

Artículo de Opinión de la O.M.S.

Inmunoterapia con alergenios: Vacunas terapéuticas para las enfermedades alérgicas

Editores

J. Bousquet (Francia)

R. Lockey (USA)

HJ. Mailing (Dinamarca)



WORLD HEALTH ORGANIZATION

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE

El presente documento es una traducción de la versión original en inglés [Allergy 44 (53), 2-42, 1998]. El texto ha sido supervisado por el Dr. D. Emilio Alvarez Cuesta, miembro del grupo de trabajo que elaboró este documento y coordinador del Comité de Inmunoterapia de la Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica.

Diciembre 1998

Artículo de Opinión de la O.M.S.
**Inmunoterapia con alérgenos: Vacunas
terapéuticas para las enfermedades alérgicas**
Ginebra. 27-29 de Enero, 1997

Academia Americana de Alergia, Asma e Inmunología (AAAAI)
Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica (EAACI)
Sociedad Europea de Alergia Pediátrica e Inmunología Clínica (ESPACI)
Subcomité de Estandarización de Alérgenos
Sociedad Japonesa de Alergología
Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Infecciosas (NIAID)
Organización Mundial de la Salud (WHO)

Aprobado por:

Colegio Americano de Alergia, Asma e Inmunología
Asociación Internacional de Asma

Presidentes

J. Bousquet (Francia)
R. Lockey (USA)
HJ. Mailing (DK)

Grupo de Trabajo

E. Alvarez-Cuesta (España)
GW. Canonica (Italia)
MD. Chapman (USA)
PJ. Creticos (USA)
JM. Dayer (Suiza)
SR. Durham (Reino Unido)
P. Demoly (Francia)
RJ. Goldstein (USA), NIAID
T. Ishikawa (Japón)
K. Ito (Japón)
D. Kraft (Austria)
PH. Lambert (Suiza), WHO
H. Lowenstein (Dinamarca)
U. Müller (Suiza)
PS. Norman (USA)
RE. Reisman (USA)
R. Valenta (Austria)
E. Valovirta (Finlandia)
H. Yssel (Francia)

Índice

Prólogo	7
Sinopsis	8
Abreviaturas	8
1. Introducción	9
2. Estandarización, almacenamiento y mezcla de vacunas alérgicas	9
2.1. Introducción	9
2.2. Estandarización de alérgenos	10
2.3. Vacunas alérgicas para inmunoterapia	12
3. Mecanismos de la inmunoterapia	13
3.1. Introducción	13
3.2. Concentraciones de anticuerpos séricos	13
3.3. Células efectoras	14
3.4. Respuesta linfocitaria	14
4. Eficacia de la inmunoterapia subcutánea	15
4.1. Introducción	15
4.2. Objetivos	16
4.3. Inmunoterapia con veneno de himenópteros	17
4.4. Inmunoterapia con alérgenos inhalados	17
4.5. Meta-análisis de la eficacia de la inmunoterapia en asma	20
4.6. Inmunoterapia con vacunas de mezclas de alérgenos en niños no seleccionados con asma alérgica	21
4.7. Eficacia a largo plazo de la inmunoterapia	21
4.8. Cumplimiento de la inmunoterapia	22
5. Seguridad de la inmunoterapia	22
5.1. Introducción	22
5.2. Factores de riesgo basados en reacciones sistémicas no mortales	22
5.3. Factores de riesgo basados en reacciones mortales	23
5.4. Factores de riesgo en inmunoterapia	23
5.5. Precauciones en inmunoterapia	24
5.6. Equipamiento recomendado para las instalaciones cuando se administra inmunoterapia con alérgenos	24
5.7. Conclusión	24
6. Otras vías de inmunoterapia	25
6.1. Introducción	25
6.2. Eficacia y seguridad	25
6.3. Aspectos prácticos	27
6.4. Conclusiones	27
7. Cuestiones en pediatría	27
7.1. Introducción	27
7.2. Ventajas de la inmunoterapia en niños	28
7.3. Problemas de la inmunoterapia en niños	28

8. Indicaciones	28
8.1. Contraindicaciones relativas	28
8.2. Inmunoterapia para la sensibilidad al veneno de himenópteros	29
8.3. Inmunoterapia subcutánea para la rinoconjuntivitis y asma alérgicos	30
8.4. Otras vías de administración	32
8.5. Indicaciones para la inmunoterapia en niños	32
9. Costes	32
10. Futuras estrategias para la inmunoterapia	33
10.1. Vacunas terapéuticas en el futuro	33
10.2. Nuevos sistemas de liberación	34
10.3. Alergenos, fragmentos de alergenos y péptidos no anafilácticos para inmunoterapia activa	34
10.4. Haptenos de alergenos mayoritarios que se unen a la IgE para la saturación pasiva de las células efectoras y la inducción de anticuerpos bloqueantes	34
10.5. Inmunización con plásmidos de ADN	34
10.6. Anticuerpos y fragmentos de anticuerpos específicos del alergeno en el tratamiento pasivo de los órganos efectoras de la alergia	35
10.7. Inmunoterapia con anticuerpos monoclonales humanizados anti-IgE o con mimotopos IgE	35
11. Futuras necesidades en investigación clínica	36
12. Bibliografía	36

Prólogo

Los lectores se preguntarán cómo surgió la idea de publicar una normativa estándar sobre inmunoterapia. Jean Bousquet y Richard Lockey coincidieron en una reunión sobre inmunoterapia con alérgenos en Chicago, Illinois, en 1995. En aquel momento, mantuvieron una conversación sobre la posibilidad de escribir una normativa internacional sobre inmunoterapia con alérgenos. La idea fue revisada entre los doctores Lockey y Bousquet en la reunión de la Academia Americana de Alergia, Asma e Inmunología de 1996 en San Francisco, California. El Dr. Bousquet estuvo de acuerdo en comentar la idea con los colegas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y distintas sociedades de alergia, inmunología y asma del mundo entero, para determinar si patrocinarían de forma conjunta dicha normativa. Los interesados estuvieron de acuerdo, y así la idea se convirtió en realidad.

Las respectivas organizaciones regionales aprobaron que los doctores Hans-Jorgen Malling, Lockey y Bousquet fuesen los coordinadores del proyecto. Varias personas procedentes de distintas zonas geográficas y expertos en inmunoterapia con alérgenos fueron nombrados miembros del comité. Se distribuyó entre ellos un borrador del documento antes del primer y único encuentro que ha tenido lugar en la sede de la OMS en Ginebra, Suiza, los días 27-29 de Enero de 1997. Durante esta reunión de tres días, el comité alcanzó un consenso sobre la información que debía incluir el informe, y cómo el grupo procedería a finalizarlo y publicarlo. El comité acordó unánimemente cambiar la terminología histórica de «extracto alérgico» por la nueva terminología empleada en el manuscrito, «vacuna alérgica». Esta decisión se tomó porque muchas vacunas alérgicas utilizadas en la inmunoterapia con alérgenos ya no son extractos crudos, sino que

están definidos en unidades biológicas y/o en microgramos de alérgeno mayoritario.

Durante los meses siguientes, circularon muchos borradores entre los miembros del comité para garantizar que se alcanzaba el consenso en toda la información contenida en el manuscrito.

Los miembros del comité esperamos que estas directrices nos lleven a una mejor comprensión de las bases científicas y uso racional de la inmunoterapia con alérgenos, así como a mejorar la seguridad de este tipo de tratamiento. El documento también define las nuevas técnicas que actualmente se están desarrollando, las cuáles pueden conducir a una mejor eficacia y un menor riesgo para la inmunoterapia con alérgenos, así como las áreas en las que se recomienda ampliar las investigaciones. Los coordinadores agradecen a las distintas organizaciones que han patrocinado esta iniciativa, el apoyo financiero de los fabricantes de vacunas alérgicas y a los colegas que han trabajado con diligencia y durante muchas horas para completar el manuscrito.

Dr. Jean Bousquet

Dr. Richard F. Lockey

Dr. Hans-Jorgen Mailing

Advertencia: El Artículo de Opinión de la OMS no es un documento que implique un modelo de actuación fijo en cada país para la inmunoterapia con alérgenos. El modelo de actuación en inmunoterapia con alérgenos será establecido por los miembros de las principales organizaciones de alergia/inmunología de cada país. Excepto unos pocos artículos que fueron discutidos en la reunión de Ginebra en fase de pre-imprenta, los artículos científicos revisados para que los datos fueran incluidos en este manuscrito fueron publicados antes del 1 de Abril de 1997.

Sinopsis

- La inmunoterapia con alergenitos consiste en la administración gradual de cantidades crecientes de una vacuna alérgica a un sujeto alérgico, alcanzando una dosis que es eficaz mejorando los síntomas asociados con la exposición posterior al alérgeno causante.
- Estudios controlados han demostrado que la inmunoterapia con alergenitos es un tratamiento eficaz en pacientes con rinitis/conjuntivitis alérgica, asma alérgico y reacciones alérgicas a las picaduras de insectos.
- El tratamiento de las enfermedades alérgicas se basa en la evitación del alérgeno, el tratamiento farmacológico, la inmunoterapia con alergenitos y la educación del paciente. La inmunoterapia se debe utilizar, cuando esté indicada, en combinación con otras formas de tratamiento, con el objetivo de conseguir que el paciente alérgico permanezca tan libre de síntomas como médicamente sea posible.
- La inmunoterapia con alergenitos está indicada en pacientes que han demostrado anticuerpos IgE específicos frente a alergenitos clínicamente relevantes. La justificación de la prescripción de la inmunoterapia con alergenitos depende del grado al cual los síntomas pueden ser reducidos mediante medicación, la cantidad y tipo de medicamentos que se requieren para controlar los síntomas, y si es posible evitar el contacto con el alérgeno de forma eficaz.
- La respuesta a la inmunoterapia es específica para el antígeno administrado. No se deben utilizar las mezclas de alergenitos no relacionados con la sensibilidad del paciente.
- Los médicos deberían conocer la aerobiología local y regional, y la exposición del paciente en los entornos familiar y laboral. Solamente los médicos con formación en alergología (inmunología y alergia) deberían prescribir la vacuna clínicamente adecuada para inmunoterapia con alergenitos.
- La calidad de la vacuna alérgica es crítica tanto para el diagnóstico como para el tratamiento. Mientras sea posible, la inmunoterapia con alergenitos debe utilizar vacunas estandarizadas de potencia y estabilidad conocidas.
- El uso de vacunas bien caracterizadas y estandarizadas hace posible definir la dosis de mantenimiento óptimo en el rango de 5-20 mcg de alérgeno mayoritario por inyección para una serie de alergenitos primarios. La eficacia terapéutica se correlaciona con dicha dosis.
- El mayor riesgo de la inmunoterapia con alergenitos es la anafilaxia. Por lo tanto, se debe administrar la inmunoterapia con alergenitos solamente por o bajo estrecha supervisión de un médico con experiencia que pueda reconocer los síntomas y signos iniciales de una anafilaxia, y administrar el tratamiento de urgencia adecuado.
- No se conoce todavía la duración óptima de la inmunoterapia. Muchos clínicos recomiendan 3-5 años de tratamiento en los pacientes que hayan tenido una buena respuesta terapéutica. Sin embargo, la decisión de interrumpir la inmunoterapia con alergenitos debe ser individualizada en cada caso.
- Varios estudios sugieren que se debe interrumpir la inmunoterapia con venenos, en la mayoría de los pacientes, después de 3-5 años. Sin embargo, la decisión de interrumpir este tipo de tratamiento debe ser individualizada en cada caso.

Abreviaturas:

AAAAI: Academia Americana de Alergia, Asma e Inmunología
 ACAAI: Colegio Americano de Alergia, Asma e Inmunología
 AU: Unidades de Alergia
 BAU: Unidades bioequivalentes de Alergia
 BU: Unidades Biológicas
 CBER: Centro de Investigación y Evaluación Biológica
 EAACI: Academia Europea de Alergología e Inmunología Clínica
 ESPACI: Sociedad Europea de Alergia Pediátrica e Inmunología Clínica
 EU: Unión Europea
 IAACI: Asociación Internacional de Alergia e Inmunología Clínica
 IU: Unidades Internacionales
 IUIS: Unión Internacional de Sociedades de Inmunología

1. Introducción

La inmunoterapia con alérgenos consiste en administrar cantidades gradualmente crecientes de un extracto alérgico a un sujeto alérgico para mejorar la sintomatología causada por la exposición posterior al alérgeno causante. Noon y Friedman introdujeron la inmunoterapia con alérgenos para tratar la «polinosis», o rinitis alérgica, en 1911 (1). Desde entonces, se ha utilizado la inmunoterapia para tratar enfermedades alérgicas causadas por alérgenos inhalados, y es un tratamiento eficaz en los pacientes con rinoconjuntivitis alérgica estacional o perenne y asma. Se acepta que la inmunoterapia con veneno de himenópteros, utilizada desde hace unos 20 años, es el tratamiento de elección para las reacciones alérgicas sistémicas inducidas por las picaduras de estos insectos.

Las vacunas se utilizan en medicina como modificadores de la respuesta inmunológica. Así también sucede con la inmunoterapia con alérgenos. El conocimiento adquirido de los estudios sobre los mecanismos de la alergia, tales como la importancia de las células Th1 y Th2, la regulación de la respuesta inmune por las citoquinas y la inhibición específica o ablación de la respuesta inmune patogénica por medio de la inducción de la tolerancia, puede ser aplicable tanto a una gran variedad de enfermedades alérgicas como inmunológicas. Esto es especialmente cierto en enfermedades autoinmunes como la diabetes mellitus juvenil y la esclerosis múltiple. Por lo tanto, los conceptos utilizados y los datos científicos que apoyan el uso de la inmunoterapia con alérgenos para tratar las enfermedades alérgicas están siendo hoy día aplicados científicamente para otras enfermedades inmunológicas. Por todo ello, el equipo de expertos tituló este Artículo de Opinión como «Inmunoterapia con alérgenos. Vacunas terapéuticas para enfermedades alérgicas», para indicar que las vacunas (extractos alérgicos) que modifican o regulan la respuesta inmune en las enfermedades alérgicas son parte de esta amplia categoría de tratamientos que se utilizan en la actualidad, y que se están desarrollando para el tratamiento de otras enfermedades inmunológicas e infecciosas.

La inmunoterapia es el único tratamiento que puede alterar el curso natural de las enfermedades alérgicas, y también puede impedir el desarrollo de asma en los pacientes con rinitis alérgica. Se están investigando actualmente nuevas vías de administración de la inmunoterapia. La inmunoterapia nasal, sublingual u oral, utilizando altas dosis de vacunas alérgicas pueden llegar a ser unas vías de administración igual de eficaces y más sencillas y seguras. Además, las nuevas tecnologías y conocimientos de los mecanismos básicos de las enfermedades alérgicas pueden alterar completamente el modo en que se utilice la inmunoterapia con alérgenos en el futuro.

En los últimos años, distintas organizaciones han publicado algunas directrices o indicaciones para inmunoterapia con alérgenos inhalados y venenos, como la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2, 3), la Academia Europea de Alergia e Inmunología Clínica (EAACI) (4-6), el Informe de Consenso Internacional sobre Asma (7), la Estrategia Global para Tratamiento y Prevención del Asma (8), el Informe de Consenso Internacional sobre Rinitis (9), la Sociedad Británica de Alergia e Inmunología Clínica (10), la Academia Americana de Alergia, Asma e Inmunología (AAAAI) y el Colegio Americano de Alergia, Asma e Inmunología (ACAAI) (11).

Estos informes proporcionan unas directrices para la mejor comprensión e indicaciones del uso de la inmunoterapia con alérgenos. Sin embargo, ninguno de ellos representa un informe de consenso de los representantes de distintas partes del mundo (2, 4, 10), y algunos solamente tratan temas específicos sobre algún órgano diana en relación con el asma (7, 8) o la rinitis (9).

Por ello, médicos y científicos de distintas partes del mundo acordaron en la sede de la OMS en Ginebra, los días 27-29 de Enero de 1997, revisar las bases científicas e indicaciones de la inmunoterapia con alérgenos. También se comentaron las nuevas formas de terapia que se están desarrollando e investigando en el momento actual, que pueden resultar más seguras y eficaces.

2. Estandarización, almacenamiento y mezcla de vacunas alérgicas

2.1. Introducción

Ya se han definido los extractos alérgicos (vacunas). «Extracto alérgico» significa una preparación de un alérgeno obtenido mediante extracción de los constituyentes activos de sustancias animales o vegetales en un medio adecuado. «Producto alérgico» significa un producto biológico, incluyendo extractos alérgicos y otros, que es administrado al hombre para el diagnóstico, prevención y tratamiento de la alergia y de las enfermedades alérgicas (12). En la Farmacopea Europea, «productos alérgicos son aquellos preparados farmacéuticos que derivan de vacunas de materiales existentes en la naturaleza que contienen alérgenos, y que son sustancias que causan y/o provocan enfermedad alérgica (hipersensibilidad). Los componentes alérgicos son, en su mayoría, de naturaleza proteica. Los productos alérgicos están destinados para el diagnóstico in vivo y/o el tratamiento de las enfermedades de hipersensibilidad alérgica atribuidas a estos alérgenos» (13).

El Comité que se reunió en Ginebra decidió el uso del término «vacuna alérgica» más que extracto alérgico, para indicar que las vacunas (extractos

alergénicos) modifican o regulan la respuesta inmune de las enfermedades alérgicas, y forman parte de la amplia categoría de tratamientos que se están desarrollando y utilizando en el momento actual para el tratamiento de otras enfermedades inmunológicas e infecciosas.

El éxito de la inmunoterapia depende del uso de vacunas alérgicas de alta calidad, estandarizadas de forma adecuada, y que puedan ser fabricadas de forma homogénea. La presente recomendación de la OMS sobre la estandarización de alérgenos está adaptada en gran medida del Artículo de Opinión aprobado por las Sociedades Americana y Europea de Alergia (14, 15). Los enfoques hacia la estandarización en Europa y los EE.UU. han sido distintos en el pasado, pero se están desarrollando estrategias comunes. Los Artículos de Opinión tanto europeos como de Estados Unidos recomiendan que todas las vacunas alérgicas sean estandarizadas de acuerdo a la potencia total del alérgeno, la actividad biológica y las mediciones del alérgeno mayoritario en unidades de masa. En los EE.UU., la FDA regula los productos alérgicos; en Europa, se regulan en cada estado miembro a través de normas generales que ahora se ven afectadas como parte de las normas de la UE suscritas por la Unión Europea (16). Desde una perspectiva global, esta recomendación de la OMS promueve la adopción de métodos de estandarización que se puedan utilizar e interpretar en todo el mundo. Las respectivas agencias reguladoras deberían trabajar en la elaboración de una metodología común de producción y estandarización de las vacunas alérgicas.

2.2. Estandarización de alérgenos

Las vacunas más comúnmente usadas en la práctica de la alergología clínica están disponibles ahora como productos estandarizados o pendientes de estandarización. Sin embargo, hay varias docenas de vacunas que se comercializan actualmente (muchas de las cuales se utilizan solo ocasionalmente), cuya estandarización no es posible técnica o económicamente. Se propone que los fabricantes de alérgenos introduzcan vacunas en las que se haya probado su homogeneidad de acuerdo a un estándar de referencia interno (13). Este método está diseñado para asegurar un nivel aceptable de estandarización y control de calidad, en vacunas alérgicas que de otro modo no se podrían estandarizar.

Los detalles de la estandarización y calibración de alérgenos se describen en el Artículo de Opinión sobre Estandarización de Alérgenos y Pruebas Cutáneas de la EAACI (14), y en las recomendaciones de las Sociedades Norteamericanas de Alergia, Asma e Inmunología (15).

2.2.1. Materia Prima

La materia prima debería ser seleccionada a partir de un material de alta calidad. Las instrucciones detalladas de recolección, almacenamiento, extracción y purificación se recogen en el informe del IUIS (17), en las Normas Nórdicas (18), así como por la Unión Europea (Producción y control de calidad de alérgenos, Directriz 111/9271/90); la fabricación de vacunas de alérgenos se debería basar en las Normas de Buena Fabricación (GMP) (13).

2.2.2. Métodos de estandarización de alérgenos

Estándares de vacunas alérgicas. La medición de los alérgenos mayoritarios para la estandarización es ahora un objetivo realista y deseable. Un elemento clave en este proceso es el mantenimiento de los estándares de referencia que contienen una cantidad conocida de los alérgenos relevantes. Se han producido estándares para una serie de vacunas, como parte del programa de estandarización de alérgenos OMS/IUIS/IAACI (19-23). Algunos de estos estándares, como p.ej.: la ambrosia, ácaros (*Dermatophagoides pteronyssinus*) y perro, contienen cantidades conocidas de los alérgenos mayoritarios (24, 25). También se ha determinado el contenido en alérgenos de algunos preparados de referencia CBER. Los estándares con un contenido definido de alérgenos se mantienen en condiciones estables en almacenes aprobados, tales como las instalaciones de la FDA, la OMS, la Central Bureau für Schimmelsvampes (CBS) o la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC). En el futuro, es probable que los alérgenos recombinantes proporcionen estándares primarios para el análisis de alérgenos, y una base para el desarrollo de nuevos productos para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades alérgicas (26-28).

