

# Envenenamiento por picaduras de abeja

Adolfo R. de Roodt,<sup>a</sup> Oscar D. Salomón,<sup>b</sup> Tomás A. Orduna,<sup>c</sup> Luis E. Robles Ortiz,<sup>d</sup> Jorge F. Paniagua Solís,<sup>e</sup> y Alejandro Alagón Cano<sup>e\*</sup>

<sup>a</sup>Área de Investigación y Desarrollo/Serpentario, Instituto Nacional de Producción de Biológicos – A.N.L.I.S. – "Dr. C. G. Malbrán"; <sup>b</sup>Centro Nacional de Investigación en Endemo-epidemias, A.N.L.I.S. "Dr. C. G. Malbrán"; <sup>c</sup>Centro de Estudios Médicos de Patologías Regionales Argentinas, Hospital de Infecciosas "Francisco J. Muñiz", Buenos Aires, Argentina. <sup>d</sup>Laboratorios Silanes S.A. de C.V., Dirección de Investigación y Desarrollo, México DF, México. <sup>e</sup>Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México.

Recibido: 23 de marzo de 2004

Aceptado: 2 de abril de 2004

## RESUMEN

*Dentro de las patologías humanas producidas por animales con la capacidad de inocular veneno, las picaduras de abeja producen el mayor número de accidentes por animales en muchos países, superando a menudo en mortalidad a los producidos por serpientes, escorpiones y arañas. El cuadro clínico por la picadura de estos himenópteros puede consistir en fenómenos alérgicos o en cuadros de envenenamiento. Éstos últimos se producen por el ataque de enjambres constituyendo un hecho grave que puede comprometer la vida. En el sujeto envenenado pueden observarse hemólisis, rhabdomiólisis e insuficiencia renal, que junto a otras alteraciones sistémicas pueden conducir a la muerte. El conocimiento de los acontecimientos fisiopatológicos que se producen ante los ataques masivos de abejas es de suma importancia para el personal de salud dado que hasta la fecha no existen antivenenos que hayan demostrado tener eficacia clínica comprobada. En esta revisión se consideran los aspectos biológicos de las abejas y de la composición de su veneno relacionado con la ocurrencia y severidad de los accidentes, así como datos epidemiológicos de utilidad para enfrentarse a este tipo de cuadro.*

## Palabras clave:

*Abeja, diagnóstico, envenenamiento, himenópteros, tratamiento, veneno*

## SUMMARY

*Among the human pathologies produced by venomous animals, bee stings constitute the largest number of accidents in several countries, exceeding the mortality rate caused by other venomous animals such as snakes, spiders or scorpions. The clinical picture after the bee sting may include anaphylaxis or poisoning. The latter is produced by massive attacks and is a serious problem that may put the patient's life at risk. People that are poisoned display hemolysis, rhabdomyolysis and acute renal failure that together with other systemic failures can bring about death. The knowledge of the physiopathological mechanisms involved in the massive attack of bees is crucial for health care professionals as to date we do not have antivenoms with proven clinical efficacy. In this review we include the bee's biological aspects, venom composition and its relation with the occurrence and severity of accidents as well as epidemiological data that can be useful for this type of accidents*

## Key words:

*Bee, diagnosis, envenoming, Hymenoptera, treatment, venom*

## Introducción

**E**l envenenamiento producido por la picadura de animales ponzoñosos y venenosos se relaciona generalmente con serpientes, arañas y escorpiones, como expresión de un temor atávico arraigado en muchas culturas. Paradójicamente, las abejas y avispas no tienen una imagen negativa o "temible" en la sociedad, aunque en diferentes latitudes son los animales venenosos que producen la mayor cantidad de accidentes en los humanos. Estos insectos provocan en muchos países incluso más muertes que los arácnidos y ofidios.<sup>1</sup> En EUA se estiman 22 óbitos/año debido a abejas y avispas, sin considerar el subregistro debido a accidentes

indirectos cardíacos o automovilísticos,<sup>2</sup> en la Argentina en los años 1997 y 1998 se produjeron siete muertes por picadura de himenópteros<sup>3</sup> mientras que en México en 1998 se notificaron 17,478 personas picadas por abejas.<sup>4</sup> Las lesiones que pueden conducir a la muerte se presentan por dos mecanismos principales: la anafilaxia y el envenenamiento.<sup>5</sup> El primer caso se da cuando el sujeto picado es hipersensible al veneno de abeja<sup>6,7</sup> y el segundo cuando se producen picaduras masivas, las que suelen darse usualmente en trabajadores de apiarios o por el ataque de enjambres de abejas africanizadas a la población en general.<sup>8-10</sup>

El orden Hymenoptera comprende varios grupos con especies venenosas: hormigas (Familia Formicidae), avispas (Superfamilias Vespoidea y Sphecoidea), y abejas

\* Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. Alejandro Alagón Cano, Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 2001, Cuernavaca, Morelos, México, 62210. Correo electrónico: alagon@ibt.unam.mx

(Superfamilia Apoidea). El mecanismo de inoculación es mediante un aguijón, aunque hay especies de hormigas que pueden envenenar por mordedura o rociado, y avispas que pueden hacerlo mediante la miel (*Brachygastra* sp.). La superfamilia Apoidea comprende abejorros (Familias Bombidae, Xilocopidae), y abejas (Familia Apidae, Género *Apis*). En estos insectos el aparato inoculador se encuentra en la base de las valvas del IX segmento abdominal. La glándula de veneno (filamentos secretores y reservorio) está asociada a un aguijón quitinoso, ovipositor tubular modificado en un bulbo y un conducto del que sólo protruye en estado de reposo la punta aguzada.<sup>11</sup> El veneno de los himenópteros tiene como fin la defensa (abejas obreras, abejorros, avispas), lucha de dominancia (abejas reinas) y/o la caza (avispas). El canal inoculador está compuesto de un estilete dorsal y dos lancetas latero-inferiores, deslizables hacia atrás y adelante. En las abejas obreras las lancetas constan de 9 a 10 barbas recurvadas hacia atrás, lo que provoca que al moverse las piezas alternadamente se introduzcan como anzuelos cada vez más profundo, pero no puedan ser retiradas de sitio de picadura.<sup>12,13</sup> El ataque de la abeja es así una defensa altruista, pues el insecto deja clavado el aguijón con su glándula tras la picadura, arrancados del abdomen y muere, mientras las avispas y abejorros pueden picar varias veces. Las glándulas asociadas al ovipositor se modifican a su vez para producir sustancias químicas de comunicación<sup>14</sup> como el acetato de isopentil, la principal feromona de alarma, que se libera al proyectarse el aguijón y aún más al ser arrancado. Esta feromona modifica el umbral ante los estímulos de perturbación como campos eléctricos<sup>15</sup> aumentando la agresividad del resto de los individuos de la colmena, e induce una analgesia, vía un sistema opioide, reduciendo los comportamientos de huida durante el ataque.<sup>16</sup>

