

Détection et quantification des LT spécifiques d'haptène médicamenteux par ELISPOT IFN- γ

-Inserm U 503, Equipe 3

- Aurore Rozières, Anca Hennino, Marc Vocanson, Karen Rodet , JF Nicolas

-U.F. Immunologie Clinique et Allergologie CH Lyon Sud

- Frédéric Bérard, Nathalie Gunera-Saad, JF Nicolas

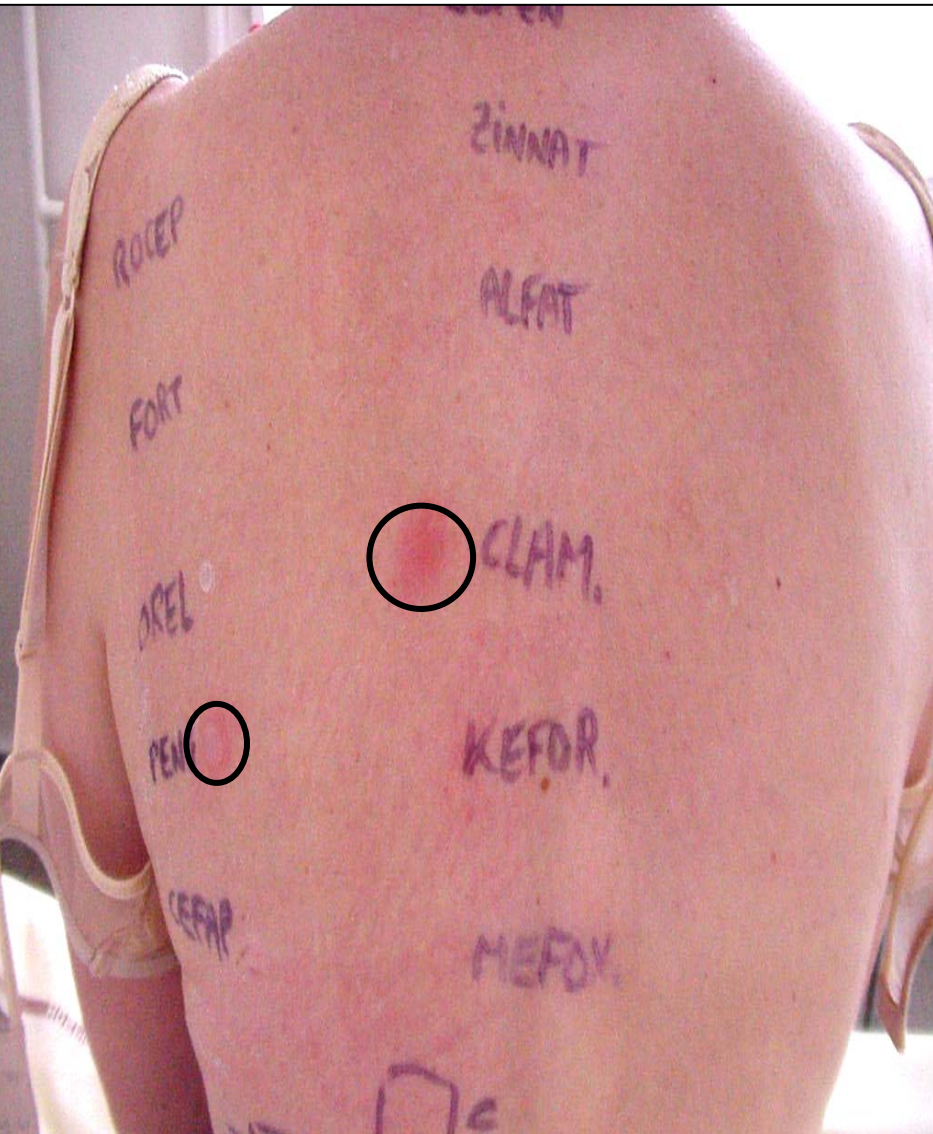
-Plateforme d'Immuno-monitorage CH Lyon-Sud

- Aurore Rozières, Marie-claude Gutowski, Danièle Gaujac, Grégoire Cozon, Jacques Bienvenu

Manifestations Cliniques



Diagnostic



Patch-tests



L'intérêt d'un test biologique d'HSR aux médicaments

- ◆ Diagnostic basé sur la pratique de tests cutanés:

- 1- Accessibilité à un centre d'allergie au médicament (peu de centres en France; hospitalisation des patients)

- 2- Effets secondaires : sensibilisation

- 3- Aide dans les cas d'interprétation des tests difficiles

Situation du problème

⇒ Maladies inflammatoires dues à des Lymphocytes T spécifiques du médicaments

Gerber BO, Pichler WJ, Cellular mechanisms of T cell mediated drug hypersensitivity, Current Opinion in Immunol, 2004 16:732-737.

⇒ Présence de LT CD4+ et CD8+ spécifiques du médicament en cause dans le sang périphérique des patients

Activation of drug CD4+ and CD8+ T cells in individuals allergic to sulfonamides, phenytoin and carbamazepine, J Immunol, 1995 Jul 1;155(1):462-72.