Tabla 1. Comparación entre los métodos de pruebas cutáneas para estandarización de alérgenos

	EE.UU.	Países Nórdicos
Método de prueba cutánea	intradérmico	prick-test
Incremento de dosis	3 veces	10 veces
N. de pacientes testados	15	20
Selección de pacientes	altamente alérgicos	alérgicos
Reacción medida	eritema	pápula
Histamina como referencia	no	si
Cálculo	media aritmética	media geométrica
Unidades de estandarización	Unidad Bioequivalente de Alergia (BAU)	Unidad Biológica (BU)

Métodos actuales de estandarización. La estandarización se basa principalmente en la detección in vivo e in vitro de los anticuerpos IgE frente a los alérgenos. Las pruebas cutáneas hacen posible definir una vacuna alérgica en unidades biológicas. Para ello, se utilizan habitualmente dos métodos (14, 18, 29), dependiendo ambos de la disponibilidad de

los pacientes alérgicos y de los criterios de selección utilizados (30) (tabla 1). La inhibición de la capacidad de unión de los anticuerpos IgE se mide por métodos derivados del RAST de inhibición (31). Los resultados reflejan la medida de la potencia alergénica total, siendo requeridas dichas pruebas por la Farmacopea Europea (13). La precisión de estos métodos depende de la disponibilidad de un suero humano adecuado (32), de la composición del "pool" de sueros y de la vacuna alergénica utilizada como estándar de referencia (24, 33). Sin embargo, existe cierta variabilidad con estas pruebas in vivo e in vitro, por lo que puede ser difícil comparar la potencia alergénica total de las vacunas cuando éstas son producidas por distintos fabricantes.

La composición de la vacuna puede determinarse por métodos tales como isoelectroenfoque, la electroforesis SDS-PAGE, el inmunoblotting de IgE y la radioinmunolectroforesis cruzada (CRIE). (Para una mayor revisión, véase cita 34).

Nuevas tecnologías. El rápido desarrollo de nuevas tecnologías tanto para el análisis del ADN como de las proteínas ofrece oportunidades para métodos mejorados para la estandarización de vacunas alergénicas. Muchos alérgenos importantes del polen, ácaros del polvo, epitelios de animales, insectos y alimentos están donados y expresados como proteínas recombinantes homogéneas. Algunos tienen una actividad alergénica comparable a los alérgenos proteicos naturales (para revisión, véase cita 35). Con estas nuevas tecnologías, se puede caracterizar la vacuna alergénica en términos del contenido en alérgenos mayoritarios (ng o pg), y puede controlarse con precisión la homogeneidad de cada lote. Tales mediciones facilitarían las comparaciones objetivas de las vacunas alergénicas (24, 25, 33, 36, 37), centrándose en las proteínas de una importancia alergénica comprobada, como Fel d1, Der p1, Lol p1, Amb a 1, Bet v 1, etc. (38, 39). Es importante que exista una relación consistente entre la cantidad de alérgeno medida y las cantidades de otros alérgenos que estén presentes en la vacuna (40). Mientras que se prefieren los métodos basados en anticuerpos monoclonales, puesto que los reactivos están disponibles en grandes cantidades a perpetuidad, y tienen una especificidad definida, los métodos que utilizan anticuerpos policlonales pueden ser igualmente útiles. En el momento actual, por ejemplo, la FDA realiza la medición de Fel d 1 mediante la asignación de BAU (unidades bioequivalentes de alérgeno) en las vacunas de pelo de gato y de piel de gato. La cantidad de Fel d 1 se correlaciona con la potencia de la prueba cutánea en BAU. Se ha demostrado que las mediciones de alérgenos mayoritarios se correlacionan con las estimaciones de la potencia biológica (40, 41). En Japón, las vacunas alergénicas están estandarizadas por cuantificación del alérgeno mayoritario, y por

actividad biológica. Las vacunas se etiquetan en JAU (Unidad Japonesa de Alérgeno) (42).

La producción de fragmentos de anticuerpo recombinante humano IgE mediante bibliotecas genómicas puede ser útil para detectar los epítomos de IgE en las vacunas alergénicas, y con ello se contribuiría a la estandarización (43).

2.2.3. Unidades

Las vacunas alergénicas se han estandarizado de diferentes formas (30, 44). Sin embargo, solamente se deberían utilizar para el diagnóstico alergológico e inmunoterapia aquellas en las que se especifica la potencia total y la concentración de cada alérgeno individualmente (18).

Un problema crítico a la hora de determinar la potencia alergénica total, basada tanto en métodos biológicos como en métodos in vitro, es que las unidades son arbitrarias y puede llevar a confusión (PNU, AU, BAU, BU, TU, y otras unidades arbitrarias de cada compañía). Por lo tanto, no se pueden comparar con precisión las vacunas alergénicas estandarizadas en los EE.UU. en BAU con las vacunas que se comercializan en BU (potencia de las pruebas cutáneas en relación a histamina), o en TU (preparado de referencia de la OMS/TUTS/TAACI) (25, 44). En EE.UU. la FDA introdujo las BAU para sustituir las AU, con el fin de distinguir la potencia basada en los resultados de las pruebas cutáneas de la derivada solamente de las pruebas in vitro. La FDA recomienda el sistema 1D50 EAL para determinar las BAU, y está siendo utilizado en la actualidad para establecer las referencias de las vacunas alergénicas en este país (29, 45, 46).

2.2.4. Recomendaciones

Se deben etiquetar los viales de acuerdo a los requerimientos de cada autoridad legislativa. El etiquetado incluye una indicación de las unidades relevantes obtenidas con un método aprobado, y también deben figurar la estabilidad o fecha de caducidad. Para los alérgenos estandarizados, el prospecto debe especificar las concentraciones de cada uno de los alérgenos de forma independiente (proteínas marcadoras) en unidades biológicas o absolutas y/o su potencia en unidades biológicas determinada por pruebas cutáneas cuantitativas. También debería incluir las pautas de tratamiento recomendadas. Cumplir estas recomendaciones es necesario para que el médico pueda comparar vacunas de distintos orígenes farmacéuticos. Los prospectos deben incluir también los métodos adecuados de almacenamiento para mantener la estabilidad del producto.

2.3. Vacunas alergénicas para inmunoterapia

«Los productos alergénicos para inmunoterapia pueden ser tanto vacunas no modificadas como vacunas modificadas químicamente y/o por adsorción en distintos vehículos» (13).

2.3.1. Vacunas acuosas

La mayoría de las vacunas alergénicas acuosas utilizadas en inmunoterapia son mezclas heterogéneas de alérgenos y materiales no alergénicos. Esta clase de vacunas pueden ser estandarizadas, y se utilizan tanto para inmunoterapia con venenos (47-49) como en inmunoterapia de alérgenos inhalados (50-52).

2.3.2. Vacunas depot y modificadas

Se han desarrollado vacunas alergénicas depot y modificadas, intentando hacer una inmunoterapia más eficaz y disminuir los efectos secundarios. El principio de la preparación de vacunas modificadas es reducir o eliminar la alergenicidad, es decir, la capacidad de inducir la reacción mediada por IgE. Al mismo tiempo, es deseable conservar o aumentar la inmunogenicidad, o la capacidad de modular el sistema inmune y mantener la eficacia clínica. Los problemas de los alérgenos estructuralmente alterados son complejos, y están todavía lejos de ser aclarados.

2.3.3. Tipos de modificación

Modificación física incluye la adsorción e inclusión de alérgenos como vacunas depot, utilizándose para ello sustancias como el aluminio (53), fosfato cálcico, tirosina (54, 55) y los liposomas (56, 57).

Modificación química se refiere a los denominados alérgoides, tales como las vacunas modificadas con formaldehído (58, 59), glutaraldehído (60) y alginato (61). Distintos estudios han demostrado que la eficacia clínica se mantiene en estas vacunas modificadas, y que los preparados de alto peso molecular son más seguros que las vacunas acuosas no modificadas (60, 62). Otros ejemplos son las vacunas no polimerizadas, como la vacuna modificada con metoxipolietilenglicol (63-67), menos eficaz que las vacunas convencionales.

Modificación combinada. Vacunas modificadas física y químicamente, como las vacunas modificadas por glutaraldehído adsorbidas a tirosina (68-70) o las vacunas de formaldehído adsorbidas a hidróxido de aluminio.

2.3.4. Estandarización y control de vacunas alergénicas modificadas

La preparación de vacunas alergénicas modificadas debería incluir:

- 1) La estandarización de la vacuna alergénica antes de su modificación.
- 2) La reproducibilidad de su proceso de modificación, de forma que sea posible determinar los epítomos alergénicos que queden en el producto final.
- 3) Un producto consistente y reproducible con las mismas propiedades.

2.3.5 Mezclas de vacunas alergénicas

Los médicos prescriben las vacunas alergénicas para inmunoterapia en los pacientes con enfermedades alérgicas demostradas. Cuando un paciente presenta múltiples sensibilidades debido a alérgenos relacionados y no relacionados, se puede prescribir una vacuna que contenga la mezcla de todos ellos. Estas mezclas pueden acarrear dos problemas; en primer lugar, una dilución excesiva de múltiples alérgenos puede dar lugar a una dosis subóptima de cada alérgeno por separado; y en segundo lugar, la potencia de cada uno de los alérgenos puede deteriorarse con más rapidez cuando se diluyen (71) o cuando se mezclan con otras vacunas alergénicas (72). Lo cual sucede porque algunos alérgenos poseen una actividad enzimática que altera la composición de otros alérgenos (73). Las vacunas de polen o ácaros pueden sufrir una cierta degradación cuando se mezclan con vacunas de ácaros, hongos o cucarachas (72, 74). Las vacunas de polen de ambrosia parece ser especialmente resistente a la degradación por proteasas (72). La utilización de glicerol como conservante, no así la de albúmina sérica, puede prevenir en cierto modo la degradación por proteasas (72). Se debe indicar la cantidad relativa de cada componente de una vacuna alergénica combinada.

Los alérgenos relacionados pueden tener epítomos comunes, dando lugar a reactividad cruzada. Ejemplos de estas vacunas interrelacionadas son las derivadas de *Dermatophagoides farinae* y *pteronyssinus*; de gramíneas de climas templados, como *Phleum pratense*, *Lolium perenne*, *Poa pratensis*, *Secale cereale*, etc.; de árboles caducifolios, como *Alnus glutinosa*, *Betula verrucosa*, *Corylus avellana*, etc.; de *Parietaria judaica* y *officinalis*, y de *Ambrosia elatior* y *trifida*. Por lo tanto, la diferencia puede no ser notoria en la práctica si se utiliza una vacuna con uno solo de estos alérgenos o una mezcla de ellos (75-77).

Un diagnóstico cuidadoso puede identificar algunos alérgenos sensibilizantes dominantes, que pueden ser utilizados para inmunoterapia y evitar los problemas potenciales que ocurren cuando se mezclan algunas vacunas.

Por lo tanto, las vacunas de alérgenos se deben distribuir como (1) vacunas de una sola fuente de material o (2) mezclas de vacunas de alérgenos relacionados, con reactividad cruzada, tales como vacunas de polen de gramíneas, vacunas de polen de árboles caducifolios, vacunas de polen de ambrosia relacionadas y vacunas de ácaros relacionados o 3/ mezclas de vacunas de otros alérgenos, supuesto que se pudiera disponer de los datos de estabilidad y de eficacia clínica. En aquellas zonas donde se comercialicen este tipo de mezclas, se debe indicar la cantidad relativa de cada componente.

3. Mecanismos de la inmunoterapia

3.1. Introducción

Las principales características de la inflamación alérgica en el hombre son la activación de mastocitos y basófilos dependiente de la IgE y la eosinofilia tisular, en la cual las citoquinas desempeñan un papel principal. Los estudios iniciales realizados en ratones han demostrado la existencia de dos subpoblaciones distintas de linfocitos T CD4 según su perfil de citoquinas (78). Después de su activación, las células T-helper 1 (Th1) producen interferón gamma (IFN- γ) e interleuquina 2 (IL-2), pero no IL-4 ni IL-5, mientras que las células T-helper 2 (Th2) producen principalmente IL-4, IL-13 e IL-5, pero no IL-2 ni IFN- γ . Ambas subpoblaciones producen IL-3 y factor estimulante de las colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF). Esta dicotomía funcional de las células Th CD4 fue demostrada posteriormente, analizando clones de células T procedentes de donantes atópicos, sujetos sanos o pacientes con enfermedades infecciosas (79). La IL-4 (80, 81) y la recientemente descrita y similar IL-13 (82), son importantes para el cambio del isotipo de cadenas pesadas de la IgE por las células. Este proceso se ve inhibido por la citoquina Th1 IFN- γ , la cual, a su vez, puede ser inducida por la IL-12 (83). La IL-5 es un factor de crecimiento selectivo importante para la diferenciación terminal, activación y persistencia de eosinófilos en los tejidos (84) (posiblemente, inhibiendo la apoptosis de éstos).

Los estudios han proporcionado una nueva visión dentro de los mecanismos de inmunoterapia específica con alérgenos. Los trabajos iniciales se centraron en los anticuerpos circulantes y las células efectoras. Los estudios más recientes sugieren que estos cambios son secundarios a la influencia de la inmunoterapia en la respuesta de la célula T al alérgeno. La mayoría de trabajos ha examinado el efecto de la inmunoterapia subcutánea más que la inmunoterapia administrada por vías locales. Los mecanismos son probablemente heterogéneos, dependiendo de la naturaleza del alérgeno, la localización de la enfermedad alérgica, la vía, dosis y

duración de la inmunoterapia, el uso de diferentes adyuvantes y, por último y no por ello menos importante, el estado genético del huésped.

3.2. Concentraciones de anticuerpos séricos

3.2.1. IgE específica

Durante la inmunoterapia convencional, las concentraciones séricas de alérgeno específico IgE ascienden inicialmente y posteriormente decaen hasta los niveles basales después de unos meses (85). La inmunoterapia con polen puede reducir los incrementos estacionales que se suelen producir en la IgE específica (86). Algunos estudios han determinado que los niveles séricos de IgE aumentan durante la inmunoterapia mientras que la liberación de histamina por los basófilos (87) o la sensibilidad del órgano diana disminuyen al mismo tiempo. Estos efectos pueden estar relacionados con las diferencias en las características moleculares del factor liberador de histamina dependiente de la IgE (88), o con distintas isoformas de IgE (89) que pueden tener propiedades fisiológicas diferentes.

3.2.2. IgG específica

Se atribuyen dos mecanismos de acción opuestos a la IgG en la alergia de tipo inmediato (90). Una pequeña fracción de IgG puede tener propiedades anafilácticas, aunque esta propiedad no se pueda atribuir a la IgG4. Además, las IgG1 e IgG3 específicas de alérgeno inducen la degranulación de eosinófilos vía receptores Fc ϵ R2 (91), no así la IgG4. Los anticuerpos IgG inducidos por inmunoterapia pueden actuar como anticuerpos bloqueantes de alérgeno (92, 93). Estas observaciones sugieren la denominada teoría del «anticuerpo bloqueante» (94, 95), que postula que la IgG compite con la IgE por la unión al alérgeno, bloqueando, por lo tanto, la activación dependiente de IgE de los mastocitos. Recientemente, se demostró que los anticuerpos monoclonales IgG humanos procedentes de un paciente alérgico inmunizado con polen de abedul, bloquean la unión de la IgE al alérgeno mayoritario del polen del abedul, Bet vi, y bloquean la liberación de histamina inducida por él (96). Sin embargo, los cambios en la concentración de anticuerpo no se relacionan con la respuesta clínica a la inmunoterapia con vacunas de alérgenos inhalados (97, 98). La inmunoterapia mediante pautas «rápidas» es eficaz mucho antes de que se produzcan cambios en la síntesis de anticuerpos. Con la inmunoterapia con veneno, el incremento precoz de anticuerpos IgG se asocia con la protección frente a la picadura del insecto en una población de pacientes, pero no tiene un valor predictivo en cada paciente de forma indi-

vidual (95, 99, 100). Con la inmunoterapia con veneno a largo plazo, parece haber un mecanismo no mediado por IgG de inicio tardío que suprime la sensibilidad alérgica (101).

Las subclases de IgG pueden tener diferentes efectos sobre la respuesta alérgica. Muchos estudios han demostrado que la inmunoterapia induce un aumento marcado de las IgG específicas del alérgeno, en particular, IgG1 e IgG4 (102). Los niveles de IgG1 en reposo son predictores del desarrollo de la respuesta tardía después de la provocación del alérgeno, no así los de IgG4 (103). Unos niveles altos de IgG4 se asocian con el fracaso de la inmunoterapia con alérgenos inhalados (102).

Se debe investigar con más profundidad el papel de la IgG en determinados tejidos o en la secreción mucosa de anticuerpos.

3.3. Células efectoras

La inmunoterapia puede actuar reduciendo el reclutamiento de las células inflamatorias o la activación o liberación de mediadores. Este tratamiento en niños sensibles a ácaros da lugar a un descenso en los mastocitos del cepillado nasal (104, 105). La inmunoterapia con polen de gramíneas en el adulto se asocia con un descenso en el número de mastocitos en el epitelio, incluyendo los mastocitos tanto del «tejido conectivo» (que contienen triptasa y quimasa) como del «mucoso» (que contienen solamente triptasa) (106), así como una reducción en los niveles de histamina y PGD en las secreciones nasales después de la provocación por el alérgeno (107). En pacientes sensibles a ambrosia, la inmunoterapia convencional inhibe, en una forma dosis y tiempo dependiente, la liberación inmediata de los mediadores de mastocitos (108) y el número de eosinófilos en el lavado nasal en respuesta a una provocación al alérgeno (109, 110). La inmunoterapia con polen de abedul inhibe el incremento estacional de la respuesta bronquial a la histamina, y el aumento asociado en el número de eosinófilos y en las concentraciones de proteínas catiónicas de eosinófilos en el lavado bronquioalveolar durante el pico de la estación polínica (iii). Varios estudios muestran un descenso en la capacidad de liberación de histamina por los basófilos, y otro estudio demuestra además, una disminución en la producción de histamina y leucotrieno C4 por los basófilos (solamente en respuesta a la provocación por alérgenos) después de una inmunoterapia con veneno siguiendo una pauta rápida (112).

Parece que los efectos directos de la inmunoterapia sobre las células inflamatorias son más importantes en relación con los cambios rápidos, en particular con los alérgenos «sistémicos» como los venenos. Varios estudios han sugerido que la inmunoterapia puede tener un efecto prolongado que duraría hasta varios años después de la interrupción del tratamiento (113,

114). Es poco probable que esta observación se explique por los cambios celulares que hemos mencionado, teniendo en cuenta la corta vida media de las células inflamatorias.

3.4. Respuesta linfocitaria

La inmunoterapia puede actuar modificando la respuesta del linfocito T ante posteriores estímulos alérgicos naturales. Es lógico que el éxito de la inmunoterapia pueda estar asociado con un cambio en la producción de IL-4/IFN- γ , ya sea como consecuencia de un descenso en las respuestas Th2, o un aumento en las respuestas Th1 (115). Se dispone actualmente de buenos datos que apoyan el que esto pueda ocurrir. Los estudios de las respuestas tardías inducidas por alérgenos en la piel (116) y la nariz (117) indican que la inmunoterapia da lugar a un descenso en el reclutamiento de las células CD4 y una reducción en la eosinofilia local. Tales cambios se acompañan con aumentos en las subpoblaciones de las células CD4 que expresan RNAm de IFN- γ después de la provocación con el alérgeno, mientras que no hay cambios en el número de células que expresan RNAm para IL-4 e IL-5. En el órgano diana, estos incrementos tardíos de células IFN- γ fuera de la estación se correlacionan estrechamente con la respuesta clínica a la inmunoterapia, medida por los síntomas estacionales y los requerimientos de medicación, lo cual sugiere que estas respuestas incrementadas de Th1 pueden ser protectoras, más que eventos simplemente acompañantes (117). Los estudios de biopsias cutáneas tardías sugieren que estas respuestas pueden ser amplificadas/mantenidas por la producción local de IL-12, un potente inductor de la respuesta de Th1, cuyo origen se sitúa en los macrófagos tisulares (células CD68). Hay una asociación recíproca entre células IL-12 e IL-4 y una asociación positiva con las células IFN- γ , lo cual apoya que la respuesta IFN- γ puede ser dirigida por la IL-12 (118). Una explicación alternativa a los aumentos de células IFN- γ puede ser la generación de células T CD8 específicas para el alérgeno (119). Se han observado aumentos en las células T CD8 tisulares (116) después de la inmunoterapia convencional. Los estudios sobre las líneas celulares T (células T policlonales específicas para el alérgeno) y los clones proporcionan un mayor apoyo al cambio en las respuestas de las células T. El descenso en IL-4 y el aumento de IFN- γ después de la inmunoterapia tiene lugar de forma tiempo-dependiente en los pacientes sensibles a la picadura de abeja hasta 8 semanas después siguiendo una pauta rápida (120). Se encontró un descenso en la producción de IL-4 por las líneas celulares T (pero sin cambios en la respuesta proliferativa o en la producción de IFN- γ) en los pacientes sensibles a gramíneas y ácaros después de la inmunoterapia (121). También se observó un aumento de IFN- γ y un descenso de IL-4 en el

sobrenadante de células mononucleares de sangre periférica después de la inmunoterapia con veneno (122).