Menos de 5% de las 20,000 especies estimadas de abejas son sociales, y por lo tanto pueden producir ataques masivos o generar situaciones de riesgo al enjambrar o construir panales cerca o en el interior de domicilios. Sin embargo, esta situación es contrarrestada por la amplia distribución e intensa convivencia de los humanos con las abejas melíferas, originarias de Asia y oriente medio, pero domesticadas y transportadas voluntaria y tempranamente por los inmigrantes europeos a América. Las especies más frecuentemente criadas en este continente son *Apis mellifera mellifera* (negra o alemana o europea), *A. m. ligustica* (italiana), *A. m. carnica* y *A. m. caucasica*. Con el objeto de aumentar la producción se introdujeron en Brasil, en 1956, abejas reinas africanas *A. m. scutellata* (ex *Apis mellifera adamsoni*), especie que brinda una alta producción de miel.<sup>8</sup> Estas abejas escaparon al control de apiarios y comenzaron a cruzarse con otras subespecies formando cruza de distintas razas, no manteniendo un linaje puro por lo que se las denomina «abejas africanizadas».<sup>13,17</sup> La mayor gravedad de los accidentes producidos por los linajes "africanizados" se debe a sus características etológicas de base genética:<sup>18</sup> 1) son más defensivas, 2) poseen un menor umbral de irritabilidad, 3) probablemente dispersan más feromona de alarma aumentando la probabilidad de ataques múltiples, 4) permanecen excitadas por más tiempo, hasta 24 hrs después de una perturbación, 5) realizan una persecución más persistente, hasta 200 metros del sitio del ataque inicial.<sup>5</sup> Esta última

característica indica la distancia que debe ser superada para disminuir la cantidad de picaduras, al tiempo que explicaría la mayor incidencia de ataques masivos en grupos etarios mayores o grupos con impedimentos de movilidad. Como las otras abejas pueden crear nidos al aire libre o en bosques densos, en desmontes, en llanura o en zonas serranas y se pueden adaptar al clima tropical o subtropical. Desde su foco de dispersión en Brasil, se trasladaron hacia el norte y el sur, a razón de unos 320 km/año, encontrándose hoy prácticamente desde toda América del Sur hasta el sur de Estados Unidos.<sup>4,8,19-21</sup> Sin embargo, hay que considerar que aún sin africanización, hay numerosas colonias silvestres de abejas melíferas originadas de fugas de apiarios, que pueden tener de 20,000 a 60,000 individuos. La mayoría de los accidentes masivos se producen por el ataque de enjambres "africanizados", aunque también pueden producirse por abejas melíferas "normales" en colmenas. Se debe tener presente al considerar ataques múltiples que con más de 100 picaduras hay riesgo de envenenamiento y con más de 500 alta probabilidad de muerte.<sup>22</sup> En México se observó una relación importante ( $r^2 > 0.5$ ) entre la cantidad de sujetos picados entre enero y junio de 2001 ( $n = 300$ ) y la cantidad de enjambres de cada delegación (1365 colmenas totales), dando un promedio de 0.22 individuos picados por colmena (L.E. Robles Ortiz, comunicación personal).

### Veneno de abeja

La cantidad de veneno extraído por abeja es muy variable, así como lo es la proporción de los diferentes componentes, pudiendo hallarse ejemplares con más de 300 µg de veneno.<sup>21</sup> La composición relativa y por lo tanto sus efectos, puede variar estacionalmente, con la edad, o en función de las flores frecuentadas.<sup>2,21</sup>

El veneno de abejas está constituido por una compleja mezcla de sustancias, con proteínas mayoritariamente neutras o de punto isoelectrico básico<sup>23</sup> siendo las principales enzimas, péptidos y aminos biogénicas. Estas proteínas poseen acciones farmacológicas y alérgicas capaces de provocar cuadros de envenenamiento en el humano y en animales.<sup>22,24-26</sup> El veneno puede producir bloqueo neuromuscular y conducir a parálisis respiratoria. Tiene acción destructiva sobre las membranas biológicas, por lo que algunas de las actividades biológicas más conspicuas del envenenamiento son la hemólisis y la miotoxicidad.<sup>9,22,27,28</sup> Sus componentes principales son la melitina y la fosfolipasa A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) que constituyen 50 - 75% de la masa total del veneno, aunque posee varios otros componentes biológicamente activos.

En sujetos que sufrieron picaduras masivas se han encontrado lesiones cardíacas<sup>9,29</sup> que podrían ser atribuidas a la acción tóxica del veneno aunque experimentalmente se sugirió que estas lesiones podrían ser producidas por un mecanismo indirecto, favorecidas por los niveles altos de noradrenalina.<sup>30</sup>

El veneno de abeja posee componentes proteicos capaces de producir manifestaciones farmacológicas similares a las observadas en los procesos de tipo alérgico. Entre estos componentes se pueden mencionar las lipasas, fosfatasa, fosfolipasas y hialuronidasas. Los principales alérgenos son

la PLA<sub>2</sub> en primer lugar, la hialuronidasa y la melitina,<sup>4,7,8,31-34</sup> mientras que componentes como la apamina y el péptido degranulador de mastocitos (MDG-P) serían los menos alergénicos.<sup>34</sup>

Los venenos de *Apis mellifera scutellata* y la abeja africanizada, si bien presentan algunas variaciones cromatográficas,<sup>35</sup> son muy parecidos.<sup>36</sup> Por otro lado, se pueden encontrar diferencias pequeñas entre individuos de *Apis mellifera mellifera* y las africanizadas, las que se toman mucho menos notorias cuando se estudia el veneno proveniente de gran número de animales.<sup>25</sup> La dosis letal endovenosa en ratón del veneno de las abejas es también bastante similar, sin embargo las *Apis mellifera mellifera* posee más veneno que las africanizadas, porque durante un minuto inyectan 147 y 94 µg de veneno, respectivamente;<sup>25</sup> las primeras tienen mayor contenido de melitina, mientras que las africanas tienen mayor cantidad de PLA<sub>2</sub>.<sup>1,25,26,36</sup> Estas evidencias sugieren que la mayor gravedad de los ataques debidos a abejas africanizadas se debe más bien a la mayor cantidad de picaduras en los ataques que a una mayor toxicidad de su veneno.<sup>25</sup>

A continuación se mencionan algunas características de los componentes más abundantes del veneno de *Apis mellifera*.

