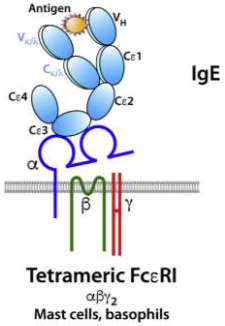


Module 5 : Médicaments

Hypersensibilité immédiate
Focus sur les tests biologiques

Lorna GARNIER

Service d'Immunologie biologique

Hôpital Lyon Sud

Mai 2024

Hospices Civils de Lyon

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

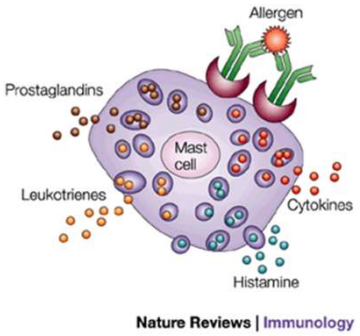
- Médicaments administrés lors de l'intervention :
  - **Amoxicilline** : antibiotique
  - **Droleptan** (dropéridol) : neuroleptique (prémédication de l'anesthésie)
  - **Kétamine** : anesthésique
  - **Diprivan** (Propofol) : anesthésique
  - **Célocurine** (suxaméthonium) : adjuvant de l'anesthésie générale

- **Peu de temps après induction: Bronchospasme, Hypotension, éruption cutanée**

Réactions adverses aux médicaments

Réaction adverse aux médicaments

- **Type A** Pharmacologique (80%)
  - Effet indésirable, effet secondaire, toxicité, interaction médicamenteuse
- **Type B** Hypersensibilité (10-15%)
  - Immunologique (Allergie) (5-10%)
    - **IgE-médiée**
      Réaction immédiate (<1h)
      Symptômes : urticaire, angioedème, bronchospasme, anaphylaxie
    - **Médiée par les LyT**
      Réaction retardée (>1h)
      Symptômes : exanthème maculo-papuleux, réactions cutanées sévères, etc
    - **Autre**
      Cytotoxique, complexes immuns, etc
  - Non immunologique (5-10%)



Thien, MJA 2006

Réactions d’hypersensibilité immédiate

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

1 – Réactions immédiates :
Objectiver la dégranulation mastocytaire

<u>Médiateurs préformés</u> :

Histamine

Tryptase

Chymase

Carboxypeptidase A

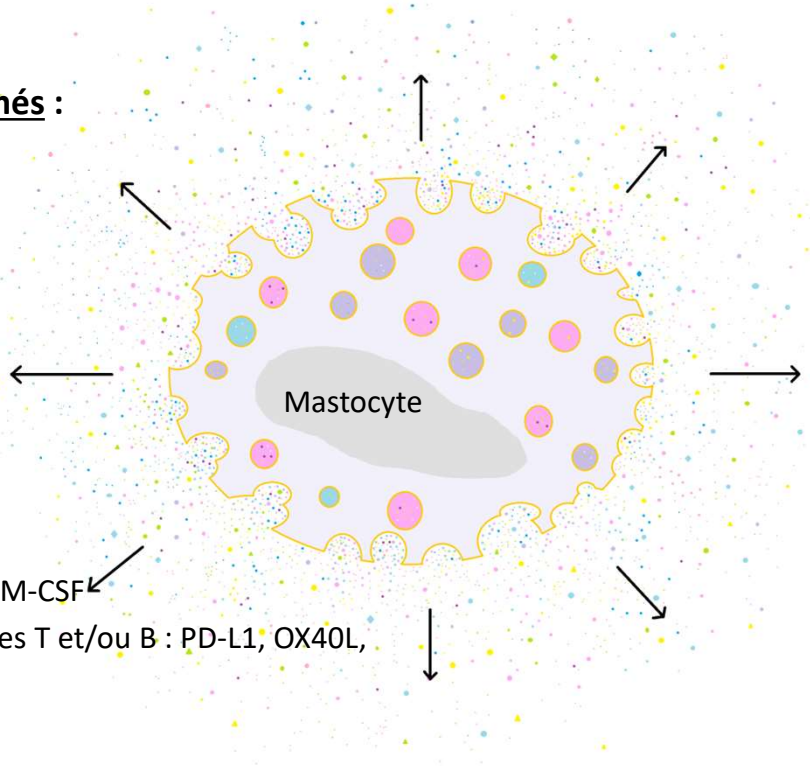
Protéoglycane

Sérotonine

Héparine

Cytokines : IL-4, TNF, GM-CSF

Ligands des lymphocytes T et/ou B : PD-L1, OX40L, CD40L, CCL19, 4-1BB



<u>Médiateurs néo-synthétisés</u> :

Prostaglandines PGD_2

Leucotrienes : LTB_4, LTC_4

PAF

Cytokines : IL1, IL2, IL6, IL8, IL9, IL13, IL17

Facteurs de croissance :

VEGF,PDGF, bFGF, IGF1, EGF, NGF

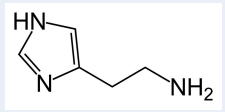
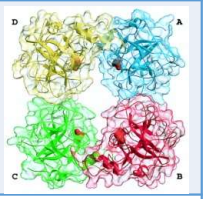
Chemokines : CCL1, CCL2, CCL3, CCL3L1, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CXCL2

Radicaux libres

Substance P

C. Bulteau

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

Recommandation SFA 2021 :
- 1 dosage de **tryptase** idéalement dans les 2h suivant le début des symptômes
- 1 dosage de **tryptase** au minimum 24h après la résolution des symptômes

Elévation significative si :

Tryptasémie > 1,2 X [Tryptasémie basale] + 2 µg/L

ou

Tryptasémie > 135% [Tryptasémie basale]

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

Mayorga et al. ENDA Allergy 2016

1 – Objectiver la dégranulation mastocytaire
Médiateurs : Tryptase et Histamine plasmatiques

Autre exemple de cinétique

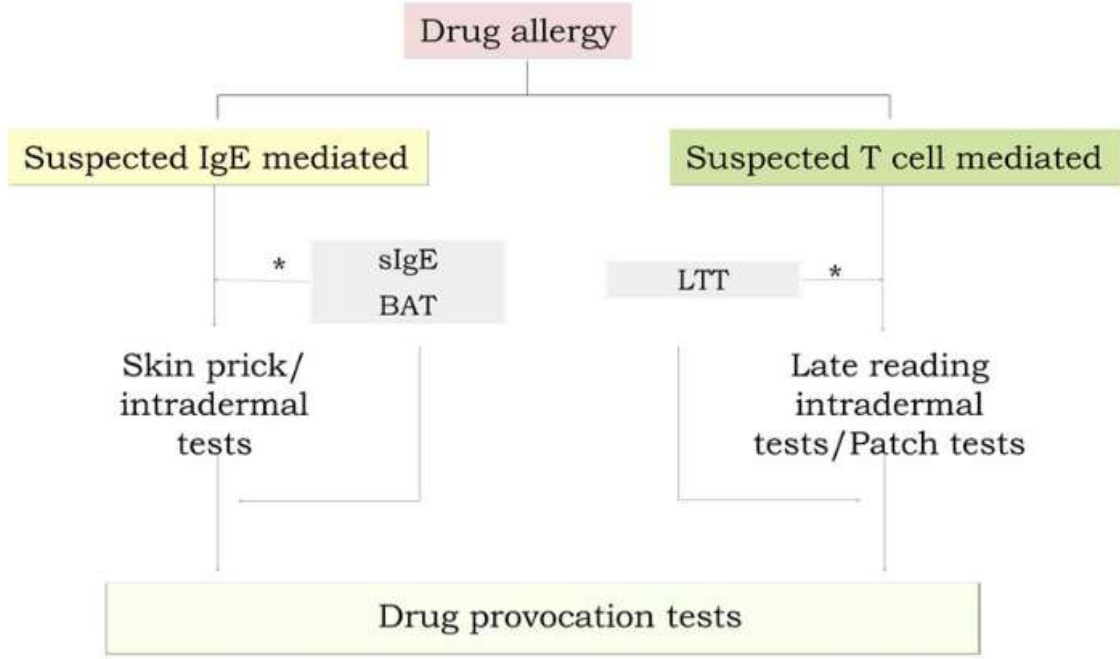
Délai après le choc	15 à 30mn	1 à 2h	>6h
Histamine (nmol/L) (Val. Réf. < 10)	> 100	20	
Tryptase (pg/mL)	6	5,4	5,8

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 cou

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



4 à 6 semaines après la réaction

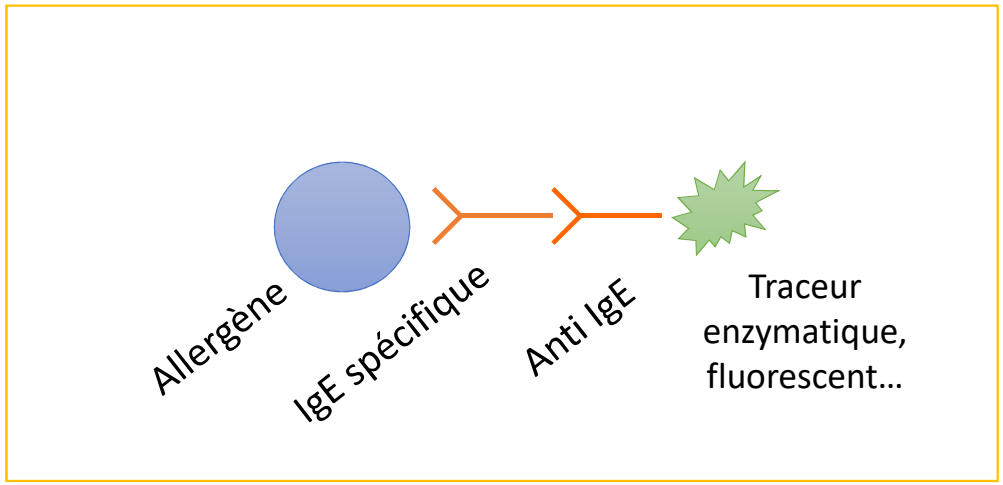
For **high risk patients**
OR
Severe reactions
OR
For drugs where **skin tests are not available**
-> it might be advisable to perform in vitro tests before in vivo tests

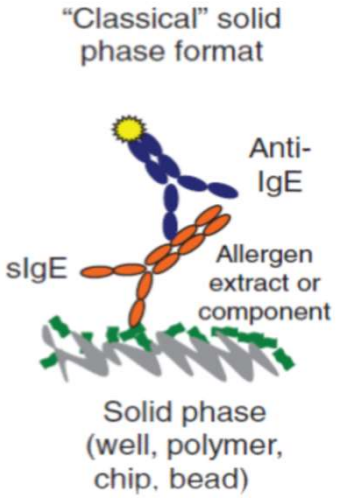
Figure 1 In vitro tests to determine the culprit drug based on the suspected immunological mechanism.

