

Venins d'hyménoptères

Structures et propriétés physico-chimiques des allergènes et des différents constituants des venins

B. DAVID, C. GRÉGOIRE, J.P. DANDEU

RÉSUMÉ

Les venins d'hyménoptères contiennent par définition des substances toxiques, qui comme les venins de serpents ou de scorpions, ont des effets pharmaco-chimiques particulièrement actifs et létaux à haute dose. Par contre, si cette toxicité est réduite, à très faible dose d'autres constituants (allergènes) peuvent être à l'origine de manifestations allergiques aussi graves (choc anaphylactique mortel) suite à une sensibilisation développée contre un ou plusieurs de ces allergènes et ce, à partir d'une seule piqûre. L'allergie aux venins d'hyménoptères se distingue des autres types d'allergie notamment des allergies respiratoires liées à l'environnement par différents éléments tel que la sensibilisation par injection, l'allure des symptômes et le traitement par immunothérapie (efficace à près de 100 %). Les progrès récents effectués en recherches ont apporté d'amples informations sur la composition biochimique et allergénique de ces venins et ont permis de réaliser des modèles expérimentaux qui seront fort utiles pour l'étude des mécanismes de sensibilisation.

MOTS-CLÉS : Venin – Hyménoptères – Allergènes – Phospholipase A2.

SUMMARY

Hymenoptera venoms. Structure and physicochemical properties of allergens and the various constituents of venoms. – By definition, hymenoptera venoms contain toxic substances, which; like snake or scorpion venoms, have particularly active and lethal pharmacological effects at high doses. Although this toxicity is reduced at very low doses, other constituents (allergens) can induce just as serious allergic reactions (fatal anaphylactic shock) following sensitization to one or several of these allergens, after a single sting. Allergy to hymenoptera venoms differs from other types of allergy, especially environment-related respiratory allergies, by various elements such as sensitization by injection, the appearance of the symptoms and treatment with immunotherapy (almost 100 % effective). Recent progress in research has provided a wealth of information about the biochemical and allergenic composition of these venoms and has allowed the development of experimental models which will be very useful for the study of the mechanisms of sensitization.

KEY-WORDS : Venom – Hymenoptera – Allergens – Phospholipase A2.

INTRODUCTION

L'aspect clinique et la sévérité des réactions systémiques aux piqûres d'hyménoptères dont le choc anaphylactique illustre l'ultime gravité en matière d'hypersensibilité immédiate IgE, doivent nécessairement être différenciés entre ce qui

appartient à l'allergie d'une part, et aux constituants toxiques du venin d'autre part.

La relation imparfaite qui existe entre les réactions aux piqûres d'hyménoptères, les tests cutanés réalisés avec des pools de venins ou des allergènes purifiés, et le taux d'IgE sériques spécifiques peuvent être expliqués par la variabilité (quantitative et qualitative) des substances contenues dans le sac

Unité d'Immuno-Allergie, Institut Pasteur, 25 et 28, rue du Docteur-Roux, 75724 PARIS Cedex 15.

Tirés à part : Pr B. David.

DAVID B., GRÉGOIRE C., DANDEU J.P. – Venins d'hyménoptères. Structures et propriétés physico-chimiques des allergènes et des différents constituants des venins. *Rev. fr. Allergol.*, 1997, 37 (8), 1057-1062.

TABEAU IV. – Propriétés biochimiques et pharmacologiques de quelques constituants du venin d'abeille (*Apis mellifera*)
d'après Habermann E. [20]

	Histamine	Mellitine	Apamine	MCD-peptide	Hyaluronidase	Phospholipase
% (poids sec)	0,1-1	50	2	2	1-3	12
Masse moléculaire	111	2 840	2 038	2 593	> 20 000	524
Toxicité générale en mg/kg intraveineuse	192-445	4	4	> 40	0	7,5
Toxicité locale						
Douleur	++	++	nd	nd	0	nd
Augmentation de la perméabilité capillaire	++	++	+	++	indirect	+
Neurotoxicité	0	+ (local)	++	+	0	0
Dommages cellulaires	0	++	nd	+	0	+
				sur mastocytes		
Hémolyse direct	0	++	0	0	0	0
Effets circulatoires	++	++	0	+	0	+
Effets neuromusculatoires	0	++	0	nd	0	0
Effets sur les muscles lisses	++	++	0	0	0	+
Blocage ganglionnaire	0	++	0	nd	0	0
Libération d'histamine	0	++		++	0	+
Hémolyse indirect	0	0	0	0	0	++
Inactivation de la thromboplastine	0	+	nd	nd	0	++
Interruption du transport d'électron	0	+	nd	nd	0	++
Interruption de la phosphorylation oxydative	0	+	nd	nd	0	++
Effet de diffusion	0	0	0	0	++	0
Antigénicité	0	+	nd	nd	++	++