⇒ Rôle de IFN- γ

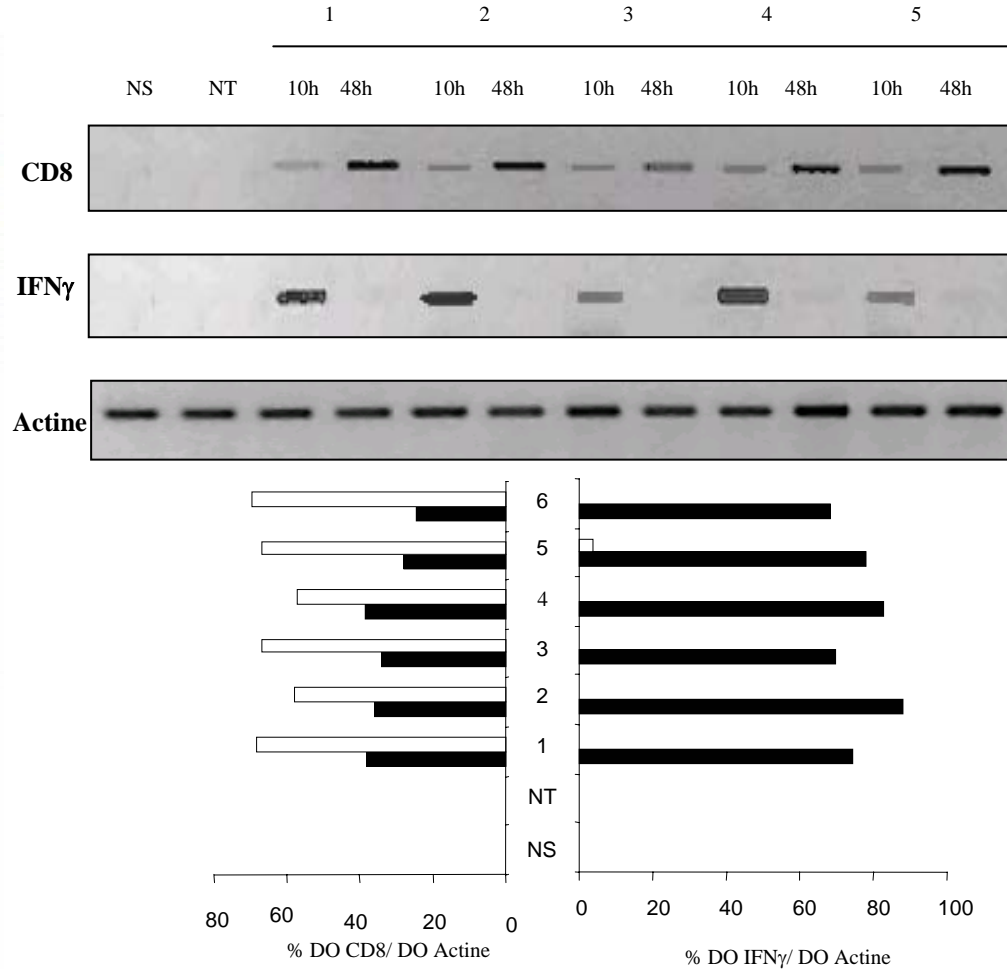
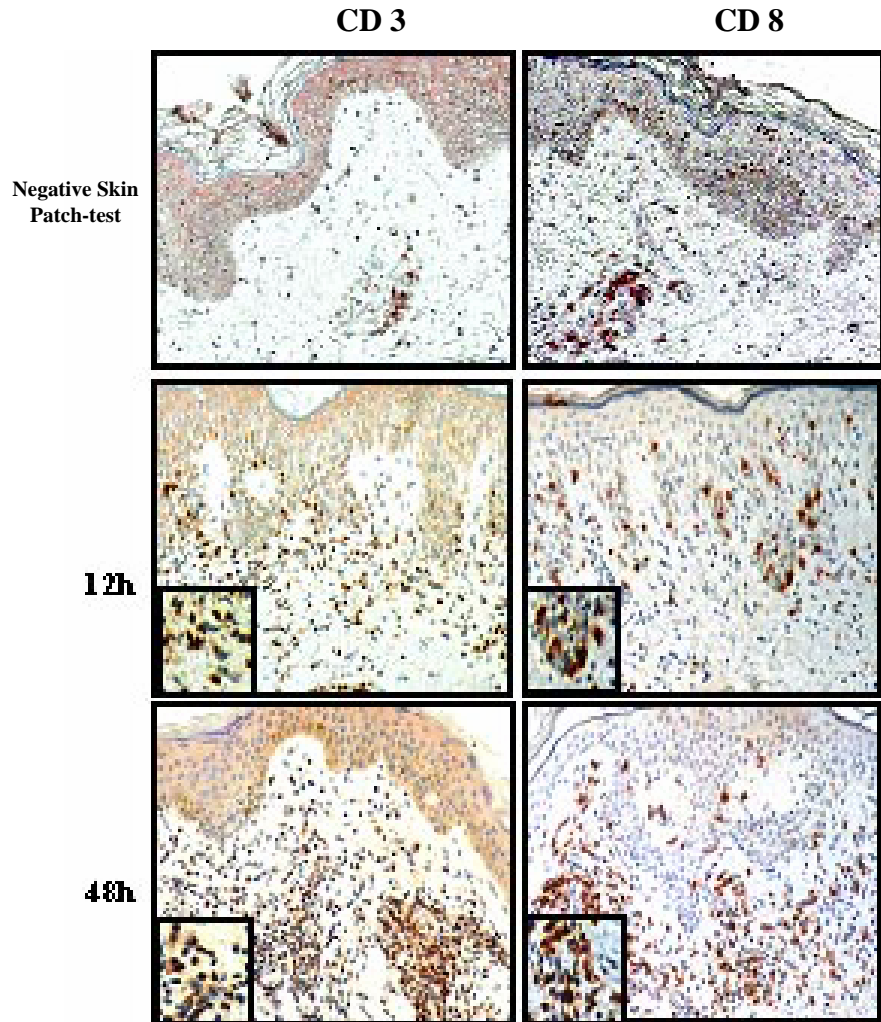
A. Rozieres, K. Rodet, S. Bosset, F. Berard, G. Cozon, J. Bienvenu, JF. Nicolas
CD8+ T cell involvement in maculo-papular exanthema to amoxicillin (en cours de rédaction)

Padial A, Posadas S, Alvarez J, Torres MJ, Alvarez JA, Mayorca C, Blanca M, Allergy 2005 May 60(5):665-70

Gene expression levels of cytokines profile and cytotoxic markers in non-immediate reactions to drugs, Blood cells disease 2002 Oct: 179-189