Mayorga et al. Allergy 2016

2 - Identification du médicament responsable de la réaction

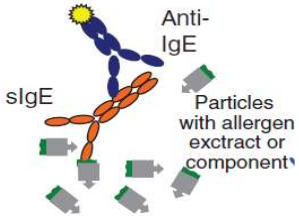
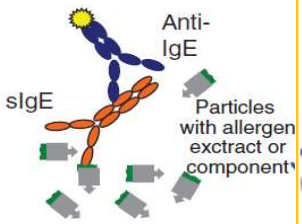
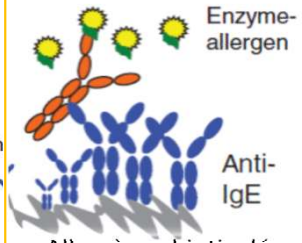
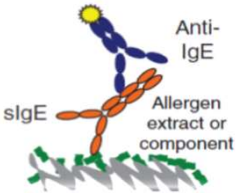
Dosage d'IgE spécifiques





Kleine-Tebbe et al, 2016

Dosage d'IgE spécifiques

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

Kleine-Tebbe et al, 2016

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

Exemple : Liste des réactifs disponibles chez Thermofisher Scientific

* Arrêt 30 avril 2022

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 **2ème intention**, en complément des autres tests
Utilité pour des cas complexes ou discordants, lorsque les tests cutanées 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 bêtalactamines, 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)

Chabane et al. RFA Nov 2021

2 - Identification du médicament responsable de la réaction

Dosage d'IgE spécifiques

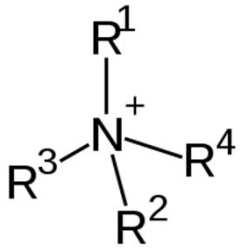
Cinétiques de ces médiateurs lors de la réaction de Mme M :

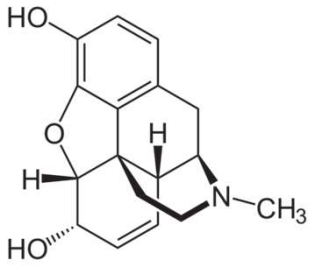
Délai après le choc	15 à 30mn	1 à 2h	>6h
Histamine (nmol/L) (Val. Réf. < 10)	**> 100**	**32**	
Tryptase (pg/mL)	**12,8**	**14**	4,9

Recherche d'IgE spécifiques :

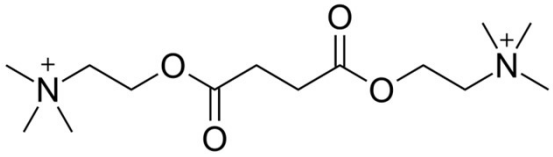
- **IgEs c260 morphine (Ammonium quaternaire) : 10,9 kU/L**

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





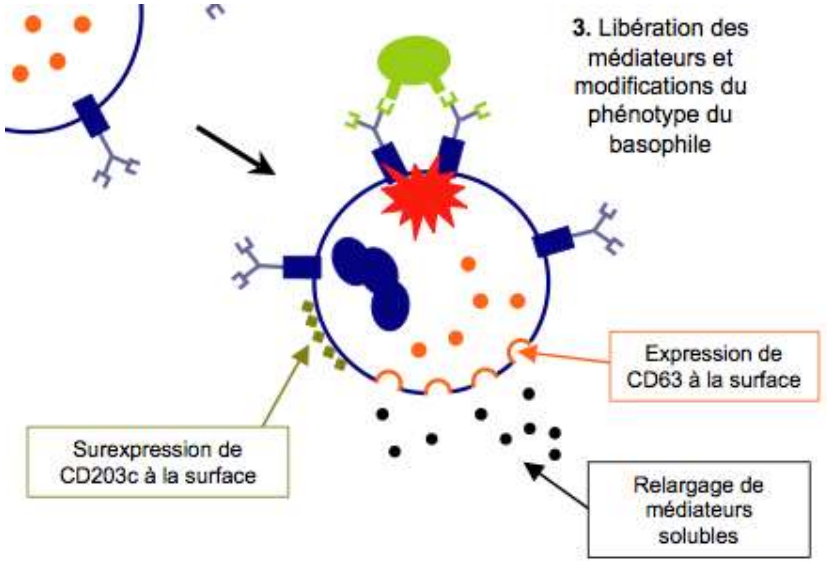
Morphine

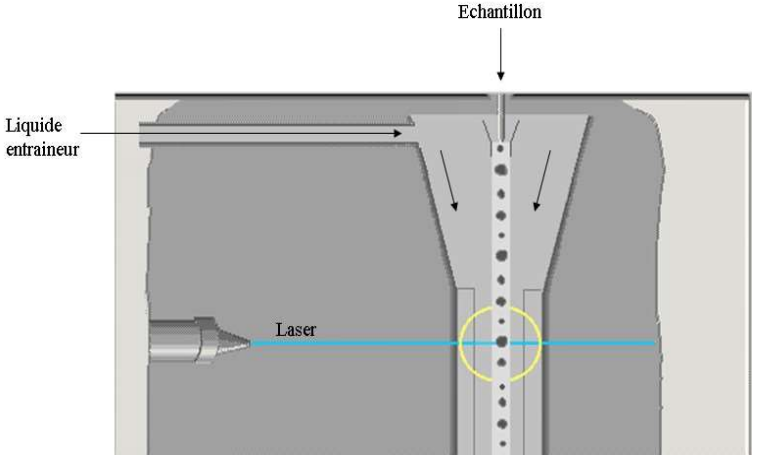


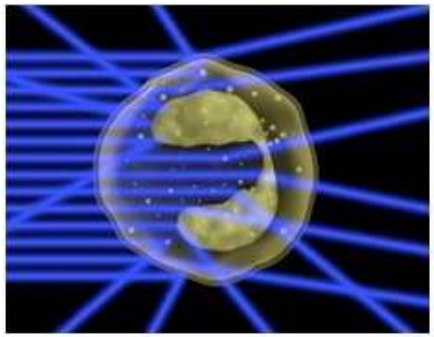
Suxaméthonium

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**



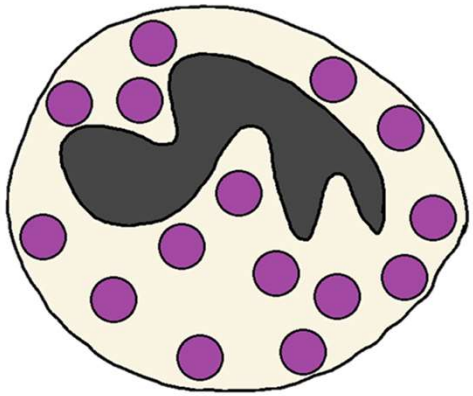


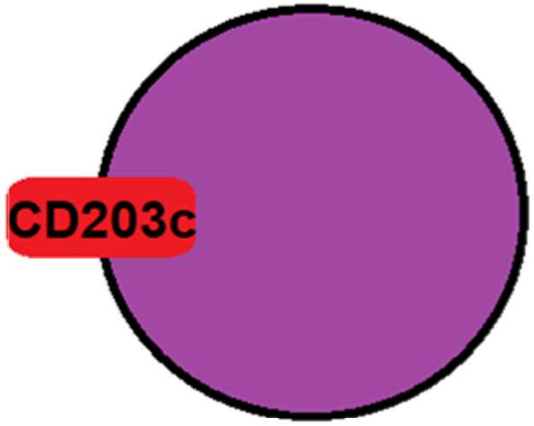


- Prélèvement : 500 µL de sang total

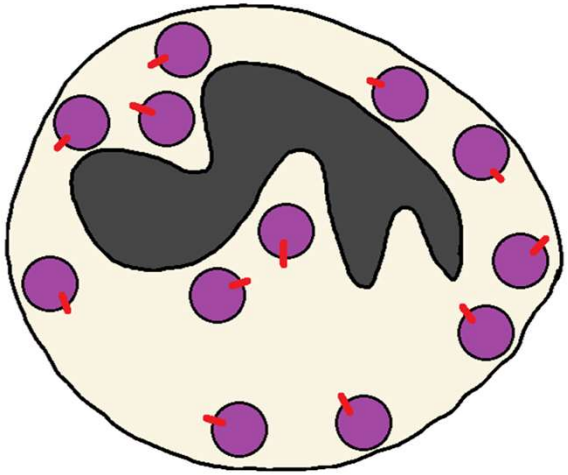
2 - Identification du médicament responsable de la réaction