sont la melittine, l'apamine et le peptide MCD chez les premières, tandis que l'antigène 5 n'est rencontré que chez les vespides.

La phospholipase A1 ou A2 ainsi que la hyaluronidase sont représentées dans l'ensemble des venins d'hyménoptères piqueurs où elles constituent des allergènes majeurs.

LA PHOSPHOLIPASE A2 DU VENIN D'ABEILLE

Activité enzymatique et cytotoxicité

Dans les réactions d'hypersensibilité immédiate à médiation IgE au venin d'abeille, 90 p. cent des patients possèdent des anticorps IgE sériques dirigés contre la phospholipase A2 [9, 10].

Le double intérêt de la phospholipase A₂ (PLA₂) est qu'elle constitue un allergène majeur du venin d'abeille dénommé Api m 1 et qu'elle possède une activité enzymatique à effet cytotoxique. L'étude des interactions entre la PLA₂ et la paroi de cellules telles que les RBL (Rat Basophilic Leukemia) a révélé une activité cytotoxique spécifique de l'enzyme [11] en absence d'anticorps. Dudler et al. [12] ont analysé le mode d'action de la PLA₂ sur les phospholipides de la paroi cellulaire et ont proposé des théories sur le concept de son allergénicité, associant sa fonction enzymatique à la synthèse d'IgE spécifiques, ainsi ils ont mis en évidence une libération d'histamine, de 5-hydroxytryptamine, d'hexosaminidase et de cytokines pro

Th2 (IL-4) par la lignée cellulaire de basophiles de rat (RBL) suite à l'action de la PLA₂ sur les phospholipides membranaires.

Ils ont également montré qu'une simple mutation dans le site enzymatique de la PLA₂ rendait ce mutant incapable de provoquer des dommages membranaires et de libérer les médiateurs de l'inflammation en l'absence d'anticorps de type IgE. Cependant, aucune différence n'a pu être observée sur la dégranulation mastocytaire à médiation IgE, entre la forme enzymatiquement active et inactive.

Détermination du répertoire T de la phospholipase A2

La synthèse des anticorps IgE est régulée par les lymphocytes T. Pour obtenir une réponse IgE les récepteurs des lymphocytes T doivent reconnaître un peptide de l'allergène présenté dans le contexte du Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II par une cellule présentatrice d'antigène. Dhillon et al. [13] ont observé la présence d'un nombre réduit d'épitopes T de la PLA₂ chez l'homme et ont démontré qu'il n'y avait pas de restriction au niveau des molécules de classe II HLA DR, comme c'était le cas pour l'allergène d'acarien [14, 15].

Carballido et al. [16, 17] ont même trouvé à partir des clones T de patients allergiques et non allergiques à la PLA₂ trois autres peptides T reconnus chacun par trois classes HLA différentes, impli-

COMPOSITION DES DIFFÉRENTS VENINS

Les substances responsables des réactions locales et générales causées par les venins d'hyménoptères sont de natures diverses. Les volumes et la qualité des produits contenus dans le sac à venin ou délivrés par une piqûre sont sujets à une grande variation en fonction de l'espèce, de l'âge et du groupe social de l'insecte. En réalité, la quantité globale des sacs à venin est source de controverse parmi les auteurs et des écarts parfois notables peuvent être constatés comme en témoigne le tableau I. Parmi les constituants du venin, certains d'entre eux peuvent être nocifs par leurs effets toxico-pharmacologiques, d'autres par leurs capacités à sensibiliser l'organisme (production IgE spécifiques) et à provoquer des manifestations allergiques de type anaphylactique. Un certain nombre d'observations font état d'une diminution de la réaction en fonction de l'âge de l'insecte [1] et une recherche effectuée dans notre laboratoire [2] a montré qu'il existait une différence de toxicité et d'antigénicité entre le venin de frelon (*Vespa orientalis*) adulte et celui de l'insecte jeune et que ce dernier comportait une bien plus faible allergénicité, vérifiée par des techniques immunochimiques et des tests cutanés chez des patients allergiques au venin.

