

# Stopniowane postępowanie diagnostyczne dla potwierdzenia alergii na jad owadów błonkoskrzydłych

## Step-wise approach to the diagnosis of Hymenoptera venom allergy

EWA SMORAWSKA-SABANTY, MAREK L. KOWALSKI

Klinika Immunologii, Reumatologii i Alergii, Katedra Immunologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
Centralny Szpital Kliniczny UM w Łodzi

### Streszczenie

**Wprowadzenie.** Pacjenci z uogólnionymi reakcjami po użądleniach przez owady błonkoskrzydłe ze względu na ryzyko kolejnej reakcji oraz możliwość skutecznej immunoterapii wymagają kompleksowej diagnostyki alergologicznej

**Cel pracy.** Porównanie przydatności wywiadu alergologicznego oraz oznaczania swoistych IgE w surowicy i przy pomocy testów skórnych dla udokumentowania diagnozy w alergii na jad owadów błonkoskrzydłych

**Materiał i metody.** Badaniem objęto 272 pacjentów z reakcją nadwrażliwości po użądleniu przez owady błonkoskrzydłe (osy lub pszczoły). Obok charakterystyki klinicznej u pacjentów wykonano stopniowaną diagnostykę alergologiczną obejmującą oznaczenia swoistych IgE w surowicy (u wszystkich badanych) oraz testy naskórkowe i śródskórne z alergenami osy i/lub pszczoły w uzasadnionych przypadkach.

**Wyniki.** U 60,3% pacjentów stwierdzono w surowicy obecność swoistych IgE przeciwko alergenom jadu osy i/lub pszczoły (> 2 klasa). Spośród chorych bez sIgE w surowicy lub z wątpliwym wywiadem wykonując testy skórne uzyskano potwierdzenie alergii u 89,9% uczulonych na jad pszczoły i u 61,1% uczulonych na jad osy. sIgE w surowicy przeciwko alergenom jadu osy, ale nie pszczoły, były obecne istotnie częściej, u osób, u których po użądleniu wystąpiła reakcja uogólniona niż miejscowa. Najwięcej dodatnich wyników swoistych IgE w surowicy wobec jadów stwierdziliśmy w ciągu pierwszego roku od użądlenia, a liczba dodatnich wyników zmalała jeszcze bardziej po upływie 5 lat. Nie było natomiast istotnych różnic w częstości dodatnich wyników testów skórnych z jadami owadów w zależności od czasu jaki upłynął pomiędzy wystąpieniem reakcji po użądleniu a ich wykonaniem. Wśród osób z reakcją dwufazową, punktowy test skórny z jadem osy lub pszczoły był dodatni istotnie częściej w porównaniu z osobami z reakcją jednofazową.

**Wnioski.** Nasze badania wykazały, że dla pełnej diagnostyki alergii na jady owadów błonkoskrzydłych oznaczanie swoistych IgE in vitro powinno być w uzasadnionych przypadkach uzupełniane wykonywaniem testów skórnych.

**Słowa kluczowe:** *alergia na jad owadów, osy, pszczoły, swoiste IgE, testy skórne, reakcja dwufazowa*

### Summary

**Introduction.** Patients with generalised reactions to hymenoptera stings require a complex allergological diagnosis due to the risk of another reaction, and the possibility of an effective immunotherapy.

**Aim of the study.** This study attempts to compare the usefulness of a medical history of allergy and specific serum IgE in vitro determination, with the use of skin tests, for the diagnosis of hymenoptera venom allergy.

**Material and methods.** The study included 272 patients with a hypersensitivity reaction to a hymenoptera sting (wasp or bee). In addition to a clinical characterisation, the patients were subjected to a step-wise allergological diagnosis, including determinations of specific serum IgE levels (in all the patients), as well as epidermal and intradermal skin tests with wasp and/or bee allergens, in justified cases.

**Results.** Specific IgE antibodies to wasp and/or bee venom allergens were found in the serum of 60.3% patients ( $\geq$ class 2). In patients without sIgE in their serum or with a doubtful medical history, skin testing confirmed an allergy in 89.9% of subjects sensitive to wasp venom and in 61.1% of subjects sensitive to bee venom. Serum sIgE antibodies to wasp (but not bee) venom allergens were much more often present in patients with a generalised reaction to a sting compared to patients with a local reaction. The highest number of sIgE-positive results was observed within the first year after a sting, with a gradual decrease in the number of positive results, especially 5 years after the sting. However, no significant differences in the number of positive skin tests to insect venom were observed with regard to the time that elapsed between a reaction to a sting and the performance of tests. In patients with a biphasic reaction, a positive skin prick test to wasp or bee venom occurred much more often in comparison with patients with a monophasic reaction.

**Conclusions.** Our studies have shown that a complete diagnosis of allergy to hymenoptera venom requires not only in vitro determination of specific IgE, but in justified cases, it should be supplemented with skin testing.

**Key words:** *insect sting allergy, bee, wasp, specific IgE, skin testing, biphasic reaction*

Alergia na jad owadów błonkoskrzydłych występująca u ok. 3% populacji Europy i Stanów Zjednoczonych, stanowi ważny i trudny problem medyczny, co wynika z faktu, że reakcje po użądleniu mogą być bezpośrednim zagrożeniem życia. W większości przypadków reakcje alergiczne po użądleniach mają charakter IgE-zależny, co znajduje potwierdzenie w obecności swoistych przeciwciał IgE w skórze i/lub w surowicy. Jednakże w każdym przypadku istnieje konieczność przeprowadzenia wszechstronnej diagnostyki w celu potwierdzenia immunologicznego tła reakcji, co jest niezbędne także w celu ustalenia wskazań do immunoterapii jadem.

Pierwszoplanowym elementem diagnostycznym w alergii na jad owadów jest przeprowadzenie dokładnego wywiadu z pacjentem. Kolejnym krokiem jest wykazanie obecności swoistych przeciwciał IgE przeciwko alergenom jadu owadów. Celem wykrycia sIgE w skórze wykonuje się testy skórne (śródkórne i punktowe) z wyciągami alergenowymi jadów. U większości badanych pacjentów testy skórne nie wywołują żadnych następstw, jednak w niektórych przypadkach mogą doprowadzić do wystąpienia uogólnionej reakcji alergicznej [1,2]. Schueller i wsp. wykazali, że wykonanie testu skórnego z jadem owada może doprowadzić do wystąpienia uczulenia na ten jad, co wiąże się z pojawieniem się swoistych przeciwciał IgE [3]. Wielu badaczy zaleca wykonywanie testów punktowych w diagnostyce alergii na jad owadów [4,5,6]. Są one bardziej swoiste, ale nieco mniej czułe w porównaniu z testami śródkórnymi. Najczęściej wykonuje się je w pierwszej kolejności, a po uzyskaniu dodatniego wyniku testu punktowego, odstępuje się od wykonywania testów śródkórnych.

Oznaczenie swoistych przeciwciał IgE w surowicy krwi jest ważnym elementem diagnostycznym w alergii na jad owadów błonkoskrzydłych i jest obecnie preferowane ze względu na bezpieczeństwo i wygodę pacjenta. Według większości autorów, stosując metody *in vitro*, sIgE przeciwko alergenom jadu owadów wykrywa się u 50-80% pacjentów, u których wystąpiła reakcja alergiczna po użądleniu. Swoiste przeciwciała IgE przeciwko alergenom jadu owadów wykrywane są częściej u osób do 20 r.ż. Z wiekiem ich wykrywalność w surowicy maleje. Według niektórych badaczy, sIgE przeciwko alergenom jadu owadów wykrywane są rzadziej wśród pacjentów, u których po użądleniu wystąpił tylko duży odczyn miejscowy niż u tych, którzy mieli reakcję uogólnioną [7,8]. Inni stwierdzają, że wykrywalność sIgE jest podobna w obu tych grupach [9]. Natomiast wśród osób, u których wystąpiła reakcja systemowa, większość autorów nie stwierdza różnic w obecności sIgE w zależności od stopnia ciężkości reakcji [10,11,12,13,14,15]. Ostatnie doniesienia sugerują, że wynik testu *in vitro*, jak również testu skórnego z jadem owada, nie pozwalają na przewidywanie ciężkości reakcji w przypadku kolejnego użądlenia. U niektórych osób, u których wystąpiła bardzo ciężka reakcja poużądleniowa, sIgE przeciwko alergenom jadu wykrywane są w minimalnej ilości [16].

Hymenoptera venom allergy occurs in about 3% of the population of Europe and the United States. It is a major medical problem, since reactions to a sting may pose a direct threat to life. Allergic reactions to a sting are usually IgE-dependent, which is confirmed by the presence of specific IgE in the skin and/or serum. Each case, however, requires complex diagnostics confirming the immunological background of the reaction, which is also necessary in order to determine the indications for venom immunotherapy.

The primary element in the diagnosis of an insect sting allergy is taking a careful medical history of the patient. The next step is to detect specific IgE antibodies to insect venom allergens, which is achieved by skin tests (intradermal and prick tests) with venom allergen extracts. In most subjects, skin tests do not have any consequences. However, a generalised allergic reaction may sometimes occur [1,2]. Schueller et al. have shown that the performance of a skin test with insect venom may lead to the occurrence of an allergy to the venom, which is related to the occurrence of specific IgE antibodies [3]. Numerous researchers recommend skin prick tests for the diagnosis of venom allergy [4,5,6]. These tests are more specific but slightly less sensitive in comparison with intradermal tests. Skin prick tests are usually performed first, and if they give a positive result, intradermal tests are abandoned.