Test cellulaire d'activation des basophiles



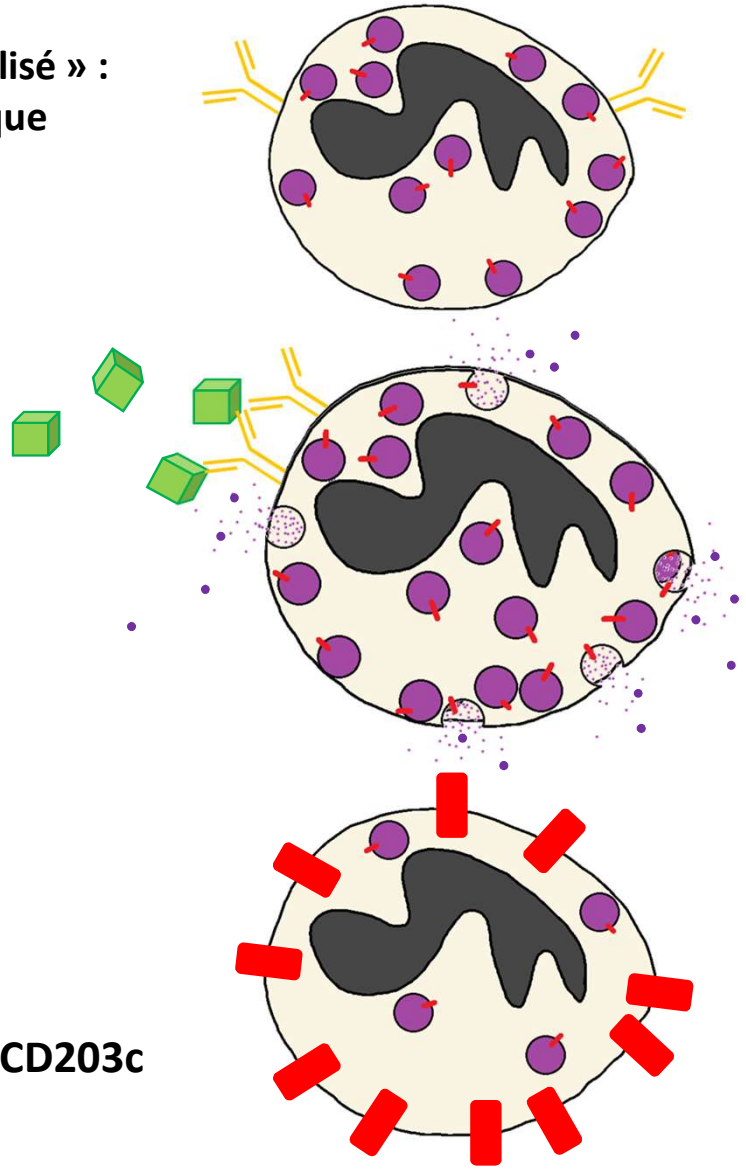


Le basophile,
ses granulations,
son CD203c



Test cellulaire d'activation des basophiles : principe

Basophile « sensibilisé » : fixation IgE spécifique membranaire

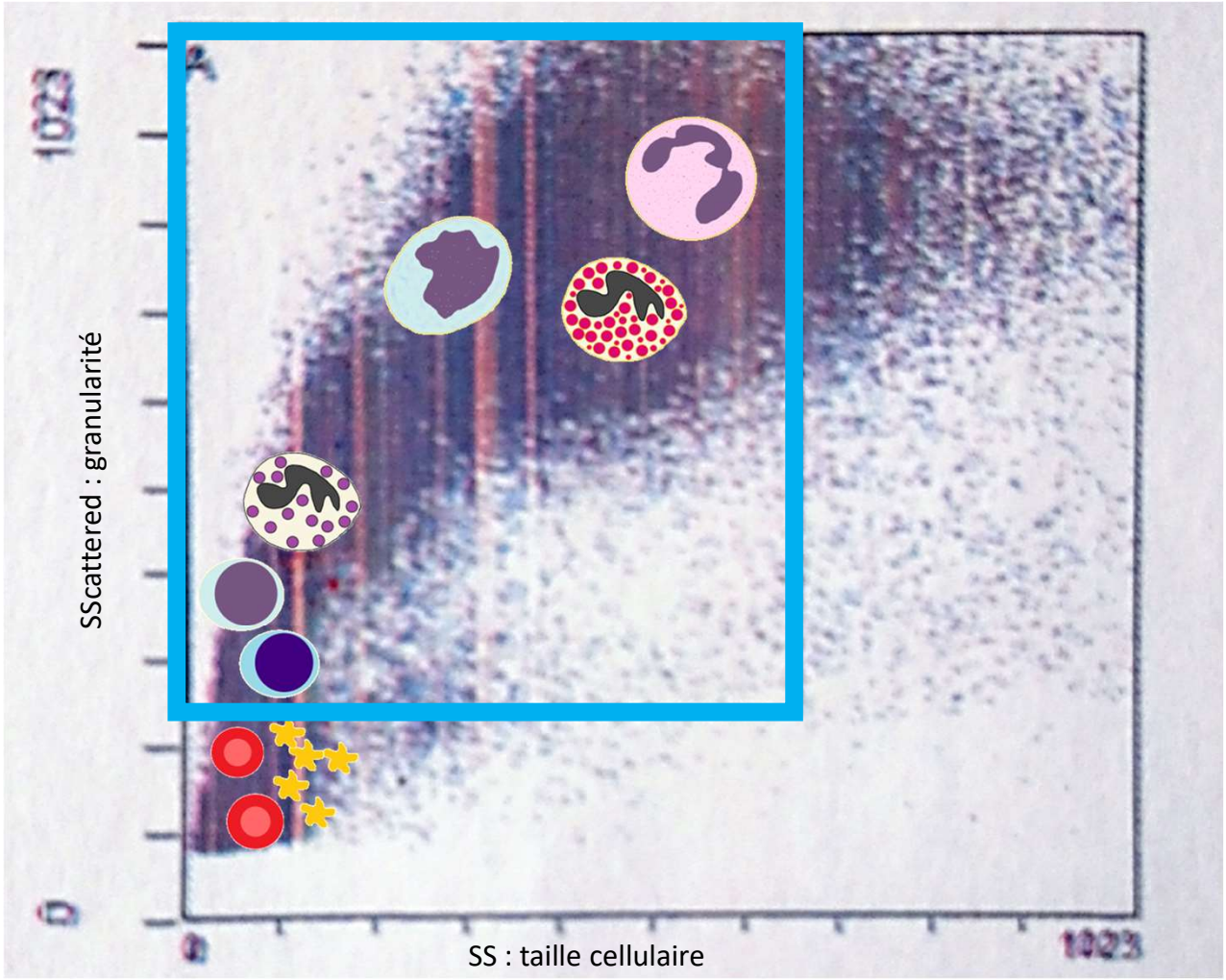


Fixation antigénique

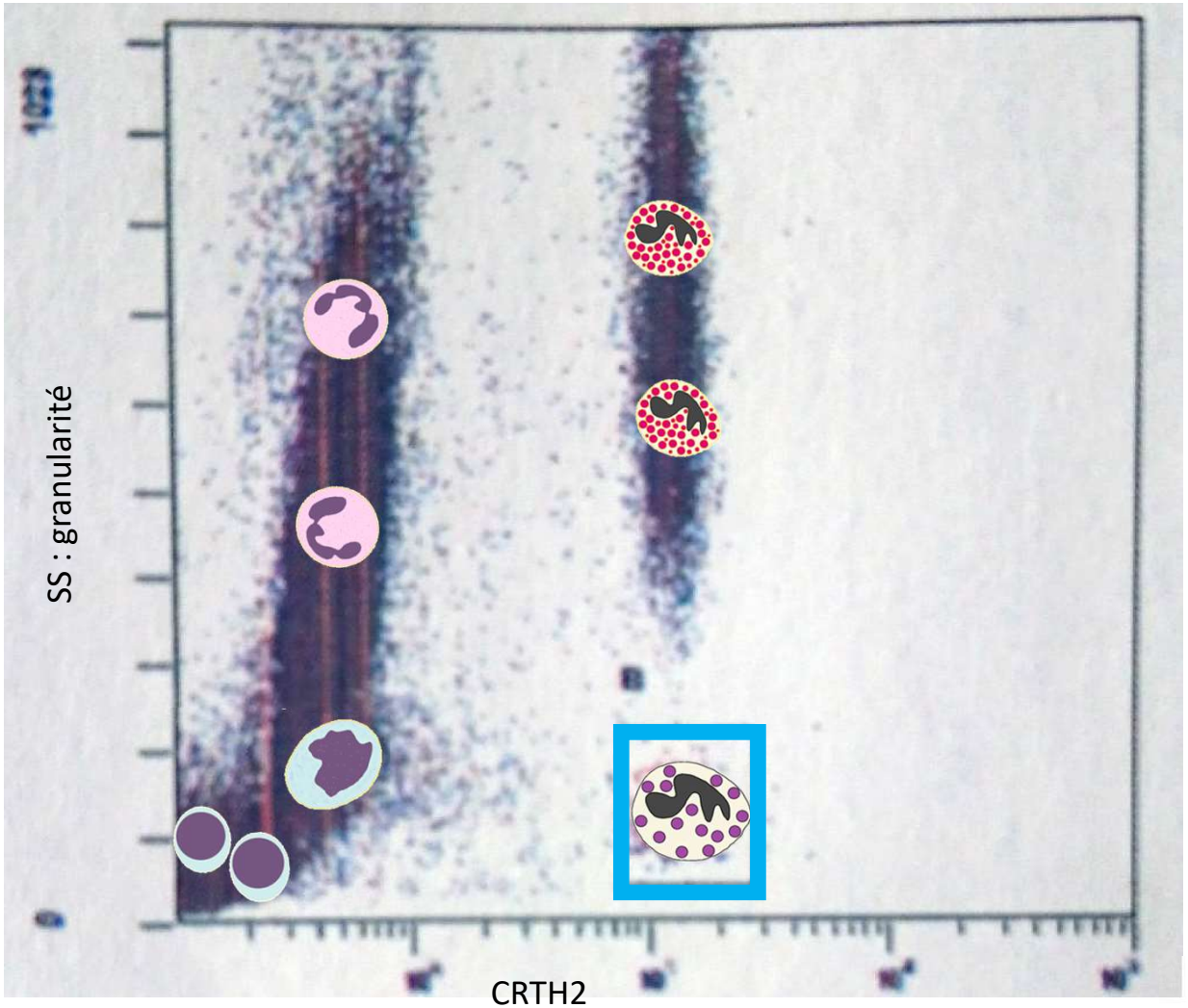
Fusion membranaire et dégranulation

Surexpression membranaire du CD203c

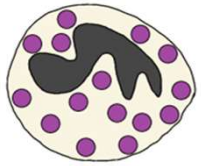
Cytométrie en flux

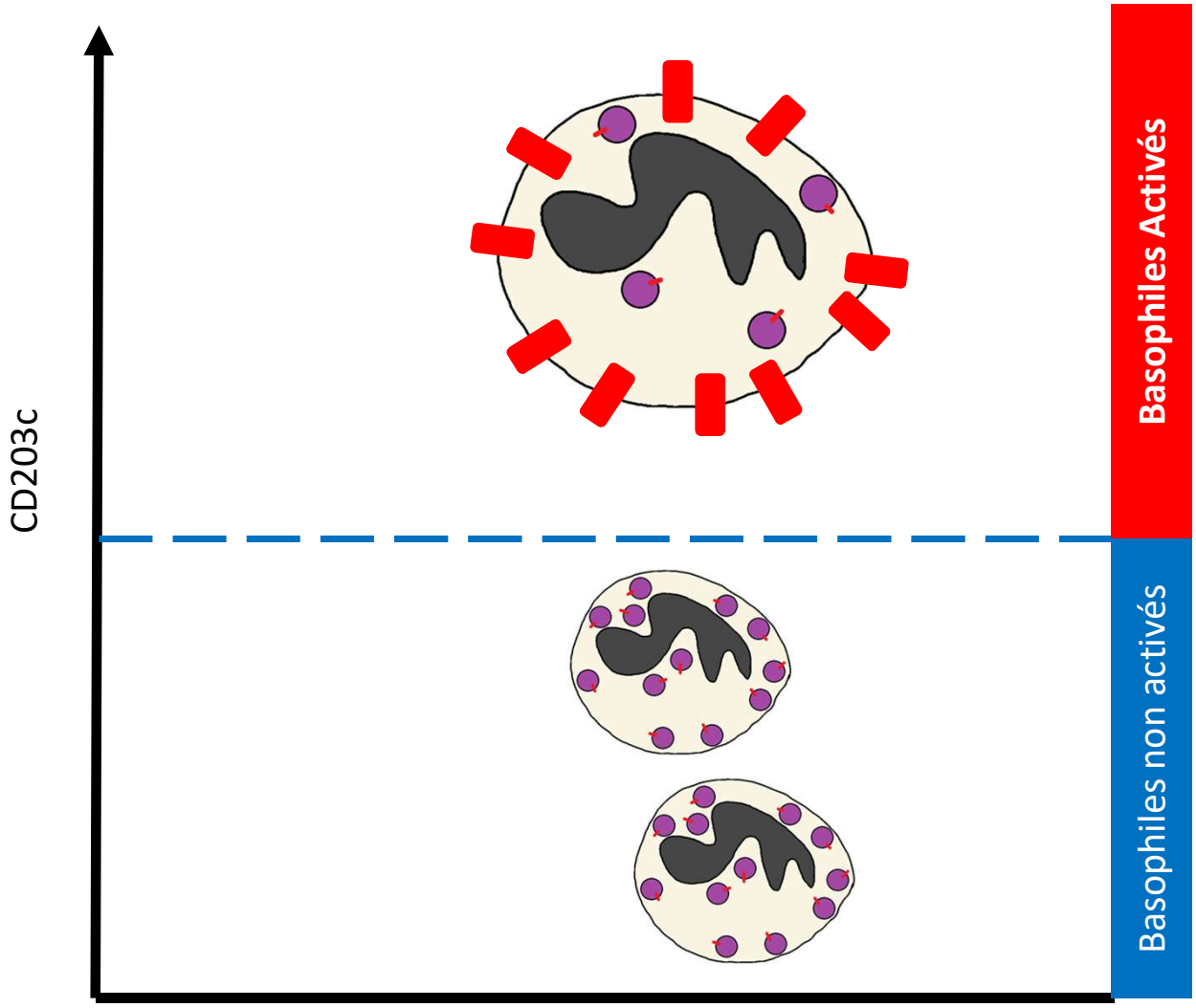


Sélection des cellules en fonction de leur taille et granularité (SSCattered)



Sélection des cellules CRTH2 (Ac anti-CRTH2 marqué)