- A. Fosfolipasa: Las fosfolipasas de himenópteros pertenecen al grupo III de fosfolipasas A<sub>2</sub>; estructuralmente son diferentes a las de las serpientes y están más relacionadas con las de las dos únicas especies de saurios venenosos.<sup>37</sup> Actúan de forma sinérgica con la melitina en la acción sobre membranas biológicas<sup>38</sup> aunque algunos autores opinan que no hay tal efecto sinérgico y dan el mayor peso a la melitina.<sup>24</sup> Recientemente se ha comunicado que la fosfolipasa posee actividad anticoagulante.<sup>39</sup>
- Al momento de la muda a adulto las abejas tienen niveles bajos de PLA<sub>2</sub>. Los niveles se incrementan hasta los diez días posteriores a la ecdisis y se mantiene en un nivel máximo (aproximadamente 40 µg / saco de veneno) por el resto de su vida.<sup>40</sup> Las fosfolipasas hidrolizan fosfolípidos libres y asociados a las membranas provocando lesiones tisulares y muerte celular por lisis.<sup>8</sup>
- B. Hialuronidasa: Hidroliza el ácido hialurónico del intersticio y facilita la difusibilidad de los otros componentes a partir del lugar de picadura.<sup>38</sup> Es uno de los principales alérgenos.
- C. Lipasas y fosfatasa: Intervienen en estos procesos de lisis y además atacan diferentes sustratos tisulares y restos celulares de las células lisadas, aumentando la gravedad de las lesiones locales.<sup>8</sup>
- D. Melitina: Tiene 26 aminoácidos y alrededor de 3.0 kDa de masa molecular; representa aproximadamente el 50% de la proteína total del veneno; posee acción citolítica y necrotizante sobre diferentes tipos celulares, mediante mecanismos no enzimáticos. Activa la fosfolipasa C y también puede activar la PLA<sub>2</sub> tisular, de manera similar a las cardiotoxinas de elápidos.<sup>41</sup> También se ha mencionado que puede activar a la fosfolipasa D.<sup>42</sup> Estas actividades combinadas producen diacilglicerol y ácidos grasos libres que pueden alterar las funciones de los canales de Na<sup>+</sup> abriendo el receptor de rianodina.<sup>41,42</sup> Se le identificó inicialmente como "factor hemolítico directo". Su capaci-

dad de hidrolizar membranas celulares se debe a que puede comportarse como un detergente. Esta actividad aumenta, según algunos autores, de forma sinérgica cuando actúa conjuntamente a la PLA<sub>2</sub> del veneno.<sup>38</sup> Experimentalmente se ha postulado una secuencia de eventos asociados con la muerte celular por la melitina. La melitina se uniría a la membrana plasmática desorganizando los lípidos y proteínas. Las glicoproteínas de superficie se separarían de la membrana. Finalmente, los cambios en la membrana aumentarían su permeabilidad induciendo profundos cambios de composición iónica y muerte de la célula afectada.<sup>43</sup> Adicionalmente, en los tejidos aumentaría la expresión de genes codificantes para la expresión de factor de necrosis tumoral alfa y de ciclooxigenasa-2 lo que aumentaría los procesos inflamatorios.<sup>44</sup>

- E. Apamina: Es un péptido que posee acción neurotóxica a nivel central y periférico en ratones. Constituye 2% del total del veneno,<sup>24</sup> sin embargo su papel en el envenenamiento no está totalmente esclarecido.<sup>4,13,38</sup> Bloquea específicamente algunos tipos de canales de K<sup>+</sup> activados por Ca<sup>2+</sup> como los del tipo AHP.
- F. Péptido degranulador de mastocitos (MCDP): Es un péptido pequeño que cromatográficamente por filtración en gel eluye junto a la melitina.<sup>38</sup> Produce la liberación de autacoides como derivados del ácido araquidónico, histamina y serotonina y es el mayor responsable del eritema que aparece en el lugar de la picadura.<sup>8</sup> Bloquea algunos tipos de canales de K<sup>+</sup> activados por voltaje.
- G. Otros componentes: También hay sustancias biogénicas como histamina, serotonina, dopamina, noradrenalina, bradiquinina y sustancia de reacción lenta en pequeñas cantidades. Otros péptidos presentes son la secaparina y la procamina aparentemente desprovistos de actividad tóxica para el hombre.<sup>8,38</sup> Uno de estos componentes, la tertiapina, un péptido de 21 aminoácidos que actúa sobre canales de K<sup>+</sup> muscarínicos en células de miocardio, es capaz de prevenir el bloqueo aurículoventricular inducido experimentalmente por acetil colina.<sup>45,46</sup> También se ha descrito que un péptido no tóxico, denominado cardioprep, posee acción semejante a drogas β-adrenérgicas y tiene propiedades antiarrítmicas.<sup>13</sup>

En tiempos más recientes se describió que los extractos de glándulas presentan actividad proteolítica, la cual es difícil observar en el veneno extraído por estimulación eléctrica. Las enzimas responsables de esta actividad pertenecen al grupo de las proteasas de serina.<sup>47</sup>

### *Alteraciones producidas por el envenenamiento*

Las alteraciones pueden producirse por anafilaxia o por picaduras masivas, y en ambos casos existe riesgo de muerte para el sujeto que recibe el ataque.<sup>8,48</sup>

En los cuadros de hipersensibilidad las alteraciones que se producen son las características para la anafilaxia de tipo I.<sup>7</sup>

En los envenenamientos, los mecanismos fisiopatológicos así como las alteraciones orgánicas que se observan, son

producidos por la acción tóxica de los componentes del veneno.<sup>8,9,36,49,50</sup> En sujetos picados por un número de abejas que oscila entre 200 y 1000, se observa hemólisis intravascular, dificultad respiratoria, disfunción hepática, rhabdomiólisis (con mioglobulinemia y mioglobiuria), hipertensión, lesión miocárdica, colapso y hemorragia.<sup>9</sup>

Estas patologías se producen tras las picaduras masivas, dada la gran cantidad de veneno que es introducida al organismo. El cuadro de envenenamiento se inicia en pocos minutos, sin embargo, aunque no sería lo más común, la literatura menciona un caso en que los signos de envenenamiento recién aparecieron a las 18 horas posteriores al ataque masivo.<sup>51</sup>

Se ha descrito la presencia de hemólisis y rhabdomiólisis.<sup>8,9,13,22</sup> La hemólisis se observa tanto en el hombre como en los animales domésticos<sup>52</sup> y se produciría por la acción de la melitina y la PLA<sub>2</sub> en forma sinérgica.<sup>8,38,41</sup> La rhabdomionecrosis se observa tanto clínica<sup>9,27,28</sup> como experimentalmente.<sup>53</sup> Estos dos fenómenos serían las principales causas de las lesiones renales provocadas por el veneno debido a que tanto la hemoglobina como la mioglobina pueden precipitar en los túbulos renales y llevar hasta insuficiencia renal aguda, una de las complicaciones más severas de este tipo de envenenamiento.<sup>9,27,28,53-58</sup>

Las lesiones renales pueden ser causadas también por la acción tóxica directa o por otros mecanismos indirectos, también provocados por el veneno, que disminuyen la perfusión renal como las alteraciones cardiovasculares o la coagulación intravascular diseminada.<sup>59,60</sup> En el envenenamiento pueden observarse alteraciones en el funcionamiento renal como disminución de la filtración glomerular y aumento de la creatinemia y de la excreción de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> sugiriendo lesiones en la porción proximal del riñón. Por otra parte, las alteraciones en la excreción de agua sugieren lesiones en el nefrón distal.