Determination of specific IgE antibodies in serum is an important element in the diagnosis of hymenoptera venom allergy, and is the most often selected method for safety and comfort reasons. According to most authors, the use of *in vitro* methods results in detection of sIgE antibodies to insect venom allergens in 50-80% of patients with an allergic reaction to a sting. Specific IgE antibodies to insect venom allergens are more often detected in patients below 20 years of age and their detection in serum decreases with age. According to some researchers, sIgE to insect venom allergens are less frequently detected in patients with only a large local reaction following a sting, compared to patients with a generalised reaction [7, 8]. Others claim that the sIgE detection in both these groups is similar [9]. In patients with a systemic reaction, no differences in sIgE have been observed by authors, depending on the reaction severity [10,11,12,13,14,15]. According to recent findings, neither *in vitro* tests nor skin prick tests with insect venom allow the prediction of the reaction severity in the case of another sting. In some patients with a severe reaction to a sting, sIgE to venom allergens are detected in very small amounts [16].

Obecność dodatniego testu skórniego z jadem owada często nie koreluje z obecnością swoistych przeciwciał IgE w surowicy przeciwko alergenom jadu tego samego owada [17,18,19,20,21]. Wykazano, że test *in vitro* jest ujemny u około 20% osób z dodatnimi testami skórnymi z jadem odpowiedniego owada. Z drugiej strony, chociaż testy *in vitro* uważa się za mniej czułe niż testy skórne, swoiste przeciwciała IgE w surowicy mogą być wykrywane u 1% do 16% osób z ujemnymi testami skórnymi z jadem tego samego owada [17,18,20,21]. Według najnowszych zaleceń dotyczących diagnostyki i postępowania wśród pacjentów, u których wystąpiła reakcja uogólniona po użądleniu, testy *in vitro* w alergii na jad owadów mają podobną wartość diagnostyczną co testy skórne [16].

Celem pracy było porównanie przydatności stosowania stopniowanego podejścia diagnostycznego (wywiad, swoiste przeciwciała IgE w surowicy i testy skórne z jadami owadów) dla potwierdzenia alergii na jad oraz identyfikacji żądającego owada.

## MATERIAŁ I METODY

### Pacjenci

Badaniem objęto 272 pacjentów, którzy zgłosili się do Ośrodka Diagnostyki i Leczenia Astmy i Alergii Centralnego Szpitala Klinicznego w Łodzi w ciągu ostatnich siedmiu lat, z powodu przebytej reakcji po użądleniu przez owady błonkoskrzydłe (osy lub pszczoły). Dla wszystkich pacjentów wypełniono standardową ankietę, zawierającą oprócz danych osobowych, także czas ostatniego użądlenia, po którym wystąpiła reakcja i rodzaj żądającego owada. Objawy kliniczne, które wystąpiły po użądleniu, kwalifikowano według skali ciężkości Muellera, odnotowywano rodzaj udzielonej pomocy medycznej, czas, po którym nastąpiła poprawa i ewentualny nawrót objawów.

Pytania zawarte w ankiecie dotyczyły także wcześniejszych i późniejszych użądleń przez owada tego samego rodzaju, użądleń przez inne owady, przeprowadzanej w przeszłości immunoterapii. Ogólną charakterystykę grupy przedstawiono w poprzednim artykule [22].

### Kryteria stopniowanego stosowania metod diagnostycznych w alergii na jady

U wszystkich pacjentów, u których wywiad wskazywał na prawdopodobieństwo wystąpienia reakcji alergicznej po użądleniu osy lub pszczoły (n=272) wykonano oznaczenie w surowicy swoistych immunoglobulin wobec zarówno jaku osy jak i pszczoły.

### Testy skórne z jadami owadów wykonywano w następujących sytuacjach:

- a. gdy mimo wyraźnego wywiadu w badaniach *in vitro* nie stwierdzono obecności swoistych IgE przeciwko przynajmniej jednemu z jądów (klasa sIgE  $\leq 1$ )

A positive skin test result to insect venom often occurs independently of the presence of specific IgE to venom allergens of the same insect [17,18,19,20,21]. It has been shown that negative *in vitro* test results occur in about 20% of subjects with positive skin test responses to venom of the particular insect. On the other hand, although *in vitro* tests are considered to be less sensitive than skin tests, specific IgE in serum may be detected in 1% to 16% of patients with negative skin test responses to venom of the particular insect [17,18,20,21]. According to recent recommendations concerning diagnostics and management of patients with a generalised reaction to a sting, *in vitro* tests in insect venom allergy have a similar diagnostic value to skin tests [16].

The aim of the study was to compare the usefulness of a step-wise approach (medical history, specific IgE antibodies in serum and skin tests with insect venom) to the diagnosis of venom allergy and identification of the stinging insect.

## MATERIAL AND METHODS

### Subjects

272 patients were enrolled in the study after being referred to the Centre of Asthma and Allergy Diagnostics and Treatment at the Central Clinical Hospital in Łódź over the last 7 years, following a reaction to a hymenoptera sting (wasp or bee). For each patient a standard questionnaire was completed, including personal information, as well as the time of the last sting followed by a reaction and the type of insect. Clinical symptoms following a sting were qualified according to the Mueller severity scale. The questionnaire referred to the type of medical help administered to the patient, the time needed for improvement and possible recurrence of symptoms.

The questionnaire also referred to previous and later stings by insects of the same type, stings by other insects and a history of immunotherapy. General characteristics of the group were presented in the previous article [22].

### Criteria of a step-wise approach to the diagnosis of venom allergy

All patients whose medical history suggested the probability of an allergic reaction to a bee or wasp sting (n=272) had specific immunoglobulin to both wasp and bee determined.

### Skin tests to insect venom were performed in the following cases:

- a. No specific IgE to at least one venom type (sIgE class  $\leq 1$ ) in *in vitro* tests, despite a positive medical history.

- b. gdy uzyskany wynik *in vitro* był niezgodny z wywiadem dotyczącym identyfikacji owada lub
- c. kiedy *in vitro* uzyskano wynik podwójnie dodatni, zwłaszcza przy niejednoznacznym wywiadzie dotyczącym rodzaju żądającego owada.

- b. The result obtained *in vitro* is not compatible with the medical history data concerning the insect identification.
- c. *In vitro* tests give double positive results, especially when the medical history is not precise about the type of the stinging insect.

#### Oznaczenie swoistych immunoglobulin E przeciw jadom w surowicy krwi

Krew (5 ml) pobierano z żyły łokciowej, a następnie wyizolowano surowice celem oznaczenia w niej stężenia sIgE przeciwko alergenom jadu osy i pszczoły.

Do oznaczania swoistych przeciwciał IgE w surowicy wykorzystano metodę immunoenzymatyczną (Sanofi Pasteur, Francja). Stężenia sIgE określano wobec krzywej wzorcowej uzyskanej na podstawie badania w surowicach referencyjnych, w których stężenia sIgE były następujące: A=17,5U/ml; B=3,5U/ml; C=0,7U/ml; D=0,35U/ml. Stężenia surowic referencyjnych stanowiły wartości graniczne klas zawartości IgE. Za dodatni przyjmowano wynik gdy przeciwciała były obecne przeciwko alergenom jadu osy i/lub pszczoły w stężeniu odpowiadającym co najmniej 2 klasie (>0,7 U/ml).

#### Testy skórne z alergenami jądów os i pszczoł

Testy skórne były wykonywane zgodnie z zasadami przyjętymi przez Europejską Akademię Alergologii i Immunologii Klinicznej (EAACI). Początkowo, na wewnętrznej powierzchni przedramienia wykonywano testy punktowe z użyciem gotowego preparatu (ALK) ze stężeniami jądów 10 mcg/ml, a następnie 100 mcg/ml. Za wynik dodatni przyjmowano bąbel o średnicy co najmniej 3 mm z rumieniem, z uwzględnieniem kontroli dodatniej (roztwór dwuchlorowodoru histaminy do testów punktowych) i ujemnej (sól fizjologiczna).

W przypadku nie wystąpienia odczynu przystępowano do wykonywania testów śródskórnych. Odpowiednie stężenia wyciągów alergenowych jądów os i pszczoł przygotowywane były w dniu badania metodą kolejnych rozcieńczeń. Na wewnętrznej powierzchni drugiego przedramienia, w dwudziesto minutowych odstępach czasu wstrzykiwano śródskórnie 0,05 ml wyciągu alergenowego (Pharmalgen, ALK), w następujących stężeniach: 0,00001mcg/ml; 0,0001mcg/ml, 0,001 mcg/ml; 0,01mcg/ml; 0,1mcg/ml; 1mcg/ml. Jako kontrolę dodatnią wstrzykiwano roztwór dwuchlorowodoru histaminy oraz sól fizjologiczną jako kontrolę ujemną. Za wynik dodatni przyjmowano bąbel o średnicy co najmniej 5 mm z rumieniem, przy ujemnej kontroli.

#### Metody statystyczne

Podczas opracowywania danych zastosowano następujące metody statystyczne:

#### Determination of venom-specific serum immunoglobulin E

A blood sample of 5 ml was taken from the ulnar vein and the serum was isolated in order to determine the concentration of sIgE to wasp and bee venom allergens.

The determination of specific IgE antibodies in serum was performed with the use of an immunoenzymatic method (Sanofi Pasteur, France). sIgE levels were determined against a standard curve obtained in reference serum studies, in which the following sIgE levels were recorded: A=17.5 U/ml; B=3.5 U/ml; C=0.7 U/ml; D=0.35 U/ml. Reference serum levels constituted the border values of IgE classes. A positive result was defined as the presence of antibodies to wasp and/or bee venom at the concentration corresponding to class 2, or a higher class ( $\geq 0.7$  U/ml).

#### Skin tests to wasp and bee venom allergens

Skin tests were performed according to the guidelines of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology (EAACI). They were performed on the inner side of the forearm with a ready-made preparation (ALK), initially containing insect venom 10 mcg/ml, followed by 100 mcg/ml. A positive reaction was defined as a wheal of at least 3 mm and erythema, including positive (histamine dihydrochloride for prick tests) and negative control (saline).