LT CD8+ IFN- γ + sont impliqués dans le développement des réactions d'allergie

A

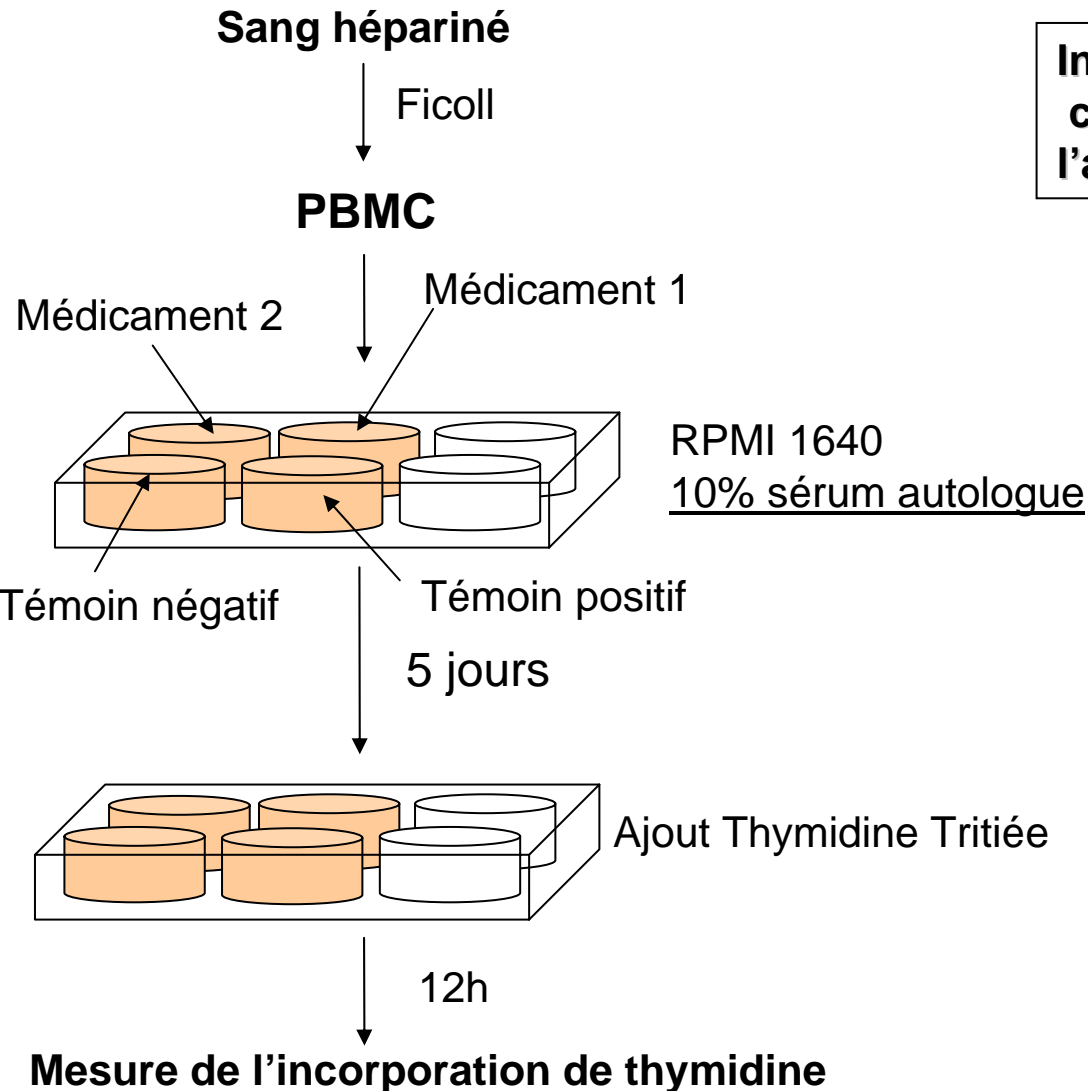


Tests Biologiques :

**Test de Transformation Lymphocytaire /
ELISPOT IFN- γ**

Les tests biologiques actuels

Test de Transformation Lymphocytaire:



Index de stimulation (SI) =
cpm avec l'antigène / cpm sans
l'antigène

Avantages:

-Mesure de la prolifération

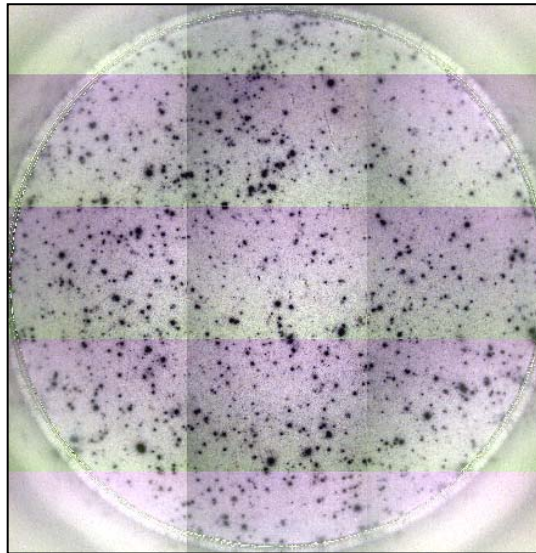
-Inconvénients:

- Sensibilité moyenne (60-70% β -lactams
- Utilisation de radioactivité
- 5 jours de culture

Test biologique testé

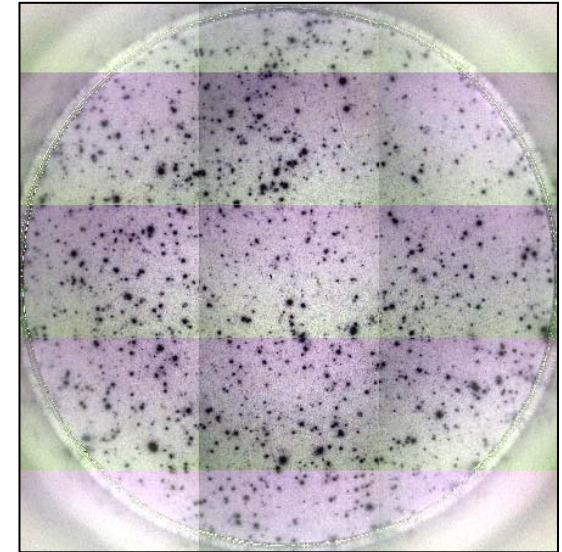
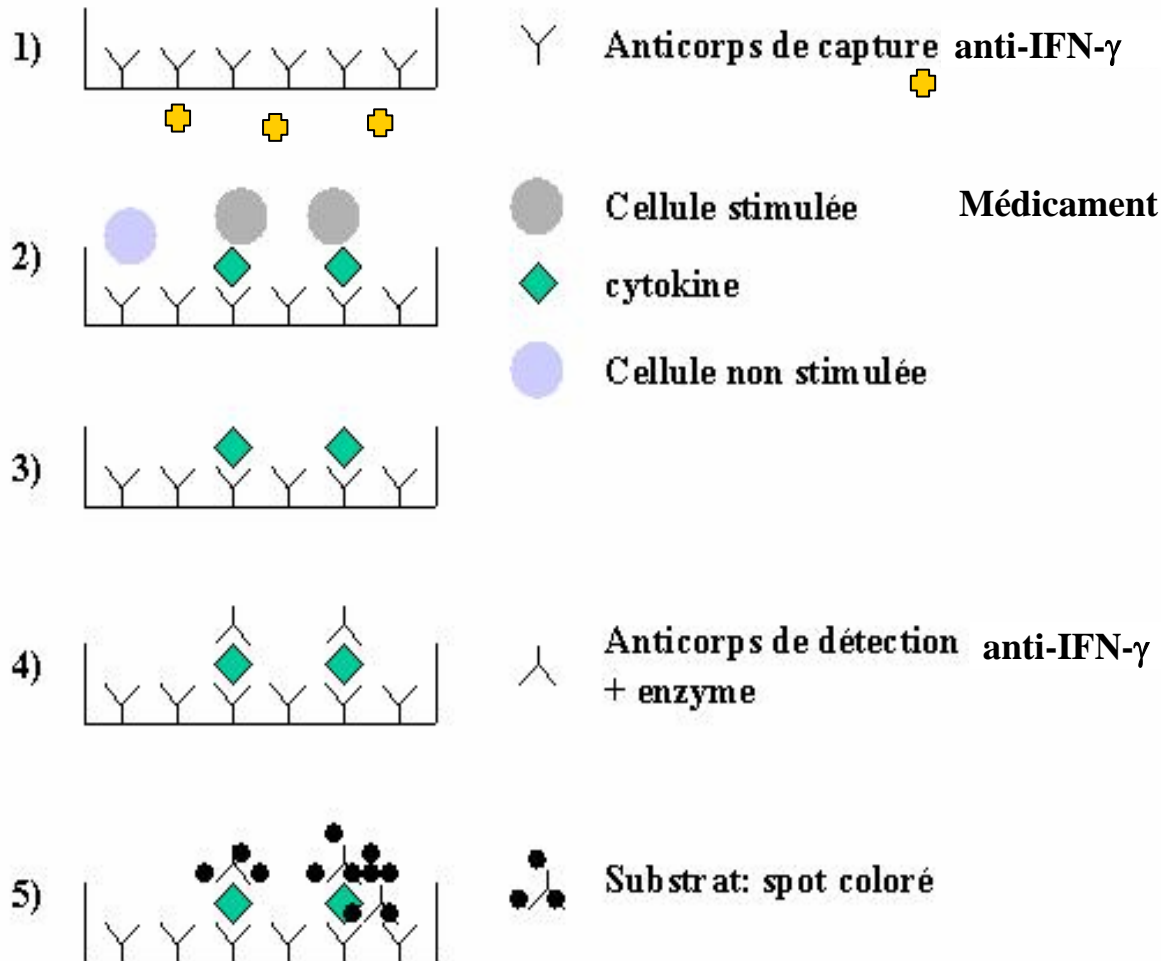
⇒ Test ELISPOT :

technique permettant la numération, même pour de très faibles fréquences de cellules spécifiques d'un haptène ou d'un peptide.