La classification des composants des venins d'hyménoptères plus particulièrement impliqués dans les réactions toxiques et/ou allergiques peut être divisée en trois types de substances :

- Les amines biogènes à visée toxico-pharmacologique.
- Les polypeptides et protéines (non enzymatiques) comprenant des allergènes et des produits toxiques.
- Les enzymes protéiques qui comprennent des allergènes, avec une activité enzymatique plus ou moins nocive.

Les études récentes portant sur la composition des venins d'hyménoptères ont permis de dresser une liste des principaux constituants représentés tableau II. Cette composition (non exhaustive) varie selon l'espèce et la souche considérée (tableau III). C'est ainsi que l'on peut caractériser les substances prédominantes identiques ou différentes entre les apidae et les vespidae.

Concernant les abeilles, la plus importante des amines biogènes est l'histamine avec 0,1-1 p. cent du poids sec du venin (tableau IV).

Dans les polypeptides et les protéines, trois éléments importants sont la mellitine, l'apamine et le peptide MCD (Mast Cell Degranulating).

– La mellitine est le principal constituant du venin d'abeille (50 % du poids sec). Polypeptide basique de 2 840 daltons, elle possède une structure chimique de 26 résidus qui lui confère un

TABLEAU I. – Quantités et volumes dans les sacs à venins de plusieurs hyménoptères (d'après Mueller U.R.)

Espèces	Volume de venin en µl		Protéine (poids sec) en µg	
	par sac	par piqûres	par sac	par piqûres
<i>Apis mellifera</i>	0,6-3	–	100	70 ± 30
	–	0,5-2	72±12	59
<i>Polistes</i>	–	–	140-170	–
	–	–	8,4-34	4,2-17
<i>Vespa</i>	–	0,5-2	3,4-6,2	1,7-3,1
<i>Dolichovespula</i>	–	0,5-2	10,5	5,0
<i>Vespa</i>	0,92-2	–	260-300	–

TABLEAU II

	Abeilles	Guêpes (<i>vespula</i>)	Guêpes (<i>polistes</i>)	Frelons
<i>Amines biogènes</i>				
Histamine	+++	+++	+++	+++
Sérotonine	–	++	++	++
Dopamine	+	+	+	+
Adrénaline	–	+	+	+
Noradrénaline	+	+	+	+
Acétylcholine	–	–	–	++
<i>Polypeptides et protéines</i>				
Mellitine *	+++	–	–	–
Apamine	++	–	–	–
Peptide M-C-D	++	–	–	–
Bradykinine	–	+	+	+
Antigène 5 *	–	+++	+++	+++
Antigène HMW	+	–	–	–
<i>Enzymes</i>				
Phospholipase A1 ou A2 *	+++	+++	+++	++
Hyaluronidase *	++	++	++	+
Phosphatase acide	+	+	+	++
Cholinestérase	–	+	–	–
Histidine décarboxylase	–	+	–	–
N-gly-pro-aryl-amidase	+	+	+	+
Protéases	+	+	+	+
Glucidases	+	+	+	+
Lipases	+	+	+	+

* Les composés signalés par un (*) sont officiellement répertoriés dans la liste des allergènes d'insectes (tableau III) établie par le IUIS Allergen Nomenclature Subcommittee lors de sa réunion du 24 février 1997.

puissante activité de détergent (surfactant) en diminuant la tension interfaciale entre l'air et la solution saline. Elle a également un pouvoir hémolytique et toxique sur la cellule, ce qui provoque la libération d'enzymes des liposomes ou de médiateurs par les thrombocytes et mastocytes. Elle interagit également avec le système enzymatique au niveau de la membrane cellulaire en interrompant la phosphorylation oxydative dans la mitochondrie. Outre son pouvoir toxique, la mellitine est également un allergène majeur chez l'abeille (Api m 4) [3].