El mecanismo de este «cambio» es todavía cuestión de debate. Los factores que determinan la respuesta Th1 y/o Th2 incluyen la naturaleza del antígeno (alergeno), la dosis de alergeno (123) y la naturaleza de la célula presentadora del antígeno (alergeno). La presentación de alergenos a baja dosis por las células B o las células dendríticas favorece la respuesta Th2, mientras que el procesamiento y presentación de alergenos a alta dosis por los macrófagos favorece la respuesta Th1, por lo que puede ser importante modificar los adyuvantes y alergenos. Actualmente, se discute sobre si este cambio ocurre como consecuencia de la falta de respuesta inmune específica para el alergeno de las células Th2/ThO «anergia» (124, 125), o se debe a la regulación de una subpoblación distinta de células ThO/Th1 («desviación inmune») (120).

Tal como se ha mencionado anteriormente, los estudios tisulares sugieren que la desviación inmune puede ser más importante. El marcador de superficie CD28 en las células T desciende después de una inducción anérgica. Los estudios sobre la expresión de CD28 por las células mononucleares de sangre periférica después de la inmunoterapia con veneno no han identificado un descenso de este marcador, lo cual vuelve a coincidir con la desviación inmune (126). Sin embargo, un estudio demostró un descenso en la proliferación específica de alergeno (PLA2) y una disminución en la producción de IFN- γ e IL-4 *in vitro* por líneas celulares T después de la inmunoterapia con veneno. Estas respuestas son específicas de alergeno, y reversibles por la adición de IL-2 e IL-15, aportando la primera muestra de «anergia» después de la inmunoterapia en humanos (127). Sin embargo, los mecanismos de la inmunoterapia con veneno en los sujetos no atópicos pueden ser distintos de los mecanismos de la inmunoterapia con alergenos inhalados en pacientes atópicos.

4. Eficacia de la inmunoterapia subcutánea

4.1. Introducción

Los estudios realizados para valorar la eficacia de la inmunoterapia cumplieron los siguientes criterios:

- 1) *Estudio controlado randomizado doble ciego placebo*
- 2) *Estudio publicado en inglés como artículo completo en una revista con Comité de Revisión*
- 3) *Pacientes seleccionados* de acuerdo a criterios clínicos bien definidos y a un diagnóstico específico de alergia.
- 4) *Vacunas alergénicas definidas*. Cuando fue posible, la vacuna estaba estandarizada y la/las dosis o

alergeno mayoritario(s) definidos. Este último requisito no se cumplió en la mayor parte de los estudios realizados antes de 1990. Un estudio determinó que para una inmunoterapia eficaz frente a polen de gramíneas (128) la vacuna debería contener todas las proteínas activas y no solo los alergenos mayoritarios. Sin embargo, para la inmunoterapia con polen de ambrosia, en un estudio (129) se comprobó que la vacuna que contenía el alergeno mayoritario, Amb a 1 era tan eficaz como la que contenía el polen completo. En otro estudio (130) no se pudo constatar este hecho.

5) *Dosis de Mantenimiento óptima*. La inmunoterapia con dosis bajas suele ser ineficaz (131- 133), y las vacunas alergénicas a altas dosis pueden inducir una tasa alta e inaceptable de reacciones sistémicas. Por lo tanto, se han propuesto las dosis óptimas utilizando vacunas etiquetadas o bien en unidades biológicas (134, 135) o bien en cantidad de alergenos mayoritarios(40). La dosis óptima se define como la dosis de vacuna alergénica que induce un efecto clínicamente relevante en la mayoría de los pacientes sin dar lugar a efectos adversos inaceptables (136, 137). La dosis óptima debe ser el objetivo como dosis de mantenimiento para todos los pacientes (134). Se puede utilizar la cuantificación de los alergenos mayoritarios para definir las dosis de alergeno para una inmunoterapia eficaz (tabla 2). Los estudios de inmunoterapia con alergenos de ambrosia, gramíneas, ácaros, gato y veneno, aportan buenas pruebas de que una dosis de mantenimiento de 5-20 ug de alergeno mayoritario por inyección se asocia con una mejoría significativa en la puntuación de síntomas del paciente (25, 108, 136-147). La aparición de efectos adversos sistémicos en algunos pacientes requerirán un ajuste de esta dosis.

6) *Una duración suficiente del tratamiento*. Según algunos estudios, la eficacia de la inmunoterapia está relacionada con la duración del tratamiento (148, 149), aunque la eficacia se demuestra a menudo durante el primer año de tratamiento (51, 150).

7) *Datos publicados de eficacia clínica*.

La inmunoterapia es específica para el antígeno administrado (75, 151), y, antes de comenzar, se requiere una evaluación completa de la alergia. Dado que los alergenos interaccionan con la mucosa nasal, bronquial y ocular, parece apropiado considerar la eficacia de la inmunoterapia por especies de alergenos, más que por una enfermedad alérgica específica.

4.2. Objetivos

4.2.1. Inmunoterapia como tratamiento curativo

El tratamiento de las enfermedades alérgicas combina el tratamiento farmacológico e inmunológico. En muchos pacientes, los fármacos pueden aliviar los síntomas alérgicos sin provocar efectos adversos. Las

Tabla 2. Dosis de alérgeno mayoritario necesarias para alcanzar la eficacia clínica

Origen del Alérgeno	Alérgeno Mayoritario	Referencia	Dosis (pg)
Gato	Fel d 1	Taylor et al.	140
		Ohmanetal.	141
		Sundin et al.	142
		Álvarez-Cuesta et al.	144
Dermatophagoides pteronyssinus	Der p 1	Wahn et al.	138
		Haugarrd et al.	137
		Bousquet et al.	50
		Van Metre et al.	131
Polen de ambrosía	Amb a 1	Van Metre et al.	185
		Creticos et al.	136
		Creticos et al.	145
		Østerballe et al..	128
Polen de gramíneas (Ph/euro)	Phl p 5	Østerballe et al..	128
		Hunt et al..	48
Veneno de avispa	Ves g 5	Müller et al..	147
		Hunt et al..	48
	Api m 1	Müller et al..	147
		Hunt et al..	48
	Dol m 5	Hunt et al..	48
		Dol a 5	Hunt et al..

diferencias entre los tratamientos farmacológico e inmunológico de las enfermedades alérgicas no se limitan a la seguridad y eficacia. Los fármacos proporcionan un tratamiento sintomático, mientras que la evitación del alérgeno y la inmunoterapia son las únicas modalidades terapéuticas que tienen la posibilidad de modificar el curso natural de la enfermedad.

La rinitis perenne y el asma son enfermedades complejas y multifactoriales, en las cuales los factores alérgicos y otros desencadenantes no alérgicos interaccionan y dan lugar a la inflamación crónica. Se ha demostrado el papel de los alérgenos inhalados en la exacerbación de la rinitis y el asma. La inhalación de alérgenos conduce a la inflamación nasal y bronquial, según dos posibles mecanismos (152). La exposición al polen suele ser auto limitada, puesto que varias especies de polen solamente proliferan en determinadas épocas. Las reacciones alérgicas inducidas por polen pueden provocar una hiperreactividad bronquial transitoria e inespecífica y una hiperreactividad nasal que persiste durante unos días o semanas después de una estación polínica determinada. Sin embargo, los ácaros domésticos y otros alérgenos perennes, ante los cuales la exposición es continua, pueden inducir una inflamación persistente y una hiperreactividad no específica en nariz y bronquios. Los pacientes con asma crónico desarrollan unos cambios de las vías aéreas que en algunos pacientes da lugar a una obstrucción irreversible del flujo aéreo (153).

Tales consideraciones sugieren que la inmunoterapia puede ser más rápidamente eficaz en los pacientes que son alérgicos a los alérgenos estacionales que en los alérgicos a alérgenos perennes que presentan una enfermedad persistente. Estos pacientes pueden presentar una anomalía permanente de las vías aéreas que puede no ser reversible mediante la inmunoterapia.

Los objetivos principales en el tratamiento inmunológico son, a corto plazo, reducir las respuestas a

los desencadenantes alérgicos que precipitan los síntomas, y, en ocasiones, disminuir la respuesta inflamatoria e impedir el desarrollo de una enfermedad persistente.

4.2.2. Inmunoterapia como tratamiento preventivo

Hasta el momento actual, la evitación del alérgeno y la inmunoterapia son los únicos tratamientos que modifican el curso de una enfermedad alérgica, ya sea previniendo el desarrollo de nuevas sensibilizaciones (154) o alterando la historia natural de la enfermedad o su progresión (ver capítulo 7).

4.3. Inmunoterapia con veneno de himenópteros

4.3.1. Eficacia

La inmunoterapia con veneno purificado es un tratamiento eficaz en la inmensa mayoría de los pacientes alérgicos al veneno (48, 155-158). Los pacientes sensibilizados a las abejas pueden quedar menos protegidos que los alérgicos a *Vespula* (158, 159).

Se han propuesto distintas pautas terapéuticas con el fin de dar la máxima protección con los mínimos efectos adversos y la conveniencia óptima (5, 147, 160, 161). La dosis de mantenimiento se alcanza en 2-3 horas con pautas ultra-rápidas, y en cuatro o seis semanas con las pautas convencionales. Las pautas ultra-rápidas se suelen tolerar bien (161, 162). Se han comunicado más efectos adversos con la inmunoterapia con el veneno de abejas que con inmunoterapia con veneno de *Vespula* (5, 49, 163). Cuando se alcanza la dosis de mantenimiento, las inyecciones se administran cada uno o dos meses (164).

4.3.2. Duración

La pérdida de la sensibilidad a la prueba cutánea con el veneno, aunque poco frecuente incluso durante la

Tabla 3. Resultado de los estudios controlados doble ciego placebo en la alergia al polen de gramíneas

Referencia	Especies	Nº de Pacientes		Extracto	Pauta	Duración	Puntuación síntomas/medicación	
		A	P				N	B
Bousquet et al.	51 Gramíneas	15		Acuoso, estandarizado	Rápida	1 año	N:	p<0,01
	Gramíneas	16	11	Formald., alergoide	Rápida	1 año	N:	p<0,05
Bousquet et al.	98 Gramíneas	15	10	Formald. alergoide	Cluster	1 año	N:	p<0,005
Bousquet et al.	59 Gramíneas	18		Acuoso, estandarizado	Rápida	1 año	N, 0, B:	p<0,01
	Gramíneas	15	14	Forniald. alergoide	Cluster	1 año	0, B:	0,05<p<0,01
	Gramíneas	13		HMW-alergoide	Cluster	1 año	N, B, 0:	p<0,01
Bousquet et al.	168 Gramíneas	39	18	FIMW-alergoide	Cluster	1 año	N,B:	0,005<p<0,01
Bousquet et al.	107 Gramíneas	16	17	Acuoso, estandarizado	Rápida	1 año	N:	p<0,2
	Varias especies	16	17	Acuoso, estandarizado	Rápida	1 año	N:	NS
DoIz et al.	148 Gramíneas	14	14	Estandarizado-alurn.	Convencional	3 años	N, 0, B:	p<0,001
Frankland&Augustin	169 Gramíneas	50	50	«Pollacine»	Convencional	1 año	N:	p<0,001
		50	50	Antígeno purificado	Convencional	1 año	N:	p<0,001
Grammer et al.	170 Gramíneas	18	18	Polimer. glurard.	Convencional	12 semanas	N:	p<0,02
Grammer et al.	171 Gramíneas	22	22	Polimer. glurard.	Acelerada	9 semanas	N:	p<0,05
Mc Alien et al.	172 Gramíneas	47	23	Allypyral®	Convencional	1 año	N, B:	NS
		40		Depot	Convencional	1 año	N, B:	p=0,05
Machieis et al.	173 Gramíneas	7	8	Complejo Ag-Ab	Convencional	3 meses	N:	NS
Machieis et al.	174 Gramíneas	37	12	Complejo Ag-Ab	Convencional	3 meses	N, B:	p<0,03&p<0,001
Ortolani et al.	175 Gramíneas	8	8	Estandarizado	Convencional	1 año	N	p<0,001
Pastorello et al.	176 Gramíneas	10	9	Alum.-alergoide	Convencional	1 año	N, 0, B:	p<0,01,0,05, 0,05
Starr & Weinstack	177 Gramíneas	42	10	Alum.-piridina	Convencional	1 año	N:	79% mejoraron
Varney et al.	178 Gramíneas	20	20	Estandarizado, alura	Convencional	1 año	N, B:	p<0,01
Weyer et al.	179 Gramíneas	17	16	Acuoso, Al(OH)	Convencional	1 año	N:	Pico de la estación p<0,03

N: Nasal; 0: Ocular; 8: Bronquial; A: Tratamiento activo; P: Tratamiento placebo; HWM: Alto peso molecular; Ag-Ab: Antígeno-Anticuerpo.

inmunoterapia prolongada con veneno, se suele considerar un criterio de seguridad para interrumpir el tratamiento (6, 101, 165). La mayoría de los pacientes continúan protegidos cuando vuelven a ser picados después de interrumpir una inmunoterapia de 3-5 años de duración, a pesar de la persistencia de las pruebas cutáneas positivas al veneno (159, 166). Algunos pacientes, especialmente aquellos con una historia de reacción severa previa a la inmunoterapia, y los que tienen efectos adversos sistémicos por ella, son más propensos a desarrollar reacciones sistémicas ante nuevas picaduras después de interrumpir la inmunoterapia con veneno (6, 101).

4.4. Inmunoterapia con alérgenos inhalados

4.4.1. Inmunoterapia en la alergia al polen

La eficacia de la inmunoterapia al polen viene indicada por el descenso en la sensibilidad de los órganos diana cuando se compara la provocación nasal, bronquial y/o conjuntival con el alérgeno antes y después del tratamiento (para revisiones sobre el tema, véase cita 167).

La eficacia de la inmunoterapia ha sido documentada científicamente en la mayoría de los ensayos doble ciego controlados con placebo en rinitis por gramíneas (51, 59, 98, 107, 168-179) (tabla 3), ambrosía (68, 129, 131, 133, 150, 180—188) (tabla 4), Parietaria (189, 190), cedro de montaña (191), y polen de cocotero (192). Los estudios controlados realizados en niños han confirmado la eficacia de la inmunoterapia en la rinitis alérgica inducida por polen (105, 193). En un estudio, la inmunoterapia

perenne se demostró más eficaz que el tratamiento pre-estacional (194).

La inmunoterapia con vacunas a gramíneas y ambrosia es eficaz para tratar la conjuntivitis alérgica (51, 59, 63, 168).

Otros estudios controlados han investigado la eficacia de la inmunoterapia en el asma polínico (tabla 5). Algunos estudios demostraron que la mejoría del PD después de la provocación bronquial con el alérgeno disminuye en los pacientes tratados con inmunoterapia (172, 175, 195). En los estudios doble ciego controlados con placebo que utilizan vacunas acuosas estandarizadas o alérgoides en formaldehído,

se ha demostrado que la inmunoterapia tiene un efecto beneficioso sobre los síntomas bronquiales y/o disminuye la necesidad de la medicación frente al asma (59, 107, 145, 148, 169, 173, 174, 176, 178, 189, 191, 196-198). Dos estudios no pudieron demostrar su eficacia (199, 200), uno de ellos debido, posiblemente, a que la mayoría de los pacientes también eran alérgicos a hongos (199).

No se han publicado ensayos doble ciego controlados con placebo de inmunoterapia con vacunas de polen de otras especies. Aunque se postula que la inmunoterapia es eficaz con tales vacunas polínicas (3), todavía deben realizarse los estudios adecuados. Se necesitan estudios que comparen la eficacia de la inmunoterapia con el tratamiento farmacológico. Uno de estos estudios (70) comparó la eficacia de un esteroide tópico con la vacuna Pollinex® en el tratamiento de la fiebre de heno por ambrosia, y concluyó que el tratamiento farmacológico era superior en eficacia y seguridad. Sin embargo, este estudio es defectuoso, puesto que no utiliza la pauta

Tabla 4. Resultados de los estudios controlados doble ciego placebo en la rinitis por polen de ambrosía

Referencia	N.º Pacientes		Extracto	Pauta	Protocolo	Dosis	Duración	Puntuación sint./medic.
	A	P						
Arbesman & Reisman	180	19	«Repository» Acuoso	12 inyecciones	Pre-estacional	M: 4.000 PNU	2 años	NS vs placebo mejorado
Cockroft et al.	68	22	Pollinex®	4 inyecciones	Pre-estacional	M: 10.000 PNU M: 4.000 Noon U	2 años	mejoraron
Grammer et al.	181	21	Polimer, glutarald.	Convencional	15 inyecciones	M: 6.250 PNU, C: 50.000 PNU	15 semanas	p<0,02
Hirsch et al.	132	81	Acuoso	Rinkel	Pre y co-estacional	M: 27-41 PNU, 0,1-0,15 µg Ag E	2 años	NS para ambrosía
Lichtenstein et al.	182	24	AgE	Convencional	Pre-estacional	C: 17 - 800 µg	1 año	p<0,01
Lichtenstein et al.	150	18	Ag E	Convencional	Pre-estacional	1,0 mg	1 año	p<0,01
		21	Ag E + K	Convencional	Pre-estacional	1,4 mg	1 año	p<0,01
		19	Ambrosía cruda, acuoso	Convencional	Pre-estacional	C: 8.800 PNU	1 año	p<0,01
Lowell & Franklin	183	12	Acuoso	Convencional	Pre-estacional	no establecida	1 año	p<0,01
Meriney et al.	184	10	Formald. alergoide	Convencional	Pre-estacional	C: 10.710 PNU	20 semanas	p<0,01
Van Metre et al.	131	12	Acuoso	Rinkel	Pre y co-estacional	C: 94 ng Ag E	3 meses	NS
Van Metre et al.	185	15	Acuoso	Convencional	Pre y co-estacional	C: 70 µg Ag E	1 año	p<0,01
		18	Acuoso	Cluster	Pre y co-estacional	C: 17,5 µg Ag E	1 año	p<0,01
Norman et al.	129	21	Acuoso	Convencional	Pre-estacional	C: 9.483 PNU/año	4 años	Años 3 y 4; p<0,02
		21	Ag E	Convencional	Pre-estacional	C: 195.530 PNU/año	4 años	Años 3 y 4; p<0,04
Norman & Lichtenstein	187	20	Aluminio	Convencional	Pre-estacional	C: 13.746 PNU (año 1)	3 años	p<0,006
Norman et al.	188	22	Formald. alergoide	Cluster	Pre-estacional	C: 63.600 PNU (año 1)	2 años	p<0,01
		22	Acuoso	Convencional	Pre-estacional	C: 2.000 PNU (año 1)	2 años	p<0,01

M: Dosis máxima; C: Dosis acumulada; P: Tratamiento placebo; A: Tratamiento activo.

completa de inmunoterapia, y la vacuna Pollinex® no es muy eficaz en el tratamiento de la alergia al polen de ambrosía (68).

Pacientes polisensibilizados. La respuesta de anticuerpos IgE a los alérgenos ambientales es muy heterogénea. Por ejemplo, los pacientes alérgicos solamente al polen de gramíneas difieren tanto clínica como inmunológicamente (201, 202) de los pacientes alérgicos a múltiples especies polínicas. Un estudio doble ciego controlado con placebo, que comparaba la eficacia de la inmunoterapia en pacientes alérgicos a gramíneas o a múltiples especies polínicas, indicó que los pacientes alérgicos al polen de gramíneas mejoraban significativamente con inmunoterapia, pero no así los pacientes polisensibilizados (107). En la práctica clínica, la mayoría de los pacientes reciben inmunoterapia con alérgenos múltiples. Se debe estudiar este tema con más detalle.

Los pacientes sensibilizados a ciertas especies polínicas presentan a menudo un síndrome de alergia oral debido a epitopos de reactividad cruzada con frutas y vegetales crudos (203-207). En teoría, la inmunoterapia con polen de abedul o de otras especies puede disminuir los síntomas de estas alergias a alimentos. No se han realizado estudios doble ciego controlados con placebo. Se han publicado dos ensayos, pero el número de casos era pequeño y la eficacia no se demostró (208), excepto en una publicación a propósito de un caso (209).

4.4.2. Inmunoterapia para la alergia por ácaros domésticos

La inmunoterapia con vacunas de ácaros es más eficaz que las vacunas de polvo doméstico (210), que no se deberían utilizar.

En la mayoría de los estudios, aunque no todos, realizados con provocación bronquial con vacunas frente a ácaros domésticos (*Dermatophagoides pteronyssinus* y/o *farinae*), la dosis umbral que da lugar a una obstrucción bronquial inmediata aumentó después de la inmunoterapia, inhibiéndose la respuesta tardía (50, 54, 138, 149, 211-215). Estos estudios sugieren que la inmunoterapia es eficaz y puede disminuir la inflamación, puesto que disminuye la fase de respuesta tardía.

