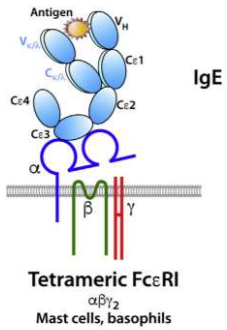


Module 5 : Médicaments



Hypersensibilité immédiate Focus sur les tests biologiques

Lorna GARNIER

Service d'Immunologie biologique

Hôpital Lyon Sud

Mai 2023

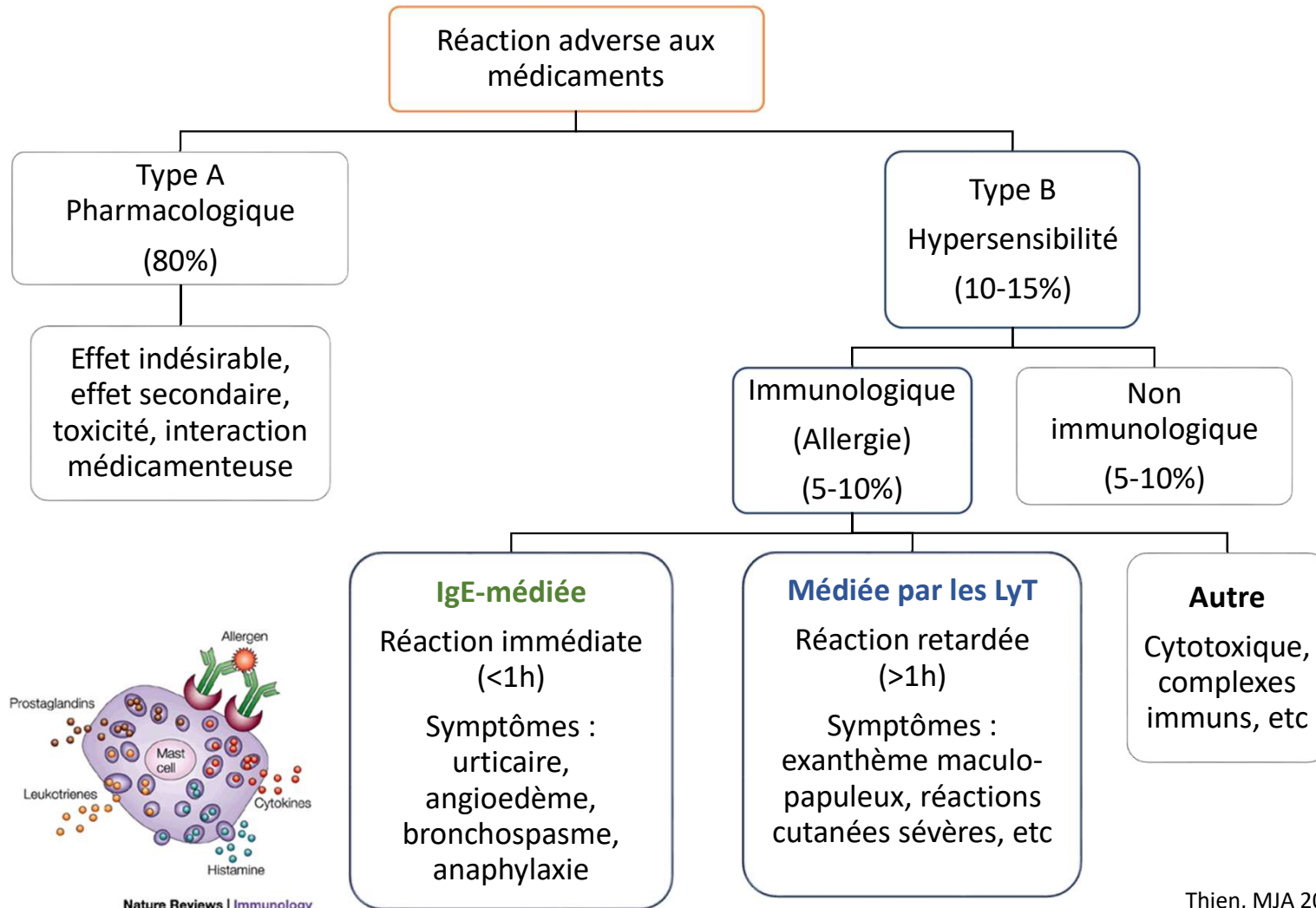


Cas clinique : Mme M, 49 ans

- **Intervention pour extraction dentaire multiple sous anesthésie générale**
- Antécédents médicaux :
 - Probable BPCO
 - Appendicectomie, extraction dentaire
 - Pas d'antécédents familiaux notables
- Médicaments administrés lors de l'intervention :
 - **Amoxicilline** : antibiotique
 - **Droleptan** (dropéridol) : neuroleptique (prémédication de l'anesthésie)
 - **Kétamine** : anesthésique
 - **Diprivan** (Propofol) : anesthésique
 - **Célocurine** (suxaméthonium) : adjuvant de l'anesthésie générale
- **Peu de temps après induction: Bronchospasme, Hypotension, éruption cutanée**



Réactions adverses aux médicaments



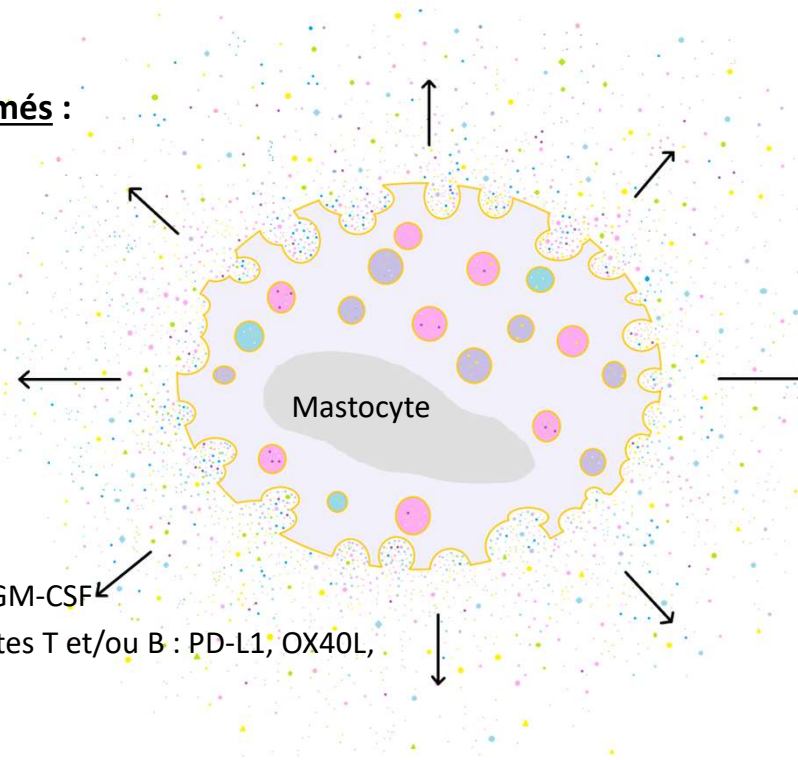
Réactions d'hypersensibilité immédiate

- 1 - Objectiver la dégranulation mastocytaire
- 2 - Identification du médicament responsable de la réaction

1 – Réactions immédiates : Objectiver la dégranulation mastocytaire

Médiateurs préformés :

Histamine
Tryptase
Chymase
Carboxypeptidase A
Protéoglycane
Sérotonine
Héparine
Cytokines : IL-4, TNF, GM-CSF
Ligands des lymphocytes T et/ou B : PD-L1, OX40L, CD40L, CCL19, 4-1BB

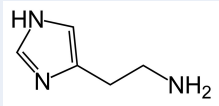
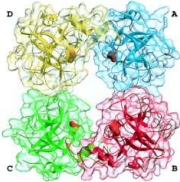


Médiateurs néo-synthétisés :

Prostaglandines PGD₂
Leucotrienes : LTB₄, LTC₄
PAF
Cytokines : IL1, IL2, IL6, IL8, IL9, IL13, IL17
Facteurs de croissance :
VEGF, PDGF, bFGF, IGF1, EGF, NGF
Chemokines : CCL1, CCL2, CCL3, CCL3L1, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CXCL2
Radicaux libres
Substance P

1 – Objectiver la dégranulation mastocytaire

Médiateurs : Tryptase et Histamine plasmatiques

	Histamine	Tryptase
Demi-vie	10 – 20 min	90 – 120 min
Relargué par	Mastocytes et Basophiles	Mastocytes
Masse moléculaire	111 g/mol 	134 kDa 
Technique de dosage	ELISA manuel, Spectrométrie de masse	Technique automatisée FEIA (fluroenzymo Immunoassay)
Avantages / Limites	Meilleure sensibilité (formes PO) Faux négatifs : - Grossesse après 20SA, - traitement par forte dose d'HNF Faux positifs : conditions pré-analytiques non respectées	Meilleure spécificité Tryptasémie basale élevée : - pathologie mastocytaire, - IR
Cotation	Ne figure plus à la NABM	B80

1 – Objectiver la dégranulation mastocytaire

Médiateurs : Tryptase et Histamine plasmatiques

Cinétiques de ces médiateurs lors de la réaction de Mme M :

Délai après le choc	15 à 30mn	1 à 2h	>6h
Histamine (nmol/L) (Val. Réf. < 10)	> 100	32	
Tryptase (pg/mL)	12,8	14	4,9



Tryptasémie : interprétation toujours en fonction de la tryptasémie basale

Elévation significative si :

$\text{Tryptasémie} > 1,2 \times [\text{Tryptasémie basale}] + 2 \mu\text{g/L}$

ou

$\text{Tryptasémie} > 135\% [\text{Tryptasémie basale}]$

-> Résultats témoignant d'une dégranulation mastocytaire chez cette patiente

1 – Objectiver la dégranulation mastocytaire

Médiateurs : Tryptase et Histamine plasmatiques

Autre exemple de cinétique

Délai après le choc	15 à 30mn	1 à 2h	>6h
Histamine (nmol/L) (Val. Réf. < 10)	> 100	20	
Tryptase (pg/mL)	6	5,4	5,8



Patiente 35 ans : Réanimation AVP

ATCD: RAS

Administration de vancomycine (2 g/jour -30mg/kg/jour)

-> 1h après le début de l'administration : Hypotension, nausées et vomissement, érythème cutané bras puis tronc et coup

Pas de variation significative de la tryptasémie ->

Syndrome de l'homme rouge ou RED MAN Syndrome

(HSNA lors d'une injection trop rapide de vancomycine)

