

**BIO MED**

LES JOURNÉES POUR L'AVENIR DE LA



**2023**

BIOLOGIE MÉDICALE

9 & 10 MARS 2023 • Palais des Congrès de Paris Porte Maillot



# Anaphylaxie: quel rôle du biologiste ?

*Dr Pascale Nicaise Roland; Service d'Immunologie biologique  
Hopital Bichat, Paris*



**Réaction d'hypersensibilité systémique, sévère et potentiellement fatale, survenant brutalement suite à l'exposition à un allergène et s'étendant de la réaction urticarienne simple au choc anaphylactique.**

- **Aliments**
- **Médicaments**
- **Venins d'hyménoptères**

## **Réaction clinique**

- **Inhabituelle, voire rare (1/10 000 à 1/20 000 )**
  - **Sans relations avec les effets thérapeutiques attendus (médicaments )**
  - **Potentiellement sévère**
- 
- **Importance des cofacteurs (alcool, effort, AINS)**
  - **Ne préjuge pas du mécanisme physiopathologique impliqué**

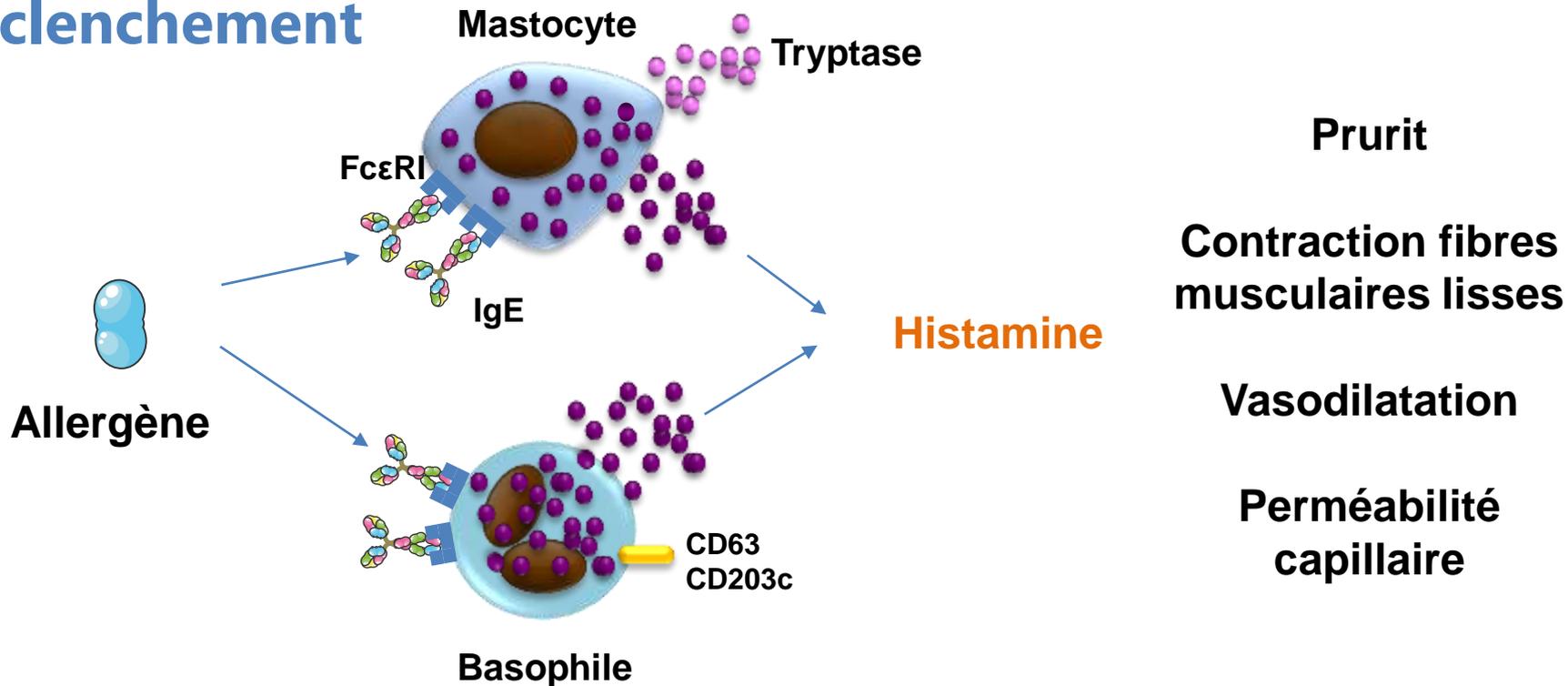


Grade	Classification de Ring et Messmer
I	<b>Signes cutanéomuqueux</b> (érythème, urticaire) avec ou sans œdème angiogénique
II	<b>Atteinte multiviscérale modérée</b> (au moins deux fonctions atteintes) : hypotension artérielle, tachycardie, toux, dyspnée, sifflements, troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhées)
III	<b>Atteinte multiviscérale sévère</b> : bronchospasme collapsus cardiovasculaire
IV	<b>Arrêt cardiaque et/ou respiratoire</b>

D'après Ring J et al. *The Lancet*, 1977. 309(8009):466-469



