ALEXANDRA SAYURI WATANABE

**Revisão sistemática: imunoterapia específica para venenos
de *Hymenoptera***

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Alergia e Imunopatologia

Orientador: Dr. Luiz Augusto Marcondes Fonseca

São Paulo

2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Watanabe, Alexandra Sayuri

Revisão sistemática : imunoterapia específica para venenos de *Hymenoptera* /
Alexandra Sayuri Watanabe. -- São Paulo, 2006.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Alergia e Imunopatologia.

Orientador: Luis Augusto Marcondes Fonseca.

Descritores: 1.Imunoterapia 2.Dessensibilização imunológica 3.Himenópteros
4.Revisão acadêmica [Tipo de publicação]

USP/FM/SBD-258/06

Dedicatória

Dedico esse trabalho aos meus pais (Regina e Kiitiro),
importantíssimos na minha vida; aos meus irmãos (Hi, Nê e Telma); aos
meus sobrinhos (Breno, Thiago, João Vítor, Shuji e Emy) e ao meu noivo,
Fabio, que será meu marido depois que eu entregar essa dissertação...

Agradecimentos

Ao Dr. Luiz Augusto pela constante orientação, disponibilidade e paciência, principalmente em me ensinar novamente epidemiologia e estatística.

Ao Prof. Dr. Fabio F. Morato Castro pela constante preocupação em ensinar e incentivar. Mesmo com tudo o que faz, sempre tem tempo para seus alunos...

Ao Prof. Dr. Jorge Kalil pela possibilidade de retorno a carreira científica no lugar que fiz toda minha graduação e pela disponibilidade de discussão de nossos projetos.

À Sílvia Esher pelos primeiros ensinamentos na imunoterapia e que é uma pessoa muito especial e muito iluminada.

Ao Dr. Clóvis E. Galvão que sempre me ajuda quando tenho dúvidas, uma pessoa que eu tenho muito respeito e admiração.

À minha amiga Ariana C. Yang pelo constante sorriso, apoio e por tornar o dia a dia de trabalho bem mais alegre.

À minha amiga Adriana Lira Marques que, assim como a Ariana, tem sempre um abraço apertado e um sorriso no rosto.

À querida Tânia pela força e confiança principalmente quando eu fiz as primeiras ligações para me informar sobre o estágio de observadora... Valeu, Tânia.

Aos funcionários do Serviço de Imunologia do Hospital das Clínicas, da Disciplina de Imunologia Clínica e Alergia da Faculdade de Medicina da USP: Serafim, Genair, Rosana, Leoni e todos os que sempre me ajudam no ambulatório; pela colaboração, paciência e resolução dos problemas.

Aos funcionários e coordenadores do Centro Cochrane do Brasil pela constante ajuda e disponibilidade em resolver as minhas dúvidas.

Aos estagiários e residentes da Imunologia Clínica e Alergia e da Pediatria pela ajuda nas manhãs de terça-feira.

“- Se o cafezinho foi bom, melhor não aceitar o segundo: será sempre pior que o primeiro.

Como tudo mais nessa vida: uma viagem, uma mulher: não repetir, pois a emoção jamais será a mesma da primeira vez. E não desanimar, pois se nascemos nus e estamos vestidos, já estamos no lucro. Nada neste mundo é cem por cento perfeito.

Se contamos com mais de cinquenta por cento, também já estamos no lucro.

Quando conseguimos o que é apenas bom, naturalmente devemos continuar aspirando o melhor, se possível - mas perfeição absoluta, só Deus. E creio que Seu Domingos, homem íntegro, reto e temente a Deus, hoje em Sua companhia, não consideraria sacrilégio comentar, naquele seu jeito ladino:

- E assim mesmo, olhe lá...”

(“Fernando Sabino - Obra Reunida, Vol. III”)

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *Internacional Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de ^a L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2^a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de abreviaturas

Lista de figuras

Lista de quadros

Resumo

Summary

1 Introdução	1
1.1 Taxonomia	2
1.2 Características de cada grupo	3
1.3 Quantidade de veneno por ferroada	6
1.4 Composição dos venenos	7
1.5 Epidemiologia	9
1.6 Fatores de risco	11
1.7 História natural	12
1.8 Manifestações clínicas	14
1.9 Diagnóstico	15
1.10 Tratamento	18
1.11 Justificativa do estudo	23
1.12 Colaboração Cochrane	25
2 Objetivo	28
3 Método	29
3.1 Tipo de estudo	29
3.2 Tipos de participantes envolvidos nos estudos	30
3.3 Tipos de intervenções	30
3.4 Tipos de desfechos avaliados	30
3.5 Localização dos estudos	31
3.6 Estratégia de busca para identificação dos estudos	33
3.7 Métodos da revisão	36
3.8 Coleta dos dados	38
3.9 Considerações estatísticas	39
3.10 Atualização e aprimoramento da revisão sistemática	40
4 Resultados	41
4.1 Descrição dos estudos	41
4.2 Qualidade metodológica	49
4.3 Resultado dos desfechos estudados	54
5 Discussão	57
5.1 Implicações para a prática clínica	58
5.2 Trabalhos não incluídos na metanálise	60
5.3 Outras informações relevantes	63
5.4 Implicações para a pesquisa clínica	65
6 Conclusões	66
7 Referências Bibliográficas	72

Lista de Abreviaturas

ed. – edição

et al. – e outros

fig. – figura

Lista de Figuras

Figura 1. Taxonomia da ordem *Hymenoptera*

Figura 2. Fluxograma da estratégia da revisão sistemática (adaptado de Ross SD, Allen E, Harrison KJ, Kvasz M, Connelly J, Sheinhait IA. *Systematic review of the literature regarding the diagnosis of sleep apnea*. Evidence report number 1 (Contract290-97-0016 to Metaworks, Inc.) Rockville MD: Agency for Health Care Policy andResearch. February 1999).

Figura 3. Fluxograma da realização da revisão sistemática

Figura 4. Metanálise dos dois estudos (Schubert et al. e Valentine et al), comparando imunoterapia com veneno de *Hymenoptera* contra seguimento de pacientes no tratamento de crianças que apresentaram reações sistêmicas restritas a pele conseqüentes à primeira ferroada. Apresentação dos resultados da variável “reações sistêmicas após término do tratamento” por meio do “odds ratio” e do intervalo de confiança de 95%. (Método randômico de Peto)

Lista de Quadros

Quadro 1. Risco de reação sistêmica a nova ferroada de *Hymenoptera* em pacientes sensibilizados, não-tratados com imunoterapia, segundo idade e gravidade de reação à primeira ferroada

Quadro 2. Essência do diagnóstico

Quadro 3. Diretrizes atuais: Indicações da imunoterapia segundo a gravidade da reação alérgica

Quadro 4. Características dos estudos incluídos

Quadro 5. Estudos excluídos e as respectivas razões para a exclusão

Quadro 6. Comparação da qualidade metodológica segundo as escalas Cochrane e de Jadad dos estudos incluídos

Quadro 7. Metanálise dos dois estudos (Schubert et al. e Valentine et al.) comparando imunoterapia com veneno de *Hymenoptera* (grupo experimental) versus seguimento de pacientes (grupo controle). Apresentação dos resultados da variável reações sistêmicas em teste de provocação ou por ferroada acidental após término da imunoterapia por meio do odds ratio e do intervalo de confiança de 95%.

Resumo

Watanabe AS. *Revisão sistemática: imunoterapia específica para venenos de Hymenoptera* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo;2006.

A hipersensibilidade a veneno de *Hymenoptera* representa importante problema do ponto de vista de saúde da população, uma vez que pacientes alérgicos aos componentes do veneno podem desenvolver reações graves, às vezes fatais. A única profilaxia efetiva em pacientes sensibilizados é a imunoterapia veneno específica.

Objetivos: avaliar as evidências científicas a respeito dos efeitos da imunoterapia específica utilizada na profilaxia secundária das reações graves em pacientes sensibilizados a veneno de *Hymenoptera*, por meio da realização de uma revisão sistemática.

Métodos: a estratégia de busca seguiu as recomendações do Grupo de Pele da Colaboração Cochrane. A pesquisa foi realizada nas seguintes bases de dados: MEDLINE, the Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL, The Cochrane Library), EMBASE, LILACS, SciSEARCH e nas referências de artigos mais relevantes. Todos os ensaios clínicos controlados e randomizados envolvendo imunoterapia com veneno de *Hymenoptera* versus imunoterapia com placebo ou apenas seguimento dos pacientes foram avaliados. Dois revisores de forma independente (ASW e LAMF) avaliaram a elegibilidade e a qualidade metodológica de cada ensaio clínico e extraíram os dados. O risco de reações sistêmicas, conseqüentes a ferroadada acidental ou a teste de provocação com o inseto responsável, após a imunoterapia específica, foi avaliado por meio do cálculo do *odds ratio* e do respectivo intervalo de confiança de 95%.

Resultados: 2267 resumos foram identificados. A maioria dos artigos foi excluída pelas seguintes razões: os estudos não eram controlados e randomizados ou não satisfaziam alguns critérios de inclusão. Apenas quatro estudos foram analisados. A idade dos pacientes variou entre dois e 65 anos. Apenas um estudo comparou imunoterapia com veneno de formiga contra placebo (Brown et al.) e três estudos (Hunt et al., Schubert et al. e Valentine et al.) comparam imunoterapia com venenos de abelha e vespa contra placebo ou seguimento de pacientes. Em cada estudo, o *odds ratio* para reações sistêmicas foi: Hunt et al.- Grupo I (veneno) x III(placebo): 0,10 (0,01<OR<0,68) Schubert et al.: 0,35 (0,05<OR<2,56); Valentine et al.: 0,16 (0,02<OR<1,21) e Brown et al.: 0,04 (0,01<OR<0,28). Após o teste de heterogeneidade, apenas dois estudos (Schubert 1983 e Valentine 1990) se mostraram homogêneos o suficiente e assim puderam ser incluídos na meta-análise ($p=0,623$). Ao combinar os dois estudos, o *odds ratio* passou a ser significativo: 0.29 (0.10 a 0.87). Entretanto, ao analisar a gravidade das reações ocorridas após a imunoterapia, observou-se que os benefícios podem não ser tão relevantes, pois as reações foram, na grande maioria, ou mais leves ou semelhantes à reação original.

Conclusões: A imunoterapia específica deve ser recomendada para adultos que apresentaram reações sistêmicas e para crianças com reações moderadas a graves, porém não é necessária em crianças que apresentaram apenas reações cutâneas após ferroadada de abelha ou vespa, principalmente se a exposição for esporádica.

Descritores: 1.Imunoterapia 2.Dessensibilização imunológica, 3.Himenópteros 4.Revisão acadêmica [Tipo de publicação].

Summary

Watanabe AS. *Systematic review: specific immunotherapy for Hymenoptera venoms* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2006.

Background: *Hymenoptera* venom hypersensitivity is a significant public health problem. For patients who are allergic to components of the venom, reactions can be severe and sometimes fatal. The only effective treatment in the management of those patients is the specific venom immunotherapy.

Objective: to assess the effects of the specific venom immunotherapy for *Hymenoptera* venom hypersensitivity through a systematic review.

Methods: the standard search strategy of the Cochrane Skin Group was used for searches of electronic and other databases. These included MEDLINE, the Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL, The Cochrane Library), EMBASE, LILACS, SciSEARCH and the references of relevant articles. All randomized controlled trials involving *Hymenoptera* venom immunotherapy versus immunotherapy with placebo or only follow-up of the patients were included. Two independent reviewers (ASW and LAMF) assessed the eligibility, and the methodological quality of each trial, and extracted the data. Post immunotherapy risk of systemic reactions after either challenge or accidental stings was calculated through the odds ratio and respective 95 percent confidence interval.

Main results: 2,267 abstracts, identified through electronic sources, were assessed. Most articles were excluded for the following reasons: the studies did not satisfy all the inclusion criteria or they were not randomized controlled trials. Four studies were included on this review. The age of the participants varied between two and 65 years. Only one study compared ant venom immunotherapy with placebo (Brown et al.) and three studies (Hunt et al., Schubert et al. and Valentine et al.) compared bees and wasps immunotherapy with placebo or simply patient follow-up. In each study, the odds ratio to a systemic reaction was: Hunt et al.- Group I (venom) x III(placebo): 0,10 (0,01<OR<0,68) Schubert et al.: 0,35 (0,05<OR<2,56); Valentine et al.: 0,16 (0,02<OR<1,21) and Brown et al.: 0,04 (0,01<OR<0,28). After the heterogeneity test ($p=0,623$), only two studies (Schuberth 1983 and Valentine 1990) were homogeneous enough as to be included in a meta-analysis. The summary odds ratio was 0.29 (IC 95%: 0.10 - 0.87). However, when the severity of the reaction occurring after the sting challenge or accidental sting was taken into account, the benefits were not so relevant because the reactions were, for the most, milder than the original one.

Conclusions: The specific-venom immunotherapy must be recommended for adults with systemic reactions and for children with moderate to severe reactions, but there is no need to prescribe it for children who present only skin reactions after insects sting, particularly if the exposure is sporadic.

Descriptors: 1. Immunotherapy 2.Immunologic desensitization 3.*Hymenoptera* 4. Academic review[Publication type].

1 Introdução

Os insetos da ordem *Hymenoptera* responsáveis por reações alérgicas que podem chegar à anafilaxia incluem membros da família *Vespidae* (vespas), *Apidae* (abelhas) e *Formicidae* (*Solenopsis* spp – lavapés ou formigas de fogo). Nessas famílias estão agrupados *Hymenoptera* cujo ovipositor perdeu sua função, servindo apenas como ferrão para defesa e imobilização de seus inimigos.

Polistinae apresenta forma mais ovalada. As espécies mais importantes na Europa são as do gênero *Vespula*. Entre os insetos sociais, as formigas foram as que mais se adaptaram às cidades. De duas mil espécies de formigas descritas no Brasil, 20 a 30 são consideradas pragas urbanas, causando prejuízos no campo e nas cidades e danos à saúde pública, principalmente quando invadem hospitais, pois podem atuar como vetores mecânicos, transportando microorganismos patogênicos.

1.2 Características de cada grupo

1.2.1 Abelhas

No mundo existem 20 mil espécies de abelhas, entre as de mel e as sem-ferrão, estas últimas pertencentes ao grupo das meliponídeas, das quais várias espécies são nativas do Brasil.

O início da apicultura brasileira ocorreu em 1939 com a introdução da abelha européia *Apis mellifera mellifera* e, posteriormente, da *Apis mellifera ligustica*. Eram mansas e não muito produtivas. Em 1956, o governo brasileiro encarregou o Ministério da Agricultura de importar uma raça africana mais produtiva, com a intenção de melhorar a produção de mel no país. Houve, depois, acidentalmente, o cruzamento das abelhas européias

com as africanas, originando as chamadas abelhas africanizadas, muito mais produtivas e mais agressivas do que as européias puras. Adaptaram-se muito bem ao nosso clima, porém, devido a seu comportamento mais agressivo, houve a necessidade de os apicultores modificarem roupas, material de trabalho e a disposição das colméias. Nos períodos do ano em que a temperatura média é alta e o índice pluviométrico é baixo em São Paulo, principalmente na primavera e no verão, as abelhas encontram-se mais ativas e agressivas, conseqüentemente provocando mais acidentes².