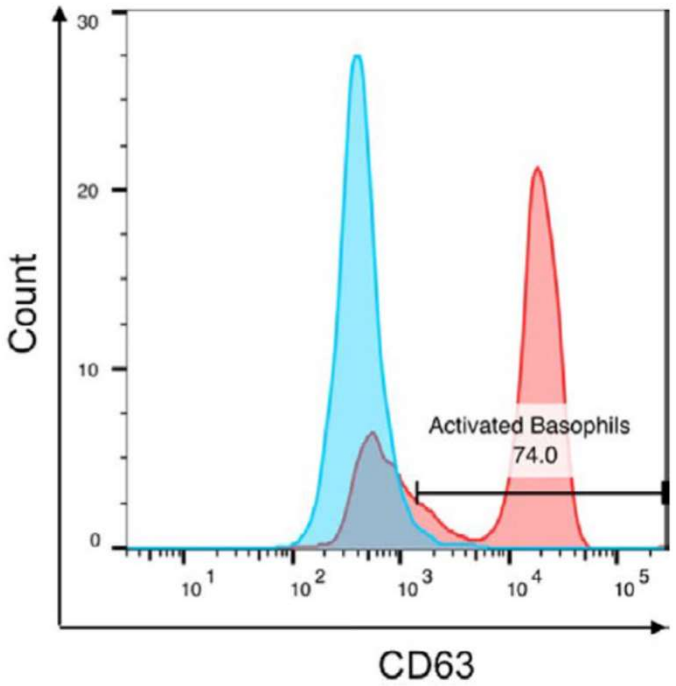


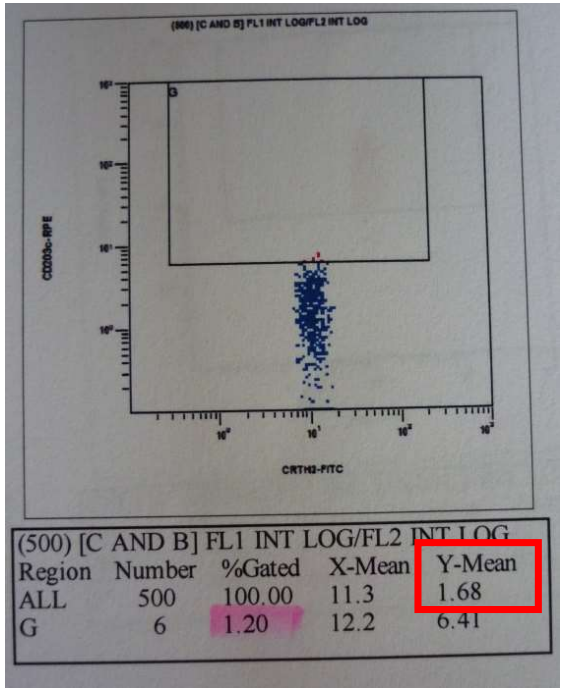


Anticorps anti-CD203c : population des basophiles activés par l'Antigène testé

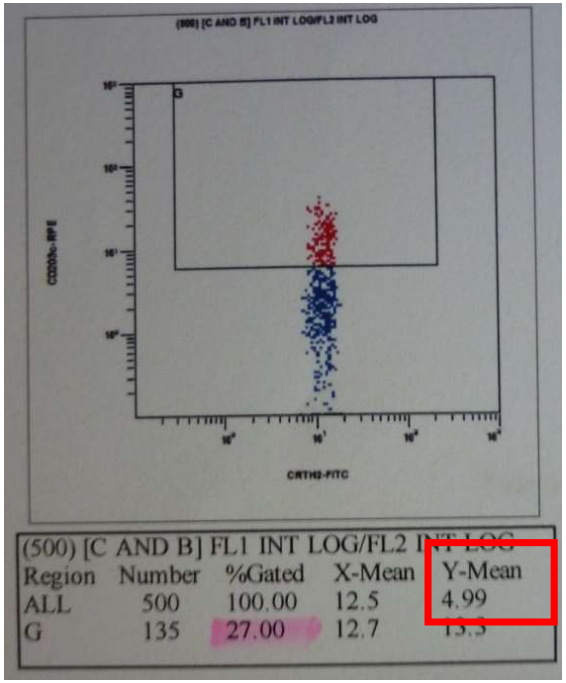
TAB Interprétations des résultats

3. MFI : Moyenne de fluorescence





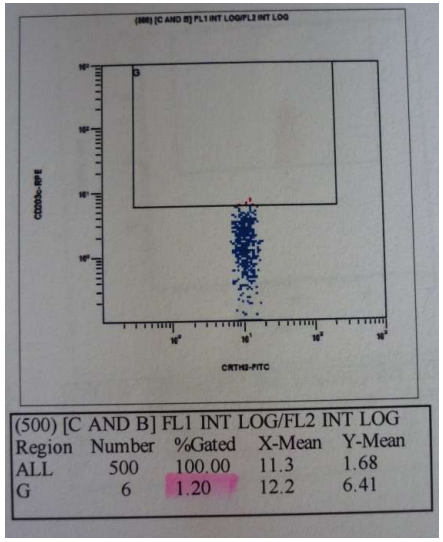
Témoin négatif



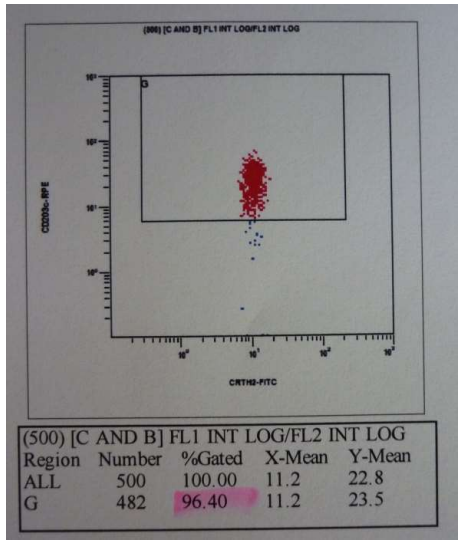
Célocurine : MFI x 3

CD 203c