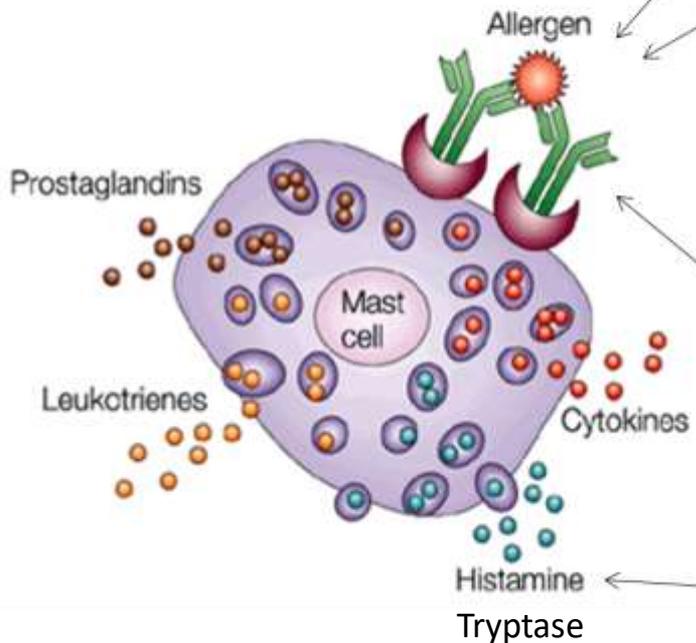
## Déclenchement





***In vivo* : tests cutanés**

***Ex vivo* : tests d'activation des  
basophiles**



**Dosage IgE  
spécifiques**

**Dosage médiateurs solubles**



Au moment du choc

- **Mesure des médiateurs (Tryptase, Histamine)**
- **Mesure des IgE spécifiques (possible)**
  - **SFAR et SFA.** Prévention du risque allergique peranesthésique. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation 2011; 30: 212–222

Modes et temps de prélèvements sanguins pour les dosages d'histamine, de tryptase et d'IgE anti-ammonium quaternaire.

Dosages	Tube	Prélèvement < 30 min	Prélèvement 1 à 2h	Prélèvement > 24 h
Histamine	EDTA	+	(+)	
Tryptase	EDTA/sec	+	+	+
IgE anti-AQ	Sec	+	(+)	(+)

+ : recommandé ; (+) : si non réalisé au moment de la réaction.

Consultation post-choc

- **Interrogatoire**
- **Tests cutanés**

Hôpital de Jour  
Biologie spécialisée

- **Test de provocation**
- **Test d'activation des basophiles**



## 2 formes sont exocytées : **tryptase $\alpha$ et $\beta$**

- Immature** (sécrétion basale constitutive) : **protryptase  $\alpha$  et  $\beta$**  libérés spontanément par les mastocytes à l'état basal : reflète le nombre de mastocytes
- matures** libérés lors de l'activation mastocytaire (anaphylaxie) : **tryptase  $\beta$**  sous forme de tétramères stabilisés par leur liaison à des protéoglycanes (héparine)