Los hallazgos histopatológicos muestran signos de lesiones agudas en pulmón, necrosis hepatocelular, necrosis tubular aguda, necrosis focal subendocárdica y coagulación intravascular diseminada.<sup>9</sup> En las arterias y venas puede observarse vasculitis.<sup>61</sup>

En los riñones, la necrosis tubular aguda se observa mayormente en la corteza y médula externa. Experimentalmente en los riñones de ratas inoculadas con veneno de abeja se observan acúmulos de actina y mioglobina. Al microscopio electrónico en los túbulos contorneados proximales se observaron alteraciones celulares en el ribete y en los pliegues vasolaterales y aumento de vacuolas intracitoplasmáticas. En el sector ascendente de las asas de Henle también se observó degeneración hidrópica. La muerte celular sería por apoptosis o por necrosis y causaría el desnudamiento de la membrana basal. En algunos casos se puede observar mielina intracitoplasmática y en ocasiones fragmentos de mitocondrias.<sup>60</sup> En cultivos de células de riñón de conejo se observó un efecto tóxico directo y alteraciones en el transporte celular.<sup>63</sup>

En perros se ha descrito la ocurrencia de anemia hemolítica inmunomediada secundaria al envenenamiento.<sup>62</sup>

Si bien no se debe descartar la acción tóxica directa del veneno en el músculo cardíaco, en el origen de las lesiones cardíacas que se describen para este tipo de envenenamiento<sup>9,22,29</sup> podría existir un mecanismo indirecto en el que interven-

drían los altos niveles de noradrenalina.<sup>30</sup> Por otro lado, el veneno de *Apis mellifera mellifera* en el corazón de sapo aislado produce aumento del segmento P-R y de la amplitud de la onda R y a los 30 minutos, alteraciones electrocardiográficas, mostrando un efectos cronotrópico negativo e inotrópico positivo.<sup>64</sup>

### Diagnóstico del envenenamiento

El diagnóstico de certeza lo da el hallazgo del aguijón en la piel debido a que la abeja pierde el aguijón tras picar. La gravedad del accidente depende de la localización y del número de picaduras y de la sensibilidad del picado a los componentes del veneno bioquímica (envenenamiento) e inmunológicamente (anafilaxia).

### Cuadro clínico

Las manifestaciones clínicas que se pueden ver son muy variables y pueden clasificarse en:

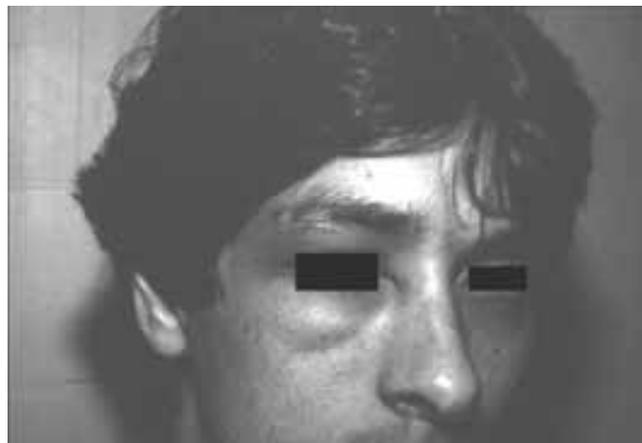
Alérgicas: producidas por la picadura en individuos sensibilizados previamente, se presenta como hipersensibilidad de Tipo I.

Tóxicas: cuando una gran cantidad de picaduras lleva a un síndrome de envenenamiento.

En sujetos no alérgicos al veneno se presenta un cuadro que puede ser local. La reacción local puede extenderse dando origen a una reacción regional y en menos del 1% de los envenenamientos este cuadro puede generalizarse.<sup>8</sup>

Según la localización de las lesiones los cuadros de envenenamiento pueden clasificarse en:

Manifestaciones locales: en la lesión local siempre están presentes el dolor y el eritema, seguidos de prurito y edema, los que pueden durar horas o días (Figuras 1 y 2). En general, a los pocos minutos posteriores a la picadura, el dolor suele desaparecer persistiendo el resto de los síntomas.<sup>63,66,67</sup>



**Figura 1:** Picadura de abeja en párpado superior. Edema bupalpebral y eritema con reacción conjuntival. 24 horas de evolución.



**Figura 2:** Picadura de abeja en labio inferior. El edema es favorecido por la laxitud del tejido afectado.

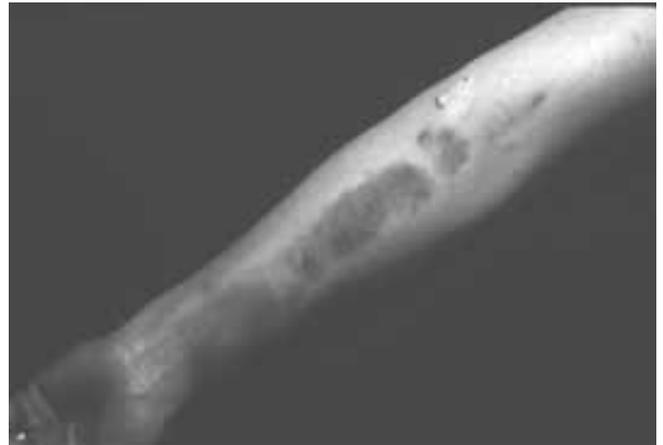
Manifestaciones regionales: inician por lesiones locales que van evolucionando muy lentamente (24-48 horas) hacia un edema flogístico con induración que puede limitar la movilidad de los miembros picados. Menos del 10% de los individuos con este tipo de manifestaciones presentan cuadros sistémicos.<sup>8</sup>

Manifestaciones sistémicas: pueden ser provocadas como consecuencias de reacciones tipo anafiláctico o por cuadros de envenenamiento.

Mención aparte debe hacerse de aquellas reacciones que por el sitio o el daño mecánico de la picadura presentan cuadros especiales como son las lesiones oculares,<sup>68</sup> cutáneas,<sup>69</sup> o de veneno inoculado en canal orofaríngeo.<sup>70</sup>

### Manifestaciones anafilácticas

Pueden ser desencadenadas por una única picadura. Aparecen 2-3 minutos después de la picadura y pueden presentarse simultáneamente con signos cutáneos del tipo de urticaria y signos orgánicos. El cuadro más grave es el choque anafiláctico, en el que hay hipotensión, que puede ser leve o



**Figura 3:** Equimosis de antebrazo por la agresión de varios ejemplares de *Apis mellifera mellifera* en una apicultora sensibilizada al veneno de abeja.

llegar al colapso vascular total. Además, puede acompañarse de broncoespasmo, edemas generalizados y edema de glotis. El 80% de las muertes por choque anafiláctico ocurre dentro de la hora posterior a la picadura.<sup>2</sup>

Otras manifestaciones en diferentes sistemas son:

Tegumento: prurito generalizado, eritema, equimosis, urticaria y angioedema.