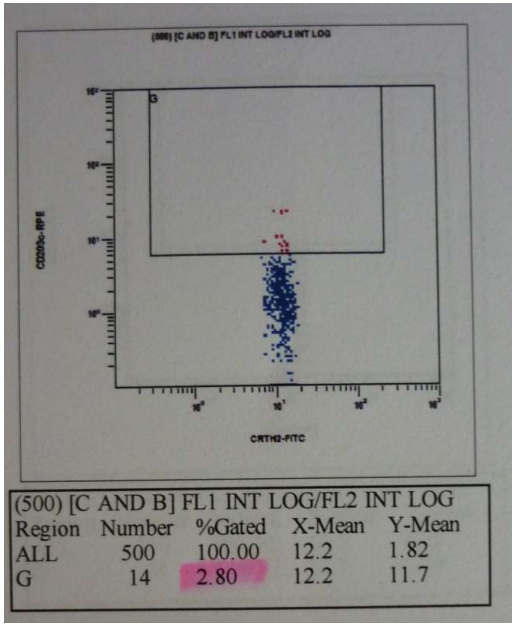
Témoin négatif



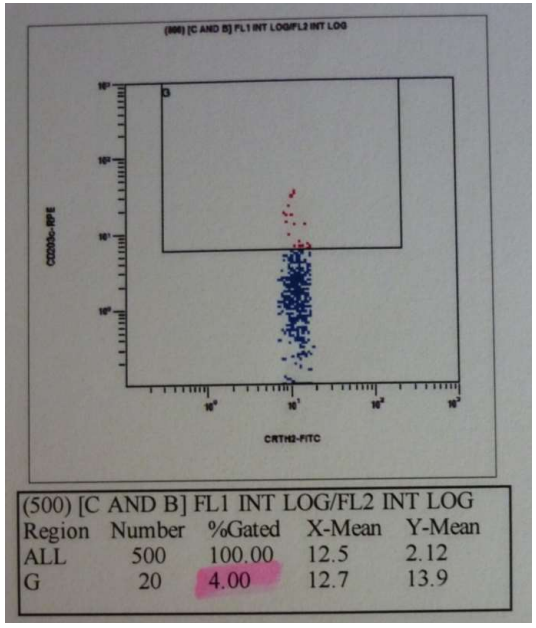
TAB Mme M : Résultats pour la Célocurine



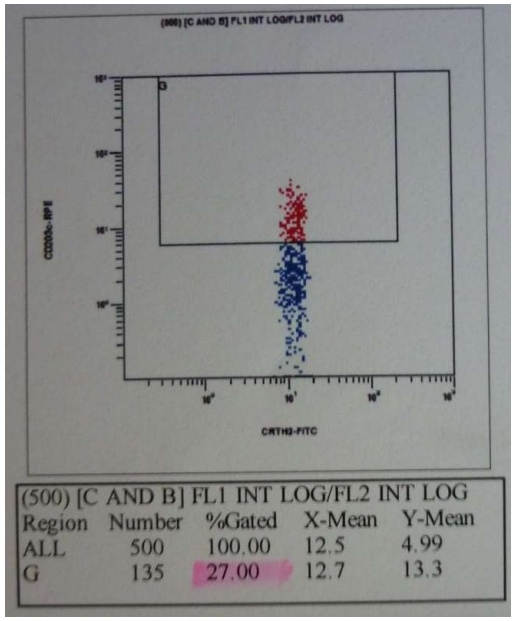
Témoin positif



Dil 10

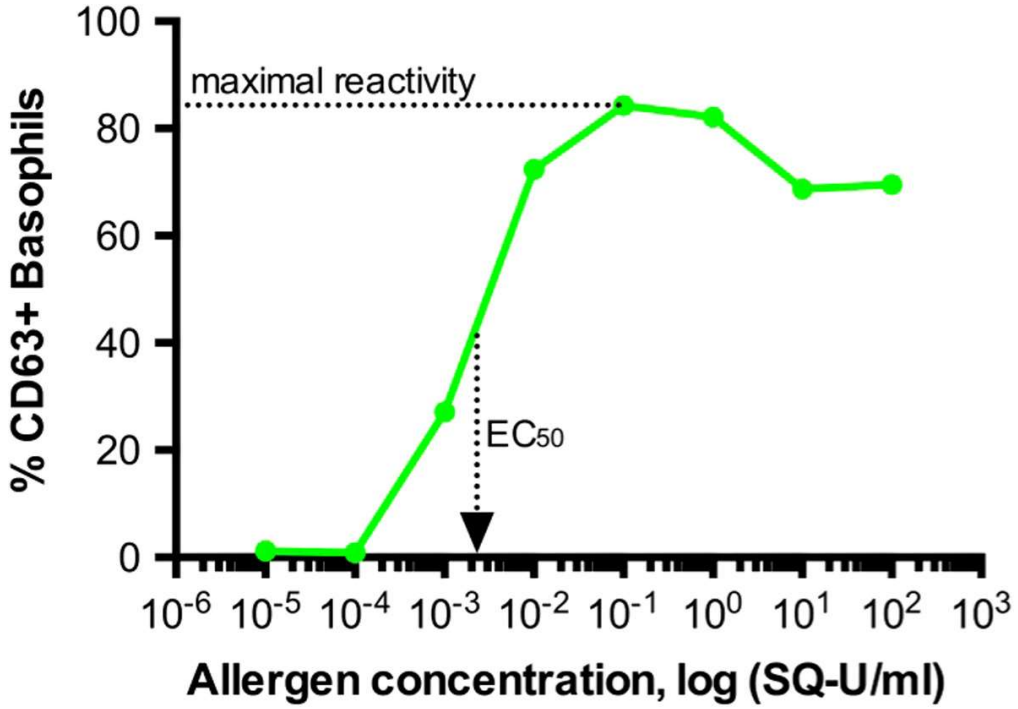


Dil 100



Dil 1000

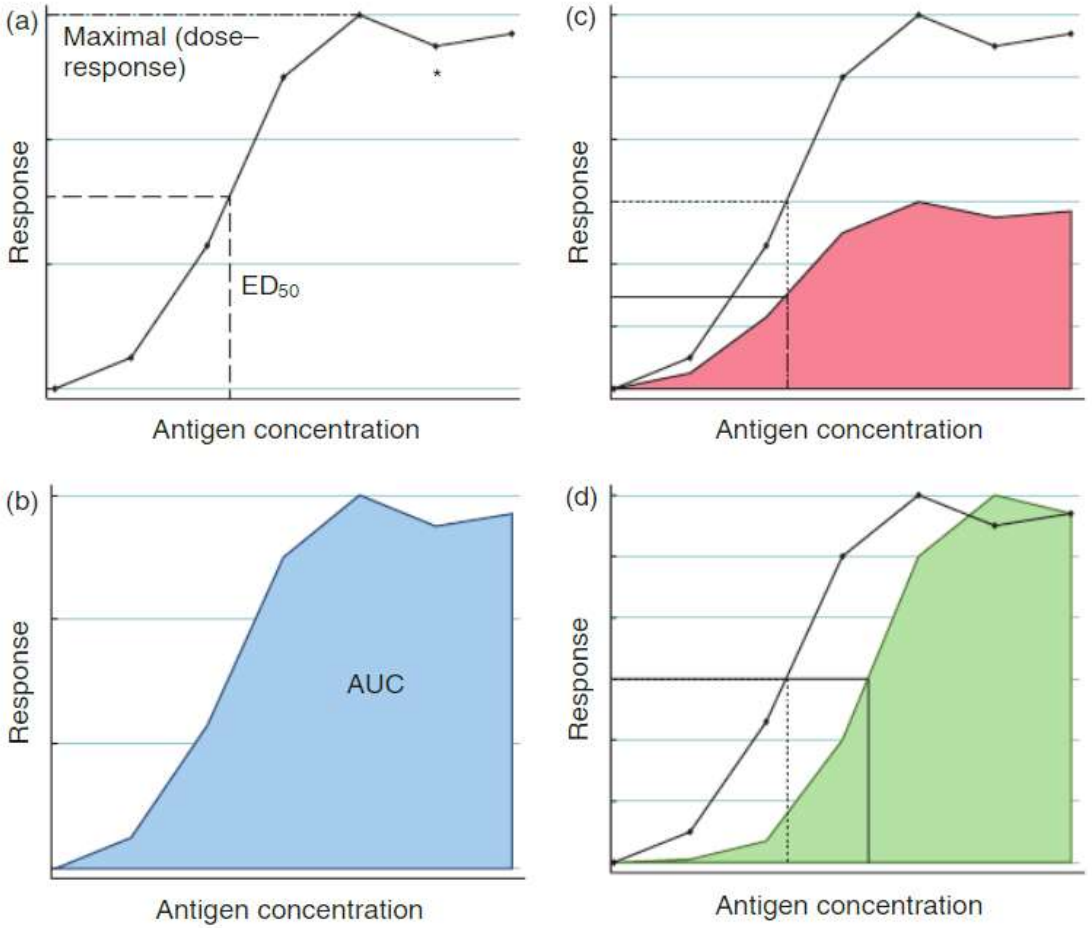
Basophil activation test: Mechanisms and considerations for use in clinical trials and clinical practice