Se demostró en algunos estudios que la inmunoterapia reduce los síntomas y/o la necesidad de medicación para el asma, especialmente en los niños (54, 212, 216-212), pero en otros estudios los resultados no fueron concluyentes (222-224) (tabla 6). Un solo estudio examinó el efecto de la inmunoterapia como vacuna frente a ácaros de almacenamiento (*Leptidoglyphus destructor*), demostrando se que era clínicamente eficaz (225).

Un gran estudio controlado investigó cual es el grupo de candidatos más adecuados para recibir inmunoterapia con ácaros (226). Se incluyeron 215 pacientes, seguidos durante un año con puntuaciones de síntomas y medicación y valoración de la función

Tabla 5. Estudios controlados doble ciego placebo en el asma por pólenes*

Referencia	Especies	N.º de Pacientes		Extracto	Duración	Puntuación síntomas / medicación	
		A	P				
Armentia-Medina et al.	196	Cynodon	19	11	Estandarizados	1 año	p<0,001
Bousquet et al.	59	Gramíneas	18		Estandarizados	1 año	p<0,01
		Gramíneas	15	14	Formald. alergoide	1 año	p<0,01
		Gramíneas	13		HMW-alergoide	1 año	p<0,01
Bousquet et al.	168	Gramíneas	39	18	HMW-alergoide	1 año	p<0,01
Creticos et al.	145	Ambrosia	40	37	Estandarizados	1 - 2 años	D: NS a p<0,01
Dolz et al.	148	Gramíneas	14	14	Estandarizados-alum.	3 años	p<0,001
Frankland & Augustin	169	Gramíneas	50	50	«Pollacine»	1 año	p<0,001
			50	50	Alergeno purificado		p<0,001
			11	9	Acuoso	2 años	NS
Mc Allen	172	Gramíneas	47	23	Allpyral®	1 año	NS
			40		Depot	1 año	p=0,05
Machiels et al.	173	Gramíneas	18	18	Complejos Der p-inmune	1 año	p<0,001**
Machiels et al.	174	Gramíneas	12	37	Complejos Der p-inmune	1 año	p=0,002
Ortolani et al.	175	Gramíneas	8	7	Estandarizados	1 año	p<0,01
Pastorello et al.	176	Gramíneas	10	9	Alergoide	1 año	p<0,05
Varney et al.	178	Gramíneas	20	20	Estandarizados, alum.	1 año	mejoría

HMW: Alto peso molecular; D: Puntuación de medicación; a: Tratamiento activo; P: Tratamiento placebo Der p: *Dermatophagoides pteronyssinus*.

* No todos los estudios fueron específicamente diseñados para valorar el asma por polen, pero en ellos se han evaluado los síntomas bronquiales.

** Primer período de la estación polínica.

pulmonar. Los pacientes que tenían otras alergias perennes, o intolerancia a la aspirina, y/o sinusitis crónica, no mejoraron. Entre los pacientes alérgicos solamente al *Dermatophagoides pteronyssinus*, los niños presentaron una mejoría significativamente mayor que los adultos. Los pacientes con limitación irreversible del flujo aéreo (VEMS por debajo del 70% del valor esperado después de un tratamiento farmacológico adecuado) no se beneficiaron de la inmunoterapia.

Los estudios doble ciego controlados con placebo realizados con vacunas de ácaros domésticos mostraron que la inmunoterapia fue eficaz al aliviar los síntomas de la rinitis alérgica perenne (55, 61, 216-218, 227-230) (tabla 7).

4.4.3. Inmunoterapia para alergia a proteínas animales

Varios estudios han demostrado una mejoría significativa en la sensibilidad bronquial en pacientes con, asma por alergia a gato después de una inmunoterapia con vacuna de gato (52, 140-144, 231-238) (tabla 8). Tres estudios han confirmado la eficacia clínica de la inmunoterapia frente a gato, mostrando una mejoría de los síntomas (141, 143, 144) y una menor necesidad de medicación (144) en pacientes que mantuvieron su animal en casa.

Tabla 6. Estudios controlados doble ciego placebo en el asma por ácaros

Referencia	N.º de Pacientes			Alergeno	Extracto	Duración	Síntomas	BPT
	A	P						
Bousquet et al.	50	20	10	Der p	Estandarizado acuoso, rápida	7 semanas		p<0,01, epr y lpr
D'Souza et al.	216	46	45	Der p	Acuoso	1 año	p=0,02	mejoró
Franco et al.	219	24	25	Der p	Alum. - estandarizado	15 meses	NS?	
Gaddie et al.	222	20	25	Der p	Adsorbido en tirosina	1 año	NS	
Machiels et al.	212	24	11	Der p	Complejos Der p-inmunes	1 año	p<0,001	p<0,05
Marques & Amara-Avila	218	16	12	Der p	Adsorbido en tirosina	1 año	mejoró	
Newton et al.	224	7	7	Der f	Alum. - precipitado	15 meses	NS	p<0,005
Olsen et al.	220	17	6	Der p o Der f	Alum. - precipitado	1 año	p<0,01	p<0,05
							ICS: p<0,05	
Pguli et al.	223			Der p	Adsorbido en tirosina	1 año	NS	
Pichler et al.	221	16	14	Der p + Der f	Alum. - estandarizado	1 año	p<0,01*	metacolina: p<0,005
Van Baver & Stevens	213	9	9	Der p	Estandarizado acuoso, semi-rápida	1 año		epr: p<0,4; lpr: p<0,02
Warner et al.	54	27	24	Der p	Adsorbido en tirosina	1 año	p<0,01	mejoró, lpr

Der p: *Dermatophagoides pteronyssinus*; Der f: *Dermatophagoides farinae*; epr: Respuesta inmediata; lpr: Respuesta tardía; BPT: Prueba de provocación bronquial específica; ICS: Corticosteroides inhalados; A: Tratamiento activo; P: Tratamiento placebo.

* Valor de P (Intragrupo).

Tabla 7. Resultados de los estudios controlados doble ciego placebo en la rinitis por ácaros

Referencia	N.º de Pacientes		Extracto	Duración	Puntuación		
	A	P			Síntomas / Medicación	Provocación Nasal	
Blainey et al.	55	17	18	Adsorbido en tirosina	14 meses	?	mejoró
Corrado et. al.	61	33	33	Conjuvac®	2 años	p<0,001	p<0,01
D'Souza et al.	216	48	48	Acuoso	12 inyecciones	mejoró para A + N+	p<0,025
Ewan et al.	228	16	19	Alum. - estandarizado	3 meses	p<0,01	p<0,05
Gabriel et al.	217	33	33	Acuoso	1 año	mejoró	NS
Mc Hugh et al.	227	30	30	Alum. - estandarizado	1 año	NS (3 meses)	p<0,05** (3 meses)
			20	Alum. - piridina (AP)	NS (3 y 12 meses)	p<0,01 (12 meses)	NS (12 meses)
Pichle et al.	221	16	14	Alum. - estandarizado	1 año	p<0,05*** (12 meses)	
						p<0,006\$, p<0,04\$\$	

A: Tratamiento activo; P: Tratamiento placebo; M: Dosis máxima.

* A: Asma; N: Síntomas nasales.

** Diferencias estadísticas con respecto al momento basal y a placebo.

*** Diferencias estadísticas respecto al momento basal.

Valor de p: \$: Intragrupo, \$\$: Intergrupo.

Tabla 8. Estudios controlados doble ciego placebo en el asma por epitelio de animales

Referencia	N.º de Pacientes		Alergeno	Extracto	Duración del tratamiento	Síntomas	Provocación bronquial		
	A	P					Específica	Inespecífica	
Taylor et al.	140	5	5	Gato	Estandarizado?	3 - 4 meses		x10	
Alvarez-Cuesta et al.	144	14	14	Gato	Estandarizado, acuoso	12 meses	p<0,001	x3,4±2,5	NS
Hauggaard & Dahl	143	15	9	Gato, perro	Alum. - estandarizado	12 meses	Gato: mejoró	x4,5	mejoró
						Perro: NS	NS	NS	
Ohman et al.	141	9	8	Gato	Estandarizado, acuoso	4 meses		x1,4	NS
Sundin et al.	142	15	17	Gato, perro	Estandarizado, alum.	12 meses	Gato: mejoró	Gato: x11	mejoró
		7				Perro: mejoró	Perro: x5	NS	
Valovirta et al.	236	15	12	Perro	Alum. - estandarizado	12 meses		NS	
Van-Metre et al.	238	9	13	Gato	Estandarizado	12 meses		x2,8	NS

A: Tratamiento activo; P: Tratamiento placebo; NS: No significativo.

4.4.4. Inmunoterapia para la alergia a hongos

Los alérgenos de hongos provocan frecuentemente rinitis y asma, y, a menudo, la alergia a este tipo de organismos es múltiple. La calidad de las vacunas a hongos disponibles en el pasado era frecuentemente baja (239). Sin embargo, la inmunoterapia con vacunas estandarizadas de *Cladosporium* y *Alternaria* fue eficaz en rinitis y/o asma en tres estudios (240-242).

4.4.5. Inmunoterapia con otras vacunas

La eficacia de la inmunoterapia con vacunas al polvo doméstico es dudosa, y su caracterización es mala. Los estudios doble ciego controlados con placebo de inmunoterapia con vacunas bacterianas para el tratamiento de rinitis y/o asma no demostraron eficacia (para revisión sobre el tema, ver 243). No hay estudios sobre inmunoterapia con *Candida albicans* y *Trichophyton* y su caracterización también suele ser deficiente.

4.5. Meta-análisis de la eficacia de la inmunoterapia en asma

Se realizó un meta-análisis de los ensayos clínicos de la inmunoterapia con alérgenos, para valorar la eficacia de esta forma de tratamiento en el asma (244). Una búsqueda bibliográfica computarizada encontró 20 estudios randomizados doble ciego controlados con placebo sobre inmunoterapia con alérgenos para el tratamiento del asma.

Los criterios analizados incluían síntomas asmáticos, necesidad de medicación y medición de la función pulmonar, así como hiperreactividad bronquial. Los resultados categóricos se expresaron como odds ratio (razón de tasas) y los resultados continuos como tamaño del efecto. La odds ratio (razón de tasas) combinada de la mejoría de los síntomas por la inmunoterapia con cualquier alérgeno fue de 3,2 (intervalo de confianza, IC, del 95% 2,2 - 4,9). La odds ratio de reducción de la medicación después de inmunoterapia por ácaros fue de 4,2 (IC 95% 2,2 - 7,9). La odds ratio combinada de la reducción de la hiperreactividad bronquial inespecífica fue de 6,8 (IC 95% 3,8 - 12,0). El tamaño del efecto medio para cualquier inmunoterapia con alérgenos sobre todos los resultados continuos fue 0,71 (IC 95% 0,43 - 1,00), lo cual

podría corresponderse con una mejoría media del 7,1% sobre el VEMS (FEV tras la inmunoterapia. Aunque se puede haber sobrestimado los beneficios de la inmunoterapia con alérgenos, debido a los estudios negativos no publicados, se necesitaría 33 estudios negativos para cambiar estos resultados.

4.6. Inmunoterapia con vacunas de mezclas de alérgenos en niños no seleccionados con asma alérgica

Se ha publicado un estudio doble ciego controlado con placebo sobre la inmunoterapia como tratamiento de asma leve a severo en una población de niños alérgicos no seleccionados (245). Los niños fueron supervisados estrechamente, administrándose la medicación óptima para ellos. Los resultados demostraron que no había diferencias significativas entre el grupo placebo y el grupo de tratamiento activo. Sin embargo, hay varios factores que podrían haber conducido a estos resultados negativos. Los sujetos asmáticos moderadamente severos que reciben un tratamiento óptimo pueden no demostrar un beneficio adicional por la inmunoterapia.

4.7. Eficacia a largo plazo de la inmunoterapia

Los estudios iniciales sobre el tratamiento de la rinitis alérgica no demostraron que se prolongase la eficacia de la inmunoterapia después de interrumpir el tratamiento (129, 183). Los resultados de los estudios más recientes demuestran que el efecto de la inmunoterapia en la alergia por polen de gramíneas (114, 246), árboles (247) o ambrosia (248,249) dura varios años después de la interrupción del tratamiento. Estas diferencias se pueden deber a las mayores dosis de vacuina

administradas en los estudios más recientes. Cuando aparecen recaídas, la memoria inmunológica persiste y estos pacientes pueden ser buenos respondedores a un nuevo régimen de inmunoterapia (250).

En un estudio doble ciego controlado con placebo de niños sensibles a ácaros, la mayoría de los niños que recibieron tratamiento con placebo después de un año de tratamiento activo, recidivaron en pocos meses; mientras que los que recibieron tratamiento activo presentaron un efecto de la inmunoterapia más persistente (251). Utilizando inmunoterapia con vacuna estandarizada de ácaros del polvo doméstico administrada entre uno y 6 años, se encontró que la inmunoterapia fue más eficaz una vez interrumpida si se había administrado durante al menos tres años (113). En este estudio, el efecto de la inmunoterapia sobre la reducción de la prueba cutánea a punto final al terminar el tratamiento se correlacionó con la duración de la eficacia después de interrumpir la inmunoterapia.

Se valoró la eficacia, tras un ciclo de 3 años de inmunoterapia con epitelios de animales, 5 años después de que fuese interrumpida. Un tercio de los sujetos continuaba con una mayor tolerancia ante la exposición a gatos (252).

4.8. Cumplimiento de la inmunoterapia

El cumplimiento de cualquier tratamiento administrado en casos de asma o rinitis es frecuentemente bajo (253-260); e impiden la eficacia del tratamiento. Se deben realizar los máximos esfuerzos para educar a los pacientes con el fin de mejorar el cumplimiento.

Tabla 9. Graduación de las reacciones sistémicas (por Mailing y Weeke [4D

1) Reacciones no específicas Reacciones probablemente no mediadas por IgE: por ejemplo. malestar. cefaleas. artralgia. etc.
2) Reacciones sistémicas leves Rinitis y/o asma leves (PEFR por encima del 60% del valor esperado o del mejor valor obtenido) que responden adecuadamente a los antihistamínicos Dosis ~agonistas inhalados
3) Reacciones sistémicas que no amenazan la vida Urticaria. angioedema o asma severo (PEFR por debajo del 60% del valor esperado o del mejor valor obtenido) que responden bien al tratamiento
4) Shock anafiláctico Reacción de instauración rápida con enrojecimiento. picor. eritema. obstrucción bronquial. etc. que requiere tratamiento intensivo

5. Seguridad de la inmunoterapia

5.1. Introducción

Hay varios tipos de reacciones alérgicas, tanto sistémicas como locales, que ocurren con la inmunoterapia con alérgenos.

Las reacciones locales ocurren en la zona de inyección. Se pueden dividir entre reacciones que ocurren entre los 20 a 30 minutos y las que ocurren pasados 30 minutos de la administración de la inyección. Las reacciones locales pueden provocar un malestar en el paciente, por lo que será necesario ajustar la dosis de la vacuna cuando tengan lugar tales reacciones.

Los nódulos subcutáneos que aparecen en la zona de inyección, son más comunes con las vacunas adsorbidas en aluminio (261). Pueden persistir, pero normalmente desaparecen y no necesitan de un ajuste de la dosis. Se deben utilizar los preparados libres de aluminio en los pacientes que suelen desarrollar estos nódulos de forma persistente (262).

Las reacciones sistémicas son reacciones que se caracterizan por signos y/o síntomas generalizados que ocurren lejos de la zona de inyección. Tales reacciones generalmente comienzan a los pocos minutos después de la inyección, y más raramente después de los 30 minutos. La EAACI ha propuesto la clasificación de la severidad de reacciones sistémicas en su Artículo de Opinión sobre inmunoterapia (tabla 9) (4). Está indicada la reevaluación del programa de inmunoterapia con los pacientes cuando han ocurrido reacciones sistémicas.

Aunque se publican algunos casos esporádicos de enfermedades inmunológicas asociadas con inmunoterapia (263, 264), los distintos ensayos prospectivos no han confirmado esta secuela.

5.2. Factores de riesgo basados en reacciones sistémicas no mortales

Se han revisado 38 artículos publicados sobre el momento de inicio de las reacciones sistémicas no mortales (265), y la mayoría de las reacciones han ocurrido dentro de los 15 a 20 primeros minutos, independientemente de la pauta utilizada. La mayoría de las reacciones sistémicas fueron leves y se trataron con éxito utilizando medidas convencionales.

En dos de los 38 estudios revisados, el momento de inicio de la reacción sistémica se correlacionó con la severidad de la reacción. Sin embargo, algunas reacciones sistémicas comenzaron entre 30 y 60 minutos después de la inyección de la vacuna (266). El asma parece ser un factor de riesgo significativo de aparición de reacciones sistémicas (267, 268). El asma no controlado, o un VEMS (FEV1) menor

del 70% de los valores esperados, son factores de riesgo para desarrollar una reacción bronquial (145, 269). Además, los pacientes con asma tienden a presentar reacciones bronquiales más severas que los no asmáticos.

Las grandes reacciones locales no predicen el inicio de una reacción sistémica posterior (279). En un estudio sobre 2989 reacciones sistémicas, la mayoría tuvo lugar en ausencia de una reacción local grande previa (265).

Los fármacos pueden prevenir o potenciar las reacciones sistémicas. Se sabe que los 13 bloqueantes potencian las reacciones sistémicas e interfieren con el tratamiento. Por otro lado, dos publicaciones independientes han descrito una menor incidencia de reacciones sistémicas cuando los pacientes recibieron premedicación con una combinación de metilprednisolona, ketotifeno (que no está disponible en EE.UU. y algunos otros países), y una teofilina de larga duración (268, 271). Otros estudios sugieren la importancia de la premedicación, para reducir las reacciones sistémicas (272). Se ha demostrado que los bloqueantes antes HI también reducen la tasa de las reacciones sistémicas (273-275).

El uso de vacunas estandarizadas potentes a altas dosis con alérgenos inhalados (5, 228, 268, 271, 276, 277) o con inmunoterapia rápida con veneno (5, 49, 160, 278-282) o alérgenos inhalados (283), se pueden asociar con un mayor riesgo de reacción sistémica.

En un estudio prospectivo de la AAAAI sobre los efectos adversos de la inmunoterapia con veneno, se siguió la evolución de 1410 pacientes (278). El 92% de los pacientes tratados alcanzaron la dosis de mantenimiento y el 12% presentó reacciones sistémicas.

La incidencia de prurito y angioedema/urticaria fue similar ya fueran las reacciones sistémicas leves, moderadas o severas. La severidad de la reacción sistémica no se correlacionó ni con la severidad de la reacción sistémica a la última picadura, ni con la reacción sistémica a la picadura históricamente más severa, ni con la reacción sistémica más severa durante las pruebas cutáneas con veneno de picaduras, ni con la dosis total del veneno, ni con el grado de reactividad de la prueba cutánea ni con la concentración más baja que da lugar a pruebas cutáneas positivas. La mayoría de las reacciones sistémicas ocurrieron con dosis entre 1 y 50 ug y durante la fase de mantenimiento. Los venenos de abeja o avispas *Polistes* son los que con más probabilidad causan reacciones sistémicas.

Otros factores identificados que pueden aumentar la probabilidad de una reacción sistémica son una técnica incorrecta de administración y una dosis errónea.

5.3. Factores de riesgo basados en reacciones mortales

En 1986, el Comité Británico sobre Seguridad del Medicamento comunicó 26 muertes asociadas con inmunoterapia desde 1957, cinco de las cuales habían tenido lugar en los últimos 18 meses (284). Este informe resaltó la importancia de las muertes debidas aun episodio agudo de asma.

El año siguiente, se publicó el análisis completo del estudio de la AAAAI, que incluía 46 muertes desde 1945 hasta 1984, 30 de las cuales tenían suficientes datos para su análisis (285). Seis de estas 30 muertes se asociaron con pruebas cutáneas, y 24 con inmunoterapia. La edad media de los sujetos fue de 33 años (rango, 7 a 70 años). Los factores de riesgo de reacción mortal incluyen sujetos con asma que sufren un brote agudo o una exacerbación estacional, pacientes con grados más altos de sensibilidad, y pacientes tratados con [3 bloqueantes antes. Quince de estos 24 casos fatales asociados con inmunoterapia, iniciaron los síntomas en los 20 minutos después de la inyección. En tres casos, el inicio de los síntomas se produjo a los 30 minutos, y en dos casos, pasados los 30 minutos. Un informe posterior (286) citó 17 casos mortales asociados con inmunoterapia entre los años 1985 y 1989. El 65% de estos pacientes recibían tratamiento de iniciación. Otros factores que se asociaron con muertes en ambas publicaciones incluyen cambios aun nuevo vial de vacuna no estandarizada, error en la dosificación o un ajuste de dosis inapropiado, no esperar después de la inyección e inyecciones en el propio domicilio. El inicio de la anafilaxia fue antes de 20 minutos en 11 casos, entre 20 y 30 minutos en uno, y pasado los 30 minutos en otro caso. En ambas publicaciones, la causa de la muerte se asoció con un compromiso respiratorio en la mayoría de los pacientes, reforzando la necesidad de tomar precauciones especiales a la hora de tratar pacientes de alto riesgo con asma. Se han publicado algunos otros casos (287-289), y los datos fueron similares a las publicaciones previas.

