dos testes cutâneos, 38% do total de pacientes apresentaram resultado negativo após o tratamento com ITV. Quando se analisaram os resultados por inseto responsável, 71% dos pacientes alérgicos ao veneno de abelha permaneceram com testes inalterados, 14% diminuíram a sensibilidade e 14% apresentaram teste cutâneo negativo. Para o veneno de vespa, 13% diminuíram a sensibilidade, e 88% apresentaram teste cutâneo negativo. Para o extrato de formiga, 78% permaneceram inalterados, 11% diminuíram a sensibilidade, e 11% apresentaram testes cutâneos negativos (Figura 2).

Essa mesma comparação pode ser analisada por faixa etária (Figura 3): a maior porcentagem de testes cutâneos inalterados ocorreu na faixa etária de 0 a 20 anos; 67% dos pacientes entre 21 e 40 anos e 56% dos pacientes com mais de 40 anos apresentaram testes cutâneos negativos.

Após três anos de ITV, a dosagem da IgE sérica foi solicitada para os três insetos: abelha, vespa e formiga. Observamos que 80% dos pacientes não apresenta-

ram novas sensibilizações, mas 5% dos pacientes que eram alérgicos a abelha apresentaram IgE sérica para o veneno de vespa; 5% dos pacientes alérgicos a vespa apresentaram sensibilização ao veneno de abelha, e 10% dos pacientes que eram alérgicos ao veneno de formiga apresentaram IgE sérica aos venenos de abelha e vespa.

Por fim, quando questionados sobre ferroadas acidentais durante o tratamento, temos a seguinte distribuição por inseto: 86% dos pacientes alérgicos ao veneno de abelha foram ferroados durante a imunoterapia; 75% dos pacientes alérgicos ao veneno de vespa e 82% dos pacientes alérgicos ao veneno de formiga também apresentaram episódios de reexposição ao longo do tratamento. Em nenhum dos casos de reexposição acidental houve reação sistêmica.

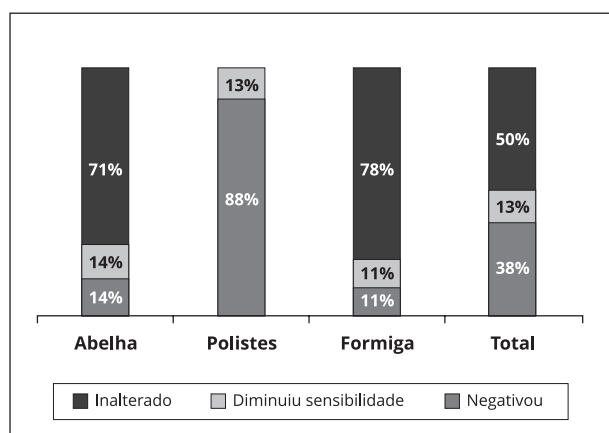


Figura 2 - Percentual de pacientes cujo resultado de teste cutâneo permaneceu inalterado, diminuído ou negativo por inseto responsável

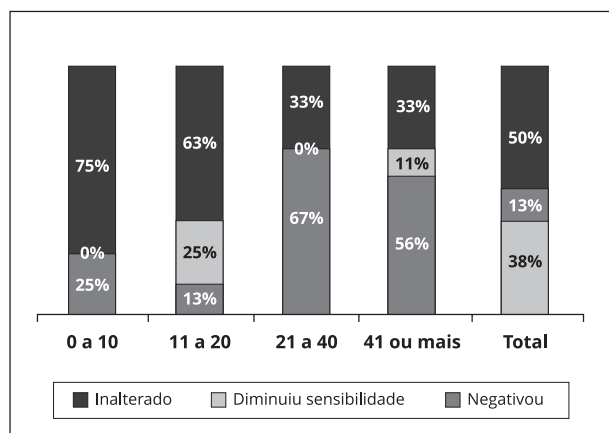


Figura 3 - Percentual de pacientes cujo resultado de teste cutâneo permaneceu inalterado, diminuído ou negativo, por faixa etária