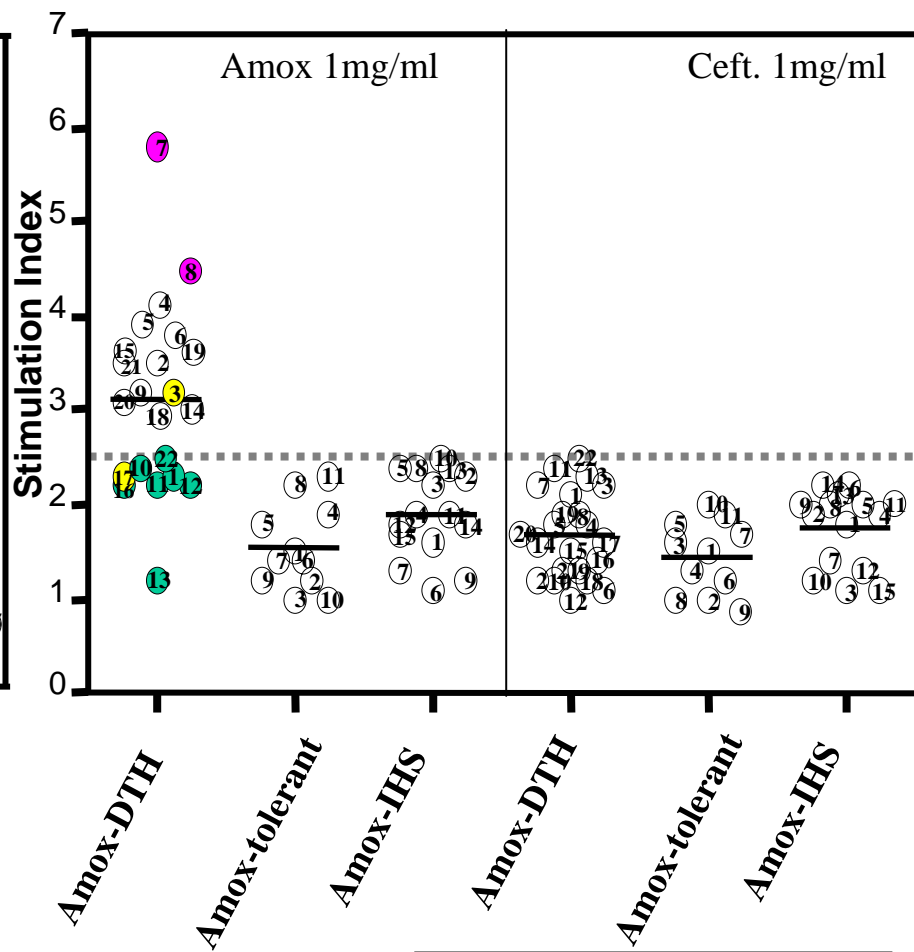
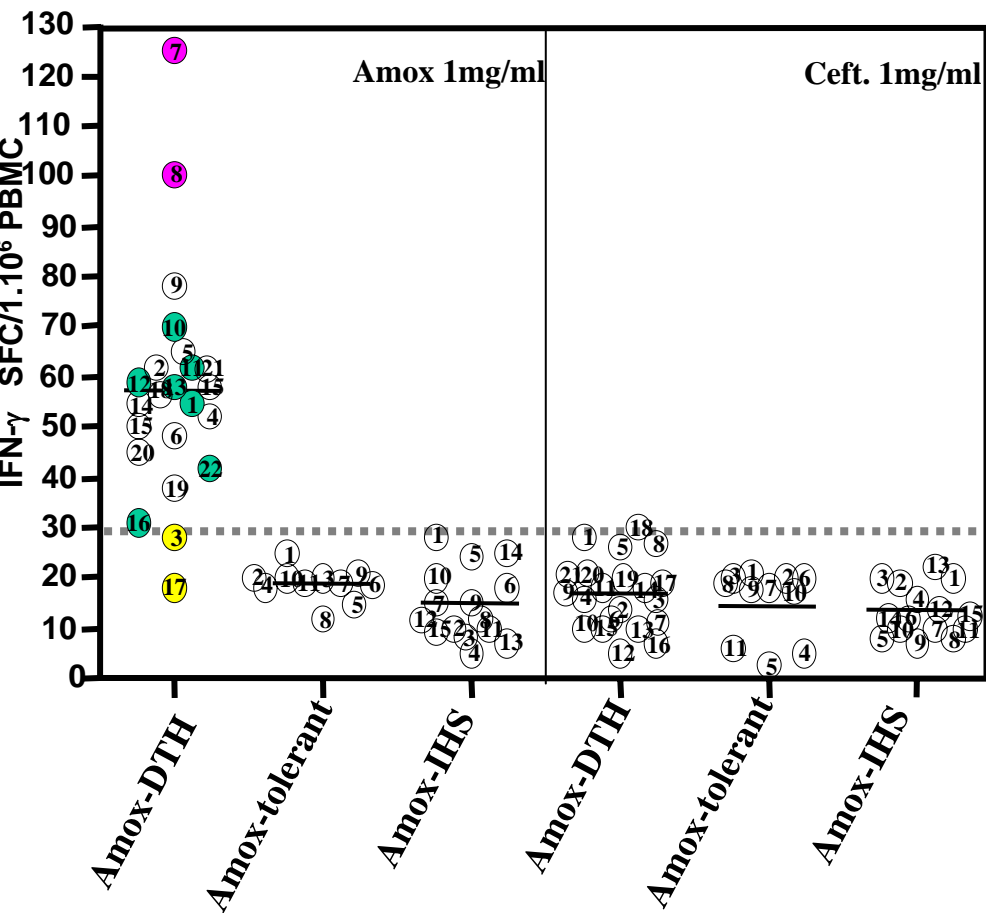
TEST ELISPOT IFN- γ

Représentation schématique du test ELISPOT



- Avantages:
- Méthode rapide
 - Bonne sensibilité
 - Quantification du nombre de cellules productrices d'une cytokine