2 - Identification du médicament responsable de la réaction

ENDA (European Network on Drug Allergy) EAACI guidelines

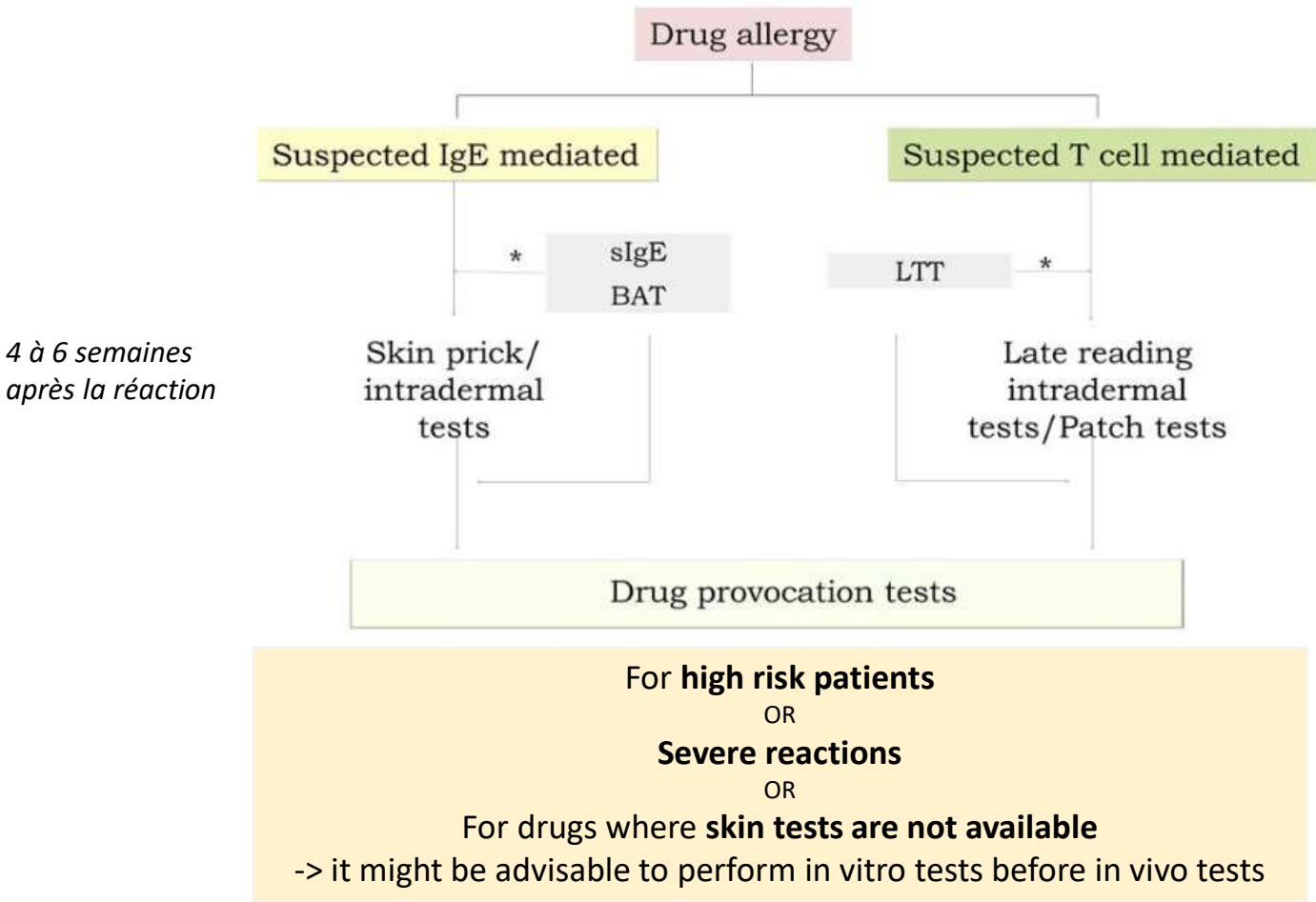
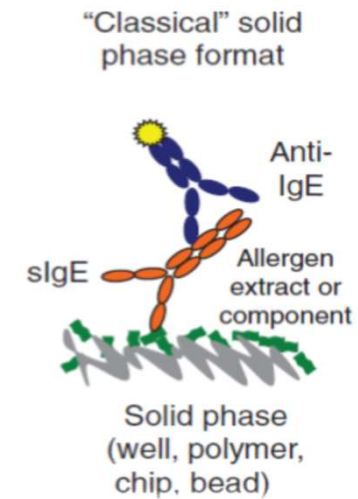
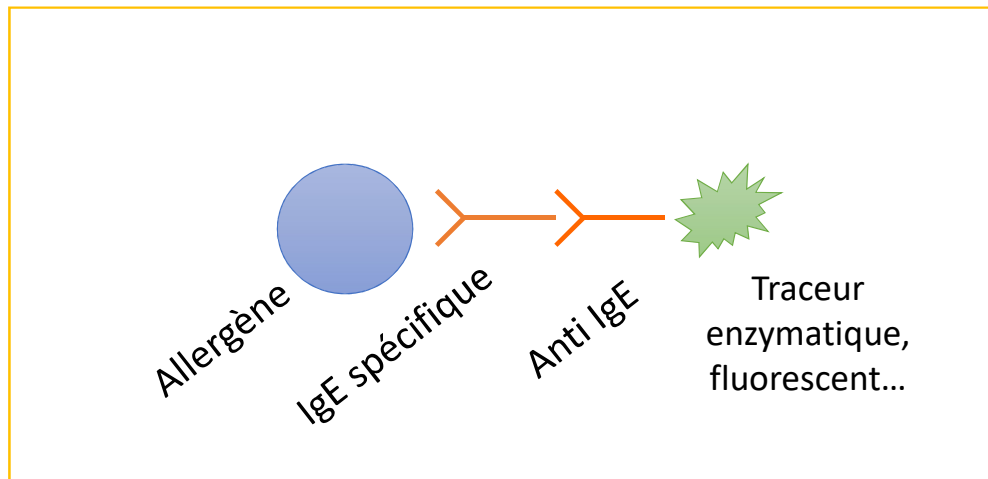




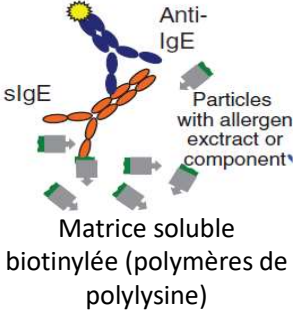
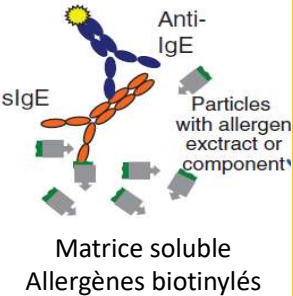
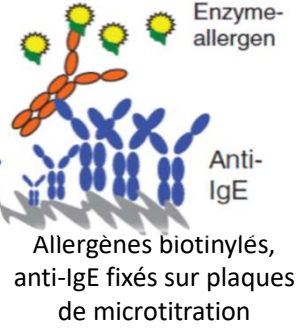
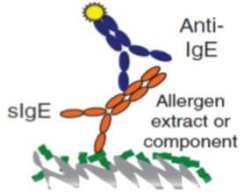


Figure 1 In vitro tests to determine the culprit drug based on the suspected immunological mechanism.

2 - Identification du médicament responsable de la réaction Dosage d'IgE spécifiques



Dosage d'IgE spécifiques

	SIEMENS	HYCOR	DR.FOOKE	PHADIA
Automates	<p>IMMULITE 2000 XPi Immunoassay System</p> 	<p>Noveos</p> 	<p>ALLERG-O-LIQ-SYSTEM</p> 	<p>ImmunoCAP</p> 
Support	 <p style="text-align: center;">Matrice soluble biotinylée (polymères de polylysine)</p>	 <p style="text-align: center;">Matrice soluble Allergènes biotinylés</p>	 <p style="text-align: center;">Allergènes biotinylés, anti-IgE fixés sur plaques de microtitration</p>	 <p style="text-align: center;">CAP membrane de cellulose</p>
Médicament : Nb de réactifs disponibles	8	À venir	91	11 + 3 allergènes de recherche

IgE spécifiques médicaments

Nombre de molécules disponibles faible / réactifs peu stables

Ammonium quaternaire (morphine)	c260
Amoxicilloyl (Amoxicilline)	c6
Ampicilloyl (Ampicilline)	c5
Cefaclor	c7
Chlorexidine	c8
Gélatine bovine	c74
Insuline humaine	c73
Penicilloyl G (Penicilline G)	c1
Penicilloyl V (Penicilline V)	c2
Pholcodine	c261
Suxamethonium (Succinylcholine)	c202

Allergènes pour une utilisation de recherche uniquement :

Anatoxine tétanique	Rc208*
Atracurium	U981
Protamine	U1190
Rocuronium	U254

IgE spécifiques médicaments

- Tenir compte des **taux faibles** / à interpréter en fonction du **taux d'IgE totales**
- **Performances variables**, parfois **non évaluées**
- Négativation des tests possible à **distance de la réaction**

IgE spécifiques	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Amoxicilline	41 - 53	87 - 100
Chlorexidine	84 - 93	94 - 100
Morphine – Ammonium quaternaire	65 - 88	90 - 97
Galactose-alpha-1,3-galactose (Cetuximab)	68 - 92	90 - 92

Tests à utiliser en **2^{ème} intention**, en complément des autres tests

Utilité pour des cas complexes ou discordants, lorsque les tests cutanés et/ou les tests de réintroduction ne peuvent pas être réalisés

Recommandations pour la prescription et l'interprétation des examens biologiques de la SFA.

Partie 4 : allergie aux médicaments

3.2. *Quelle est l'efficacité diagnostique des dosages d'IgE spécifiques anti-médicaments disponibles ?*

Texte de la recommandation

L'efficacité diagnostique des dosages d'IgE spécifiques anti-médicaments est insuffisante ce qui ne permet pas de les recommander en première intention pour établir un diagnostic. Ces dosages peuvent être utiles en seconde intention, après les tests cutanés (si applicable).

Les IgE spécifiques de médicaments n'ayant pas de valeur prédictive élevée, il n'est pas recommandé de les doser en l'absence d'antécédent de réaction allergique immédiate.

Cotation de la recommandation : 8,1 (min. 6, max 9)

3.6. *Quels dosages d'IgE spécifiques demander devant une réaction per anesthésique/peropératoire ?*

Texte de la recommandation

Devant une suspicion d'allergie per anesthésique, selon l'histoire clinique et les données de la fiche d'anesthésie, les dosages d'IgE spécifiques d'ammoniums quaternaires, du thiopental, du latex, des bêta-lactamines, de la chlorhexidine, et de la protamine sont utiles au diagnostic en complément des tests cutanés, notamment en cas de résultats négatifs ou douteux de ces derniers, avec des signes cliniques évocateurs d'anaphylaxie ou en cas d'impossibilité de réalisation de tests de provocation (curares).

Les investigations allergologiques doivent être menées idéalement dans les 6 mois après l'incident, car les marqueurs d'hypersensibilité immédiate (TC et dosages des IgE spécifiques) peuvent se négativer dans le temps.

Cotation de la recommandation : 8,4 (min. 7, max 9)

2 - Identification du médicament responsable de la réaction Dosage d'IgE spécifiques

Cinétiques de ces médiateurs lors de la réaction de Mme M :

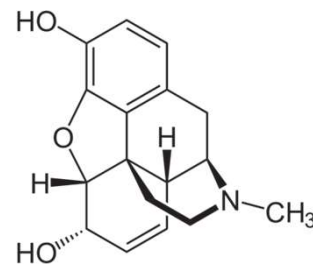
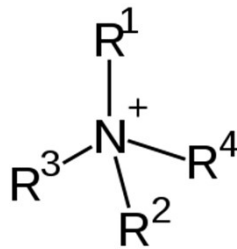
Délai après le choc	15 à 30mn	1 à 2h	>6h
Histamine (nmol/L) (Val. Réf. < 10)	> 100	32	
Tryptase (pg/mL)	12,8	14	4,9



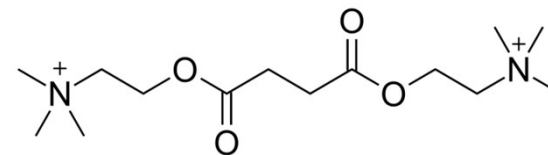
Recherche d'IgE spécifiques :

- **IgEs c260 morphine (Ammonium quaternaire) : 10,9 kU/L**

Intérêt d'un dosage
d'IgE anti-pholcodine
ici?