Tryptase circulante : reflet du nombre et de l'activation des mastocytes

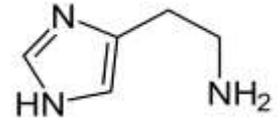
Méthode de dosage FEIA: Fluoro-enzymo-immunoassay : ImmunoCAP® tryptase, Thermo Fisher Scientific

Dosage de la TRYPTASE TOTALE = isoformes  $\alpha$  et  $\beta$ , monomériques ou tétramériques



**Nécessité de comparer 2 temps de prélèvements :**

- **Au moment du choc (0-3h)**
- **À distance (>12h)**

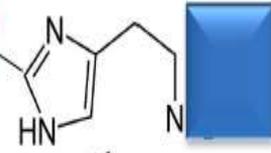
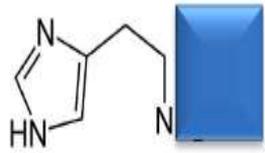


**Technique particulière:** ELISA ou RIA compétitif après acylation

**Faux positifs:** hémolyse

**Faux négatifs:** femmes enceintes, CEC (métabolisation plus rapide de l'histamine)

Histamine acylée  
du prélèvement



Histamine acylée  
conjuguée à la peroxydase



Ac spécifique de la forme  
acylée de l'histamine

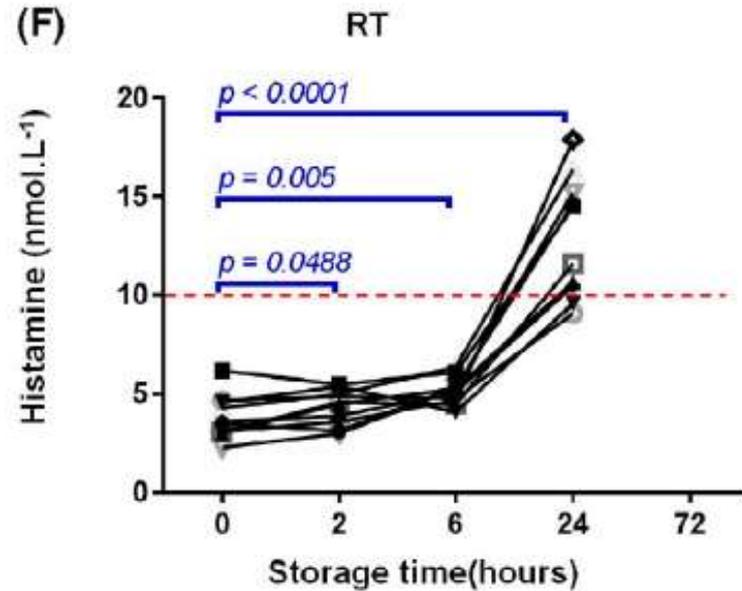
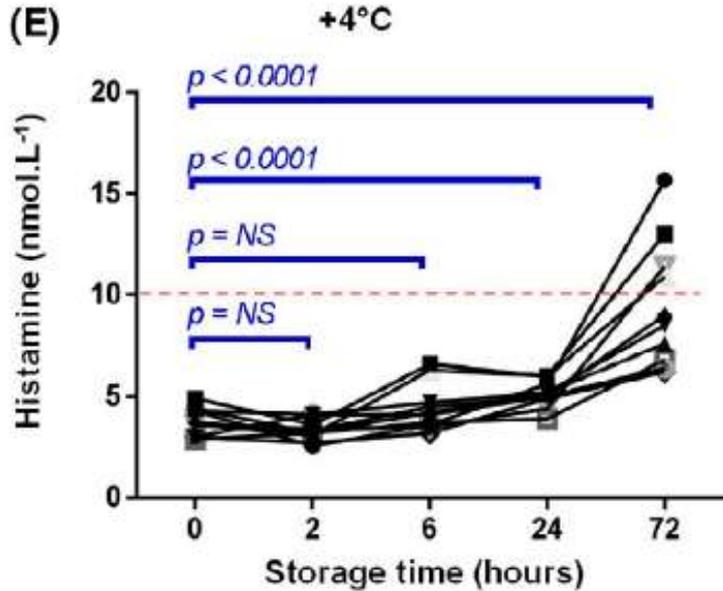