Aparato respiratorio: rinitis, edema de laringe y árbol respiratorio, que provocan disnea, ronquidos, estridor y respiración asmátiforme. Puede haber broncoespasmo y/o edema de glotis.

Aparato digestivo: prurito en el paladar o en la faringe, edema de los labios, lengua, úvula y epiglotis, disfagia, náusea, cólicos abdominales o pélvicos, vómito y diarrea.

Sistema cardiocirculatorio: la hipotensión es la señal mayor, se manifiesta por embotamiento o insuficiencia postural hasta el colapso vascular total, que puede causar la muerte. Pueden ocurrir palpitaciones, aleteo auricular y arritmias cardíacas y cuando hay lesiones preexistentes (como arterioesclerosis), infartos isquémicos en el corazón o cerebro.

Se han descrito también casos de hipersensibilidad del tipo III que se presentan varios días tras la picadura con signos tales como reacción de Arthus (Figura 3), artralgias, fiebre y encefalitis.

### Cuadros de intoxicación

Es causada por la acción de los componentes tóxicos del veneno *per se* cuando se produce la inoculación masiva al recibir el sujeto cientos de picaduras, por lo que no es necesario que medie una sensibilización previa. Este tipo de accidente puede verse en los casos de los ataques de enjambres.

La reacción de envenenamiento comienza como una intoxicación histamínica sistémica (por su liberación inducida directamente por la melitina) y con cuadros de hemólisis que provocan anemia e ictericia. Hay rabdomiólisis con mialgias generalizadas, taquicardia, cefalea, náusea o vómito, cólicos

abdominales, elevación de creatín fosfocinasa (CPK), deshidrogenasa láctica (DHL), aldolasa y aspartato amino transferasa (AST). Pueden presentarse trastornos neurológicos con agitación psicomotora, convulsiones y coma, broncoespasmo, edema pulmonar e insuficiencia renal aguda.<sup>8,9,13,27,28,49,53</sup> Otras alteraciones menos frecuentes incluyen necrosis hepática, trombocitopenia, lesiones miocárdicas, coagulopatías, y arritmias cardíacas.<sup>22</sup> También se ha descrito la aparición de púrpura trombocitopénica.<sup>71</sup>

### Exámenes diagnósticos

No se realizan exámenes específicos para el diagnóstico. Pueden ser utilizados los análisis de orina y el hemograma completo como herramientas iniciales del diagnóstico en los cuadros sistémicos, seguidos de la cuantificación de bilirrubinas en suero. Las enzimas CPK, DHL y AST así como la creatinina se deben determinar para la evaluación del compromiso muscular.<sup>8,9,13,22</sup>

Son de utilidad los electrocardiogramas, ecocardiogramas y las radiografías de tórax, que deben acompañar a la evolución del cuadro clínico cardio-pulmonar.

Las determinaciones de urea, creatinina, sodio, potasio y calcio en el suero deben ser repetidas de acuerdo con la evolución de los pacientes. La gravedad del cuadro sistémico puede indicar la ejecución de exámenes específicos para la evaluación neurológica.

En los envenenamientos masivos puede llegar a observarse plasma de aspecto hemolítico, así como orina oscura a causa de la mioglobulinuria y al hemoglobulinuria.<sup>13,22</sup>

### Tratamiento

Lo más indicado en lo referente a las picaduras por himenópteros es la prevención, lo que es válido tanto para los procesos alérgicos como para los envenenamientos.

Los pacientes que hayan experimentado reacciones alérgicas sistémicas deberían ser orientados a medidas preventivas tendientes a minimizar la exposición a nuevas picadas, tales como evitar los lugares en que sabidamente pudiese haber himenópteros, el uso en las zonas de riesgo de ropas coloridas o perfumes, el uso de zapatos con medias, pantalones largos y camisas con mangas largas.<sup>22</sup> También la instrucción básica en el uso de glucocorticoides y adrenalina, ante la posibilidad de una reacción grave.<sup>7</sup> A los pacientes con historia de reacciones anafilácticas con riesgo de vida, podría estar indicado sugerirles la realización de un esquema de desensibilización.<sup>22</sup> La inmunoterapia con extractos de venenos purificados se ha demostrado efectiva en gran cantidad de pacientes alérgicos a los venenos de himenópteros.<sup>7</sup>

También para los ataques masivos, lo más indicado sería la prevención de los accidentes, sin embargo eso solamente es posible cuando se tiene noción de la cercanía del peligro, tanto sea por la presencia de panales de producción de miel o salvajes. Cuando se produce el ataque masivo, la única medida a tomar para prevenir las picaduras es correr 100 ó 200 metros, cubriéndose la cabeza, o sumergirse bajo agua, medidas poco convencionales para prevenir una patología o

un accidente pero sumamente útiles en estos casos. Por otra parte, con una atención adecuada se registró sobrevida a más de 2000 picaduras.<sup>72</sup>

Remoción de aguijones: ésta se deberá realizar con cada uno de los aparatos venenosos inyectados, quitándolos preferentemente por raspado. Si la extracción se hace con una pinza o las manos se corre el riesgo de apretar la bolsa de veneno conectada al aguijón e inocular veneno residual en el paciente, si bien existe evidencia que el método de extracción es menos importante que la rapidez del procedimiento.<sup>73</sup>

Tratamiento del dolor: se puede realizar con Dipirone 500 mg en adultos y 20 mg/kg en niños.

Reacciones alérgicas: el tratamiento clásico en adultos para las reacciones anafilácticas es la administración subcutánea de una solución acuosa de adrenalina 1:1000 con una dosis inicial de 0.5 ml repetida dos veces con intervalos de 10 minutos si es necesario.

En los niños se utiliza 0.01 ml/kg/dosis, pudiendo ser repetida dos o tres veces, con intervalos de 30 minutos, si no hay un aumento exagerado de la frecuencia cardíaca.

Los glucocorticoides y antihistamínicos no controlan las reacciones graves (urticaria masiva, edema de glotis, broncoespasmo y colapso) pero pueden reducir su intensidad y duración. Se recomienda para el uso rutinario endovenoso el succinato sódico de hidrocortisona 500-1000 mg o succinato sódico de metil prednisolona 50 mg, pudiendo repetirse la dosis cada 12 horas en adultos. En niños se sugieren 10 mg/kg de hidrocortisona seguidos de 4 mg/kg cada 6 horas. Para el alivio de las lesiones tegumentarias se recomienda el uso tópico de corticoides o de maleato de clorfeniramina por la vía oral (adultos: 6-18 mg/día; niños de 2-6 años: 3mg/día; niños de 6-12 años hasta 6 mg/día).

Las manifestaciones respiratorias asmátiformes provocadas por el broncoespasmo pueden ser controladas con oxígeno nasal y el uso de broncodilatadores como aminofilina endovenosa. Pueden utilizarse inhalaciones con broncodilatadores  $\beta$ -2-adrenérgicos (fenoterol, salbutamol) en las dosis habituales.