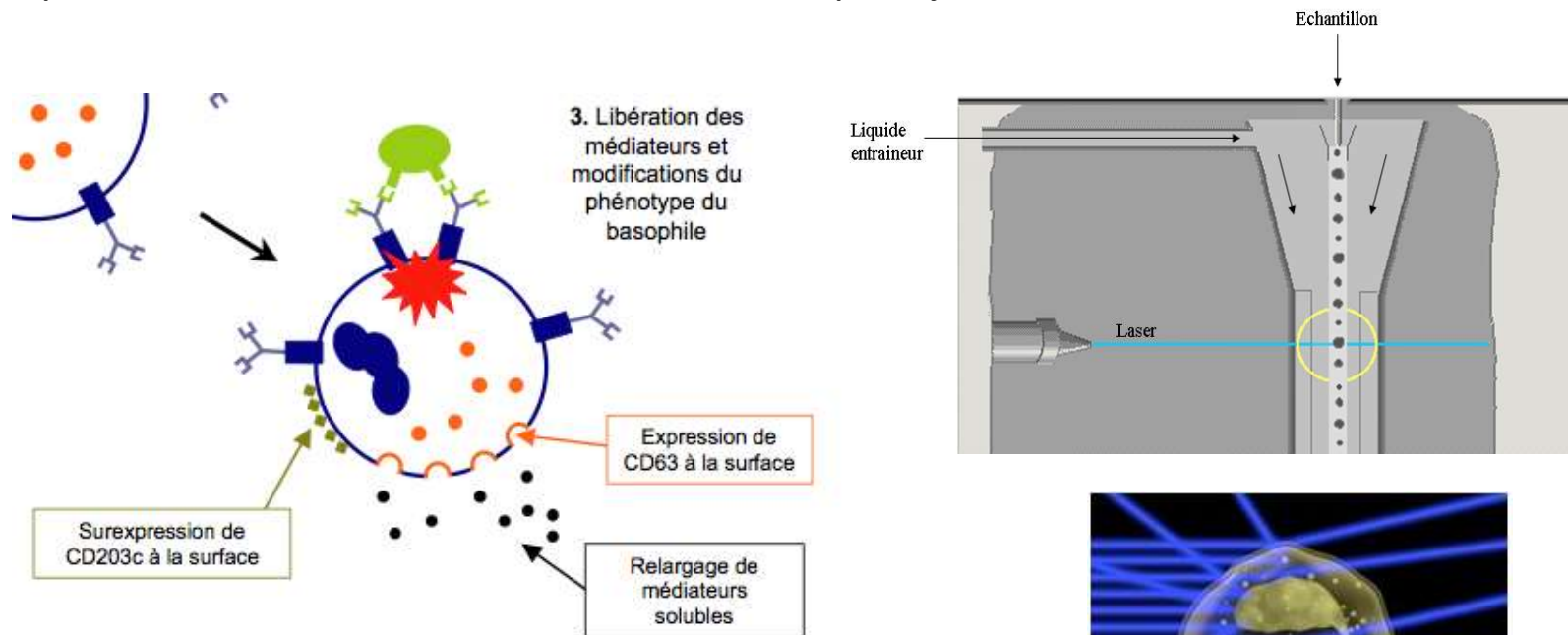
Morphine



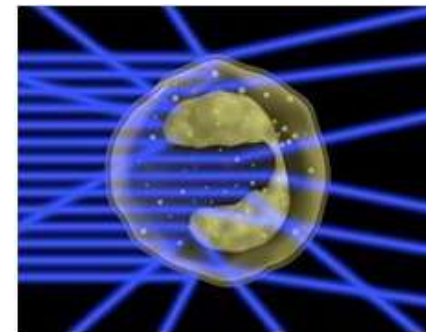
Suxaméthonium

2 - Identification du médicament responsable de la réaction Test cellulaire d'activation des basophiles

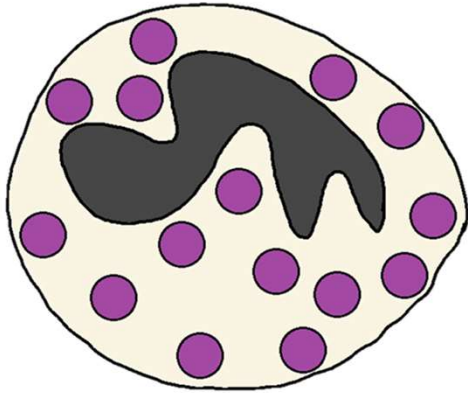
- Principe du test : mesure de l'activation des basophiles (CD203c ou CD63) après mise en contact avec le médicament, par **cytométrie de flux**



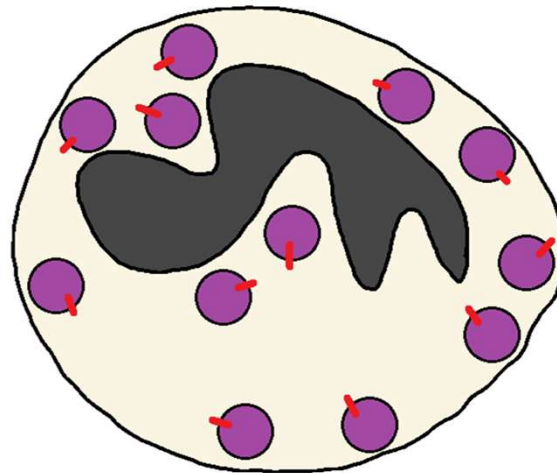
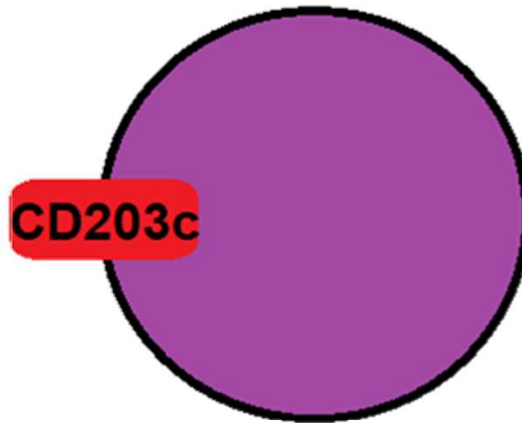
- Prélèvement : 500 μ L de sang total



2 - Identification du médicament responsable de la réaction
Test cellulaire d'activation des basophiles

