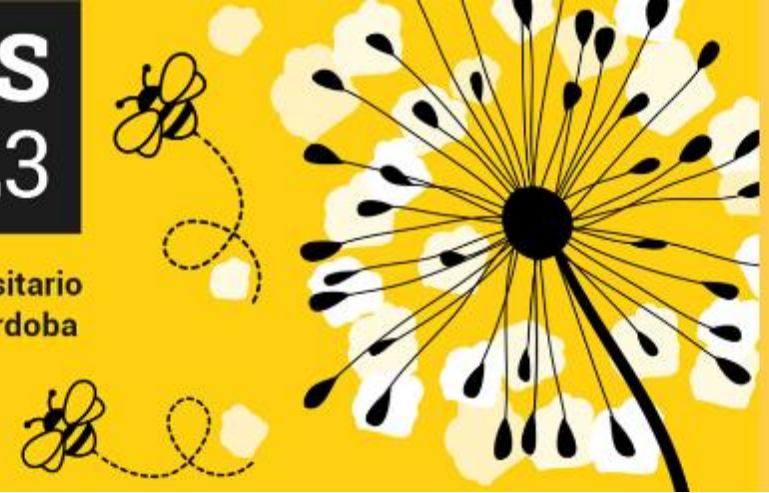


USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

20 y 21 de abril de 2023

Hospital Universitario
Reina Sofía, Córdoba



La investigación en Alergia a Himenópteros en el Reina Sofía

Ana María Navas Romo, PhD

FEA Inmunología. UGC Inmunología y Alergia. HURS

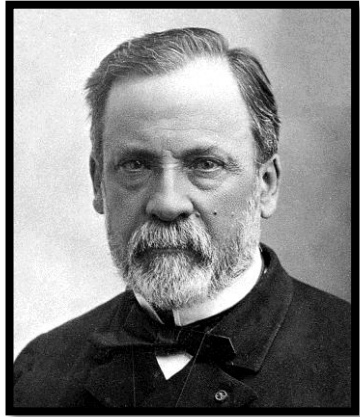
GC-01 Inmunología y Alergia. IMIBIC

USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

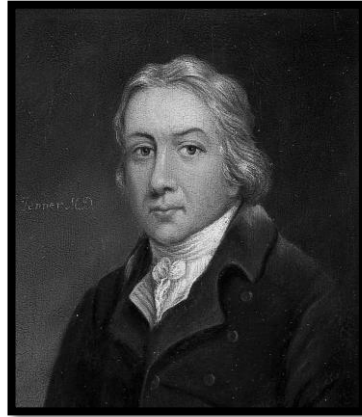
20 y 21 de abril de 2023 | Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba

HURS Hospital Universitario Reina Sofía

UNIVERSIDAD DE CORDOBA



Louis Pasteur



Edward Jenner



PROFILAXIS



1ª Inoculación



2ª Inoculación

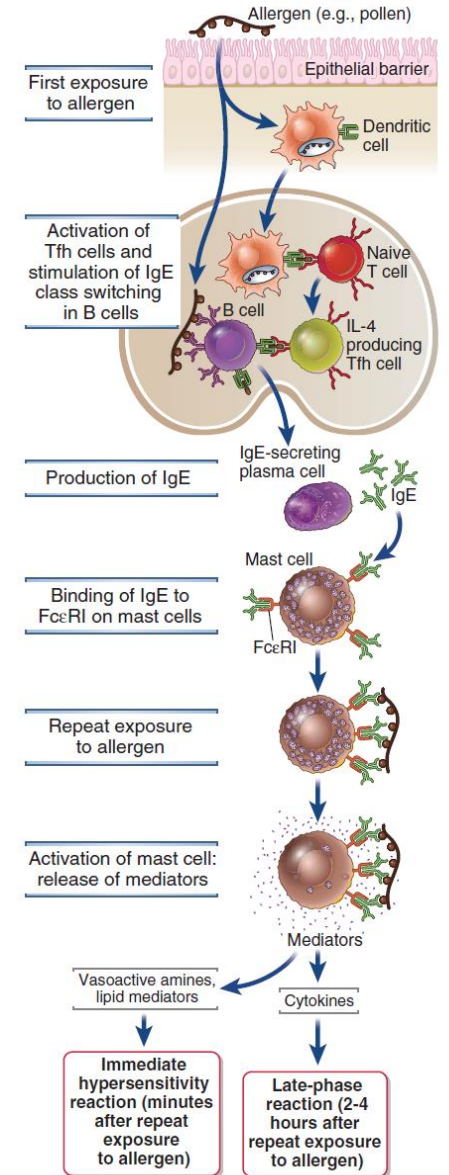
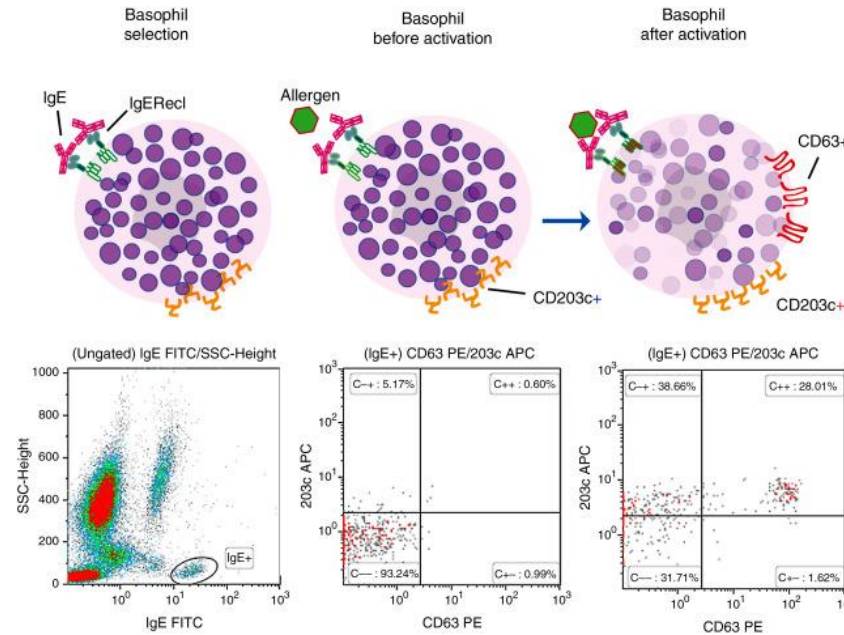
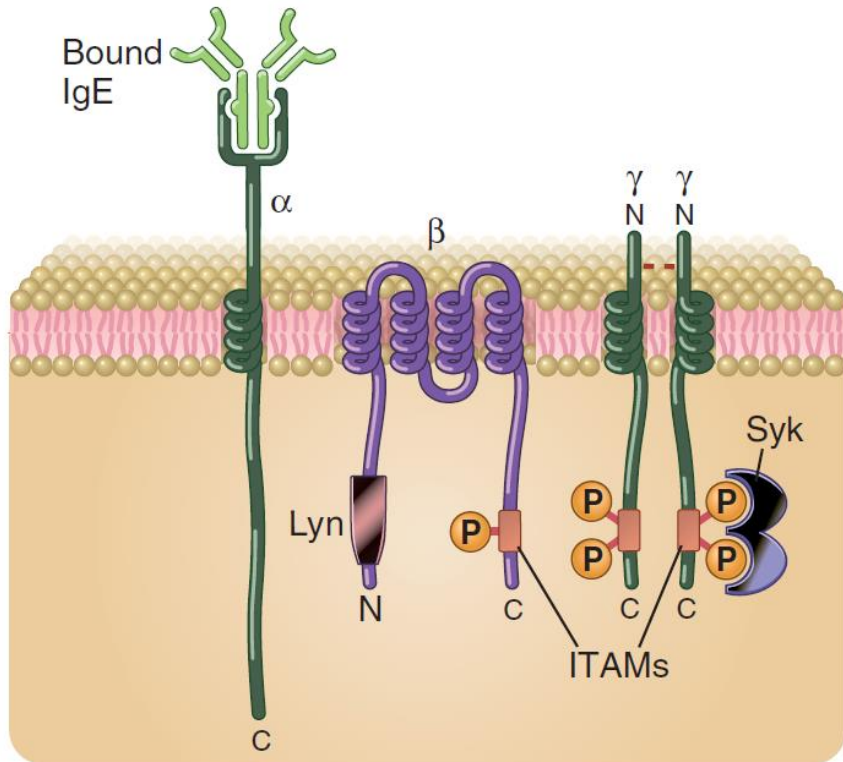
ANAFILAXIS



Richet y Portier con Alberto I y un ayudante



La alergia es una reacción de hipersensibilidad inmediata mediada por la unión del antígeno (alérgeno) a la IgE unida a los receptores de alta afinidad (FcεRI) en la superficie celular de mastocitos tisulares y basófilos a través de su región Fc.



Figuras tomadas de Abbas et al. Cellular and Molecular Immunology 9th Ed. Y Van Gasse et al. Cannabis Allergy: More Than a Bad Trip 2017.



Table 1. Identified venom allergens from honeybee (*Apis mellifera*), yellow jacket (*Vespula vulgaris*) and paper wasp (*Polistes dominula*). MW, molecular weight; CRP, carbohydrate-rich protein; DPP IV, Dipeptidyl peptidase IV; DW, dry weight; MRJP, major royal jelly protein.