- **Tryptase**

- Tube sec ou EDTA
- conservation à température ambiante possible pendant **2 jours**
- au-delà: centrifugation , conservation sérum ou plasma :  
**-2 - 8 °C pendant 5 jours**
- -20 °C ou -70 °C si conservation plus prolongée

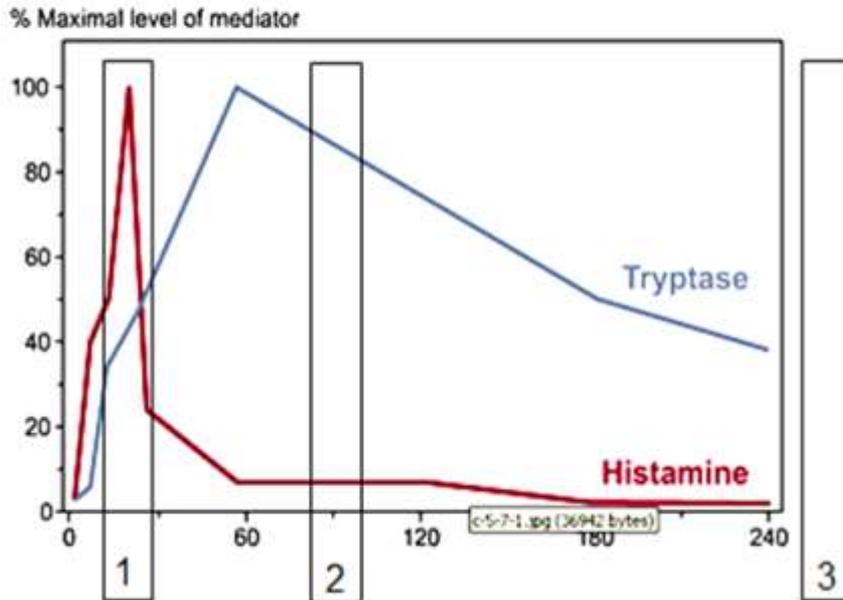
- **Histamine : Contraintes liées au préanalytique ++**

- Tube EDTA.
- Conservation sur sang total < 6h a température ambiante , 24h 2-8°C
- Demi-vie courte : prélèvement <30 mn après le choc (métabolisée en methyl-histamine)
- Résultats faussés en cas d'hémolyse





## Importance des cinétiques de libération de l'histamine et de la tryptase ( $\beta$ tryptase)



$\beta$ -Tryptase : élévation mesurable **entre 15 minutes et 6 h après la réaction**

- **Avant 30 min** : risque de faux négatifs sur prélèvements trop précoces

Histamine : élévation **mesurable avant 30 mn le plus souvent**

- **Après 30 mn** : risque de faux négatifs
- - **Nécessité de comparer 2 temps de prélèvements au moins** :
  - 1) 30 mn
  - 2) 1-2h
  - 3) 24h ou plus après la résolution complète du tableau d'anaphylaxie



## **Histamine : Contraintes liées au préanalytique :**

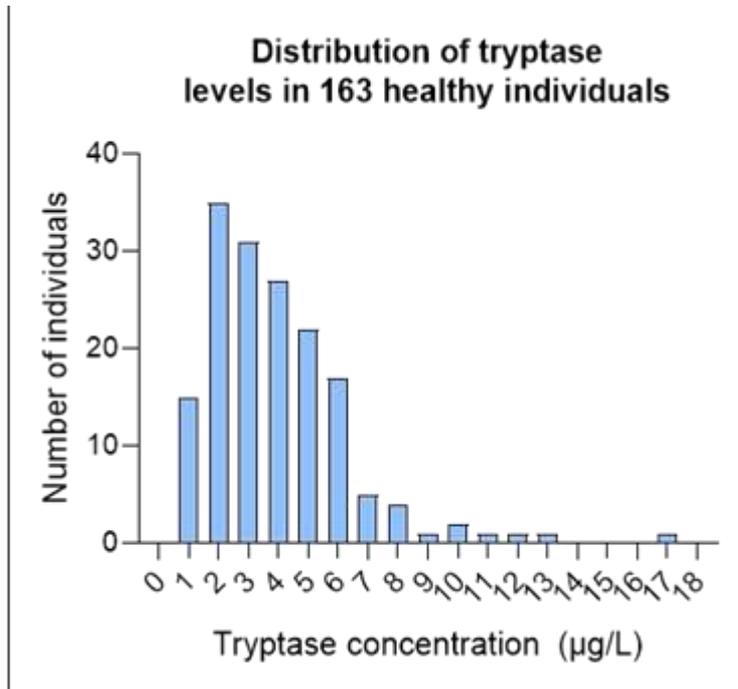
- Conservation sur sang total < 6h
- Demi-vie courte : prélèvement <30 mn après le choc
- Résultats faussés en cas d'hémolyse
- Moins spécifique : **réactions d'histamino-libération non IgE**