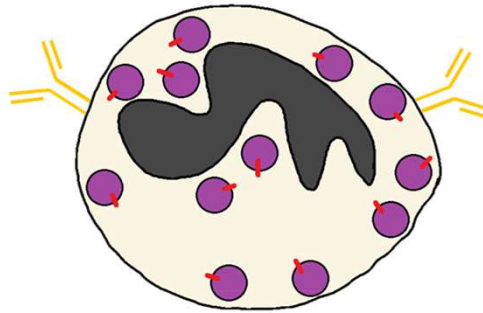


**Le basophile,
ses granulations,
son CD203c**

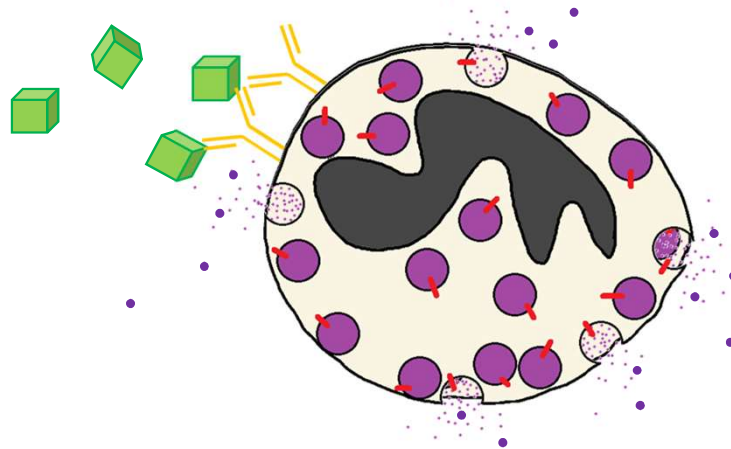


Test cellulaire d'activation des basophiles : principe

Basophile « sensibilisé » :
fixation IgE spécifique
membranaire

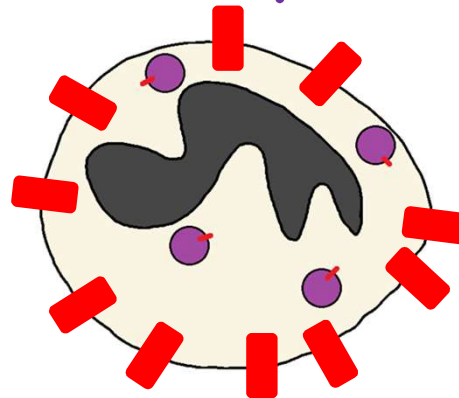


Fixation
antigénique

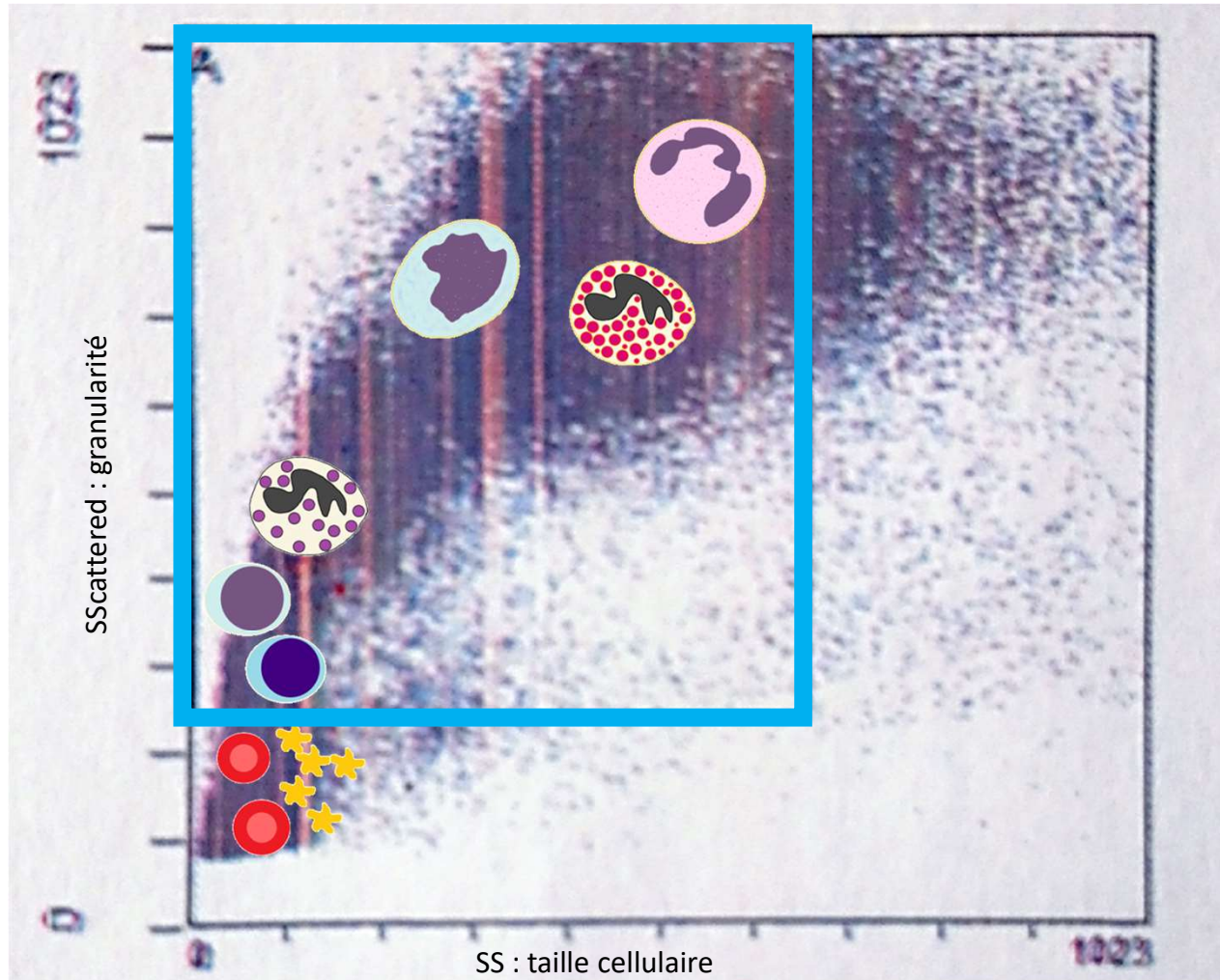


Fusion membranaire
et dégranulation

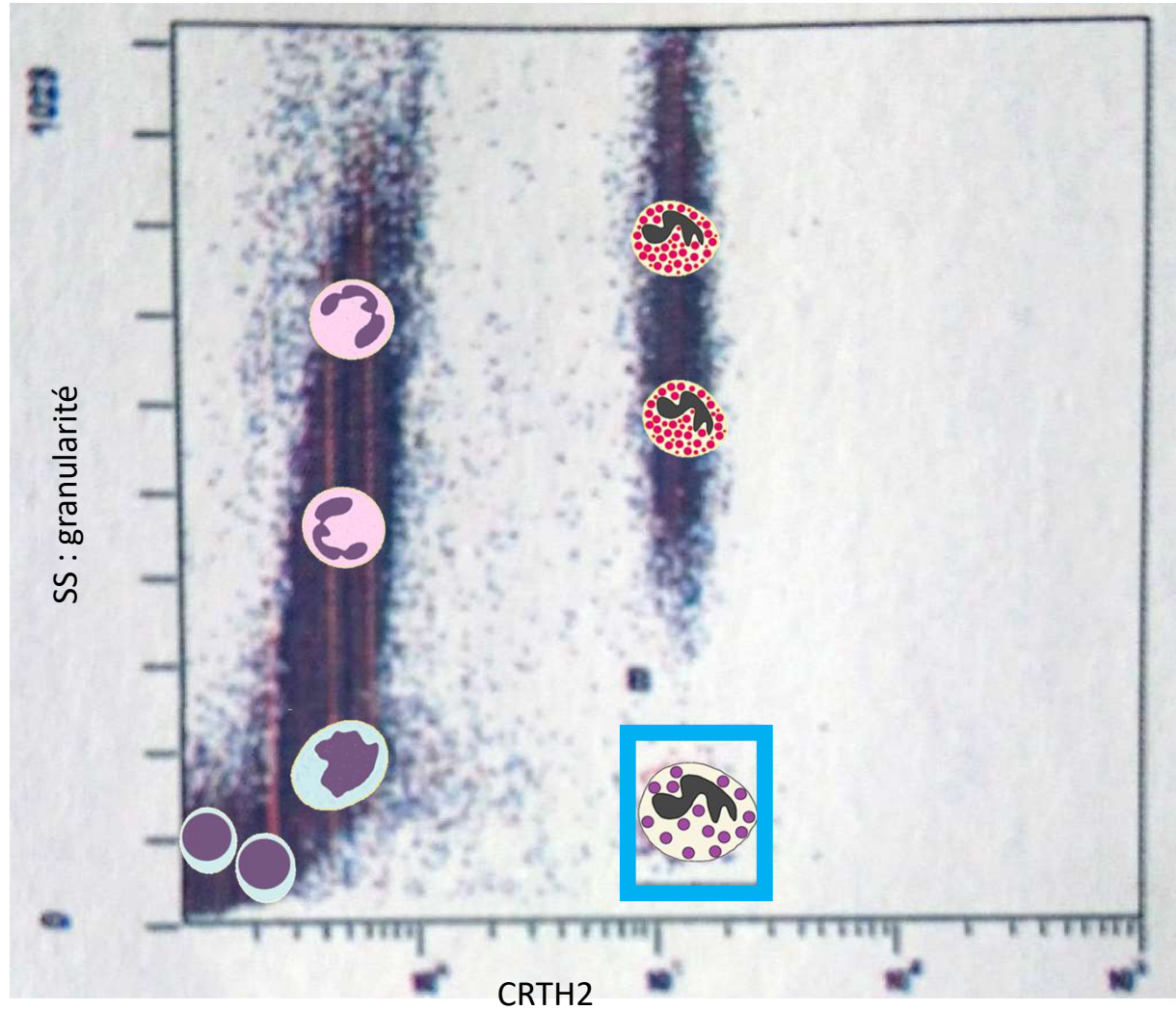
Surexpression
membranaire du CD203c



Cytométrie en flux

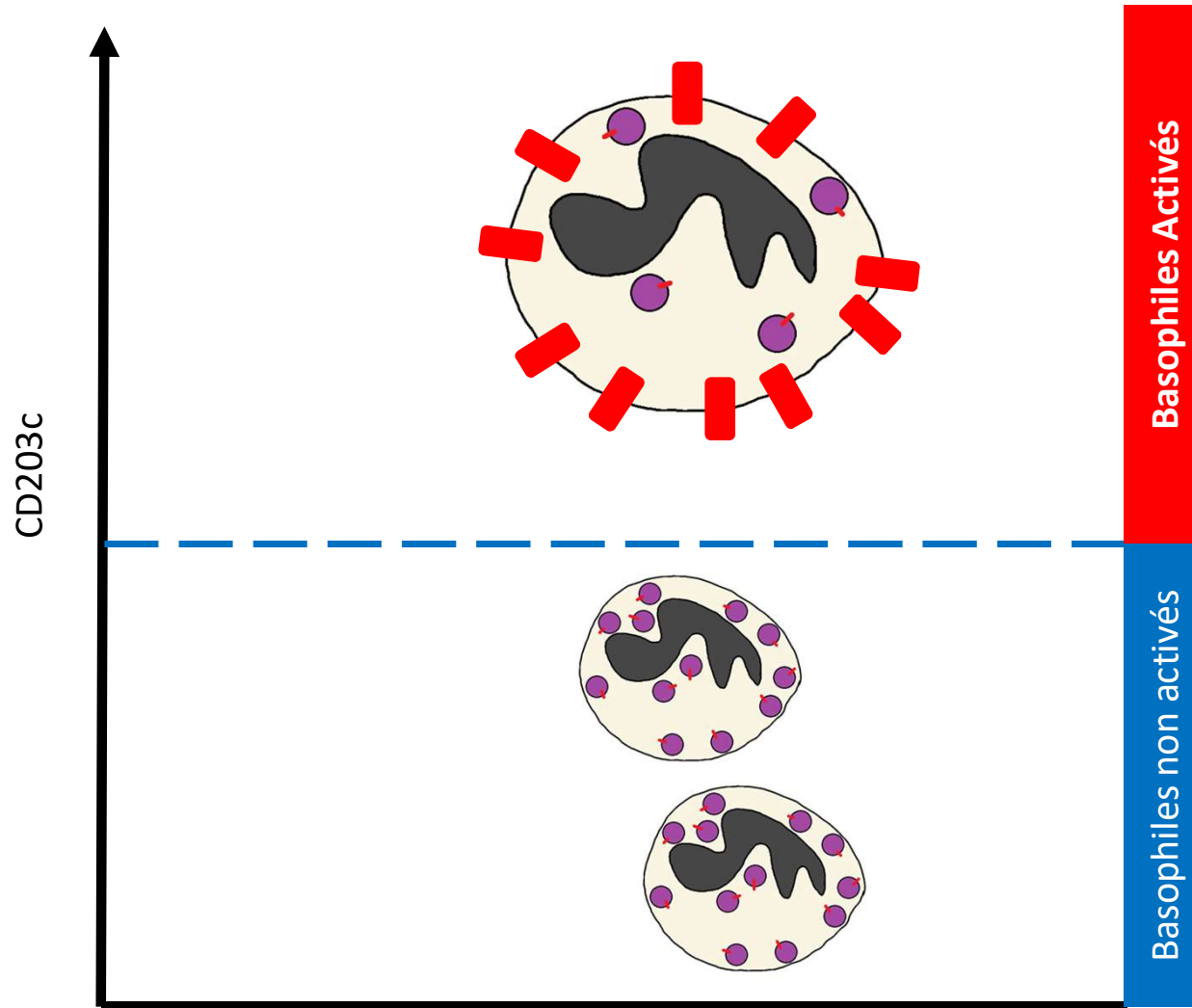


Sélection des cellules en fonction de leur taille et granularité (SSCattered)



Sélection des cellules CRTH2 (Ac anti-CRTH2 marqué)

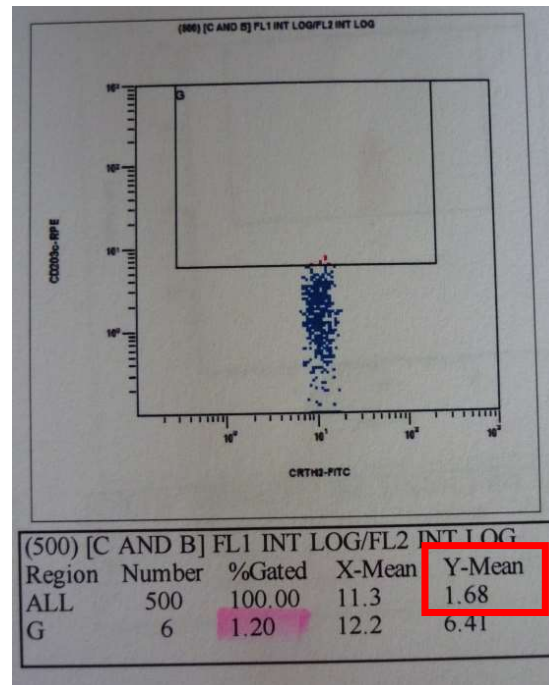
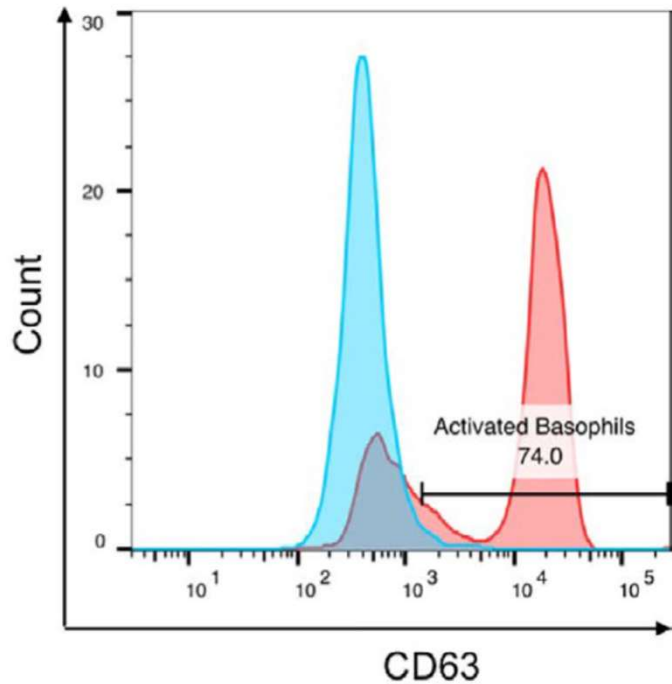