Organizadas em castas, as abelhas formam colméias de 50 mil a 100 mil indivíduos, com apenas uma rainha, algumas centenas de machos e uma grande maioria de operárias, que fazem a divisão do trabalho.

1.2.2 Vespas

Há 10 mil espécies de vespas no mundo, das quais 5% são sociais. No Brasil, existem cerca de 500 dessas espécies sociais, mas poucas delas causam problemas conseqüentes a ferroadas no ser humano.

As vespas sociais exibem dois comportamentos básicos de construção de seus ninhos: o primeiro caracterizado por colônias com um único favo fixado em alguma superfície, e o outro, por colônias que constroem dois ou mais favos, abertos ou fechados, envolvidos por uma cobertura denominada envelope.

Em ninhos abertos, fundam nova colônia com apenas uma fêmea-rainha. Nos ninhos fechados, formam enxames, constituídos por uma ou mais rainhas e um grupo de operárias. Alimentam-se de néctar e de larvas de outros insetos, sendo consideradas eficientes controladores biológicos de pragas. Algumas colônias de vespas podem atingir mais de 200 mil indivíduos adultos.

Elas têm preferência por se instalar em edificações, principalmente beirais de paredes. A espécie *Agelaia vicina*, por exemplo, pode construir ninhos de até 1,8 metros de altura e 3,5 metros de circunferência.

1.2.3 Formigas

Esse grupo apresenta distribuição mundial, constituindo-se nos mais abundantes insetos sociais. Até o momento estima-se haver pelo menos 10^{15} formigas espalhadas pelo mundo, contabilizando maior número de gêneros e espécies conhecidos do que qualquer outro grupo eusocial combinado³. Alguns estudos mostram que as formigas são importantes para aeração do solo, polinização, dispersão e proteção de várias plantas, inclusive algumas que cultivamos⁴. Do ponto de vista médico, os eventos mais importantes envolvem as ferroadas de formigas em pessoas e as conseqüentes reações que podem ocorrer. Embora a maioria das reações alérgicas ocorra após a ferroadas das chamadas formigas-de-fogo ou lavapés

(*Solenopsis* sp), há também risco associado com outras espécies de formigas.

Além das *Solenopsis*, outros gêneros, episodicamente, podem estar envolvidos nas reações alérgicas graves, incluindo *Formica*, *Myrmecia*, *Tetramorium*, *Pogonomyrmex*, *Pachycondyla*, *Odontomachus*, *Rhytidoponera*, *Pseudomyrmex* e *Hypoconera*⁵.

1.3 Quantidade de veneno por ferroada

A quantidade de veneno liberada durante uma ferroada varia de espécie para espécie e mesmo dentro da mesma espécie: ferroadas de abelhas liberam em média de 50µg a 140µg de veneno por ferroada, embora o conteúdo total do saco de veneno possa ser de 300µg ou mais. A subfamília Vespinae geralmente injeta menor quantidade de veneno por ferroada: ferroadas do gênero *Vespula* liberam 1,7 a 3,1 µg do veneno; do gênero *Dolichovespula* 2,4 a 5,0µg, e do gênero *Polistes*, 4,2 a 17µg do veneno. O saco de veneno seco pode conter até 260µg^{6,7,8}.

1.4 Composição dos venenos

1.4.1 Veneno de abelhas

Constituído por misturas complexas de aminas biogênicas, peptídeos e proteínas de alto peso molecular (PM), em sua maioria enzimas. O alérgeno mais importante do veneno de abelhas é a fosfolipase A2 (Api m1), uma glicoproteína com 134 resíduos de aminoácidos, cuja atividade está relacionada com a lise de membranas. Compreende 12-15% do peso do veneno seco⁹.

Outro alérgeno importante no veneno de abelhas é a hialuronidase (Api m2), que compartilha 50% de homologia com a hialuronidase do veneno de vespas. Sua propriedade é a de hidrolisar o ácido hialurônico, facilitando dessa forma, a difusão do veneno através do tecido conectivo¹⁰. A melitina (Api m3) é o principal componente do veneno e pode representar até 50% do peso do veneno seco, apresentando 26 resíduos de aminoácidos. Tem a capacidade de lisar diversas células, como hemácias, hepatócitos e leucócitos¹¹. A fosfatase ácida é uma enzima de 49kDa, que já foi parcialmente clonada e seqüenciada¹². O veneno pode conter ainda 1-2% de Api m VI, que consiste de 71 aminoácidos¹³, apamina, formada por 18 resíduos de aminoácidos, sendo um peptídeo neurotóxico que atua sobre as membranas pós-sinápticas do sistema nervoso (central e periférico), e um

peptídeo degranulador de mastócitos, composto de 22 resíduos de aminoácidos, implicado direta ou indiretamente na liberação de histamina. Existem, ainda, nos venenos de abelha, outros peptídeos, aminas biogênicas (histamina, serotonina, dopamina e noradrenalina), lipídios, carboidratos e aminoácidos livres¹⁴.

1.4.2 Veneno de vespas

Os principais alérgenos do veneno de vespas são: fosfolipase A1 (Ves v 1), hialuronidase (Ves v 2) e antígeno 5 (Ves v 5)^{15,16}. Eles têm sido muito estudados e são semelhantes aos das abelhas em determinados componentes.

A fosfolipase A1 compreende 6-14% do peso total do veneno seco¹⁷ e o antígeno 5, peso molecular de 25.000 daltons, é o principal alérgeno presente em todos os venenos de vespas¹⁸. Também estão presentes os mastoparanos, desgranuladores de mastócitos, e substâncias farmacologicamente ativas, como histamina, serotonina, dopamina e noradrenalina.

1.4.3 Veneno de formigas

As formigas apresentam uma diversidade enorme de venenos, desde soluções simples com poucos componentes até misturas protéicas complexas. Além das enzimas comuns a outros grupos de *Hymenoptera*, as formigas podem apresentar em seus venenos algumas substâncias ácidas com potente ação citotóxica¹⁹.

O veneno de *Solenopsis* contém quatro alérgenos conhecidos: fosfolipase A1 (Sol i 1), Sol i 2 (2/3 da concentração total de proteínas), antígeno 5 (Sol i 3) e Sol i 4 (8 a 10% da concentração da proteína total do veneno). A fosfolipase A1 apresenta homologia parcial com a fosfolipase A1 do veneno de vespa e a Sol i 3 tem aproximadamente 50% de homologia com o antígeno 5 do veneno de vespa¹⁵.

1.5 Epidemiologia

Apesar do uso de venenos purificados e da melhoria no diagnóstico e no tratamento, a alergia a veneno de *Hymenoptera* ainda é importante do ponto de vista epidemiológico: 0,15 a 8% da população geral têm uma história pessoal de reações sistêmicas²⁰. O intervalo grande pode ser decorrente de vários fatores, como: idade da população estudada,

localização geográfica, coleta dos dados, dificuldade em excluir reações não-alérgicas, grau de exposição aos insetos e falta de informação da população em geral e dos médicos sobre as reações alérgicas. Em crianças, a prevalência é menor: inquéritos realizados com jovens escoteiros nos Estados Unidos²¹ e com crianças na Europa (7 a 10 anos)²² resultaram em prevalências de 0,15 a 0,3%.

Quanto às reações locais extensas, a taxa varia de 2,4% a 76,6% nos diferentes estudos, sendo que, em crianças a prevalência é 19,6% e em apicultores, 38,8%. O intervalo grande (2,4% a 76,6%) pode ser decorrente de vários fatores, como: idade da população estudada, localização geográfica, forma de coleta dos dados, dificuldade de excluir reações não-alérgicas, grau de exposição aos insetos e da falta de informação da população em geral e dos médicos sobre as reações alérgicas.

Quanto à mortalidade, também existe variação nos números, dependendo de fatores como: características geográficas do local, densidade de insetos, hábitos da população e do sistema de registro de óbitos. Nos EUA são registradas cerca de 40 mortes/ano²³ e na Europa estima-se que o número esteja em torno de 100 mortes/ano²⁴. No Brasil, pelos dados do Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, entre os anos de 1993 e 2005, foram registrados 8376 acidentes causados por abelhas, sendo que 15% dos pacientes apresentaram reações moderadas a graves, com 24 óbitos.

1.6 Fatores de risco

As reações sistêmicas a veneno de *Hymenoptera* podem ocorrer na população em geral, tanto rural quanto urbana. Adultos jovens e do gênero masculino (2 homens : 1 mulher) são ferroados mais freqüentemente e por isso apresentam risco mais elevado de reação. Esse aumento de risco com a idade está particularmente relacionado a comorbidades, especialmente à presença de doenças cardiovasculares; pacientes que fazem tratamento com beta-bloqueadores e inibidores da enzima de conversão da angiotensina também apresentam maior risco^{25,26}.

O tipo de inseto envolvido também eleva as chances de reação, pois ferroadas por abelhas demonstram maior gravidade^{26,27}.

Pacientes com Mastocitose, mesmo não alérgicos, são predispostos a reações graves após ferroadas de himenópteros^{28,29}. Quanto à atopia, a possibilidade de ser fator de risco para reações alérgicas tem sido bastante estudada e aceita por vários autores^{22,30,31}.

Um grupo interessante de estudo são os apicultores, pois são freqüentemente ferroados por abelhas e por longo período de tempo. Na literatura mundial, muitos autores consideram os apicultores um grupo de risco para manifestações alérgicas por venenos de abelhas. Porém, em 1995, foi realizado um estudo com 78 apicultores pelo Grupo de Alergia a Venenos de Insetos do Hospital das Clínicas (setor de Imunologia Clínica e Alergia - FMUSP), demonstrando não haver maior predisposição a

manifestações alérgicas causadas por venenos de abelhas no grupo de apicultores³². Esses resultados divergentes podem estar relacionados às características da apicultura brasileira.

1.7 História natural

A sensibilização ao veneno ocorre em mais de 30% dos adultos semanas após terem sido ferroados. A sensibilização pode ser autolimitada, desaparecendo em 30% a 50% dos casos após 5 a 10 anos, mas também pode persistir por décadas, mesmo que não haja re-exposição.

A história natural de alergia a ferroados de himenópteros tem sido estudada por mais de 25 anos. As observações têm sido descritas principalmente levando-se em conta a gravidade da reação e a idade do paciente³³.(Quadro 1)

Quadro 1. Risco de reação sistêmica a nova ferroada de *Hymenoptera* em pacientes sensibilizados, não tratados com imunoterapia, segundo idade e gravidade de reação à primeira ferroada

Reação após a primeira ferroada		Risco de reação sistêmica a nova ferroada	
Gravidade	Idade	1 a 9 anos	10 a 20 anos
Reação local extensa	todas	10%	10%
Reação sistêmica cutânea apenas	criança	10%	5%
	adulto	20%	10%
Reação sistêmica grave	criança	40%	30%
	adulto	60%	40%

Fonte: Golden DBK. J Allergy Clin Immunol. 2005 Mar;115(3):439-47.

O risco de apresentar nova reação sistêmica depende também da espécie envolvida. Pacientes com alergia a veneno de abelhas apresentam risco de reação 1,5 a 2 vezes maior quando comparados com pacientes que apresentaram reações a veneno de vespas³³.

1.8 Manifestações clínicas

As manifestações clínicas produzidas pelo veneno de himenópteros podem ser didaticamente classificadas em³⁴:

1.8.1 Não alérgicas:

- Reação local: produzida pela ação do veneno no local da ferroadada. Os sintomas são: dor, edema e eritema que geralmente desaparecem após algumas horas.
- Reação Sistêmica Tóxica: produzida por múltiplas ferroadadas, acarretando efeitos farmacológicos tóxicos aos componentes do veneno: fosfolipase A2, melitina, apamina, hialuronidases, aminas vasoativas etc. As manifestações clínicas são similares às alérgicas, sendo difícil a diferenciação; essas reações podem chegar a ocasionar a morte.

1.8.2 Alérgicas:

- Reação Local Extensa: reação inflamatória, cujo diâmetro pode variar de 5cm a 8 cm, podendo estender-se desde o sítio da ferroadada até a articulação adjacente. Pode persistir por mais de 24 horas, com pico em 48 horas. As reações graves são acompanhadas de náuseas, vômitos e queda importante do estado geral; pode ocorrer infecção secundária.
- Reação Sistêmica Anafilática: reação alérgica grave, mediada por imunoglobulina E, cujo antígeno é uma das proteínas do veneno. Os sintomas aparecem dentro de 15-20 minutos após a ferroadada: urticária, angioedema, obstrução laríngea, broncoespasmos, sintomas gastro-intestinais, choque e até morte.
- Reação Sistêmica Tardia: vasculites, polirradiculites, glomerulonefrites. São reações raras e de patogenia desconhecida.

1.9 Diagnóstico

O diagnóstico é baseado na história clínica e na pesquisa de anticorpos IgE veneno-específicos, seja por teste cutâneo (teste de puntura (*prick test* e/ou teste intradérmico) ou por teste *in vitro*, após pelo menos 3 a 4 semanas depois do evento agudo, para reduzir a probabilidade de

resultado falso-positivo durante o período refratário³⁵. Esses testes não apenas confirmam o diagnóstico, mas também identificam o veneno adequado a ser utilizado na imunoterapia.

A história clínica deve ser bastante valorizada e detalhada quanto a fatores como: inseto responsável pelo acidente, número e localização das ferroadas, descrição minuciosa dos sintomas apresentados e tratamento medicamentoso administrado imediatamente após a reação, além de história anterior de ferroadas e tipo de reação a elas.

Os testes cutâneos devem ser realizados com extratos padronizados e provenientes do próprio inseto. Realiza-se primeiro um teste de puntura (*prick teste*) com diluições crescentes e, caso este seja negativo, faz-se o teste intradérmico. O teste positivo indica apenas sensibilização prévia, sendo incapaz de predizer se haverá reação na próxima exposição e a possível gravidade.

Para a determinação sérica de anticorpos IgE veneno-específicos podem ser utilizados radioimunoensaios (RAST), métodos enzimáticos e quimioluminescência³⁶. Aproximadamente 10% a 15% dos pacientes com testes cutâneos positivos podem apresentar pesquisa de IgE específica *in vitro* negativa ou baixa³⁷.

O quadro abaixo indica os principais passos a seguir para o diagnóstico de sensibilização a veneno de *Hymenoptera* (Quadro 2)

Quadro 2. Essência do diagnóstico

1.10 Tratamento

1.10.1 Reações locais: compressas com água fria podem ser usadas para reduzir a dor local e o edema. Os anti-histamínicos orais e os analgésicos também são usados para reduzir a dor local ou o prurido associado às reações cutâneas. Nenhum estudo controlado com o uso de corticóides orais foi realizado até o momento, mas muitos relatos apóiam a sua eficácia. Infecções secundárias em pessoas imunocompetentes são raras, e os antibióticos não são indicados na ausência de infecção. Caso a ferroadada seja por formiga, a pústula deve ser mantida intacta.