TABLEAU III. – Nomenclature des allergènes (venins d'hyménoptères)

Sources d'allergènes	Nomenclature	MW (kDa)	Séquences
<i>Apis mellifera</i> (honey bee)	Api m 1 ; phospholipase A2	16	C
	Api m 2 ; hyaluronidase	44	C
	Api m 4 ; melittine	3	C
<i>Bombus pennsylvanicus</i> (bumble bee)	Bom p 1 ; phospholipase	16	P
	Bom p 4 ; protéase		P
<i>Dolichovespula maculata</i> (white face hornet)	Dol m 1 ; phospholipase A1	35	C
	Dol m 2 ; hyaluronidase	44	C
	Dol m 5 ; antigène 5	23	C
<i>Dolichovespula arenaria</i> (yellow hornet)	Dol a 5 ; antigènes 5	23	C
<i>Polistes annularis</i> (wasp)	Pol a 1 ; phospholipase A1	35	P
	Pol a 2 ; hyaluronidase	44	P
	Pol a 5	23	C
<i>Polistes exclamatus</i> (wasp)	Pol e 1 ; phospholipase A1	34	P
	Pol e 5 ; antigène 5	23	C
<i>Polistes fuscatus</i> (wasp)	Pol f 5 ; antigène 5	23	C
<i>Polistes metricus</i>	Pol m 5 ; antigène 5	23	P
<i>Vespula flavopilosa</i> (yellow jacket)	Ves f 5 ; antigène 5	23	C
<i>Vespula germanica</i> (yellow jacket)	Ves g 5 ; antigène 5	23	C
<i>Vespula maculifrons</i> (yellow jacket)	Ves m 1 ; phospholipase A1	33,5	C
	Ves m 2 ; hyaluronidase	44	P
	Ves m 5 ; antigène 5	23	C
<i>Vespula pennsylvanica</i> (yellow jacket)	Ves p 5 ; antigène 5	23	C
<i>Vespula squamosa</i> (yellow jacket)	Ves s 5 ; antigène 5	23	C
<i>Vespula vidua</i> (yellow jacket)	Ves vi 5 ; antigènes 5	23	C
<i>Vaspula vulgaris</i> (yellow jacket)	Ves v 1 ; phospholipase A1	35	C
	Ves v 2 ; hyaluronidase	44	P
	Ves v 5 ; antigène 5	23	C
<i>Vespa crabro</i> (European hornet)	Vesp c 1 ; phospholipase	34	P
	Vesp c 5.0101, antigène 5	23	C
	Vesp c 5.0102, antigène 5	23	C

– L'apamine est un peptide basique de 2 027 daltons responsable de l'action neurotoxique du venin d'abeille. Elle correspond à 2 p. cent du poids sec.

– Le peptide MCD, est un polypeptide fortement basique de 2 588 daltons qui constitue 1 p. cent du poids sec. Son action sur le mastocyte ne serait pas due à une toxicité mais à un mode d'action sur les récepteurs membranaires déclenchant une libération d'histamine 10 à 100 fois supérieure à celle de la mellitine.

Pour ce qui est du répertoire enzymatique, la phospholipase A₂ (PLA₂) (12-15 %) et la hyaluronidase (2-3 %) se comportent comme des enzymes à très forte activité protéolytique et comme des

allergènes majeurs (Api m 1 et Api m 2 réciproquement).

– La PLA₂ est une relativement petite glycoprotéine de 134 résidus, purifiée et séquencée dont la structure cristallographique a été résolue par Scott DL et al [4]. La PLA₂ est une protéine bipolaire (pôles hydrophile et hydrophobe) qui possède un site de fixation pour le calcium et comme son nom l'indique une activité enzymatique spécifique hydrolysant les liaisons 2-ester des glycérophospholipides de la série L. Responsable du délabrement membranaire, elle représente un véritable poison cellulaire.

Schumacher [5] a montré pour l'abeille une concentration très nettement supérieure de PLA₂ chez *Apis mellifera scutellata* (abeille « africaine ») par rapport à *Apis mellifera* (abeille « européenne »), et un rapport inverse pour la mellitine.

– La hyaluronidase (45-50 000 daltons) a moins de toxicité que la PLA₂ et favorise l'accès de la membrane aux autres constituants du venin.

En résumé, le composants les plus importants à considérer dans le venin d'abeille sont l'histamine, l'apamine et le peptide MCD pharmacologiquement actifs, la mellitine allergène majeur et produit toxique, la PLA₂ et la hyaluronidase, allergènes majeurs doués d'activité enzymatique.