Medidas generales de soporte: es fundamental el control del equilibrio ácido-base y el balance hidroelectrolítico, manteniendo una diuresis de 30-40 ml/hora en el adulto y 1-2 ml/kg en los niños, inclusive con el uso de diuréticos como la furosemida (40 mg por la vía endovenosa en los adultos y 1 mg/kg en niños).

Seroterapia: no se producen aún antivenenos efectivos para uso terapéutico.

Complicaciones: el colapso anafiláctico, la insuficiencia respiratoria y la insuficiencia renal aguda deben ser tratadas de manera rápida y vigorosa. Los pacientes con signos sistémicos deben ser mantenidos en unidades de terapia intensiva debido al alto índice de mortalidad observado en estos casos.

Insuficiencia renal aguda: aunque el paciente esté bien hidratado, ante la presencia de oliguria o anuria se deben investigar los niveles de urea y creatinina. En los casos de IRA por la picadura de abejas se ha descrito necrosis tubular aguda.<sup>9,28</sup> De ahí la importancia del tratamiento adecuado de la hipotensión arterial, del mantenimiento del buen estado de hidratación y la diuresis y eventualmente la alcalinización de la orina (esto para evitar la precipitación de hemoglobina y mioglobina en los túbulos renales.<sup>9,13,22,74,75</sup>

## Discusión

Teóricamente los más expuestos a accidentes son los trabajadores de apiarios, para quienes se puede estimar el riesgo a reacciones alérgicas mediante pruebas de hipersensibilidad.<sup>76,77</sup> Sin embargo los accidentes graves pueden sucederle a cualquier persona debido a las características alérgicas del veneno, que en un sujeto presensibilizado, pueden provocar un colapso anafiláctico, aún cuando la reacción a la primera picadura haya sido normal. Los venenos de himenópteros presentan de los componentes más alérgicos entre los venenos de animales y son los animales venenos que mayor cantidad de fenómenos alérgicos producen.<sup>7,76-79</sup> Por ello se ha sugerido identificar los individuos hipersensibles en la población general para instruirlos en medidas profilácticas y curativas de emergencia, y eventualmente proceder a algún esquema de desensibilización. Se ha estimado que en los EUA existen entre 1.36 a 13.6 millones de individuos en riesgo de desarrollar respuestas anafilácticas a las picaduras de insectos.<sup>76</sup>

En relación a los ataques masivos, con la presencia de enjambres de abejas africanizadas, estos pueden suceder en lugares inesperados a cualquier individuo. Dada la persistencia en tiempo y espacio de la irritabilidad de estas abejas, la perturbación próxima al panal o enjambre puede no tener relación causal con el atacado. Recordemos a su vez que la agresión puede desencadenarse por perturbaciones difíciles de percibir como son los campos eléctricos (previo a tormentas, roce de ropa sintética o cabello), vibraciones (motores de baja frecuencia), movimientos rápidos, cambios de temperatura o descenso de la misma, desaparición brusca de la fuente azucarada, etc. Una vez iniciado el ataque este puede concentrarse en una o unas pocas víctimas probablemente por características fenotípicas y fisiológicas. La dosis de veneno así recibida, a su vez, se incrementa a medida que la feromona de alarma liberada por los aguijones insertos en la piel excita a nuevas abejas que pican al mismo individuo.

Aunque en general con el tratamiento médico se resuelven la mayoría de los accidentes, en los casos de envenenamiento grave la terapéutica se torna mucho más complicada. En esta instancia estaría indicada la aplicación de un antiveneno para neutralizar los efectos tóxicos de los diferentes componentes del veneno.<sup>9,36,49,71</sup> Sin embargo, a pesar de que el veneno de abeja puede generar anticuerpos que brindan cierto grado de protección<sup>80</sup> y que existen varias experiencias en la producción de antiveneno de abeja,<sup>36,50,70</sup> aún no se dispone de un antiveneno efectivo para este tipo de patología a nivel asistencial. Recientemente se ha comunicado la obtención de antivenenos que experimentalmente neutralizaron actividades biológicas del veneno de *A. mellifera*,<sup>36,50,54</sup> sin embargo, la potencia neutralizante de los mismos no es de las más altas y el tratamiento requeriría de grandes volúmenes de los mismos. Hasta que se logre desarrollar un antiveneno efectivo, el tratamiento médico es la única herramienta con que se cuenta para la terapéutica. Debido a esto, el conocimiento de los componentes del veneno y su papel en la fisiopatología del envenenamiento es de fundamental importancia para el adecuado entendimiento y tratamiento de este tipo de accidentes.