1.10.2 Reações locais extensas: geralmente são conduzidas como nas reações anteriores, entretanto, em algumas ocasiões elas podem ser graves, com edema e eritema extenso. Nesses casos, devem ser utilizados corticóides tópicos ou orais e antiinflamatórios para controle da dor.

1.10.3 Reações sistêmicas:

- **Generalizadas leves:** podem ser usados apenas anti-histamínicos.
- **Casos graves:** anti-histamínico injetável e corticóides por via parenteral podem ser necessários, além dos cuidados de manutenção de vias aéreas pérvias e controle da pressão arterial.

1.10.4 Profilaxia das reações alérgicas:

Algumas precauções são necessárias: evitar uso de perfumes adocicados ou fortes; evitar andar com pés descalços em jardins ou próximos a piscinas; procurar andar com botas em áreas rurais e orientar o paciente, quanto este for mais sensível, a utilizar adrenalina (EPI-PEN®) e anti-histamínicos caso haja necessidade.

1.10.5 Urgência:

Como foi citado acima, o medicamento adequado é adrenalina na concentração de 1:1000 em solução aquosa, na dose de 0,3 mL (dose para adultos) e 0,01mL/kg até o máximo de 0,3 mL (dose para crianças), em intervalos de 15 a 30 minutos.

1.10.6 Imunoterapia específica:

Tem sido considerado tratamento seguro e eficaz para evitar reações anafiláticas induzidas por ferroadas de *Hymenoptera* em pessoas com história de reações sistêmicas. (Quadro 3)

A imunoterapia age sobre as células T, modificando a resposta TH2 em favor da resposta TH1 e essa tem sido a única forma para mudar o curso natural da doença em pacientes que apresentaram reações sistêmicas.

Quadro 3. Diretrizes atuais: Indicações da imunoterapia segundo a gravidade da reação alérgica.

A imunoterapia veneno específica envolve injeções subcutâneas com alérgenos específicos em quantidades que são aumentadas gradualmente, até se alcançar a dose na qual haja tolerância ao alérgeno envolvido, minimizando a manifestação sintomática da doença³⁸.

1.10.7 Contra indicações à imunoterapia:

Há várias contra-indicações a serem citadas, das quais as mais importantes são: doença cardiovascular, tratamento com β -bloqueadores (principalmente os não-seletivos), incluindo soluções oftalmológicas tópicas; asma grave; obstrução crônica irreversível das vias aéreas, incluindo

pacientes com volume de fluxo expiratório no primeiro segundo <70% do predicto, apesar de tratamento adequado; doenças imunológicas como pneumonite de hipersensibilidade, a aspergilose broncopulmonar alérgica e imunodeficiências ; distúrbios psiquiátricos; e pacientes não-colaborativos.

1.10.8 Reações adversas à imunoterapia

Há vários esquemas de dosagem e de intervalos de administração da imunoterapia, incluindo a imunoterapia convencional, no qual o período de indução pode durar muitas semanas; rápida (as doses no período de indução são aumentadas em alguns dias) e a ultra-rápida (as doses no período de indução podem ser aumentadas em horas)^{39,40}.

Independentemente do esquema utilizado, as reações adversas a imunoterapia podem ocorrer e elas consistem de reações no local das injeções (dor, eritema ou edema), ocorrendo nas primeiras semanas do tratamento, ou de reações mais graves, podendo chegar à anafilaxia^{41,42}.

A frequência e a gravidade das reações sistêmicas à imunoterapia variam entre os estudos, dependendo da seleção do paciente, da doença, do extrato do alérgeno e do regime de indução. Aproximadamente 50% dos pacientes desenvolvem reações no local da aplicação e 16% dos pacientes adultos desenvolvem reações sistêmicas, que consistem de: asma ou rinite leve que responde adequadamente ao tratamento com anti-histamínicos ou

com β 2-agonista; urticária, angioedema, reações de prurido, eritema, e mais raramente obstrução brônquica e até mesmo choque anafilático. A segurança da imunoterapia pode ser aumentada introduzindo-se anti-histamínicos como pré-medicação.

Embora a imunoterapia seja efetiva, as taxas de sucesso variam nos diferentes estudos. Com a finalidade de avaliar a efetividade da imunoterapia, estudos controlados e não controlados têm sido realizados, incluindo alguns poucos ensaios clínicos. Esses estudos são limitados pelo pequeno tamanho da amostra e seu conseqüente baixo poder estatístico.

1.11 Justificativa do estudo

Para a determinação da melhor intervenção no tratamento de qualquer doença, é importante a realização de pesquisas clínicas planejadas com o objetivo de determinar sua efetividade e segurança. O melhor tipo de estudo clínico para ajudar a resolver essa questão é o ensaio clínico randomizado duplo-cego⁴³. Todavia os ensaios clínicos randomizados podem ser discordantes quanto a sua resposta. O ideal, então, seria procurar na literatura os ensaios clínicos randomizados direcionados para tal questão; se possível todos: publicados, não-publicados ou em andamento.

Entretanto, mesmo de posse de todos os estudos, surgiram novos questionamentos: será que poderíamos confiar em seus resultados? Esses

estudos teriam qualidade para serem considerados úteis para guiar a prática clínica? A solução para esses questionamentos seria encontrar todos os ensaios clínicos já realizados e avaliá-los quanto à sua qualidade. Isso pode ser realizado em uma revisão sistemática de ensaios clínicos, o que, além de ser um método reprodutível, apresenta critérios definidos de avaliação, para inclusão e exclusão de estudos, de acordo com sua qualidade, sintetizando a informação de maneira abrangente, de modo a auxiliar na tomada de decisão clínica^{44,45}.

Assim sendo, uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados sob o tema “imunoterapia para venenos de *Hymenoptera*” é considerada modelo ideal de pesquisa para responder a essa questão, pois sintetiza e mapeia de maneira reprodutível as informações para melhor tomada de decisão clínica e auxílio nas futuras pesquisas. Verificamos, na literatura, que apenas um estudo de revisão sistemática sobre a efetividade da imunoterapia contra veneno de himenópteros foi publicado até o momento⁴⁶. Nesse estudo, porém, o período compreendido foi de 1966-1996, a base de dados restringiu-se ao MEDLINE e foram incluídos estudos observacionais. Esses fatos nos motivaram a realizar uma revisão ainda mais ampla e completa sobre o tema na busca de analisar essa intervenção terapêutica tão importante em nossa prática clínica.

1.12 Colaboração Cochrane

A Colaboração Cochrane é uma organização internacional que tem por objetivo ajudar as pessoas a tomar decisões baseadas em informações de boa qualidade na área da saúde. É uma organização sem fins lucrativos e sem fontes de financiamento internacionais. Possui grupo diretor (Steering Group), com sede em Oxford, Reino Unido⁴⁷.

1.12.1 Missão

A missão da *Colaboração Cochrane* é preparar, manter e assegurar o acesso a revisões sistemáticas sobre os efeitos das intervenções em Saúde.

1.12.2 O Símbolo da Colaboração Cochrane

O símbolo da Colaboração Cochrane é formado por uma figura que representa, em sua parte central, um gráfico de metanálise de sete ensaios clínicos randomizados. A metanálise que serviu de modelo para

a figura foi relativa a um estudo sobre gravidez e cuidados perinatais. Cada linha horizontal simboliza o resultado de um desses trabalhos. Eles procuravam responder à pergunta: *o uso de corticosteróides no período próximo ao nascimento de bebês prematuros diminui a mortalidade neonatal?* O resultado dessa metanálise indicou que a resposta para a questão é afirmativa e isso está representado graficamente pelo losango na parte inferior esquerda do gráfico.

Esse estudo permitiu adotar essa prática clínica como conduta baseada em evidências, com um saldo de muitas vidas salvas em todo o mundo.

1.12.3 A Biblioteca Cochrane

A Biblioteca Cochrane é a melhor fonte de informação de evidência confiável sobre os efeitos das intervenções em saúde. Consiste de uma coleção de fontes de informação atualizada sobre medicina baseada em evidências, incluindo a Base de Dados Cochrane de Revisões Sistemáticas, que são revisões preparadas pelos Grupos da Colaboração Cochrane e que oferecem informação de alta qualidade, tanto para os provedores de atenção à saúde como para os que a recebem, assim como para os profissionais que atuam na área de pesquisa, educação e administração pública, em todos os níveis.

O acesso à Biblioteca Cochrane através da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) está disponível para todos os profissionais de saúde e de informação da América Latina e Caribe, e é produto de um contrato firmado entre a BIREME e a “Update Software” (UK), com apoio da Colaboração Cochrane e o Centro Cochrane do Brasil.

A Biblioteca Cochrane tem periodicidade trimestral e é atualizada nos meses de janeiro, abril, junho e outubro⁴⁸.

2 Objetivo

Realizar análise sistemática dos trabalhos publicados na literatura mundial sobre a imunoterapia específica como tratamento para reações anafiláticas provocadas por venenos de insetos da ordem *Hymenoptera*. Para isso, foram identificados os ensaios clínicos randomizados e controlados que compararam a imunoterapia alérgeno-específica para veneno de *Hymenoptera* ao placebo ou à orientação do paciente em realizar apenas o tratamento emergencial como, por exemplo, a auto-administração de adrenalina.

3 Método

O método desta pesquisa seguiu, em linhas gerais, as recomendações para realização de Revisões Sistemáticas propostas pela Colaboração Cochrane⁴⁹.

Essa revisão foi registrada na Colaboração Cochrane em 05/05/2005, sob número 101.

3.1 Tipo de estudo

Foram incluídos na análise estudos randomizados e controlados que avaliaram o tratamento e que tenham utilizado a imunoterapia alérgeno-específica, por via subcutânea, como forma de profilaxia para eventuais futuras reações anafiláticas após ferroadas de *Hymenoptera*. Outras formas de administração da imunoterapia, tais como sublingual ou oral, não foram incluídas. Foram selecionados apenas os estudos que utilizaram extratos de venenos de abelhas, vespas e formigas. Ensaio simples-cegos também foram incluídos, dada a escassez de ensaios clínicos randomizados duplo-cegos.

3.2 Tipos de participantes envolvidos nos estudos

Pacientes, crianças e adultos, de ambos os sexos, com hipersensibilidade a veneno de *Hymenoptera*, definida pela história de reação sistêmica anafilática à ferroada do inseto e pela presença de teste cutâneo positivo, puntura ou intradérmico.

3.3 Tipos de intervenções

Comparação da imunoterapia com veneno de *Hymenoptera*

- Contra placebo
- Contra nenhum tratamento, isto é, apenas seguimento dos pacientes e orientação para uso de adrenalina caso necessário (Epipen®).

3.4 Tipos de desfechos avaliados

- Mudança da sintomatologia clínica após teste de provocação pela ferroada ou pela ferroada acidental.

- Avaliação das reações adversas à imunoterapia.
- Avaliação dos melhores critérios de seleção dos pacientes para a imunoterapia.
- Avaliação de alterações nos níveis séricos dos anticorpos IgE ou IgG específicos.

3.5 Localização dos estudos

Conforme descrito na figura 2, foi realizada uma pré-seleção baseando-se na leitura dos títulos e dos resumos de todos os ensaios clínicos identificados na busca eletrônica. Os trabalhos que preencheram os critérios pré-estabelecidos foram obtidos na íntegra e analisados independentemente por dois revisores (ASW e LAMF). A partir da coleção de estudos selecionados, foram realizadas a avaliação da qualidade e a coleta dos dados.

Figura 2 – Fluxograma da estratégia da revisão sistemática (adaptado de Ross SD, Allen E, Harrison KJ, Kvasz M, Connelly J, Sheinhait IA. Systematic review of the literature regarding the diagnosis of sleep apnea. Evidence report number 1 (Contract290-97-0016 to Metaworks, Inc.) Rockville MD: Agency for Health Care Policy and Research. February 1999⁵⁰).

3.6 Estratégia de busca para identificação dos estudos

A estratégia de busca foi estabelecida pelo Grupo de Doenças de Pele (*Cochrane Skin Group*) para ensaios clínicos, contando com as seguintes palavras-chave:

- (i) *Estratégia de busca para localizar ensaios clínicos controlados*
Ver termos 1-29, dado pelo Cochrane Reviewers' Handbook⁵¹, apêndice 5b.2 (Anexo 1)

- (ii) *Estratégia para localizar termos para “insetos”*

- 30. bees.mp. or exp BEES/
- 31. bee venom.mp. or exp Bee Venoms/
- 32. honeybee.mp.
- 33. hymenoptera.mp. or exp HYMENOPTERA/
- 34. wasps.mp. or exp WASPS/
- 35. wasp venom.mp. or exp Wasp Venoms/
- 36. white hornet.mp.
- 37. yellow jacket.mp.
- 38. yellow hornet.mp.
- 39. polistes.mp.
- 40. ants.mp. or exp ANTS/
- 41. ant venom.mp. or exp Ant Venoms/
- 42. solenopsis invicta.mp.
- 43. myrmecia pilosula.mp.
- 44. 30 or 31 or 32 or 33 or 34 or 35 or 36 or 37 or 38 or 39 or 40 or 41 or 42 or 43

- (iii) *Estratégia para localizar tipos de reações*

- 45. exp "Insect Bites and Stings"/
- 46. exp HYPERSENSITIVITY, DELAYED/ or exp HYPERSENSITIVITY/ or hypersensitivity.mp. or exp HYPERSENSITIVITY, IMMEDIATE/
- 47. exp Anaphylaxis/ or anaphylactic.mp.
- 48. (allergic or allergy).mp.
- 49. swelling.mp.
- 50. exp EDEMA/ or edema.mp.
- 51. systemic reaction.mp.
- 52. shock.mp. or exp SHOCK, TRAUMATIC/ or exp SHOCK/
- 53. exp INFLAMMATION MEDIATORS/ or inflammation.mp. or exp

INFLAMMATION/

54. hives.mp. or exp Urticaria/

55. exp Airway Obstruction/ or angiodema.mp.

56. laryngeal obstruction.mp.

57. bronchospasms.mp. or exp Bronchial Spasm/

58. gastro-intestinal symptoms.mp.

59. vasculitis.mp. or exp VASCULITIS, ALLERGIC CUTANEOUS/ or exp

VASCULITIS/ or exp VASCULITIS, HYPERSENSITIVITY/

60. glomerulonephritis.mp. or exp GLOMERULONEPHRITIS/

61. polyradiculitis.mp. or exp Polyradiculopathy/

62. exp DEATH, SUDDEN/ or exp DEATH/ or death.mp.

63. 45 or 46 or 47 or 48 or 49 or 50 or 51 or 52 or 53 or 54 or 55 or 56 or 57 or 58 or 59 or 60 or 61 or 62

(iv) Estratégia para localizar tipos de intervenções

64. exp IMMUNOTHERAPY, ACTIVE/ or immunotherapy.mp. or exp IMMUNOTHERAPY/

65. adrenaline.mp. or exp Epinephrine/

66. exp Injections/ or epipen.mp.