If there was no reaction, intradermal tests were performed. Appropriate concentrations of wasp and bee venom extracts were prepared on the day of the test with the method of subsequent dilutions. 0.05 ml allergen extract (Pharmalgen, ALK) was injected on the inner side of the other forearm at 20-minute intervals, at the following concentrations: 0.00001 mcg/ml, 0.0001 mcg/ml, 0.001 mcg/ml, 0.01 mcg/ml, 0.1 mcg/ml, 1 mcg/ml. Histamine dihydrochloride solution was injected as a positive control and saline solution as a negative control. A positive reaction to the negative control was defined as a wheal of at least 5 mm with erythema.

#### Statistical methods

The data analysis was performed with the following statistical methods:

- test dokładny Fishera albo chi-kwadrat niezależności dla porównywania częstości albo rozkładów badanych cech
- test t-Studenta dla porównania dwóch zmiennych typu ciągłego np. wieku albo test nieparametryczny Manna-Whitney dla porównania parametrów położenia.

Dla wszystkich stosowanych testów statystycznych przyjęto poziom istotności  $\alpha = 0,05$

## WYNIKI

Obecność swoistych przeciwciał IgE przeciwko alergenom jadów owadów w surowicy

Wśród 272 pacjentów, u których oznaczono w surowicy poziom sIgE przeciwko alergenom jadu osy i pszczoły, u 164 (60,3%) uznano wynik za dodatni ( $>2$  klasa). W tej grupie, u 45 pacjentów (27,4%) stwierdzono przeciwciała wyłącznie przeciwko alergenom jadu osy, u 29 (17,7%) wyłącznie przeciwko alergenom jadu pszczoły, natomiast u 90 osób (54,9%) zarówno przeciwko alergenom jadu osy, jak i pszczoły. U 108 pacjentów (39,7%) nie stwierdzono przeciwciał skierowanych ani przeciwko alergenom jadu osy ani jadu pszczoły w klasach  $\geq 2$  (ryc. 1).

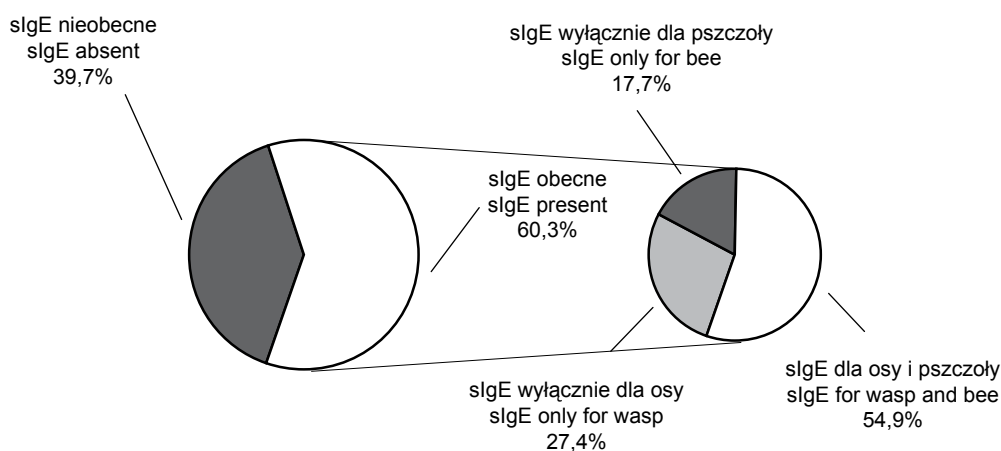
- Fisher's exact test or a chi-square test for independence to compare the prevalence or distribution of the examined features
- Student's t-test to compare two continuous variables, e.g. age, or a non-parametric Mann-Whitney test to compare the location parameters.

For all the statistical tests, the significance level was set at  $\alpha = 0.05$ .

## RESULTS

Presence of specific IgE antibodies to insect venom allergens in serum

Out of 272 subjects in whom serum sIgE antibodies to wasp and bee venom were determined, 164 (60.3%) revealed a positive result (class  $\geq 2$ ). In this group, 45 patients (27.4%) were found to have antibodies only to wasp venom and 29 (17.7%) only to bee venom. 90 patients (54.9%) had antibodies to both wasp and bee venom allergens, whereas in 108 patients (39.7%) no antibodies to wasp or bee venom were discovered for classes  $\geq 2$  (fig. 1).



Ryc. 1. Częstość występowania swoistych przeciwciał IgE w grupie badanych pacjentów

Fig. 1 The occurrence of specific IgE antibodies in patients

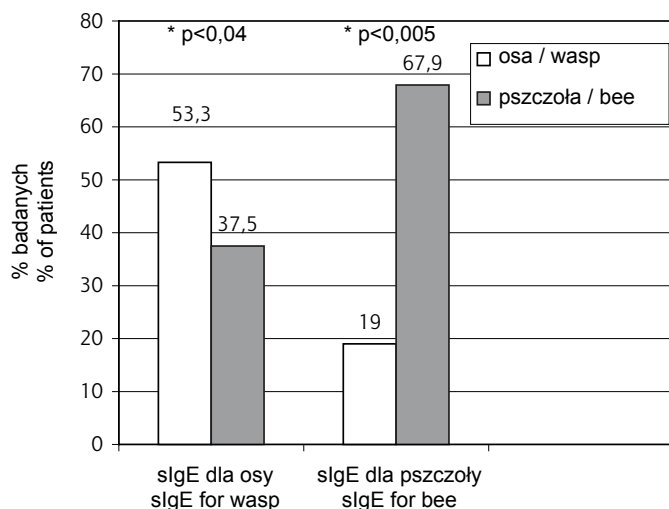
Spośród 193 pacjentów, którzy zidentyfikowali żądającego owada, 137 osób (71%), twierdziło, że było użądłonych przez osę, a 56 osób (29%), że przez pszczołę. Wśród pacjentów podających wystąpienie reakcji po użądleniu przez osę, u 73 (53,3%) wykryto sIgE przeciwko alergenom jadu osy w surowicy w klasie II-IV. U 26 osób (19%) twierdzących, że byli użądleni przez osę wykryto także przeciwciała przeciwko alergenom jadu pszczoły.

Swoiste przeciwciała IgE przeciwko alergenom jadu osy były obecne istotnie częściej (53,3% wobec 37,5%) wśród osób, które zidentyfikowały żądającego owada jako osę niż jako pszczołę;  $p=0,04$ .

Out of 193 patients who identified the stinging insect, 137 (71%) stated that the insect was a wasp and 56 (29%) stated that it was a bee. In the group of patients reporting a reaction to a wasp sting, 73 subjects (53.3%) were found to have serum sIgE classes 2-4 to wasp venom. 26 patients (19%) reporting a wasp sting were also found to have bee venom antibodies.

Specific IgE antibodies to wasp venom were significantly more often present in patients who identified the insect as being a wasp, compared to patients reporting a bee sting (53.3% vs. 37.5%).

Wśród pacjentów podających wystąpienie reakcji po użądleniu przez pszczołę, u 38 (67,9%) wykryto sIgE przeciwko alergenom jadu pszczoły w surowicy w klasie II-IV. U 21 osób (37,5%) pacjentów twierdzących, że byli użądleni przez pszczołę tych pacjentów wykryto także przeciwciała przeciw alergenom osy. Swoiste przeciwciała IgE przeciwko alergenom jadu pszczoły były obecne istotnie częściej (67,9% wobec 19%) wśród osób, które zidentyfikowały żądającego owada jako pszczołę niż jako osę;  $p < 0,005$  (ryc. 2).



Ryc. 2. sIgE przeciwko alergenom jadu osy oraz pszczoły w zależności od rodzaju owada wywołującego reakcję

Fig. 2. sIgE against wasp and bee venom allergens depending on the type of insect evoking a reaction

Swoiste przeciwciała IgE w surowicy przeciwko alergenom jadu osy i/lub pszczoły były wykrywane istotnie statystycznie częściej u żądzonych mężczyzn,  $n=77$  (69,4%) niż u kobiet,  $n=87$  (54%);  $p=0,01$ . Nie stwierdzono istotnych statystycznych różnic w obecności swoistych przeciwciał IgE przeciwko alergenom jadu osy lub pszczoły w surowicy (z uwzględnieniem klas powyższych przeciwciał), w zależności od wieku badanych pacjentów;  $p=0,19$ .

#### Obecność sIgE w surowicy a stopień ciężkości reakcji po użądleniu

Swoiste przeciwciała IgE w klasach II-IV przeciwko alergenom jadu osy stwierdzono w surowicy u 126 spośród 242 pacjentów (52,1%), u których po użądleniu wystąpiła reakcja uogólniona. Te same przeciwciała stwierdzono u 9 spośród 30 pacjentów (30,0%), u których po użądleniu wystąpiła reakcja miejscowa. Przeciwciała były obecne istotnie statystycznie częściej u osób, u których wystąpiła reakcja systemowa niż miejscowa ( $p=0,02$ ).

Nie stwierdzono istotnych statystycznych różnic pomiędzy obecnością sIgE przeciwko alergenom jadu osy w zależności od stopnia ciężkości reakcji uogólnionej ( $p=0,42$ ) (ryc. 3).

Różnice w częstości występowania przeciwciał przeciwko alergenom jadu pszczoły w grupach pacjentów, u których stwierdzono reakcję uogólnioną i miejscową nie były istotne statystycznie;  $p=0,94$ .

In the group of patients reporting a reaction to a bee sting, 38 subjects (67.9%) were found to have serum sIgE to bee venom in classes 2-4. 21 patients (37.5%) reporting a bee sting were also found to have wasp venom antibodies. Specific IgE antibodies to bee venom were significantly more often present in patients who identified the insect as being a bee, compared to patients reporting a wasp sting (67.9% vs. 19%);  $p < 0.005$  (fig. 2).