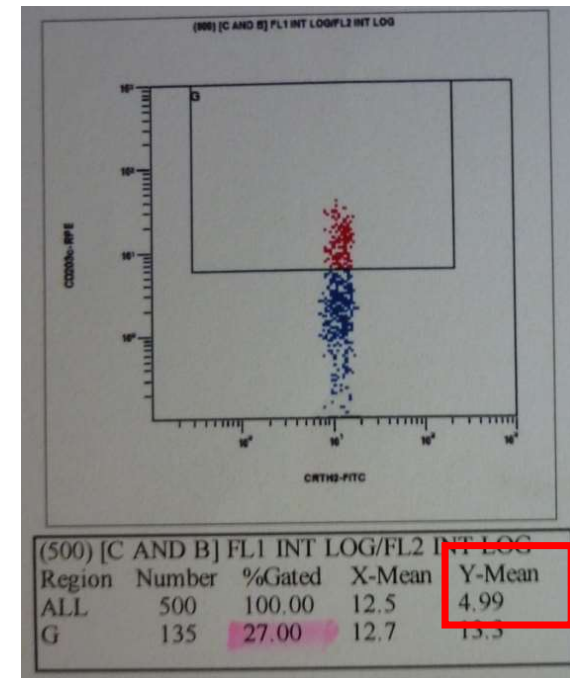
Anticorps anti-CD203c : population des basophiles activés par l'Antigène testé

TAB Interprétations des résultats

3. MFI : Moyenne de fluorescence



Témoin négatif



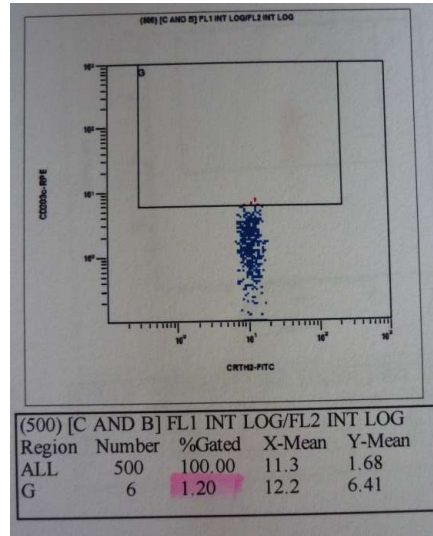
Célocurine : MFI x 3

CD 203c

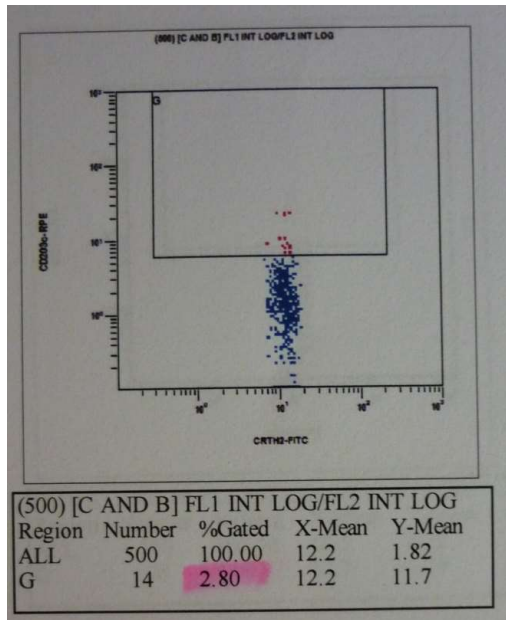
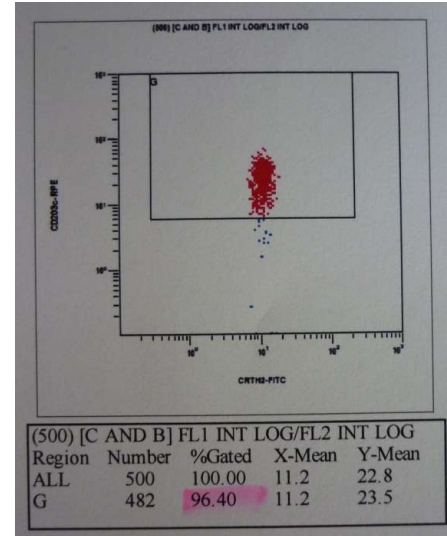


Témoin négatif

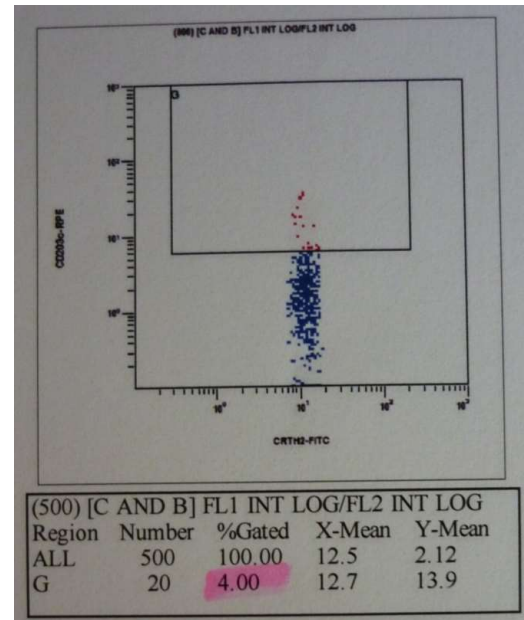
TAB Mme M :
Résultats pour
la Célocurine