67. 64 or 65 or 66

Os resultados das pesquisas de (i), (ii), (iii) e (iv) foram combinados entre si com a palavra 'AND'

3.6.1 Bases de dados

A identificação dos ensaios clínicos controlados, sem restrição de idioma, envolveu pesquisas nas seguintes bases de dados: *MEDLINE*, *LILACS*, *EMBASE*, *SCISEARCH*, *SCIELO*, *the COCHRANE CONTROLLED TRIALS REGISTER* e pela *COCHRANE DATABASE of SYSTEMIC REVIEWS*, além de referências bibliográficas e ensaios não-publicados.

A base “*the Cochrane Controlled Trials Register*”, atualizada quadrimestralmente, comportava mais de 470.000 referências de ensaios controlados até março de 2006⁵².

A fonte MEDLINE contém cerca de 16 milhões de referências de artigos em periódicos. Nela são acrescentadas cerca de 400.000 referências anualmente. Essa base cobre aproximadamente 4.000 revistas em 40 línguas e contém referências disponíveis de 1966 até o presente.

A EMBASE, base de dados da Excerpta Medica, é uma coleção de periódicos mundiais sobre Biomedicina produzida pela Elsevier, uma entidade dedicada a publicações científicas e técnicas, serviços e informações, sob a forma de livros, revistas, portais e bases de dados, disponibilizadas a autores, editores, livreiros, cientistas e outros. Ela contém cerca de 10 milhões de referências, e são acrescentadas algo em torno de 600.000 referências a cada ano. A Europa é responsável por 59% dos títulos, seguida pelas Américas, com 25%, e pela Ásia, com 16%.

A LILACS é responsável por mais de 390.000 publicações latino-americanas e do Caribe em Ciências da Saúde. Atualmente, 698 revistas estão incorporadas à base de dados LILACS, mas este número muda periodicamente, já que títulos novos são incorporados e outros são excluídos.

A SCIELO é o produto da cooperação entre a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) e a BIREME (Biblioteca Regional de Medicina). Desde junho de 1998, o projeto opera regularmente, incorporando novos títulos de periódicos e expandindo sua abrangência para

outros países. A partir de 2002, conta com o apoio do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico). Atualmente, sua relação de títulos totaliza 152 periódicos.

Por fim, a SCISEARCH, que contém artigos publicados no “*Science Citation Index*® (SCI®)”, além de artigos adicionais sobre engenharia, física, agricultura, biologia e ciência do meio ambiente. Contém artigos de janeiro de 1991 até o presente, contabilizando nove milhões de referências.

3.7 Métodos da revisão

Após todos os estudos terem sido lidos pelo revisor ASW, baseando-se nos critérios já estabelecidos pelo grupo de revisão, a inclusão de cada um foi decidida pela discussão entre dois revisores (ASW, LAMF, médicos especialistas do Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do Hospital das Clínicas). Os estudos selecionados foram então reavaliados para analisar a qualidade metodológica e seleção daqueles que mais se adequavam aos critérios pré-estabelecidos para realização de revisão sistemática.

Primeiro passo: verificou-se, para cada estudo, se apresentava os critérios para inclusão: tipo de estudo, tipo de participantes e tipo de intervenções, utilizando-se um formulário padronizado (Anexo 2).

Segundo passo: foi feita uma observação cuidadosa da descrição do processo de sigilo de alocação, determinando-se a classificação do estudo em quatro categorias:

- Categoria A: significa que o processo de sigilo da alocação foi adequadamente relatado.
- Categoria B: significa que o sigilo de alocação não foi descrito, mas se menciona no texto que o estudo foi aleatório (utiliza lista ou tabelas; envelopes, mesmo não qualificados; alocação aparentemente adequada, mas sem outras informações no estudo).
- Categoria C: significa que o sigilo de alocação foi inadequado (alternância; números de prontuários; datas de nascimento; dias da semana; qualquer sigilo de alocação em que esta não seja totalmente imprevisível).
- Categoria D: significa que o estudo não é aleatório.

Depois de proceder à classificação acima, foi criada uma coleção de estudos, contendo todos os artigos identificados, classificados em A, B, C ou D, incluindo-se aqueles classificados como A ou B e excluindo-se os classificados como C ou D, uma vez que estes últimos não são ensaios clínicos randomizados. A partir dessa coleção de ensaios clínicos randomizados, foram realizadas as coletas de dados.

3.8 Coleta dos dados

Os artigos mais relevantes foram lidos em detalhe pelo revisor ASW, as informações foram resumidas e os dados mais importantes, transportados para o formulário de extração de dados: tipo do estudo e metodologia; número e descrição dos pacientes; detalhes da intervenção quanto ao tipo, dosagem, esquema e duração; características e tipo de métodos para os resultados (Anexo 3). O sigilo de alocação e o mascaramento dos participantes no estudo e dos investigadores foram avaliados de acordo com os manuais da *Cochrane Collaboration* e, então, aplicados ao sistema de escores de Jadad⁵³ (1996), escala que avalia três fatores que influenciam a validade interna de um estudo, incluindo três itens:

- a) O estudo foi descrito como aleatório?
- b) O estudo foi descrito como duplo-cego?
- c) Foram descritas perdas de seguimento e retiradas de pacientes do estudo?

Cada item recebe um ponto se a resposta for “sim” e zero se a resposta for “não”. Além disso, mais um ponto pode ser somado ou subtraído, de acordo com a descrição adequada do procedimento de randomização, ou de mascaramento.

Esse instrumento tem como função apenas avaliar alguns itens, não devendo ser utilizado para inclusão ou exclusão de estudos na revisão sistemática. No entanto, com essa técnica é possível o agrupamento de estudos homogêneos para a meta-análise na análise de sensibilidade.

3.9 Considerações estatísticas

Os dados foram extraídos dos estudos e depois digitados no *software Revman*, fornecido pela Colaboração *Cochrane* para análise estatística. Foram calculados o *odds ratio* (OR) e o respectivo intervalo de confiança (IC95%) para estudos individuais, considerando apenas pacientes que apresentaram reações alérgicas sistêmicas conseqüentes à ferroada de inseto, acidental ou provocada.

As identificações das heterogeneidades clínicas (diferenças entre os estudos em características-chave dos participantes, intervenções ou desfechos) e metodológicas (diferenças nos desenhos de estudo) foram feitas pela avaliação das características dos estudos. A identificação da heterogeneidade estatística foi realizada de duas formas:

a) A primeira, pela inspeção visual dos gráficos das metanálises (os resultados foram semelhantes? Os intervalos de confiança se sobrepuseram?).

b) A segunda forma, pela aplicação do teste estatístico de heterogeneidade (método de qui-quadrado).

Os testes estatísticos de heterogeneidade são usados para determinar se a variabilidade observada nos resultados de um estudo é maior que o esperado devido ao acaso. Contudo, esses testes possuem limitações e devem ser usados com cautela.

3.10 Atualização e aprimoramento da revisão sistemática

Após a publicação na *Cochrane Library* (<http://cochrane.bireme.br/>), a presente revisão sistemática deverá ser atualizada anualmente. Mesmo que não haja nenhum ensaio clínico randomizado a ser incluído na revisão anual ou que nenhuma correção maior seja identificada, a data da última busca de ensaios clínicos randomizados será incluída na seção de estratégia de busca dessa revisão.

4 Resultados

4.1 Descrição dos estudos

A busca dos artigos nas bases de dados, segundo as palavras-chave pré-determinadas, resultou em 2267 artigos. O número de estudos identificados em cada fonte está descrito na figura 3

Figura 3. Fluxograma da realização da revisão sistemática

Apenas quatro estudos clínicos randomizados, publicados entre 1966 e 2006, satisfizeram todos os critérios de inclusão, sendo assim selecionados para análise. A metodologia, participantes, intervenções e resultados dos estudos incluídos estão relacionados no quadro 4. Ao todo foram envolvidos 306 participantes nos quatro estudos selecionados. A idade dos participantes variou de 2 a 65 anos. Apenas um estudo comparava a imunoterapia com veneno de formiga contra placebo, enquanto nos outros três estudos a imunoterapia para venenos de abelhas e vespas foi comparada com placebo ou com apenas seguimento dos pacientes.

Como critérios de exclusão, os estudos relacionaram os seguintes itens: história de hipertensão arterial sistêmica, doença cardíaca, doença pulmonar mal controlada, uso de inibidores da enzima de conversão de angiotensina ou uso de beta-bloqueadores, além de teste cutâneo negativo.

Quadro 4. Características dos estudos incluídos

	Hunt 1978²⁷	Schuberth 1983⁵⁴	Valentine 1990⁵⁵	Brown 2003⁵⁶
Critérios de inclusão de participantes	<ul style="list-style-type: none"> • Reações alérgicas generalizadas grau II-IV • Teste cutâneo + 	<ul style="list-style-type: none"> • Reações alérgicas generalizadas (apenas sintomas cutâneos) • Teste cutâneo + 	<ul style="list-style-type: none"> • Uma ou mais reações sistêmicas restritas à pele. • Teste cutâneo + 	<ul style="list-style-type: none"> • Reações grau II-IV a veneno de formiga • Teste cutâneo +
Critérios de exclusão	História ambígua ou teste cutâneo negativo	Crianças com reações graves cardio-respiratórias	Reações graves (perda de consciência, dispnéia, bronco-espasmo, comprometimento cardiovascular)	História de hipertensão ou doença cardíaca, doença pulmonar, terapia com ACE ou Beta-bloqueadores controlada
Critérios Diagnósticos	Reações alérgicas generalizadas e teste cutâneo positivo	História de reação sistêmica por ferroadas de insetos e teste cutâneo positivo com veneno para abelhas ou vespas e anticorpos IgE específicos	História de reação sistêmica por ferroadas de abelhas ou vespas e teste cutâneo positivo com veneno	História de reação sistêmica por ferroadas de insetos (Grau II a IV) e teste cutâneo positivo com veneno.
Idade	Todas as idades	3 a 16 anos	2 a 16 anos	17 a 65 anos
% homens distribuídos nos grupos	Grupos foram pareados conforme sexo e idade	Tratamento: 68,7% Não-tratamento: 71,4%	Tratamento: 70% Não-tratamento: 75%	Tratamento: 63% Placebo: 62%
Intervenções	Imunoterapia com veneno - grupo I (n=19) Imunoterapia com extrato corpo total - grupo II (n=20) Placebo (solução com histamina) - grupo III (n=20)	Imunoterapia com veneno (n=32) Não-tratamento (n=42)	Imunoterapia com veneno (n=45) Não-tratamento (n=61)	Imunoterapia com veneno de formiga (n=35) Imunoterapia com placebo (n=32)
Resultados: % reações sistêm. após teste provocação (reações sistêm.)	Grupo I: 5% (1) Grupo II: 64% (7) Grupo III: 58% (7)	Grupo tratado: 5,9% (1) Grupo não tratado: 17% (8)	Grupo tratado: 4,2% (1) Grupo não tratado: 25,9% (7)	Grupo tratado: 3% (1) Grupo placebo: 72% (21)
Odds ratio (IC)	Grupo IxIII: 0,1 (0,01<OR<0,68) Grupo IxII: 0,09 (0,01<OR<0,62) Grupo IxIII: 1,09 (0,57<OR<2,10)	0,35 (0,05<OR<2,56)	0,16 (0,02<OR<1,21)	0,04 (0,01<OR<0,28)
Observação	Perda de seguimento: 0	Perda de seguimento: 0	Perda de seguimento: 0	Perda de seguimento: 0
Sigilo de alocação	B	B	B	A

Os estudos excluídos dessa revisão, dentre os 81 selecionados, estão identificados no quadro 5, juntamente com as respectivas razões para a exclusão. As principais causas de exclusão foram: a não-randomização ou a falta de controles adequados.

Quadro 5. Estudos excluídos e as respectivas razões para a exclusão

Identificação do estudo	Razão para a exclusão
Quercia 2006⁵⁷	Estudo aberto. Não houve grupo controle.
Roll 2006⁵⁸	Estudo aberto. Não houve grupo controle.
Haye 2005⁵⁹	Estudo aberto. Não houve grupo controle.
Glerant 2005⁶⁰	Os dois grupos receberam imunoterapia com veneno. Não houve grupo placebo
Konno 2005⁶¹	Estudo não-randomizado. Desfecho não avaliou reações sistêmicas após teste de provocação, mas tentou identificar biomarcadores associados com a imunoterapia.
Baenkler 2005⁶²	Não houve grupo controle.
Muller 2005⁶³	Não houve grupo controle.
Erdmann 2004⁶⁴	Ensaio clínico não-randomizado.
Golden 2004⁶⁵	Estudo retrospectivo.
Cadario 2004⁶⁶	Estudo aberto, não controlado.
Rueff 2004⁶⁷	Os grupos receberam imunoterapia com veneno. Não houve grupo placebo.
Schiavino 2004²⁰	Estudo não controlado.
Wenzel 2003⁶⁸	Estudo retrospectivo.
Goldberg 2003⁶⁹	Estudo não controlado.
Carballada 2003⁷⁰	Estudo não controlado.
Birnbaum 2003⁷¹	Estudo não controlado.
Sturm 2002⁷²	Estudo descritivo, retrospectivo.
Mingomataj 2002⁷³	Estudo observacional do tipo coorte.
Oude Elberink 2002⁷⁴	Ensaio clínico randomizado, controlado. Desfecho não avaliou reações sistêmicas após teste de provocação, mas sim qualidade de vida.
Roever 2002⁷⁵	Estudo não controlado.

Quadro 5. Estudos excluídos e as respectivas razões para a exclusão (continuação)

Identificação do estudo	Razão para a exclusão
Tankersley 2002⁷⁶	Ensaio clínico duplo-cego, randomizado para receber pré-tratamento com anti-histamínicos ou não. Os grupos receberam imunoterapia com veneno. Não teve grupo placebo.
Rueff 2001⁷⁷	Comentário do estudo retrospectivo, não controlado publicado em 2000.
Poli 2001⁷⁸	Estudo retrospectivo, não controlado
Magnan 2001⁷⁹	Ensaio não-randomizado. Desfecho foi avaliar se imunoterapia induzia ativação de monócitos em pacientes que receberam imunoterapia, comparados com pessoas saudáveis.
Schuerwegh 2000⁸⁰	Comparou pacientes não-alérgicos a veneno de <i>Hymenoptera</i> com pacientes alérgicos e verificou a expressão de CD63.
Quércia 2000⁸¹	Os três grupos foram randomizados, mas receberam veneno por esquemas diferentes. Não teve grupo que recebeu imunoterapia com placebo.
Schuerwegh 2001⁸²	Estudo não controlado
Goldberg 2001⁸³	Estudo não controlado
Muller 2001⁸⁴	Ensaio clínico duplo-cego, randomizado para receber pré-tratamento com anti-histamínicos ou não. Todos os pacientes receberam imunoterapia com veneno. Nenhum grupo recebeu imunoterapia com placebo.
Rueff 2000⁸⁵	Estudo observacional do tipo coorte.
Brehler 2000⁸⁶	Estudo observacional do tipo coorte.
Reimers 2000⁸⁷	Ensaio clínico duplo-cego, randomizado para receber pré-tratamento com anti-histamínicos ou não. Todos os pacientes receberam imunoterapia com veneno. Nenhum grupo recebeu imunoterapia com placebo
de Jong 1999⁸⁸	Estudo observacional.
Rance 1999⁸⁹	Estudo observacional.