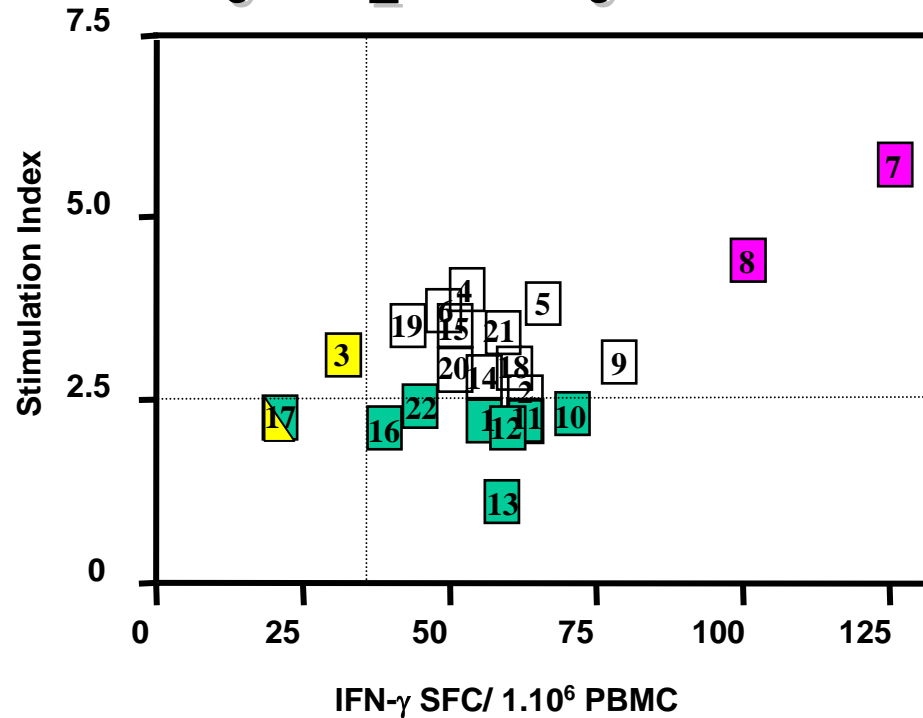
Comparaison ELISPOT IFN- γ / Test de Transformation Lymphocytaire



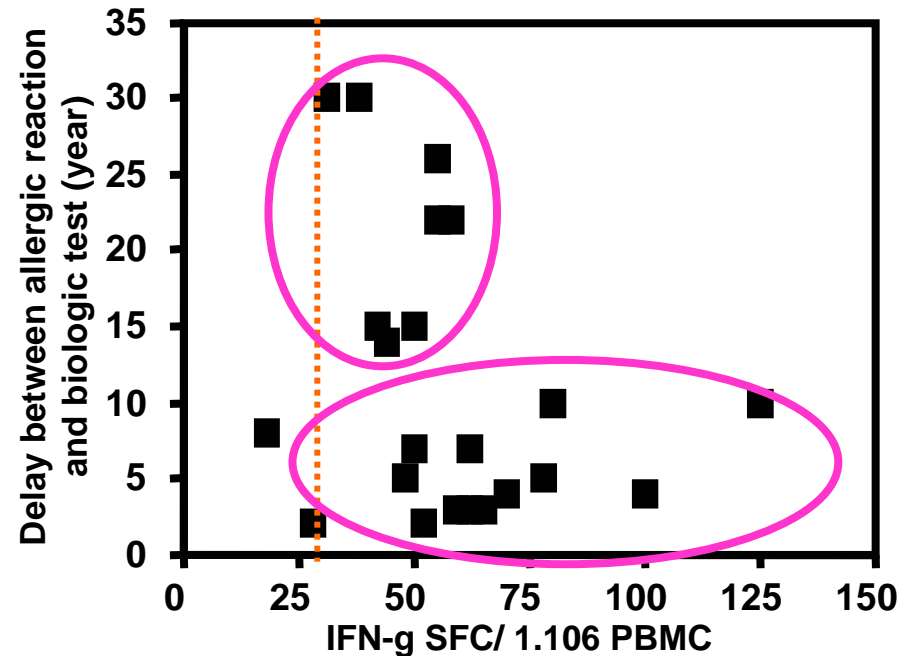
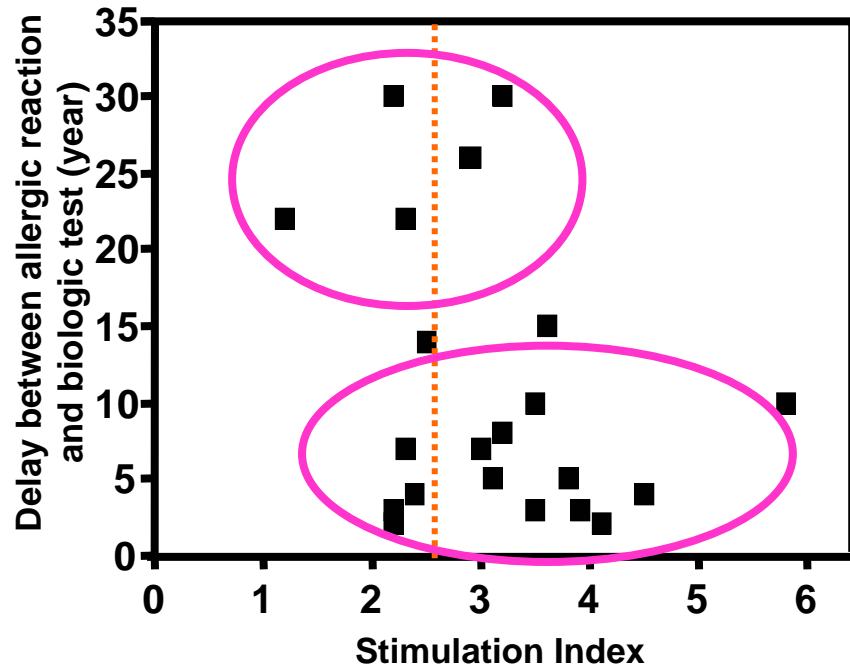
- Sensibilité : 91%
- Specificité : 95%

- Sensibilité : 68%
- Spécificité : 95%

Analyse de la corrélation entre ELISPOT IFN- γ / Test de Transformation Lymphocytaire