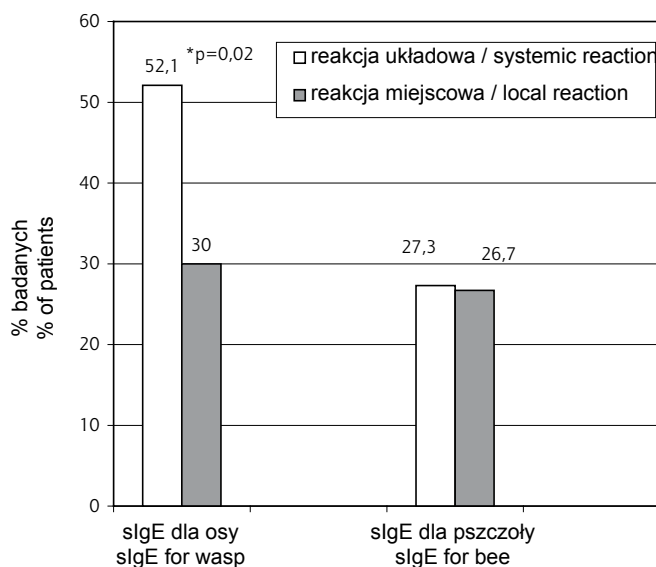
Specific serum IgE antibodies to wasp and/or bee venom were detected significantly more often in men reporting a sting,  $n=77$  (69.4%) than in women,  $n=87$  (54%);  $p=0.01$ . No statistically significant differences were observed concerning the presence of specific IgE antibodies to wasp or bee venom in serum (with regard to particular antibody classes) depending on the age of the patients;  $p=0.19$ .

#### Presence of sIgE in serum and reaction severity following a sting

Specific IgE antibodies (class 2-4) to wasp venom were found in 126 patients out of 242 (52.1%) with a generalised reaction to a sting. These antibodies were found in 9 patients out of 30 (30.0%) with a local reaction to a sting. The antibodies were significantly more often present in patients with a systemic reaction compared to patients reporting a local reaction ( $p=0.02$ ).

No statistically significant differences were observed concerning the presence of sIgE to wasp venom depending on the severity of a generalised reaction ( $p=0.42$ ) (fig. 3).

Differences in the occurrence of antibodies to bee venom in patients with generalised and local reactions were not statistically significant;  $p=0.94$ .



Ryc. 3. Obecność swoistych sIgE przeciwko alergenom jadu osy lub pszczoły w zależności od nasilenia reakcji po użądleniu

Fig. 3. The presence of specific sIgE against wasp or bee venom allergens depending on the reaction severity following a sting

Nie stwierdzono różnic w częstościach występowania sIgE przeciwko alergenom jadu osy i pszczoły w grupach pacjentów, u których po użądleniu wystąpiła reakcja dwufazowa i u których nie nastąpił nawrót dolegliwości ( $p > 0,05$ ).

No differences in the occurrence of sIgE to wasp and bee venom were observed in patients with a biphasic reaction to a sting and with no symptom recurrence ( $p > 0.05$ ).

#### Obecność sIgE w surowicy a czas, jaki upłynął od wystąpienia reakcji

Średni okres czasu jaki upłynął pomiędzy wystąpieniem reakcji po użądleniu a pobraniem krwi celem oznaczenia sIgE wynosił średnio  $9,8 \pm 11,7$  miesięcy (od 1 do 52 miesięcy).

W zależności od czasu, jaki upłynął od wystąpienia reakcji po użądleniu do chwili oznaczenia sIgE wyróżniono 4 grupy pacjentów: grupa I – 1-3 miesiące ( $n=111$ ); grupa II – 4-12 miesięcy ( $n=87$ ); grupa III – 13-60 miesięcy ( $n=59$ ) i grupa IV –  $\geq 61$  miesięcy ( $n=13$ ).

W grupie pacjentów, u których sIgE oznaczono w ciągu pierwszych trzech miesięcy od użądlenia, wynik dodatni uzyskano u 79 (71,2%) osób. W II grupie pacjentów wynik dodatni uzyskano u 54 (62,1%). W III grupie sIgE wykryto u 29 (49,2%) osób i wreszcie w ostatniej grupie osób sIgE wykryto u 2 (15,4%) osób. Porównując I i II grupę pacjentów stwierdzono, że różnice w częstościach występowania sIgE w surowicy krwi nie były istotne statystycznie;  $p=0,22$ . Natomiast porównując grupę I i III ( $p=0,007$ ) oraz I i IV ( $p=0,0001$ ) stwierdzono, że różnice w częstościach występowania sIgE w surowicy krwi były istotne statystycznie (ryc. 4).

A zatem, już po upływie roku od użądlenia następuje istotny spadek stężenia sIgE w surowicy.

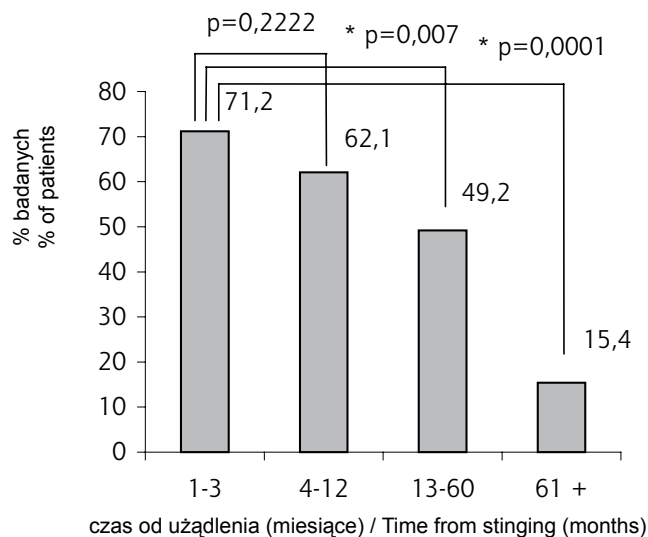
#### Presence of sIgE in serum and the time after a reaction

The time that elapsed from the occurrence of a reaction to a sting to blood sampling aiming at the determination of sIgE was on average  $9.8 \pm 11.7$  months (from 1 to 52 months).

Depending on the period of time between the occurrence of a reaction to a sting and the determination of sIgE, the patients were divided into 4 groups: group I – 1-3 months ( $n=111$ ); group II – 4-12 months ( $n=87$ ); group III – 13-60 months ( $n=59$ ) and group IV –  $\geq 61$  months ( $n=3$ ).

In the group where the sIgE determination was performed during the first three months after a sting, a positive result was obtained in 79 patients (71.2%). In group II, a positive result was obtained in 54 patients (62.1%). sIgE were detected in 29 subjects (49.2%) from group III and in 2 subjects (15.4%) from group IV. The comparison of groups I and II has shown that the differences in the sIgE occurrence in serum were not statistically significant;  $p=0.22$ . However, the comparison of groups II and III ( $p=0.007$ ) and groups I and IV ( $p=0.0001$ ) has shown that the differences in the sIgE occurrence in serum were statistically significant (fig. 4).

Therefore, a significant decrease in serum sIgE levels may be observed as early as 1 year after a sting.



Ryc. 4. Procent pacjentów, u których stwierdzono obecność swoistych IgE w surowicy w zależności od czasu użądlenia

Fig. 4. The percentage of patients with specific IgE in serum depending on the time from stinging

### Testy skórne z wyciągami alergenowymi jadów owadów

U 103 badanych pacjentów (37,8%) wykonano testy skórne z wyciągami alergenowymi jadów osy i/lub pszczoły. U 86 osób wykonano zarówno test skórny z jadem osy jak i z jadem pszczoły (testy były wykonywane oddzielnie), u 13 osób wykonano tylko test skórny z jadem osy, natomiast u 4 osób wyłącznie test skórny z jadem pszczoły. Średni czas jaki upłynął pomiędzy wystąpieniem reakcji po użądleniu a wykonaniem testów skórnych z jadami owadów wynosił w miesiącach  $12,6 \pm 12,8$  (w zakresie 1-62 miesiące).

Spośród 99 pacjentów, u których wykonano test skórny z jadem osy, wynik dodatni uzyskano u 89 (89,9%). Spośród 90 osób, u których wykonano test skórny z jadem pszczoły, wynik dodatni uzyskano u 55 (61,1%). Należy zaznaczyć, że oba testy były wykonywane u tego samego pacjenta w przypadku podobnego stężenia sIgE przeciwko alergenom jadu osy i pszczoły w surowicy oraz niejednoznacznego wywiadu dotyczącego identyfikacji owada. Nie stwierdzono istotnie statystycznych zależności w częstości dodatnich testów skórnych z alergenami jadów owadów w zależności od płci lub wieku badanych pacjentów.

Spośród 44 pacjentów podających reakcję alergiczną po użądleniu przez osę, u 43 (97,7%) uzyskano dodatni wynik testu z tym alergenem. Dodatni wynik testu z jadem osy uzyskano także u 13 pacjentów (68,4%) spośród 19 użądzonych przez pszczołę. Choć dodatni wynik testu skórniego z jadem osy uzyskano istotnie statystycznie częściej wśród osób, które zidentyfikowały żądłającego owada jako osę niż jako pszczołę ( $p < 0,001$ ) to zwraca uwagę duża częstość dodatnich odczynów na osę wśród chorych podających reakcje alergiczne po użądleniu przez pszczołę.

### Skin tests with insect venom allergen extracts

In 103 patients (37.8%), skin tests with allergen extracts from wasp and/or bee venom were performed. Tests with both wasp and bee venom (conducted separately) were performed in 86 patients, whereas tests with only wasp venom were performed in 4 patients and with only bee venom in 4 patients. The time that elapsed from the occurrence of a reaction to a sting to the performance of skin tests with insect venom was on average  $12.6 \pm 12.8$  months (from 1 to 62 months).

Out of 99 patients who underwent a skin test with wasp venom, a positive result was obtained in 89 (89.9%). Out of 90 patients who underwent a skin test with bee venom, a positive result was obtained in 55 (61.1%). It must be mentioned that both tests were performed if the patient had a similar serum concentration of sIgE against wasp and bee venom and the medical history data concerning the insect identification were not unequivocal. No statistically significant correlations were observed between the frequency of positive skin tests with insect venom allergens and the sex and age of the patient.

