



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



Mise au point

Diagnostic de l'allergie aux venins d'hyménoptères

Diagnosis of hymenoptera venom allergy

E. Popin^{a,*}, J.-P. Jacquier^b, C. Lambert^c, et le Groupe de travail insectes piqueurs SFA ANAFORCAL

^a Service de pneumologie, CHU d'Amiens-Picardie, 1, rond point du Professeur Cabrol, 80054 Amiens cedex, France

^b Service de pneumologie, centre hospitalier métropole Savoie, place Lucien-Biset, 73000 Chambéry, France

^c Laboratoire d'immunologie, pôle de biologie, hôpital Nord, CHU de Saint-Étienne, 42055 Saint-Étienne cedex 2, France

INFO ARTICLE

Historique de l'article :

Reçu le 25 juin 2021

Accepté le 30 juin 2021

Disponible sur Internet le xxx

Mots clés :

Venins d'hyménoptères

Intradermoréaction au venin

Composants moléculaires

Test d'activation des basophiles

Test d'inhibition des IgE spécifiques

RÉSUMÉ

En cas de réaction sévère après piqûre d'hyménoptère, il faut confirmer le mécanisme immunoallergique et identifier, de façon précise, l'allergène en vue d'une immunothérapie spécifique. Le bilan est effectué à distance de la réaction initiale (après 4 semaines habituellement). L'anamnèse est l'élément fondamental du diagnostic et doit être rigoureuse. La mise en évidence d'une sensibilisation IgE dépendante repose sur les tests cutanés par intradermoréaction et le dosage d'IgE spécifiques du venin suspecté. Les hyménoptères testés habituellement sont l'abeille, la guêpe *Vespula* et, surtout, dans les régions du sud, la guêpe poliste. Le dosage d'IgE spécifiques vis-à-vis de certains composants de venin (Api m1, Api m10, Ves v1, Ves v5, Pol d5...) et vis-à-vis de déterminants carbohydrates permet d'affiner le diagnostic, notamment en cas de polysensibilisation ou de doute sur l'identification de l'hyménoptère responsable. Les tests *ex vivo* (tests d'activation des basophiles) et les tests d'inhibition d'IgE spécifiques peuvent également aider à préciser le diagnostic, dans des situations difficiles, mais restent exceptionnels et peu accessibles. Le dosage des IgG4 spécifiques pour mesurer une éventuelle induction de tolérance est controversé. Le test de provocation est déconseillé.

© 2021 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

ABSTRACT

In case of severe reaction following a hymenoptera sting, the immuno-allergic mechanisms must be confirmed and it is critical to identify precisely the allergen for an eventual venom immunotherapy. The allergological exploration must be postponed from the initial event, usually 4 weeks. A precise history of reaction is the basis of diagnosis and must be rigorous. IgE-dependent reaction is evidenced with intradermal skin tests, and the dosage of specific IgE for Honey bee and *Vespula* wasp venoms are usually performed together with Polistes venom in south Europe region. Dosages of specific IgE to venom components (Api m1, Api m10, Ves v1, Ves v5, Pol d5...) and Cross-reactive Carbohydrate Determinants help in characterization of the sensitization, especially in case of multiple sensitivity or in case of doubtful identification of the stinging insect. *In vitro* functional test (Basophil Activation test) and specific IgE-inhibition tests can help solving difficult cases but are not available everywhere. Dosage of specific IgG4 for venom components to measure tolerance induction is still under debate. *In vivo*, provocation tests with venom are generally not recommended in diagnosis.

© 2021 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords:

Hymenoptera venom

Venom intradermoreaction

Molecular components

Basophil activation test

IgE inhibition assay

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : popin.elisabeth@chu-amiens.fr (E. Popin).

<https://doi.org/10.1016/j.reval.2021.06.007>

1877-0320/© 2021 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abréviations

AVH	allergie aux venins d'hyménoptères
IDR	intradermoréaction
IgEs	IgE spécifiques
CCD	Cross-reactive Carbohydate Determinants
TAB	Test d'Activation des Basophiles
ITA	Immunothérapie allergénique

Le diagnostic de l'allergie aux venins d'hyménoptères (AVH) repose sur :

- les éléments cliniques décrits après les piqûres d'hyménoptères ,
- et la mise en évidence d'une sensibilisation cutanée et/ou biologique IgE-médiée.

L'objectif est de préciser les éléments cliniques en faveur d'une réaction allergique immédiate et d'en préciser la gravité, d'identifier l'hyménoptère responsable et de confirmer la sensibilisation IgE médiée vis-à-vis de l'hyménoptère suspecté (et parfois du composant du venin en cause). La décision thérapeutique sera guidée par la gravité de la réaction et par les facteurs de risque.

1. Éléments cliniques

La douleur d'une piqûre de guêpe ou d'abeille peut s'accompagner non seulement d'une réaction allergique, mais aussi d'une réaction non allergique, locale inflammatoire par injection de composants vasodilatateurs du venin, ou systémique, le plus souvent, de type neurovégétative, tel qu'un syndrome d'hyperventilation ou un malaise vagal.

La description des symptômes et leur sévérité constituent donc les éléments essentiels de l'interrogatoire (voir article sur les manifestations cliniques).

Au moment de l'accident anaphylactique, le diagnostic se focalise en priorité sur la symptomatologie et la gravité des signes cliniques. Il est important d'évaluer rapidement l'étendue de la réaction : locale, régionale, généralisée. Pour les réactions généralisées, selon l'intensité, l'urgence est de traiter les signes cardiovasculaires et respiratoires (utilisation d'adrénaline). Il est aussi très utile, aux urgences, de doser la tryptasémie pour confirmer la nature anaphylactique de la réaction.

Le diagnostic étiologique et l'évaluation des risques en cas de nouvelle exposition se feront surtout à distance.

L'interrogatoire est fondamental et doit préciser :

- le nombre de piqûres (orientation vers une réaction toxique en cas de piqûres multiples, majoration du risque allergique après plusieurs piqûres). Les conséquences cliniques graves d'une envenimation surviennent pour plus de 100 piqûres d'abeilles, plus de 20 piqûres de frelons [1],
- leur siège (pour préciser le caractère systémique ou local d'une réaction après piqûre de la face par exemple),
- la présence éventuelle d'un dard (plus évocatrice de piqûre d'abeille),
- si possible l'identification de l'insecte piqueur.

En l'absence de certitude sur l'identification de l'insecte piqueur par un patient averti (les confusions par les patients sont fréquentes), il faut s'aider de planches avec photos [2] et du contexte géographique (ex : les guêpes polistes jusqu'à ces dernières années étaient surtout présentes en région méditerranéenne ; voir article entomologie).

Des éléments d'orientation sur l'hyménoptère piqueur peuvent être apportés par :

- les circonstances de piqûre : proximité de ruches avec ou sans tenue de protection pour les abeilles, repas ou cueillette de fruits pour les guêpes, marche pieds nus dans l'herbe pour l'abeille ou le bourdon ;
- la description des nids (nids souterrains pour la guêpe *Vespula*, nids de petite taille souvent aériens pour la guêpe poliste, nids parfois volumineux en haut des arbres pour le frelon asiatique) [2] ;
- la saison : piqûre d'abeille plus fréquente au début de l'été, piqûre de guêpe plus fréquente en fin d'été et en automne.