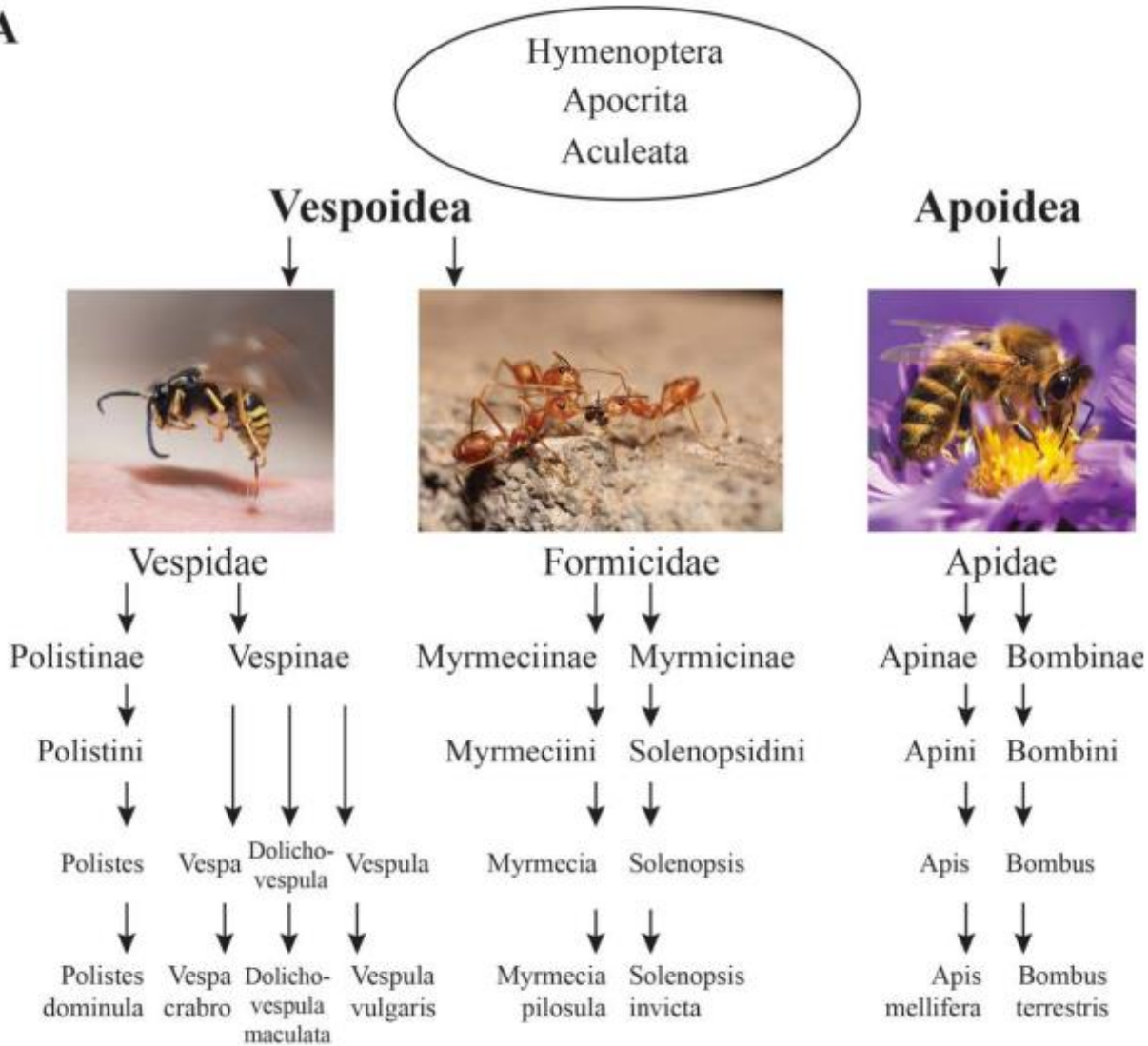
Allergen	Name/Function	MW (kDa)	% of DW	Potential N-glycosylation
Honeybee (<i>Apis mellifera</i>)				
Api m 1	Phospholipase A2	17	12	1
Api m 2	Hyaluronidase	45	2	3
Api m 3	Acid phosphatase	49	1–2	2
Api m 4	Melittin	3	50	0
Api m 5	Allergen C/DPP IV	100	<1	6
Api m 6	Protease inhibitor	8	1–2	0
Api m 7	Protease	39	?	3
Api m 8	Caarboxylesterase	70	?	4
Api m 9	Carboxypeptidase	60	?	4
Api m 10	CRP/icarapin	55	<1	2
Api m 11.0101	MRJP 8	65	?	6
Api m 11.0201	MRJP 9	60	?	3
Api m 12	Vitellogenin	200	?	1
Vespula (<i>Vespula vulgaris</i>)				
Ves v 1	Phospholipase A1	35	6–14	0
Ves v 2.0101	Hyaluronidase	45	1–3	4
Ves v 2.0201	Hyaluronidase (inactive)	45	?	2
Ves v 3	DPP IV	100	?	6
Ves v 5	Antigen 5	25	5–10	0
Ves v 6	Vitellogenin	200	?	4
Polistes (<i>Polistes dominula</i>)				
Pol d 1	Phospholipase A1	34		1
Pol d 4	Protease	33		6
Pol d 5	Antigen 5	23		0

USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

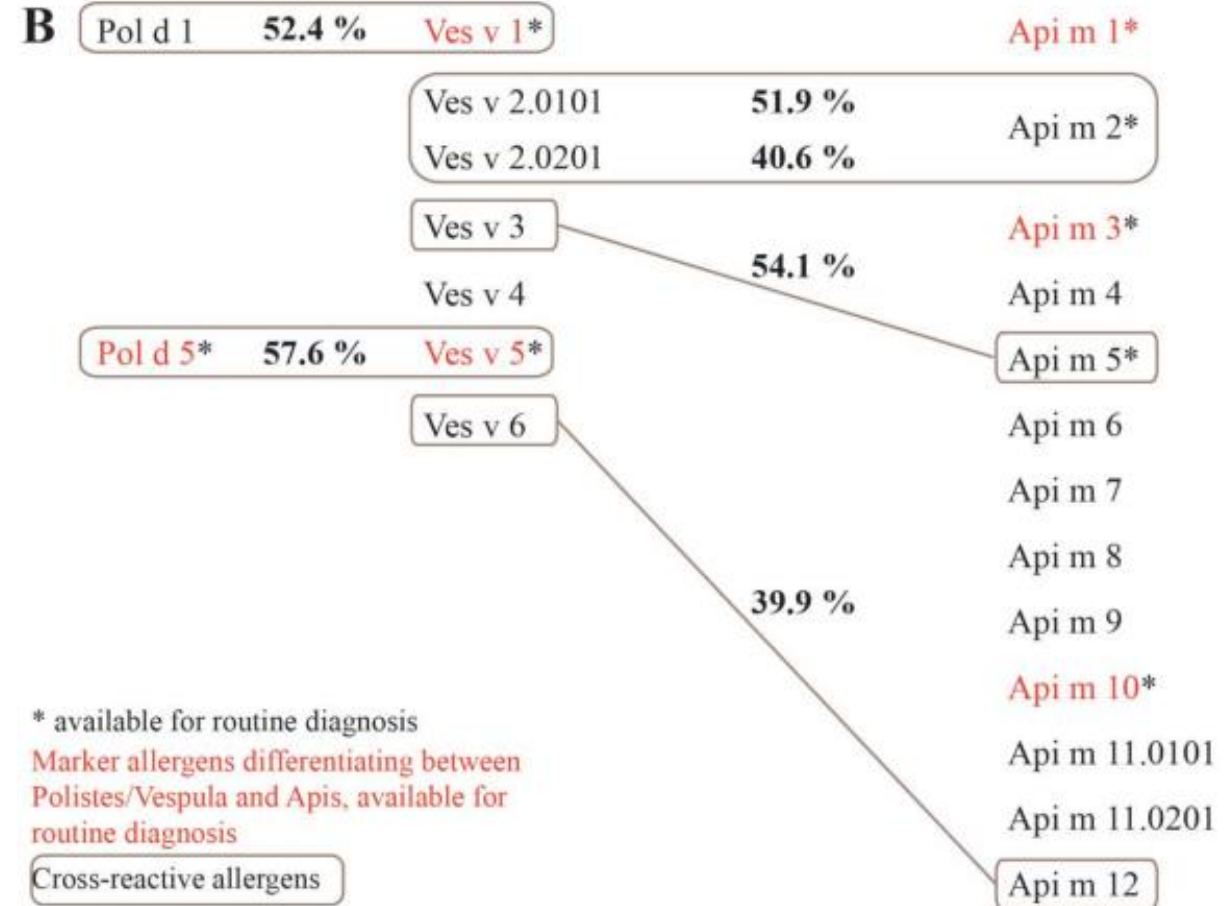
20 y 21 de abril de 2023 | Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba



A

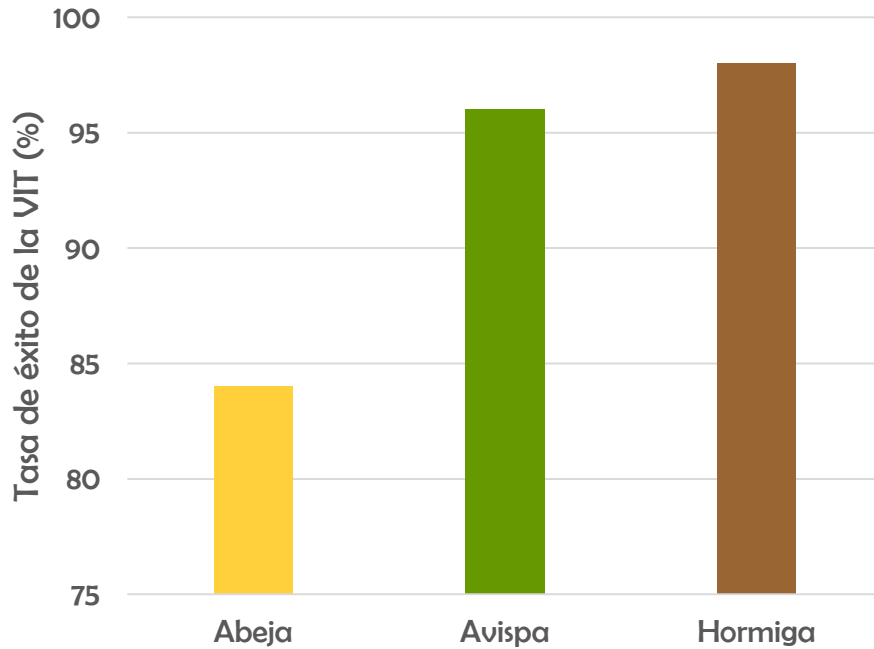


B



USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

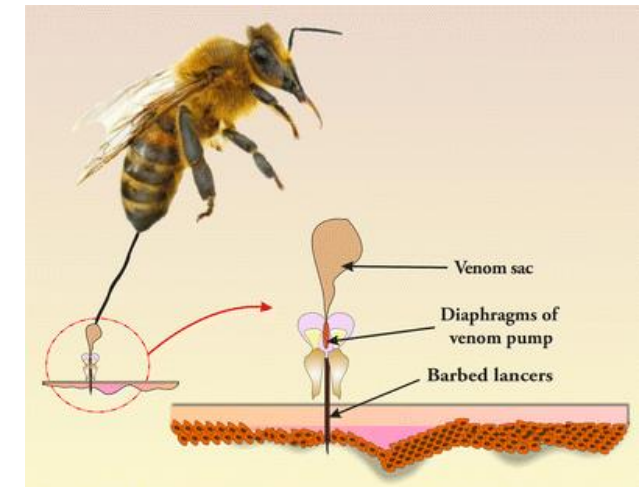
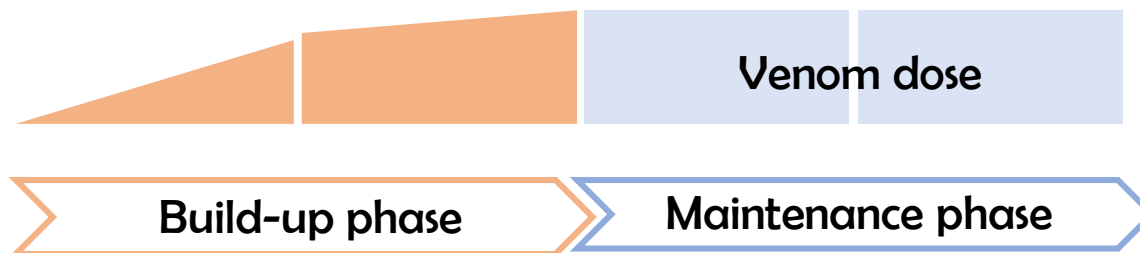
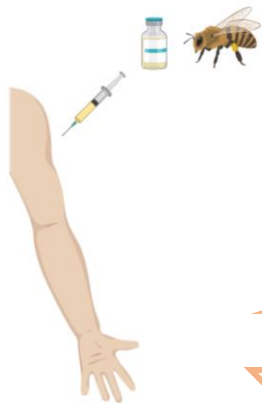
20 y 21 de abril de 2023 | Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba



Box 1 | Problems in conventional allergen-specific immunotherapy

- Standardization: current allergen-SIT products, which were licensed decades ago, do not have exactly the same allergen content. Major allergens are being used for standardization, however, minor allergens can be relevant for the treatment of certain individuals
- Side effects: severe side effects with conventional vaccines have been reported
- Efficacy: low clinical efficacy has been reported against moulds, food allergens and some pollens
- Dose: studies for dose and intervals between administrations are ongoing for many allergen-specific immunotherapies in development
- Duration: long-term treatment is required to decrease specific IgE levels
- Route of administration: patient selection for injection versus sublingual immunotherapy does not have a strong consensus
- Compliance: patient compliance in many studies is low
- Predictors: there is no generally accepted laboratory parameters to aid the decision to commence treatment, stop treatment or to define success

Akdis and Akdis. Nat Rev Drug Discov. 2009.