## **Mais augmentation de la tryptase : variable selon étiologie et grade de la réaction:**

- Potentiellement forte: induction anesthésie; médicaments en général, piqûres d'hyménoptères
- Plus faible: choc d'origine alimentaire
- Parfois absente : **réaction grade 1 : intérêt de l'histamine**



70 hommes et 93 femmes, âge : 0-68 ans



Moyenne géométrique : 3,3 µg/L

95<sup>th</sup> percentile : 8,4 µg/L

anciennes valeurs <11.4 µg/L



- **Grande variabilité des concentrations de tryptase basale dans la population générale :**

- jusqu'à 57 % de la population porte une délétion dans le gène de l' $\alpha$ -tryptase.

- hypertryptasémie familiale (5% de population )

- augmentation du nombre de copies sur un simple allèle du gène  $TPSAB1$  qui code pour l' $\alpha$ -tryptase.
- concentration de tryptase augmentée, en générale supérieure à 8  $\mu\text{g/l}$

**- Tryptase de base stable chez un individu donné**



## Analyse du délai

- Histamine : le plus tôt possible; <30 min
- Tryptase: 1h30-2h, <4h
- Tryptase de base : au moins >12h après la réaction (24h préférable)

## Interprétation

- Histamine : < 10nM : pas d'augmentation  
>10 et <18nM : augmentation peu significative (le Gauff, CFA 2016)  
>18nM : augmentation ( à comparer si cinétique)
- Tryptase : - < 8,4 µg/L ET < (1,2 x tryptase de base )+2 µg/L : pas d'augmentation  
- < 8,4 µg/L ET > (1,2 x tryptase de base)+2 µg/L : faible augmentation  
- > 8,4 µg/L ET > (1,2 x tryptase de base)+2 µg/L: augmentation



MERCI DE COMPLETER CETTE FICHE POUR TOUTE SUSPICION DE REACTION ANAPHYLAXIQUE

Etiquette patient

Etiquette service

Préleveur : Tél. :

Prescripteur : Tél. :

**Hopital demandeur :**

Date de la réaction :

Heure de la réaction :

Date du prélèvement :

Heure du prélèvement :

Produits suspectés :

- Latex
- Curares :  Célocurine  Tracrium  Esméron  Nimbex
- Antibiotiques :  Amoxicilline/Augmentin  Céphalosporine : précisez \_\_\_\_\_  
Autre : précisez \_\_\_\_\_
- Hypnotiques/Morphiniques :  Propofol  Sufenta/Rapifen/Ulivia  Kétamine  Etomidate
- Produits de contraste :  Produits de contraste iodé  Gadolinium
- Protamine  Plasmion
- Produit sanguin :
- Autre : \_\_\_\_\_

Signes cliniques :

Traitement :

- Cutanéomuqueux
- Hypotension
- Tachycardie
- Vomissements
- Bronchospasme
- Arrêt cardio-respiratoire (patient décédé : )
- Remplissage
- Ephédrine
- Adrénaline/noradrénaline

Examens demandés :