Dans l'immense majorité des cas, en France, l'insecte piqueur est un hyménoptère : guêpe *Vespula* ou poliste (surtout dans les régions méditerranéennes), frelon européen (*Vespa crabro*), plus rarement abeille (hors travaux d'apiculture). En Europe, 70,6 % des réactions anaphylactiques après piqûres sont imputables aux guêpes, 23,4 % aux abeilles et 4,1 % aux frelons [3]. Les piqûres spontanées de bourdons (hors contexte professionnel) sont rares (piqûres essentiellement lors de l'écrasement de l'hyménoptère), les piqûres de frelons asiatiques (*Vespa velutina*) également en dehors des attaques multiples lors de la destruction des nids. De façon très exceptionnelle, on peut être amené à envisager la responsabilité d'un autre insecte (notamment un taon ; voir article sur les piqûres et morsures d'autres arthropodes) :

- le délai d'apparition des symptômes après la piqûre : un délai très court (de l'ordre de la minute) est très en faveur d'une réaction allergique IgE-médiée ,
- le type de réaction présentée (voir article manifestations cliniques), et la conduite tenue (traitements de secours utilisés, etc.),
- les facteurs associés : effort physique, prise de médicaments le jour de la piqûre (bêtabloquants, anti-inflammatoires non stéroïdiens), contexte évocateur ou connu de pathologie mastocytaire.

Bien entendu, les constatations médicales initiales, si elles existent, les modalités de traitement en urgence, l'élévation significative de la tryptasémie lorsque le dosage a pu être effectué, sont des éléments objectifs importants pour retenir la nature allergique et préciser la gravité de la réaction.

On précisera s'il y a eu des piqûres d'hyménoptères antérieures et ultérieures éventuelles, et les réactions présentées.

2. Mise en évidence d'une sensibilisation immédiate IgE-médiée

La mise en évidence d'une sensibilisation vis-à-vis du venin d'hyménoptère n'a d'intérêt que dans un contexte clinique évocateur de réaction immédiate systémique après piqûre [4], et d'indication éventuelle d'immunothérapie allergénique spécifique (ITA). Les réactions locales, en général, ne requièrent pas de démarche diagnostique. Pour les réactions locorégionales, la situation doit être discutée au cas par cas (voir article sur l'immunothérapie).

Les tests cutanés constituent l'élément essentiel du diagnostic [5–7]. Mais 10 à 30 % de la population générale, sans histoire antérieure d'anaphylaxie après piqûres d'hyménoptères, peuvent avoir des tests positifs [4]. Les tests cutanés ne sont donc pas recommandés en l'absence de clinique évocatrice de réaction systémique.

Les tests permettent :

- de confirmer l'hyménoptère responsable ,

- de conforter le caractère IgE-dépendant de la réaction ,
- de quantifier l'importance de la sensibilisation ,
- et d'évaluer d'éventuelles réactions croisées avant la prise de décision thérapeutique.

L'importance de la sensibilisation n'est pas corrélée au risque de gravité, mais une réaction anaphylactique grave, associée à une faible sensibilisation, doit faire rechercher une pathologie mastocytaire ou d'autres facteurs aggravants (voir article mastocytose).

2.1. Tests cutanés

Un délai d'au moins 2 semaines par rapport à la dernière piqûre [5], et plus habituellement 1 mois, est recommandé pour effectuer les tests, car le seuil de réactivité cutanée peut être modifié dans les jours qui suivent la réaction anaphylactique.

Les tests peuvent être effectués en ambulatoire. Même s'ils sont généralement bien tolérés, y compris en cas de mastocytose [8], ils seront faits sous surveillance et dans des conditions de sécurité optimale (avec possibilité de prise en charge d'une réaction anaphylactique).

Un traitement par bêtabloquant pourrait compliquer la prise en charge d'une éventuelle réaction anaphylactique, et devra entraîner une vigilance renforcée.

Les tests cutanés sont effectués après arrêt des antihistaminiques, et sont habituellement pratiqués simultanément pour les différents venins. Mais une réaction initiale grave ou l'impossibilité d'arrêt des bêtabloquants exige une grande prudence et, dans ces circonstances, il est envisageable de mettre en place une perfusion de sécurité et de tester les différents venins successivement.

La disponibilité des venins commerciaux est sujette aux contraintes de production et de distribution. Par exemple, actuellement, un seul laboratoire commercialise des extraits commerciaux de venin en France, un autre laboratoire en commercialise en Belgique.

Seuls les extraits aqueux peuvent être utilisés pour les tests cutanés (les extraits retardés de type Alutard [laboratoire ALK], commercialisés notamment en Belgique, ne sont utilisables que pour les injections d'ITA en phase d'entretien).

Les extraits commercialisés pour les tests cutanés et la désensibilisation spécifique sont les venins :

- de guêpe *Vespula* ,
- de guêpe poliste ,
- et d'abeille.

Pour un hyménoptère donné, et selon le laboratoire et la provenance géographique, les extraits peuvent correspondre à un mélange de différentes espèces, par exemple, pour le venin de guêpe *Vespula* : *Vespula vulgaris*, *V. flavopilosa*, *V. germanica*, *V. maculifrons*, *V. pennsylvanica* et *V. squamosa* [9].

En France métropolitaine, il est recommandé de tester systématiquement les venins d'abeille, de guêpe *Vespula*, ainsi que le venin de poliste, dans les régions où on la trouve (voir article entomologie).

En France, il n'y a pas actuellement d'extraits commerciaux disponibles pour les tests cutanés vis-à-vis des frelons (européens et asiatiques) ni des bourdons, mais il existe une parenté allergénique entre venins :

- de guêpe *Vespula* et de frelons :
 - *Vespa crabro* : frelon européen,
 - *Vespa velutina* : frelon asiatique
 - et dans une moindre mesure *Dolichovespula* : frelon américain ,

- de guêpe *Vespula* (Vespula) et de guêpe poliste (*Polistes*),
- d'abeille (*Apis mellifera*) et de bourdon (*Bombus*).

Avant de pratiquer les tests cutanés pour les venins, la réactivité cutanée sera vérifiée à l'aide de tests témoins : test négatif et test positif (chlorhydrate d'histamine ou phosphate de codéine).

Les concentrations utilisées pour les prick-tests aux venins d'hyménoptères vont le plus souvent de 10 à 100 µg/mL [5–7]. Des concentrations supérieures (notamment à 300 µg/mL) ont été étudiées sur de petits effectifs avec des résultats variables en termes de sensibilité et de spécificité [10,11].

Les intradermoréactions (IDR) restent les tests de référence. Elles consistent en une injection intradermique de 0,02 mL de la solution de façon à obtenir une papule initiale d'environ 3 mm. La lecture se fait à 20 minutes. Les critères de positivité du test sont une majoration de la papule d'injection d'au moins 3 mm, associé à un érythème périphérique [9].