Hymenoptera allergy challenges

1. Existen diferentes fenotipos alérgicos
2. Importancia del diagnóstico molecular o por componentes (reactividades cruzadas y disponibilidad de ensayos)
3. Identificación del himenóptero responsable de la sensibilización (dobles sensibilizaciones)
4. Elección de la IT adecuada
5. Variabilidad en la respuesta a la IT
6. Purificados disponibles y su estandarización (actividad enzimática y contenido proteico total)
7. Búsqueda de biomarcadores de respuesta a la IT (a corto y largo plazo) vs. gold standard (Sting challenge)



ORIGINAL ARTICLE

IgE-Api m 4 Is Useful for Identifying a Particular Phenotype of Bee Venom Allergy

Ruiz B^{1,2}, Serrano P^{1,2}, Moreno C^{1,2}

¹Maimonides Biomedical Research Institute of Cordoba (IMIBIC)

²Department of Allergology, Reina Sofia University Hospital, Córdoba, Spain

J Investig Allergol Clin Immunol 2016; Vol. 26(6): 355-361
doi: 10.18176/jiaci.0053

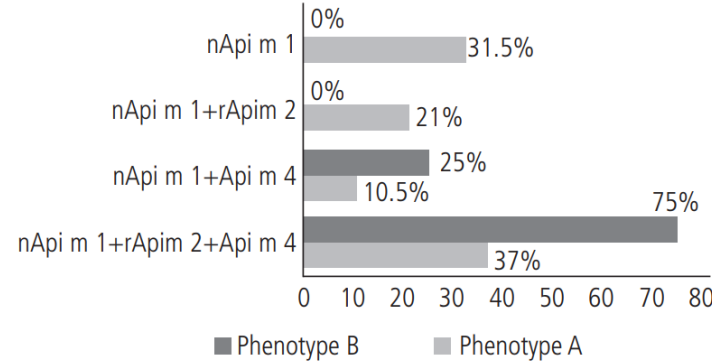
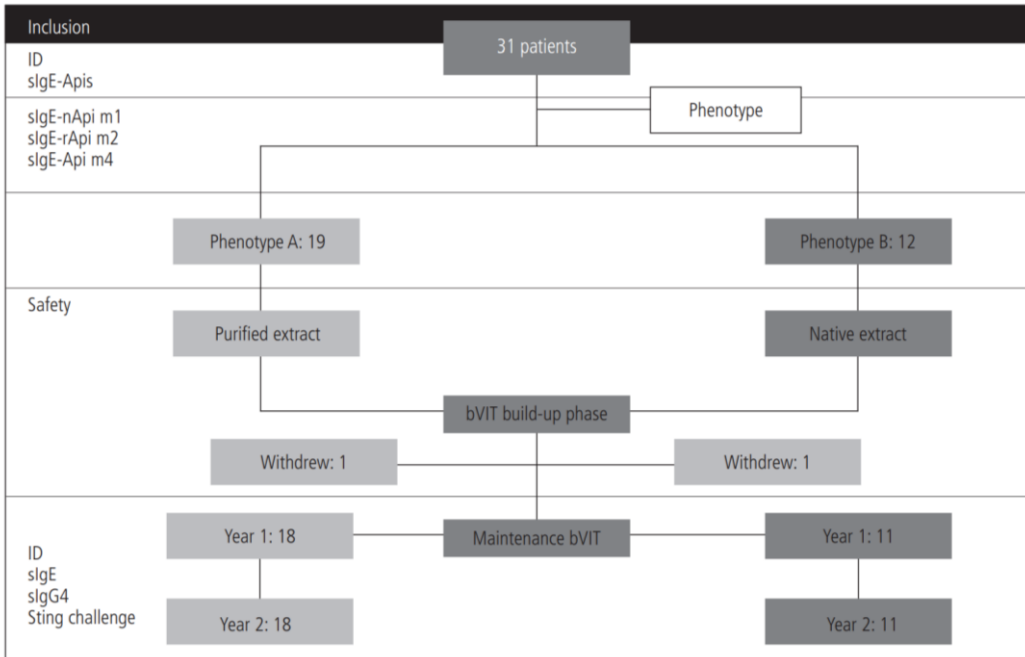


Table 1

Characteristics of patients according to the presence or absence of SRs during the build-up phase of bee venom immunotherapy

Characteristic	No SRs	SRs	P value
Patients, No. (%)	50 (72.5)	19 (27.5)	
Male patients, No. (%)	38 (76)	13 (68.4)	.55 ^c
Age, mean (SD), y	39.5 (14.5)	36.6 (16.5)	.48 ^d
Beekeepers, No. (%)	16 (32)	12 (63)	.03 ^c
Cardiovascular risk, ^a No. (%)	7 (14)	1 (5.3)	.43 ^c
Bee-sting reaction grade, ^b No. (%)			
I	7 (14)	1 (5.3)	
II	17 (34)	1 (5.3)	
III	20 (40)	13 (68.4)	.02 ^e
IV	6 (12)	4 (21)	
slgE <i>Apis mellifera</i> , median (IQR), kU/L	8.2 (19.4)	50.9 (80.1)	<.001 ^f
Intradermal reaction, No. (%)			
0.0001 µg/mL	6 (12)	10 (52.6)	
0.001 µg/mL	14 (28)	5 (26.3)	<.001 ^e
0.01 µg/mL	9 (18)	2 (10.5)	
0.1 µg/mL	16 (32)	1 (5.2)	
≥1 µg/mL	5 (10)	1 (5.2)	
Basal tryptase, median (IQR), µg/L	4.9 (3.7)	3.8 (2.1)	.18 ^f
slgE nApi m 1, median (IQR), kU/L	5.2 (19.3)	21.9 (82.4)	.21 ^f
slgE rApi m 2, median (IQR), kU/L	1.8 (16.1)	4.4 (8.5)	.44 ^f
slgE Api m 4, median (IQR), kU/L	0.29 (0.8)	1.78 (4.9)	<.001 ^f

	Phenotype A ^a	Phenotype B ^a	P value
Patients, No. (%)	19 (61.3)	12 (38.7)	
Men, No. (%)	15 (79)	11 (91.6)	.633
Age, mean (SD), y	38 (16.4)	36.4 (19)	.787
Beekeepers, No. (%)	10 (52.6)	8 (66.6)	.484
Cardiovascular risk factor, ^b No. (%)	3 (15.7)	2 (16.6)	1.000
Bee-sting reaction grade, ^c No. (%)			
I	3 (15.7)	2 (16.6)	
II	8 (42)	0	.049
III	7 (36.8)	6 (50)	
IV	1 (5.2)	4 (33.3)	
slgE to <i>A mellifera</i> , median (IQR), kU/L	4.3 (11.5)	35 (52.6)	.0004
Intradermal reaction test, No. (%)			
0.0001 µg/mL	0	3 (25)	0.011
0.001 µg/mL	6 (31.5)	5 (41.6)	
0.01 µg/mL	1 (5.2)	2 (16.6)	
0.1 µg/mL	7 (37)	1 (8.3)	
≥1 µg/mL	5 (26.3)	1 (8.3)	
Baseline tryptase, median (IQR), µg/L	5.48 (4.4)	5.27 (3)	.584
slgE nApi m 1, median (IQR), kU/L	5.12 (12)	55.2 (77)	.0004
slgE rApi m 2, median (IQR), kU/L	1.52 (7)	5.5 (127.5)	.221
slgE Api m 4, median (IQR), kU/L	0.3 (0.5)	2.7 (8.2)	.0001
slgG4 <i>A mellifera</i> , median (IQR), µg/mL	698 (1525)	2235 (6590)	.027
slgG4 Api m 1, median (IQR), µg/mL	1.2 (1.9)	3.3 (3.5)	.096



ORIGINAL ARTICLE

Alternating *Polistes*–*Vespula* Venom Immunotherapy: A Therapeutic Strategy to Resolve a Diagnostic Deficiency

C Moreno,¹ MJ Barasona,¹ P Serrano,¹ JL Justicia,¹ JM Ruz,² F Guerra¹

¹Sección de Alergia, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, Spain

²Centro de Referencia Apícola de Andalucía

Table 1. Patient Characteristics

	Patients	Age	Episodes/Patient	Mueller	Mean (SD) Baseline IgE, kU _A /L
Double	Male 24	Min 14	Min 1	III 4 (38%)	<i>Polistes</i> 16.80 (10.6)
	Female 13	Max 73	Max 6	III 20 (54%)	<i>Vespula</i> 12.28 (7)
		Mean 45.3 SD 12.8	Mean 1.7 SD 1.6	IV 3 (8%)	
<i>Polistes</i>	Male 7	Min 12	Min 1	II 4 (40%)	<i>Polistes</i> 17.6 (10.25)
	Female 3	Max 61	Max 3	III 6 (60%)	<i>Vespula</i> 2.46 (2.02)
		Mean 40.8 SD 14.7	Mean 1.3 SD 0.6		
<i>Vespula</i>	Male 6	Min 7	Min 1	II 4 (40%)	<i>Polistes</i> 6.2 (2.63)
	Female 4	Max 71	Max 2	III 5 (50%)	<i>Vespula</i> 26.4 (11.44)
		Mean 49.2 SD 21.7	Mean 1.1 SD 0.3	IV 1 (10%)	

Abbreviations: Ig, immunoglobulin.

Table 3. Re-stings

	Polistes			Vespula		
	N	SR	LLR, No. (%)	N	SR	LLR, No. (%)
Cases						
Year 1	37	0	3 (8%)	35	0	2 (6%)
Year 2	24	0	1 (4%)	19	0	2 (10%)
Year 3	19	0	2 (10%)	16	0	1 (12%)
Controls						
Year 1	10	0	1 (10%)	10	1 MO (10%)	1 (10%)
Year 2	10	0	0	7	0	0
Year 3	9	0	0	6	0	1 (16%)

Abbreviations: LLR, large local reaction; MO, Mueller grade 0; SR, systemic reaction.