5.4. Factores de riesgo en inmunoterapia

De acuerdo con todo lo mencionado, es importante que se preste una atención estricta a los factores de riesgo y que se inicien técnicas de manejo después de la inmunoterapia, para disminuir tales riesgos. Se han sugerido normas (4, 256, 285, 290) que enfatizan la formación de todo el personal implicado, así como su tratamiento de las reacciones sistémicas, mientras que se anima al desarrollo y uso de las vacunas estandarizadas. Se han identificado ciertos factores de riesgo en la inmunoterapia, entre los que se incluyen:

1) Errores en la dosis

- 2) Presencia de asma sintomático
- 3) Alto grado de hiper-ensibilidad (mediante pruebas cutáneas o medición de IgE específica)
- 4) Uso de B bloqueantes
- 5) Inyecciones de viales nuevos
- 6) Inyecciones realizadas durante estación de exacerbación de los síntomas

5.5. Precauciones en inmunoterapia

El porcentaje de sujetos que experimentan una reacción sistémica en inmunoterapia es pequeño, pero parece aumentar a medida que se acelera la pauta de inmunoterapia y se utilizan regímenes de altas dosis en pacientes muy sensibles.

La fase de mantenimiento parece asociarse con menos reacciones sistémicas que el periodo de incremento de dosis en las pautas rápidas y aceleradas.

Aunque se ha demostrado convincentemente que la premedicación con antihistamínicos disminuye la prevalencia de efectos adversos sistémicos, su uso no debe reducir la necesidad del periodo de espera después de la inyección, y algunos investigadores les preocupa el que su uso pueda enmascarar la aparición de reacciones sistémicas.

El periodo de espera de 20 minutos, tal como recomienda la AAAAI, es adecuado en inmunoterapia convencional (291). La EAACI recomienda un periodo de espera de 30 minutos (4). Sin embargo, se puede necesitar un periodo de espera más prolongado en los sujetos de alto riesgo, o en ciertas situaciones como:

- 1) Inmunoterapia rápida
- 2) Asma inestable. Se requiere el control del asma con fármacos antes de cada inyección.
- 3) Alto grado de hipersensibilidad
- 4) B bloqueantes

5.6. Equipamiento recomendado para las instalaciones cuando se administra inmunoterapia con alérgenos

Se debe tener disponible el siguiente material y reactivos (292):

- 1) Estetoscopio y esfigmomanómetro
- 2) Compresores, jeringas, agujas hipodérmicas y agujas de gran calibre (calibre 14)
- 3) Adrenalina acuosa HCl 1:1000 (4,292, 293)
- 4) Equipo para administración de oxígeno
- 5) Equipo para administración de líquidos intravenosos
- 6) Vía aérea oral
- 7) Antihistamínicos inyectables
- 8) Corticosteroides para inyección intravenosa, y
- 9) Vasopresores.

El uso correcto de este equipo y reactivos por el personal adecuadamente entrenado debería proporcionar un tratamiento inicial eficaz en la mayoría, si no en todas, de las reacciones sistémicas provocadas por las vacunas alérgicas. El rápido reconocimiento de las reacciones sistémicas y el uso inmediato de adrenalina son los pilares básicos del tratamiento.

Hay varios procedimientos invasivos que sólo raramente serán necesarios para el tratamiento de las reacciones sistémicas. Entre ellos, se incluyen:

- 1) Laringoscopia directa
- 2) Cardioversión (descarga eléctrica)
- 3) Traqueotomía
- 4) Inyección intracardiaca de fármacos

Las escasas situaciones en que estos procedimientos pudieran ser esenciales no justifica el riesgo de su realización en circunstancias que no sean las ideales; por lo tanto, no es ni necesario ni práctico insistir en que estos métodos estén disponibles inmediatamente para el personal que utiliza vacunas alérgicas (294).

5.7. Conclusión

Cada año, se administran varios millones de inyecciones de inmunoterapia. El riesgo de una reacción sistémica fatal durante la inmunoterapia es extremadamente bajo. Sin embargo, cualquier reacción sistémica es inaceptable, y los médicos que prescriben y/o administran tal tratamiento deben ser conscientes de estos riesgos, instituyendo las medidas adecuadas para minimizarlas. Puede ser necesario volver a valorar la «dosis óptima» ajustándola en las vacunas estandarizadas de mayor potencia.

Con ello, se mejorará la seguridad global de la inmunoterapia, limitando la incidencia de reacciones sistémicas, mientras se obtienen unos resultados terapéuticos más predecibles.

11. Futuras necesidades en investigación clínica

Se necesitan estudios futuros sobre inmunoterapia en las siguientes áreas:

- 1) Coste-eficacia.
- 2) Calidad de vida y satisfacción del paciente.
- 3) Comparación con el tratamiento farmacológico.
- 4) Estudios «*de efecto añadido*», por ejemplo, efecto de la inmunoterapia añadida al tratamiento farmacológico tópico.
- 5) Duración óptima
- 6) Reducción en la severidad del asma en términos de ingresos hospitalarios y visitas a urgencias.
- 7) Descenso en la incidencia de asma en pacientes afectados por rinitis alérgicas y sin asma
- 8) Alteración del curso natural de la rinoconjuntivitis alérgica y/o el asma.
- 9) Descenso de las secuelas a largo plazo que se asocian con la rinitis y/o asma alérgicos.
- 10) Efectos a largo plazo tras la interrupción del tratamiento.
- 11) Eficacia y seguridad en alergias a animales (perro, caballo)
- 12) Eficacia y seguridad en alergias ocupacional (p. ej.: alergia a animales de laboratorio)
- 13) Eficacia y seguridad en los niños menores de 5 años.

Bibliografía

1. Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet* 1911 ;i:1572-3.
2. The current status of allergen immunotherapy (hyposensitisation). Report of a WHO/IUIS working group. *Allergy* 1989;44:369-79.
3. Current status of allergen immunotherapy. Shortened version of a World Health Organisation/International Union of Immunological Societies Working Group Report. *Lancet* 1989;1:259-61.
4. Malling H, Weeke B. Immunotherapy. Position Paper of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 1993;48, suppl14:9-35.
5. Bousquet I, Müller UR, Dreborg S, et al. Immunotherapy with Hymenoptera venoms. Position paper of the Working Group on Immunotherapy of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Allergy* 1987;42:401-13.
6. Müller U, Mosbech H. Position Paper: Immunotherapy with Hymenoptera venoms. *Allergy* 1993;48, suppl 14:37-46.
7. International Consensus Report on Diagnosis and Management of Asthma. International Asthma Management Project. *Allergy* 1992;47:1-61.
8. Global strategy for asthma management and prevention WHO/NHLBI workshop report; In: National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute, Publication Number 95-3659, 1995.
9. International Consensus Report on the Diagnosis and Management of Rhinitis. *Allergy* 1994;49, suppl 19:1-33.
10. Frew AJ. Injection immunotherapy. British Society for Allergy and Clinical Immunology. Working Party. *Bmj* 1993;307:919-23.
11. Nicklas R, Bernstein I, Blessing-Moore J, et al. Practice parameters for allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1996;6:1001-11.
12. Biological products: Allergenic extracts: Implementation of efficacy review. Federal Register, Food and Drug Administration 1985;21 CRF Parts 600.610 and 680 (Docket N° 81N-0096).
13. Allergen products (Producta allergenica). *European Pharmacopeia* 1997;1063-8.
14. Dreborg S, Frew A. Allergen standardization and skin tests. EAACI Position Paper. *Allergy* 1993;48, suppl 14.
15. The use of standardized allergen extracts. Position Statement. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology (AAAAA). *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:583-6.
16. The rules governing medicinal products in the European Community, Vol III. Note for guidance on Allergen Products. CPMP/BWP/243/96. 1991.
17. Lowenstein H. Report on behalf of the International Union of Immunological Societies (I.U.I.S.) Allergen Standardization Subcommittee. Arb Paul Ehrlich Inst Georg Speyer Haus Ferdinand Blum Inst Frankf A M 1983;78:41-8.
18. Nordic Council on Medicines. Registration of allergen preparations. 2nd edition, Nordiska Läkemedelsnämnden. NLN Publication No 23, Uppsala 1989.
19. Lowenstein H. Report on behalf of the International Union of Immunological Societies (I.U.I.S.) Allergen Standardization Subcommittee. Arb Paul Ehrlich Inst Georg Speyer Haus Ferdinand Blum Inst Frankf A M 1983;78:41-8.
20. Gjesing B, Jager L, Marsh DG, Lowenstein H. The international collaborative study establishing the first international standard for timothy (*Phleum pratense*) grass pollen allergenic extract. *J Allergy Clin Immunol*. 1985;75:258-67.
21. Larsen JN, Ford A, Gjesing B, et al. The collaborative study of the international standard of dog. *Canis domesticus*, hair/dander extract. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:318-30.
22. Helm RM, Gauerke MB, Baer H, et al. Production and testing of an international reference standard of short ragweed pollen extract. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:790-800.
23. Helm RM, Squillace SL, Aukrust L, et al. Production of an international reference standard *Alternaria* extract. I. Testing of candidate extracts. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987;82:178-89.
24. Platts-Mills TA, Chapman MD. Allergen standardization. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:621-5.
25. Norman PS. WHO-IUIS International Standards: advantages of these extracts. Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frankf A M 1994;87:59-64.
26. Mohapatra SS. Recombinant allergens and allergen standardization. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:921-2.
27. Kraft D, Sehon A. *Molecular Biology and Immunology of Allergens*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1992.
28. Bousquet J. Clinical use of recombinant allergens and epitopes. Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt. Sera Impfstoffe Frankf A M 1994;87:257-62.
29. Turkeltaub PC, Rastogi SC, Baer H, Anderson MC, Norman PS. A standardized quantitative skin-test assay of allergen potency and stability: studies on the allergen dose-response curve and effect of wheal, erythema, and patient selection on assay results. *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:343-52.

30. Bousquet J, Guerin B, Michel FB. Units of allergen extracts. *Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frank A M* 1992;85:105-16.
31. Gleich G, Larson J, Jones R, Baer H. Measurement of the potency of allergen extracts by their inhibitory capacities in the radioallergosorbent test. *J Allergy Clin Allergol* 1974;53:158-69.
32. Maasch HJ, Wihl JA, Schultze-Werninghaus G, Geissler W, Wahl R. A manufacturer's criteria for in-house reference preparations for RAST inhibition. *Ann Allergy* 1987;59:29-33.
33. Liu DT. Regulation of allergenic products in the U.S.A.: CBER initiatives. *Arb Paul Ehrlich Inst. Bundesamt Sera Impfstoffe Frankf A M* 1994;87:8-12.
34. Bousquet J, Michel F. Standardization of allergens. In: Spector S, ed. *Provocation testing in clinical practice*. NY: Marcel Dekker, 1994:15-50.
35. Scheiner O, Kraft D. Basic and practical aspects of recombinant allergens. *Allergy* 1995;50:384-92.
36. Chapman M. Monoclonal antibody immunoassays: quantitative methods for allergen standardization. *Arb Paul Ehrlich Inst. Bundesamt Sera Impfstoffe Frankf A M* 1994;87:120-4.
37. van-Ree R. Analytical aspects of standardization of allergenic extracts. *Allergy* 1997;52:795-806.
38. Allergen nomenclature. WHO/IUS Allergen Nomenclature Subcommittee World Health Organization, Geneva. Switzerland. *Clin Exp Allergy* 1995;25:27-37.
39. King TP, Hoffman D, Liliwstein H, Marsh DG, PlattsMills TA, Thomas W. Allergen nomenclature. *Allergy* 1995;50:765-74.
40. Carreira J, Lombardero M, Ventas P. New developments in in vitro methods. Quantification of clinically relevant allergens in mass units. *Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frank A M* 1994;87:155-64.
41. Dreborg S, Einarsson R. The major allergen content of allergenic preparations reflect their biological activity. *Allergy* 1992;47:418-23.
42. Yasueda H, Okuda M, Yoshida H, et al. A basic policy for allergen standardization in our country and standardization of Japanese cedar (*Criptomeria japonica*) pollen extracts. The Allergen Committee in Japanese Society of Allergology *Allergol Int* 1997; in press.
43. Steinberger P, Kraft D, Valenta R. Construction of a combinatorial IgE library from an allergic patient. Isolation and characterization of human IgE Fabs with specificity for the major timothy grass pollen allergen, Phl p5. *J Biol Chem* 1996;271:10967-72.
44. Norman PS. International units. *Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frank A M* 1988;82:45-9.
45. Turkeltaub PC. Use of skin testing for evaluation of potency, composition, and stability of allergenic products. *Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frank A M* 1994;87:79-87.
46. Methods of Allergenic Products Testing Laboratory. CBER FDA Docket N° 94N-0012 1993.
47. Reisman RE, Arbesman CE, Lazell M. Clinical and immunological studies of venom immunotherapy. *Clin Allergy* 1979;9:167-74.
48. Hunt KJ, Valentine MD, Sobotka AK, Benton AW, Amodio FJ, Lichtenstein LM. A controlled trial of immunotherapy in insect hypersensitivity. *N Engl J Med* 1978;299:157-61.
49. Yunginger JW, Paull BR, Jones RT, Santrach PJ. Rush venom immunotherapy program for honeybee sting sensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1979;63:340-7.
50. Bousquet J, Calvayrac P, Guerin B, et al. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. I. In vivo and in vitro parameters after a short course of treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1985;76:734-44.
51. Bousquet J, Hejjaoui A, Skassa-Brociek W, et al. Double-blind, placebo controlled immunotherapy with mixed grasspollen allergoids. I. Rush immunotherapy with allergoids and standardized orchard grass-pollen extract. *J Allergy Clin Immunol* 1987;80:591-8.
52. Hedlin G, Graff-Lonnevig V, Heilborn H, et al. Immunotherapy with cat and dog dander extracts. II. In vivo and in vitro immunologic effects observed in a year double-blind placebo study. *J Allergy Clin Immunol* 1986;77:488-96.
53. Kordash TR, Amend MJ, Freshwater LL, Baker RE. In vivo and in vitro characterization of Allpyral grass pollen extracts. *Ann Allergy* 1994;73:127-33.
54. Warner JO, Price JF, Soothill JF, Hey EN. Controlled trial of hiposensitisation to *Dermatophagoides pteronyssinus* in children with asthma. *Lancet* 1978;2:912-5.
55. Blainey A, Phillips M, Ollier S, Davies R. Hyposensitization with a tyrosine adsorbed extract of *Dermatophagoides pteronyssinus* in adults with perennial allergic rhinitis. *Allergy* 1984;39:521-8.
56. Genin I, Barratt G, Tran XT, Delattre J, Puisieux F. Optimization and characterization of freeze-dried multilamellar liposomes incorporating different standardized allergen extracts. *Allergy* 1994;49:645-52.
57. Walls AF. Liposomes for allergy immunotherapy? *Clin Exp Allergy* 1992;22:1-2.
58. Marsh DG, Norman PS, Roebber M, Lichtenstein LM. Studies on allergoids from naturally occurring allergens. III. Preparation of ragweed pollen allergoids by aldehyde modification in two steps. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:449-59.
59. Bousquet J, Maasch HJ, Hejjaoui A, et al. Double-blind, placebo controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. III. Efficacy and safety of unfractionated and high-molecular-weight preparations in rhinoconjunctivitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:546-56.
60. Grammer LC, Shaughnessy MA, Patterson R. Modified forms of allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1985;76:397-401.
61. Corrado OJ, Pastorello E, Ollier S, et al. A double-blind study of hyposensitization with an alginate conjugated extract of *D. pteronyssinus* (Conjuvac) in patients with perennial rhinitis. I. Clinical aspects. *Allergy* 1989;44:108-15.
62. Bousquet J, Michel FB. Safety considerations in assessing the role of immunotherapy in allergic disorders. *Drug Saf* 1994;10:5.17.
63. Juniper EF, Roberts RS, Kennedy LK, et al. Polyethylene glycol-modified ragweed pollen extract in rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1985;75:578-85.
64. Juniper EF, O'Connor J, Roberts RS, Evans S, Hargreave FE, Dolovich J. Polyethylene glycol-modified ragweed extract: comparison of two treatment regimens. *J Allergy Clin Immunol* 1986;78:851-6.
65. Miller U, Rabson AR, Bischof M, Lomnitzer R, Dreborg S, Lanner A. A double-blind study comparing monomethoxy polyethylene glycol-modified honeybee venom and unmodified honeybee venom for immunotherapy. I. Clinical results. *J Allergy Clin Immunol* 1987;80:252-61.
66. Dreborg S, Akerblom EB. Immunotherapy with monomethoxypolyethylene glycol modified allergens. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1990;6:315-65.
67. Mosbech H, Dreborg S, Frolund L, et al. Hyposensitization in asthmatics with mPEG modified and unmodified house

- dust mite extract. I. Clinical effect evaluated by diary cards and a retrospective assessment. *Allergy* 1989;44:487-98.
68. Cockcroft D, Cuff M, Tarlo S, Dolovich J, Hargreave F. Allergen-injection therapy with glutaraldehyde-modified-ragweed pollen-tyrosine adsorbate. A double-blind trial. *J Allergy Clin Immunol* 1977;60:56-62.
 69. Miller A. A trial of hyposensitization in 1974/5 iff the treatment of hay fever using a glutaraldehyde"pollen-tyrosineadsorbate. *Clin Allergy* 1979;6:557-61.
 70. Juniper EF, Kline PA, Ramsdale EH, Hargreave FE. Comparison of the efficacy and side effects of aqueous steroid nasal spray (budesonide) and allergen-injection therapy (Pollinex-R) in the treatment of seasonal allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:606-11.
 71. Nelson HS. Effect of preservatives and conditions of storage on the potency of allergy extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1981;67:64-9.
 72. Nelson HS, Ikle D, Buchmeier A. Studies of allergen extract stability: the effects of dilution and mixing. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:382-8.
 73. Esch RE. Role of proteases on the stability of allergenic extracts. *Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frank A M* 1992;85:171-7.
 74. Kordash TR, Amend MJ, Williamson SL, Jones JK, Plunkett GA. Effect of mixing allergenic extracts containing *Helminthosporium. D. farinae*, and cockroach with perennial ryegrass. *Ann Allergy* 1993;71:240-6.
 75. Frostad AB, Grimmer O, Sandvik L, Moxnes A, Aas K. Clinical effects of hyposensitization using a purified allergen preparation from Timothy pollen as compared to crude aqueous extracts from Timothy pollen and a four-grass pollen mixture respectively. *Clin Allergy* 1983;13:337-57.
 76. Møller C, Dreborg S. Cross-reactivity between deciduous trees during immunotherapy. I. In vivo results. *Clin Allergy* 1986;16:135-43.
 77. Wihl JA, Ipsen H, Petersen BN, Munch EP, Janniche H, Löwenstein H. Immunotherapy with partially purified and standardized tree pollen extracts. II. Results of skin prick tests and nasal provocation tests from a three year double-blind study of patients treated with pollen extracts either of birch or combinations of alder, birch and hazel. *Allergy* 1988;43:363-9.
 78. Mosmann TR, Coffman RL; TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989;7:145-73.
 79. Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 1997;275:77-9.
 80. Pene J, Rousset F, Briere F, et al. IgE production by normal human lymphocytes is induced by interleukin 4 and suppressed by interferons gamma and alpha and prostaglandin E2. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1988;85:6880-4.
 81. Del-Prete G, Maggi E, Parronchi P, et al. IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. *J Immunol* 1988;140:4193-8.
 82. de-Vries JE, Zurawski G. Immunoregulatory properties of IL-12: its potential role in atopic disease. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;106:175-9.
 83. Yssel H, Fasler S, de-Vries JE, de-Waal-Malefyt R. IL-12 transiently induces IFN-gamma transcription and protein synthesis in human CD4+ allergen-specific Th2 T cell clones. *Int Immunol* 1994;6:1091-6.
 84. Lopez AF, Sanderson CJ, Gamble JR, Campbell HD, Young IG, Vadas MA. Recombinant human interleukin 5 is a selective activator of human eosinophil function. *J Exp Med* 1988;167:219-24.
 85. Lichtenstein K, Ishizaka K, Norman P, Sobotka A, Hill B. IgE antibody measurements in ragweed hay fever. Relationship to clinical severity and the results of immunotherapy. *J Clin Invest* 1973;52:472-82.
 86. Gleich GJ, Zimmermann EM, Henderson LL, Yunginger JW. Effect of immunotherapy on immunoglobulin E and immunoglobulin G antibodies to ragweed antigens: a six-year prospective study. *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:261-71.
 87. Mailing HJ, Skov PS, Permin H, Norn S, Weeke B. Basophil histamine release and humoral changes during immunotherapy. Dissociation between basophil-bound specific IgE serum value, and cell sensitivity. *Allergy* 1982;37:187-90.
 88. MacDonald SM, Rafnar T, Langdon J, Lichtenstein LM. Molecular identification of an IgE dependent histamine-releasing factor. *Science* 1995;269:688-90.
 89. Saxon A, Max EE, Diaz-Sánchez D, Zhang K. Alternative RNA of epsilon transcripts produces mRNAs encoding two membrane and four secreted IgE isoforms. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:45-7.
 90. Van-der Zee JS, Aalberse RC. The role of IgG in immediate-type hypersensitivity. *Eur Respir J Suppl* 1991;13:91s-96s.
 91. Kaneko M, Swanson MC, Gleich GJ, Kita H. Allergen-specific IgG1 and IgG3 through Fe gamma R11 induce eosinophil degranulation. *J Clin Invest* 1995;95:2813-21.
 92. Leynadier F, Abuaf N, Halpern GM, Murrieta M, Garcia-Duarte C, Dry J. Blocking IgG antibodies after rush immunotherapy with mites. *Ann Allergy* 1986;57:325-9.
 93. Witteman AM, Stapel SO, Sjamsoedin DH, Jansen HM, Aalberse RC, van-der-Zee JS. Fel d 1 specific IgG antibodies induced by natural exposure have blocking activity in skin tests. *Int Arch Allergy Immunol* 1996;109:369-75.
 94. Star M, Weinstock M. Studies in pollen allergy. III. The relationship between blocking antibody levels, and symptomatic relief following hyposensitization with Allpyral in hay fever subjects. *Int Arch Allergy* 1970;38:514-21.
 95. Golden DB, Meyers DA, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Clinical relevance of the venom specific immunoglobulin G antibody level during immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1982;69:489-93.
 96. Visco V, Dolecek C, Denepoux S, et al. Human IgG monoclonal antibodies that modulate the binding of specific IgE to birch pollen Bet v1. *J Immunol* 1996;157:956-62.
 97. Djurup R, Osterballe O. IgG subclass antibody response in grass pollen-allergic patients undergoing specific immunotherapy. Prognostic value of serum IgG subclass antibody levels early in immunotherapy. *Allergy* 1984;39:443-41.
 98. Bousquet J, Maasch H, Martinot B, Hejjaoui A, Wahl R, Michel FB. Double-blind, placebo-controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. II. Comparison between parameters assessing the efficacy of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:439-46.
 99. Müller U, Helbling A, Bischof M. Predictive value of venom-specific IgE, IgG and IgG subclass antibodies in patients on immunotherapy with honey bee venom. *Allergy* 1989;44:412-8.
 100. Reisman RE. Should routine measurements of serum venom-specific IgG be a standard of practice in patients receiving venom immunotherapy? (editorial: comment). *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:282-4.
 101. Golden DB, Kwitrovich KA, Kagey Sobotka A, Valentina MD, Lichtenstein LM. Discontinuing venom immunotherapy: outcome after five years. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:579-87.
 102. Djurup R, Mallng HJ. High IgG4 antibody level is associated with failure of immunotherapy with inhaled allergen. *Clin Allergy* 1987;17:459-68