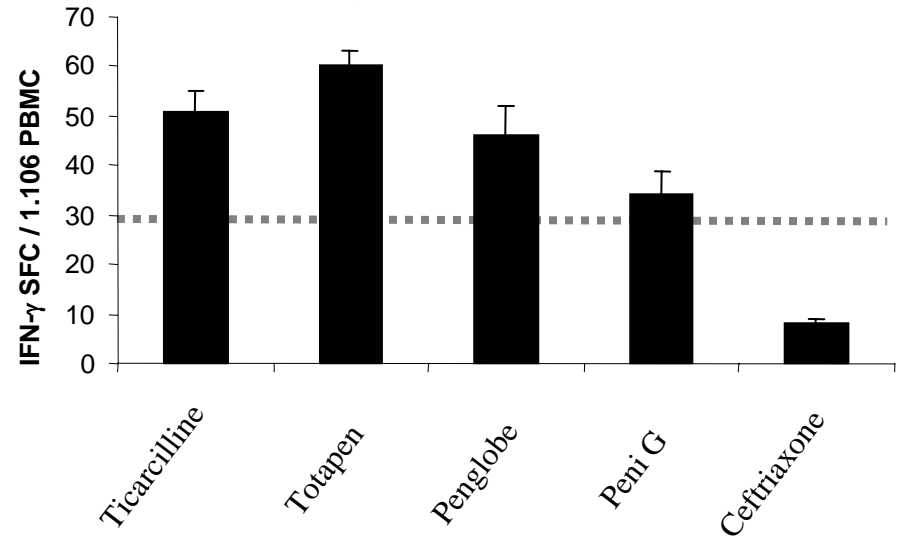
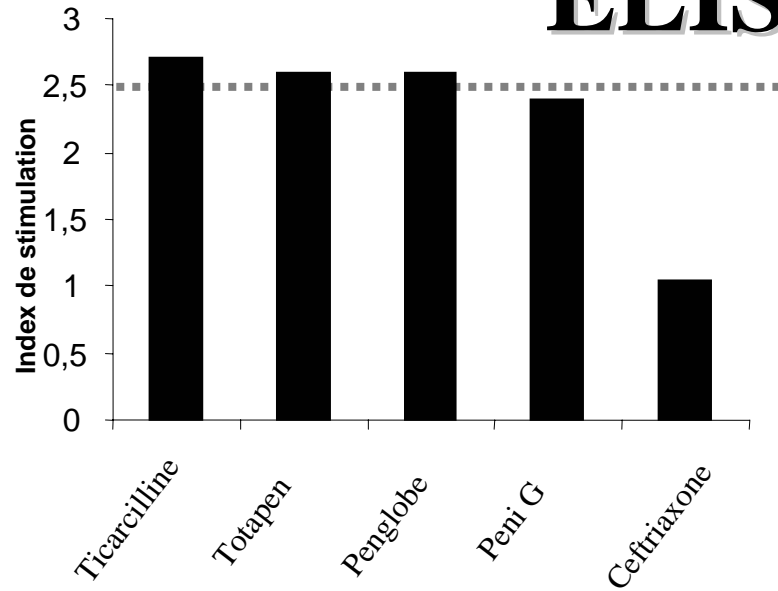


Analyse de la corrélation entre délai depuis l'accident / Test biologique



DETECTION DES REACTIVITES CROISEES AVEC LE TEST

ELISPOT IFN- γ



⇒ Réactivités Ticarcilline / Totapen / Penglobe / Penicilline G : Contre-indication de ces médicaments

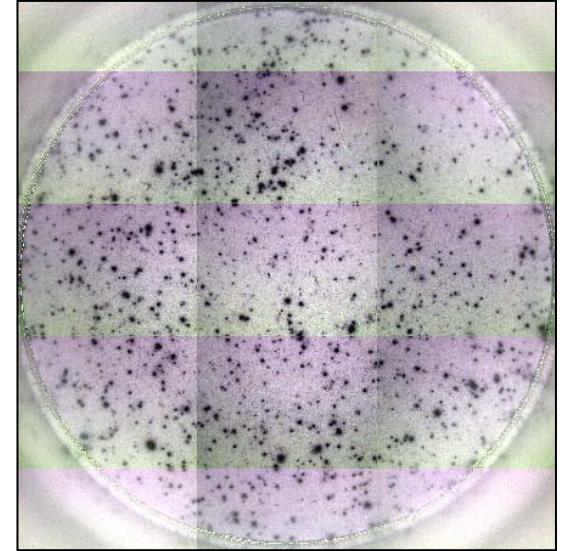
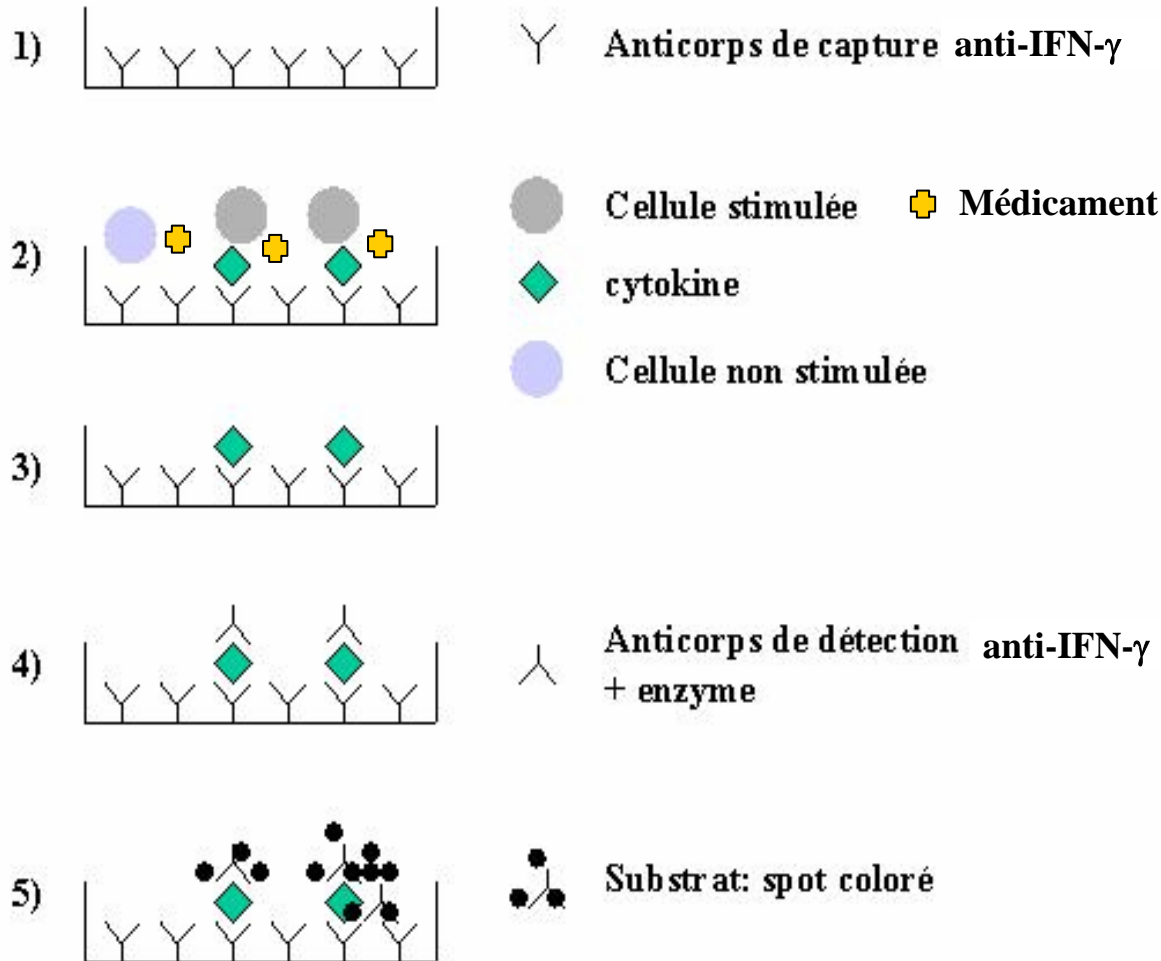
⇒ Prescription de Ceftriaxone (Rocephine®)

Conclusions

- l'ELISPOT IFN γ permet la numération *in vitro* de la réponse T spécifique d'amoxicilline
- l'ELISPOT IFN γ semble discriminer les patients allergiques aux médicaments des patients non allergiques
- L'intérêt de cette technique réside, outre dans sa simplicité de mise en oeuvre, dans le nombre important de molécules médicamenteuses pouvant être testées simultanément et la rapidité d'obtention du résultat