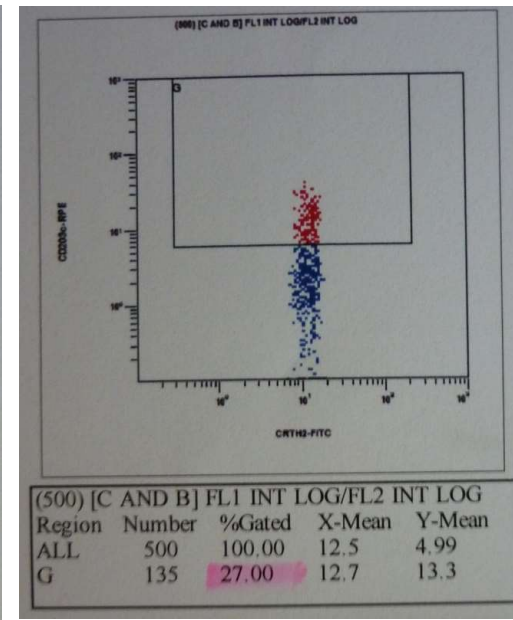
Témoin positif



Dil 10

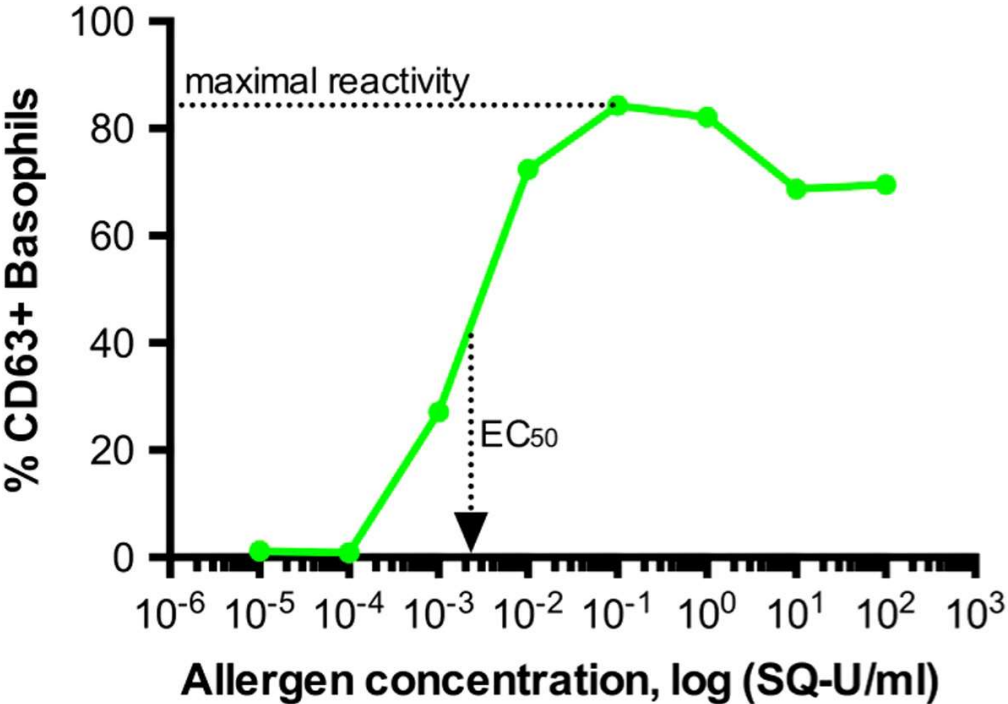


Dil 100



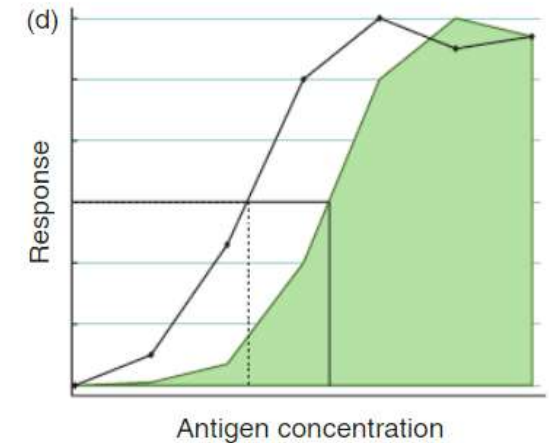
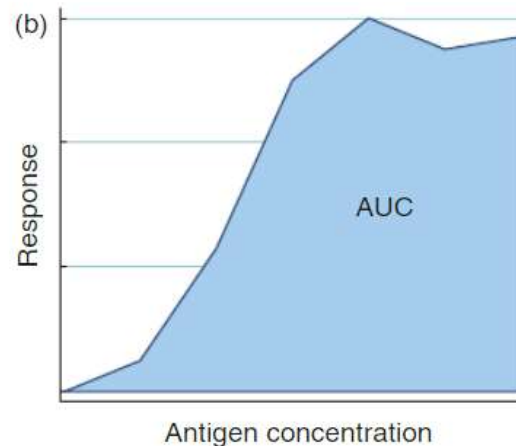
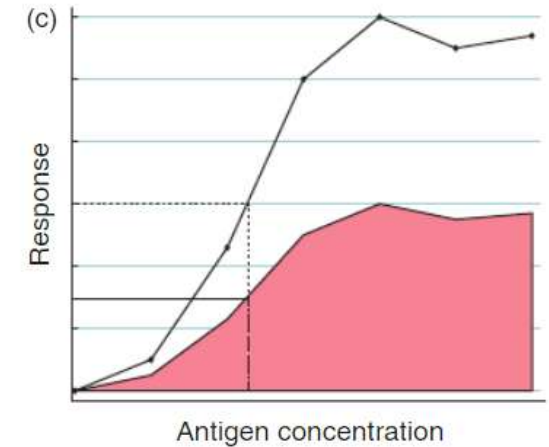
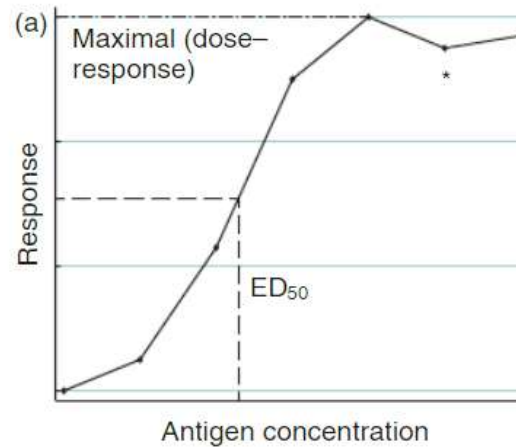
Dil 1000

Basophil activation test: Mechanisms and considerations for use in clinical trials and clinical practice

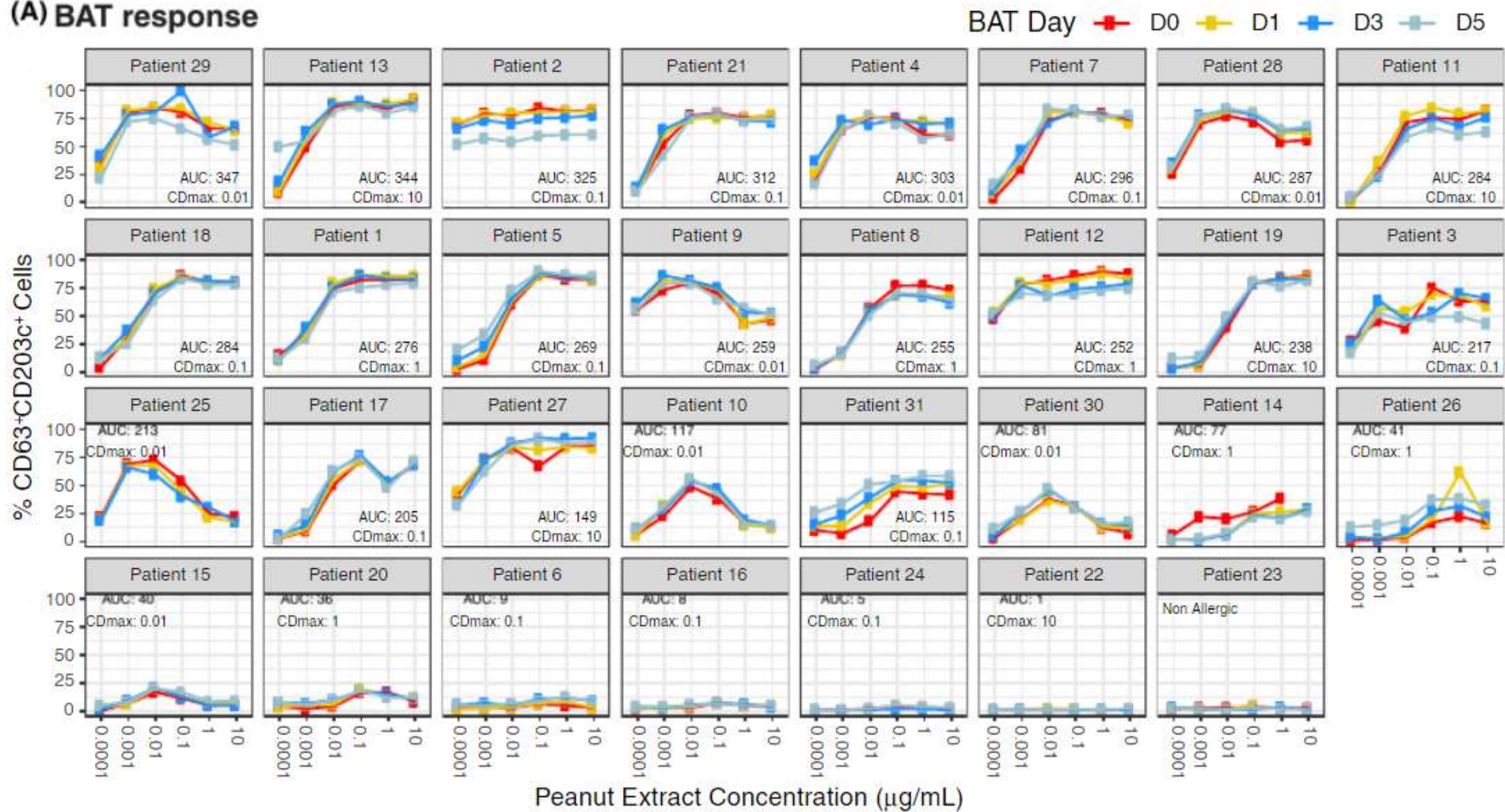


TAB Interprétations des résultats

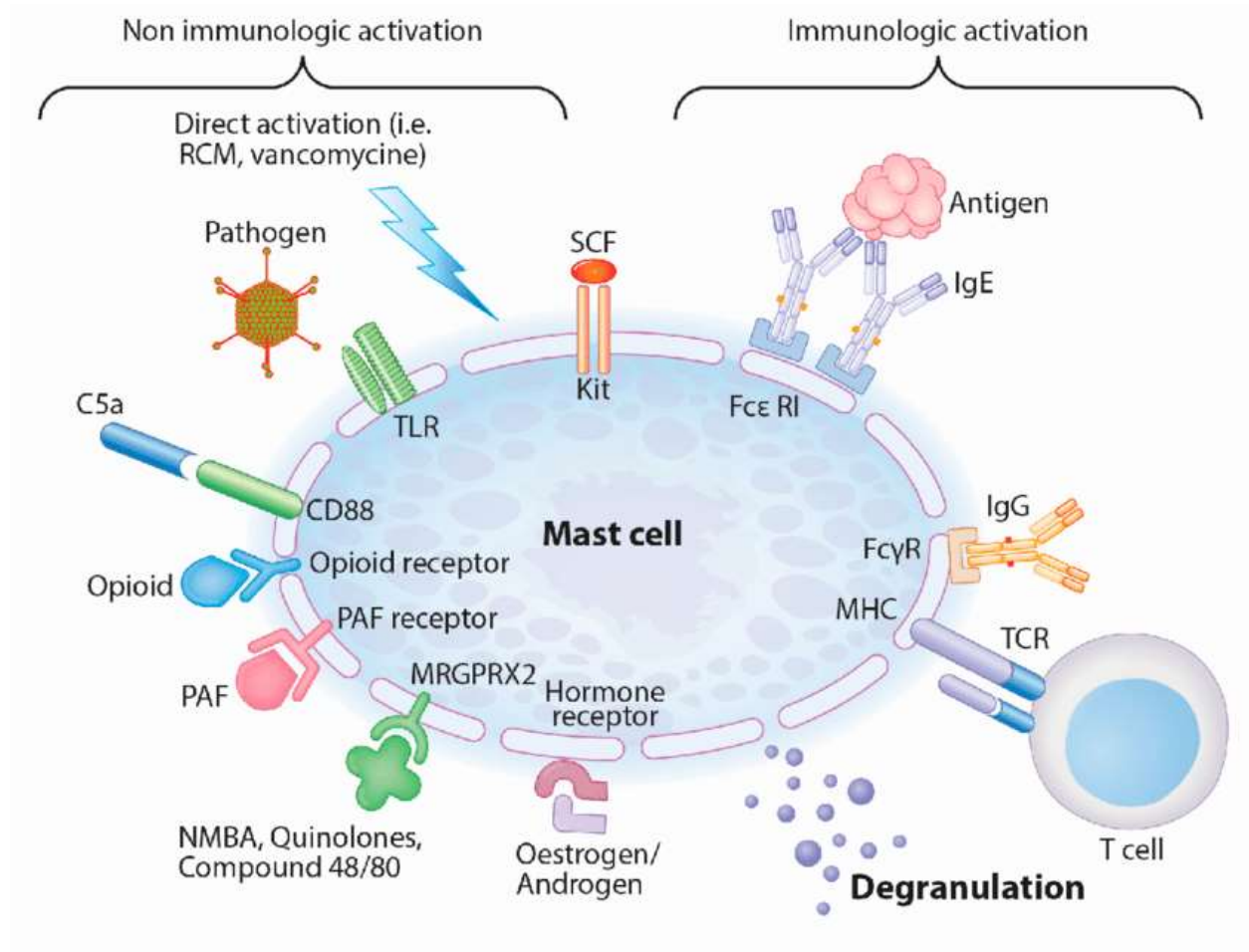
- **EC / CD max** : concentration d'allergène la plus faible entraînant l'activation maximale des basophiles
- **CD sens/ EC50 / ED50 / sensibilité** : concentration en allergène entraînant 50% de l'activation maximale
- **AUC** : aire sous la courbe