Chez les vespidae, l'histamine est le constituant majoritaire des amines biogènes dans le venin avec 4 p. cent du poids sec pour les vespula, 3 p. cent pour les polistes et 5-6 p. cent pour les dolichovespula. Ils contiennent également de la dopamine et de l'acétylcholine, notamment dans le venin de frelon qui en contient 5 p. cent.

Quant aux polypeptides, les kinines semblent jouer un rôle non négligeable, et seule la kinine de poliste a été purifiée et sa structure partiellement identifiée.

Une des caractéristiques du venin des vespidae est la présence de ce que l'on appelle l'antigène 5 considéré comme un allergène majeur. Protéine de 28 000 daltons, sa fonction est encore mal définie malgré la connaissance de sa séquence en amino acide (204 résidus).

Lu et al. [6] ont montré une importante homologie de séquences entre les antigènes 5 de frelons, polistes et vespides. Ces auteurs ont démontré, dans un système murin, un haut degré de réactions croisées entre les différentes origines de l'antigène 5 aussi bien sur les cellules T que sur les cellules B. Récemment les travaux de Te Piao King et al [7, 8] ont établi que les réactivités croisées observées avec l'antigène 5 (Dol m 5) reposaient essentiellement sur le peptide (176-195) comprenant peut être plusieurs épitopes T différents.

Les éléments majeurs qui différencient les venins d'abeilles des venins de guêpes sociales

TABLEAU IV. – Propriétés biochimiques et pharmacologiques de quelques constituants du venin d'abeille (*Apis mellifera*) d'après Habermann E. [20]

	Histamine	Melittine	Apamine	MCD-peptide	Hyaluronidase	Phospholipase
% (poids sec)	0,1-1	50	2	2	1-3	12
Masse moléculaire	111	2 840	2 038	2 593	> 20 000	524
Toxicité générale en mg/kg intraveineuse	192-445	4	4	> 40	0	7,5
Toxicité locale						
Douleur	++	++	nd	nd	0	nd
Augmentation de la perméabilité capillaire	++	++	+	++	indirect	+
Neurotoxicité	0	+ (local)	++	+	0	0
Dommages cellulaires	0	++	nd	+	0	+
				sur mastocytes		
Hémolyse direct	0	++	0	0	0	0
Effets circulatoires	++	++	0	+	0	+
Effets neuromusculatoires	0	++	0	nd	0	0
Effets sur les muscles lisses	++	++	0	0	0	+
Blocage ganglionnaire	0	++	0	nd	0	0
Libération d'histamine	0	++		++	0	+
Hémolyse indirect	0	0	0	0	0	++
Inactivation de la tromboplastine	0	+	nd	nd	0	++
Interruption du transport d'électron	0	+	nd	nd	0	++
Interruption de la phosphorylation oxydative	0	+	nd	nd	0	++
Effet de diffusion	0	0	0	0	++	0
Antigénicité	0	+	nd	nd	++	++

sont la melittine, l'apamine et le peptide MCD chez les premières, tandis que l'antigène 5 n'est rencontré que chez les vespides.

La phospholipase A1 ou A2 ainsi que la hyaluronidase sont représentées dans l'ensemble des venins d'hyménoptères piqueurs où elles constituent des allergènes majeurs.

LA PHOSPHOLIPASE A2 DU VENIN D'ABEILLE

Activité enzymatique et cytotoxicité

Dans les réactions d'hypersensibilité immédiate à médiation IgE au venin d'abeille, 90 p. cent des patients possèdent des anticorps IgE sériques dirigés contre la phospholipase A2 [9, 10].

Le double intérêt de la phospholipase A₂ (PLA₂) est qu'elle constitue un allergène majeur du venin d'abeille dénommé Api m 1 et qu'elle possède une activité enzymatique à effet cytotoxique. L'étude des interactions entre la PLA₂ et la paroi de cellules telles que les RBL (Rat Basophilic Leukemia) a révélé une activité cytotoxique spécifique de l'enzyme [11] en absence d'anticorps. Dudler et al. [12] ont analysé le mode d'action de la PLA₂ sur les phospholipides de la paroi cellulaire et ont proposé des théories sur le concept de son allergénicité, associant sa fonction enzymatique à la synthèse d'IgE spécifiques, ainsi ils ont mis en évidence une libération d'histamine, de 5-hydroxytryptamine, d'hexosaminidase et de cytokines pro

Th2 (IL-4) par la lignée cellulaire de basophiles de rat (RBL) suite à l'action de la PLA₂ sur les phospholipides membranaires.