Quadro 5. Estudos excluídos e as respectivas razões para a exclusão (continuação)

Identificação do estudo	Razão para a exclusão
Eich-Wanger 1998⁹⁰	Os grupos foram pareados quanto a idade e sexo, mas ambos receberam imunoterapia com veneno. Não teve grupo controle.
Muller 1998⁹¹	Estudo não controlado
Lerch 1998⁹²	Estudo não controlado
Golden 1998⁹³	Estudo observacional
van Halteren 1997⁹⁴	Estudo não controlado
Muller 1996⁹⁵	Estudo não controlado
Graft 1996⁹⁶	Estudo de revisão
Jeep 1996⁹⁷	Estudo não controlado
Diez Gomez 1995⁹⁸	Estudo não controlado
McHugh 1995⁹⁹	Desfecho foi avaliar alterações no padrão de citocinas após a imunoterapia
Youlten 1995¹⁰⁰	Estudo não controlado
Bernstein 1994¹⁰¹	Estudo não controlado
Goldberg 1994¹⁰²	Estudo não controlado
Antonicelli 1994¹⁰³	Desfecho foi avaliar reatividade cutânea antes e após a imunoterapia.
Kochuyt 1994¹⁰⁴	Estudo não controlado
Birnbaum 1993¹⁰⁵	Estudo não controlado
Wyss 1993¹⁰⁶	Estudo não controlado
Freeman 1992¹⁰⁷	Estudo não randomizado
Tarhini 1992¹⁰⁸	Estudo não controlado
Muller 1992¹⁰⁹	Estudo não controlado

Quadro 5. Estudos excluídos e as respectivas razões para a exclusão (continuação)

Identificação do estudo	Razão para a exclusão
Berchtold 1992¹¹⁰	Ensaio clínico duplo-cego, randomizado para receber pré-tratamento com anti-histamínicos ou não. Todos os pacientes receberam imunoterapia com veneno. Nenhum grupo recebeu imunoterapia com placebo.
Keating 1991¹¹¹	Estudo não controlado.
Reed 1990¹¹²	Desfecho foi avaliar níveis de IgG veneno específica, IgG4 e IgE em pacientes tratados ou não com imunoterapia.
Lesourd 1989¹¹³	Estudo não controlado.
Reisman 1989¹¹⁴	Estudo não randomizado.
Muller 1987¹¹⁵	Estudo não controlado.
Graft 1987¹¹⁶	Estudo não controlado.
Bousquet 1987¹¹⁷	Ensaio clínico duplo-cego, randomizado para receber IgG fracionada ou solução salina com a imunoterapia. Desfecho foi avaliar se IgG fracionada poderia diminuir as reações adversas do tratamento.
Mosbech 1986¹¹⁸	Ensaio clínico randomizado, não controlado. Os três grupos receberam imunoterapia com veneno.
Malling 1985¹¹⁹	Estudo não controlado.
Djurup 1985¹²⁰	Estudo não controlado.
Reisman 1985¹²¹	Estudo não randomizado.
Muller 1985¹²²	Estudo não controlado.
van der Zwan 1983¹²³	Estudo não controlado.
Thurnheer 1983¹²⁴	Estudo não controlado.
Clayton 1983¹²⁵	Estudo não controlado.
Golden 1981¹²⁶	Estudo observacional.

Quadro 5. Estudos excluídos e as respectivas razões para a exclusão (continuação)

Identificação do estudo	Razão para a exclusão
Urbanek 1981¹²⁷	Estudo não-randomizado.
Gillman 1980¹²⁸	Estudo não controlado.
Chipps 1980¹²⁹	Estudo não controlado.
Muller 1979¹³⁰	Estudo não controlado.
Abkiewicz 1979¹³¹	Estudo não controlado.
Busse 1975¹³²	Relato de caso.

4.2 Qualidade metodológica

O sigilo da alocação foi considerado claramente adequado (categoria A) em apenas um estudo (Brown 2003⁵⁶). Nos outros três estudos, essa característica não pôde ser determinada em detalhe (categoria B).

A qualidade metodológica dos ensaios incluídos foi: um estudo recebeu nota máxima de cinco, pelos escores de qualidade. Três estudos receberam nota três. Os artigos excluídos não puderam ser classificados, pois os dados publicados e as avaliações detalhadas não foram descritos pelos autores. Quanto ao mascaramento dos participantes, dado importante

para a redução dos vieses em ensaios controlados e randomizados, apenas um estudo foi duplo-cego e três foram simples-cego (quadro 6).

Quadro 6. Comparação da qualidade metodológica segundo as escalas Cochrane e de Jadad dos estudos incluídos

Estudo	Cochrane	Jadad
Hunt 1978²⁷	B	3
Schuberth 1983⁵⁴	B	3
Valentine 1990⁵⁵	B	3
Brown 2003⁵⁶	A	5

4.2.1 Estudo de Hunt et al.:

O estudo de Hunt et al²⁷ foi o primeiro ensaio clínico sobre imunoterapia com veneno de insetos a comparar utilização do veneno de abelha com placebo e com extrato de corpo total de forma simples-cega (tabela 1). Ao final do tratamento, as reações ao veneno foram testadas por provocação com o inseto. Os autores encontraram as seguintes reações sistêmicas:

Grupo I (veneno): apenas um paciente não foi capaz de tolerar dose adequada do veneno antes de o estudo terminar, e um paciente apresentou urticária após teste de provocação.

Grupo II (corpo total) e Grupo III (placebo): nenhuma reação adversa à imunoterapia e 10 reações sistêmicas do tipo urticária, 2 pacientes apresentaram prurido generalizado e *rash* cutâneo, 3 pacientes apresentaram hipotensão.

Os *odds ratio* de cada grupo foram:

- Grupo I *versus* Grupo III: $OR=0.10$ ($0.01<OR<0.68$)

- Grupo I *versus* Grupo II: $OR=0.09$ ($0.01<OR<0.62$)

- Grupo II *versus* Grupo III: $OR=1.09$ ($0.57<OR<2.10$)

Verificou-se, portanto, efeito claramente protetor da imunoterapia com veneno (pacientes no grupo I) quando comparados aos pacientes que receberam extrato de corpo total (grupo II) ou placebo.

Quanto ao nível de anticorpos IgG, não foi possível determinar a relação entre quantidade desses anticorpos e proteção clínica, pois não houve diferença estatística entre os grupos. Esses dados indicam que os pacientes que foram tratados com extrato de corpo total não diferem quanto ao risco de reação em relação ao placebo. Entretanto, os resultados apresentados com imunoterapia específica com venenos de *Hymenoptera*, em relação ao placebo e ao extrato de corpo total, evidenciaram tratar-se de

profilaxia secundária segura e eficaz para pacientes que apresentaram reações alérgicas graves conseqüentes à primeira ferroada desses insetos.

4.2.2 Estudo de Schuberth et al.:

No estudo de Schuberth et al⁵⁴, apenas crianças com reações sistêmicas não-graves foram selecionadas para receber ou não imunoterapia com veneno de insetos (abelhas ou vespas). Os grupos tratado e não tratado apresentavam, aproximadamente, o mesmo nível de IgG específica aos venenos e seus valores foram diminuindo, durante o período do estudo, no grupo não tratado ($7,68 \pm 15,9$ para $2,1 \pm 4,14$ $\mu\text{g/mL}$). Nesse estudo, os autores tentaram identificar fatores preditivos de reação que pudessem estar associados a idade, gênero, teste cutâneo ou nível de IgE, porém não foi identificada nenhuma associação com essas características. Após o término da imunoterapia, os autores optaram por não realizar teste de provocação, mas sim acompanhar possíveis ferroadas acidentais. As taxas de reações sistêmicas por ferroada e por paciente ferroadado foram baixas em ambos os grupos, e a diferença não foi estatisticamente significativa. Nenhuma reação mais grave que a original ocorreu no grupo tratado e apenas uma das 8 reações sistêmicas no grupo não tratado foi tão grave quanto a original. Comparando-se os pacientes tratados com imunoterapia com aqueles que receberam placebo, o *odds ratio* foi de 0,35, sugerindo proteção da

imunoterapia contra reações graves à nova ferroadada. Entretanto, o resultado não foi significativo ($0,05 < OR < 2,56$), o que provavelmente se deve ao pequeno número de pacientes incluídos no estudo.

4.2.3 Estudo de Valentine et al.:

No terceiro estudo selecionado, Valentine et al.⁵⁵ realizaram um ensaio clínico semelhante ao anterior, com crianças que apresentaram reações restritas à pele (urticária e angioedema). Os pacientes foram randomizados para receber ou não imunoterapia com veneno de insetos (abelhas ou vespas). A análise das características dos dois grupos não revelou diferenças quanto a idade, gênero, níveis de IgE ou IgG específicos ou mesmo aos resultados dos testes cutâneos. Considerando-se as reações sistêmicas após o teste de provocação, houve apenas uma reação sistêmica no grupo que fez imunoterapia; no grupo não tratado, em sua grande maioria, as reações foram mais leves que a anterior, duas foram de gravidade semelhante e nenhuma foi mais grave. O *odds ratio* obtido em nossa análise foi igual a 0,16 ($0,02 < OR < 1,21$), sugerindo proteção da imunoterapia, embora o resultado não tenha atingido significância estatística, novamente como no estudo anterior, pelo pequeno número de pacientes estudados.

4.2.4 Estudo de Brown et al.:

O único estudo duplo-cego, placebo controlado foi realizado por Brown et al⁵⁶. Nesse estudo foram selecionados pacientes de todas as idades com reações alérgicas sistêmicas graves a veneno de formiga (*Myrmecia pilosula*). Uma semana após o paciente tolerar duas doses de manutenção sucessivas, foram realizadas as provocações com o inseto. As reações sistêmicas apresentadas no grupo placebo foram: sete pacientes com reações grau I, três com grau II, três com grau III e oito pacientes com reações grau IV; já no grupo que fez imunoterapia específica, houve apenas um paciente que apresentou reação sistêmica grau I. O valor do *odds ratio* foi 0.04 ($0.01 < OR < 0.28$), indicando proteção do tratamento com imunoterapia específica com veneno de formiga.

4.3 Resultado dos desfechos estudados

Após teste de heterogeneidade, realizado por meio do teste de qui-quadrado, cujo resultado foi 0,24, correspondendo a um $p=0,623$, verificou-se que apenas dois estudos (Schuberth 1983 e Valentine 1990) eram

homogêneos entre si. No estudo de Schubert et al (1983), como citado acima, o OR para reações sistêmicas depois de ferroadas acidentais foi de 0,35 ($0,05 < OR < 2,56$), enquanto no estudo de Valentine (1990) o OR calculado foi de 0,16 ($0,02 < OR < 1,21$) e, por fim, após meta-análise desses dois estudos combinados, o OR assumiu o valor de 0,29 ($0,10 < OR < 0,87$), portanto, indicando proteção com resultado estatisticamente significativo. (quadro 7 e figura 4).

Quadro 7. Metanálise dos dois estudos (Schubert et al. e Valentine et al.), comparando imunoterapia com veneno de *Hymenoptera* (grupo experimental) versus seguimento de pacientes (grupo controle). Apresentação dos resultados da variável “reações sistêmicas em teste de provocação ou por ferroada acidental após término da imunoterapia” por meio do odds ratio e do intervalo de confiança de 95%.

Grupos					
Estudos	Experimental		Controles		OR Peto (IC 95 % - modelo randômico)
	n	n	n	n	
Schubert et al.	1	17	8	47	0.35 (0,05 a 2,56)
Valentine et al	1	24	7	27	0,16 (0,02 a 1,21)
Total	2	41	15	74	0,29 (0,10 a 0,87)
	5%		20%		

Figura 4. Metanálise dos dois estudos (Schubert et al. e Valentine et al), comparando imunoterapia com veneno de *Hymenoptera* contra seguimento de pacientes no tratamento de crianças que apresentaram reações sistêmicas restritas à pele conseqüentes à primeira ferroada. Apresentação dos resultados da variável “reações sistêmicas após término do tratamento” por meio do *odds ratio* e do intervalo de confiança de 95%. (Método randômico de Peto)

5 Discussão

Esta é a segunda revisão sistemática realizada para avaliar o nível de evidência para a utilização da imunoterapia específica para veneno de insetos em pacientes com reações alérgicas sistêmicas, e a primeira a incluir apenas estudos experimentais. A revisão sistemática anterior (Ross 2000⁴⁶) avaliou 8 artigos, sendo incluídos entre eles estudos observacionais. Os autores concluíram em seu trabalho que os achados apoiavam a eficácia da imunoterapia específica no tratamento da hipersensibilidade a veneno de *Hymenoptera*.

Nossa revisão, portanto, difere da anterior por ter adotado a metodologia da Colaboração *Cochrane* para revisões sistemáticas, que considera apenas ensaios clínicos randomizados nos critérios de inclusão. Os quatro artigos que preencheram os critérios de inclusão foram escritos em língua inglesa, pois os estudos publicados em outras línguas não eram ensaios clínicos controlados e randomizados.

A justificativa para encontrarmos poucos ensaios prospectivos, placebo-controlados, em pessoas que apresentam hipersensibilidade a veneno de insetos, deve-se, provavelmente, à gravidade dessas reações alérgicas, muitas vezes fatais, e à dificuldade de utilização do placebo por via subcutânea por tempo tão prolongado. A imunoterapia veneno-específica tem sido considerada pela maioria dos autores como altamente eficaz, o que não justificaria, dessa forma, o uso do placebo em estudos controlados.

Evidencia-se esse fato no estudo de Hunt et al.²⁷ que demonstrou, pela primeira vez em um ensaio clínico, que a imunoterapia com veneno de insetos constituiu-se em terapêutica eficaz e segura em pacientes de risco.

5.1 Implicações para a prática clínica

A efetividade da imunoterapia foi avaliada por meio do resultado da re-exposição ao alérgeno em questão, seja pela ferroada acidental ou pelo teste de provocação.

Analisando o quadro 7, verificamos que, após realizarmos a meta-análise dos dois estudos, o *odds ratio* combinado, calculado pelo método randômico de Peto, para reações sistêmicas após a imunoterapia (Schubert et al., 1983 e Valentine et al., 1990) passou a assumir valor de 0,29 (IC: 0,10 a 0,87). Considerados individualmente, o *odds ratio* do estudo de Schubert et al (1983)⁵⁴ foi de 0,35 (IC: 0,05 a 2,56) e do estudo de Valentine et al (1990)⁵⁵ foi de 0,16 (IC: 0,02 a 1,21). Desse modo, ao realizar a meta-análise e examinar os dois estudos conjuntamente, foi possível aumentar o tamanho da amostra e observar que o *odds ratio* e o respectivo intervalo de confiança, que inclui a unidade nos estudos isolados e não apresenta, portanto, resultado significativo, passam a ser significantes na combinação.