103. Ito K, Kudo K, Okudaira H, et al. IgG1 antibodies to house dust mite (*Dermatophagoides farinae*) and late asthmatic response. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1986;81:69-74.
104. Otsuka H, Mezawa A, Ohnishi M, Okubo K, Seki H, Okuda M. Changes in nasal metachromatic cells during allergen immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1991;21:115-9.
105. Hedlin G, Silber G, Naclerio R, et al. Comparison of the in-vivo and in-vitro response to ragweed immunotherapy in children and adults with ragweed-induced rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1990;20:491-500.
106. Durham S, Varney V, Gaga M, Jacobson M, Frew A, Kay A. Grass pollen immunotherapy decreases mast cell numbers in the skin. *Proc Am Assoc Phys* 1997; submitted.
107. Bousquet J, Becker WM, Hejjajoui A, et al. Differences in clinical and immunologic reactivity of patients allergic to grass pollens and to multiple-pollen species. II. Efficacy of a double-blind, placebo controlled, specific immunotherapy with standardized extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:43-45.
108. Creticos PS, Adkinson N, Jr., Kagey-Sobotka A, et al. Nasal challenge with ragweed pollen in hay fever patients. Effect of immunotherapy. *J Clin Invest*. 1985;76:2247-53.
109. Furin MJ, Norman PS, Creticos PS, et al. Immunotherapy decreases antigen-induced eosinophil cell migration into the nasal cavity. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:27-32.
110. Lliopoulos O, Proud D, Adkinson N, Jr., et al. Effects of immunotherapy on the early, late, and rechallenge nasal reaction to provocation with allergen: changes in inflammatory mediators and cells. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:855-66.
111. Rak S, Lowhagen O, Venge P. The effect of immunotherapy on bronchial hyperresponsiveness and eosinophil cationic protein in pollen-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:470-80.
112. Jutel M, Müller U, Fricker M, Rihs S, Pichler W, Dahinden C. Influence of bee venom immunotherapy on degranulation and leukotriene generation in human blood basophils. *Clin Exp Immunol* 1996;12:1112-8.
113. Des-Roches A, Paradis L, Knani J, et al. Immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. V. Duration of efficacy of immunotherapy after its cessation. *Allergy* 1996;51:430-4.
114. Durham S, Varney V, Gaga M, Frew A, Jacobson M, Kay A. Grass pollen immunotherapy remains effective 3 years after discontinuation: a double-blind, placebo-controlled withdrawal study. *Clin Exp Allergy* 1998; in press
115. Durham S, Varney V, Gaga M, Frew A, Jacobson M, Kay A. Immunotherapy and allergic inflammation. *Clin Exp Allergy* 1991;21, Suppl 1:206-10.
116. Varney VA, Hamid QA, Gaga M, et al. Influence of grass pollen immunotherapy on cellular infiltration and cytokine mRNA expression during allergen-induced late-phase cutaneous responses. *J Clin Invest* 1993;92:644-51.
117. Durham SR, Ying S, Varney VA, et al. Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4+ T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon-gamma. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1356-65.
118. Hamid Q, Schotman E, Jacobson M, Walker S, Durham S. Increases in interleukin-12 (IL-12) messenger RNA+ (mRNA+) cells accompany inhibition of allergen induced late skin responses following successful grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:254-60.
119. Renz H, Lack G, Saloga J, et al. Inhibition of IgE production and normalization of airways responsiveness by sensitized CD8 T cells in a mouse model of allergen-induced sensitization. *J Immunol* 1994;152:351-60.
120. Jutel M, Pichler WJ, Skrbic D, Urwyler A, Dahinden C, Müller UR. Bee venom immunotherapy results in decrease of IL-4 and IL-5 and increase of IFN-gamma secretion in specific allergen-stimulated T cell cultures. *J Immunol* 1995;154:4187-94.
121. Secrist H, Chelen CJ, Wen Y, Marshall JD, Umetsu DT. Allergen immunotherapy decreases interleukin 4 production in CD4+ T cells from allergic individuals. *J Exp Med* 1993;178:2123-30.
122. McHugh SM, Deighton J, Stewart AG, Lachmann PJ, Ewan PW. Bee venom immunotherapy induces a shift in cytokine responses from a TH-2 to a TH-1 dominant pattern: comparison of rush and conventional immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1995;25:828-38.
123. Secrist H, DeKruyff RH, Umetsu DT. Interleukin 4 production by CD4+ T cells from allergic individuals is modulated by antigen concentration and antigen-presenting cell type. *J Exp Med* 1995;181:1081-9.
124. Lamb JR, Skidmore BJ, Green N, Chiller JM, Feldmann M. Induction of tolerance in influenza virus-immune T lymphocyte clones with synthetic peptides of influenza hemagglutinin. *J Exp Med* 1983;157:1434-47.
125. Fasler S, Aversa G, Terr A, Thestrup-Pedersen K, de-Vries JE, Yssel H. Peptide-induced energy in allergen-specific human Th2 cells results in lack of cytokine production and B cell help for IgE synthesis. Reversal by IL-2, not by IL-4 or IL-13. *J Immunol* 1995;155:4199-206.
126. Tsiocopoulos A, Labalette M, Akoum H, et al. CD28 expression is increased in venom allergic patients but is not modified by specific immunotherapy. *Clin Exp Allergy* 1996;12:1119-25.
127. Akdis CA, Akdis M, Blesken T, et al. Epitope-specific T cell tolerance to phospholipase A2 in bee venom immunotherapy and recovery by IL-2 and IL-15 in vitro. *J Clin Invest* 1996;98:1676-83.
128. Osterballe O. Immunotherapy in hay fever with two major allergens 19, 25 and partially purified extracts of timothy grass pollen. A controlled double blind study. In vivo variables, season I. *Allergy* 1980;35:473-89.
129. Norman P, Winkenwerder W, Lichtenstein L. Immunotherapy of hay fever with ragweed antigen E: comparisons with whole extracts and placebo. *J Allergy* 1968;42:93-108.
130. Reisman RE, Wicher K, Arbesman CE. Immunotherapy with antigen E. *J Allergy* 1969;44:82-95.
131. Van-Metre TE J, Adkinson N, Jr., Lichtenstein LM, et al. A controlled study of the effectiveness of the Rinkel method of immunotherapy for ragweed pollen hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 1980;65:288-97.
132. Hirsch SR, Kalbfleisch JH; Golbert TM, et al. Rinkel injection therapy: a multicenter controlled study. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:133-55.
133. Hirsch SR, Kalbfleisch JH, Cohen SH. Comparison of Rinkel injection therapy with standard immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:183-90.
134. Bousquet J, Des-Roches A, Paradis L, Dhivert H, Michel FB. Specific immunotherapy in house dust mite allergy. *Clin Rev Allergy Immunol* 1995;13:151-9.
135. Turkeltaub PC, Campbell G, Mosimann JE. Comparative safety and efficacy of short ragweed extracts differing in potency and composition in the treatment of fall hay fever. Use of allergenically bioequivalent doses by parallel line bioassay to evaluate comparative safety and efficacy. *Allergy* 1990;45:528-46.
136. Creticos PS, Van-Metre TE, Mardiney MR, Rosenberg GL, Norman PS, Adkinson N, Jr. Dose response of IgE and IgG antibodies during ragweed immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:94-104.
137. Haugaard L, Dahl R, Jacobsen L. A controlled dose response study of immunotherapy with standardized, partially

- purified extract of house dust mite clinical efficacy and side effects. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:709-22.
138. Wahn U, Schweter C, Lind P, Löwenstein H. Prospective study on immunologic changes induced by two different Dermatophagoides pteronyssinus extracts prepared from whole mite culture and mite bodies. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:360-70.
139. Bousquet J, Michel F. Specific immunotherapy in allergic rhinitis and asthma. In: Busse W, Holgate S, ed. *Asthma and rhinitis*. Oxford, UK: Backwell Scientific Publications, 1995; 1309-24.
140. Taylor WW, Ohman J, Jr., Lowell FC. Immunotherapy in cat-induced asthma. Double-blind trial with evaluation of bronchial responses to cat allergen and histamine. *J Allergy Clin Immunol* 1978;61:283-7.
141. Ohman J, Jr., Findlay SR, Leitermann KM. Immunotherapy in cat-induced asthma. Double-blind trial with evaluation of in vivo and in vitro responses. *J Allergy Clin Immunol* 1984;74:230-9.
142. Sundin B, Lilja G, Graff-Lonnevig V, et al. Immunotherapy with partially purified and standardized animal dander extracts. I. Clinical results from a double-blind study on patients with animal dander asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1986;77:478-87.
143. Haugaard L, Dahl R. Immunotherapy in patients allergic to cat and dog dander. I. Clinical results. *Allergy* 1992;47:249-54.
144. Alvarez-Cuesta E, Cuesta-Herranz J, Puyana-Ruiz J, Cuesta-Herranz C, Blanco-Quiros A. Monoclonal antibody-standardized cat extract immunotherapy: risk-benefit effects from a double-blind placebo study. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:556-66.
145. Creticos PS, Reed CE, Norman PS, et al. Ragweed immunotherapy in adult asthma. *N Engl J Med* 1996;334:501-6.
146. Hunt KJ, Sobotka AK, Valentine MD, Yunginger JW, Lichtenstein LM. Sensitization following Hymenoptera whole body extract therapy. *J Allergy Clin Immunol* 1978;61:48-53.
147. Müller U, Thurnbeier U, Patrizzi R, Spiess J, Hoigne R. Immunotherapy in bee sting hypersensitivity. Bee venom versus wholebody extract. *Allergy* 1979;34:369-78.
148. Dolz I, Malatíniz-Cóccera C, Bartolome J, Cimarra M. Placebo-controlled study of immunotherapy with grass pollen extract Alutard SQ during a 3 year period with initial rush immunotherapy. *Allergy* 1996;1996:489-500.
149. Van-Bever HP, Stevens WJ. Evolution of the late asthmatic reaction during immunotherapy and after stopping immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:141-6.
150. Lichtenstein L, Norman P, Winkenwerder L. A single year of immunotherapy in ragweed hay fever. *Am J Med* 1971;44:514-24.
151. Norman PS, Lichtenstein LM. The clinical and immunologic specificity of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1978;61:370-7.
152. Bousquet J, Hejjaoui A, Michel FB. Specific immunotherapy in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:292-205.
153. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, et al. Asthma: a disease remodeling the airways. *Allergy* 1992;47:3-11.
154. Des-Roches A, Paradis L, Menardo J-L, Bouges S, Daures J-P, Bousquet J. Immunotherapy with a standardized Dermatophagoides pteronyssinus extract. VI. Specific immunotherapy prevents the onset of new sensitizations in children. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:450-3.
155. Gillman SA, Cummins LH, Kozak P, Jr., Hoffman DR. Venom immunotherapy: comparison of "rush" vs "conventional" schedules. *Ann Allergy* 1980;45:351-4.
156. Golden DB, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Dose dependence of Hymenoptera venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1981;67:370-4.
157. Mosbech H, Malling HJ, Biering I, et al. Immunotherapy with yellow jacket venom. A comparative study including three different extracts, one adsorbed to aluminium hydroxide and two unmodified. *Allergy* 1986;41:95-103.
158. Müller U, Helbling A, Berchtold E. Immunotherapy with honeybee venom and yellow jacket venom is different regarding efficacy and safety. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:529-35.
159. Müller U, Berchtold E, Helbling A. Honeybee venom allergy: results of a sting challenge 1 year after stopping successful venom immunotherapy in 86 patients. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:702-9.
160. Tarhini H, Knani J, Michel FB, Bousquet J. Safety of venom immunotherapy administered by a cluster schedule. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:1198-9.
161. Birnbaum J, Charpin D, Vervloet D. Rapid Hymenoptera venom immunotherapy: comparative safety of three protocols. *Clin Exp Allergy* 1993;23:226-30.
162. van-der-Zwan JC, Flinterman J, Jankowski IG, Kerckhaert JA: Hyposensitisation to wasp venom in six hours. *Br Med J Clin Res* 1983;287:1329-31.
163. Bousquet J, Fontez A, Aznar R, Robinet-Leby M, Michel FB. Combination of passive and active immunization in honeybee venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:947-54.
164. Golden DB, Kagey-Sobotka A, Valentine MD, Lichtenstein LM. Prolonged maintenance interval in hymenoptera venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1981;67:482-4.
165. Bousquet J, Knani J, Velasquez G, Menardo JL, Guilloux L, Michel FB. Evolution of sensitivity to Hymenoptera venom in 200 allergic patients followed for up to 3 years. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:944-50.
166. Reisman RE. Duration of venom immunotherapy: relationship to the severity of symptoms of initial insect sting anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:831-6.
167. Bousquet J, Michel F. Immunotherapy in rhinitis. In: Mygind N, Naclerio R, ed. *Allergic and non-allergic rhinitis, Clinical Aspects*. Copenhagen: Munksgaard, 1992:136-48.
168. Bousquet J, Hejjaoui A, Soussana M, Michel FB. Double-blind, placebo controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. IV. Comparison of the safety and efficacy of two dosages of a high molecular-weight allergoid. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:490-7.
169. Frankland A, Augustin R. Prophylaxis of summer hay fever and asthma: a controlled trial comparing crude grass pollen extract with the isolated main protein components. *Lancet* 1954;1:1055-8.
170. Grammer LC, Shaughnessy MA, Suszko IM, Shaughnessy JJ, Patterson R. A double-blind histamine placebo-controlled trial of polymerized whole grass for immunotherapy of grass allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1983;72:448-53.
171. Grammer LC, Shaughnessy MA, Finkle SM, Shaughnessy JJ, Patterson R. A double-blind placebo-controlled trial of polymerized whole grass administered in an accelerated dosage schedule for immunotherapy of grass pollinosis. *J Allergy Clin Immunol* 1986;78:1180-4.
172. McAllen M. Hyposensitization in grass pollen hay fever. *Acta Allergol* 1969;24:421-31.
173. Machiels JJ, Buche M, Somville MS, Jacquemin MG, Saint-Remy JM. Complexes of grass pollen allergens and specific antibodies reduce allergic symptoms and inhibit the seasonal increase of IgE antibody. *Clin Exp Allergy* 1990;20:653-60.
174. Machiels JJ, Somville MA, Jacquemin MG, Saint-Remy JM. Allergen-antibody complexes can efficiently prevent seasonal rhinitis and asthma in grass pollen hypersensitive patients. Allergen-antibody complex immunotherapy. *Allergy* 1991;45:335-48.

175. Ortolani C, Pastorello E, Moss RB, et al. Grass pollen immunotherapy: a single year double-blind, placebo-controlled study in patients with grass pollen-induced asthma and rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:283-90.
176. Pastorello EA, Pravettoni V, Incorvaia C, et al. Clinical and immunological effects of immunotherapy with alum-adsorbed grass allergoid in grass-pollen-induced hay fever. *Allergy* 1992;47:281-90.
177. Starr M, Weinstock M. Studies in pollen allergy. III. The relationship between blocking antibody levels, and symptomatic relief following hyposensitization with Allpyral in hay fever subjects. *Int Arch Allergy* 1970;38:514-21.
178. Varney VA, Gafa M, Frew AJ, Aber VR, Kay AB, Durham SR. Usefulness of immunotherapy in patients with severe summer hay fever uncontrolled by antiallergic drug. *Bmj* 1991;302:265-9.
179. Weyer A, Donat N, L'Heritier C, et al. Grass pollen hyposensitization versus placebo therapy. I. Clinical effectiveness and methodological aspects of a preseasonal course of desensitization with a four-grass pollen extract. *Allergy* 1981;36:309-17.
180. Arbesman CE, Reisman RE. Hyposensitization therapy including repository: a double-blind study. *J Allergy* 1964;35:12-7.
181. Grammer LC, Zeiss Cr, Suszko JM, Shaughnessy MA, Patterson R. A double-blind, placebo-controlled trial of polymerized whole ragweed for immunotherapy of ragweed allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1982;69:494-9.
182. Lichtenstein L, Norman P, Winkenwerder W. Clinical and in vitro studies on the role of immunotherapy in ragweed hay fever. *Am J Med* 1968;44:514-24.
183. Lowell F, Franklin W. A double-blind study of the effectiveness and specificity of injection therapy in ragweed hay fever. *N Engl J Med* 1965;273:675-9.
184. Meriney DK, Kothari H, Chinoy P, Grieco MH. The clinical and immunologic efficacy of immunotherapy with modified ragweed extract (allergoid) for ragweed hay fever. *Ann Allergy* 1986;56:34-8.
185. Van-Metre TE, Adkinson N, Jr., Amodio FJ et al. A comparative study of the effectiveness of the Rinkel method and the current standard method of immunotherapy for ragweed pollen hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 1980;66:500-13.
186. Van-Metre TE J, Adkinson N, Jr., Amodio FJ, et al. A comparison of immunotherapy schedules for injection treatment of ragweed pollen hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 1982;69:181-93.
187. Norman PS, Lichtenstein LM. Comparisons of alum-precipitated and unprecipitated aqueous ragweed pollen extracts in the treatment of hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 1978;61:348-9.
188. Norman PS, Lichtenstein LM, Kagey-Sobotka A, Marsh DG. Controlled evaluation of allergoid in the immunotherapy of ragweed hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:248-60.
189. D'Amato G, Kordash TR, Liccardi G, Lobefalo G, Cazzola M, Freshwater LL. Immunotherapy with Alpare in patients with respiratory allergy to *Parietaria* pollen: a two year double-blind placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy* 199;25:149-58.
190. Ortolani C, Pastorello EA, Invorvaia C, et al. A double-blind, placebo-controlled study of immunotherapy with an alginate-conjugated extract of *Parietaria judaica* in patients with *Parietaria* hay fever. *Allergy* 1994;49:13-21.
191. Pence H, Mitchell D, Greenly R, Updegraff B, Selfridge H. Immunotherapy for mountain cedar pollinosis. A double-blind controlled study. *J Allergy Clin Immunol* 1976;58:39-50.
192. Karmakar PR, Das A, Chatterjee BP. Placebo-controlled immunotherapy with *Cocos nucifera* pollen extract. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;103:194-201.
193. Cantani A, Businco E, Benincori N, de-Angelis M, di-Fazio A, Businco L. A three year controlled study in children with pollinosis treated with immunotherapy. *Ann Allergy* 1984;53:79-84.
194. Norman P, Winkenwerder W, Lichtenstein L. Maintenance immunotherapy in ragweed hay fever. Booster injections at six week intervals. *J Allergy* 1971;47:273-82.
195. Citron K, Frankland A, Sinclair J. Inhalation tests of bronchial hypersensitivity in pollen asthma. *Thorax* 1958;13:229-32.
196. Armentia-Medina A, Blanco-Quiros A, Martín-Santos JM, et al. Rush immunotherapy with a standardized Bermuda grass pollen extract. *Ann Allergy* 1989;63:127-35.
197. Rak S, Hakansson L, Venge P. Eosinophil chemotactic activity in allergic patients during the birch pollen season: the effect of immunotherapy. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987;82:349-50.
198. Reid MJ, Moss RB, Hsu YP, Kwasnicki JM, Commerford TM, Nelson BL. Seasonal asthma in northern California: allergic causes and efficacy of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1986;78:590-600.
199. Bruce C, Norman P, Rosenthal R, Lichtenstein L. The role of ragweed pollen in autumnal asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1977;59:449-59.
200. Hill DJ, Hosking CS, Shelton MJ, Tumer MW. Failure of hyposensitisation in treatment of children with grass-pollen asthma. *Br Med J Clin Res* 1982;284:306-9.
201. Bousquet J, Hejjaoui A, Becker WM, et al. Clinical and immunologic reactivity of patients allergic to grass pollens and to multiple pollen species. I. Clinical and immunologic characteristics. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:737-46.
202. Pene J, Rivier A, Lagier B, Becker WM, Michel FB, Bousquet J. Differences in IL-4 release by PBMC are related with heterogeneity of atopy. *Immunology* 1994;81:58-64.
203. Eriksson NE, Wihl JA, Arrendal H, Strandhede SO. Tree pollen allergy. III. Cross reactions based on results from skin prick tests and the RAST in hay fever patients. A multicentre study. *Allergy* 1987;42:205-14.
204. Hirschwehr R, Valenta R, Ebner C, et al. Identification of common allergenic structures in hazel pollen and hazelnuts a possible explanation for sensitivity to hazelnuts in patients allergic to tree pollen. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:927-36.
205. Ebner C, Hirschwehr R, Bauer L, et al. Identification of allergens in fruits and vegetables: IgE cross-reactivities with the important birch pollen allergens Bet v 1 and Bet v 2 (birch profilin). *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:962-9.
206. Pauli G, Bessot JC, Dietemann-Molard A, Braun PA, Thierry R. Celery sensitivity: clinical and immunological correlations with pollen allergy. *Clin Allergy* 1985;15:273-9.
207. Bemhisel-Broadbent J. Allergenic cross-reactivity of foods and characterization of food allergens and extracts. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;75:295-303.
208. Molver C. Effect of pollen immunotherapy on food hypersensitivity in children with birch pollinosis. *Ann Allergy* 1989;62:343-5.
209. Kelso JM, Jones RT, Tellez R, Yunginger JW. Oral allergy syndrome successfully treated with pollen immunotherapy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;74:391-6.
210. Bousquet J, Michel FB. Specific immunotherapy in asthma: is it effective? *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:1-11.