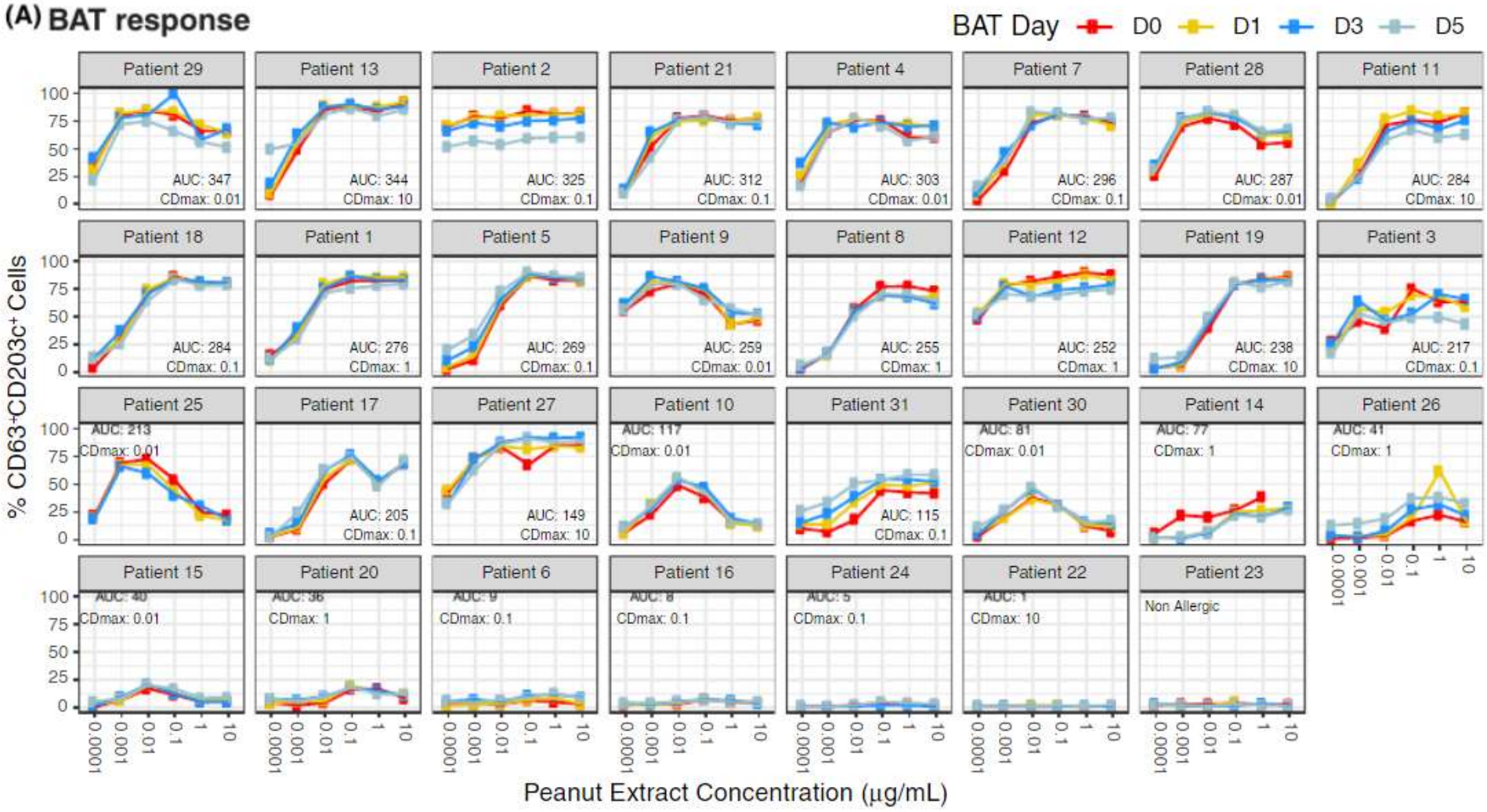
Allergy, Volume: 76, Issue: 8, Pages: 2420-2432, First published: 21 January 2021, DOI: (10.1111/all.14747)

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

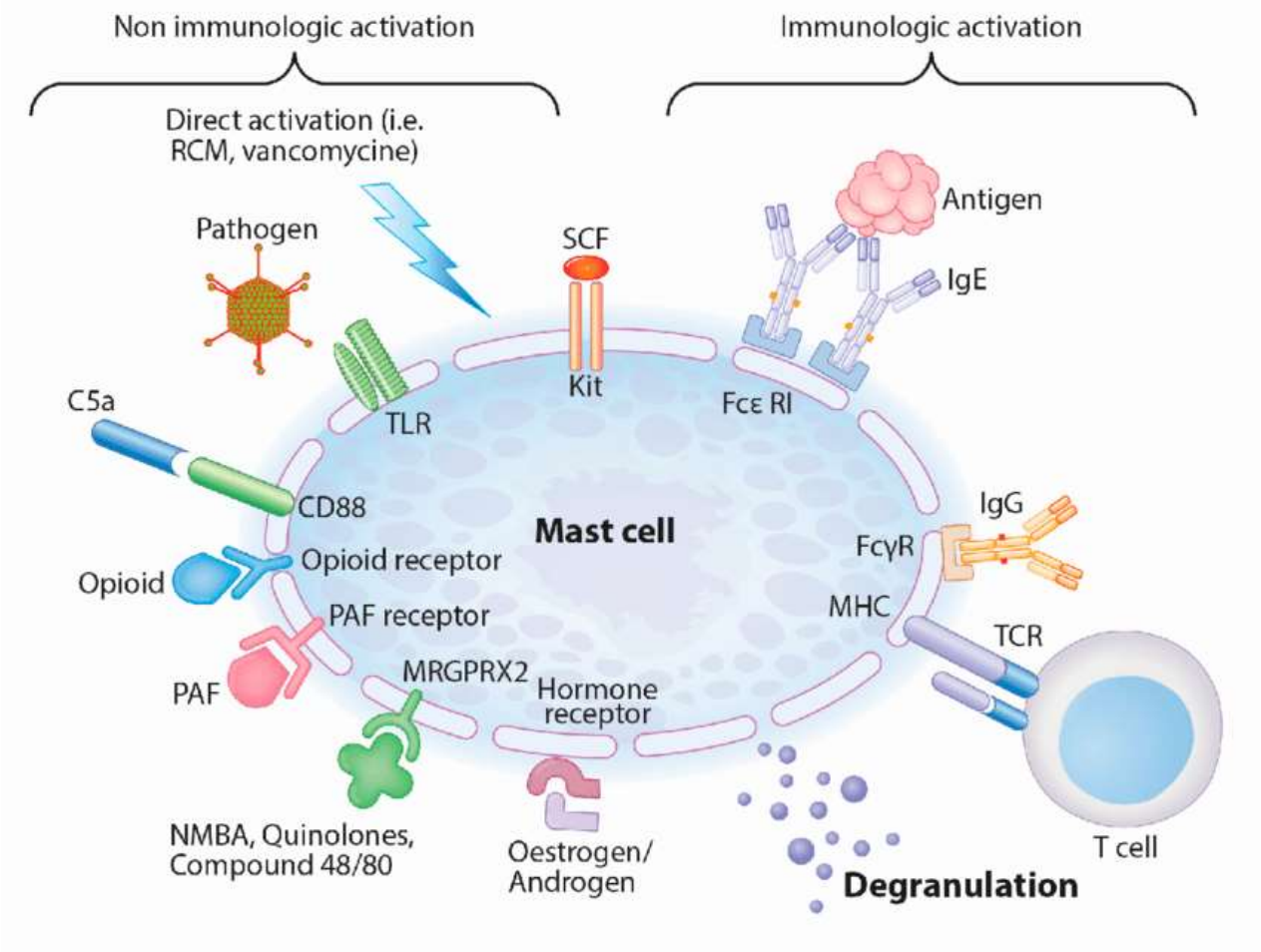


doi:10.1111/j.1365-2249.2011.04503.x



Agyemang et al, Allergy 2021 DOI 10.1111/all.14752

Interprétation : Le TAB objective uniquement une dégranulation des PNB



Spoerl et al, Int Jour. Mol. Sciences 2017

Test d'activation des basophiles
Quels allergènes sont disponibles

Bülmann : liste des allergènes

- Mé
  -
  -
- **All**

DRUGS	
Antibiotics	
BAG2-C1	PENICILLIN G
BAG2-C11	BENZYLPENICILLOYL-POLYLYSIN, PPL
BAG2-C12	BENZYLPENICILLIN +-ACID, MDM
BAG2-C2	PENICILLIN V
BAG2-C3	CEPHALOSPORIN C
BAG2-C31	CEFAMANDOLE
BAG2-C32	CEFAZOLIN
BAG2-C33	CEFUROXIME
BAG2-C34	CEFACLOR
BAG2-C35	CEFTRIAXONE
BAG2-C36	LEVOFLOXACIN
BAG2-C61	SULFAMETHOXAZOLE
BAG2-C62	TRIMETHOPRIM
BAG2-C75	TETRACYCLINE
BAG2-C76	DOXYCYCLINE
BAG2-C81	CIPROFLOXACINE
BAG2-C82	MOXIFLOXACINE
BAG2-C203	AMPICILLINE
BAG2-C204	AMOXICILLINE
BAG2-CCLA	CLARITHROMYCINE
BAG2-CCLAX	CLAVULANIC ACID AMOX (CLAVULANIC ACID AMOXICILLINE 20/80)
BAG2-CCLIN	CLINDAMYCINE
BAG2-CERY	ERYTHROMYCINE
BAG2-CRIF	RIFAMPICINE

Analgesics	
BAG2-C51	LYS-ASPIRIN
BAG2-C52	DICLOFENAC
BAG2-C53	IBUPROFEN
BAG2-C54	INDOMETHACIN
BAG2-C55	ACETAMINOPHEN
BAG2-C56	MEFENAMIC ACID
BAG2-C57	PHENYLBUTAZONE
BAG2-C58	PROPYPHENAZONE
BAG2-C59	DIPYRONE / METAMIZOLE
BAG2-CNAP	NAPROXEN
BAG2-CTRA	TRAMADOL
BAG2-C114	SALICYLIC ACID (SODIUM SALT)
Myorelaxants	
BAG2-CATR	ATRACURIUM
BAG2-CCAT	CISATRACURIUM
BAG2-CMIV	MIVACURIUM
BAG2-CPAN	PANCURONIUM
BAG2-CPRO	PROPOFOL
BAG2-CROC	ROCURONIUM
BAG2-CSUX	SUXAMETHONIUM
BAG2-CVEC	VECURONIUM
BAG2-CNBX	NEUROMUSCULAR BLOCKERS MIX (CATR, CCAT, CMIV, CPAN, CPRO, CROC, CSUX, CVEC)