Uma outra possibilidade de interpretação seria a análise pelo percentual de reações sistêmicas (quadro 7). Após a meta-análise,

verificamos que, no grupo experimental (tratado), houve uma incidência de 5% de reações sistêmicas, enquanto no grupo controle (sem tratamento), a incidência foi de 20%.

A falta do sigilo de alocação e o fato de não ser duplo-cego podem resultar em estimativa exagerada do efeito do tratamento. Esses aspectos do desenho do estudo foram mal descritos. Os vieses de publicação também são possíveis, mas houve poucos estudos avaliados para determinar essa ocorrência e também não foram encontrados estudos com resultado negativo.

Os dados acima apontam para eficácia da imunoterapia específica em crianças com reações sistêmicas restritas à pele. Apesar disso, quando se leva em consideração a gravidade das reações ocorridas após teste de provocação ou ferroadas acidental, observa-se que o benefício talvez não seja tão relevante. No estudo de Schubert et al (1983)⁵⁴, as reações que ocorreram após re-exposição a ferroadas, tanto no grupo tratado quanto no grupo não tratado com imunoterapia específica, foram mais leves que a original. Essa característica também ocorreu no estudo de Valentine et al.⁵⁵ um total de 84 ferroadas em crianças que receberam a imunoterapia resultaram em apenas uma reação sistêmica, enquanto no grupo não tratado 196 ferroadas resultaram em 18 reações sistêmicas. Embora o número de reações tenha sido significativamente maior no grupo não tratado, 16 das 18 reações foram mais leves que a original e duas foram semelhantes, em gravidade, à reação original.

Desse modo, desde que não ocorram reações sistêmicas graves, com envolvimento do aparelho respiratório e/ou cardiovascular, parece não haver necessidade de indicação da imunoterapia em crianças que apresentem apenas reações cutâneas. Esse fato também foi verificado em um importante estudo de Golden et al⁶⁵, que não foi incluído por se tratar de estudo observacional. Esse estudo avaliou, após um período que variou de 6 a 32 anos, a evolução da hipersensibilidade a veneno de *Hymenoptera*, comparando um grupo de crianças que recebeu com outro que não recebeu imunoterapia específica. Dentre os pacientes que não receberam tratamento e que tinham história de reação sistêmica leve, 87% não apresentaram reação sistêmica após re-exposição a ferroada; 6 pacientes apresentaram reações cutâneas, 6 apresentaram reações moderadas, e em nenhum a reação foi mais grave. Os autores recomendam, apoiados em seus resultados, a imunoterapia específica para crianças com reações moderadas a graves, mas não indicam tal terapia para pacientes com reações leves, pois o risco de reação grave observado foi menor do que 5%.

5.2 Trabalhos não incluídos na metanálise

Os outros dois estudos (Hunt et al²⁷. e Brown et al⁵⁶.) foram considerados ensaios de razoável qualidade metodológica, mas não puderam ser incluídos na meta-análise pela heterogeneidade entre eles.

O estudo de Hunt et al²⁷. foi o primeiro ensaio clínico controlado publicado, no qual se recomenda a utilização de imunoterapia com veneno purificado. A terapia até então utilizada era feita com extrato de corpo total de abelhas e de vespas. Os autores, ao avaliar a potência alergênica desses extratos em laboratório, observaram, na época, através da liberação de histamina pelos basófilos, que os alérgenos, aos quais o paciente era sensibilizado, não se encontravam presentes no extrato de corpo total, e sim nos venenos purificados. O estudo de Hunt et al., sem dúvida nenhuma, foi um marco importante na área, pois comparou a utilização de placebo, extrato de corpo total e veneno no diagnóstico e na terapia de alergia a veneno de insetos. Os resultados obtidos por esses autores demonstraram que o tratamento com extrato de corpo total e placebo não diferiam entre si, enquanto a imunoterapia veneno-específica mostrou efetividade de 98%.

Já no estudo de Brown et al⁵⁶, considerado de alta qualidade metodológica, ou seja, duplo-cego e placebo controlado, os pacientes selecionados apresentavam reações sistêmicas graves para veneno de formiga da espécie *Jack Jumper (Myrmecia pilosula)*, que representa cerca de 90% das anafilaxias a veneno de insetos no sudeste da Austrália. Calculando o *odds ratio* para reações sistêmicas após teste de provocação com a ferroada, obteve-se valor de 0,04 (IC: 0,01 a 0,28), demonstrando efeito protetor da imunoterapia específica. Ocorreram 72% de reações sistêmicas após o teste de provocação no grupo placebo (7 reações grau I; 3 grau II; 3 grau III; 8 grau IV) e 3% de reações no grupo da imunoterapia (somente uma reação grau I). Quanto às reações adversas à imunoterapia,

ocorreram 22 reações consideradas objetivas num total de 64 (34%) relatadas pelos pacientes, sendo que em duas houve queda de pressão arterial. O risco substancial de reação grave em pacientes não tratados em futura ferroadada foi aproximadamente 70% (IC95%:61-78); essa taxa foi bem maior que os 27% a 57% relatados para alergia a abelhas ou vespas¹⁵. Observação importante deve ser feita nesse caso, pois esse foi o único ensaio controlado para reações a veneno de formiga (*Myrmecia pilosula*), sendo que no Brasil as formigas são responsáveis por um grande número de acidentes, principalmente em crianças, e a espécie mais importante é a *Solenopsis sp.*

A hipersensibilidade que ocorre contra o veneno das chamadas lavapés ou formigas-de-fogo (*Solenopsis sp*) constitui-se em causa crescente e importante de morbidade e mortalidade nos Estados Unidos. Somente em 1989, foram relatadas 32 mortes decorrentes de acidentes com esses insetos¹³³. Embora ineficaz para alergia a veneno de abelhas, vespas e formigas da espécie *jack jumper*, o extrato com corpo total continua a ser utilizado no tratamento de alergia a veneno de formigas da espécie *Solenopsis*¹³⁴, com resultados clínicos bastante satisfatórios, já que quantidades apreciáveis do veneno podem estar contidas no extrato de corpo total, aproximadamente 20 µg por dose¹³⁵. Não há estudos duplo-cegos, placebo-controlados que avaliem a efetividade desses procedimentos, mas apenas estudos observacionais cujos resultados valorizam a imunoterapia com extrato de corpo total para hipersensibilidade a veneno desse tipo de formiga^{76,107,136}.

5.3 Outras informações relevantes

Embora a evidência seja baseada apenas em um ensaio clínico (Hunt et al.) e em estudos observacionais^{46,72,86,100}, a eficácia da imunoterapia veneno-específica em evitar anafilaxia à ferroadada de abelhas ou vespas é bem aceita. Essa recomendação pode ser lida em um importante manual emitido conjuntamente por três grandes Sociedades de Alergia e Imunologia: The American College of Allergy, Asthma and Immunology (ACAAI); The American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (AAAAI); e Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology, que orienta imunoterapia para pacientes que apresentam história de reação alérgica sistêmica a veneno de *Hymenoptera*, demonstrada pela presença de anticorpos IgE específicos. Para pacientes que apresentam história de anafilaxia após ferroadada de insetos, especialmente se há reações graves, tais como obstrução da via aérea ou hipotensão, a imunoterapia deve ser considerada. Em crianças abaixo dos 16 anos, que experimentaram apenas reações cutâneas, geralmente não se recomenda a imunoterapia. Já em relação aos adultos que apresentaram somente reações restritas à pele, para alguns autores o tratamento é controverso, mas geralmente indicado. A redução do risco de uma reação sistêmica subsequente cai para menos de 5%, e naqueles que ainda têm reações, essas são de intensidade mais leve¹³⁷.

Em casos em que há dúvida, é importante avaliar a relação risco-benefício da imunoterapia, estimando-se a probabilidade de uma reação grave em uma futura exposição; portanto, a decisão clínica de iniciar ou não

a imunoterapia deve incluir avaliação epidemiológica da história natural^{138,139}. No caso da alergia a veneno de insetos, é importante conhecer, em primeiro lugar, qual o risco de o indivíduo apresentar outra reação alérgica quando novamente ferroadado, correspondendo ao risco de re-exposição. Em segundo lugar, conhecer a probabilidade de ser novamente ferroadado, o qual depende principalmente de seu estilo de vida e de sua exposição ao inseto. E, em terceiro lugar, estabelecer o correto diagnóstico etiológico, identificando uma ou mais sensibilizações ao veneno responsável pela reação.

A prevalência de reações sistêmicas após ferroadada de insetos é baixa, mas o receio de uma reação mais grave ou mesmo a idéia de morte em subseqüentes ferroadadas pode produzir um efeito negativo no estado emocional e nas atividades sociais do paciente. Em estudo realizado por Antonicelli et al.(2002)¹⁴⁰, a taxa de mortalidade por alergia a veneno de insetos é baixa, porém poderia ter sido evitada pelo menos metade das mortes em pacientes com história sugestiva de alergia caso fosse realizada imunoterapia. Exemplificando esse fato, em um estudo aberto e controlado, os pacientes foram randomizados para receber imunoterapia ou orientados a utilizar adrenalina (Epipen®) caso necessário. Foi aplicado, então, um questionário sobre qualidade de vida um ano antes e um ano depois da imunoterapia ou Epipen®. Em pacientes alérgicos a veneno de vespa, houve uma melhora clinicamente importante naqueles que fizeram a imunoterapia, em relação a pacientes que foram orientados a usar apenas adrenalina caso necessário⁷⁴.

5.4 Implicações para a pesquisa clínica

Após a análise dos ensaios clínicos randomizados dessa revisão e também de todos os artigos excluídos, poderíamos propor planos de intenção de realização de ensaio clínico, principalmente envolvendo imunoterapia com veneno de formigas, já que houve escassez de artigos sobre esse assunto.

6 Conclusões

Essa é a primeira revisão sistemática na área de Alergia realizada no Brasil, que está registrada na *Cochrane Collaboration* sob supervisão do Grupo de Revisão de Pele (Skin Group – Nottingham-UK) como revisão sistemática de número 101.

A avaliação das publicações sobre ensaios clínicos com imunoterapia para tratamento de reações sistêmicas após a ferroada de *Hymenoptera* evidencia questões que justificam a necessidade de serem conduzidos novos ensaios clínicos, randomizados e duplo-cegos; entre elas estão o manejo clínico de crianças que apresentam reações sistêmicas após ferroadas de formigas e de adultos que apresentaram reações sistêmicas graves após ferroada desses insetos.

A primeira questão deve-se ao fato de que pouco é conhecido sobre a história natural da hipersensibilidade e a efetividade da imunoterapia para *Solenopsis sp*, diferentemente do que é descrito para os outros himenópteros. O extrato de corpo total de *Solenopsis sp* contém quantidades relevantes do alérgeno, e a evidência da efetividade da imunoterapia com extrato de corpo total continua a ser acumulada pelos dados da literatura, ainda que faltem ensaios clínicos controlados.

A escassez de estudos considerando a segunda questão acima se deve ao fato da demonstração da eficácia da imunoterapia no estudo de

Hunt et al. Após verificar o resultado desse estudo, tornou-se difícil conduzir outro estudo placebo-controlado, com pacientes adultos que apresentaram reações sistêmicas após ferroadas de himenópteros, principalmente por razões éticas.

Anexo 1: 5b.2 Format for MEDLINE on Ovid web version (checked and updated February 2004):

- 1 RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL.pt.
- 2 CONTROLLED CLINICAL TRIAL.pt.
- 3 RANDOMIZED CONTROLLED TRIALS.sh.
- 4 RANDOM ALLOCATION.sh.
- 5 DOUBLE BLIND METHOD.sh.
- 6 SINGLE BLIND METHOD.sh.
- 7 or/1 6
- 8 ANIMALS.sh. not HUMAN.sh.
- 9 7 not 8
- 10 CLINICAL TRIAL.pt.
- 11 exp CLINICAL TRIALS/
- 12 (clin\$ adj25 trial\$).ti,ab.
- 13 ((singl\$ or doubl\$ or trebl\$ or tripl\$) adj25 (blind\$ or mask\$)).ti,ab.
- 14 PLACEBOS.sh.
- 15 placebo\$.ti,ab.
- 16 random\$.ti,ab.
- 17 RESEARCH DESIGN.sh.
- 18 or/10 17
- 19 18 not 8
- 20 19 not 9
- 21 COMPARATIVE STUDY.sh.
- 22 exp EVALUATION STUDIES/
- 23 FOLLOW UP STUDIES.sh.
- 24 PROSPECTIVE STUDIES.sh.
- 25 (control\$ or prospectiv\$ or volunteer\$).ti,ab.

26 or/21 25

27 26 not 8

28 27 not (9 or 20)

Anexo 2 - Formulário para avaliação dos critérios de inclusão**AValiação Inicial dos Estudos**

Estudo ID: _____ Data: ____ / ____ / ____

Título resumido: _____

Referência(s): _____

Tipos de estudos

- O tratamento foi alocado aleatoriamente?

☐

Sim

Não

Indeterminado

Tipos de participantes

- Os participantes eram apropriados para a resposta da pergunta da pesquisa?

☐

Sim

Não

Indeterminado

Participantes	Diagnóstico

Tipos de intervenções

- A intervenção é claramente definida?

☐

Sim

Não

Indeterminado

- Quais são os grupos de comparações?

Grupo Experimental	Grupo Controle

Geração do sigilo da alocação

Categoria	Geração do sigilo da alocação
	Categoria A: significa que o processo de alocação foi adequadamente relatado (aleatorização centralizada por um escritório central ou farmácia; administração seqüencial de pacotes pré-codificados ou numerados aos pacientes selecionados para o estudo; sistema computadorizado on-line; dados gerados por um programa de computador contendo a distribuição codificada; envelopes seriados opacos e numerados; outras maneiras que pareçam oferecer uma alocação adequada, combinadas com o fato de que a pessoa que fez a alocação não esteja envolvida na sua utilização).
	Categoria B: significa que o processo de alocação não é descrito, mas é mencionado no texto de que o estudo é aleatório (lista ou tabelas utilizadas; envelopes, mas não qualificando o seu tipo; uma alocação aparentemente adequada, mas com nenhuma outra informação no estudo).
	Categoria C: significa que o processo de alocação foi inadequadamente relatado (alternância; números de prontuários; datas de nascimento; dias da semana; qualquer processo de alocação que seja totalmente transparente da alocação propriamente dita).
	Categoria D: significa que o estudo não é aleatório.