211. McAllen M, Assem E, Maunsel K. House-dust mite asthma; Results of challenge tests on five criteria with *Dermatophagoides pteronyssinus*. *BMJ* 1970;2:501-4.
212. Machiels JJ, Somville MA, Lebrum PM, Lebecque SJ, Jacquemin MG, Saint-Remy JM. Allergic bronchial asthma due to *Dermatophagoides pteronyssinus* hypersensitivity can be efficiently treated by inoculation of allergen-antibody complexes. *J Clin Invest* 1990;85:1024-35.
213. Van-Beyer Hp, Steyens WJ. Effect of hyposensitization upon the immediate and late asthmatic reaction and upon histamine reactivity in patients allergic to house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*). *Eur Respir J* 1992;5:318-22.
214. García-Ortega P, Merelo A, Marrugat I, Richart C. Decrease of skin and bronchial sensitization following short-intensity scheduled immunotherapy in mite allergic asthma. *Chest* 1993;103:183-7.
215. Mosbech H, Dreborg S, Frolund L, et al. Hyposensitization in asthmatics with mPEGmodified and unmodified house dust mite extract. II. Effect evaluated by challenges with allergen and histamine. *Allergy* 1989;44:499-509.
216. D'Souza M, Pepys J, Wells I, et al. Hyposensitization with *Dermatophagoides pteronyssinus* in house dust allergy: a controlled study of clinical and immunological effects. *Clin Allergy* 1973;3:177-93.
217. Gabriel M, NgH, AllanW, Hill L, Nunn A. Study of prolonged hyposensitization with *D. pteronyssinus* extract in allergic rhinitis. *Clin Allergy* 1977;7:325-36.
218. Amaral-Marques R, Ayila R. Results of a clinical trial with a *Dermatophagoides pteronyssinus* tyrosine adsorbed vaccine. *Allergol Immunopathol Madr* 1978;6:231-5.
219. Franco C, Barbadori S, Freshwater LL, Kordash TR. A double-blind, placebo controlled study of Alpare mite *D. pteronyssinus* immunotherapy in asthmatic patients. *Allergol Immunopathol Madr* 1995;23:58-66.
220. Oisen O, Larsen K, Jacobsen L, Syendsen U. A one year placebo-controlled double-blind house dust mite immunotherapy study in asthmatic adults. *Allergy* 1997;52:853-9.
221. Pichler C, Marquardsen A, Sparholt S, et al. Specific immunotherapy with *Dermatophagoides pteronyssinus* and *D. farinae* results in decreased bronchial hyperreactivity. *Allergy* 1997;52:274-83.
222. Gaddie J, Skinner C, Palmer K. Hyposensitization with house dust mite vaccine in bronchial asthma. *BMJ* 1976;2:561-2.
223. Pauli G, Bessot JC, Bigot H, et al. Clinical and immunologic evaluation of tyrosine-adsorbed *Dermatophagoides pteronyssinus* extract: a double-blind placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 1984;74:524-35.
224. Newton D, Maberley D, Wilson R. House dust mite hyposensitization. *Br J Dis Chest* 1978;72:21-8.
225. Armentia-Medina A, Tapias JA, Martín JF, Ventas P, Fernández A. Immunotherapy with the storage mite *Lepidoglyphus destructor*. *Allergol Immunopathol Madr* 1995;23:211-23.
226. Bousquet J, Hejjaoui A, Clauzel AM, et al. Specific immunotherapy with a standardized *Dermatophagoides pteronyssinus* extract. II. Prediction of efficacy of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:971-7.
227. McHugh SM, Layelle B, Kemeny SM, Patel S, Ewan PW. A placebo-controlled trial of immunotherapy with two extracts of *Dermatophagoides pteronyssinus* in allergic rhinitis, comparing clinical outcome with changes in antigen-specific IgE, IgG, and IgG subclasses. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:521-31.
228. Ewan PW, Alexander MM, Snape C, Ind PW, Agrell B, Dreborg S; Effective hyposensitization in allergic rhinitis using a potent partially purified extract of house dust mite. *Clin Allergy* 1988;18:501-8.
229. Pastorello EA, Ortolani C, Incorvaia C, et al. A double-blind study of hyposensitization with an alginate-conjugated extract of *Dermatophagoides pteronyssinus* (Conjuyac) in patients with perennial allergic rhinitis. II. Immunological aspects. *Allergy* 1990;45:505-14.
230. Lofkvist T, Agrell B, Dreborg S, Svensson G. Effects of immunotherapy with a purified standardized allergen preparation of *Dermatophagoides farinae* in adults with perennial allergic rhinoconjunctivitis. *Allergy* 1994;49:100-7.
231. Bertelsen A, Andersen JB, Christensen J, Ingemann L, Kristensen T, Ørstergaard PA. Immunotherapy with dog and cat extracts in children. *Allergy* 1989;44:330-5.
232. Bucur J, Dreborg S, Einarsson R, Ljungstedt-Pahlman I, Nilsson JE, Persson G. Immunotherapy with dog and cat allergen preparations in dog-sensitive and cat-sensitive asthmatics. *Ann Allergy* 1989;62:355-61.
233. Hedlin G, Graff-Lonevig V, Heilborn H, et al. Immunotherapy with cat and dog-dander extracts. V. Effects of 3 years of treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:955-64.
234. Lilja G, Sunding B, Graff-Lonevig V, et al. Immunotherapy with cat and dog-dander extracts. IV. Effects of 2 years of treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:37-44.
235. Rohatgi N, Dunn K, Chai H. Cat or dog-induced immediate and late asthmatic responses before and after immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:389-97.
236. Valovirta E, Viander M, Koivikko A, Vanto T, Ingemann L. Immunotherapy in allergy to dog. Immunologic and clinical findings of a double-blind study. *Ann Allergy* 1986;85:173-9.
237. Valovirta E, Koivikko A, Vanto T, Viander M, Ingemann L. Immunotherapy in allergy to dog: a double-blind clinical study. *Ann Allergy* 1984;53:85-8.
238. Van-Metre TE J, Marsh DG, Adkinson N, Jr., et al. Immunotherapy for cat asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:1055-68.
239. Salvaggio J, Aukrust L. Postgraduate course presentations. Mold-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:327-46.
240. Horst M, Hajjaoui A, Horst V, Michel FB, Bousquet J. Double-blind placebo-controlled rush immunotherapy with a standardized *Alternaria* extract. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:460-72.
241. Malling HJ, Dreborg S, Weeke B. Diagnosis and immunotherapy of mould allergy. V. Clinical efficacy and side effects of immunotherapy with *Cladosporium herbarum*. *Allergy* 1986;41:507-19.
242. Dreborg S, Agrell B, Fourcard T, Kjellman NI, Koivikko A, Nilsson S. A double-blind, multicenter immunotherapy trial in children, using a purified and standardized *Cladosporium herbarum* preparation. I. Clinical results. *Allergy* 1986;41:131-40.
243. Allergenic extracts made from bacteria. Federal Register, 42 FR 58266, 44 FR 1544 1979
244. Abranson MJ, Puy RM, Weiner JM. Is allergen immunotherapy effective in asthma? A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:969-74.
245. Adkinson NF-Jr, Eggleston P, Eney D, et al. A controlled trial of immunotherapy for asthma in allergic children. *N Engl J Med* 1997;336:324-31.
246. Mosbech H, Østerballe O. Does the effect of immunotherapy last after termination of treatment? Follow-up study in patients with grass pollen rhinitis. *Allergy* 1988;43:523-9.
247. Jacobsen L, Nüchel-Petersen B, Whil J, LjJwenstein H, Ipsen H. Immunotherapy with partially purified and standardized tree pollen extracts. IV. Results from long-term (6 years) follow-up. *Allergy* 1997;52:914-20.

248. Grammer LC, Shaughnessy MA, Suszko IM, Shaughnessy JJ, Patterson R. Persistence of efficacy after a brief course of polymerized ragweed allergen: a controlled study. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:484-9.
249. Norman PS, Creticos PS, Marsh DG. Frequency of booster injections of allergoids. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:88-94.
250. Ebner C, Kraft D, Ebner H. Booster immunotherapy (BIT). *Allergy* 1994;49:38-42.
251. Price JF, Warner JO, Hey EN, Turner MW, Soothill JF. A controlled trial of hyposensitization with adsorbed tyrosine Dermatophagoides pteronyssinus antigen in childhood asthma: in vivo aspects. *Clin Allergy* 1984;14:209-19.
252. Hedlin G, Heilborn H, Lilja G. et al. Long-term follow-up of patients treated with a three-year course of cat or dog immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:879-85.
253. Yeung M, O'Connor SA, Parry DT, Cochrane GM. Compliance with prescribed drug therapy in asthma. *Respir Med* 1994;88:31-5.
254. Weinstein AG. Strategies to improve drug compliance in children. *Del Med J* 1981;53:139-42.
255. Thomas EJ, Burstin HR, O'Neil AC, Orav EJ, Brennan TA. Patient noncompliance with medical advice after the emergency department visit. *Ann Emerg Med* 1996;27:49-55.
256. Pedersen S. Ensuring compliance in children. *Eur Respir J* 1992;5:143-5.
257. Cohn JR, Pizzi A. Determinants of patient compliance with allergen immunotherapy. *Ann Allergy* 1993;70:480-2.
258. Lower T, Henry J, Mandil L, Janosky J, Friday G. Jr. Compliance with allergen immunotherapy. *Ann Allergy* 1993;70:480-2.
259. Rudd S. Immunotherapy compliance- a shot in the dark. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;74:195-8.
260. Tinkelman D, Smith F, Cole WR, Silk J. Compliance with an allergen immunotherapy regime. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;74:241-6.
261. Frost L, Johansen P, Pedersen S, Veien N, Ostergaard PA, Nielsen MH. Persistent subcutaneous nodules in children hyposensitized with aluminum-containing allergen extracts. *Allergy* 1985;40:368-72.
262. García-Patos V, Pujol RM, Alomar A. et al. Persistent subcutaneous nodules in patients hyposensitized with aluminum-containing allergen extracts. *Arch Dermatol* 1995;131:1421-4.
263. Phanuphak P, Kohler PF. Onset of polyarteritis nodosa during allergic hyposensitization treatment. *Am J Med* 1980;68:479-85.
264. Cabrera GE, Citera G, Gutierrez M, Scopelitis E, Espinoza LR. Digital vasculitis following allergic desensitization treatment. *J Rheumatol* 1993;20:1970-2.
265. Stewart Gd, Lockey RF. Systemic reactions from allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:567-78.
266. Greenberg MA, Kaufman CR, González GE, Trusewycz ZP, Rosenblatt CD, Summers RJ. Late systemic-allergic reactions to inhalant allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:287-90.
267. Tabar AI, García BE, Rodríguez A, Olaguibel JM, Muro MD, Quirce S. A prospective safety-monitoring study of immunotherapy with biologically standardized extracts. *Allergy* 1993;48:450-3.
268. Hejjaoui A, Ferrando R, Dhivert H, Michel FB, Bousquet J. Systemic reactions occurring during immunotherapy with standardized pollen extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:925-33.
269. Bousquet J, Hejjaoui A, Dhivert H, Clauzel AM, Michel FB. Immunotherapy with a standardized Dermatophagoides pteronyssinus extract. III. Systemic reactions during the rush protocol in patients suffering from asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1989;82:797-802.
270. Nelson BL, Dupont LA, Reid MJ. Prospective survey of local and systemic reactions to immunotherapy with pollen extracts. *Ann Allergy* 1986;56:331-4.
271. Hejjaoui A, Dhivert H, Michel FB, Bousquet J. Immunotherapy with a standardized Dermatophagoides pteronyssinus extract. I~ Systemic reactions according to the immunotherapy schedule. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:473-9.
272. Portnoy J, Bagstad K, Kanarek H, Pacheco F, Hall B, Bames C. Premedication reduces the incidence of systemic reactions during inhalant rush immunotherapy with mixtures of allergenic extracts. *Ann Allergy* 1994;73:409-18.
273. Jarisch R, Gotz M, Aberer W, et al. Reduction of side effects of specific immunotherapy by premedication with antihistaminics and reduction of maximal dosage to 50.000 SQ-U/mL. *Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frankf A M* 1988;82:163-75.
274. Nielsen L, Johnsen C, Mosbech H, Poulsen L, Malling H. Antihistamine premedication in specific cluster immunotherapy a double-blind, placebo-controlled study. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1207-13.
275. Berchtold E, Maibach R, Milller U. Reduction of side effects from rush immunotherapy with honey bee venom by pre-treatment with terfenadine. *Clin Exp Allergy* 1992;22:59-65.
276. Osterballe O. Side effects during immunotherapy with purified grass pollen extracts. *Allergy* 1982;37:553-62.
277. Lessof M, Chandler B. Experience with Spectralgen/Pharmalgen, a new kind of allergen preparation. *Amsterdam: Excerpta Medica*. 1993.
278. Lockey RF, Turkeltaub PC, Olive ES, Hubbard JM, Baird-Warren IA, Bukantz SC. The Hymenoptera venom study. III. Safety of venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:775-80.
279. Milller U, Lanner A, Schmid P, Bischof M, Dreborg S, Hoigne R. A double blind study on immunotherapy with chemically modified honey bee venom: monomethoxy polyethylene glycol-coupled versus crude honey bee venom. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1985;77:201-3.
280. Nataf P, Guinnee MT, Heman D. Rush venom immunotherapy: a 3-day programme for Hymenoptera sting allergy. *Clin Allergy* 1984;14:269-75.
281. Bemstein DI, Mittman RJ, Kagen SL, Korbee L, Enriome M, Bemstein IL. Clinical and immunologic studies of rapid venom immunotherapy in Hymenoptera-sensitive patients. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:951-9.
282. Malling HJ, Djurup R, Sondergaard I, Weeke B. Clustered immunotherapy with Yellow Jacket venom. Evaluation of the influence of time interval on in vivo and in vitro parameters. *Allergy* 1985;40:373-83.
283. Bousquet J, Demoly P, Michel FB. In Bames PJ, Grunstein MM, Leff AR, Woolcock AJ, eds, *Asthma*, Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers. Specific Immunotherapy, 1997:1667-82.
284. Committee on Safety on Medicines. Desensitizing vaccines. *Brit Med J* 1986;293-948.
285. Lockey RF, Benedict LM, Turkeltaub PC, Bukantz SC. Fatalities from immunotherapy (IT) and skin testing (ST). *J Allergy Clin Immunol* 1987;79:660-77.
286. Reid MJ, Lockey RF, Turkeltaub PC, Platts-Mills T. Survey of fatalities from skin testing and immunotherapy 1985-1989. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:6-15.
287. Reid M, Lockey R, Turkeltaub R, Platts-Mills T. Fatalities (F) from immunotherapy (IT). 1990-91. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:100 (abstract).
288. Turkeltaub P. *FDA Medical Bulletin* 1994;7, May.