Local Anesthetics	
BAG2-CART	ARTICAINE
BAG2-CBUP	BUPIVACAINE
BAG2-CMEP	MEPIVACAINE
BAG2-CLID	LIDOCAINE
Contrast Media	
BAG2-CIOBI	IOBITRIDOL
BAG2-CIODI	IODIXANOL
BAG2-CIOHE	IOHEXOL
BAG2-CIOME	IOMEPROL
BAG2-CIOPA	IOPAMIDOL
BAG2-CIOPR	IOPROMIDE
BAG2-CIOXA	IOXAGLATE
Antiseptics	
BAG2-CCHX	CHLORHEXIDINE
Proton Pump Inhibitors (PPI)	
BAG2-COME	OMEPRAZOLE
BAG2-CESO	ESOMEPRAZOLE
BAG2-CPANT	PANTOPRAZOLE
BAG2-CLAN	LANSOPRAZOLE
Beta Blockers	
BAG2-CBIS	BISOPROLOL
BAG2-CMET	METOPROLOL
ACE inhibitors	
BAG2-CRAM	RAMIPRIL

2 - Test cellulaire d'activation des basophiles
Performances analytiques

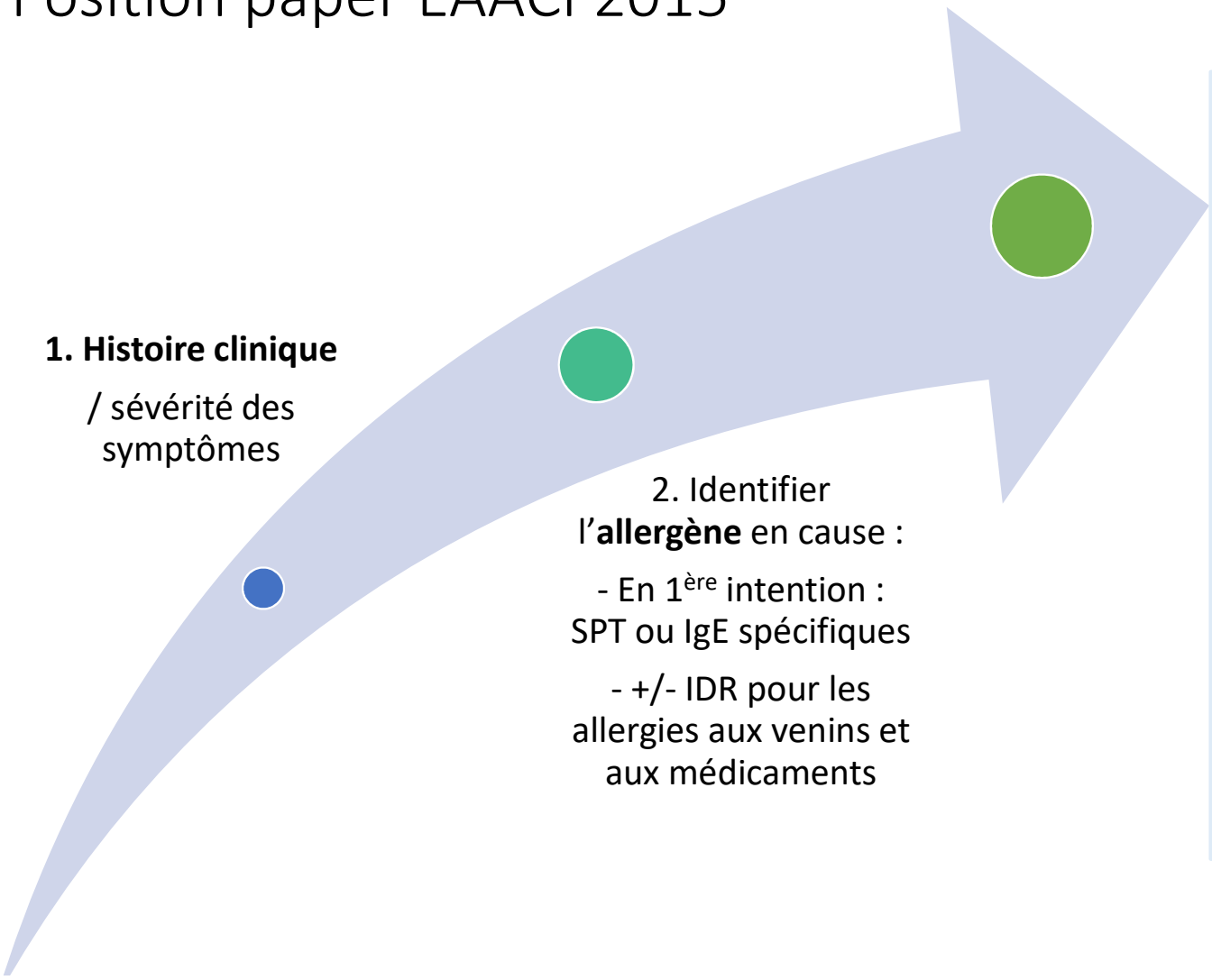
Evaluation de la sensibilité et spécificité :
- Dans les études, pas toujours de réintroduction (gold standard)
-> évaluation réalisée sur la base des TC + histoire clinique
- Sensibilité et spécificité peuvent varier selon les critères de positivité retenus dans l'étude

	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 1ère 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

Hoffmann et al. Allergy 2015

2 - Test cellulaire d'activation des basophiles
Identification de réactivités croisées

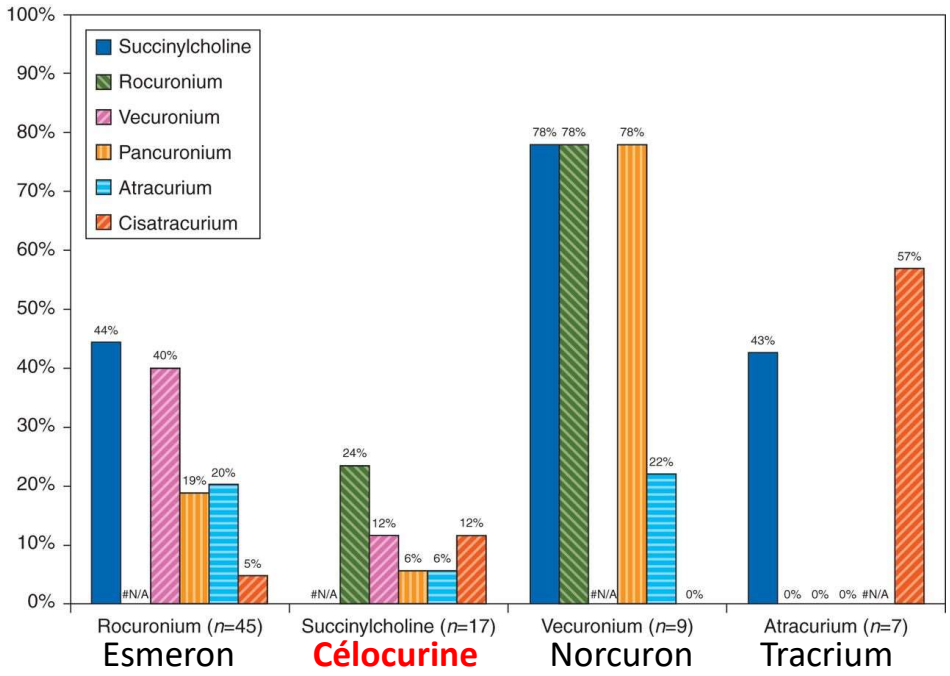
Test d'activation des basophiles (% de basophiles activés) de Mme M :