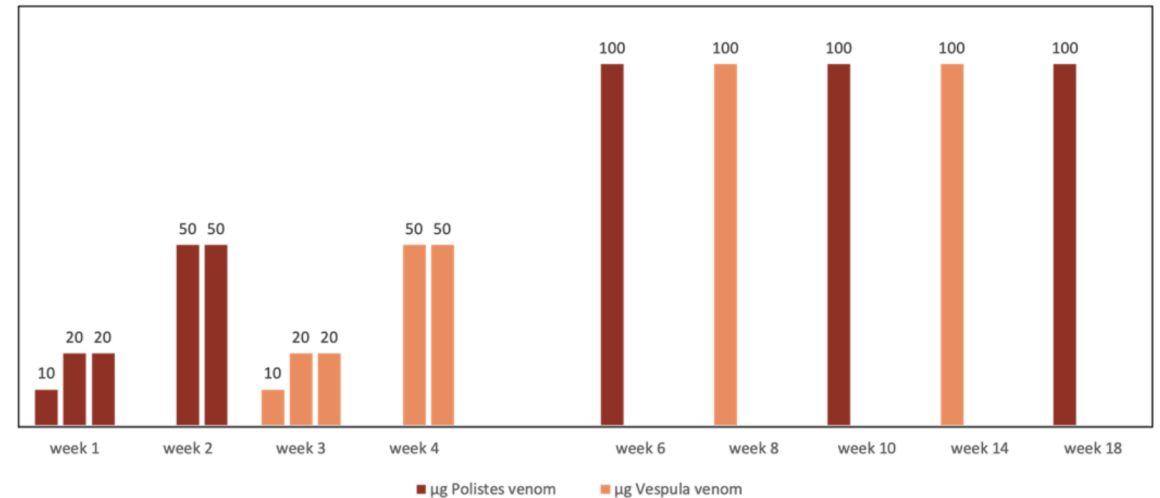


Figure 3. Scheme of alternate full dose administration of *Vespula* spp. and *Polistes dominula* venom used for doubly sensitized patients.



REVIEW

The Lights and the Shadows of Controlled Sting Challenge With Hymenoptera

Ruiz-León B^{1,2,3}, Martínez San Ireneo M⁴, de la Roca F^{5,6}, Arenas L⁷, Alfaya Arias T⁸, Cordobés C⁹, Marqués L¹⁰, Vega A^{3,11}, Moreno-Aguilar C^{1,2,3}, on behalf of the Hymenoptera Allergy Committee of the Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica (SEAIC)

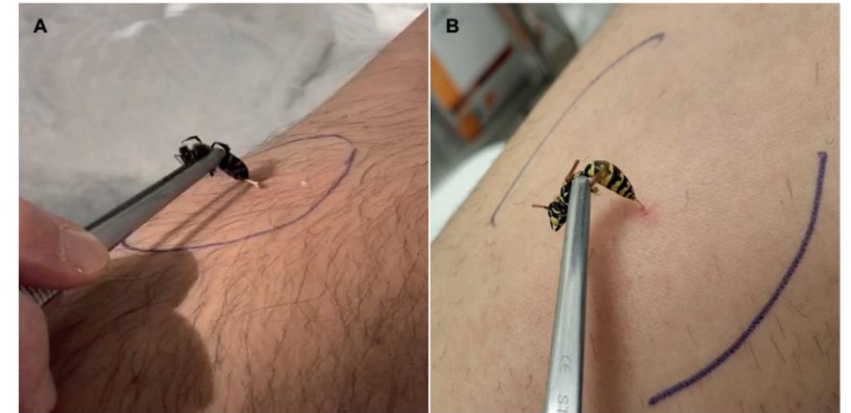


Figure 2. Sting challenge test with *Apis mellifera* (A) and *Polistes dominula* (B).

Table 3. Summary of the Lights and the Shadows of the Sting Challenge Test

Sting challenge test	
Lights	Shadows
Possible biomarker	Debatable diagnostic tool
Gold standard for efficacy of VIT	
Programmable procedure	Unsafe in patients before VIT
Tool for adjusting the dose of VIT	May be a scary experience for some patients
Safe in patients undergoing VIT	Variability in amount of injected venom
Acceptable in patients with mastocytosis	False feeling of safety
Useful for research	Complicated logistics of using live insects
Improves patients' quality of life	Nonstandardized technique

Abbreviation: VIT, venom immunotherapy



PI1502170 Anafilaxia por picaduras de insectos. Búsqueda de biomarcadores de respuesta precoz a la inmunoterapia con veneno de himenóptero. IP CM/colP AJ. Financiación ISCIII: 38.115 euros. Fase de ejecución: finalizado y resultados publicados.

Objetivos

General

Definir biomarcadores que ayuden a monitorizar la eficacia de la inmunoterapia a veneno de himenóptero.

Específicos

1. Buscar biomarcadores humorales y celulares asociados a la regulación del sistema inmune (basados en células y moléculas inmunomoduladoras)
2. Medir la respuesta efectora de basófilos en los diferentes tiempos de la inmunoterapia
3. Valorar la asociación de los biomarcadores mencionados con los diferentes fenotipos de sensibilización alérgica (basados en perfiles IgE/IgG4)

Secundarios

1. Diseñar estrategias terapéuticas adecuadas a los diferentes fenotipos de respuesta
2. Valorar la protección de los eventuales hallazgos mediante patentes.



Successful Adaptation of Bee Venom Immunotherapy in a Patient Monosensitized to Api m 10

Ruiz-León B^{1,2,5,*}, Navas A^{1,2,5,*}, Serrano P^{1,2,5}, Espinazo M^{2,5}, Labrador-Horrillo M^{3,5}, Monsalve RI⁴, Jurado A^{1,2,5}, Moreno-Aguilar C^{1,2,5}

¹Department of Immunology and Allergy, Reina Sofía University Hospital, Cordoba, Spain

²Maimonides Biomedical Research Institute of Cordoba (IMIBIC)/Reina Sofía University Hospital/University of Cordoba, Cordoba, Spain

³Allergy Section, Internal Medicine Department, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Spain

⁴Department of Research and Development, ALK-Abelló, Madrid, Spain

⁵National Network ARADyAL, Carlos III Health Institute, Madrid, Spain

*Both authors contributed equally

J Investig Allergol Clin Immunol 2020; Vol. 30(4): 296-298
doi: 10.18176/jiaci.0498

ORIGINAL ARTICLE

Helios-Negative Regulatory T Cells as a Key Factor of Immune Tolerance in Nonallergic Beekeepers

Ruiz-León B^{1,2,3,*}, Navas A^{1,2,*}, Serrano P^{1,2,3}, Espinazo M^{1,3}, Guler I¹, Alonso C^{1,2,3}, Jurado A^{1,2,3}, Moreno-Aguilar C^{1,2,3}

¹Maimonides Biomedical Research Institute of Cordoba (IMIBIC)/Reina Sofía University Hospital/University of Cordoba, Cordoba, Spain

²Department of Immunology and Allergy, Reina Sofía University Hospital, Cordoba, Spain

³National Network ARADyAL Health Institute Carlos III, Madrid, Spain

*Both authors contributed equally

J Investig Allergol Clin Immunol 2022; Vol. 32(6): 451-459
doi: 10.18176/jiaci.0722



Article

Natural and Induced Tolerance to Hymenoptera Venom: A Single Mechanism?

Ana Navas^{1,2,†}, Berta Ruiz-Leon^{1,2,†}, Pilar Serrano^{1,2}, Manuel Martí³, M Luisa Espinazo², Nadine Blanco^{1,2}, Juan Molina^{1,2}, Corona Alonso^{1,2}, Aurora Jurado^{1,2,*} and Carmen Moreno-Aguilar^{1,2,‡}

- ¹ UGC Inmunología-Alergología, Reina Sofía University Hospital, University of Cordoba, 14004 Cordoba, Spain; anam.navas.ext@juntadeandalucia.es (A.N.); mb.ruiz.sspa@juntadeandalucia.es (B.R.-L.); mpilar.serrano.sspa@juntadeandalucia.es (P.S.); nadine.blanco.sspa@juntadeandalucia.es (N.B.); jeduar.molina.sspa@juntadeandalucia.es (J.M.); mariac.alonso.sspa@juntadeandalucia.es (C.A.); carmen.moreno.sspa@juntadeandalucia.es (C.M.-A.)
 - ² GC01 Inmunología y Alergología Maimonides Biomedical Research Institute of Cordoba (IMIBIC), Reina Sofía University Hospital, University of Cordoba, ARADyAL INS Carlos III, 14004 Cordoba, Spain; marialuisa.espinazo@imibic.org
 - ³ Pharmacology Department, Institute of Molecular Pathology Biomarkers, University of Extremadura (UEX), ARADyAL INS Carlos III, 10071 Cáceres, Spain; mmartia@unex.es
- * Correspondence: aurora.jurado.sspa@juntadeandalucia.es; Tel.: +34-660-178-358
† These authors contributed equally to this work.
‡ These authors contributed equally to this work.

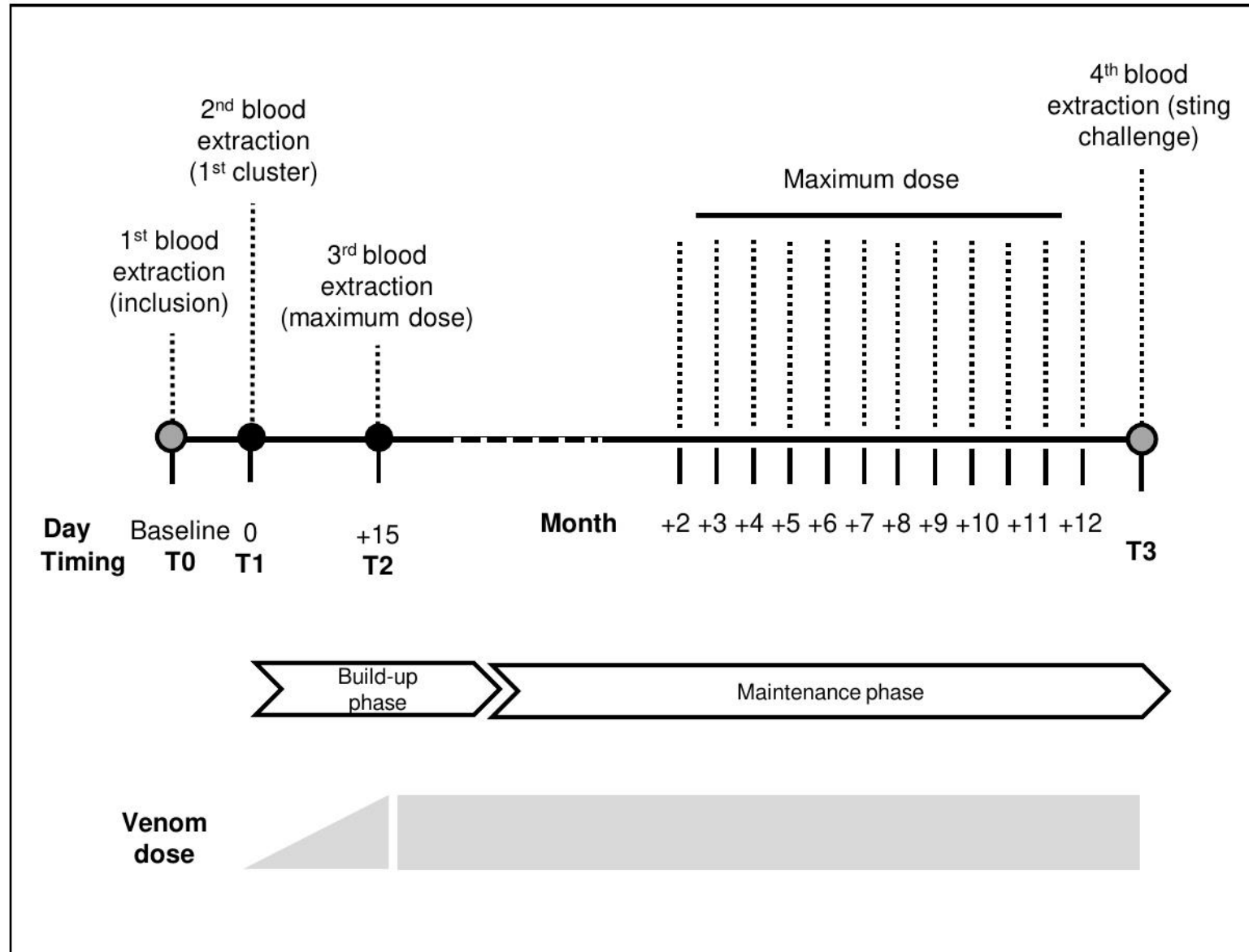
USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