Out of 44 patients reporting an allergic reaction following a wasp sting, 43 (97.7%) had a positive test result with this allergen. A positive result with bee venom was also obtained in 13 patients (68.4%) out of 19 reporting a bee sting. Although a positive skin test result with wasp venom was obtained significantly more often in patients who identified the insect as being a wasp ( $p < 0.001$ ), there was also a considerable number of positive results in patients with allergic reactions following a bee sting.

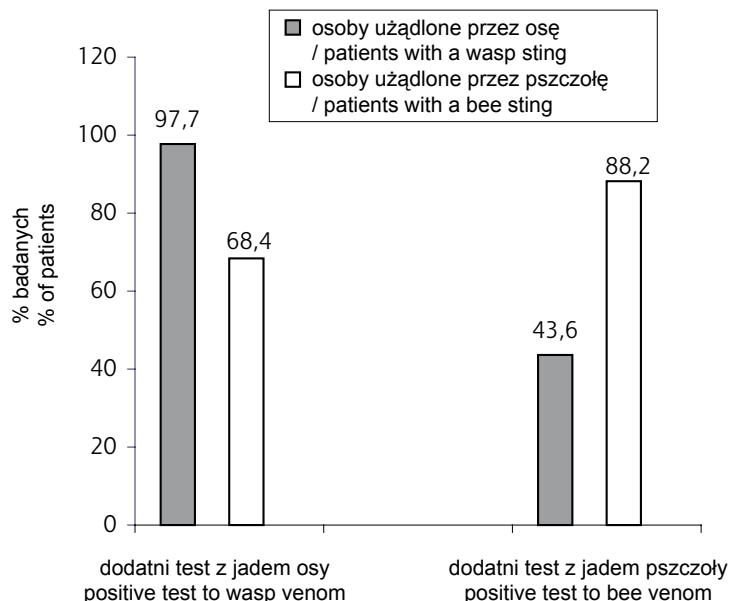


Spośród 17 pacjentów użądzonych przez pszczołę, u 15 (88,2%) uzyskano dodatni wynik testu skórniego z jadem pszczoły. Dodatni wynik testu skórniego z jadem pszczoły uzyskano także u 17 pacjentów (43,6%) spośród 39 użądzonych przez osę. Choć dodatni wynik testu skórniego z jadem pszczoły uzyskano istotnie statystycznie częściej wśród osób, które zidentyfikowały żądłającego owada jako pszczołę niż jako osę;  $p < 0,001$ , to podobnie zwraca uwagę dość duża częstość dodatnich odczynów na pszczołę wśród chorych podających reakcje alergiczne po użądleniu przez osę (ryc. 5).

Out of 17 patients reporting a bee sting, 15 (88.2%) had a positive skin test to bee venom. A positive skin test to bee venom was also obtained in 17 patients (43.6%) out of 39 reporting a wasp sting. Again, although a positive skin test with bee venom was obtained significantly more often in patients who identified the insect as being a bee, ( $p < 0.001$ ), there was also a considerable number of positive results in patients with allergic reactions following a wasp sting (fig. 5).

Ryc. 5. Częstość dodatnich testów skórnych z alergenami jadu osy i pszczoły u chorych podających w wywiadzie reakcje po użądleniu przez konkretnego owada ( $p < 0,001$ )

Fig. 5. The frequency of positive skin tests to wasp and bee venom in patients reporting in their medical history a reaction to the sting of a specific insect ( $p < 0.001$ )



### Wynik testów skórnych a stopień ciężkości reakcji po użądleniu

Dodatni wynik testu skórniego z jadem osy uzyskano u 86 spośród 96 pacjentów (89,6%), u których po użądleniu wystąpiła reakcja uogólniona. Wśród pacjentów, u których po użądleniu wystąpiła reakcja uogólniona dodatni wynik testu skórniego z jadem osy uzyskano już w teście punktowym u 51 (59,3%) osób. U 35 (40,7%) tych osób dodatni wynik testu uzyskano dopiero wykonując test śródskórny.

Wśród osób z reakcją uogólnioną I lub II stopnia dodatni wynik testu z jadem osy już na etapie wykonywania testów punktowych uzyskano u 20 (57,1%) osób, natomiast u 15 (42,9%) dopiero podczas wykonywania testów śródskórnych. Wśród osób z reakcją uogólnioną III lub IV stopnia dodatni wynik testu na etapie wykonywania testów punktowych uzyskano u 31 (60,8%) osób, natomiast u 20 (39,2%) dopiero podczas wykonywania testów śródskórnych. Różnice między częstościami dodatnich wyników testów skórnych z jadem osy z uwzględnieniem rodzaju i stężeń wykonywanych testów w grupach pacjentów z łagodniejszą i ciężką postacią reakcji uogólnionej nie były statystycznie istotne.

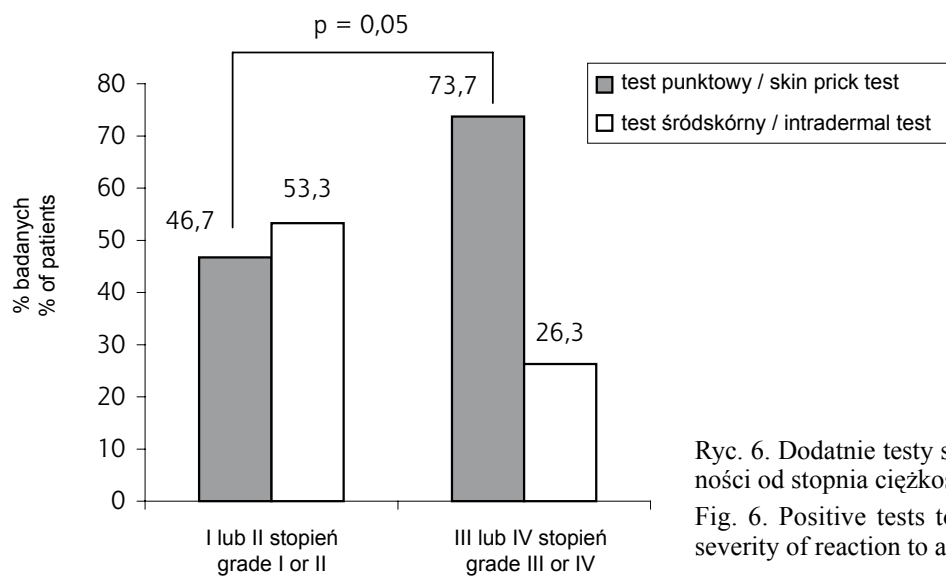
### Skin test result and reaction severity following a sting

A positive skin test to wasp venom was obtained in 86 patients (89.6%) out of 96 with a generalised reaction to a sting. In the group of these 96 patients, a positive result with wasp venom had already been obtained in the prick test in 51 patients (59.3%). In 35 patients (40.7%) from this group, a positive result was obtained when an intradermal test was performed.

In the group of patients with a generalised grade I or II reaction, 20 subjects (57.1%) already had a positive result to wasp venom at the stage of skin prick testing, whereas in 15 subjects (42.9%) a positive result was obtained at the stage of intradermal testing. In the group of patients with a generalised grade III or IV reaction, 31 subjects (60.8%) already had a positive result at the stage of skin prick testing, whereas in 20 subjects (39.2%) a positive result was obtained at the stage of intradermal testing. Differences between patients with mild and severe generalised reactions concerning the frequency of positive skin tests to wasp venom with regard to the test type and the concentration used were not statistically significant.

Dodatni wynik testu skórniego z jadem pszczoły uzyskano u 53 spośród 87 pacjentów (60,9%), u których po użądleniu wystąpiła reakcja uogólniona.

Wśród pacjentów, u których po użądleniu wystąpiła reakcja uogólniona dodatni wynik testu skórniego z jadem pszczoły uzyskano już w teście punktowym u 35 (66%) osób. U 18 (34%) tych osób dodatni wynik testu uzyskano dopiero wykonując test śródskórny. Wśród osób z reakcją uogólnioną I lub II stopnia dodatni wynik testu z jadem pszczoły już na etapie wykonywania testów punktowych uzyskano u 7 (46,7%) osób, natomiast u 8 (53,3%) dopiero podczas wykonywania testów śródskórnych. Wśród osób z reakcją uogólnioną III lub IV stopnia dodatni wynik testu na etapie wykonywania testów punktowych uzyskano u 28 (73,7%) osób, natomiast u 10 (26,3%) dopiero podczas wykonywania testów śródskórnych. Stwierdzono, że wśród osób z ciężką reakcją po użądleniu (III/IV stopień) dodatni wynik testu skórniego z jadem pszczoły już na etapie testu punktowego uzyskano częściej w porównaniu z osobami z reakcją łagodniejszą (I/II stopień) ( $p=0,05$ ) (ryc. 6).



Ryc. 6. Dodatnie testy skórne z jadem pszczoły w zależności od stopnia ciężkości reakcji po użądleniu

Fig. 6. Positive tests to bee venom with regard to the severity of reaction to a sting

Nie stwierdzono różnic częstości dodatnich wyników testów skórnych z jadami owadów w zależności od czasu, jaki upłynął pomiędzy użądleniem a wykonaniem testów.

### Testy skórne a reakcja dwufazowa

Wśród osób z reakcją dwufazową dodatni wynik testu z jadem osy lub pszczoły już na etapie testu punktowego uzyskano istotnie statystycznie częściej w porównaniu z osobami z reakcją jednofazową ( $p=0,006$ ). Dodatni wynik testu skórniego z jadem osy lub pszczoły uzyskano u 11 (100%) pacjentów, u których po użądleniu wystąpiła reakcja dwufazowa, w tym u wszystkich osób dodatni wynik testu uzyskano już na etapie testu punktowego. Spośród 178 pacjentów, u których po użądleniu stwierdzono

A positive skin test to bee venom was obtained in 53 patients (60.9%) out of 87 with a generalised reaction following a sting.