- 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 NMBD

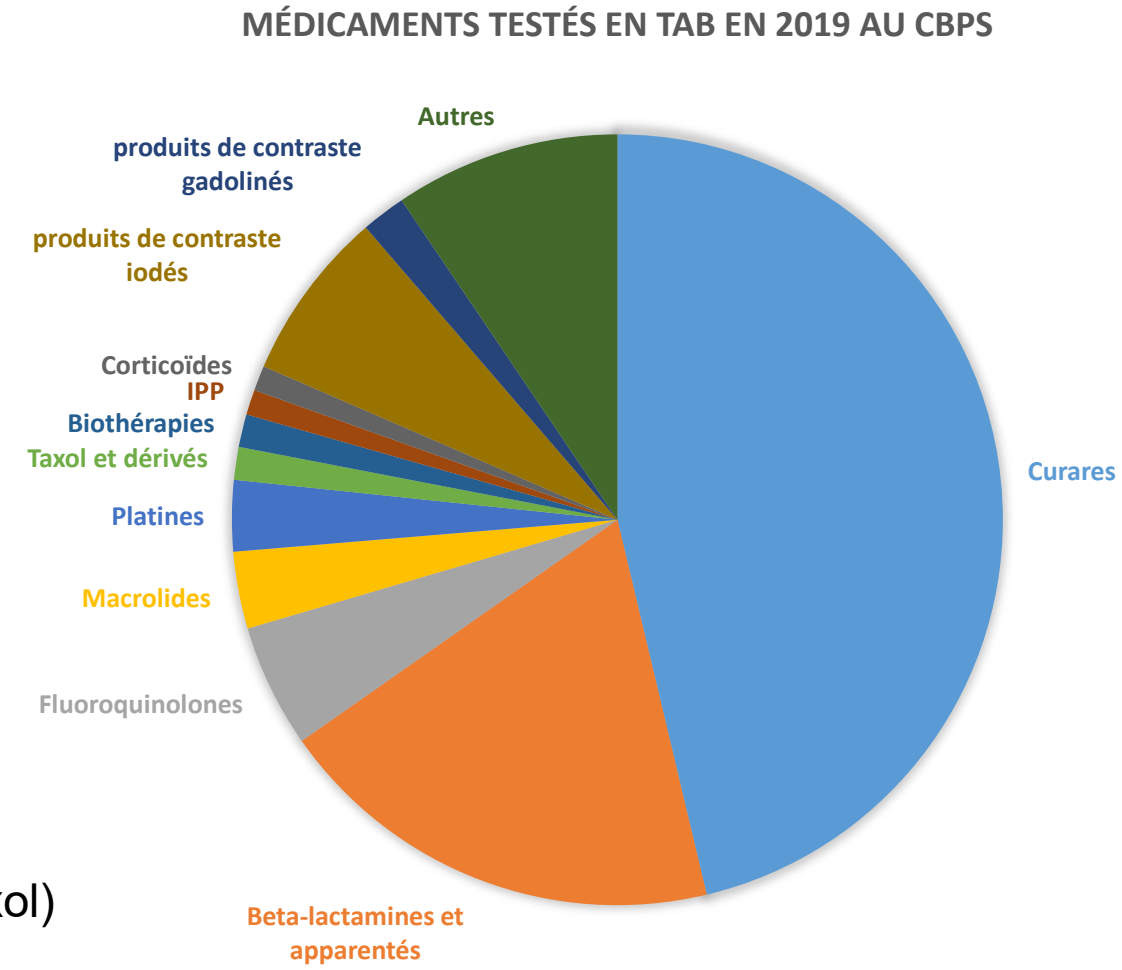
Sadleir et al, BJA, 2013

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..)

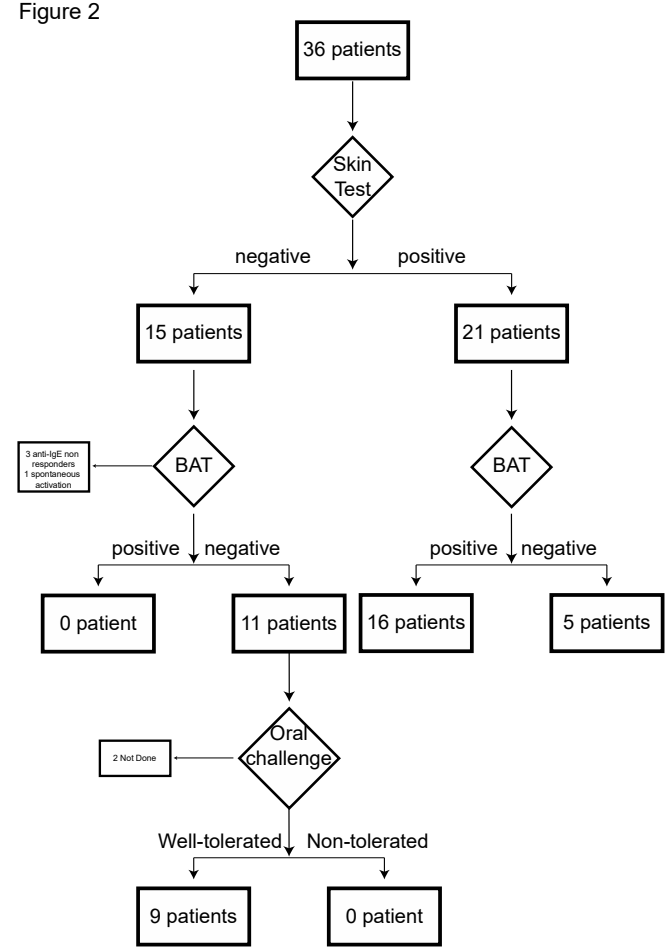
Utilisation des TAB en routine : exploration des réactions d'HSI aux médicaments

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



Expérience à Lyon Sud : la pyostacine

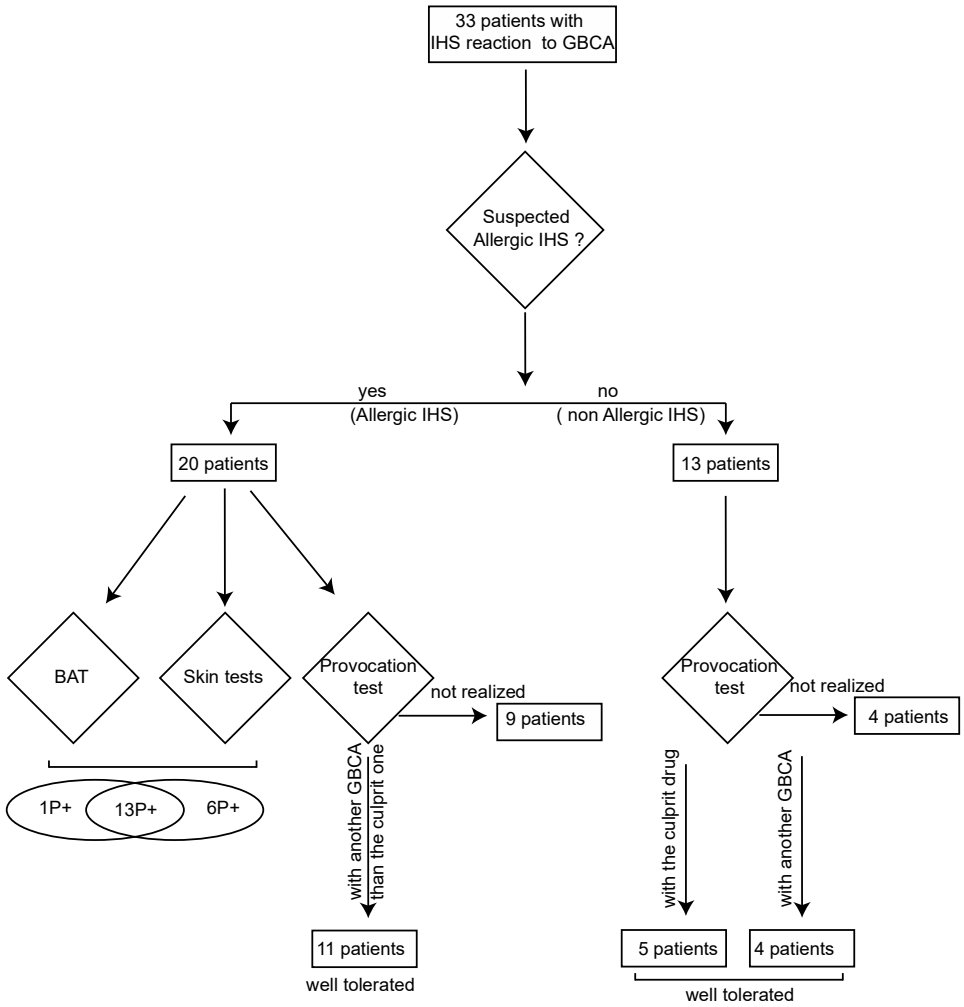
Figure 2



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

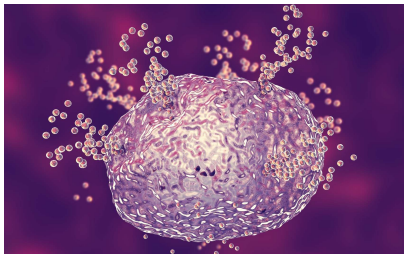
Cas clinique, Mr B C, 58 ans

- Exploration allergologique :

	Test cutanés	% basophiles activés
Levofloxacine	PT et IDR négatif	1
Ofloxacine	PT positif	12
Ciprofloxacine	PT positif	3
Lomefloxacine	PT négatif	10
Moxifloxacine	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

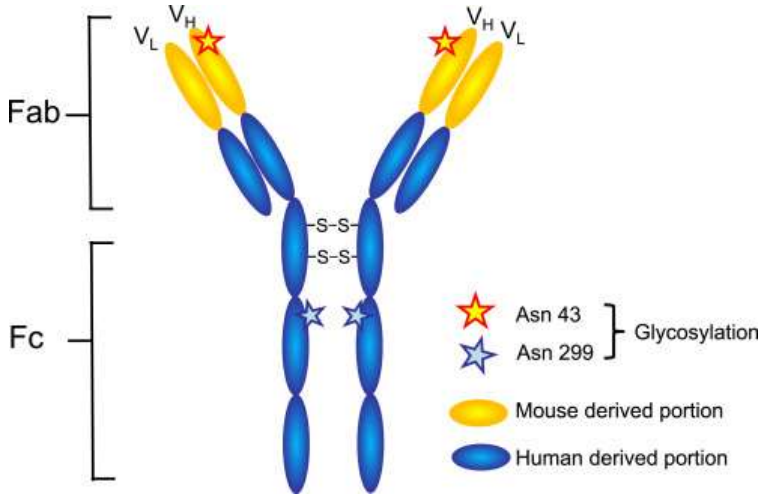
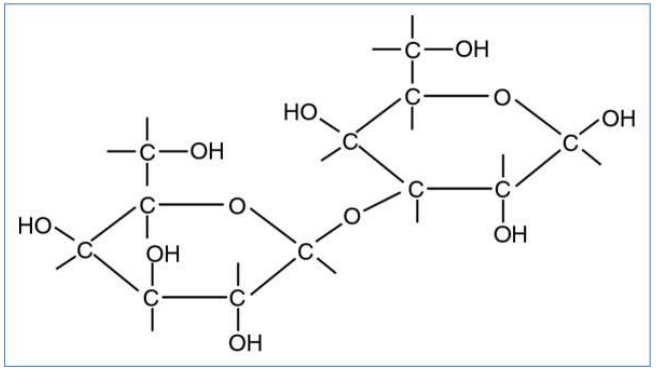


Fig. 1. Structure of cetuximab showing glycosylation sites. Cetuximab is a chimeric mouse-human monoclonal antibody biologic with galactose-α-1,3-galactose (α-Gal) oligosaccharide bound possibly to the Asn 43 glycosylation site of V_H of the mouse-derived Fab portion.

10.1016/j.alit.2019.04.001



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

Saleh et al, Clinical and Molecular Allergy · March 2012

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