Elles sont effectuées à concentrations croissantes, en partant d'une forte dilution avec les extraits de venins standardisés, reconstitués en solution aqueuse (avec le diluant correspondant et en respectant le protocole de reconstitution et la durée de conservation des extraits reconstitués).

La concentration initiale est déterminée en fonction du type d'accident clinique et du patient (traitements, antécédents) : usuellement, une IDR à la concentration de 0,001 µg/mL est choisie. Lorsque la réaction a été particulièrement sévère, la prudence incite à commencer par une concentration inférieure (0,0001 µg/mL). Si l'IDR est négative, une concentration 10 fois supérieure est testée et, ainsi de suite, de 10 en 10 jusqu'à l'obtention d'une IDR positive ou jusqu'à la concentration de 1 µg/mL maximum. Au-dessus de cette concentration, les IDR pour les venins peuvent être faussement positives.

Environ 10 % des patients avec tests cutanés négatifs ont des IgE spécifiques (IgEs) positives vis-à-vis des extraits de venins. Inversement, chez 20 % des patients avec tests cutanés positifs, il n'est pas mis en évidence d'IgEs. Pour ces raisons, les guidelines préconisent la recherche de la sensibilisation à la fois par les tests cutanés et par le dosage d'IgEs [9].

Lorsqu'il existe une discordance entre la gravité de la réaction anaphylactique et l'absence de sensibilisation aux venins habituels, il faut refaire le bilan dans un délai de 1 à 2 mois [12], envisager que la piqûre puisse être imputable à un autre insecte et éliminer un facteur aggravant (notamment une pathologie mastocytaire).

Il arrive que les IDR soient positives à des concentrations significatives pour plusieurs venins d'hyménoptères (guêpes *Vespula* et poliste, par exemple), ou que la positivité des tests cutanés ne soit pas corrélée à l'histoire clinique ; ceci peut s'expliquer par l'existence de composants à forte homologie entre les venins (comme, par exemple, l'antigène 5 des venins de guêpes *Vespula* et poliste).

Les tests biologiques peuvent permettre de différencier une sensibilisation croisée d'une allergie à plusieurs hyménoptères, et aider à choisir le ou les venins à utiliser en cas de décision d'ITA. Dans la série de Quercia, en cas de double sensibilisation (guêpe *Vespula*–guêpe poliste), le choix d'une ITA unique est retenu si le seuil de positivité en IDR diffère d'au moins un facteur 10 [13].

2.2. Dosage des IgE spécifiques (IgEs)

En présence de manifestations cliniques allergiques systémiques après piqûre d'hyménoptère, le dosage des IgEs, comme les tests cutanés, permet de conforter le mécanisme IgE-dépendant de la réaction et l'identification de l'insecte en cause.

Par contre, en l'absence d'une clinique évocatrice, la présence d'IgEs ne témoigne que d'une sensibilisation au venin d'hyménoptère testé. Dans la population générale, des IgEs

Tableau 1

Dosages d'IgEs disponibles vis-à-vis d'extraits complets de venins naturels.

Abeille : <i>Apis mellifera</i>	i1
Guêpe commune : <i>Vespula</i> sp.	i3
Guêpe poliste : <i>Polistes</i> sp.	i4
Guêpe poliste européenne : <i>Polistes dominulus</i>	i77
Bourdon : <i>Bombus terrestris</i>	i205
Frelon européen : <i>Vespa crabro</i>	i75
Frelon asiatique : <i>Vespa velutina</i>	u1223 (dosage d'exception)
Frelon à tête jaune : <i>Dolichovespula maculata</i>	i2
Frelon à tête blanche : <i>Dolichovespula arenaria</i>	i5
Fourmi rouge : <i>Solenopsis invicta</i>	i70

Tableau 2

Dosages d'IgEs disponibles vis-à-vis d'allergènes recombinants de venin et de déterminants carbohydrates (CDD).

Abeille		
rApi m1	Phospholipase A2	i208
rApi m2	Hyaluronidase	i214
rApi m3	Phosphatase acide	i215
rApi m5	Allergène C	i216
rApi m10	Icarapine	i217
Guêpe <i>Vespula</i>		
rVesv1	Phospholipase A1	i211
rVesv5	Antigène 5	i209
Guêpe poliste		
rPold5	Antigène 5	i210
Déterminants carbohydrates		
Broméline		k202
MUXF3CCD		o214

vis-à-vis des venins sont retrouvées dans 15 % des prélèvements et seuls 1/3 des patients ont une histoire compatible avec une réaction allergique au venin [14]. La mise en évidence d'IgEs de venin peut être beaucoup plus fréquente dans des populations très exposées [15].

Des tests unitaires sont actuellement disponibles :

- vis-à-vis des extraits de venins naturels (Tableau 1),
- et vis-à-vis de composants allergéniques spécifiques de venin (Tableau 2) : ce sont des allergènes moléculaires préparés par purification (allergènes naturels) ou par génie génétique (allergènes recombinants). Les allergènes recombinants sont dépourvus de résidus carbohydrates (CCD).

La très faible concentration des IgE sériques, par rapport aux autres immunoglobulines, a nécessité le développement de techniques extrêmement sensibles actuellement par immunofluorescence (ThermoFisher) ou chimiluminescence (Siemens, Hycor) [16].

Depuis 1974, en France, le dosage des IgEs était basé sur le principe du RAST (Radio-Allergo-Sorbent-Test), dosage radio-immunologique avec des résultats exprimés en classe de positivité de 1 à 4, commercialisé par Pharmacia.

Depuis 2001, cette technique est remplacée par une technique immunoenzymatique, (ImmunoCAP®), commercialisée par Phadia (devenu Thermo Fisher Scientific depuis 2011). Les allergènes sont préfixés sur une matrice et le sérum du patient est mis en contact. La présence d'IgEs est ensuite détectée par un anticorps antiIgE qui est couplé à une enzyme (bêta-galactosidase). Puis est ajouté un substrat qui, sous l'action de l'enzyme, deviendra fluorescent (Fig. 1 a).

Les résultats sont exprimés, de façon quantitative, en kU_A/L, unité arbitraire sur une gamme allant de 0,35 à 100. Des taux entre 0,10 et 0,35 sont estimés par extrapolation. Un taux <0,10 kU/L est considéré comme négatif. Les taux ne sont pas directement corrélés avec la sévérité de la réaction clinique.

D'autres méthodes de dosage se sont développées, notamment, avec des allergènes marqués à la biotine. Dans la méthode Immulite® de Siemens, la réaction allergène/IgE se fait en phase liquide, puis le complexe est immobilisé sur un support constitué de billes recouvertes de streptavidine. Dans la méthode Noveos® de Hycor, les allergènes biotinylés sont d'abord déposés sur des microbilles puis mis en présence du sérum. Dans ces deux cas, la présence d'IgEs est quantifiée par chimiluminescence. Les résultats sont exprimés sur une échelle de 0,1 à 100. Il n'y a pas d'équivalence directe entre les unités des différentes techniques, mais les fournisseurs cherchent à avoir des résultats comparables et sur les mêmes échelles de valeurs [17,18]. Il vaut mieux éviter des changements de techniques pour le suivi chez un même patient.