In this group, 35 patients (66%) already had a positive result with bee venom in the prick test. In 18 patients (34%), a positive result was obtained when an intradermal test was performed. In the group of patients with a generalised grade I or II reaction, 7 subjects (46.7%) already had a positive result to bee venom at the stage of skin prick testing, whereas in 8 subjects (53.3%) a positive result was obtained at the stage of intradermal testing. In the group of patients with a generalised grade III or IV reaction, 28 subjects (73.7%) already had a positive result at the stage of skin prick testing, whereas in 10 subjects (26.3%) a positive result was obtained at the stage of intradermal testing. It was observed that a positive result to bee venom already obtained at the stage of skin prick testing occurred more often in patients with a severe reaction to a sting (grade III or IV) compared to patients with a milder reaction (grade I or II),  $p=0.05$  (fig. 6).

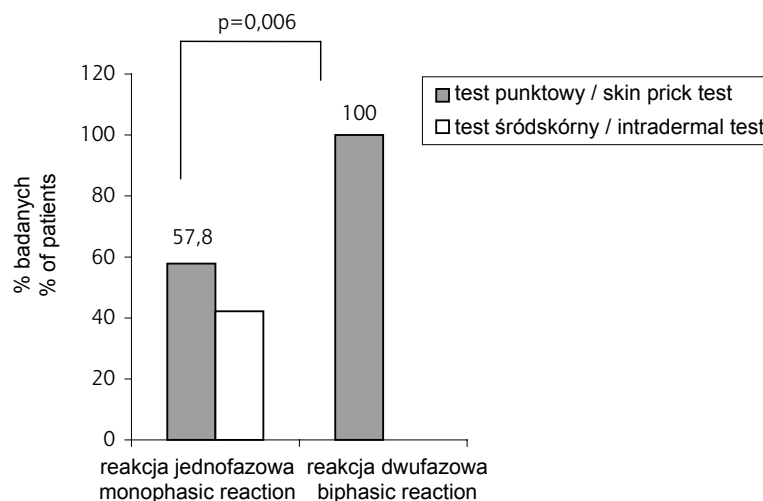
No significant differences in the number of positive skin test results with insect venom were observed with regard to the duration of the period between a sting and the performance of the tests.

### Skin tests and a biphasic reaction

A positive result with wasp or bee venom obtained already at the stage of skin prick testing occurred much more often in patients with a biphasic reaction compared to patients with a monophasic reaction ( $p=0.006$ ). A positive skin test to bee or wasp venom was obtained in 11 (100%) patients with a biphasic reaction following a sting, and for all the patients the positive result had already been obtained at the stage of prick testing. Out of 178 patients with a monophasic reaction following

dzono reakcję jednofazową, dodatni wynik testu skórniego z jadem osy lub pszczoły uzyskano u 135 (75,8%) osób, w tym u 78 (57,8%) na etapie testu punktowego, a u 57 (42,2%) dopiero wykonując test śródskórny. Analizując oddzielnie wyniki testów skórnych z jadem osy i pszczoły stwierdzono, że zależność ta była statystycznie istotna tylko w przypadku testów z jadem osy ( $p=0,04$ ) (ryc. 7).

a sting, 135 (75.8%) had a positive skin test to wasp or bee venom, including 78 patients (57.8%) with a positive result obtained at the stage of prick testing and 57 (42.2%) at the stage of intradermal testing. The analysis of skin test results that was performed separately for bee and wasp venom showed that the correlation was statistically significant only in tests with wasp venom ( $p=0.04$ ) (fig. 7).



Ryc. 7. Testy skórne z jadem osy lub pszczoły w zależności od fazowości reakcji po użądleniu

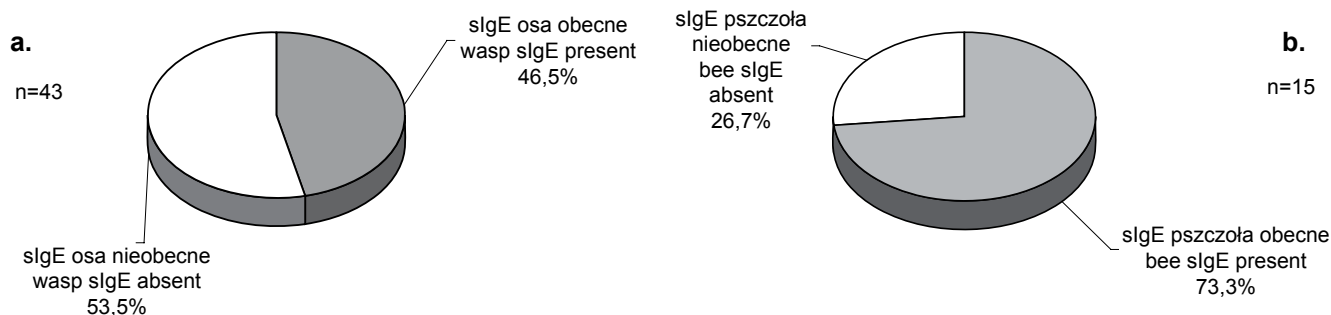
Fig. 7. Skin tests to wasp or bee venom with regard to the phasing of a reaction to a sting

#### Swoiste przeciwciała IgE w surowicy u pacjentów z dodatnimi testami skórnymi z alergenami jadów owadów

Spośród 43 pacjentów, którzy zidentyfikowali żądającego owada jako osę i u których uzyskano dodatni wynik testów skórnych z jadem osy, u 20 (46,5%) wykryto sIgE przeciwko alergenom jadu osy, w tym u 5 osób (25%) w 2 klasie, a u 15 (75%) w klasie 3 lub 4. Spośród 15 pacjentów, którzy zidentyfikowali owada jako pszczołę i u których uzyskano dodatni wynik testów skórnych z jadem pszczoły, u 11 (73,3%) wykryto sIgE przeciwko alergenom jadu pszczoły, w tym u 5 osób (45,4%) w 2 klasie, a u 6 (54,6%) w klasie 3 lub 4 (ryc. 8).

#### Specific IgE antibodies in serum of patients with positive skin tests to insect venom allergens

In the group of 43 patients who identified the stinging insect as being a wasp and had a positive skin test to wasp venom, sIgE against wasp venom allergens was detected in 20 subjects (46.5%), including 5 (25%) in class 2 and 15 (75%) in class 3 or 4. In the group of 15 patients who identified the stinging insect as being a bee and had a positive skin test to bee venom, sIgE against bee venom allergens was detected in 11 subjects (73.3%), including 5 (45.4%) in class 2 and 6 (54.6%) in class 3 or 4 (fig. 8).



Ryc. 8. Swoiste przeciwciała IgE w surowicy u chorych z wywiadem i dodatnimi testami skórnymi na osę lub pszczołę

a. obecność swoistych przeciwciał przeciw jadowi osy u chorych z reakcją po użądleniu przez osę i dodatnim testem skórnym z jadem osy  
b. obecność swoistych przeciwciał przeciw jadowi pszczoły u chorych z reakcją po użądleniu przez pszczołę i dodatnim testem skórnym z jadem pszczoły

Fig. 8. Specific IgE antibodies in serum of patients with, and positive skin tests to, wasp or bee venom or with a history of such tests

a. The presence of specific antibodies to wasp venom in patients with a reaction following a wasp sting, and with a positive skin test to wasp venom  
b. The presence of specific antibodies to bee venom in patients with a reaction following a bee sting, and with a positive skin test to bee venom

## DYSKUSJA

Przyjęcie jako kryterium dodatniego testu *in vitro* obecności sIgE wobec jednego z jadów w klasie II i wyższej pozwoliło na potwierdzenie uczulenia tylko u nieco ponad połowy (60,3%) pacjentów z reakcją alergiczną na użądlenie osy lub pszczoły mieści się w przedziale 50-80% podawanym przez innych autorów chorych [7,23,24,25]. Znacznie większy (70-90%) odsetek wyników dodatnich podają tylko prace w których za wynik dodatni przyjęto obecność sIgE już w 1 klasie [9,26,27].

U znaczącej liczby pacjentów koniecznym okazało się wykonanie testów skórnych z wyciągami alergenowymi jądów. Potwierdzenie testem skórnym wywiadu uzyskiwaliśmy częściej w alergii na jad osy (89,9% osób) niż na jad pszczoły (61,1% osób), co mieści się w przedziale (50-100%) podawanym przez innych autorów [7,10,17,28,29,30].

W większości publikacji dotyczących diagnostyki alergii na jad owadów autorzy używają pojęcia czułości i swoistości testów skórnych i metod *in vitro*. W naszej pracy celowo nie użyliśmy takich pojęć, a ograniczyliśmy się jedynie do określenia wartości procentowych dodatnich czy ujemnych wyników. Użycie pojęcia czułości czy swoistości byłoby możliwe, gdyby u wszystkich pacjentów wykonano testy skórne z jadami owadów (tak jak u wszystkich oznaczono sIgE w surowicy krwi), jak również gdyby podobne badania wykonano w grupie kontrolnej osób nie reagujących na użądlenie. Według przyjętej przez nas praktycznego podejścia testy skórne wykonywano dopiero w sytuacji gdy wynik sIgE w surowicy krwi był negatywny lub graniczny (1 klasa sIgE), a wywiad wskazywał na ciężką reakcję alergiczną.

W naszej pracy stwierdziliśmy, że sIgE w surowicy przeciwko alergenom jądów owadów występowały statystycznie istotnie częściej wśród mężczyzn (69,4%) niż wśród kobiet (54%), przy czym zależność ta nie była istotna kiedy uwzględniono jedynie sIgE przeciwko alergenom jadu pszczoły. Podobny związek pomiędzy obecnością sIgE a płcią wykazał także Bjornsson [31].

Nie stwierdziliśmy natomiast, podobnie jak inni autorzy [7,28], istotnych różnic pomiędzy wynikiem testów skórnych z jadem owadów a płcią. Jedynie Golden wykazał częstsze występowanie dodatnich wyników testów skórnych z jadem wśród mężczyzn, jednak ocenił on częstość ich występowania wśród osób bez klinicznych objawów po użądleniu [17].