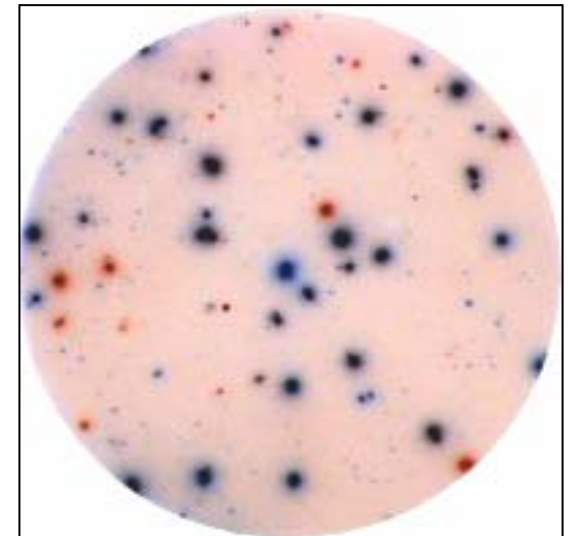
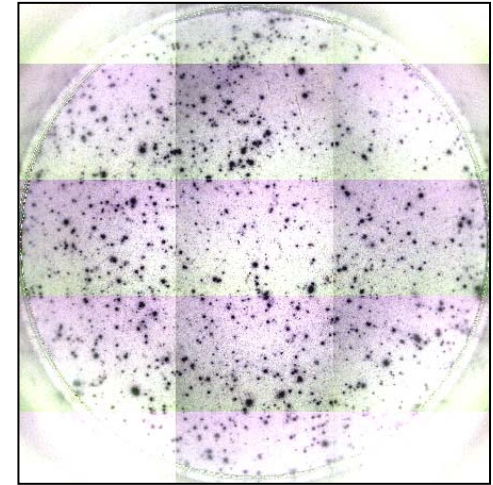
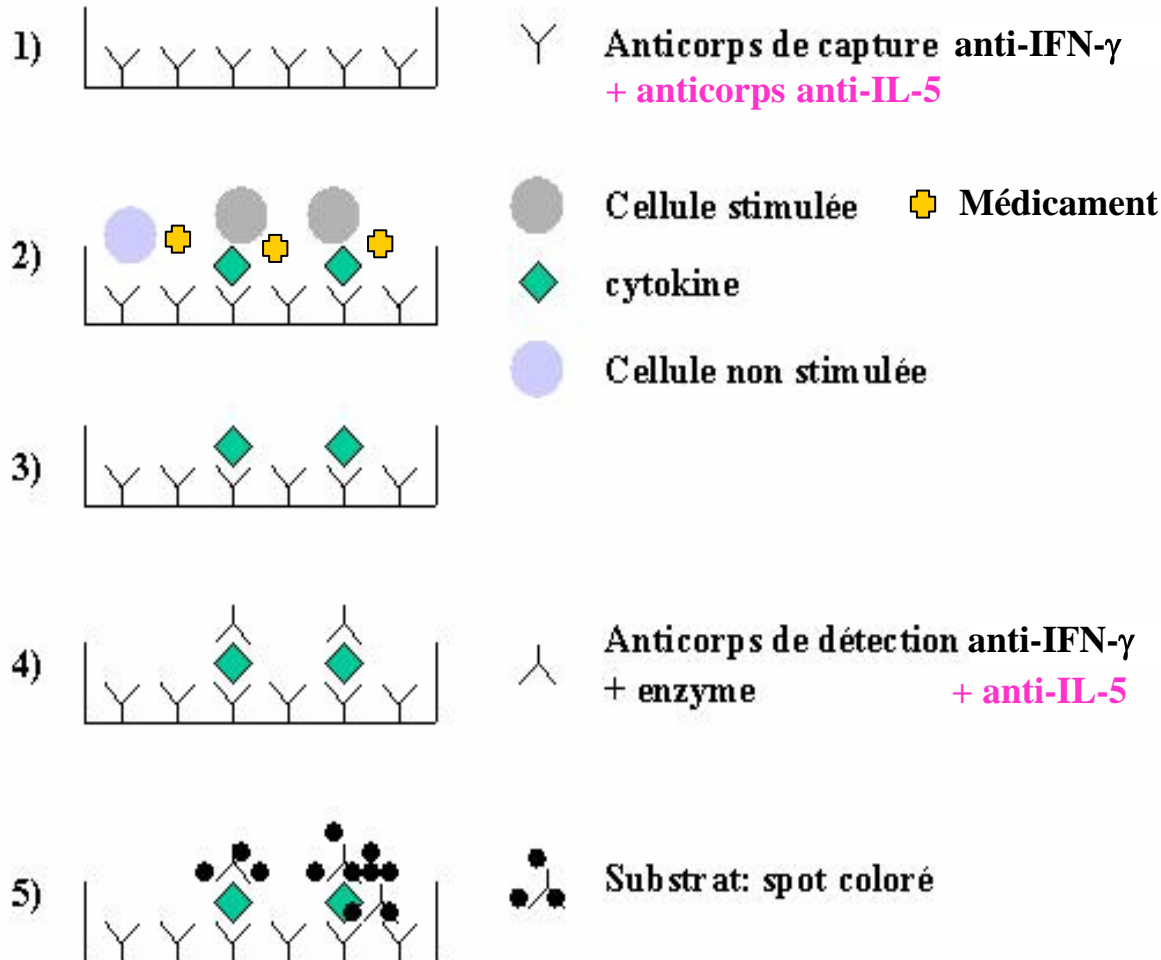
Mise en place de ELISPOT IFN- γ / IL-5 (1)

Représentation schématique du test ELISPOT



Mise en place de ELISPOT IFN- γ / IL-5 (2)

Représentation schématique du test ELISPOT



TRANSFERT TECHNOLOGIQUE

Fondamental \Rightarrow Clinique



LABORATOIRE IMMUNOLOGIE
UF Allergie et immunomonitorage
Centre Hospitalier Lyon Sud

BILAN ACTIVITE 2005

Nombre de tests réalisés

- 182 tests réalisés / 86 patients (28 janvier au 31 décembre)