(A) BAT response



Interprétation : Le TAB objective uniquement une dégranulation des PNB



Test d'activation des basophiles

Quels allergènes sont disponibles

Bülmann : liste des allergènes

- Mé
-
-
- All

DRUGS		Analgesics		Local Anesthetics	
Antibiotics		BAG2-C51	LYS-ASPIRIN	BAG2-CART	ARTICAINE
BAG2-C1	PENICILLIN G	BAG2-C52	DICLOFENAC	BAG2-CBUP	BUPIVACAINE
BAG2-C11	BENZYL PENICILLOYL-POLYLYSIN, PPL	BAG2-C53	IBUPROFEN	BAG2-CMEP	MEPIVACAINE
BAG2-C12	BENZYL PENICILLIN +-ACID, MDM	BAG2-C54	INDOMETHACIN	BAG2-CLID	LIDOCAINE
BAG2-C2	PENICILLIN V	BAG2-C55	ACETAMINOPHEN	Contrast Media	
BAG2-C3	CEPHALOSPORIN C	BAG2-C56	MEFENAMIC ACID	BAG2-CIOBI	IOBITRIDOL
BAG2-C31	CEFAMANDOLE	BAG2-C57	PHENYLBUTAZONE	BAG2-CIODI	IODIXANOL
BAG2-C32	CEFAZOLIN	BAG2-C58	PROPYPHENAZONE	BAG2-CIOHE	IOHEXOL
BAG2-C33	CEFUROXIME	BAG2-C59	DIPYRONE / METAMIZOLE	BAG2-CIOME	IOMEPROL
BAG2-C34	CEFACTOR	BAG2-CNAP	NAPROXEN	BAG2-CIOPA	IOPAMIDOL
BAG2-C35	CEFTRIAZONE	BAG2-CTRA	TRAMADOL	BAG2-CIOPR	IOPROMIDE
BAG2-C36	LEVOFLOXACIN	BAG2-C114	SALICYLIC ACID (SODIUM SALT)	BAG2-CIOXA	IOXAGLATE
BAG2-C61	SULFAMETHOXAZOLE	Myorelaxants		Antiseptics	
BAG2-C62	TRIMETHOPRIM	BAG2-CATR	ATRACURIUM	BAG2-CCHX	CHLORHEXIDINE
BAG2-C75	TETRACYCLINE	BAG2-CCAT	CISATRACURIUM	Proton Pump Inhibitors (PPI)	
BAG2-C76	DOXYCYCLINE	BAG2-CMIV	MIVACURIUM	BAG2-COME	OMEPRAZOLE
BAG2-C81	CIPROFLOXACINE	BAG2-CPAN	PANCURONIUM	BAG2-CESO	ESOMEPRAZOLE
BAG2-C82	MOXIFLOXACINE	BAG2-CPRO	PROPOFOL	BAG2-CPANT	PANTOPRAZOLE
BAG2-C203	AMPICILLINE	BAG2-CROC	ROCURONIUM	BAG2-CLAN	LANSOPRAZOLE
BAG2-C204	AMOXICILLINE	BAG2-CSUX	SUXAMETHONIUM	Beta Blockers	
BAG2-CCLA	CLARITHROMYCINE	BAG2-CVEC	VECURONIUM	BAG2-CBIS	BISOPROLOL
BAG2-CCLAX	CLAVULANIC ACID AMOX (CLAVULANIC ACID AMOXICILLINE 20/80)	BAG2-CNBX	NEUROMUSCULAR BLOCKERS MIX (CATR, CCAT, CMIV, CPAN, CPRO, CROC, CSUX, CVEC)	BAG2-CMET	METOPROLOL
BAG2-CCLIN	CLINDAMYCINE			ACE inhibitors	
BAG2-CERY	ERYTHROMYCINE			BAG2-CRAM	RAMIPRIL
BAG2-CRIF	RIFAMPICINE				

2 - Test cellulaire d'activation des basophiles

Performances analytiques

Evaluation de la sensibilité et spécificité :

- Dans les études, pas toujours de réintroduction (gold standard)
- > évaluation réalisée sur la base des TC + histoire clinique
- Sensibilité et spécificité peuvent varier selon les critères de positivité retenus dans l'étude

	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Bêta-lactamines	22 - 55	79-96
Curares	64 – 85,7	93 - 100
Pyrazolones	42 – 55	86 - 100
Fluoroquinolones	36 – 71	90
Produits de contraste	46 -62	88 - 100
Pristinamycine	70	100

Mayorga et al. ENDA Allergy 2016
Rouzaire et al. Int Arch Allergy Immunol. 2012

- **Excellente valeur prédictive positive**
- Parfois non évalués, nécessité de standardisation

Place du TAB dans le diagnostic de l'allergie

Position paper EAACI 2015

1. Histoire clinique

/ sévérité des symptômes

2. Identifier l'allergène en cause :

- En 1^{ère} intention : SPT ou IgE spécifiques
- +/- IDR pour les allergies aux venins et aux médicaments

3. Envisager un TAB

dans les cas suivants :

- Allergène connu pour produire des **résultats faussement négatifs avec les tests cutanés (TC)**
- **Absence d'allergène disponible** pour les TC ou les IgEs
- **Discordance** entre l'histoire clinique et les TC ou les IgEs
- **Risque de réaction systémique** lors de la réalisation des TC (selon l'histoire clinique)
- **Avant d'envisager un test de provocation** pour confirmer l'allergène en cause

2 - Test cellulaire d'activation des basophiles

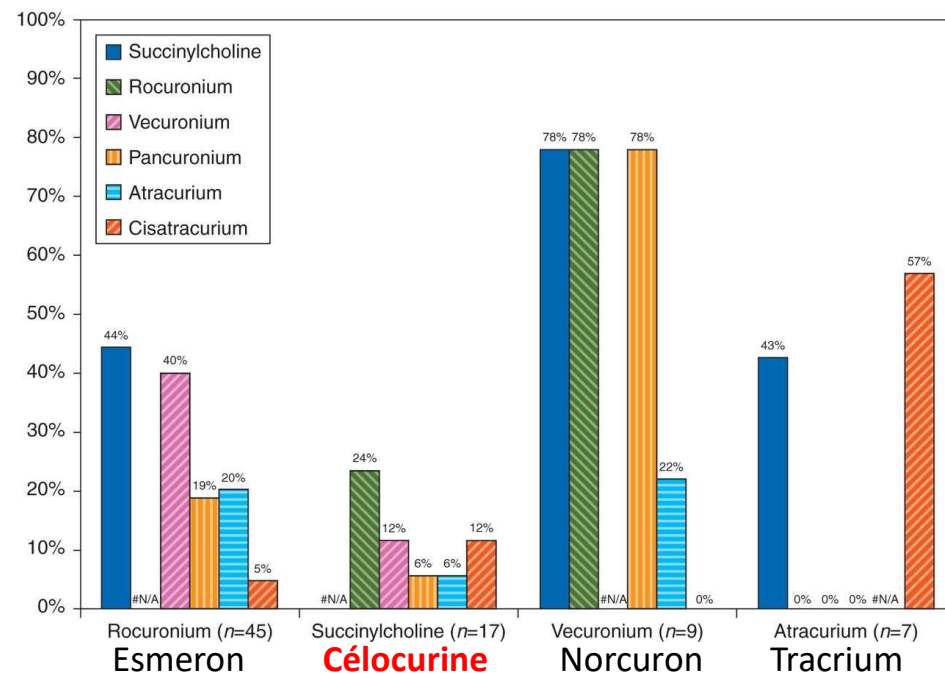
Identification de réactivités croisées

Test d'activation des basophiles (% de basophiles activés) de Mme M :

- Témoin négatif : 1%
- Témoin positif : 96%

Panel curares:

- **Célocurine : 27% (positif)**
- Esmeron : 2%
- Tracrium : 2%
- Mivacron : 1%
- Nimbex : 2%
- Clamoxyl : 2%



Rates of cross-reactivity for patients diagnosed with anaphylaxis according to the triggering NMDB

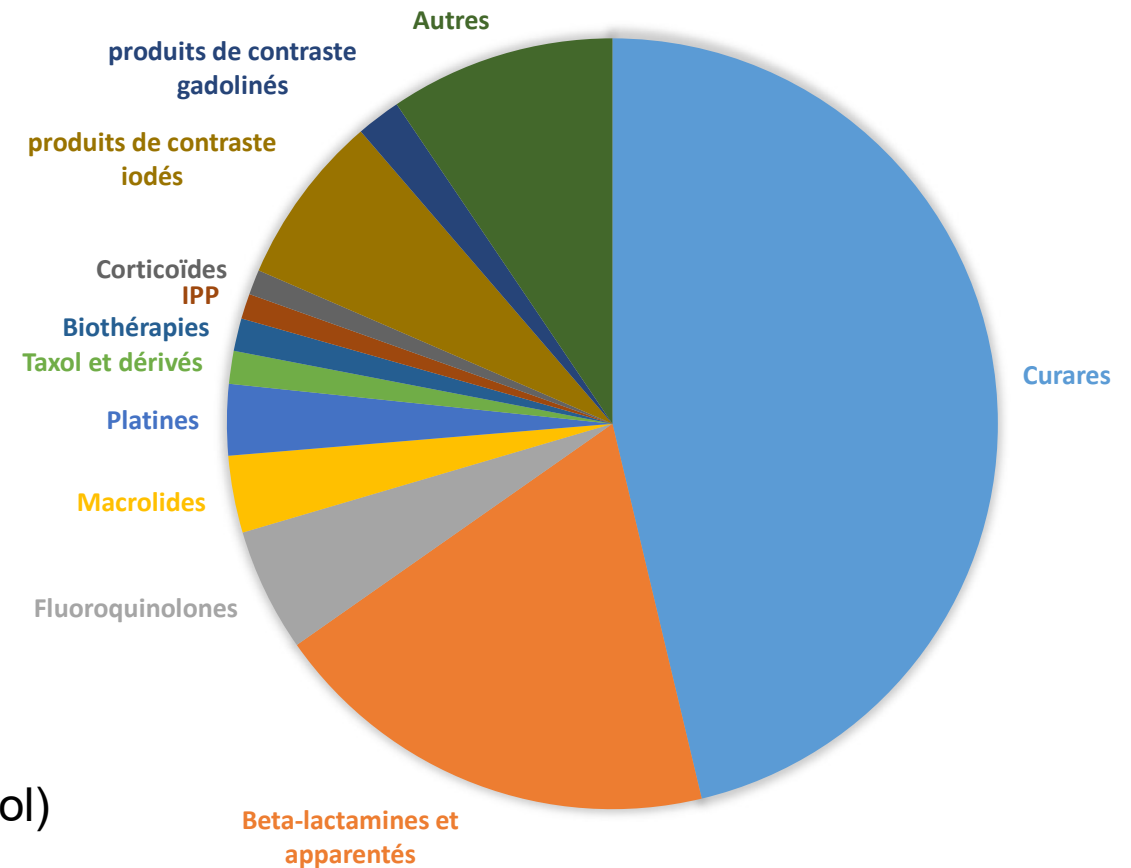
Contraintes et limites liées au test

- Réalisation du test **dans les 24h** suivant le prélèvement (idéalement dans les 12 heures)
- Technique manuelle, nécessitant d'être équipé d'un cytomètre en flux
- Acte innovant (non inscrit à la NABM)
- Résultats indéterminés
 - Non-répondeur
 - Activation spontanée dans T- (IgE spécifiques sérum albumine bovine)
- Allergènes (source, procédés de préparation, etc)
- **Manque de standardisation** (marqueur d'activation, concentrations d'allergènes testées, expression des résultats, seuil de positivité..)