Le dosage s'effectue sur le sérum (mais il serait également possible sur le plasma ou d'autres liquides biologiques comme les larmes). Le prélèvement est fait sur tube sec (bouchon jaune ou rouge) et un tube suffit pour 5 à 10 allergènes. Le prélèvement est relativement stable ; il doit être centrifugé dans les 8 heures et peut être gardé jusqu'à 48 h au réfrigérateur ou être congelé avant dosage. Il n'est pas nécessaire pour le patient d'être à jeun (mais il faut éviter les aliments gras). La prise en charge peut être limitée selon le régime d'assurance ; par exemple, en France, elle est limitée à 5 dosages d'IgEs pour les venins, avec un coût de 13 euros par test (nomenclature B50).

2.2.1. IgE spécifiques vis-à-vis d'extraits complets de venins

Comme pour les tests cutanés, on effectue habituellement un dosage d'IgEs vis-à-vis des venins d'abeille, de guêpe *Vespula* et éventuellement de guêpe poliste selon la région d'exposition. Ces dosages permettent de donner une valeur quantitative pour le suivi. Le dosage peut être sous-estimé s'il est effectué trop précocement après une réaction sévère, qui entraîne une consommation des IgEs; un délai d'au moins 2 à 4 semaines après la réaction anaphylactique est habituellement recommandé [19].

L'interprétation des taux d'IgEs doit parfois être nuancée lorsque le taux d'IgE totales est très élevé. La sensibilité du dosage d'IgEs vis-à-vis du venin de guêpes *Vespula* et poliste est actuellement améliorée par l'enrichissement en allergène du groupe 5 [20].

En cas de doute sur l'identité de l'insecte piqueur ou de discordance entre l'anamnèse et les tests cutanés, des dosages d'IgEs complémentaires vis-à-vis d'extraits complets d'autres hyménoptères peuvent apporter une aide (Tableau 1). Actuellement, en France, ce dosage peut être réalisé en pratique courante vis-à-vis des venins de guêpe *Vespula* (*Vespula* sp.), de guêpes polistes américaines (*Polistes* spp.), de guêpe poliste européenne (*Polistes dominulus*), d'abeille (*Apis mellifera*), de bourdon (*Bombus terrestris*), et de frelon européen (*Vespa crabro*). Le dosage des IgEs vis-à-vis du frelon asiatique (*Vespa velutina*) est également possible, mais reste un dosage d'exception.

Pour les frelons et bourdons, nous ne disposons pas en France d'extrait, ni pour les tests cutanés, ni pour l'immunothérapie spécifique.

Les IgEs vis-à-vis des frelons américains (frelon à tête jaune *Dolichovespula maculata* et frelon à tête blanche *Dolichovespula arenaria*) ne doivent pas être demandées en Europe, car leurs venins n'ont pas de parenté importante avec celui de la guêpe *Vespula* ou du frelon européen *Vespa crabro*. Par contre, la réactivité croisée entre guêpe *Vespula* et frelon *Vespa crabro* est importante, avec une parenté allergénique forte pour la hyaluronidase, la phospholipase A1 et l'antigène 5 [21,22].

Il existe également une réactivité croisée entre les venins d'abeille et de bourdon. Les tests cutanés et le dosage des IgEs contre le venin d'abeille détecteront quasiment tous les allergiques au bourdon [23].

Cependant, on note des différences structurales entre certains allergènes majeurs (phospholipase A2, protéase) d'espèces diffé-

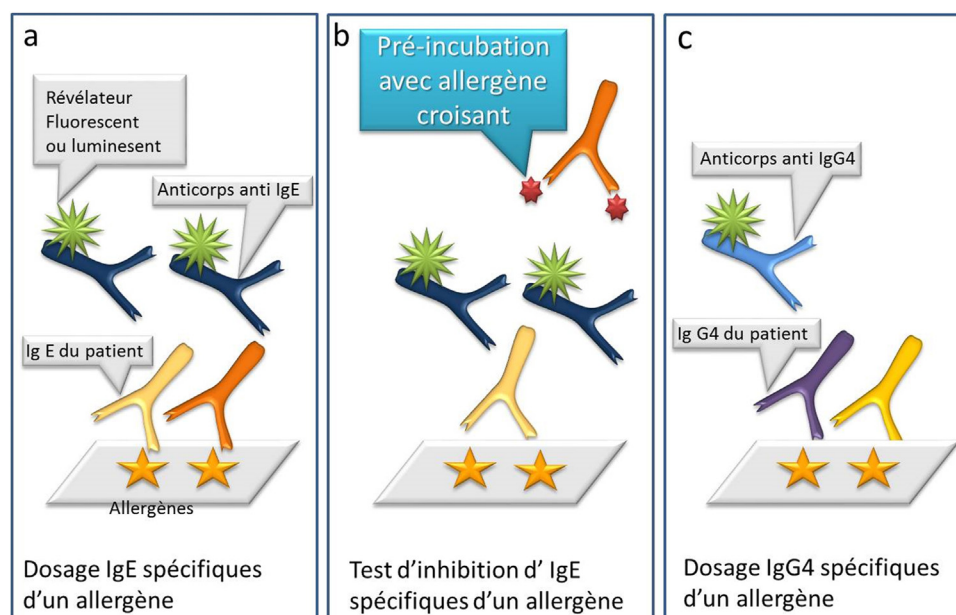


Fig. 1. C. Lambert Dosage des IgEs, des IgG4 et test d'inhibition des IgEs. L'allergène est fixé sur le support. Les IgEs (a et b) ou les IgG4 (c) se fixent sur l'allergène et cette fixation est détectée par un anticorps anti-IgE (a et b) ou anti-IgG4 (c) : a) IgEs d'allergènes détectées par anticorps anti-IgE. Réactions croisées possibles ; b) test d'inhibition par pré-incubation avec un allergène croisant qui se fixe sur les IgE qui le reconnaissent ; c) dosage d'IgG4 pour le même allergène (même technique, anti-IgG4 humaine).

rentes de bourdons notamment américains, comme le *Megabombus pennsylvanicus*, et européens, comme le *Bombus terrestris* utilisé en milieu professionnel [24]. Ces éléments pourraient expliquer des sensibilisations croisées moindres entre bourdon et abeille chez certains patients exposés professionnellement aux piqûres d'une espèce donnée de bourdon pollinisateur [25], et justifient le dosage des IgEs contre *Bombus terrestris* le cas échéant.

Les espèces de guêpes polistes diffèrent selon l'origine géographique. On dispose du dosage d'IgEs vis-à-vis de *Polistes* spp. (mélange de polistes américaines ImmunoCAP i4), et vis-à-vis d'une guêpe poliste européenne (*Polistes dominulus* ImmunoCAP i77), tandis que les extraits pour les tests cutanés et pour l'ITA, en France, actuellement, proviennent des guêpes polistes américaines (*Polistes annularis*, *P. exclamans*, *P. fuscatus*, *P. metricus*) [26]. Pour les patients sensibilisés en Europe méditerranéenne, les IgEs vis-à-vis de *Poliste dominulus* seraient plus sensibles [27] et spécifiques [28] que celles de *Polistes* spp.