Ils ont également montré qu'une simple mutation dans le site enzymatique de la PLA₂ rendait ce mutant incapable de provoquer des dommages membranaires et de libérer les médiateurs de l'inflammation en l'absence d'anticorps de type IgE. Cependant, aucune différence n'a pu être observée sur la dégranulation mastocytaire à médiation IgE, entre la forme enzymatiquement active et inactive.

Détermination du répertoire T de la phospholipase A2

La synthèse des anticorps IgE est régulée par les lymphocytes T. Pour obtenir une réponse IgE les récepteurs des lymphocytes T doivent reconnaître un peptide de l'allergène présenté dans le contexte du Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe II par une cellule présentatrice d'antigène. Dhillon et al. [13] ont observé la présence d'un nombre réduit d'épitopes T de la PLA₂ chez l'homme et ont démontré qu'il n'y avait pas de restriction au niveau des molécules de classe II HLA DR, comme c'était le cas pour l'allergène d'acarien [14, 15].

Carballido et al. [16, 17] ont même trouvé à partir des clones T de patients allergiques et non allergiques à la PLA₂ trois autres peptides T reconnus chacun par trois classes HLA différentes, impli-

quant que la réponse à la PLA₂ n'est pas réduite à une classe particulière de HLA. D'autres études [18] concernant les modifications chimiques d'un peptide T ont abouti à la conclusion que la substitution d'un seul amino acide dans un épitope T de la PLA₂ était suffisant pour abolir chez différentes lignées de souris la production des anticorps anaphylactiques de type IgE et IgG1.

Très récemment, des essais de désensibilisation ont été réalisés chez des patients allergiques au venin d'abeille en comparant l'utilisation d'un mélange de trois peptides avec un extrait total de venin [19]. Il a été constaté une élévation du taux sérique des IgE et des IgG4 spécifiques avec une modification du ratio IgE : IgG4 nettement en faveur de ces derniers. Il a été observé *in vitro* une hyper réactivité cellulaire de type T aussi bien avec la PLA₂ qu'avec les trois peptides (avec prolifération et production de cytokines). En outre, la production de ces anticorps par les cellules B ne semblait pas être modifiée par l'effet de l'immunothérapie, ce qui laisse à penser que la « tolérisation » s'effectuerait essentiellement au niveau des cellules T.

CONCLUSION

De nouvelles stratégies sont donc proposées pour l'immunothérapie aux venins. Comme pour les allergies de provenances diverses, des mêmes approches fondamentales et cliniques se multiplient. S'il est indéniable de concevoir de nouveaux produits en partant d'extraits allergéniques purifiés et mieux standardisés, de sélectionner les allergènes majeurs et de les modifier (allergènes recombinants, peptides) en vue de réaliser un traitement de désensibilisation plus efficace, notamment dans les allergies respiratoires, peut-on considérer avec une même vision l'hyper-sensibilité aux venins d'hyménoptères ? Mis à part le souci d'éliminer les substances toxiques, et le fait que les allergènes des venins (mellitine, phospholipase A, antigène 5, hyaluronidase...) représentent des modèles séduisants pour la recherche expérimentale, doit-on bouleverser les attitudes thérapeutiques d'immunothérapie actuelle qui procurent une efficacité voisine de 100 p. cent ?

Ouvrages de références :

J. Bousquet, J.L. Menardo, F.B. Michel. – Allergies aux hyménoptères. IFRA, 1985.

P. Molikou, C. Pinon. – Allergie aux insectes in Allergologie de J. Charpin, éd. Flammarion Médecine, Sciences, Paris, 1992.

Mueller U.R. – Insect sting Allergy Clinical picture, diagnosis and treatment. 1 vol. Gustav Fischer Stuttgart. New York, 1990.