289. Lüderitz-Püchel U, May S, Haustein D. Zwischenfälle nach Hyposensibilisierung. *Münch med Wschr* 1996;138:129-32.
290. Normal PS. Safety of allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:438-9.
291. The waiting period after allergen skin testing and immunotherapy. *American Academy of Allergy and Immunology. J Allergy Clin Immunol* 1990;85:526-7.
292. Müller U, Mosbech H, Blaauw P, et al. Emergency treatment of allergic reactions to Hymenoptera stings. *Clin Exp Allergy* 1991;21:281-8.
293. Müller U, Mosbech H, Aberer W, et al. Adrenaline for emergency kits. *Allergy* 1995;50:783-7.
294. Practice Parameters for Allergen Immunotherapy. Joint Task Force on Practice Parameters (American Academy of Allergy, the American College of Allergy, Asthma and Immunology, the Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology). *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:1001-11.
295. Cooper PJ, Darbyshire J, Nunn AJ, Wagner JO. A controlled trial of oral hyposensitization in pollen asthma and rhinitis in children. *Clin Allergy* 1984;14:541-50.
296. Taudorf E, Laursen LC, Djurup R, et al. Oral administration of grass pollen to hay fever patients. An efficacy study in oral hyposensitization. *Allergy* 1985;40:321-35.
297. Mosbech H, Dreborg S, Madsen F, et al. High dose grass pollen tablets used for hyposensitization in hay fever patients. A one-year double blind placebo-controlled study. *Allergy* 1987;42:451-5.
298. Oppenheimer J, Areson JG, Nelson HS. Safety and efficacy of oral immunotherapy with standardized cat extract. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:61-7.
299. Moller C, Dreborg S, Lanner A, Bjorksten B. Oral immunotherapy of children with rhinoconjunctivitis due to birch pollen allergy. A double blind study. *Allergy* 1986;41:271-9.
300. Giovane AL, Bardare M, Passalacqua G, et al. A three-year double-blind placebo-controlled study with specific oral immunotherapy to Dermatophagoides: evidence of safety and efficacy in paediatric patients. *Clin Exp Allergy* 1994;24:53-9.
301. Taudorf E, Laursen LC, Lanner A, et al. Oral immunotherapy in birch pollen hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 1987;80:153-61.
302. Scadding G, Brostoff J. Low dose sublingual therapy in patients with allergic rhinitis due to house dust mite. *Clin Allergy* 1986;16:493-9.
303. Reilly D, Taylor M, Beattie N, et al. Is evidence for homeopathy reproducible? *Lancet* 1994;334:1601-6.
304. Van-Niekerk CH, De-Wet JI. Efficacy of grass-maize pollen oral immunotherapy in patients with seasonal hay-fever: a double-blind study. *Clin Allergy* 1987;17:507-13.
305. Feliziani V, Marfisi RM, Parmiani S. Rush immunotherapy with sublingual administration of grass allergen extract. *AJergol Immunopathol Madr* 1993;21:173-8.
306. Casanovas M, Guerra F, Moreno C, Miguel R, Maranon F, Daza JC. Double-blind, placebo-controlled clinical trial of preseasonal treatment with allergenic extracts of *Olea europaea* pollen administered sublingually. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1994;4:305-14.
307. Feliziani V, Lattuada G, Parmiani S, Dall' Aglio PP. Safety and efficacy of sublingual rush immunotherapy with grass allergen extracts. A double blind study. *AJergol Immunopathol Madr* 1995;23:224-30.
308. Sabbah A, Hassoun S, Le-Sellin J, Andre C, Sicard H. A double-blind, placebo-controlled trial by the sublingual route of immunotherapy with a standardized grass pollen extract. *AJergy* 1994;49:309-13.
309. Tari MG, Mancino M, Monti G. Efficacy of sublingual immunotherapy in patients with rhinitis and asthma due to house dust mite. A double-blind study. *AJergol Immunopathol Madr* 1990;18:277-84.
310. Troise C, Voltolini S, Canessa A, Pecora S, Negrini AC. Sublingual immunotherapy in *Parietaria pollen*-induced rhinitis: a double-blind study. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1995;5:25-30.
311. Nelson HS, Oppenheimer J, Vatsia GA, Buchmeier A. A double-blind, placebo-controlled evaluation of sublingual immunotherapy with standardized cat extract. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:299-36.
312. Georgitis JW, Nickelsen JA, Wypych JI, Kane JH, Reisman RE. Local nasal immunotherapy: efficacy of low-dose aqueous ragweed extract. *J Allergy Clin Immunol* 1985;75:496-500.
313. Georgitis JW, Nickelsen JA, Wypych JI, Barde SH, Clayton WF, Reisman RE. Local intranasal immunotherapy with high-dose polymerized ragweed extract. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1986;81:170-3.
314. Welsh PW, Butterfield JH, Yunginger JW, Agarwal MK, Gleich GJ. Allergen-controlled study of intranasal immunotherapy for ragweed hay fever. *J Allergy Clin Immunol* 1983;71:454-60.
315. Ariano R, Panzani RC, Chiapella M, Augeri G, Falagiani P. Local intranasal immunotherapy with allergen in powder in atopic patients sensitive to *Parietaria officinalis* pollen. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1995;5:126-32.
316. Andri L, Senna GE, Betteli C, et al. Local nasal immunotherapy in allergic rhinitis to *Parietaria*. A double-blind controlled study. *Allergy* 1992;47:318-23.
317. Andri L, Senna GE, Betteli C, Giovanni S, Andri G, Falagiani P. Local nasal immunotherapy for Dermatophagoides-induced rhinitis: efficacy of a powder extract. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:987-96.
318. Andri L, Senna G, Andri G, et al. Local nasal immunotherapy for birch allergic rhinitis with extract in powder form. *Clin Exp Allergy* 1995;25:1092-9.
319. Andri L, Senna G, Betteli C, et al. Local nasal immunotherapy with extract in powder form is effective and safe in grass pollen rhinitis: a double-blind study. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:31-41.
320. Bardare M, Zani G, Novembre E, Vierucci A. Local nasal immunotherapy with a powdered extract for grass pollen induced rhinitis in pediatric age. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1996;6:359-63.
321. Cirila A, Sforza N, Roffi G, et al. Preseasonal intranasal immunotherapy in birch-alder allergic rhinitis. A double-blind study. *Allergy* 1996;51:299-306.
322. D' Amato G, Lobefalo G, Liccardi G, Cazzola M.A. A double-blind, placebo-controlled trial of local nasal immunotherapy in allergic rhinitis to *Parietaria* pollen. *Clin Exp Allergy* 1995;25:141-8.
323. Georgitis JW, Reisman RE, Clayton WF, Mueller UR, Wypych JI, Arbesman CE. Local intranasal immunotherapy of grass-allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1983;71:71-6.
324. Georgitis JW, Clayton WF, Wypych JI, Barde SH, Reisman RE. Further evaluation of local intranasal immunotherapy with aqueous and allergoid grass extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1984;74:694-700.
325. Johansson SG, Deuschl H, Zetterstrom O. Use of glutaraldehyde-modified timothy grass pollen extract in nasal hyposensitization treatment of hay fever. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1979;60:447-60.
326. Nickelsen JA, Goldstein S, Mueller U, Wypych J, Reisman RE, Arbesman CE. Local intranasal immunotherapy for ragweed allergic rhinitis. II.

- Immunologic response. *J Allergy Clin Immunol* 1981;68:41-5.
327. Passalacqua G, Albano M, Ruffoni S, et al. Nasal immunotherapy to *Parietaria*: evidence of reduction of local allergic inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:461-6.
328. Schumacher MJ, Pain MC. Intranasal immunotherapy and polymeized grass pollen allergens. *Allergy* 1982;37:241-8.
329. Welsh PW, Zimmermann EM, Yunginger JW, Kern EB, Gleich GJ. Preseasonal intranasal immunotherapy with nebulized short ragweed extract. *J Allergy Clin Immunol* 1981;67:237-42.
330. Bjorksten B. Local immunotherapy is not documented for clinical use. *Allergy* 1994;49:299-301.
331. Crimi E, Voltolini S, Troise C, et al. Local immunotherapy with *Dermatophagoides* extract in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:721-8.
332. Tari MG, Mancino M, Monti G. Immunotherapy by inhalation of allergen in powder in house dust allergic asthma- a double-blind study. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1992;2:59-67.
333. Ownby DR, Adinoff AD. The appropriate use of skin testing and allergen immunotherapy in young children. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:662-5.
334. Jacobsen L. The benefit of specific allergy treatment. In: Basomba A, Sastre J, ed. Proceedings of the XVI European congress of Allergology and Clinical Immunology. Bologna, Italy: Monduzzi Editore. 1995:745-50.
335. Jacobsen L, Dreborg S, Møller C, et al. Immunotherapy as a preventive treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:232 (abstract).
336. Des-Roches A, Paradis L, Knani J, Hejjoui A, Dhivert H, Michel F. Specific Immunotherapy prevents the onset of new sensitizations in monosensitized children. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:309 (abstract).
337. Barnard J. Studies of 400 hymenoptera sting deaths. *J Allergy Clin Immunol* 1973;52:259-64.
338. Ownby DR, Adinoff AD. The appropriate use of skin testing and allergen immunotherapy in young children. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:662-5.
339. Perrin JM, MacLean W, Jr., Perrin EC. Parental perceptions of health status and psychologic adjustment of children with asthma. *Pediatrics* 1989;82:26-30.
340. Oppenheimer JJ, Nelson HS, Bock SA, Christensen F, Leung DY. Treatment of peanut allergy with rush immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:256-62.
341. Sampson HA. Food Allergy and the role of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:151-2.
342. Glover MT, Atherton DJ. A double-blind controlled trial of hyposensitization to *Dermatophagoides pteronyssinus* in children with atopic eczema. *Clin Exp Allergy* 1992;22:440-6.
343. Leroy B, Lachapelle JM, Jacquemin MG, Saint-Remy JM. Immunotherapy: of atopic dermatitis by injections of antigen-antibody complexes. *Dermatology* 1993;186:276-7.
344. Kaplan AP, Anderson JA, Valentine MD, et al. Beta-adrenergic blockers, immunotherapy, and skin testing. American Academy of Allergy and Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:129-30.
345. Schwartz HJ, Golden DB, Lockey RF. Venom immunotherapy in the Hymenoptera-allergic pregnant patient. *J Allergy Clin Immunol* 1990;85:709-12.
346. Schumacher MJ, Tveten MS, Egen NB. Rate and quantity of delivery of venom for honeybee stings. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:831-5.
347. Golden DB, Valentine MD, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Regimens of Hymenoptera venom immunotherapy. *Ann Intern Med* 1980;92:620-4.
348. Reisman RE, Livingston A. Venom immunotherapy: 10 years of experience with administration of single venoms and 50 micrograms maintenance doses. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:1189-95.
349. Bousquet J, Menardo JL, Aznar R, Robinet-Levy M, Michel FB. Clinical and immunologic survey in beekeepers in relation to their sensitization. *J Allergy Immunol* 1984;73:332-40.
350. Bousquet J, Menardo KL, Velasquez G, Michel FB. Systemic reactions during maintenance immunotherapy with honey bee venom. *Ann Allergy* 1988;61:63-8.
351. Kampelmacher MJ, van-der-Zwan JC. Provocation test with a living insect as a diagnostic tool in systemic reactions to bee and wasp venom: a prospective study with emphasis on the clinical aspects. *Clin Allergy* 1987;17:317-27.
352. van-Halteren HK, van-der-Linden PW, Burgers SA, Bartelink AK. Hymenoptera sting challenge of 348 patients: relation to subsequent field stings. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1058-63.
353. Blaauw PJ, Smithuis OL, Elbers AR. The value of an in hospital insect sting challenge as a criterion for application or omission of venom immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:39-47.
354. Franken HH, Dubois AE, Minkema HJ, van-der-Heide S, de-Monchy JG. Lack of reproducibility of a single negative sting challenge response in the assessment of anaphylactic risk in patients with suspected yellow jacket hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:431-6.
355. Rueff F, Przybilla B, Müller U, Mosbech H. The sting challenge test in Hymenoptera venom allergy. Position paper of the Subcommittee on Insect Venom of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. *Allergy* 1996;51:216-25.
356. Nordvall SL, Johansson SG, Ledford DK, Lockey RF. Allergens of the imported fire ant. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:567-76.
357. Norman P. Is there a role for immunotherapy in the treatment of asthma? Yes. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1225-8.
358. Barnes P. Is there a role for immunotherapy in the treatment of asthma? No. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1227-8.
359. Bousquet J, Dhivert H, Michel FB. Current trends in the management of allergic diseases. *Allergy* 1994;49:31-6.
360. Bush R, Huftel M, Busse W. Patient selection. In: Lockey R, Bukantz S, ed. Allergen immunotherapy. New York: Marcel Dekker, 1991:25-49.
361. Platts-Mills T, Vervloet D, Thomas W, Aalberse R, Chapman M. Report of the Third International Workshop on indoor allergens and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1997; in press.
362. Reed CE, Yunginger JW, Evans R. Quality assurance and standardization of allergy extracts in allergy practice. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:4-8.
363. Position paper on allergen immunotherapy. Report of a BSACI working party. January-October 1992. *Clin Exp Allergy* 1993;3:1-44.
364. Munir AK, Bjorksten B, Einarsson R, et al. Cat (Fel d 1), dog (Can f 1), and cockroach allergens in homes of asthmatic children from three climatic zones in Sweden. *Allergy* 1994;49:508-16.
365. Weiss KB, Gergen PJ, Hodgson TA. An economic evaluation of asthma in the United States. *N Engl J Med* 1992;326:862-6.
366. Adeloeth E, Rosenhall L, Glennow C. High dose inhaled budesonide in the treatment of severe steroid-dependent asthmatics. A two-year study. *Allergy* 1985;40:58-64.
367. Rutten-van-Molken MP, Van-Doorslaer EK, Jansen MC, Kerstjens HA, Rutten FF. Costs and effects of inhaled cor-

- ticosteroids and bronchodilators in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:975-82.
368. Welss K. The impact of pharmacologic therapy on the costs of asthma. *Allergy Proc* 1994;15:189-92.
369. Hughes DM, McLeod M, Garner B, Goldbloom RB. Controlled trial of a home and ambulatory program for asthmatic children. *Pediatrics* 1991;87:54-61.
370. Mayo PH, Richman J, Harris HW. Results of a program to reduce admissions for adult asthma. *Ann Intern Med* 1990;112:864-71.
371. Ross RN, Morris M, Sakowitz SR, Berman BA. Cost-effectiveness of including cromolyn sodium in the treatment program for asthma: a retrospective, record-based study. *Clin Ther* 1988;10:188-203.
372. Mahr TA, Evans RD. Allergist influence on asthma care. *Ann Allergy* 1993;71:115-20.
373. Doan T, Grammer LC, Yarnold OR, Greenberger PA, Patterson R. An intervention program to reduce the hospitalization cost of asthmatic patients requiring intubation. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996;76:513-8.
374. Storms B, Olden L, Nathan R, Bodman S. Effect of allergy specialist care on the quality of life in patients with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;75:491-4.
375. Sullivan T, Selner J, Patterson R, Portnoy J, Seligman CA, N. Expert care and immunotherapy for asthma. A review of published studies with emphasis on patient outcome and cost. American College of Allergy, Asthma and Immunology 1996.
376. Bousquet J, Bullinger M, Fayol C, Marquis P, Valentin B, Burtin B. Assessment of quality of life in patients with perennial allergic rhinitis with the French version of the SF-36 Health Status Questionnaire. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:182-8.
377. Liblau RS, Singer SM, McDevitt HO. Th1 and Th2 CD4+ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunol Today* 1995;16:34-8.
378. Rapoport MJ, Jaramillo A, Zipris D, et al. Interleukin 4 reverses T cell proliferative unresponsiveness and prevents the onset of diabetes in nonobese diabetic mice. *J Exp Med* 1993;178:87-99.
379. Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu Rev Immunol* 1996;14:233-58.
380. Kuchroo VK, Das MP, Brown JA, et al. B7-1 and B7-2 costimulatory molecules activate differentially the Th1/Th2 developmental pathways: application to autoimmune disease therapy. *Cell* 1995;80:707-18.
381. Singh RR, Hahn BH, Sercarz EE. Neonatal peptide exposure can prime T cells and, upon subsequent immunization, induce their immune deviation: implications for antibody vs T cell-mediated autoimmunity. *J Exp Med* 1996;183:1613-21.
382. Genain CP, Abel K, Belmar N, et al. Late complications of immune deviation therapy in a nonhuman primate. *Science* 1996;274:2054-7.
383. Blanas E, Carbone FR, Allison J, Miller JF, Health WR. Induction of autoimmune diabetes by oral administration of autoantigen. *Science* 1996;274:1707-9.
384. Weiner HL, Mackin GA, Matsui M, et al. Double-blind pilot trial of oral tolerization with myelin antigens in multiple sclerosis. *Science* 1993;259:1321-4.
385. Trentham DE, Dynesius-Trentham RA, Orav EJ, et al. Effects of oral administration of type II collagen on rheumatoid arthritis. *Science* 1993;261:1727-30.
386. Keller RJ, Eisenbarth GS, Jackson RA. Insulin prophylaxis in individuals at high risk of type I diabetes. *Lancet* 1993;341:927-8.
387. Valenta R, Kraft D. Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic diseases. *Curr Opin Immunol* 1995;7:751-6.
388. Anderson P. Delivery systems for immunomodulatory proteins and peptides. *BioDrugs* 1997;7:51-65.
389. McWilliams AS, Steward GA. Production of multilamellar, small unilamellar and reverse-phase liposomes containing house dust mite allergens. Potential adjuvants in the immunotherapy of allergic disease. *J Immunol Methods* 1989;121:53-60.
390. Ferreira F, Hirthenlehner K, Briza P, et al. Isoforms of atopic allergens with reduced allergenicity but conserved T cell antigenicity: possible use for specific immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;113:125-7.
391. Ferreira F, Hirthenlehner K, Jilek A, et al. Dissection of immunoglobulin E and T lymphocyte reactivity of isoforms of the major birch pollen allergen Bet v 1: potential use of hypoallergenic isoforms for immunotherapy. *J Exp Med* 1996;183:599-609.
392. Smith AM, Chapman MD. Reduction in IgE binding to allergen variants generated by site-directed mutagenesis: contribution of disulfide bonds to the antigenic structure of the major house dust mite allergen. *Der p 2*. *Mol Immunol* 1996;33:399-405.
393. Noguchi E, Shibasaki M, Nishiyama C, Okumura Y, Takita H. IgE responsiveness to *Dermatophagoides farinae* in young asthmatic children: IgE binding study using recombinant allergens of Der f1, Der f2 and mutant proteins of Der f2. *Int Arch Allergy Immunol* 1996;110:380-7.
394. Vrtala S, Hirtenlehner K, Vangelista L, et al. Conversion of the major birch pollen allergen, Bet v1, into two non-anaphylactic T cell epitope-containing fragments: candidates for a novel form of immunotherapy. *J Clin Invest* 1997;99:1673-81.
395. Yssel H, Fasler S, Lamb J, de-Vries JE. Induction of non-responsiveness in human allergen-specific type 2 T helper cells. *Curr Opin Immunol* 1994;6:847-52.
396. Briner TJ, Kuo MC, Keating KM, Rogers BL, Greenstein JL. Peripheral T-cell tolerance induced in naive and primed mice by subcutaneous injection of peptides from the major cat allergen Fel d 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:7608-12.
397. Hoyne GF, Callow MG, Kuo MC, Thomas WR. Characterization of T-cell responses to the house dust mite allergen Der p II in mice. Evidence for major and cryptic epitopes. *Immunology* 1993;78:65-73.
398. Norman P, Ohman-Jr J, Long A, et al. Treatment of cat allergy with T-cell reactive peptides. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1623-8.
399. Ball T, Vrtala S, Sperr WR, et al. Isolation of and immunodominant IgE hapten from an epitope expression cDNA library. Dissection of the allergic effector reactions. *J Biol Chem* 1994;269:28323-8.
400. Gajhede M, Osmark P, Poulsen F, et al. X-ray and NMR structure of Bet v1, the origin of birch pollen allergy. *Nature Struct Biol* 1996;3:1040-4.
401. Fedorov A, Ball T, Mahoney N, Valenta R, Almo S. Crystal structure and IgE-epitope mapping of birch pollen profilin: Molecular basis for allergen cross-reactivity. *Structure* 1997;15:33-45.
402. Donnelly JJ, Ulmer JB, Liu MA. DNA vaccines *Life Sci* 1997;60:163-72.
403. Fynan EF, Webster RG, Fuller DH, Haynes JR, Santoro JC, Robinson HL. DNA vaccines: a novel approach to immunization. *Int J Immunopharmacol* 1995;17:79-83.
404. Raz E, Tighe H, Sato Y, et al. Preferential induction of a Th1 immune response and inhibition of specific IgE antibody formation by plasmid DNA immunization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:5141-5.

405. Hsu CH, Chua KY, Tao MH, et al Immunoprophylaxis of allergen-induced immunoglobulin E synthesis and airway hyperresponsiveness in vivo by genetic immunization. *Nat Med* 1996;2:540-4.
406. Lichtenstein L, Holtzman N, Bumett L. A quantitative in vitro study of the chromatographic distribution and immunoglobulin characteristics of human blocking antibody. *J Immunol* 1968;101:317-24.
407. Aalberse RC, van-der-Gaag R, van-Leeuwen J. Serologic aspects of IgG4 antibodies. Prolonged immunization results in an IgG4-restricted response. *J Immunol* 1983;130:722-6.
408. Birkner T, Rumpold H, Jarolim E, et al. Evaluation of immunotherapy-induced changes in specific IgE, IgG and IgG subclasses in birch pollen allergic patients by means of immunoblotting. Correlation with clinical response. *Allergy* 1990;45:418-26.
409. Menz G, Dolecek C, Schonheit-Kenn U, et al. Serological and skin test diagnosis of birch pollen allergy with recombinant Bet v 1, the major birch pollen allergen. *Clin Exp Allergy* 1996;26:50-6.
410. Pauli G, Oster JP, Deviller P, et al. Skin testing with recombinant allergens rBet v 1 and birch profilin, rBet v 2 diagnostic value for birch pollen and associated allergies. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1100-9.
411. Vrtala S, Susani M, Sperr WR, et al. Immunologic characterization of purified recombinant timothy grass pollen (*Phleum pratense*) allergens (Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5). *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:781-7.
412. Tame A, Sakiyama Y, Kobayashi I, Terai I, Kobayashi K. Differences in titres of IgE, IgG4 and other IgG subclass anti-Der p 2 antibodies in allergic and non-allergic patients measured with recombinant allergen. *Clin Exp Allergy* 1996;26:43-9.
413. Kobayashi I, Sakiyama Y, Tame A, Kobayashi K, Matsumoto S. IgE and IgG4 antibodies from patients with mite allergy recognize different epitopes of *Dermatophagoides pteronyssinus* group II antigen (Der p 2). *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:638-45.
414. Lebecque S, Dolecek C, Laffler S, et al. Immunologic characterization of monoclonal antibodies which modulate human immunoglobulin E binding to the major birch pollen allergen Ber v1. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:374-84.
415. Vasella CC, Odelram H, Kjellman NI, Borres MP, Vanto T, Bjorksten B. High anti-IgE levels at birth are associated with a reduced allergy prevalence in infants at risk: a prospective study. *Clin Exp Allergy* 1994;24:771-7.
416. Miescher S, Vogel M, Stampfli MR, et al. Domain-specific anti-IgE antibodies interfere with IgE binding to Fc epsilon-1. *Int Arch Allergy Immunol* 1994;105:75-82.
417. Shakib F, Smith SJ. In vitro basophil histamine-releasing activity of circulating IgG1 and IgG4 autoanti-IgE antibodies from asthma patients and the demonstration that anti-IgE modulates allergen-induced basophil activation. *Clin Exp Allergy* 1994;24:270-5.
418. Presta L, Shields R, O'Connell L, et al. The binding site on human immunoglobulin E for its high affinity receptor. *J Biol Chem* 1994;269:26368-73.
419. Fahy J, Fleming H, Wong H, et al. The effect of an anti-IgE monoclonal antibody on the early and late phase responses to allergen inhalation in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1828-34.
420. Demoly P, Bousquet J. Anti IgE therapy for asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1825-7.
421. Hellman L. Profound reduction in allergen sensitivity following treatment with a novel allergy vaccine. *Eur J Immunol* 1994;24:415-20.
422. Stadler B, Rudolf M, Vogel M, Mieser S, Zurcher A, Kricek F. Can active immunization redirect an anti-IgE immune response? *Int Arch Allergy Immunol* 1997;216-8.