Le dosage des IgEs peut être effectué en post-mortem et ainsi aider au diagnostic rétrospectif de la cause du décès [29].

2.2.2. IgE spécifiques vis-à-vis de composants du venin

Certains composants des venins (Tableau 2) sont disponibles pour le diagnostic, mais leur utilité clinique n'est pas encore consensuelle. Ces dosages permettent, parfois, de préciser l'identification de l'insecte responsable et de faciliter l'analyse des doubles positivités (notamment entre venin d'abeille et de guêpe). En effet, une positivité des tests cutanés et/ou des IgEs vis-à-vis de deux venins peut correspondre soit à une véritable double sensibilisation, soit à une sensibilisation vis-à-vis d'un venin avec réactivité croisée pour l'autre par le biais d'épitopes proches ou à une sensibilisation vis-à-vis des CCD.

Il existe, par exemple, une forte homologie de structure entre l'antigène 5 des venins de guêpes *Vespa* (Ves v5) et poliste (Pol d5) [30]. En cas de double sensibilisation pour les venins de guêpes *Vespa* et poliste (situation plus fréquente en Europe du Sud que la co-sensibilisation *Apis-Vespa*), si l'un des dosages est nettement supérieur à l'autre, il peut être considéré comme prédominant, et l'autre comme allergène croisant. Par exemple, dans les recommandations italiennes, une différence d'un facteur 2 ou plus entre les

taux d'IgEs de rVes v5 et rPol d5 est considérée comme significative [13].

De la même façon, il existe une parenté allergénique étroite entre Api m2 et Ves v2 (hyaluronidases), entre Api m5 et Ves v3 (dipeptidylpeptidases), et entre Api m12 et Ves v6 (vitellogénines) (voir article sur les allergènes des venins). Ces composants allergéniques ne sont actuellement pas tous disponibles en routine pour le dosage d'IgEs (Tableau 2).

Certains composants sont plus spécifiques d'un hyménoptère donné (ex : Api m1, Api m10 pour le venin d'abeille). Les allergènes du groupe 5 représentent la majorité des sensibilisations pour les venins de guêpes, alors que la sensibilisation pour Api m1, par exemple, n'est retrouvée que chez environ $\frac{3}{4}$ des patients sensibilisés au venin d'abeille. Tester plusieurs composants du venin d'abeille augmente la sensibilité : 72,2 % pour Api m1 testé seul, 86,8 % pour l'association Api m1 et Api m10, 94,4 % pour les 6 allergènes (Api m1 à 5 et Api m10) [31].

La négativité des IgEs vis-à-vis des allergènes recombinants Ves v 1 et Ves v 5 permet d'exclure une allergie au venin de guêpe *Vespa* [32].

Les dosages d'IgEs vis-à-vis des allergènes de venin peuvent permettre dans de rares cas de détecter des sensibilisations non retrouvées sur l'extrait complet, lorsque le composant est peu représenté comme, par exemple, Api m10. Cet allergène moléculaire est également peu présent dans les extraits pour les tests cutanés et l'ITA [9,33]. Les tests cutanés peuvent alors être négatifs et l'ITA moins efficace [33].

2.2.3. IgE spécifiques vis-à-vis de déterminants carbohydrates (CCD)

Certains composants du venin sont riches en CCD et la positivité des tests cutanés et des IgEs peut parfois correspondre à une sensibilisation vis-à-vis des CCD sans pertinence clinique [34]. Une sensibilisation aux CCD peut être détectée par dosage des IgEs pour la broméline ou le MUXF3CCD en cas de discordance clinico-biologique [35]. Certains fournisseurs inhibent d'emblée les réactions contre les CCD dans leur système de dosage d'IgEs (par exemple Hycor).

Activation des Basophiles/Mastocytes

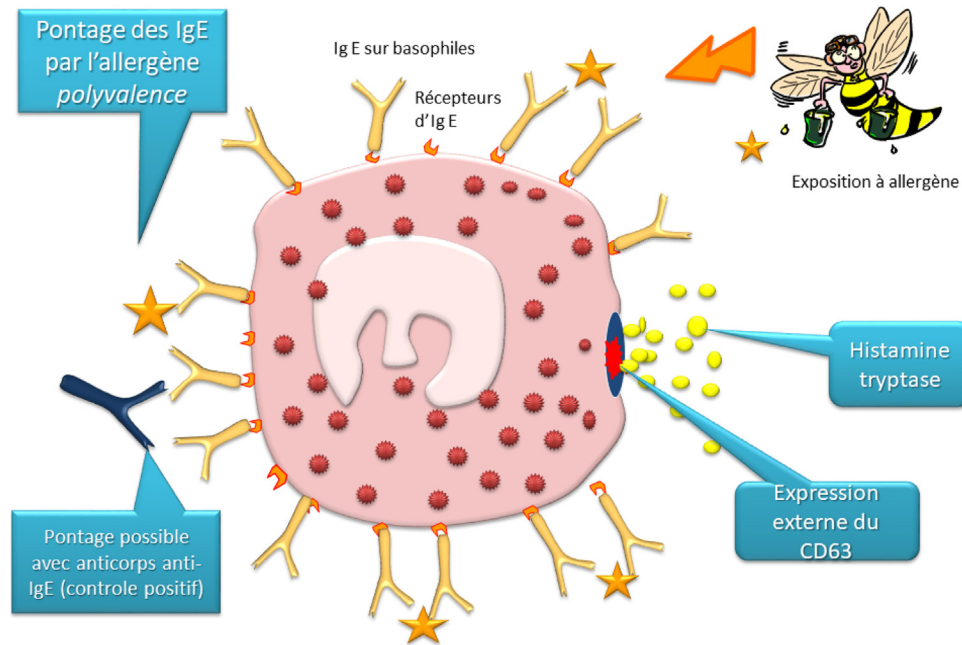


Fig. 2. C. Lambert Activation d'un mastocyte ou d'un basophile par l'allergène. Les IgEs sont portées par les récepteurs d'IgE à la surface des basophiles et des mastocytes. L'allergène vient ponter les IgEs et déclenche la dégranulation avec relargage des contenus des granules dont l'histamine et la tryptase. Le CD63 habituellement dans les granules est détectable à la surface des cellules.

Les venins de guêpe *Vespula* ou d'abeille portent des carbohydrates α 1-3 contenant du fucose, qui peuvent être à l'origine de sensibilisations croisées entre venins, et également avec les végétaux [36]. Le venin de guêpe poliste est dépourvu de ces carbohydrates α 1-3 fucosylés et, de ce fait, le dosage d'IgEs n'est pas modifié par les anti-CCD [36].

2.2.4. Tests multi-allergéniques sur biopuce

Plusieurs tests multi-allergéniques ont été mis sur le marché sous forme de biopuces. Ils sont utiles pour la caractérisation d'allergies multiples, pour la recherche d'allergies croisées ou, parfois, en cas de difficultés à identifier l'allergène en cause. Certaines de ces puces comportent des allergènes de venin tels que *Vespula* (Ves v1, Ves v5), *Polistes* (Pol d5), *Apis* (Api m1, Api m10), *Dolichovespula* (i25) ou la fourmi *Solenopsis* (i70). La plupart des composants sont recombinants, mais certains sont purifiés et donc glycosylés. Ces tests ne sont pas quantitatifs et ne peuvent pas être utilisés pour le suivi. Ils sont coûteux et non remboursés.