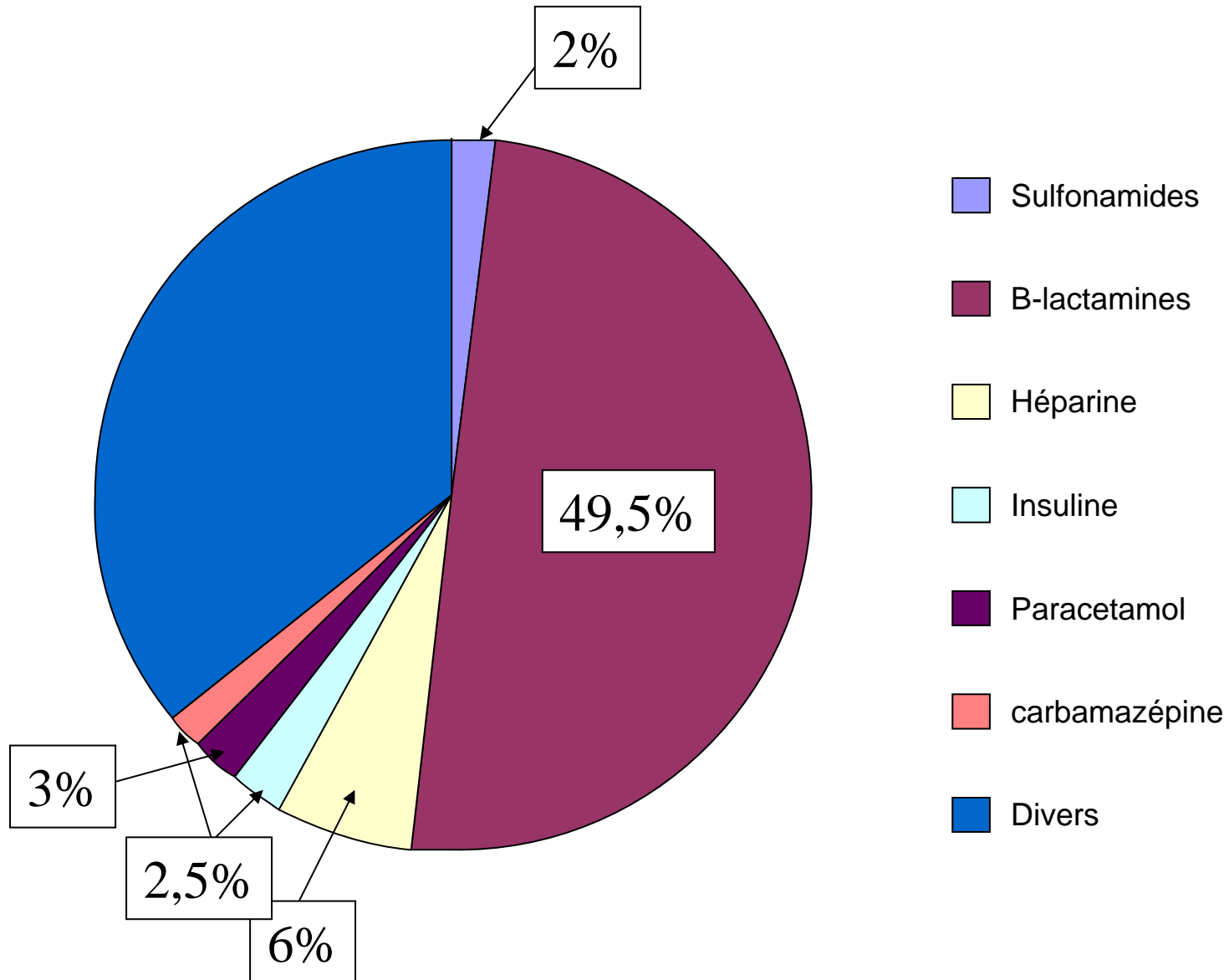
- Janvier 5 tests réalisés
- Février 7 tests réalisés
- Mars 6 tests réalisés
- Avril 3 tests réalisés
- Mai 8 tests réalisés
- Juin 21 tests réalisés
- Juillet 21 tests réalisés
- Septembre 34 tests réalisés
- Octobre 19 tests réalisés
- Novembre 25 tests réalisés
- Décembre 32 tests réalisés

BILAN ACTIVITE 2006

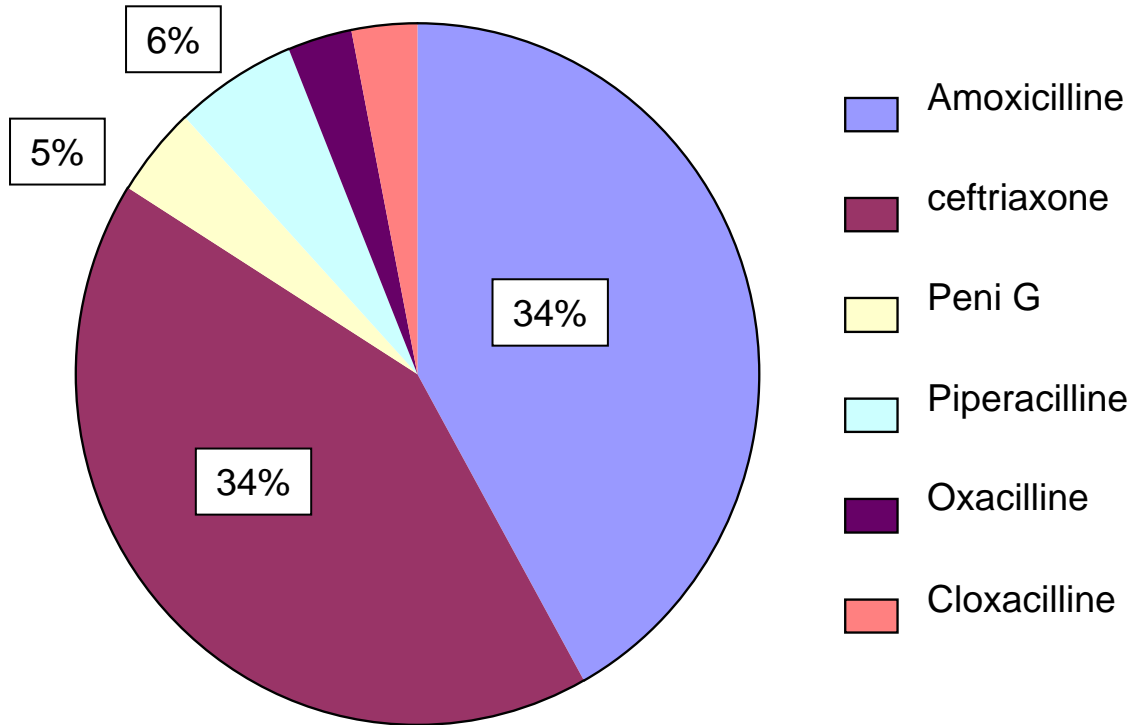
Nombre de tests réalisés

- 242 tests réalisés / 131 patients
 - Janvier 63 tests réalisés
 - Février 51 tests réalisés
 - Mars 25 tests réalisés
 - Avril 31 tests réalisés
 - Mai 16 tests réalisés
 - Juin 28 tests réalisés
 - Juillet 28 tests réalisés

Répartition des demandes (1)



Répartition des demandes (2)



Remerciements

INSERM U503

RODET Karen

HENNINO Anca

BONNEVILLE Marlène

CHAVAGNAC Cyril

VOCANSON Marc

TEDONE Rosine

BENETIERE Josette

DUCLUZEAU Marie-Thérèse

**UF Immunologie et allergologie
clinique**

Centre hospitalier Lyon Sud

NICOLAS Jean-François

BERARD Frédéric

BIENVENU Jacques

SAAD-GUNERA Nathalie

GUILLOT Isabelle

**Laboratoire d'immunologie clinique
Centre hospitalier Lyon Sud**

BIENVENU Jacques

COZON Gregoire

GUTOWSKI Marie-Claude

GAUJAC Danièle