DISCUSSÃO

A recomendação padrão para a interrupção do tratamento com ITV é que a mesma seja mantida até que os testes cutâneos se tornem negativos, o que pode significar um longo tempo de tratamento e comprometer a adesão dos pacientes; portanto, existe um consenso geral que a ITV deve ser mantida por pelo menos 3 a 5 anos. De acordo com a literatura¹⁸ apenas uma minoria de pacientes apresenta testes cutâneos negativos após ITV: 10% após 3 anos, 25% após 5 anos, e 50% após 8 a 10 anos. Entretanto, nosso estudo mostra que após três anos de imunoterapia, 38% dos nossos pacientes apresentam testes cutâneos negativos. Segundo alguns estudos⁸, a descontinuação da ITV parece ser segura nos pacientes nos quais os níveis de IgE sérica que estavam presentes antes do tratamento não puderam mais ser detectados ao final ou durante o curso da ITV. Com relação à determinação sérica da IgE específica, houve redução dos níveis de IgE em 78% dos pacientes como resultado da ITV. Estudos anteriores sugerem, entretanto, que não é necessário esperar a ausência de IgE específica após a IT, uma vez que a maioria dos pacientes estudados apresentaram níveis detectáveis de IgE específica pós-IT e mostraram um grau de proteção clínica satisfatório mediante a provocação com a ferroadada do inseto^{4,8}. Em nossa casuística observamos que os níveis séricos de IgE específica diminuíram mais frequentemente nos indivíduos com menos de 20 anos de idade, mas o desaparecimento da reatividade cutânea foi mais evidente nos indivíduos com mais de 20 anos. Não existe uma justificativa precisa para este achado, mas alguns estudos mostram que os extremos de idade apresentam uma diminuição da reatividade cutânea, o que poderia explicar estas diferenças¹⁴.

A diferença no percentual de testes cutâneos que se tornaram negativos entre os três insetos pode ser explicada pela reatividade cutânea individual de cada paciente e pela padronização de cada extrato, por exemplo, para formiga utilizamos extrato de corpo total.

Nossos achados são compatíveis com a literatura com relação à eficácia do tratamento^{17,19}, uma vez que todos os indivíduos novamente expostos acidentalmente ao veneno não apresentaram reações sistêmicas, independentemente do inseto agressor. Embora nem todos tenham sido expostos acidentalmente, os que o foram não tiveram reação. Apesar disso ser uma demonstração da alta eficácia da imunoterapia, estes dados foram obtidos através da história clínica, desta maneira, pode haver um viés na observação de qual foi o inseto causador, de quais foram as circunstâncias em que ocorreu o evento e quanto tempo depois de iniciado o tratamento com a ITV ocorreu o contato acidental. Não observamos uma associação direta entre a detecção de IgE específica *in vivo* e/ou *in vitro* após três anos de tratamento e a proteção clínica.

A observação de que novas sensibilizações foram detectadas após o início do tratamento, ainda que apenas em parte dos pacientes, nos chamou atenção, uma vez que este dado não está descrito na literatura. Como este achado não está contemplado nos objetivos do presente trabalho, será alvo de estudos posteriores.

Vários estudos realizados até o momento com o objetivo de avaliar possíveis critérios que possam prever falhas após a interrupção da ITV, incluindo o nosso, apresentam algumas limitações, como o número reduzido de pacientes, além do fato de que, sem uma nova ferroadada, a sensibilidade do paciente tende a diminuir gradativamente com o passar dos anos. A provocação com o veneno do próprio inseto agressor, que tem sido considerada como padrão em alguns estudos, apresenta diversas limitações já mencionadas, e em nosso meio não tem sido realizada por questões éticas. Sendo assim, a reatividade cutânea e a concentração sérica da IgE específica continuam a ser variáveis consideradas nestas situações. Nossos dados mostram que a ITV pode ser descontinuada com maior segurança após os testes cutâneos se tornarem negativos, mesmo com três anos de tratamento. Pacientes que tenham apresentado apenas uma diminuição da reatividade cutânea devem ser mantidos em tratamento até 5 anos, quando a avaliação deverá ser repetida, ou se, no caso de reexposição acidental, já se mostrarem protegidos pelo tratamento recebido.