ANEXO 3 – Formulário para coleta de dados dos estudos**Informação dos estudos incluídos**

Título resumido: _____

Data: _____

Geração do sigilo de alocação: A: adequado; B: indeterminado; C: Inadequado; D: não utilizado ☐**Método:**

- a) Pergunta da pesquisa:
- b) Aleatorização:
 - b1) Processo da geração da sequência de números:
 - b2) Processo do sigilo da alocação:
- c) Mascaramento:
- d) Exclusão/perdas:
- e) Duração de seguimento:
- f) Escala de Jadad:

Participantes

- a) Critério inclusão:
- b) Critérios exclusão:
- c) Critérios de diagnóstico:
- d) Número de participantes:
- e) Idade:
- f) Sexo
- g) Duração do estudo:
- h) Local do estudo:

Intervenção

- Grupo tratamento:

- a) Via de administração, dose, vacina, posologia

- Grupo controle

- a) Via de administração, dose, vacina, posologia

- Duração:

Desfechos

- a) Quais são:
- b) Lista de todos desfechos estudados

Notas

- a) fonte de investimento
- b) aprovação ética
- c) conflito de interesse dos autores

7 Referências Bibliográficas

1. Chinery M. *A field guide to the insects of Britain and Northern Europe*. London, UK: William Collins Sons & Co. Ltd, 1984.
2. Homem de Mello MSH. *Abelhas africanizadas na cidade de São Paulo – uma abordagem epidemiológica*. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2000.
3. Freeman TM. Just say formicidae. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005 Nov;95(5):401-2.
4. Graham JH, Hughie HH, Jones S et al. Habitat disturbance and the diversity and abundance of ants (Formicidae) in the Southeastern Fall-Line Sandhills. *J Insect Sci*. 2004;4:30.
5. Klotz JH, deShazo RD, Pinnas JL, Frishman AM, Schmidt JO, Suiter DR, Price GW, Klotz SA. Adverse reactions to ants other than imported fire ants. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005;95(5):418-25.
6. Hoffman DR, Jacobson RS. Allergens in Hymenoptera venom: XII. How much protein is in a sting? *Ann Allergy*. 1984;52:276-8.
7. Schumacher MJ, Tveten MS, Egen NB. Rate and quality of delivery of venom from honeybee stings. *J Allergy Clin Immunol*. 1994;93:831-5.
8. Schumacher MJ, Schmidt JO, Egen NB, Dillon KA. Biochemical variability of venoms from individual European and Africanized honeybees (*Apis mellifera*). *J Allergy Clin Immunol*. 1992;90:59-65.
9. Owen MD, Pfaff LA, Reisman RE, Wypych J. Phospholipase A2 in venom extracts from honeybees (*Apis mellifera* L.) of different ages. *Toxicon*. 1990;28:813-20.
10. Markovic-Housley Z, Miglierini G, Soldatova L, Rizkallah PJ, Müller U, Schirmer T. Crystal structure of hyaluronidase, a major allergen of bee venom. *Structure Fold Des*. 2000;15:1025-35.
11. Dawson CR, Drake A, Helliwell J, Hoder RC. The interaction of bee melitin with lipidic bilayer membranes. *Biochimica Biophysica Acta*. 1978;510:75-86.
12. Müller U. Recombinant venom allergens. *Allergy*. 2002;57:570-6.

13. Kettner A, Hughes GJ, Frutiger S, Astori M, Roggero M, Spertini F et al. Api m 6: a new bee venom allergen. *J allergy Clin Immunol*. 2001;107:914-20.
14. Dotmas EM, Hamid KR, Hider RC, Ragnarsson U. Isolation and structure analysis of bee venom mast cell degranulating peptide. *Biochimica Biophysica Acta*. 1987;911:285-93.
15. Hoffman D. Hymenoptera venom:XXIV. The amino acid sequences of imported fire ant venoms allergens Sol i 2, Sol i 3 and Sol i 4. *J Allergy Clin Immunol*. 1993;91:71-8.
16. King TP, Kochoumian L, Joslyn A. Wasp venom proteins: phospholipase A1 and B. *Arch Biochem Biophys*. 1984;230:1-12.
17. King TP, Alagon AC, Kuan J, Sobotka AF, Lichtenstein LM. Immunochemical studies of yellow jacket venom proteins. *Mol Immunol*. 1983;20:297-308.
18. Henriksen A, King TP, Mirza O, Monsalve RI, Meno K, Ipsen H et al. Major venom allergen of yellow jackets, Ves v 5; structural characterization of a pathogenesis-related protein superfamily. *Proteins*. 2001;45:438-448.
19. Morato-Castro FF, Palma MS, Brocheto-Braga MR, Malaspina O, Lazaretti J, Baldo MAB, Zuppi LJ, Croce J, Cossermelli W. Biochemical properties and study of antigenic cross-reactivity between Africanized honey bee and wasp venom. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1994;4(1):37-41.
20. Schiavino D, Nucera E, Pollastrini E, De Pasquale T, Buonomo A, Bartolozzi F, Lombardo C, Roncallo C, Patriarca G. Specific ultrarush desensitization in Hymenoptera venom-allergic patients. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2004 Apr;92(4):409-13.
21. Abrishami MH, Boyd GK, Settupane GA. Prevalence of bee sting allergy in 2010 girl scouts. *Acta Allergol*. 1971;26:117-20.
22. Novembre E, Cianferoni A, Bernardini RA, Ingargiola A, Lombardi E, Vierucci A. Epidemiology of insect venom sensitivity in children and its correlation to clinical and atopic features. *Clin Exp Allergy*. 1998;28:934-8.
23. Nall TM. Analysis of 677 death certificates and 168 autopsies of stinging insect deaths. *J Allergy Clin Immunol* 1985;75:207-212.
24. Müller, U. *Hymenoptera* venom hypersensitivity: an update. *Clin Exp Allergy*. 1998; 28: 4-6.

25. Lantner R, Reisman RE. Clinical and immunologic features and subsequent course of patients with severe insect-sting anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 1989;84:900-6.
26. Esher SHG. *Características clínicas das reações por venenos de Hymenoptera e valor diagnóstico da determinação da IgE sérica específica nas alergias provocadas por estes insetos*. [Tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. 2004.
27. Hunt KJ, Valentine MD, Sobotka AK, Benton AW, Amodio FJ, Lichtenstein LM. A controlled trial of immunotherapy in insect hypersensitivity. *N Engl J Med*. 1978;299:157-61.
28. Oude EIJN, de Monchy JG, Kors JW, van Doormaal JJ, Dubois AE. Fatal anaphylaxis after a yellow jacket sting, despite venom immunotherapy, in two patients with mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;99(1 Pt 1):153-4.
29. Ludolph-Hauser, Rueff F, Fries C, Schopf P, Przybilla B. Constitutively raised serum concentrations of mast-cell tryptase and severe anaphylactic reactions to Hymenoptera stings. *Lancet*. 2001;357(9253):361-2.
30. Miyachi S, Lessof MH, Kemeny DM, Green LA. Comparison of the atopic background between allergic and non-allergic beekeepers. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1979;58:160-6.
31. Bousquet J, Menardo JL, Aznar R, Robinet-Levy M, Michel FB. Clinical and immunological survey in the beekeepers in relation to their sensitization. *J Allergy Clin Immunol*. 1984;73:332-40.
32. Yee CJ, Morato-Castro FF, Palma MS, Malaspina O, Azevedo-Neto RS, Costa-Manso E, Croce J. Acquired immunity to africanized honeybee (*Apis mellifera*) venom in Brazilian beekeepers. *J Invest Clin Immunol*. 1997;7(6):583-7.
33. Golden DBK. Insect sting allergy and venom immunotherapy: a model and a mystery. *J Allergy Clin Immunol*. 2005 Mar;115(3):439-47.
34. van der Linden PW, Hack CE, Struyvenberg A, van der Zwan JK. Insect-sting challenge in 324 subjects with a previous anaphylactic reaction: current criteria for insect-venom hypersensitivity do not predict the occurrence and the severity of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 1994 Aug;94(2 Pt 1):151-9.

35. Bilo BM, Rueff F, Mosbech H, Bonifazi F, Oude-Elberink JN. Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy*. 2005 Nov;60(11):1339-49.
36. Egner W, Ward C, Brown DL, Ewan PW. The frequency and clinical significance of specific IgE to both wasp (*Vespula*) and honey-bee (*Apis*) venoms in the same patient. *Clin Exp Allergy*. 1997;28:26-34.
37. Reisman RE. Stinging insect allergy. *Med Clin North Am*. 1992 Jul;76(4):883-94. Review.
38. Jennifer L, Huggins R, Looney J. Allergen Immunotherapy. *Am Fam Physician*. 2004;70(4): 689-96.
39. Golden DBK, Valentine MD, Kagay-Sobolka A, Lichtenstein LM. Regimens of hymenoptera venom immunotherapy. *Ann Int Medicine*. 1980;92:620-4.
40. Van der Zwan JC, Flinterrman J, Jankowski IJ, Kerckhaert JA. Hyposensitisation to wasp venom in six hours. *Br Med J*. 1983; 287: 1329-31.
41. Matloff SM, Bailit IW, Parks P, Madden N, Greineder DK. Systemic reactions to immunotherapy. *Allergy Proceedings*. 1993; 14: 347-50.
42. Wright DN, Lockey RF. Local reactions to stinging insects (Hymenoptera). *Allergy Proceedings*. 1990;11:23-8.
43. Guyatt GH, Cook DJ, Sackett DL, Eckman M, Pauker S. Grades of recommendation for antithrombotics agents. *Chest*. 1998;114(5 suppl):441S-4S.
44. Chalmers I, Dickersin K, Chalmers TC. Getting to grips with Archie Cochrane's agenda. *Br Med J*. 1992;305:786-8.
45. Mulrow CD. Rationale for systematic reviews. *Br Med J*. 1994;309(6954):597-99.
46. Ross RN, Nelson HS, Finegold I. Effectiveness of specific immunotherapy in the treatment of hymenoptera venom hypersensitivity: a meta-analysis. *Clin Ther*. 2000 Mar;22(3):351-8.
47. Centro Cochrane do Brasil. 2006 [citado em 10/05/2006]. Disponível em <http://www.centrocochranedobrasil.org.br/colaboracao.asp>.
48. BIREME (Biblioteca Regional de Medicina). 2006 [citado em 10/05/2006]. Disponível em <http://cochrane.bireme.br/>.

49. Clarke M, Oxman AD, editors. *Cochrane Reviewers' Handbook 4.1* [updated June 2000]. In: Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 4.1. Oxford, England: The Cochrane Collaboration, 2000.
50. Ross SD, Allen E, Harrison KJ, Kvasz M, Connelly J, Sheinhait IA. *Systematic review of the literature regarding the diagnosis of sleep apnea*. Evidence report number 1 (Contract 290-97-0016 to Metaworks, Inc.) Rockville MD: Agency for Health Care Policy and Research. February 1999.
51. Alderson P, Green S, Higgins JPT (eds). *Cochrane Reviewers' Handbook 4.2.1* [updated December 2003]. In: The Cochrane Library, Issue 1. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd, 2004.
52. Egger M, Smith GD, Altman DG. Systematic reviews in health care: meta-analysis in context. In *BMJ books* eds. 2001;(4):69-86.
53. Jadad AR, Moore A, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds JM, Gavaghan DJ, Mcquay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials*. 1996;17(1):1-12.
54. Schuberth KC, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Szklo M, Kwitrovich KA, Valentine MD. Epidemiologic study of insect allergy in children. II. Effects of accidental stings in allergic children. *J Pediatr*. 1983;102:361-5.
55. Valentine MD, Schuberth KC, Kagey-Sobotka A, et al. The value of immunotherapy with venom in children with allergy to insect stings. *N Engl J Med*. 1990;323:1601-3.
56. Brown SGA, Wiese MD, Blackman KE, Heddle RJ. Ant venom immunotherapy: a double blind, placebo-controlled, crossover trial. *Lancet*. 2003;361:1001-1006.
57. Quercia O, Emiliani F, Pecora S, Burastero SE, Stefanini GF. Efficacy, safety, and modulation of immunologic markers by immunotherapy with honeybee venom: comparison of standardized quality depot versus aqueous extract. *Allergy Asthma Proc*. 2006 Mar-Apr;27(2):151-8.
58. Roll A, Hofbauer G, Ballmer-Weber BK, Schmid-Grendelmeier P. Safety of specific immunotherapy using a four-hour ultra-rush induction scheme in bee and wasp allergy. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2006;16(2):79-85.
59. Haye R, Dosen LK. Insect sting allergy. A study from 1980 to 2003 of patients who started treatment with venom immunotherapy between 1980 and 1998. *Clin Mol Allergy*. 2005 Aug 19;3:12.

60. Glerant JC, Martinez P, Guillaume C, Jounieaux V. Comparison of 2 maintenance doses (100 microg vs 200 microg) in Hymenoptera venom immunotherapy: influence of the maintenance dose on the immunologic response. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2005 Apr;94(4):451-6.
61. Konno S, Golden DB, Schroeder J, Hamilton RG, Lichtenstein LM, Huang SK. Increased expression of osteopontin is associated with long-term bee venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 May;115(5):1063-7.
62. Baenkler HW, Meusser-Storm S, Eger G. Continuous immunotherapy for hymenoptera venom allergy using six month intervals. *Allergol Immunopathol. (Madr)* 2005 Jan-Feb;33(1):7-14.
63. Muller UR, Haeberli G. Use of beta-blockers during immunotherapy for Hymenoptera venom allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 Mar;115(3):606-10.
64. Erdmann SM, Sachs B, Kwiecien R, Moll-Slodowy S, Sauer I, Merk HF. The basophil activation test in wasp venom allergy: sensitivity, specificity and monitoring specific immunotherapy. *Allergy.* 2004 Oct;59(10):1102-9.
65. Golden DB, Kagey-Sobotka A, Norman PS, Hamilton RG, Lichtenstein LM. Outcomes of allergy to insect stings in children, with and without venom immunotherapy. *N Engl J Med.* 2004 Aug 12;351(7):668-74.
66. Cadario G, Marengo F, Ranghino E, Rossi R, Gatti B, Cantone R, Bona F, Pellegrino R, Feyles G, Puccinelli P, Burastero SE. Higher frequency of early local side effects with aqueous versus depot immunotherapy for hymenoptera venom allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2004;14(2):127-33.
67. Rueff F, Wolf H, Schnitker J, Ring J, Przybilla B. Specific immunotherapy in honeybee venom allergy: a comparative study using aqueous and aluminium hydroxide adsorbed preparations. *Allergy.* 2004 Jun;59(6):589-95.
68. Wenzel J, Meissner-Kraemer M, Bauer R, Bieber T, Gerdson R. Safety of rush insect venom immunotherapy. The results of a retrospective study in 178 patients. *Allergy.* 2003 Nov;58(11):1176-9.
69. Goldberg A, Confino-Cohen R. Rush venom immunotherapy in patients experiencing recurrent systemic reactions to conventional venom immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003 Oct;91(4):405-10.