Comme tous les allergènes d'hyménoptères des biopuces sont disponibles en dosage unitaire quantitatif, les biopuces multi-allergéniques ne sont pas adaptées au diagnostic de l'AVH.

2.3. Test d'inhibition des IgE spécifiques

Le principe du dosage d'IgEs repose sur la réaction de fixation des IgEs sur l'allergène. Dans le test d'inhibition des IgEs (autrefois appelé « inhibition de RAST » ou « inhibition de CAP »), on met un deuxième allergène en compétition, sous forme soluble, avant de faire le test de dosage des IgEs.

Si les IgEs reconnaissent l'allergène soluble, elles vont se fixer sur cet allergène et ne pourront plus interagir avec l'allergène du dosage. Dans ce cas, le dosage sera fortement abaissé. Cela permet de voir si ce sont les mêmes IgEs qui reconnaissent l'allergène pré-incubé et celui du test (Fig. 1 b).

Par exemple, dans le cas d'une double positivité des IgEs pour les extraits A et B (ex : respectivement *Vespula* et *Apis*) : avant de faire

le dosage des IgE présentes dans le sérum vis-à-vis de l'allergène B (*Apis*), on incube le sérum avec l'allergène A (*Vespula*). Si ce sont les mêmes anticorps qui reconnaissent les deux allergènes A et B (réaction croisée), les IgE se fixent sur l'allergène A en solution et ne seront plus disponibles pour l'allergène B du test. Dans le cas d'une double sensibilisation, les IgEs de A (*Vespula*) sont occupées par l'allergène A soluble et les IgEs de B sont toujours disponibles pour reconnaître l'allergène B (*Apis*) du test. Le dosage d'IgEs pour l'allergène B sera fortement diminué dans le cas de réaction croisée et peu modifié dans le cas de double sensibilisation. La difficulté est d'interpréter la signification des inhibitions partielles, surtout si les allergènes sont structurellement proches.

Le test d'inhibition des IgEs peut aussi préciser quel déterminant allergénique explique l'inhibition en testant les composants du venin (par exemple : Ves v5, Ves v1).

Ce test n'est pas très compliqué à mettre en place si l'allergène soluble est disponible. Il suffit d'effectuer le dosage plusieurs fois en pré-incubant le sérum avec plusieurs dilutions d'un des deux allergènes. Il est largement utilisé en recherche. Cependant, la préparation et la répétition des analyses ont un coût qui n'est pas pris en charge. De plus, ce test n'est pas standardisé, n'est pas accessible en routine et n'est pas validé en diagnostic. La signification clinique du taux seuil d'inhibition n'est pas connue. Ce test peut néanmoins apporter une aide en cas de polysensibilisation.

2.4. Test d'activation des basophiles (TAB)

Le test d'activation des basophiles consiste à provoquer, ex vivo, la dégranulation des basophiles (mesurée par l'expression de CD63 ou l'augmentation du CD203c) en présence d'un allergène (Fig. 2).

Plusieurs systèmes sont disponibles avec des résultats équivalents. Une stimulation non spécifique (souvent un anticorps anti-IgE ou antirécepteur des IgE) permet de vérifier la réactivité des basophiles.

Plusieurs doses d'allergènes doivent être testées, car la réaction est de type courbe en cloche, du fait d'un effet toxique à fortes concentrations. Les seuils de positivité et les doses d'allergènes ne sont pas encore standardisés. Le TAB peut être considéré comme ayant la même signification que les tests cutanés, dépendant de la « sensibilisation » par IgE et de la réactivité cellulaire individuelle.

Le TAB est utilisé actuellement pour les venins d'abeille et de guêpes *Vespula* et *poliste*. Il n'y a pas actuellement de composants moléculaires disponibles pour les TAB bien que leur intérêt ait été démontré [37].

Il peut aider à valider le diagnostic en cas de tests cutanés difficiles à interpréter ou non réalisables ou en cas de discordance entre la clinique et les tests cutanés/IgEs.

La sensibilité du TAB est de 90 % avec une valeur prédictive positive à 79 % pour l'abeille et 86 % pour la guêpe [38].

En pratique, cet examen nécessite un prélèvement de sang, habituellement sur tube EDTA (violet). Il n'est pas nécessaire de suspendre le traitement antihistaminique. Comme pour les tests cutanés, un test effectué précocement par rapport à une réaction anaphylactique, peut être sous-estimé. L'effet des tests cutanés pratiqués avant prélèvement pour TAB est discuté. Dans tous les cas, le test doit être fait sur un prélèvement aussi frais que possible, et techniqué dans la journée, compte tenu de la fragilité des basophiles.

Le recours au TAB est donc limité par l'accès à la technique localement. Il n'est pas de pratique courante et n'est effectué que par certains laboratoires. Il n'est pas pour l'instant pris en charge par la sécurité sociale. Sa tarification, en France, est hors nomenclature et actuellement à 27 euros pour une dilution, soit, pour au moins 3 dilutions, 81 euros par allergène.

3. Examens biologiques complémentaires

3.1. Tryptasémie

La tryptase bêta est présente dans les granules des mastocytes et relarguée lors d'une dégranulation ; sa libération signe la participation des mastocytes. Une tryptase alpha est produite constitutivement, en faible quantité. Il n'existe qu'une méthode de dosage de tryptase qui dose les isoformes alpha et bêta sans distinction.

Le dosage de la tryptase est spécifique, stable et reproductible contrairement au dosage d'histamine, qui peut également être produit par d'autres cellules [39].

Le fournisseur propose un seuil de positivité à 11,4 µg/L. En réalité, les taux sont beaucoup plus bas chez la plupart des sujets (autour de 5 µg/L). Il est important de comparer le dosage de base et le dosage au cours de la réaction anaphylactique. Lors de l'exposition aiguë, les taux sont fortement augmentés avec un pic entre 30 min et 2 heures. La tryptasémie revient à son taux de base après 18 heures. Il est donc utile de faire deux prélèvements : l'un au moment de l'accident et l'autre au moins 18 à 24 heures plus tard. La variation de taux est considérée comme significative si le taux de base se majore de 20 % + 2 µg/L, quel que soit l'âge (par exemple, si le dosage de tryptasémie de base est de 5 µg/L, le passage à un taux de 5 + 1 (20 % de 5) + 2 = 8 µg/L est significatif) [40]. Le taux de tryptase basale est très stable chez un patient donné, et les dosages sont comparables d'un laboratoire à l'autre puisqu'il n'y a actuellement qu'un kit de dosage disponible sur le marché.

La tryptasémie de base peut être augmentée dans la mastocytose, le syndrome d'activation mastocytaire [41] et l'alphatryptasémie héréditaire [42]. La tryptasémie peut aussi être augmentée (modérément) dans l'insuffisance rénale chronique en phase terminale, les infections parasitaires, les hémopathies malignes et l'anévrisme aortique abdominal [9]. Une anaphylaxie

après piqûre d'hyménoptères sans signes cutanés et associée à une tryptasémie de base supérieure à 25 µg/L est évocatrice de mastocytose [9] (voir article sur la mastocytose).