## Referencias

1. Langley RL, Morrow WE. Deaths resulting from animal attacks in the United States. *Wilderness Environ Med* 1997;8:8-16.
2. Ebeling W. Pests Attacking Man and His Pets. En: *Urban entomology*. University of California, Div of Agricultural Sciences, Riverside, 2002. pp. 353-393.
3. Ministerio de Salud y Acción Social. Boletín de Vigilancia Epidemiológica. Ministerio de Salud y Acción Social, Buenos Aires, 2000.
4. Pérez Sánchez R. Producción de un antiveneno de abeja. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California. Tijuana, Baja California, México, 2000.
5. Curci OH. Toxicología, 3ra edición. La Prensa Medica Argentina, Buenos Aires. 2004.
6. Schumacher MJ, Egen NB. Significance of Africanized bees for public health. A Review. *Arch Intern Med* 1995;155:2038-2043.
7. Valentine MD y Lichtenstein LM. Anafilaxis e hipersensibilidad a las picaduras de insecto. En: *Compendio de enfermedades alérgicas e inmunológicas*. Washington, P.H.O., 1989, Pub. Cient. N°: 513, pp. 68-74.
8. Azevedo-Marques MM, Cupo P, Hering S. Hymenópteros. En: *Acidentes com Animais Peçonhentos Consulta Rápida*. Nicolella A, Barros E, Batista Torres J, Marques MG. Eds. Hospital de clínicas de Porto Alegre 1997. pp. 153-158.
9. Franca FO, Benvenuti LA, Fan HW, Dos Santos DR, Hain SH, Picchi-Martins FR, et al. Severe and fatal mass attacks by "killer" bees (Africanized honey-bees-*Apis mellifera scutellata*) in Brazil: clinicopathological studies with measurement of serum venom concentrations. *Q J Med* 1994;87:269-282.
10. Vetter RS, Visscher PK, Camazine S. Mass envenomations by honey bees and wasps. *West J Med* 1999;170:223-227.
11. Maschwitz UWJ y Kloft W. Morphology and Function of the Venom Apparatus of Insects-Bee, Wasps, Ants, and Caterpillars. En: *Venomous Animals and their Venoms*, Buchel W y Buckley EE., Eds. Vol. II, Academic Press, London, 1971. pp. 1-93.
12. Gullan PJ, Cranston PS. *The Insects: An outline of entomology*. Chapman & Hall, London, 1996.
13. Ministerio da Saúde. *Fundacao Nacional de Saúde. Manual de Diagnóstico e Tratamiento de Acidentes por Animais Peçonhentos*. Cap. IV, Hymenopteros. 1998, pp. 65-70.
14. Abdalla FC, da Cruz-Landim C. Dufour glands in the hymenopterans (Apidae, Formicidae, Vespidae): a review. *Braz J Biol* 2001;61:95-106.
15. Bindokas VP, Gauger JR, Greenberg B. Laboratory investigations of the electrical characteristics of honey bees and their exposure to intense electric fields. *Bioelectromagnetics* 1989;10:1-12.
16. Nuñez J, Almeida L, Balderrama N, Giurfa M. Alarm pheromone induces stress analgesia via an opioid system in the honeybee. *Physiol Behav* 1997;63:75-80.
17. Esteso S. Accidentes provocados por picadura de abejas africanizadas. *Prensa Médica Argentina* 1974;61:64-67.
18. Stort AC. Genetic study of the aggressiveness of two subspecies of *Apis mellifera* in Brazil. IV. Number of stings in the gloves of the observer. *Behav Genet* 1975;5:269-274.
19. Clarke KE, Oldroyd BP, Javer J, Quezada-Euan G, Rinderer TE. Origin of honeybees (*Apis mellifera* L.) from the Yucatán peninsula inferred from mitochondrial DNA analysis. *Mol Ecol* 2001;10:1347-1355.
20. Kim KT, Oguro J. Update on the status of Africanized honey bees in the western states. *West J Med* 1999;170:220-222.
21. Schumacher MJ, Schmidt JO, Egen NB, Dillon KA. Biochemical variability of venoms from individual European and Africanized honeybees (*Apis mellifera*). *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:59-65.
22. De Medeiros CR, De Siqueira Fanca FO. *Acidentes por Abelhas e Vespas*. En Costa Cardoso, J.L., F.O. de Siqueira Franca, F.H. Wen, C.M. Sant'Ana Málaque, V. Haadad Jr. *Animais Peçonhentos no Brasil*. Biologia, Clínica e Terapéutica dos Acidentes. Cap. 26. Ed. Sarvier, FAPESP, Sao Paulo., 2003. pp. 243-251
23. Leluk J, Schmidt J, Jones D. Comparative studies on the protein composition of hymenopteran venom reservoirs. *Toxicon* 1989;27:105-114.
24. Schmidt JO. Toxinology of venoms from the honeybee genus *Apis*. *Toxicon* 1995;33:917-927.
25. Schumacher MJ, Schmidt JO, Egen NB, Lowry JE. Quantity, analysis, and lethality of European and Africanized honey bee venoms. *Am J Trop Med Hyg* 1990;43:79-86.
26. Schumacher MJ, Tueten MS, Egen NB. Rate and quantity of delivery venom of from honeybee stings. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1994;93:8931-835.
27. García Martín F, Martín Escobar E, Fernández Rodríguez A, Orte L, Quereda C, Ortuno J. Acute renal failure associated with non-traumatic rhabdomyolysis caused by multiple bee stings. *Med Clin (Barc)* 1984;83:87-88.
28. Muñoz-Arizpe R, Velásquez-Jones L, Romero-Navarro B, Gómez -Chico R. Acute kidney failure due to stings by Africanized bees. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1992;49:388-390.