Nossos achados nos permitem concluir que a imunoterapia por pelo menos 3 anos foi efetiva, pois todos os pacientes que foram ferroadados acidentalmente não apresentaram reações sistêmicas. Além disso, nossos resultados também demonstraram que tanto a IgE sérica específica como os testes cutâneos têm valor limitado como parâmetros de sucesso no tratamento, pois a maioria permanece com positividade, apesar não apresentar reatividade clínica.

REFERÊNCIAS

- Golden DBK, Insect sting allergy and venom immunotherapy: a model and a mystery. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:439-47.
- Graft DF. Venom immunotherapy: indications, selection of venoms, techniques and efficacy. In: Levine MI, Lockey RF. *Monograph on insect allergy* - American Academy of Asthma Allergy and Immunology. 4 ed. São Petesburgo: Dave Lambert Associates; 2003. p.103-12.
- Reisman RE. Natural history of insect sting allergy: relationship of severity of symptoms of initial sting anaphylaxis to re-sting reactions. *J Allergy Clin Immunol.* 1992;90:335-9.
- Golden DB, Moffitt J, Nicklas RA, Freeman T, Graft DF, Reisman RE. Stinging insect hypersensitivity: a practice parameter update. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:852-4.
- Watanabe AS, Galvão CES, Castro FMC. Imunoterapia veneno específica. In: Castro FM, ed. *Alergia a veneno de insetos: 25 anos de experiência clínica.* 1 ed. São Paulo: Manole; 2009. p. 169-80.
- Golden DBK, Kwiterovich KA, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Discontinuing venom immunotherapy: outcome after 5 years. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;97:579-87.
- Keating MU, Kagey-Sobotka, Hamilton RG, Yunginger JW. Clinical and immunological follow-up of patients who stop venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 1991;88:339-48.
- van Halteren HK, van der Linden PW, Burgers JA, Bartelink AK. 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.
- Golden DBK. Fatal insect allergy after discontinuing venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2001;107:925-6.
- Valentine MD, Schuberth KC, Kagey-Sobotka A, Graft DF, Kwiterovich KA, Szkló M et al. The value of immunotherapy with venom in children with allergy to insect stings. *N Engl J Med.* 1990;323:1601-3.
- Savliwala MN, Reisman RE. Studies of the natural history of stinging-insect allergy: long-term follow-up of patients without immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 1987;80:741-5.
- Simons FER, Arduoso LRF, Biló MB, El-Gamal YM, Ledford DK, MD, Ring J. et al. World Allergy Organization World Allergy Organization anaphylaxis guidelines: Summary. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:587-93.
- Mueller HL. Diagnosis and treatment of insect sensitivity. *J Asthma Res.* 1996;3:331-3.
- EAACI. Position paper: allergen standardization and skin tests. *The European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Allergy.* 1993;48(Suppl 14):48-82.
- Rueff F, Przybilla B, Biló MB, Muller U, Scheipl F, Aberer W, et al. Predictors of side effects during the buildup phase of venom immunotherapy for Hymenoptera venom allergy: The importance of baseline serum tryptase. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 126:105-11.
- Cox L. Advantages and disadvantages of accelerated immunotherapy schedules. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122:432-4.
- Cox L, Nelson H, Lockey R. Allergen immunotherapy: A practice parameter third update *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:S1-55.
- Golden DBK, Kwiterovich KA, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Discontinuing venom immunotherapy: Outcome after five years. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;97:579-87.
- Mailer U, Mosbech H. Position Paper: Immunotherapy with Hymenoptera venoms. *Allergy.* 2008;48(s14):37-46.