70. Carballada F, Martin S, Boquete M. High efficacy and absence of severe systemic reactions after venom immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2003;13(1):43-9.
71. Birnbaum J, Ramadour M, Magnan A, Vervloet D. Hymenoptera ultra-rush venom immunotherapy (210min): a safety study and risk factors. *Clin Exp Allergy*. 2003 Jan;33(1):58-64.
72. Sturm G, Kranke B, Rudolph C, Aberer W. Rush Hymenoptera venom immunotherapy: a safe and practical protocol for high-risk patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Dec;110(6):928-33.
73. Mingomataj E, Priftanji A, Qirko E, Dinh QT, Fischer A, Peiser C, Groneberg DA. Specific immunotherapy in Albanian patients with anaphylaxis to hymenoptera venoms. *BMC Dermatol*. 2002 Aug 30;2:11.
74. Oude Elberink JN, De Monchy JG, Van Der Heide S, Guyatt GH, Dubois AE. Venom immunotherapy improves health-related quality of life in patients allergic to yellow jacket venom. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Jul;110(1):174-82.
75. Roever AC, Henz BM, Worm M. Wasp venom rush immunotherapy induces transient downregulation of B cell surface molecule expression. *Int Arch Allergy Immunol*. 2002 Mar;127(3):226-33.
76. Tankersley MS, Walker RL, Butler WK, Hagan LL, Napoli DC, Freeman TM. Safety and efficacy of an imported fire ant rush immunotherapy protocol with and without prophylactic treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Mar;109(3):556-62.
77. Rueff F, Wenderoth A, Przybilla B. Patients still reacting to a sting challenge while receiving conventional Hymenoptera venom immunotherapy are protected by increased venom doses. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Dec;108(6):1027-32.
78. Poli F, Longo G, Parmiani S. The safety and efficacy of immunotherapy with aluminum hydroxide-adsorbed venom extract of *Vespula* spp. An open, retrospective study. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2001 Sep-Oct;29(5):191-6.
79. Magnan A, Marin V, Mely L, Birnbaum J, Romanet S, Bongrand P, Vervloet D. Venom immunotherapy induces monocyte activation. *Clin Exp Allergy*. 2001 Aug;31(8):1303-9.
80. Schuerwegh AJ, Ebo DG, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ. CD63 expression on basophils of nonallergic controls and patients allergic to wasp. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Jul;108(1):150-2.

81. Quercia O, Rafanelli S, Puccinelli P, Stefanini GF. The safety of cluster immunotherapy with aluminium hydroxide-adsorbed honey bee venom extract. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2001;11(1):27-33.
82. Schuerwegh AJ, De Clerck LS, Bridts CH, Stevens WJ. Wasp venom immunotherapy induces a shift from IL-4-producing towards interferon-gamma-producing CD4+ and CD8+ T lymphocytes. *Clin Exp Allergy*. 2001 May;31(5):740-6.
83. Goldberg A, Confino-Cohen R. Maintenance venom immunotherapy administered at 3-month intervals is both safe and efficacious. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 May;107(5):902-6.
84. Muller U, Hari Y, Berchtold E. Premedication with antihistamines may enhance efficacy of specific-allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Jan;107(1):81-6.
85. Rueff F, Przybilla B. Ultrarush immunotherapy in patients with Hymenoptera venom allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 Jun;105(6 Pt 1):1231-5.
86. Brehler R, Wolf H, Kutting B, Schnitker J, Luger T. Safety of a two-day ultrarush insect venom immunotherapy protocol in comparison with protocols of longer duration and involving a larger number of injections. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 Jun;105(6 Pt 1):1231-5.
87. Reimers A, Hari Y, Muller U. Reduction of side-effects from ultrarush immunotherapy with honeybee venom by pretreatment with fexofenadine: a double-blind, placebo-controlled trial. *Allergy*. 2000 May;55(5):484-8.
88. de Jong NW, Vermeulen AM, de Groot H. Allergy to bumblebee venom. III. Immunotherapy follow-up study (safety and efficacy) in patients with occupational bumblebee-venom anaphylaxis. *Allergy*. 1999 Sep;54(9):980-4.
89. Rance F, Abbal M, Bremont F, Dutau G. [Allergy to hymenoptera venoms in children]. *Arch Pediatr*. 1999;6 Suppl 1:55S-60S.
90. Eich-Wanger C, Muller UR. Bee sting allergy in beekeepers. *Clin Exp Allergy*. 1998 Oct;28(10):1292-8.
91. Muller U, Akdis CA, Fricker M, Akdis M, Blesken T, Bettens F, Blaser K. Successful immunotherapy with T-cell epitope peptides of bee venom phospholipase A2 induces specific T-cell anergy in patients allergic to bee venom. *J Allergy Clin Immunol*. 1998 Jun;101(6 Pt 1):747-54.

92. Lerch E, Muller UR. Long-term protection after stopping venom immunotherapy: results of re-stings in 200 patients. *J Allergy Clin Immunol*. 1998 May;101(5):606-12.
93. Golden DB, Kwiterovich KA, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Discontinuing venom immunotherapy: extended observations. *J Allergy Clin Immunol*. 1998 Mar;101(3):298-305.
94. 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 Dec;100(6 Pt 1):767-70.
95. Muller UR, Lerch E. Duration of venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 1997 Feb;99(2):271-2.
96. Graft DF. Stinging insect hypersensitivity in children. *Curr Opin Pediatr*. 1996 Dec;8(6):597-600.
97. Jeep S, Paul M, Muller U, Kunkel G. Honeybee venom allergy: immunoblot studies in allergic patients after immunotherapy and before sting challenge. *Allergy*. 1996 Aug;51(8):540-6.
98. Diez Gomez ML, Quirce Gancedo S, Julia de Paramo B. Venom immunotherapy: tolerance to a 3-day protocol of rush-immunotherapy. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 1995 Nov-Dec;23(6):277-84.
99. McHugh SM, Deighton J, Stewart AG, Lachmann PJ, Ewan PW. Bee venom immunotherapy induces a shift in cytokine responses from a TH-2 to a TH-1 dominant pattern: comparison of rush and conventional immunotherapy. *Clin Exp Allergy*. 1995 Sep;25(9):828-38.
100. Youlten LJ, Atkinson BA, Lee TH. The incidence and nature of adverse reactions to injection immunotherapy in bee and wasp venom allergy. *Clin Exp Allergy*. 1995 Feb;25(2):159-65.
101. Bernstein JA, Kagen SL, Bernstein DI, Bernstein IL. Rapid venom immunotherapy is safe for routine use in the treatment of patients with Hymenoptera anaphylaxis. *Ann Allergy*. 1994 Nov;73(5):423-8.
102. Goldberg A, Confino-Cohen R, Mekori YA. Deliberate bee sting challenge of patients receiving maintenance venom immunotherapy at 3-month intervals. *J Allergy Clin Immunol*. 1994 Jun;93(6):997-1001.
103. Antonicelli L, Pucci S, Bilo MB, Garritani MS, Bonifazi F. Early decrease in skin reactivity after rush venom immunotherapy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1994 Mar-Apr;4(2):57-60.

104. Kochuyt AM, Stevens EA. Safety and efficacy of a 12-week maintenance interval in patients treated with Hymenoptera venom immunotherapy. *Clin Exp Allergy*. 1994 Jan;24(1):35-41.
105. Birnbaum J, Charpin D, Vervloet D. Rapid Hymenoptera venom immunotherapy: comparative safety of three protocols. *Clin Exp Allergy*. 1993 Mar;23(3):226-30.
106. Wyss M, Scheitlin T, Stadler BM, Wuthrich B. Immunotherapy with aluminum hydroxide adsorbed insect venom extracts (Alutard SQ): immunologic and clinical results of a prospective study over 3 years. *Allergy*. 1993 Feb;48(2):81-6.
107. Freeman TM, Hylander R, Ortiz A, Martin ME. Imported fire ant immunotherapy: effectiveness of whole body extracts. *J Allergy Clin Immunol*. 1992 Aug;90(2):210-5.
108. Tarhini H, Knani J, Michel FB, Bousquet J. Safety of venom immunotherapy administered by a cluster schedule. *J Allergy Clin Immunol*. 1992 Jun;89(6):1198-9.
109. Muller U, Helbling A, Berchtold E. Immunotherapy with honeybee venom and yellow jacket venom is different regarding efficacy and safety. *J Allergy Clin Immunol*. 1992 Feb;89(2):529-35.
110. Berchtold E, Maibach R, Muller U. Reduction of side effects from rush-immunotherapy with honey bee venom by pretreatment with terfenadine. *Clin Exp Allergy*. 1992 Jan;22(1):59-65.
111. Keating MU, Kagey-Sobotka A, Hamilton RG, Yunginger JW. Clinical and immunologic follow-up of patients who stop venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 1991 Sep;88(3 Pt 1):339-48.
112. Reed MA, Butcher BT. Imported fire ant (IFA) sensitivity: IFA-specific levels of serum IgG and IgG4. *J Allergy Clin Immunol*. 1990 Apr;85(4):737-42.
113. Lesourd B, Paupe J, Melani M, Sainte-Laudy J, Moulias R, Scheinmann P. Hymenoptera venom immunotherapy. II. T proliferative and T suppressive activities induced by *Vespula* immunotherapy: effects on long-term antibody responses. *J Allergy Clin Immunol*. 1989 Mar;83(3):572-80.
114. Reisman RE, DeMasi JM. Relationship of serum venom-specific IgE titers to clinical aspects of stinging insect allergy. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1989;89(1):67-70.

115. Muller U, Rabson AR, Bischof M, Lomnitzer R, Dreborg S, Lanner A. A double-blind study comparing monomethoxy polyethylene glycol-modified honeybee venom and unmodified honeybee venom for immunotherapy. I. Clinical results. *J Allergy Clin Immunol*. 1987 Sep;80(3 Pt 1):252-61.
116. Graft DF, Schuberth KC, Kagey-Sobotka A, Kwiterovich KA, Niv Y, Lichtenstein LM, Valentine MD. *J Allergy Clin Immunol*. 1987 Aug;80(2):162-9. Assessment of prolonged venom immunotherapy in children.
117. Bousquet J, Fontez A, Aznar R, Robinet-Levy M, Michel FB. Combination of passive and active immunization in honeybee venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 1987 Jun;79(6):947-54.
118. Mosbech H, Malling HJ, Biering I, Bowadt H, Soborg M, Weeke B, Lowenstein H. Immunotherapy with yellow jacket venom. A comparative study including three different extracts, one adsorbed to aluminium hydroxide and two unmodified. *Allergy*. 1986 Feb;41(2):95-103.
119. Malling HJ, Djurup R, Sondergaard I, Weeke B. Clustered immunotherapy with Yellow Jacket venom. Evaluation of the influence of time interval on in vivo and in vitro parameters. *Allergy*. 1985 Jul;40(5):373-83.
120. Djurup R, Malling HJ, Sondergaard I, Weeke B. The IgE and IgG subclass antibody response in patients allergic to yellow jacket venom undergoing different regimens of venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 1985 Jul;76(1):46-55.
121. Reisman RE, Dvorin DJ, Randolph CC, Georgitis JW. Stinging insect allergy: natural history and modification with venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol*. 1985 Jun;75(6):735-40.
122. Muller U, Lanner A, Schmid P, Bischof M, Dreborg S, Hoigne R. A double blind study on immunotherapy with chemically modified honey bee venom: monomethoxy polyethylene glycol-coupled versus crude honey bee venom. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1985;77(1-2):201-3.
123. Van der Zwan JC, Flinterman J, Jankowski IG, Kerckhaert JA. Hyposensitisation to wasp venom in six hours. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1983 Nov 5;287(6402):1329-31.
124. Thurnheer U, Muller U, Stoller R, Lanner A, Hoigne R. Venom immunotherapy in hymenoptera sting allergy. Comparison of rush and conventional hyposensitization and observations during long-term treatment. *Allergy*. 1983 Oct;38(7):465-75.

125. Clayton WF, Reisman RE, Mueller U, Arbesman CE. Modified rapid venom desensitization. *Clin Allergy*. 1983 Mar;13(2):123-9.
126. Golden DB, Langois J, Valentine MD, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Treatment failures with whole-body extract therapy of insect sting allergy. *JAMA*. 1981 Nov 27;246(21):2460-3.
127. Urbanek R, Forster J, Karitzky D, Ziupa J. The prognostic significance of specific IgG antibodies in insect sting allergy. *Eur J Pediatr*. 1981 Mar;136(1):31-4.
128. Gillman SA, Cummins LH, Kozak PP Jr, Hoffman DR. Venom immunotherapy: comparison of "rush" vs "conventional" schedules. *Ann Allergy*. 1980 Dec;45(6):351-4.
129. Chipps BE, Valentine MD, Kagey-Sobotka A, Schuberth KC, Lichtenstein LM. Diagnosis and treatment of anaphylactic reactions to Hymenoptera stings in children. *J Pediatr*. 1980 Aug;97(2):177-84.
130. Muller U, Thurnheer U, Patrizzi R, Spiess J, Hoigne R. Immunotherapy in bee sting hypersensitivity. Bee venom versus wholebody extract. *Allergy*. 1979 Dec;34(6):369-78.
131. Abkiewicz C, Lomnitzer R, Rabson AR. Desensitization of patients with bee sting allergy using pure bee venom. *S Afr Med J*. 1979 Feb 24;55(8):285-7.
132. Busse WW, Reed CE, Lichtenstein LM, Reisman RE. Immunotherapy in bee-sting anaphylaxis. Use of honeybee venom. *JAMA*. 1975 Mar 17;231(11):1154-6.
133. Rhoades RB, Stafford CT, James FK Jr. Survey of fatal anaphylactic reactions to imported fire ant stings. Report of the Fire Ant Subcommittee of the American Academy of Allergy and Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 1989 Aug;84(2):159-62.
134. Weiner JM, Baldo BA, Donovan GR, Sutherland SK. Allergy to jumper ant (*Myrmecia pilosula*) stings in south-eastern Australia [abstract]. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995; 74:60.
135. Hoffman DR, Jacobson RS, Schmidt M, Smith AM. Allergens in Hymenoptera venoms. XXIII. Venom content of imported fire ant whole body extracts. *Ann Allergy* 1991; 66:29-31.
136. Triplett RF. Sensitivity to the imported fire ant: successful treatment with immunotherapy. *South Med J* 1973;66:477-80.

137. Moffitt JE, Golden DB, Reisman RE, Lee R, Nicklas R, Freeman T, deshazo R, Tracy J, Bernstein IL, Blessing-Moore J, Khan DA, Lang DM, Portnoy JM, Schuller DE, Spector SL, Tilles SA. Stinging insect hypersensitivity: a practice parameter update. *J Allergy Clin Immunol*. 2004 Oct;114(4):869-86.
138. Reisman RE. Natural history of insect sting allergy: Relationship of severity of symptoms of initial sting anaphylaxis to re-stings reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 1992 90:335-9.
139. Charpin D, Birnbaum J, Vervloet D. Epidemiology of *Hymenoptera* allergy. *Clin Exp Allergy*. 1994;24:1010-5.
140. Antonicelli L, Bilò BM, Bonifazi F. Epidemiology of Hymenoptera allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2002;2:341-6.