20 y 21 de abril de 2023

Hospital Universitario
Reina Sofía, Córdoba

HURS
Hospital
Universitario
Reina Sofía

UNIVERSIDAD
D
CÓRDOBA



USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

20 y 21 de abril de 2023

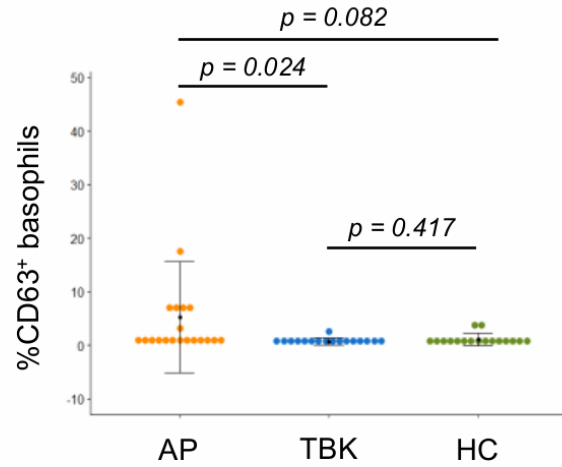
Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba

HURS Hospital Universitario Reina Sofía

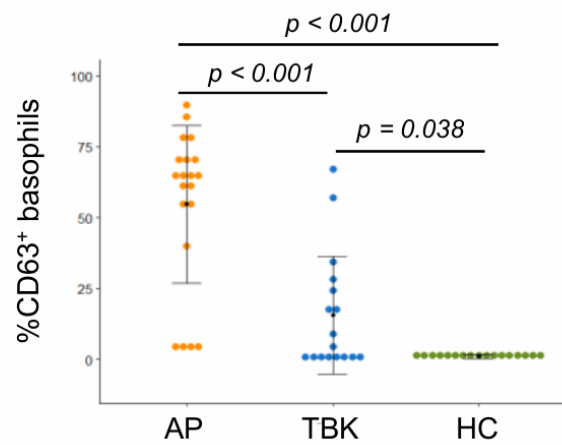
UNIVERSIDAD DE CORDOBA



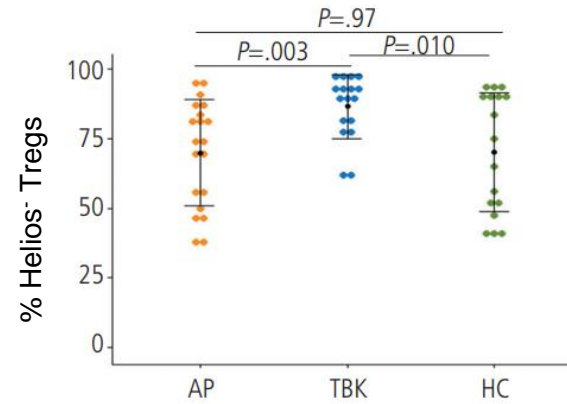
A



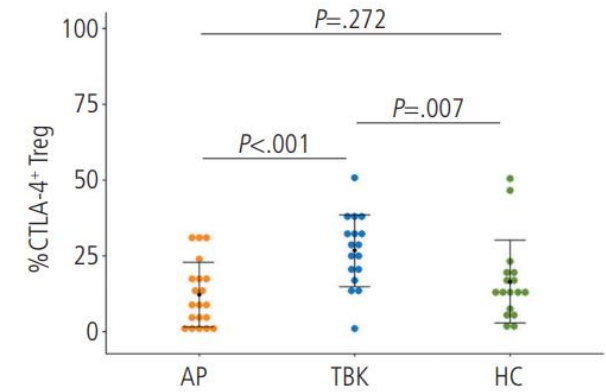
B



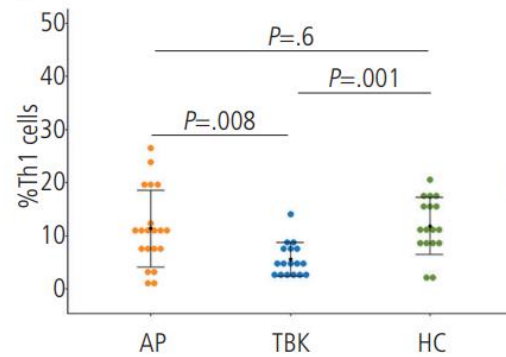
A



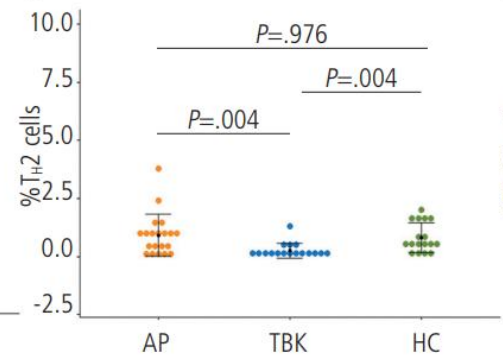
B



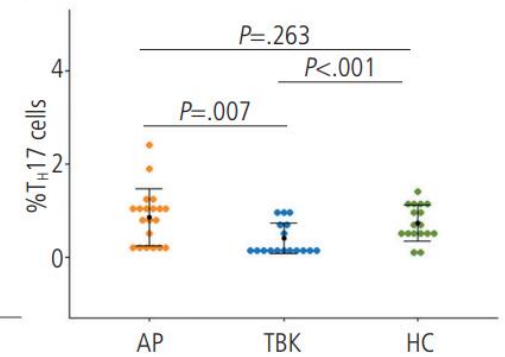
C



D



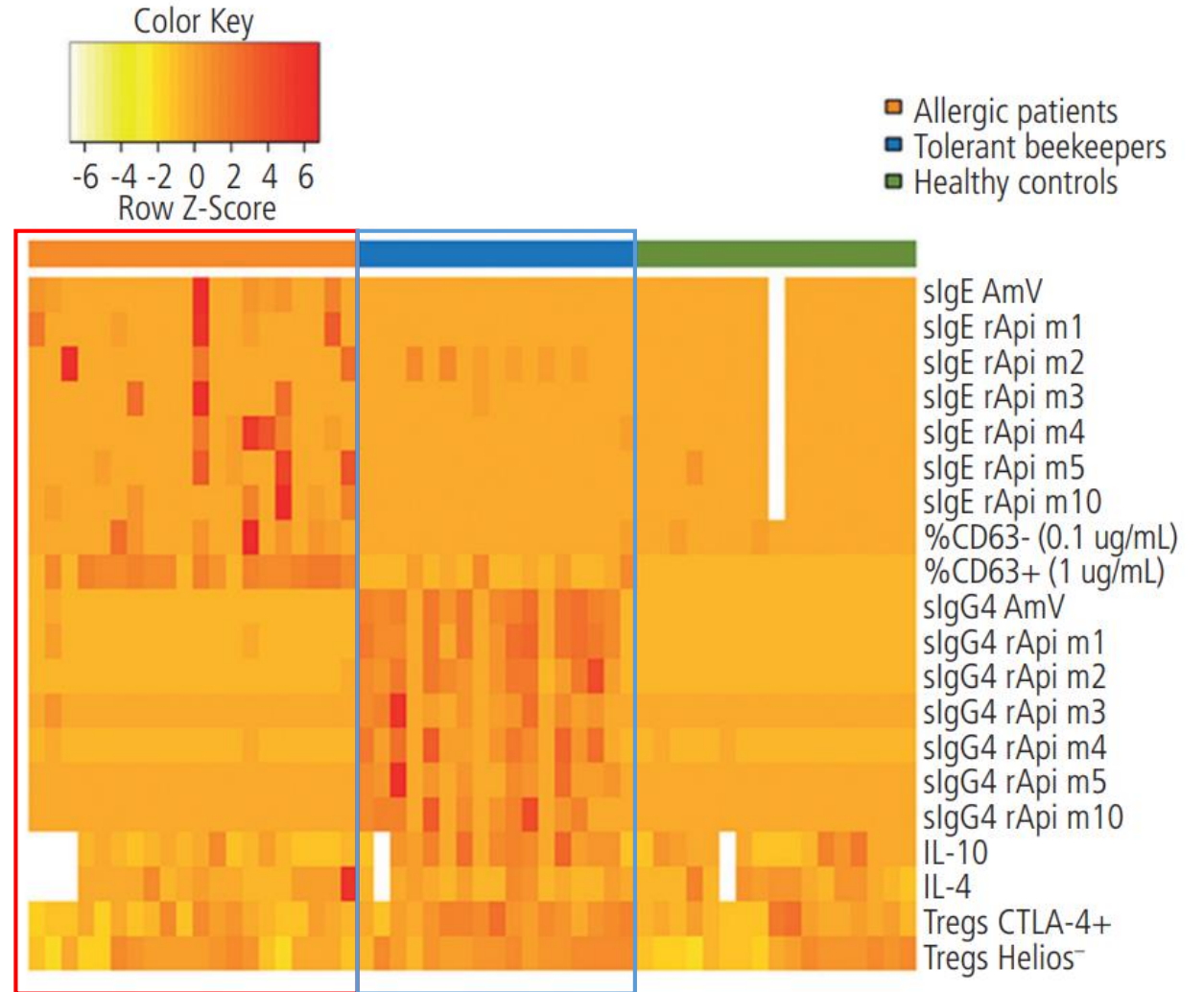
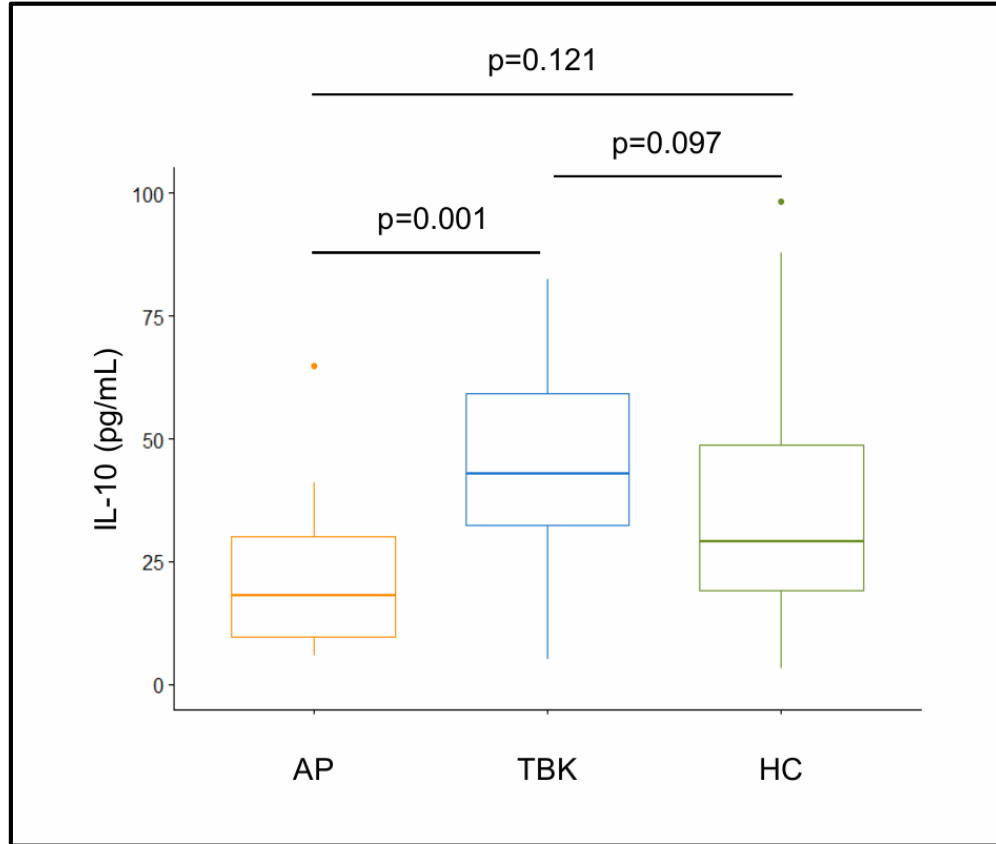
E



USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

20 y 21 de abril de 2023

Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba



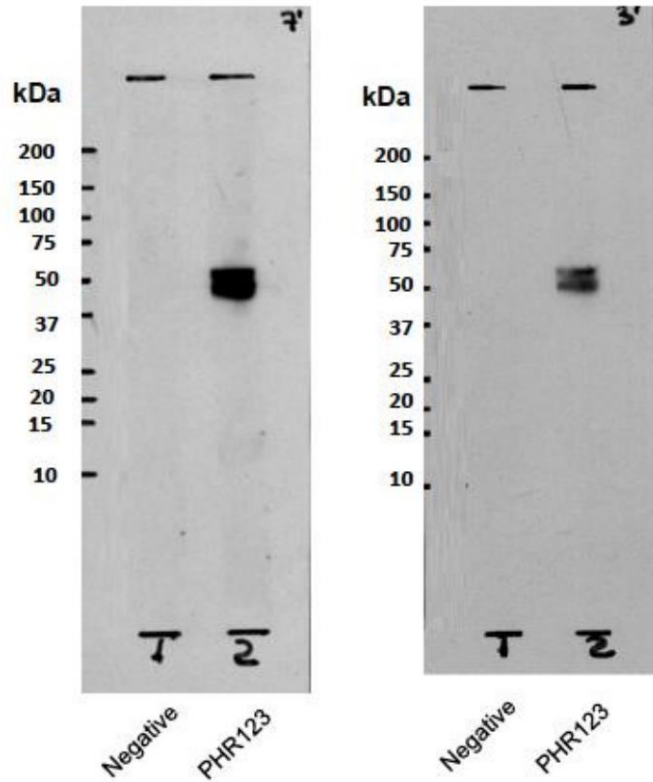
USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

20 y 21 de abril de 2023 | Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba



Table. sIgE and sIgG4 Levels and Percentage of CD63+ Basophils

	T0	T1	T2
sIgE, kU _A /L			
<i>Apis mellifera</i>	38.6	11.1	5.12
rApi m 1	0.08	0	0
rApi m 2	0.01	0	0
rApi m 3	3.55	1.32	1.32
Api m 4 ^a	0	0	0
rApi m 5	1.10	0.91	0.5
rApi m 10	65	14.8	12.3
sIgG4, mg/L			
<i>Apis mellifera</i>	163	7322	11735
rApi m 1	<1.00	3357	8231
rApi m 2	<1.00	1858	2129
rApi m 3	<1.00	145	276
Api m 4 ^a	<1.00	341	1430
rApi m 5	38.4	98.8	286
rApi m 10	<1.00	<1.00	33.1
Basophils CD63+, %			
Negative control ^b	0.7	1.1	ND
Positive control ^b	49.3	36.0	ND
0.1 µg/mL AMV	9.3	7.1	ND
1 µg/mL AMV	75.8	22.1	ND

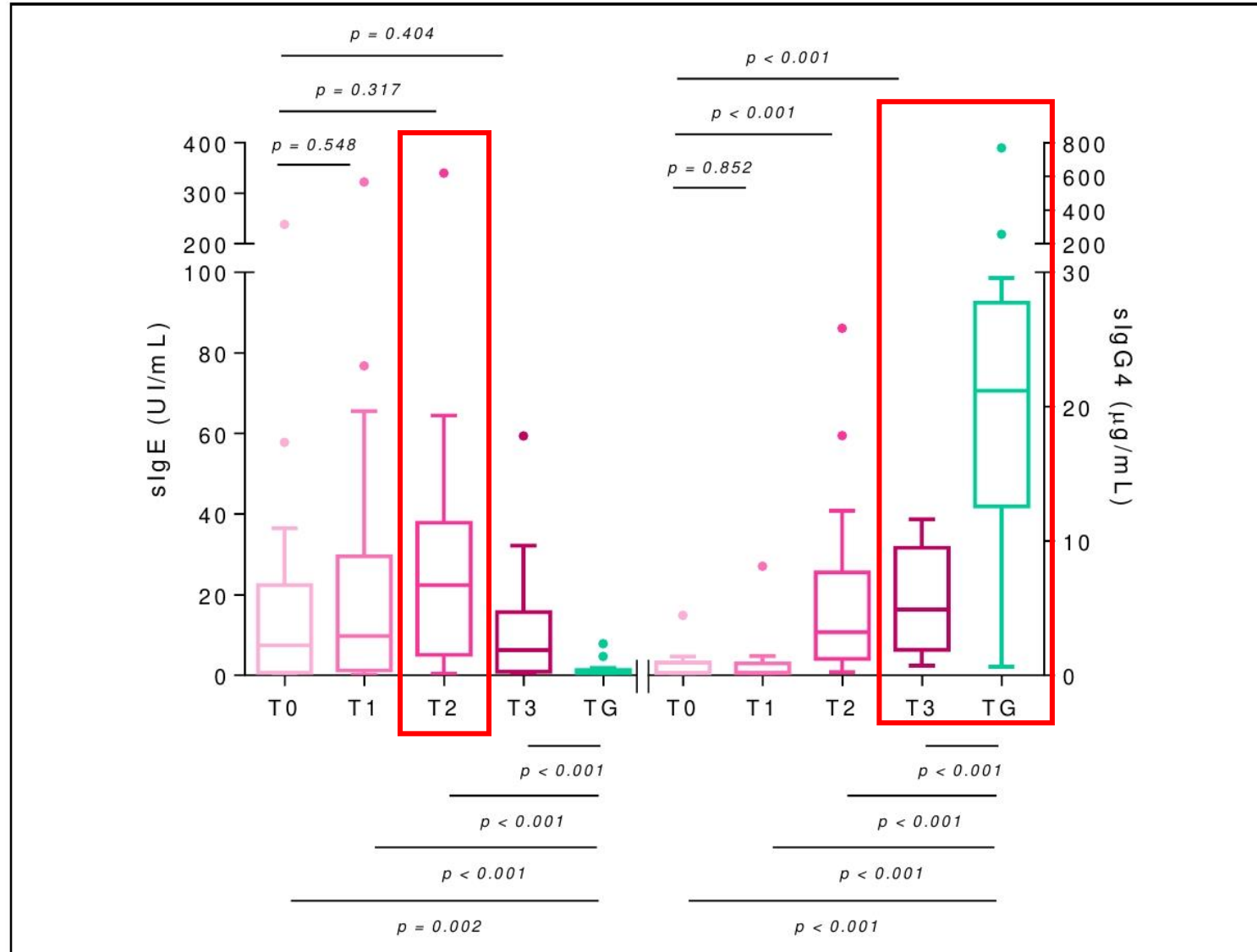


- 1) Diagnóstico molecular usando tanto el veneno completo como los alérgenos moleculares disponibles comercialmente
- 2) Selección personalizada del mejor extracto
- 3) Alta dosis de veneno

USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

20 y 21 de abril de 2023

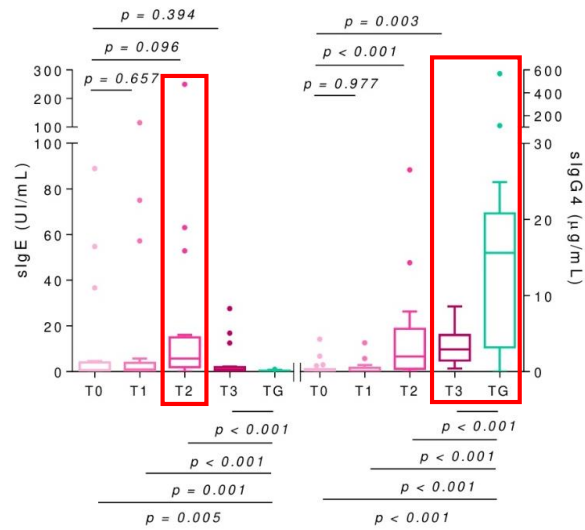
Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba



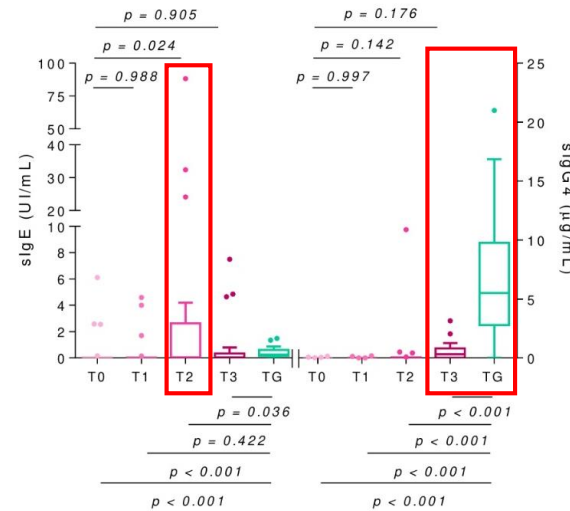
USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