Le prélèvement peut être effectué post mortem à visée médico-légale [43].

Le dosage d'histaminémie est de plus en plus abandonné, car son pic de production, pendant la réaction, est très précoce et étroit (entre 15 et 45 min), son dosage est très délicat, modifié par la coagulation et l'héparine. Il peut être augmenté dans certaines circonstances sans signification et est négatif chez la femme enceinte.

Dans les services d'urgence, il est utile d'avoir à disposition une « trousse d'urgence biologique » comprenant un tube sec (tryptasémie), éventuellement un tube EDTA (histaminémie) et un bon de prescription. Cette trousse prête à l'emploi permet, en cas d'anaphylaxie sévère, de pratiquer le bilan au plus près du pic de production, sans gêner les soins d'urgence.

Pour le dosage de tryptase, le prélèvement se pratique sur simple tube sec avec ou sans gel, mais il est également possible sur plasma (héparine ou EDTA). Le tube peut être conservé jusqu'à 2 jours à température de la pièce, mais un acheminement plus court est préférable.

Le dosage de la tryptase en France est pris en charge et sa cotation est B80 (ref 969 ; 20 €).

L'histaminémie est dosée sur tube avec EDTA (bouchon violet) qui doit être acheminé au laboratoire dans les 6 heures, à température ambiante.

Le dosage de l'histamine n'est pas remboursé.

3.2. Dosage des IgG spécifiques

Si l'allergie relève d'une sensibilisation par les IgE, une sensibilisation aux venins par les IgG est fréquemment détectée également. Mais sa signification est plus ambiguë, car les IgG peuvent avoir un effet protecteur contre la réaction allergique ou peuvent induire une activation des mastocytes. En effet, les IgG entrent en compétition pour l'allergène avec les IgE. Les complexes immuns « IgG-allergènes » sont éliminés par les phagocytes, évitant ainsi la dégranulation des mastocytes [44]. Mais il a aussi été montré que certaines IgG pouvaient être captées par les récepteurs de moyenne affinité pour les IgG (FcγRII ou CD32) présents sur les mastocytes. Les récepteurs FcγRIIA sont activateurs alors que les FcγRIIB sont inhibiteurs. L'effet varie selon l'isotype d'IgG impliqué. Des études ont suggéré que les IgG4 se fixaient plus volontiers sur le récepteur FcγRIIB et avaient un rôle protecteur [44]. La présence d'un taux élevé d'IgG4 pourrait expliquer, en partie, l'effet protecteur de l'immunothérapie [45], mais leur rôle dans la vie réelle reste sujet à discussion. Le dosage des IgG et surtout des IgG4 spécifiques de venin est possible dans quelques laboratoires qui dosent les IgE, mais sa valeur diagnostique est encore discutée. Il est effectué sur tube sec avec la même technique que les IgEs (Fig. 1 c). Il n'est pas pris en charge et son coût est de 18 euros.

4. Test de provocation

Le test de provocation in vivo (par piqûre avec un insecte vivant en milieu hospitalier) a pu être proposé par certaines équipes. Néanmoins, lorsqu'il est utilisé à visée diagnostique, il expose à un risque important d'anaphylaxie [46] et soulève des problèmes pratiques et éthiques. De plus, il n'est pas quantifiable et reste peu reproductible. Il n'est pas retenu dans la démarche diagnostique dans les recommandations actuelles [5,7]. Il peut avoir sa place dans un but scientifique pour valider l'efficacité d'une désensibilisation (dans ce cas le risque d'anaphylaxie est moindre), mais il n'est pas utilisé en France.

5. Conclusion

Le diagnostic d'AVH concerne essentiellement les réactions qui peuvent justifier une ITA. Il repose avant tout sur l'anamnèse, les tests cutanés vis-à-vis des extraits de venins et le dosage d'IgE spécifiques de venins. Des tests biologiques complémentaires (IgEs vis-à-vis de certains composants moléculaires de venins) et éventuellement les tests d'inhibition des IgE spécifiques et d'activation des basophiles permettent de confirmer, préciser et quantifier le diagnostic dans les situations complexes. Le dosage de la tryptase est utile, à la phase aiguë, pour valider le mécanisme allergique de la réaction et, à distance, pour détecter une pathologie mastocytaire sous-jacente qui aggrave considérablement le pronostic et modifie la prise en charge thérapeutique.

Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- [1] Schmidt JO. Clinical consequences of toxic envenomations by Hymenoptera. *Toxicol* 2018;150:96–104.
- [2] http://jilbam.free.fr/EF/Insectes_et_autres_arthropodes_nuisants_et_ou_sensibilisants.pdf.
- [3] Worm M, Moneret-Vautrin A, Scherer K, Lang R, Fernandez-Rivas M, Cardona V, et al. First European data from the network of severe allergic reactions (NORA). *Allergy* 2014;69:1397–404.
- [4] Stoevesandt J, Hosp C, Kerstan A, Trautmann A. Sensitization to Hymenoptera venom marker allergens: prevalence, predisposing factors, and clinical implications. *Clin Exp Allergy* 2018;48:1735–43.
- [5] Bilò MB, Rueff F, Mosbech H, Bonifazi F, Oude-Elberink JN, EAAI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy* 2005;60:1339–49.
- [6] Krishna MT, Ewan PW, Diwakar L, Durham SR, Frew AJ, Leech SC, et al., British Society for Allergy and Clinical Immunology. Diagnosis and management of hymenoptera venom allergy: British Society for Allergy and Clinical Immunology (BSACI) guidelines. *Clin Exp Allergy* 2011;41:1201–20.
- [7] Golden DB, Moffitt J, Nicklas RA, Freeman T, Graft DF, Reisman RE, et al., Joint Task Force on Practice Parameters; American Academy of Allergy, Asthma & Immunology (AAAAI); American College of Allergy, Asthma & Immunology (ACAAI); Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology. Stinging insect hypersensitivity: a practice parameter update 2011. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127:852–4.
- [8] Bonadonna P, Zanotti R, Müller U. Mastocytosis and insect venom allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010;10:347–53.
- [9] Bilò MB, Pravettoni V, Bignardi D, Bonadonna P, Mauro M, Novembre E, et al. Hymenoptera venom allergy: management of children and adults in clinical practice. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2019;29:180–205.
- [10] Möbs C, Wiedemann D, Pfützner W. Evaluation of a modified skin prick test for diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergo J Int* 2019;28:43–9.
- [11] Royer B, Harraga S, Meyer J-P, Lustgarten V, Adessi B, Kantelip J-P, et al. Valeur diagnostique des prick-tests, des IgE spécifiques et du test de libération d'histamine pour le diagnostic de routine d'allergie aux hyménoptères. *Rev Fr Allergol* 2004;44:144–50.
- [12] Bilò MB, Tontini C, Martini M, Corsi A, Agolini S, Antonicelli L. Clinical aspects of hymenoptera venom allergy and venom immunotherapy. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2019;51:244–58.
- [13] Quercia O, Cova V, Martini M, Cortellini G, Murzilli F, Bignardi D, et al. CAP-inhibition, molecular diagnostics, and total IgE in the evaluation of polistes and vespula double sensitizations. *Int Arch Allergy Immunol* 2018;177:365–9.
- [14] Schiener M, Graessel A, Ollert M, Schmidt-Weber CB, Blank S. Allergen-specific immunotherapy of Hymenoptera venom allergy – also a matter of diagnosis. *Hum Vaccin Immunother* 2017;13:2467–81.
- [15] Zink A, Schuster B, Winkler J, Eyerich K, Darsow U, Brockow K, et al. Allergy and sensitization to Hymenoptera venoms in unrefereed adults with a high risk of sting exposure. *World Allergy Organ J* 2019;12:100039.
- [16] Ansotegui IJ, Melioli G, Canonica GW, Caraballo L, Villa E, Ebisawa M, et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organ J* 2020;13:100080.
- [17] Watanabe M, Hirata H, Arima M, Hayashi Y, Chibana K, Yoshida N, et al. Measurement of Hymenoptera venom specific IgE by the IMMULITE 3gAllergy in subjects with negative or positive results by ImmunoCAP. *Asia Pac Allergy* 2012;2:195–202.
- [18] Bauersachs D, Potapova E, Renz H, Benes SH, Matricardi PM, Skevaki C. Validation of the analytical performance of the NOVEOS system, a system which improves upon the third-generation in vitro allergy testing technology. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:1865–74.
- [19] Simons FE, Arduoso LR, Bilò MB, Dimov V, Ebisawa M, El-Gamal YM, et al. 2012 update: World Allergy Organization guidelines for the assessment and management of anaphylaxis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012;12:389–99.
- [20] Vos B, Köhler J, Müller S, Stretz E, Ruëff F, Jakob T. Spiking venom with rVes v 5 improves sensitivity of IgE detection in patients with allergy to Vespa venom. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:1225–7.
- [21] Severino MG, Caruso B, Bonadonna P, Labardi D, Macchia D, Campi P, et al. Cross reactivity between European hornet and yellow jacket venoms. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2010;42:141–5.
- [22] Herrera C, Leza M, Martínez-López E. Diversity of compounds in Vespa spp. venom and the epidemiology of its sting: a global appraisal. *Arch Toxicol* 2020;94:3609–27.
- [23] Hoffman DR, Jacobson RS. Allergens in Hymenoptera venom. XXVII: bumblebee venom allergy and allergens. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:812–21.
- [24] Hoffman D, El-Choufani S, Smith M, de Groot H. Occupational allergy to bumblebees: allergens of Bombus terrestris. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:855–60.
- [25] de Groot H. Allergy to bumblebees. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;6:294–7.
- [26] Severino MG, Campi P, Hacchia D, Manfredi M, Turillazi S, Spadolini I, et al. European polistes venom allergy. *Allergy* 2006;61:860–3.
- [27] Lambert C, Vitte J, Sarrazat A, Dzviga C. Le groupe de travail des insectes piqueurs. Évaluation des sensibilisations croisées aux venins d'hyménoptères et composants. *Rev Fr Allergol* 2014;54:575–9.
- [28] Alfaya Arias T, Soriano Gómez V, Soto Mera T, Vega Castro A, Vega Gutiérrez JM, Alonso Llamazares A, et al. Key issues in Hymenoptera venom allergy: an update. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2017;27:19–31.
- [29] Wood CL, Hoffman DR, Hudson P. Post-mortem diagnosis of sting death. *J Allergy Clin Immunol* 1982;69:139.
- [30] Blank S. Antigen 5 allergens of hymenoptera venoms and their role in diagnosis and therapy of venom allergy. *Curr Allergy Asthma Rep* 2020;20:58.
- [31] Köhler J, Blank S, Müller S, Bantleon F, Frick M, Huss-Marp J, et al. Component resolution reveals additional major allergens in patients with honeybee venom allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:1383–9.
- [32] Jakob T, Müller U, Helbling A, Spillner E. Component resolved diagnostics for hymenoptera venom allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2017;17:363–72.
- [33] Frick M, Fischer J, Helbling A, Ruëff F, Wiecekorek D, Ollert M, et al. Predominant Api m 10 sensitization as risk factor for treatment failure in honey bee venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2016;138:1663–71.
- [34] Eberlein B, Krischan L, Darsow U, Ollert M, Ring J. Double positivity to bee and wasp venom: improved diagnostic procedure by recombinant allergen-based IgE testing and basophil activation test including data about cross-reactive carbohydrate determinants. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:155–61.
- [35] Brehler R, Grundmann S, Stöcker B. Cross-reacting carbohydrate determinants and hymenoptera venom allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2013;13:360–4.
- [36] Blank S, Neu C, Hasche D, Bantleon FI, Jakob T, Spillner E. Polistes species venom is devoid of carbohydrate-based cross-reactivity and allows interference-free diagnostics. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:1239–42.
- [37] Balzer L, Pennino D, Blank S, Seismann H, Darsow U, Schnedler M, et al. Basophil activation test using recombinant allergens: highly specific diagnostic method complementing routine tests in wasp venom allergy. *PLoS One* 2014;9:e108619.
- [38] Peternelj A, Silar M, Bajrovic N, Adamic K, Music E, Kosnik M, et al. Diagnostic value of the basophil activation test in evaluating Hymenoptera venom sensitization. *Wien Klin Wochenschr* 2009;121:344–8.
- [39] Vitte J. Human mast cell tryptase in biology and medicine. *Mol Immunol* 2015;63:18–24.
- [40] Valent P, Bonadonna P, Hartmann K, Broesby-Olsen S, Brockow K, Butterfield JH, et al. Why the 20 % + 2 tryptase formula is a diagnostic gold standard for severe systemic mast cell activation and mast cell activation syndrome. *Int Arch Allergy Immunol* 2019;180:44–51.
- [41] Weiler CR. Mast cell activation syndrome: tools for diagnosis and differential diagnosis. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020;8:498–506.
- [42] Lyons JJ. Hereditary alpha tryptasemia: genotyping and associated clinical features. *Immunol Allergy Clin North Am* 2018;38:483–95.
- [43] Garland J, Ondruschka B, Da Broi U, Palmieri C, Tse R. Post mortem tryptase: a review of literature on its use, sampling and interpretation in the investigation of fatal anaphylaxis. *Forensic Sci Int* 2020;314:110415.
- [44] James LK, Till S. Potential mechanisms for IgG4 inhibition of immediate hypersensitivity reactions. *Curr Allergy Asthma Rep* 2016;16:23.
- [45] Sahiner UM, Durham SR. Hymenoptera venom allergy: how does venom immunotherapy prevent anaphylaxis from bee and wasp stings? *Front Immunol* 2019;10:1959.
- [46] Rueff F, Przybilla B, Müller U, Mosbech H. The sting challenge test in Hymenoptera venom allergy. Position paper of the Sub-committee on insect venom allergy of the European academy of allergology and clinical immunology. *Allergy* 1996;51:216–25.