RÉFÉRENCES

- Owen M.D., Bridges A.R. – Aging in the venom glands of queen and worker honey bees (*Apis mellifera* L.): some morphological and chemical observations. *Toxicon*, 1976, 14, 1-5.
- Dandeu J.P., Henocq E., Raffard M., Ishay J., David B. – Immunochemical study of the venom from the hornet *Vespa orientalis* (hymenoptera: Vespinae). *Ann. Allergy*, 1985, 54, 236-239.
- Paull B.R., Yunginger J.W., Gleich G.J. – Mellitin: an allergen of honeybee venom. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1977, 59, 334-338.
- Scott D.L., Otwinowski Z., Gelb M.H., Sigler P.B. – Crystal structure of bee-venom phospholipase A2: correction [letter]. *Science*, 1991, 252, 764.
- Schumacher M.J., Schmidt J.O., Egen N.B., Dillon K.A. – Biochemical variability of venoms from individual European and Africanized honeybee (*Apis mellifera*). *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 90, 59-65.
- Lu G., Villalba M., Coscia M.R., Hoffman D.R., King T.P. – Sequence analysis and antigenic cross-reactivity of a venom allergen. *J. Immunol.*, 1993, 150, 2823-2830.
- King T.P., Lu G., Gonzalez N., Qian N., Soldatova L. – Yellow jacket venom allergens, hyaluronidase and phospholipase: sequence similarity and antigenic cross-reactivity with their hornet and wasp homologs and possible implications for clinical allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1996, 98, 588-600.
- King T.P., Lu G. – Hornet venom allergen antigen 5, Dol m 5: its T-cell epitopes in mice and its antigenic cross reactivity with a mammalian testis protein. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1997, 99, 630-639.
- Kemeny D.M., MacKenzie-Mills M., Harries, M.G., Youtlen L.J., Lessof M.H. – Antibodies to purified bee venom proteins and peptides. II. A detailed study of changes in IgE and IgG antibodies to individual bee venom antigens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1983, 72, 376-385.
- Kemeny D.M., Harries M.C., Youtlen L.J., Mackenzie-Mills M., Lessof M.H. – Antibodies to purified bee venom proteins and peptides. I. Development of a highly specific RAST for bee venom antigens and its application to bee sting allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1983, 71, 505-514.
- Helm B.A. – Is there a link between the nature of agents that trigger mast cells and the induction of immunoglobulin (Ig)E synthesis? *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1994, 347, 1-10.
- Dudler T., Machado D.C., Kolbe L., Annand, R.R., Rhodes N., Gelb M.H., Koelsch K., Suter M., Helm B.A. – A link between catalytic activity, IgE-independent mast cell activation, and allergenicity of bee venom phospholipase A2. *J. Immunol.*, 1995, 155, 2605-2613.
- Dhillon M., Roberts C., Nunn T., Kuo. M. – Mapping human T cell epitopes on phospholipase A2: the major bee-venom allergen. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 90, 42-51.
- O'Hehir R.E., Young D.B., Kay A.B., Lamb J.R. – Cloned human T lymphocytes reactive with *Dermatophagoides farinae* (house dust mite): a comparison of T-and B-cell antigen recognition. *Immunology*, 1987, 62, 635-640.
- O'Hehir, R.E., Garman R.D., Greesntein J.L., Lamb J.R. – The specificity and regulation of T-cell responsiveness to allergens. *Annu. Rev. immunol.*, 1991, 9, 67-95.
- Carballido J.M., Carballido-Perrig N., Terres G., Heusser C.H., Blaser K. – Bee venom phospholipase A2-specific T cell clones from human allergic and non allergic individuals: cytokine patterns change in response to the antigen concentration. *Eur. J. Immunol.*, 1992, 22, 1357-1363.
- Carballido J.M., Carballido-Perrig N., Kagi M.K., Meloen R.H., Wuthrich B., Heusser C.H., Blaser K. – T cell epitope specificity in human allergic and nonallergic subjects to bee venom phospholipase A2. *J. Immunol.*, 1993, 150, 3582-3591.
- Soloway P., Fish S., Passmore H., Geftter M., Coffee R., Manser T. – Regulation of the immune response to peptide antigens: differential. *J. Exp. Med.*, 1991, 174, 847-858.
- Akdis C.A., Akdis M., Blesken D., Wymann U., Müller K., Blaser K. – Epitope-specific T cell tolerance in bee venom and peptide immunotherapy in bee sting allergy. abstract n° 390, XVI International Congress of Allergy & Clinical Immunology, 1997.
- Habermann E. – Bee and Wasp venoms. The biochemistry and pharmacology of their peptides and enzymes are reviewed. *Science*, 1972, 177, 314-321.