Nie stwierdziliśmy istotnych różnic w obecności sIgE w surowicy ani częstości dodatnich testów skórnych w zależności od wieku badanych pacjentów, choć wg Muellera sIgE przeciwko alergenom jadu wykrywane są częściej u osób do 20 roku życia [7].

Stwierdziliśmy, że sIgE w surowicy przeciwko alergenom jadu osy ale nie pszczoły były obecne istotnie statystycznie częściej, u osób, u których po użądleniu wy-

## DISCUSSION

The presence of sIgE to one venom type in class 2 or a higher class used as the criterion for a positive *in vitro* test confirmed allergy in only about a half (60.3%) of patients with an allergic reaction to a wasp or bee sting, which is consistent with the data (50-80%) obtained by other authors [7,23,24,25]. A considerably higher number of positive results (70-90%) were obtained in studies that defined a positive result as the presence of sIgE already in class 1 [9,26,27].

In numerous patients, it was necessary to perform skin test with venom allergen extracts. A skin test more often confirmed allergy to wasp venom (89.9% of patients) than to bee venom (61.1%), which is consistent with data (50-100%) obtained by other authors [7,10,17,28,29,30].

In most publications concerning the diagnosis of insect venom allergy, the terms of test sensitivity and specificity are used with reference to skin testing and *in vitro* methods. We have deliberately avoided these terms in the present study and we have only presented percentage values of positive or negative results. It would be possible to use the terms of sensitivity or specificity, if skin tests to insect venom were performed in all patients (as was the case for the determination of serum sIgE) and if similar studies were conducted in a control group consisting of patients with no reactions to a sting. We assumed a practical approach in our study, which means that skin tests were performed only if the determination of serum sIgE gave a negative or borderline negative result (sIgE class 1) and a medical history indicated a severe allergic reaction.

We have observed that serum sIgE to insect venom allergens occurred significantly more often in men (69.4%) than in women (54%). This correlation, however, was not significant when sIgE to only bee venom allergens was taken into account. A similar correlation between the presence of sIgE and sex was also observed by Bjornsson [31].

Similarly to other authors [7, 28], we have not observed any significant differences between the results of skin tests to insect venom and sex. Only Golden reported a more frequent occurrence of positive tests to venom among men. However, he performed his studies in patients with no clinical symptoms following a sting [17].

We have not observed significant differences in the presence of serum sIgE or the frequency of positive skin test results depending on the age of the patients. According to Mueller, however, sIgE against venom allergens are detected more often in subjects below 20 years of age [7].

We have observed that serum sIgE to wasp (but not bee) venom allergens was significantly more often present in patients with a generalised reaction to a sting compared

stąpiła reakcja uogólniona niż miejscowa. Wielu autorów oceniało związek pomiędzy obecnością sIgE przeciwko alergenom jadu owadów błonkoskrzydłych a rodzajem reakcji po użądleniu. Większość z nich podaje, podobnie jak w naszej pracy, że sIgE przeciwko alergenom jadu w surowicy są obecne rzadziej wśród osób z reakcją miejscową niż uogólnioną oraz nie wykazuje związku pomiędzy sIgE a stopniem ciężkości reakcji uogólnionej [7,11,13,32]. Należy zaznaczyć, że w większości prac nie przeprowadzono oceny tych zależności oddzielnie dla osy i dla pszczoły. Nie stwierdziliśmy istotnych różnic częstości występowania dodatnich punktowych i śródskórnych testów z jadem osy lub związek stopnia ciężkości reakcji uogólnionej. Natomiast dodatni wynik testu z jadem pszczoły stwierdzaliśmy częściej wśród osób z ciężką reakcją po użądleniu już na etapie testu punktowego.

Podobnie do innych autorów stwierdziliśmy natomiast, że obecność sIgE w surowicy przeciwko alergenom jadu owadów ma istotny związek z czasem, jaki upłynął pomiędzy ich oznaczeniem a wystąpieniem reakcji po użądleniu [7,32,33]. Najwięcej dodatnich wyników uzyskaliśmy oznaczając sIgE w surowicy w ciągu pierwszego roku od użądlenia. Liczba dodatnich wyników zmalała istotnie już po upływie roku od użądlenia, a jeszcze bardziej po upływie 5 lat. Dane te wskazują, że swoiste przeciwciała IgE przeciwko alergenom jadów owadów należy oznaczać w ciągu pierwszego roku od użądlenia.

Nie stwierdziliśmy natomiast istotnych różnic w częstości dodatnich wyników testów skórnych z jadami owadów w zależności od czasu jaki upłynął pomiędzy ich wykonaniem a wystąpieniem reakcji po użądleniu. Część autorów, podaje stopniowe zmniejszanie się dodatnich wyników testów skórnych z jadem wraz z upływem czasu [34,35,36,37,38], jednak inni badacze twierdzą, że nawet po upływie 5 lat testy mogą pozostać dodatnie.

W naszej pracy stwierdziliśmy, że wśród pacjentów, którzy zidentyfikowali owada jako pszczołę obecność sIgE przeciwko alergenom jadu pszczoły wykrywano częściej niż u pacjentów, którzy zidentyfikowali owada jako osę. Podobnie inni autorzy podają częstsze występowanie sIgE przeciwko alergenom jadu pszczoły niż osy [7,39], co bywa tłumaczone lepszą jakością pozyskiwanego do celów diagnostycznych jadu pszczelego.

Nasze obserwacje świadczą także o dużej zgodności wyników badań dodatkowych z wywiadem dotyczącym identyfikacji owada oraz dowodzą, jak ważną pozostaje kwestia prawidłowej identyfikacji owada przez pacjenta.

Wcześniej publikowane badania wskazują, że czułość testów skórnych jest większa od czułości metod *in vitro* [7,10,17,28,29,30]. Oczywiście, zależy to od rodzaju stosowanych metod diagnostycznych, w tym od stężenia wyciągu alergenowego (im wyższe jego stężenie,

to u pacjentów z reakcją miejscową). Liczne autorzy badali korelację pomiędzy obecnością sIgE przeciwko alergenom jadu owadów błonkoskrzydłych a rodzajem reakcji po użądleniu. Większość z nich podaje, podobnie jak w naszej pracy, że sIgE przeciwko alergenom jadu w surowicy są obecne rzadziej wśród osób z reakcją miejscową niż uogólnioną oraz nie wykazuje związku pomiędzy sIgE a stopniem ciężkości reakcji uogólnionej [7,11,13,32]. Należy zaznaczyć, że w większości prac nie przeprowadzono oceny tych zależności oddzielnie dla osy i dla pszczoły. Nie stwierdziliśmy istotnych różnic częstości występowania dodatnich punktowych i śródskórnych testów z jadem osy lub związek stopnia ciężkości reakcji uogólnionej. Natomiast dodatni wynik testu z jadem pszczoły stwierdzaliśmy częściej wśród osób z ciężką reakcją po użądleniu już na etapie testu punktowego.

Podobnie do innych autorów stwierdziliśmy natomiast, że obecność sIgE w surowicy przeciwko alergenom jadu owadów ma istotny związek z czasem, jaki upłynął pomiędzy ich oznaczeniem a wystąpieniem reakcji po użądleniu [7,32,33]. Najwięcej dodatnich wyników uzyskaliśmy oznaczając sIgE w surowicy w ciągu pierwszego roku od użądlenia. Liczba dodatnich wyników zmalała istotnie już po upływie roku od użądlenia, a jeszcze bardziej po upływie 5 lat. Dane te wskazują, że swoiste przeciwciała IgE przeciwko alergenom jadów owadów należy oznaczać w ciągu pierwszego roku od użądlenia.

Nie stwierdziliśmy natomiast istotnych różnic w częstości dodatnich wyników testów skórnych z jadami owadów w zależności od czasu jaki upłynął pomiędzy ich wykonaniem a wystąpieniem reakcji po użądleniu. Część autorów, podaje stopniowe zmniejszanie się dodatnich wyników testów skórnych z jadem wraz z upływem czasu [34,35,36,37,38], jednak inni badacze twierdzą, że nawet po upływie 5 lat testy mogą pozostać dodatnie.

W naszej pracy stwierdziliśmy, że wśród pacjentów, którzy zidentyfikowali owada jako pszczołę obecność sIgE przeciwko alergenom jadu pszczoły wykrywano częściej niż u pacjentów, którzy zidentyfikowali owada jako osę. Podobnie inni autorzy podają częstsze występowanie sIgE przeciwko alergenom jadu pszczoły niż osy [7,39], co bywa tłumaczone lepszą jakością pozyskiwanego do celów diagnostycznych jadu pszczelego.

Nasze obserwacje świadczą także o dużej zgodności wyników badań dodatkowych z wywiadem dotyczącym identyfikacji owada oraz dowodzą, jak ważną pozostaje kwestia prawidłowej identyfikacji owada przez pacjenta.

Wcześniej publikowane badania wskazują, że czułość testów skórnych jest większa od czułości metod *in vitro* [7,10,17,28,29,30]. Oczywiście, zależy to od rodzaju stosowanych metod diagnostycznych, w tym od stężenia wyciągu alergenowego (im wyższe jego stężenie,

tym wzrasta czułość) [40,41]. Testy *in vitro* cechują się natomiast większą swoistością niż testy skórne [18,42]. Obecnie, testy skórne jak i badania *in vitro* w diagnostyce alergii na jad owadów błonkoskrzydłych są równorzędnymi metodami [38]. Chociaż generalnie czułość testów skórnych z jadami owadów jest większa niż czułość metod laboratoryjnych to u ok. 11-16% pacjentów z ujemnymi testami skórnymi mogą być obecne sIgE w surowicy [16,18,43,44].

W naszych badaniach nie stwierdziliśmy istotnych różnic pomiędzy obecnością sIgE przeciwko alergenom jadu osy lub pszczoły wśród osób, u których reakcja miała charakter dwufazowy i jednofazowy. Natomiast wśród osób z reakcją dwufazową, punktowy test skórny z jadem osy lub pszczoły był dodatni istotnie częściej w porównaniu z osobami z reakcją jednofazową. Zależność ta przestała być statystycznie istotna w przypadku testu tylko z jadem pszczoły, natomiast istotna różnica utrzymywała się dla jadu osy [45,46,47,48,49].