29. Law DA, Beto RJ, Dulaney J, Jain AC, Lobban JH, Schmidt SB. Atrial flutter fibrillation following bee stings. *Am J Cardiol* 1997;80:1255.
30. Ferreira DB, Costa RS, Oliveira JS, Muccillo G. Cardiac noradrenergic in experimental rat envenomation with Africanized bee venom. *Exp Toxicol Pathol* 1994;45:507-511.
31. King TP, Sobotka AK, Kochoumian L, Lichtenstein LM. Allergens of honey bee venom. *Arch Biochem Biophys* 1976;172:661-671.
32. Voronov E, Apte RN, Sofer S. The systemic inflammatory response syndrome related to the release of cytokines following severe envenomation. *J Venom Anim Toxins* 1999;5:5-33.
33. Markovic-Housley Z, Miglierini G, Soldatova L, Rizkallah PJ, Muller U, Schirmer T. Crystal structure of hyaluronidase, a major allergen of bee venom. *Structure Fold Des* 2000;8:1025-1035.
34. Urbaneck R, Forster J, Ziupa J, Karitzky D. Immunological studies on bee-keepers: specific IgG and subclass typing IgG against bee venom and bee venom components. *Klin Wochenschr* 1980;58:1257-1260.
35. Palma MS, Brochetto-Braga MR, Chaud-Netto J, Malaspina O, Oliveira MR. Molecular exclusion chromatography of crude venom as an auxiliary tool to identify hybrid honeybees populations. *J Venom Anim Toxins* 1995;1:23-30.
36. Jones RGA, Corteling RL, To HP, Bhogal G., Landon J. A novel Fab-Based antivenom for the treatment of mass bee attacks. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:361-366.
37. Bon C, Choumet V, Delot E, Faure G, Robbe-Vincent A, Saliou B. Different evolution of Phospholipase A<sub>2</sub> Neurotoxins (β-neurotoxins) from Elapidae and Viperidae Snakes. *Toxins and Exocytosis. Annals of The New York Academy of Sciences* 1994;710:142-148.
38. Haberman E. Chemistry, Pharmacology, and Toxicology of Bee, Wasp and Hornet Venoms. En: *Venomous Animals and their Venoms*, Vol. II, Bucherl W. Y Buckley E.E. Eds. Academic Press, London., 1971:61-89.
39. Petroianu G, Liu J, Helfrich U, Maleck W, Rufer R. Phospholipase A<sub>2</sub>-induced coagulation abnormalities after bee sting. *Am J Emerg Med* 2000;18:22-27.
40. Owen MD, Pfaff LA, Reisman RE, Wypych J. Phospholipase A<sub>2</sub> in venom extracts from honey bees (*Apis mellifera* L.) on different ages. *Toxicol* 1990;28:813-820.
41. Fletcher JE, Hubert M, Wieland SJ, Gong QH, Jiang MS. Similarities and differences in mechanisms of cardiotoxins, melittin and other myotoxins. *Toxicol* 1996;34:1301-1311.
42. Saini SS, Chopra AK, Peterson JW. Melittin activates endogenous phospholipase D during cytotoxicity of human monocytic leukemia cells. *Toxicol* 1999;37:1605-1620.
43. Lo W-Ch J, Henk WG, Enright FM. Light-microscopic studies of 3T3 cell plasma membrane alterations mediated by melittin. *Toxicol* 1997;35:15-26.
44. Ribardo DA, Kuhl KR, Peterson JW, Chopra AK. Role of melittin-like region within phospholipase A(2) - activating protein in biological function. *Toxicol* 2002;40:519-26.
45. Drici MD, Diocot S, Terrenoire C, Romey G, Lazdunski M. The bee venom peptide tertiapin underlines the role of I(KACh) in acetylcholine-induced atrioventricular blocks. *Br J Pharmacol* 2000;131:569-577.
46. Kitamura H, Yokoyama M, Akita H, Matsushita K, Kurachi Y, Yamada M. Tertiapin potently and selectively blocks muscarinic K(+) channels in rabbit cardiac myocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;293:196-205.
47. De Lima PRM, Brochetto-Braga MR, Chaud-Netto J. Proteolytic activity of Africanized honeybee (*Apis mellifera*: Hymenoptera, Apidae) venom. *J Venom Anim Toxins* 2000;6:64-76.
48. de Oliveira FA, Guimaraes JV, dos Reis MA, Teixeira V. De F. Human accidents with stings from Africanized bees. *Rev Soc Bras Med Trop* 2000;33:403-405.
49. Azevedo-Marques MM, Cupo P, Hering S, Costa R, Ferreira DB. Clinical - Laboratory and therapeutic aspects of envenomation caused by Africanized bees. *J Venom Anim Toxins* 1997;3:133.
50. Guidolin R, Morais JF, Stephano MA, Marcelino JR, Yamaguchi IK, Sakaguchi EH, et al. Production of equine antivenom against africanized bee (*Apis mellifera*) venom. *J Venom. Anim Toxins* 1997;3:245.
51. Kolecki P. Delayed toxic reaction following massive bee envenomation. *Ann Emerg Med* 1999;33:114-116.
52. Wysoke JM, Bland van-den Berg P, Marshall C. Bee sting-induced haemolysis, spherocytosis and neural dysfunction in three dogs. *J S Afr Vet Assoc* 1990;61:29-32.
53. Azevedo-Marques MM, Ferreira DB, Costa RS. Rhabdomyonecrosis experimentally induced in Wistar rats by Africanized bee venom. *Toxicol* 1992;30:344-348.
54. Azevedo-Marques MM, Fujii AA, Verceze AV, Arantes MR, Soares AEE, Higashi HG. Anti-bee venom serum: preliminary tests. *J Venom Anim Toxins* 1997;3:244.
55. Bresolin NL, Carvalho LC, Goes EC, Fernandes R, Barotto AM. Acute renal failure following massive attack by Africanized bee stings. *Pediatr Nephrol* 2002;17:625-627.
56. Ramanathan M, Lam HS. Acute renal failure due to multiple bee stings. Case report. *Med J Malaya* 1990;45:344-346.
57. Tumwine JK, Nkrumah FK. Acute renal failure and dermal necrosis due to bee stings: report of a case in a child. *Cent Afr J Med* 1990;36:202-204.
58. Vachvanichsanong P, Dissaneewate P, Mitarnum W. Non-fatal renal failure due to wasp stings in children. *Pediatr Nephrol* 1997;11:734-736.
59. Dos Reis MA, Costa RS, Coimbra TM, Teixeira VP. Acute renal failure in experimental envenomation with Africanized bee venom. *Ren Fail* 1998;20:39-51.
60. Dos Reis MA, Costa RS, Coimbra TM, Dantas M, Gomes UA. Renal changes induced by envenomation with Africanized bee venom in female Wistar rats. *Kidney Blood Press Res* 1997;20:271-277.
61. Bourgain C, Pauti MD, Fillastre JP, Godin M, Francois A, Leroy JP, Droy JM, Klotz F. Massive poisoning by African bee stings. *Presse Med* 1998;27:1099-1101.
62. Noble SJ, Armstrong PJ. Bee sting envenomation resulting in secondary immune-mediated hemolytic anemia in two dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1999;214:1026-1027.
63. Han HJ, Yoon BC, Oh YJ, Park SH, Lee JH, Mar WC. The water-soluble fraction (<10 kD) of bee venom (*Apis mellifera*) produces inhibitory effect on apical transporters in renal proximal tubule cells. *Kidney Blood Press Res* 2002;25:375-83.
64. Hussein AA, Nabil Zi, Zalal SM, Rakha MK. Comparative study of the venoms from three species of bees: effects on heart activity and blood. *J Nat Toxins* 2001;10:343-57.
65. Smith DG, Roberge RJ. Corneal bee sting with retained stinger. *J Emerg Med* 2001;20:125-128.
66. Martino OAL, Orduna TA. Patología cutánea ponzoñosa e infecciosa provocada por agresiones animales. Centro Municipal de patología regional Argentina (CEMPRA) y Medicina Tropical. Hospital «F.J. Muñiz». Buenos Aires, 1993.
67. Martino OAL, Orduna TA, Espinosa M. Atlas de Patología Humana provocada por la agresión de animales. Centro Municipal de patología regional Argentina (CEMPRA) y Medicina Tropical, Hospital «F.J. Muñiz». Buenos Aires, 2001.
68. Hur W, Ahn SK, Lee SH, Kang WH. Cutaneous reaction induced by retained bee stinger. *J Dermatol* 1991;18:736-739.
69. Stibich AS, Carbonaro PA, Schwartz RA. Insect bite reactions: an update. *Dermatology* 2001;202:193-197.
70. Smoley BA. Oropharyngeal hymenoptera stings: a special concern for airway obstruction. *Mil Med* 2002;167:161-163.
71. Ashley JR, Otero H, Aboulafia DM. Bee envenomation: a rare cause of thrombocytopenic purpura. *South Med J* 2003;96:588-91
72. Diaz-Sanchez CL, Lifshitz-Guinzbarg A, Ignacio-Ibarra G, Halabe-Cherem J, Quinones-Galvan A. Survival after massive (>2000) Africanized honeybee stings. *Arch Intern Med* 1998;158:925-927.
73. Visscher PK, Vetter RS, Camazine S. Removing bee stings. *Lancet* 1996;348:301-302.
74. Salahudeen AK, Wang C, Bigler SA, Dai Z, Tachikawa H. Synergistic renal protection by combining alkaline-diuresis with lipid peroxidation inhibitors in rhabdomyolysis: possible interaction between oxidant and non-oxidant mechanisms. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:635-42.
75. Daher Ede F, da Silva GB Jr, Bezerra GP, Pontes LB, Martins AM, Guimaraes JA. Acute renal failure after massive honeybee stings. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2003;45:45-50.
76. 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;97:1058-1063.
77. Neugut AI, Ghatak AT, Miller RL. Anaphylaxis in the United States: an investigation into its epidemiology. *Arch Intern Med* 2001;161:15-21.
78. King TP, Sobotka AK, Alagón AC, Kochoumian L, Lichtenstein LM. Protein allergens of white-faced hornet, yellow hornet, and yellow jacket venoms. *Biochemistry* 1978;17:5165-5174.
79. King TP, Alagón AC, Kuan J, Sobotka AK and Lichtenstein LM. Immunochemical studies of yellow-jacket venom proteins. *Mol. Immunol.* 1982;20:297-308.
80. Schumacher MJ, Egen NB, Tanner D. Neutralization of bee venom lethality by immune serum antibodies. *Am J Trop Med Hyg* 1996;55:197-201.