Utilisation des TAB en routine : exploration des réactions d'HSI aux médicaments

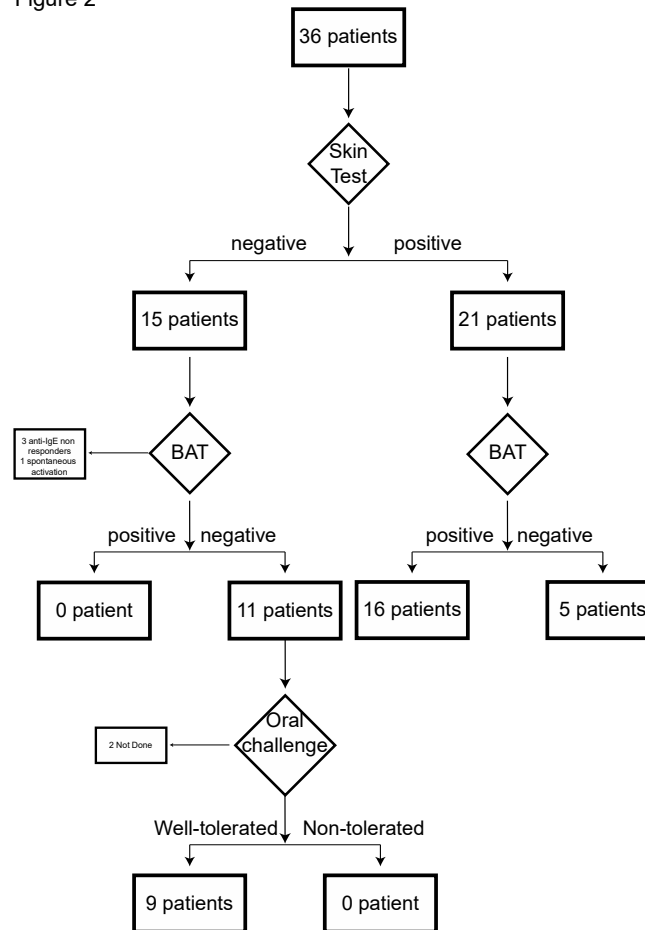
MÉDICAMENTS TESTÉS EN TAB EN 2019 AU CBPS

- Curares
- Antibiotiques :
 - β -lactamines
 - Fluoroquinolones
 - Pyostacine
- Produits de contraste (iodés/gadolinés)
- Anesthésiques locaux
- Produits de chimiothérapie (Platines, Taxol)



Expérience à Lyon Sud : la pyostacine

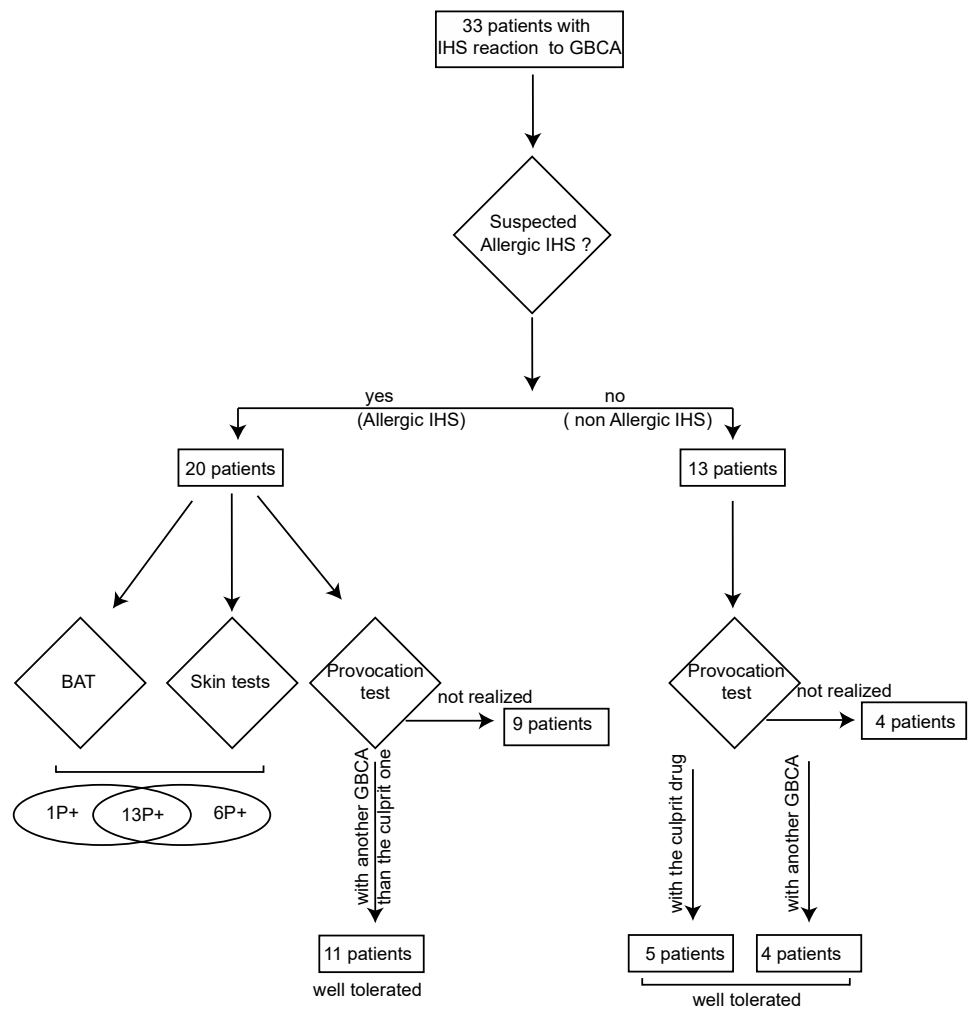
Figure 2



Viel et al.

Produits de contraste gadolinés:

C



Cas clinique, Mr B C, 58 ans

- Prescription de LEVOFLOXACINE (TAVANIC) dans un contexte de pneumopathie
- 06/12/2018 : 15 minutes après la prise du 1er comprimé :
 - gêne respiratoire d'aggravation progressive, puis érythème membres inférieurs et membres supérieurs + angioedème du visage
 - Hypotension artérielle à 80/60mmHg / tachycardie > 100bpm, désaturation avec signes de détresse respiratoire, tachypnée et râles sibilants
- Dosages réalisés au cours de la réaction :

Délai après le choc	90 min	1 mois après
Histamine (nmol/L) (Val. Réf. < 10)	89	
Tryptase (pg/mL)	10,4	4,6

Cas clinique, Mr B C, 58 ans

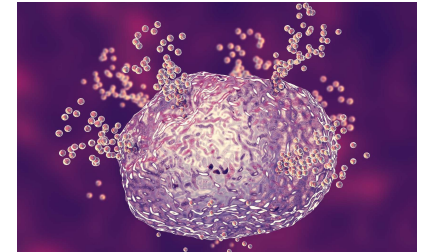
- Exploration allergologique :

	Test cutanés	% basophiles activés
Levofloxacin	PT et IDR négatif	1
Ofloxacin	PT positif	12
Ciprofloxacin	PT positif	3
Lomefloxacin	PT négatif	10
Moxifloxacin	PT positif	3

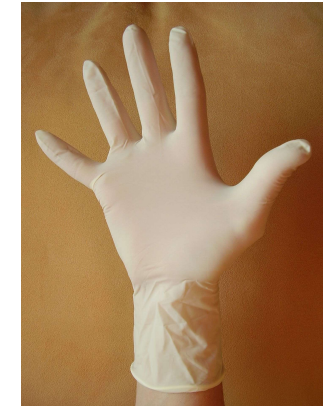
-> Réactions liées à une dégranulation mastocytaire IgE médiée ? Autre voie d'activation?

Perspectives

- Utilisation de lignées mastocytaires
- Standardisation : Eurobat
- Evolution des réactifs (lyophilisation anticorps, allergènes..)
- Automatisation?



Exploration biologique de l'allergie au latex



IgE spécifiques **latex**
positives

*Histoire clinique
évoquant une
allergie au latex*

*Découverte fortuite,
Patients polliniques*

IgE spécifiques
Hev b 5 et Hev b 6.02
(ou 6.01)
Allergènes majeurs

IgE spécifiques
Hev b 8
Profiline

Si négatif

IgE spécifiques
Hev b 1 et Hev b 3
(patients multi-opérés)

3.7. Quels dosages d'IgE spécifiques prescrire devant une suspicion d'allergie au latex d'hévéa ?

Texte de la recommandation

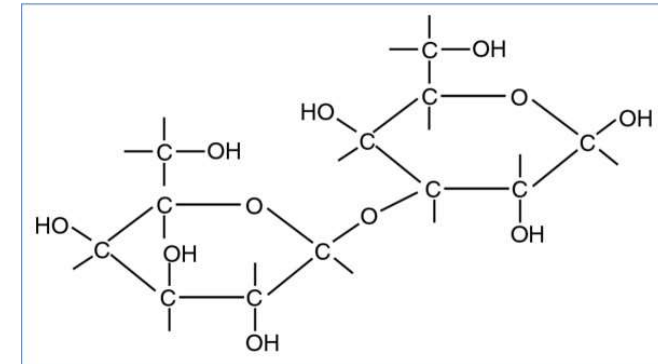
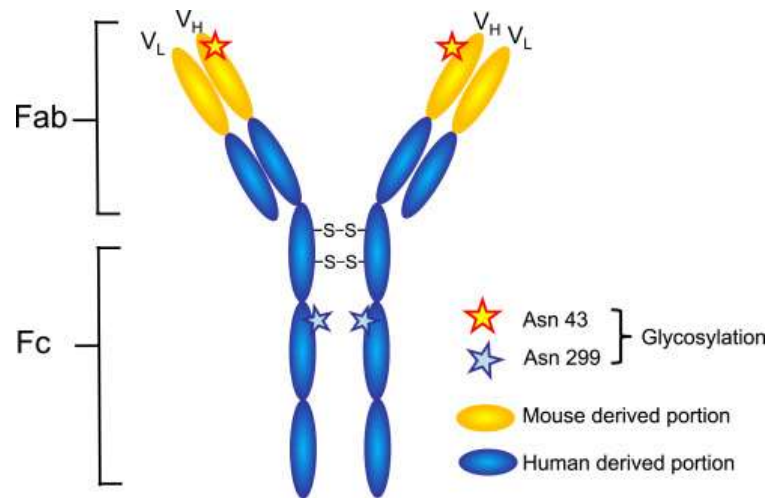
Devant une histoire clinique évoquant une allergie au latex d'hévéa, il est recommandé de prescrire en première intention les IgE spécifiques anti-latex.

En cas de positivité, il est recommandé de doser les IgE spécifiques des allergènes moléculaires majeurs du latex d'hévéa : Hev b 5, Hev b 6.02 (ou Hev b 6.01).

Les dosages des IgE spécifiques de Hev b 1 et Hev b 3 sont utiles chez les patients multi-opérés. Le dosage des IgE anti-Hev b 6.02 et anti-Hev b 11 sont utiles pour explorer des allergies croisées avec des aliments.

Cotation de la recommandation : 8,7 (min. 8, max 9)

Allergie au cetuximab



Structure of galactose-alpha 1,3-galactose (alpha-gal).

Saleh et al, Clinical and Molecular Allergy · March 2012



Fig. 1. Structure of cetuximab showing glycosylation sites. Cetuximab is a chimeric mouse-human monoclonal antibody biologic with galactose- α -1,3-galactose (α -Gal) oligosaccharide bound possibly to the Asn 43 glycosylation site of V_H of the mouse-derived Fab portion.

10.1016/j.alit.2019.04.001

IgE spécifiques	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Galactose-alpha-1,3-galactose (Cetuximab)	68 - 92	90 - 92

Allergie au cetuximab

3.9. Faut-il doser les IgE anti-alpha-Gal avant l'administration de Cetuximab ?

Texte de la recommandation

Il n'y a pas d'argument bibliographique permettant de recommander le dosage des IgE anti-alpha-Gal avant l'initiation d'un traitement par Cetuximab. Cependant, plusieurs arguments, dont la gravité des réactions allergiques, incitent les experts à recommander ce dosage qui a une bonne valeur prédictive positive, pour détecter une éventuelle sensibilisation à l'alpha-Gal avant la mise en route du traitement par Cetuximab.

Cotation de la recommandation : 8,7 (min. 8, max 9)

Conclusion

- Tests biologiques à prescrire en 2nde intention
- A interpréter en tenant compte des performances analytiques
- La standardisation des TAB permettra d'améliorer les performances analytiques de ces tests