Podsumowując, nasze badania wykazały dużą zgodność wywiadu dotyczącego identyfikacji owada z wynikami pomiaru swoistych przeciwciał IgE w surowicy i oceny dodatnich wyników testów skórnych. Dla pełnej diagnostyki alergologicznej konieczne jest jednak wykorzystywanie zarówno metod oznaczania swoistych IgE *in vitro*, jak i w uzasadnionych przypadkach wykonywanie testów skórnych. Ocena badań diagnostycznych w alergii na jad owadów błonkoskrzydłych powinna uwzględniać całość obrazu klinicznego w tym charakter reakcji alergicznej i czas od jej wystąpienia

On the other hand, *in vitro* tests have higher specificity than skin tests [18,42]. Nowadays, skin tests have equal status to *in vitro* studies in the diagnosis of hymenoptera venom allergy [38]. Although the sensitivity of skin tests to insect venom is usually higher than that of laboratory methods, about 11-16% of patients with negative skin tests may have sIgE in serum [16,18,43,44].

We have not observed any significant differences in the presence of sIgE to wasp or bee venom between patients with biphasic and monophasic reactions, whereas a positive skin test to wasp or bee venom was obtained significantly more often in patients with a biphasic reaction, compared to those with a monophasic reaction. This correlation was not statistically significant if the tests were performed only with bee venom, but it remained significant in tests to wasp venom.

In conclusion, our studies have shown high compatibility of the medical history data concerning the insect identification with the results of specific IgE determination in serum and the positive skin test evaluation. To obtain a complete allergological diagnosis, however, it is necessary to use both *in vitro* methods for sIgE determination and skin tests in justified cases. The analysis of diagnostic studies concerning hymenoptera venom allergy should take into account the whole clinical picture, including the type of an allergic reaction and the time from its occurrence.

## Piśmiennictwo

1. Lockey R, Andrade J. Adverse reactions to skin testing and immunotherapy using venom and whole body extracts. Monograph on insect allergy. AAAI. ed. M Levine, R. Lockey. D. Lambert associates. Pittsburg 1995.
2. Kowalski ML, Woźniak M. Reakcje anafilaktyczne w trakcie wykonywania diagnostycznych testów skórnych z jadami owadów błonkoskrzydłych. *Alergia Astma Immunologia* 1997; 2: 107-111.
3. Schuller DE, Sutton PL. Venom skin testing and alteration of RAST-levels. *Ann Allergy* 1981; 47: 84-86.
4. Mosbech H. Insect Allergy: A comparative study including case histories and immunological parameters. *Allergy* 1984; 39: 543-549.
5. Harries MG, Kemeny DM, Youlten LJJ et al. Skin and radioallergosorbent tests in patients with sensitivity to bee and wasp venom. *Clin Allergy* 1984; 14: 407-412.
6. Jeep S, Reiprich G, Kunkel G. Yellow jacket allergy. Comparison of skin prick tests and intradermal tests with three different yellow jacket venom extracts. *Allergy* 1992; 47: 35-40.
7. Mueller UR. Insect Sting Allergy. Gustav Fischer, Stuttgart, New York 1990.
8. Fernandez J, Blanca M, Soriano V 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.
9. Hoffman DR. Honey bee venom allergy: Immunological studies of systemic and large local reactions. *Ann Allergy* 1978; 41: 278-282.
10. Patrizzi R, Mueller U, Yman L et al. Comparison of skin tests and RAST for the diagnosis of bee sting allergy. *Allergy* 1979; 34: 249-256.
11. Yunginger JW, Jones BS, Leiferman KM et al. Immunological and biochemical studies in beekeepers and their family members. *J Allergy Clin Immunol* 1978; 61: 93-101.
12. Mueller U, Spiess J, Roth A. Serological investigation in Hymenoptera sting allergy: IgE and haemagglutinating antibodies against bee venom in patients with bee sting allergy, beekeepers and non-allergic blood donors. *Clin Allergy* 1977; 7: 57-64.
13. Light WC, Reisman RE, Shimizu M et al. Unusual reactions following insect stings. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 59: 391-397.
14. Mueller U, Roth L, Yman L et al. Use of RAST technique in wasp sting hypersensitivity. *Allergy* 1978; 33: 197-202.
15. Schwartz HJ, Lockey RF, Sheffer AL et al. A multicenter study on skin-test reactivity of human volunteers to venom as compared with whole body Hymenoptera antigens. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 67: 81-85.
16. Golden DBK, Tracy JM, Freeman TM et al. Negative venom skin test results in patients with histories of systemic reaction to a sting. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 10: 495-498.

17. Golden DBK, Marsh D, Kagey-Sobotka A et al. Epidemiology of insect venom sensitivity. *JAMA* 1989; 262: 240-244.
18. Day JH, Buckeridge DL, Welsh AC. Risk assesment in determining systemic reactivity to honneybee stings in sting-threatened individuals. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 691-705.
19. Parker JL, Santrach PJ, Dahlberg MJE et al. Evaluation of Hymenoptera sting sensitivity with deliberate sting challenges: The inadequacy of present diagnostic methods. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 69: 200-7.
20. Sobotka AK, Adkinson NF, Valentine MD et al. Allergy to insect stings. Diagnosis by Radioallergosorbent Test (RAST). *J Immunol* 1978; 121: 2477-2484.
21. Hoffman DR. Comparison of the radioallergosorbent test to intradermal skin testing in the diagnosis of stinging insect venom allergy. *Ann Allergy* 1979; 43: 211-3.
22. Smorawska-Sabanty E, Kowalski ML. Reakcje nadwrażliwości na jad owadów błonkoskrzydłych: charakterystyka kliniczna i dwufazowość reakcji po użądleniu. *Alergia Astma Immunologia* 2008; 13: 151-160.
23. Mueller UR. Hymenoptera venom hypersensitivity: an update. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 4-6.
24. Stuckey M, Cobain T, Sears M et al. Bee-venom hypersensitivity in Busselton. *Lancet* 1982; ii:41.
25. Blaser K. Allergen dose dependent cytokine production regulates specific IgE and IgG antibody production. *Adv Exp Med Biol* 1996; 409: 295-303.
26. Graft DF, Schubert KC, Kagey-Sobotka AK et al. A prospective study of the natural history of large local reactions after Hymenoptera stings in children. *J Pediatr* 1984; 104: 664-668.
27. Hoffman DR. Fatal reactions to hymenoptera stings. *Asthma Allergy Proc* 2003; 24: 123-7.
28. Grigoreas CH, Galatas ID, Kiamouris CH et al. Insect-venom allergy in Greek adults. *Allergy* 1997; 52: 51-57.
29. Golden DBK, Kagey-Sobotka A, Norman PS et al. Insect sting allergy with negative venom skin test responses. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 26: 897-901.
30. Light WC. Insect sting fatality 9 years after venom treatment. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 925.
31. Bjornson E, Jansson C, Plaschke P et al. Venom allergy in adult Swedes: a population study. *Allergy* 1995; 50: 800-5.
32. Nittner-Marszalska M. *Alergia na jad owadów błonkoskrzydłych*. Mediton, Łódź 2003.
33. Golden DBK. Epidemiology of allergy to insect venoms and stings. *Allergy Proc* 1989; 10: 103-7. Review.
34. Zora JA, Swanson MC, Yunginger JW. A study of the prevalence and clinical significance of venom-specific IgE. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81: 77-82.
35. Schuberth KC, Graft DF, Kwiterovich AK et al. Discontinuation of venom immunotherapy in children. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 189.
36. Schuberth KC, Kwiterovich AK, Szklo M et al. Sequelae of accidental stings in children who stop venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 77: 179.
37. Randolph CC, Reisman RE. Evaluation of decline in seum venom-specific IgE as a criterion for stopping venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 77: 823-827.
38. Urbanek R, Forster J, Kuhn W et al. Discontinuation of bee venom immunotherapy in children and adolescents. *J Pediatr* 1985; 107: 367-371.
39. Leimgruber A, Lantin JP, Frei PC. Comparison of two in vitro assays RAST and CAP, when applied to the diagnosis of anaphylactic reactions to honeybee or yellow jacket venoms: correlation with history and skin tests. *Allergy* 1993; 48: 415-20.
40. Reisman RE, Georgitis JW. Frequency of positive venom skin tests in insect-allergic and non-allergic populations. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73 (abstr): 187.
41. Day JH. A comparison of venom concentration of 0,1 mcg/ml and 1,0 mcg/ml as indicator of sensitivity to honey bee sting. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 77: 142.
42. Reisman RE. Insect sting allergy: the dilemma of the negative skin test reactor. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 781-2.
43. Charpin D, Vervloet D, Haddi E et al. Prevalence of allergy to hymenoptera stings. *Allergy Proc* 1990; 11: 29-32.
44. Hamilton RG, Golden DB, Kagey-Sobotka A et al. Case report of venom immunotherapy for patient with large local reactions. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 87: 134-7.
45. de Graft-in't Veld C et al. Nasal responsiveness to allergen and histamine in patients perennial rhinitis with and without a late phase response. *Thorax* 1997; 52: 143-8.
46. Godthelp T et al. Dynamics of nasal eosinophils in response to a nonnatural allergen challenge in patients with allergic rhinitis and control subjects: a biopsy and brush study. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 800-11.
47. Pastorello EA et al. Comparison of rhinomanometry, symptom score and inflammatory cell counts in assessing the nasal late-phase reaction to allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 85-92.
48. Ciprandi G et al. Protective effect of loratadine on late phase reaction induced by conjunctival provocation test. *Int Arch Allergy Immunol* 1993; 100: 185-9.
49. Oyama K. Cutaneous late-phase reaction to environmental antigen in patients with atopic dermatitis. *Dermatology* 1993; 187: 182-5.