20 y 21 de abril de 2023

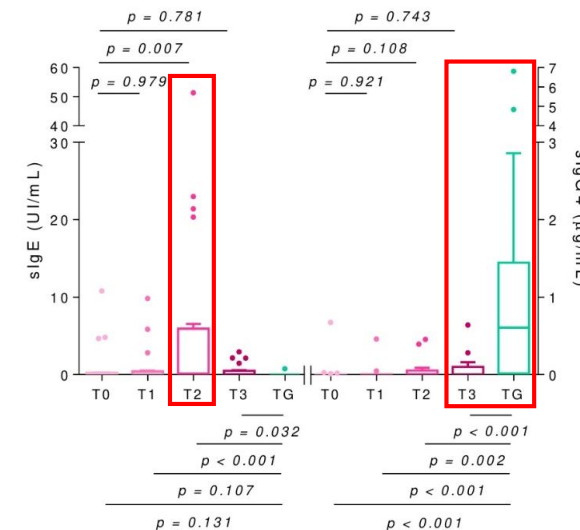
Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba



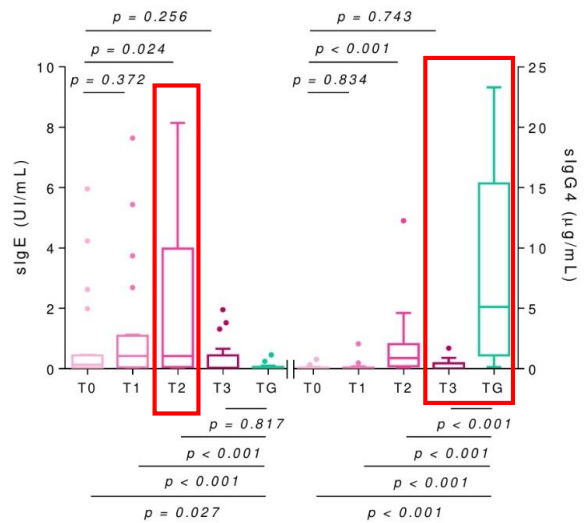
rApi m 1



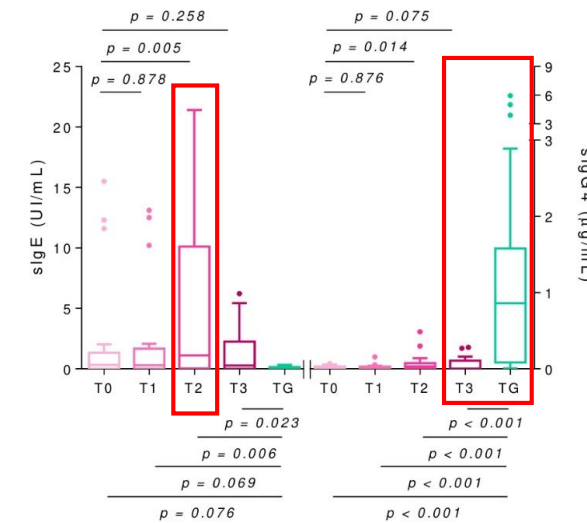
rApi m 2



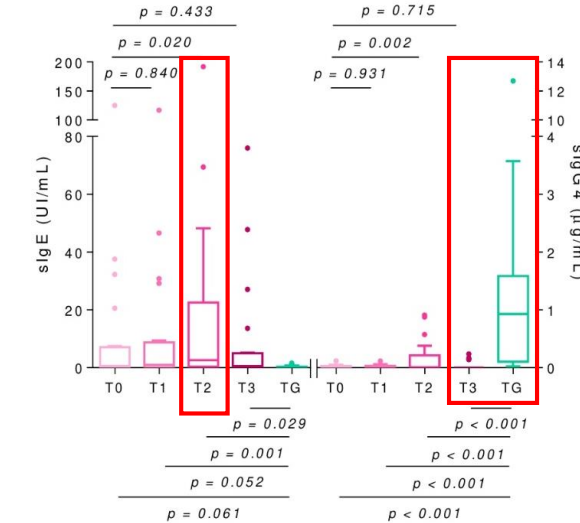
rApi m 3



Api m 4



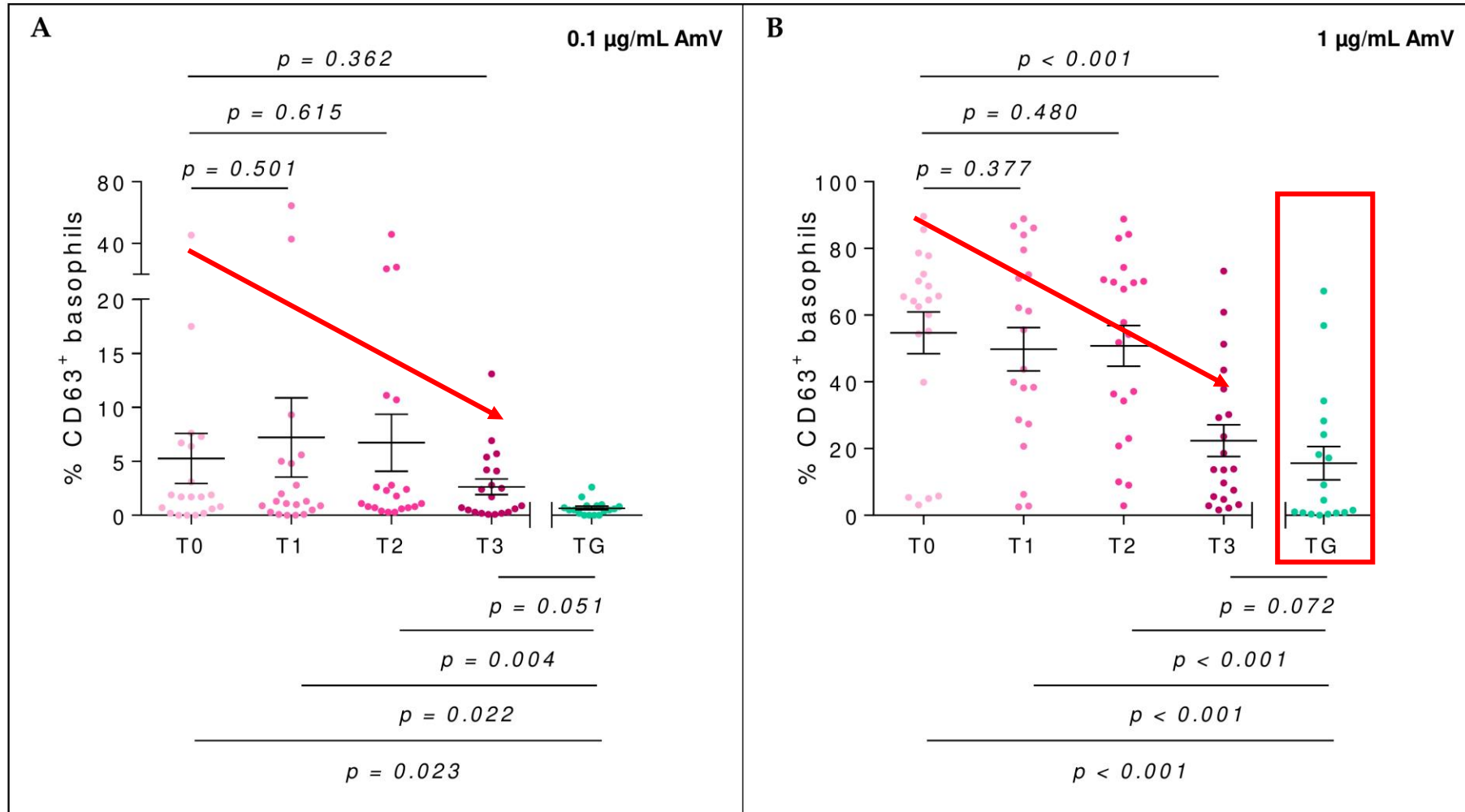
rApi m 5



rApi m 10

USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

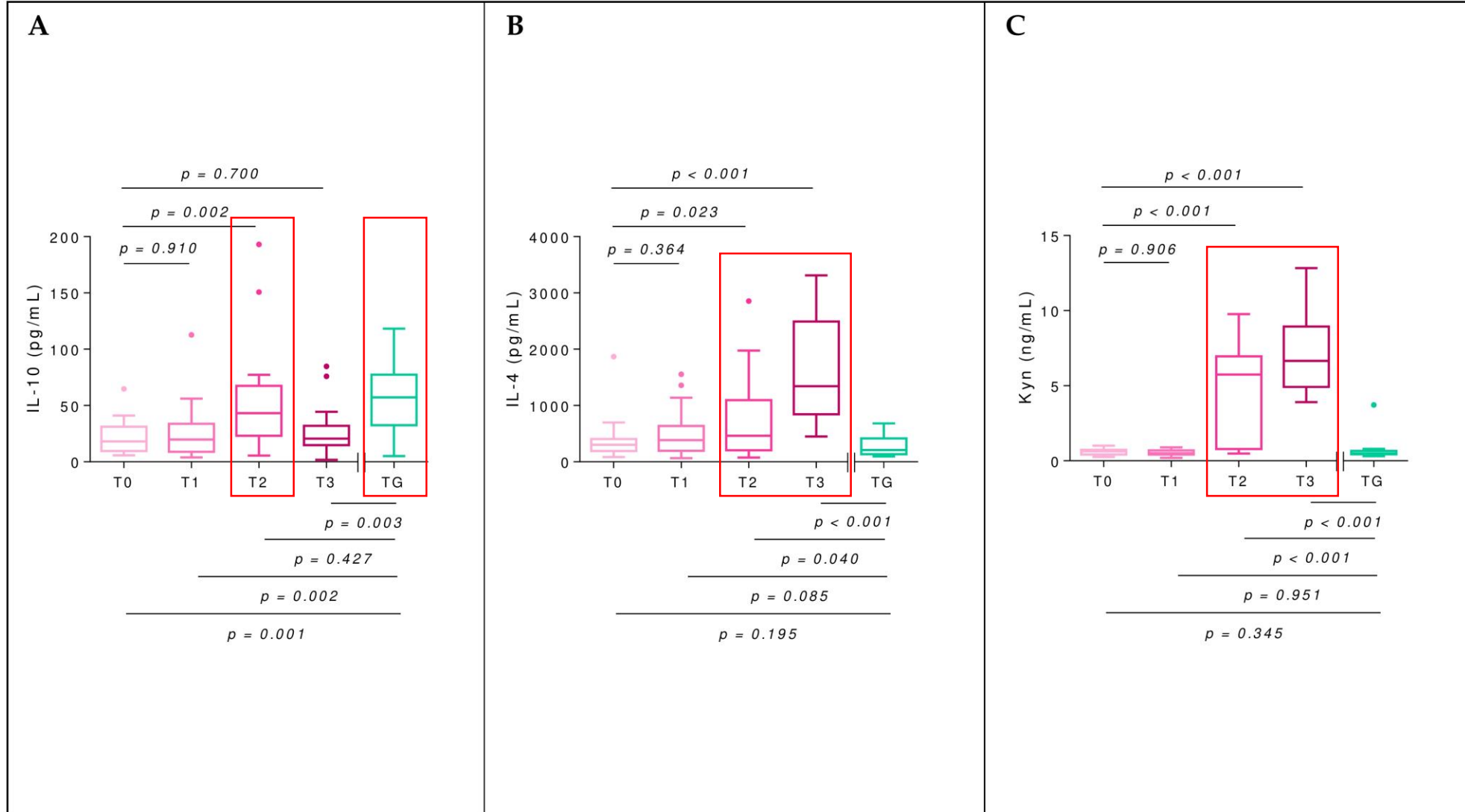
20 y 21 de abril de 2023 | Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba



USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

20 y 21 de abril de 2023

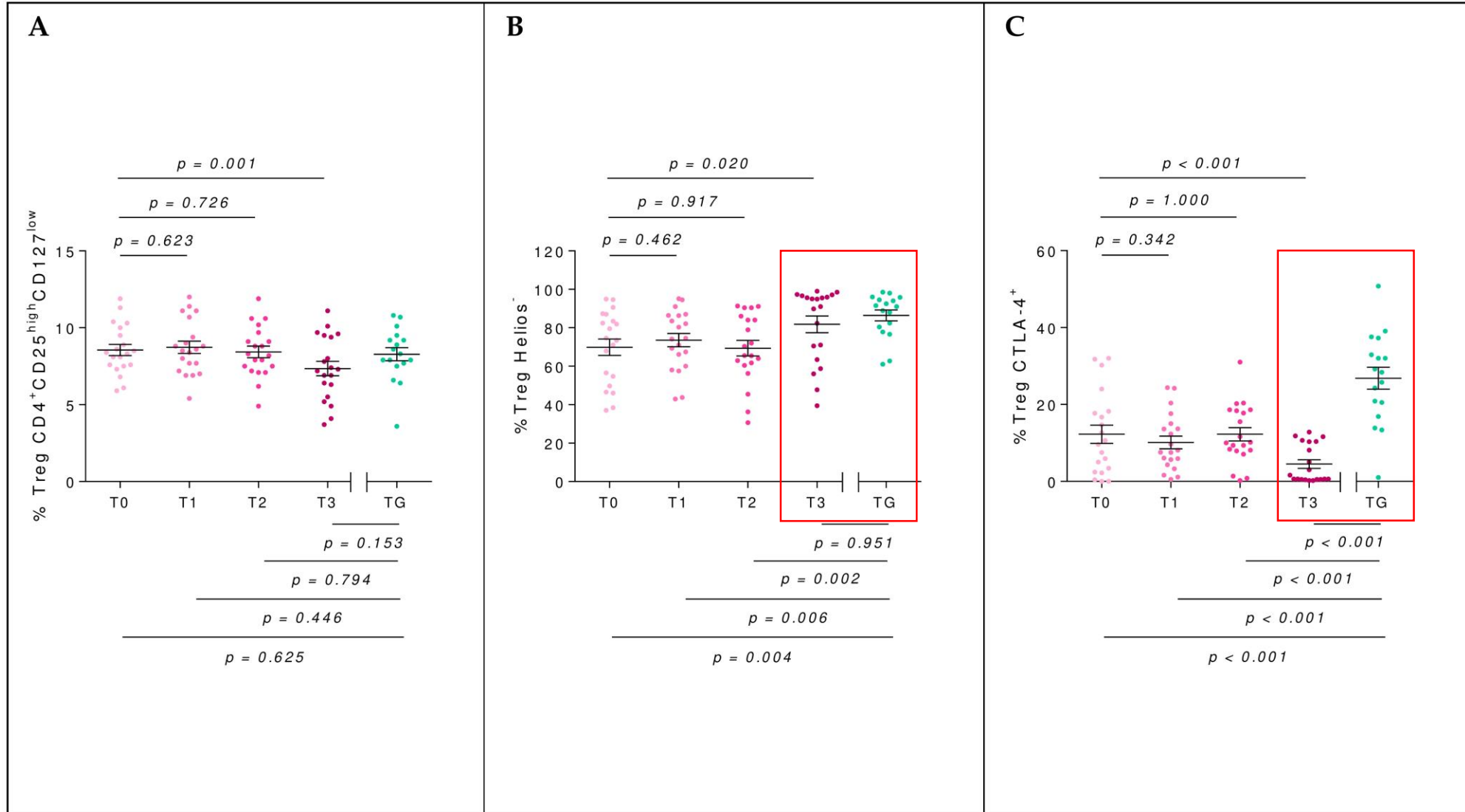
Hospital Universitario
Reina Sofía, Córdoba



USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

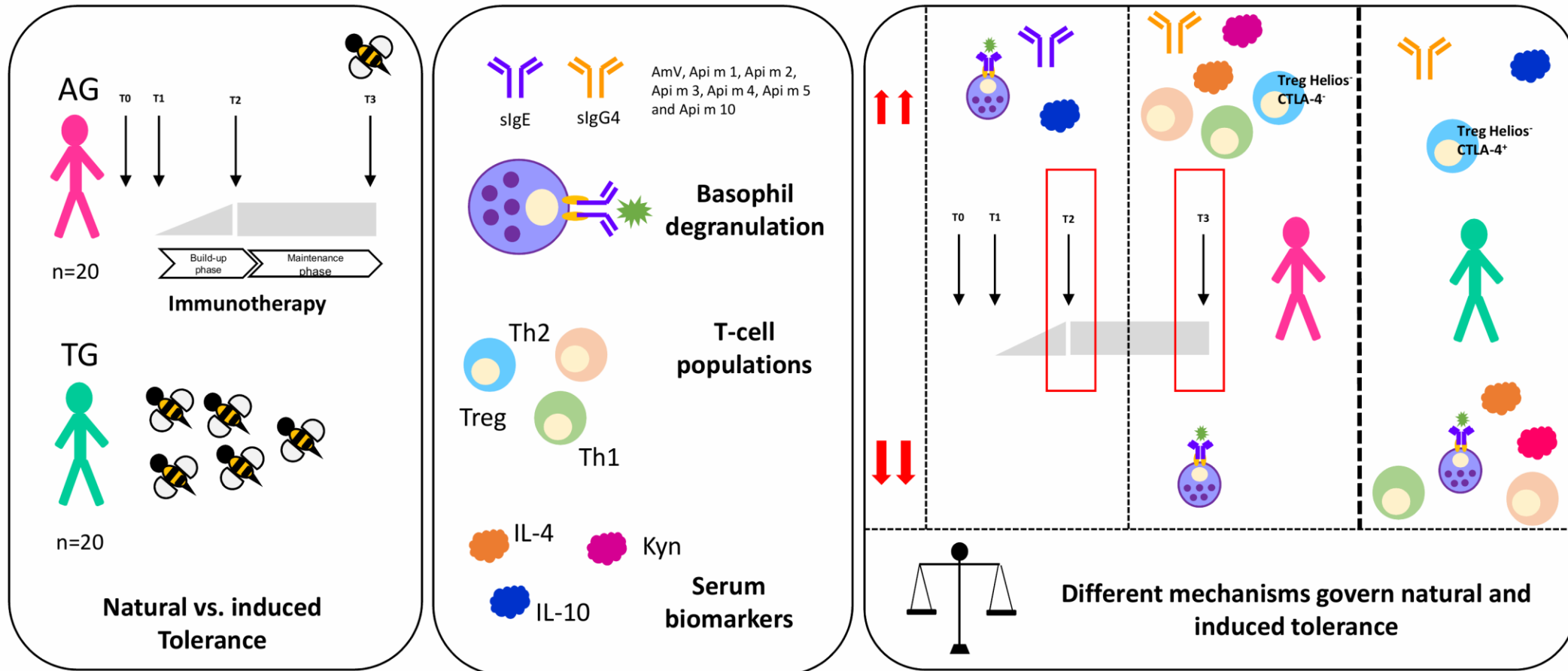
20 y 21 de abril de 2023

Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba





Natural and induced tolerance to Hymenoptera venom, a single mechanism?





PC-0278-2017 Identificación de biomarcadores en pacientes alérgicos a veneno de abeja o a polen de olivo de fenotipo grave y reacción sistémica con inmunoterapia. IP PS. Financiación: JA 67.390 euros. Fase de ejecución: finalizado y analizando resultados.

Objetivos

- 1) Analizar en los pacientes alérgicos de fenotipo grave y con reacciones sistémicas a la IT los perfiles diferenciales de sensibilización a diferentes proteínas alergénicas, metabolómico/transcriptómico así como de la respuesta funcional de plaquetas y la respuesta inmunológica a nivel celular que se relacionan con la respuesta clínica.
- 2) Analizar de la correlación de los diferentes perfiles mediante el desarrollo de modelos multivariantes entre la respuesta clínica y el análisis integrado de los datos generados.



PI18-000313 Estudio de la discontinuación de la inmunoterapia con veneno de abeja ¿Persiste la protección? IP CM. ISCIII. Financiación: 51.546 euros. Estado de ejecución: en ejecución.

Objetivos

- 1.- Relacionar la respuesta inmunológica de Treg, Kinurenina y perfiles IgE/IgG-subclases con la respuesta clínica a la inmunoterapia medida con el test de repicadura, de manera transversal en pacientes tratados con inmunoterapia con veneno de abeja, a largo plazo tras finalizar el tratamiento con éxito.
2. - Relacionar la respuesta dinámica de Treg, Kinurenina y perfiles IgE/IgG-subclases a la inmunoterapia activa con veneno de abeja a largo plazo (3 y 5 años) con la respuesta clínica medida con el test de repicadura.
- 3.- Explorar el fenotipo (en términos de activación/supresión) de los basófilos así como la capacidad de bloqueo de los anticuerpos de clase IgG sobre las células efectoras activadas.
- 4.- Generar conocimiento acerca de la duración del efecto protector de la inmunoterapia con veneno de abeja.
- 5.- Proteger mediante patente los resultados obtenidos si fueran susceptibles de ello.



1. Existen diferentes fenotipos alérgicos

Api m 4 y Api m 10 se asocian a fenotipos más graves

2. Importancia del diagnóstico molecular o por componentes (reactividades cruzadas y disponibilidad de ensayos)

Nos permiten anticiparnos a los resultados de la IT

3. Identificación del himenóptero responsable de la sensibilización (dobles sensibilizaciones)

Implementación con éxito de IT combinada y alterna

4. Elección de la IT adecuada

5. Variabilidad en la respuesta a la IT

Api m 4 y Api m 10 se asocian a peores resultados de IT y mayores EA

6. Purificados disponibles y su estandarización (actividad enzimática y contenido proteico total)

7. Búsqueda de biomarcadores de respuesta a la IT (a corto y largo plazo) vs. gold standard (Sting challenge)

Treg Helios⁻, IL-10 y Kyn como biomarcadores de tolerancia. Kyn como posible biomarcador aplicable a la práctica rutinaria.

Personalización de la INMUNOTERAPIA

USO DE HIMENÓPTEROS EN ALERGIA | USHIAL2023

20 y 21 de abril de 2023 | Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba



BEE FRIENDS



UNIÓN EUROPEA
Fondos Estructurales y de Inversión Europeas