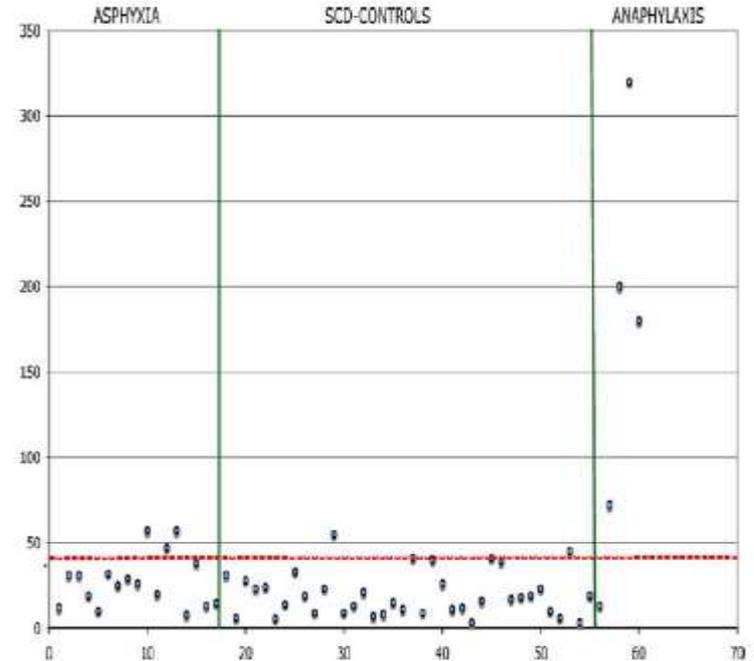
- 1<sup>er</sup> prélèvement (<30 min) Histamine/Tryptase ( 2 tubes EDTA violet)  
IgE spécifiques (tube sec rouge)
- 2<sup>ème</sup> prélèvement (30min-3h) Histamine/Tryptase (2 tubes EDTA violet)  
IgE spécifiques (tube sec rouge)
- Tryptase de base (>12h post-choc, 1 tube EDTA violet)  
Prélèvements à envoyer à l'UF Auto-immunité et Hypersensibilités (Pr. Chollet-Martin),  
Hopital Bichat. Pour toute question/résultats, nous appeler au 01 40 25 68 97

Interprétation des résultats  
nécessite :

- Avoir délai entre réaction et  
prélèvement
- Produits reçus
- Grade de réaction



- **Intérêt médico-légal** : prélever tryptase mais risque de « faux positifs » si prélèvement en post mortem :
  - **Prendre un seuil plus élevé pour rester spécifique** :
    - 40-50  $\mu\text{g/L}$  Mayer et al 2011
    - 23  $\mu\text{g/L}$  Garland J et al 2020
- Prélever le plus tôt possible**  
**Type de prélèvement :**  
*iliaque ou fémorale*





- Femme de 40 ans, **éruption cutanée généralisée lors d'une angiographie coronaire avec injection de produit de contraste iodé**
  - Un seul prélèvement à **1 heure de la réaction**:
  - Histamine = 6 nM (V usuelles <10nM)
  - Tryptase = 8.2 µg/L (V usuelles < 8,4 µg/L)

**Que pensez-vous de ces résultats?**

**Quels autres examens sont nécessaires ?**



Un bilan est fait lors de la consultation d'allergologie 6 semaines plus tard :

➤ 1<sup>er</sup> cas : résultat de Tryptase : 2  $\mu\text{g/L}$

**Que concluez-vous?**



- tryptase au moment du choc > 120% de la tryptase de base +2  $\mu\text{g/L}$  (soit 6,4  $\mu\text{g/L}$ )
- IDR positive à Visipaque<sup>®</sup>

**Conclusion : anaphylaxie grade 1 à Visipaque<sup>®</sup>**



➤ 2ème cas : tryptase : 8,5  $\mu\text{g/L}$   
**Qu'en pensez-vous?**



- Tryptase non modifiée par rapport à tryptase au moment de la réaction
- Bilan allergologique négatif
- Prévoir un :
  - Contrôle a distance dans l'hypothèse d'une mastocytose ou d'un SAMA
  - Recherche d'hyper-alpha tryptasémie héréditaire



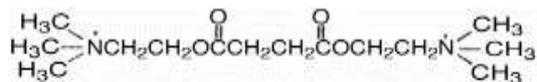
## Agents impliqués (mécanismes IgE)

**Table 6** Distribution of the drugs responsible for IgE-IHR between 1989 and 2012.

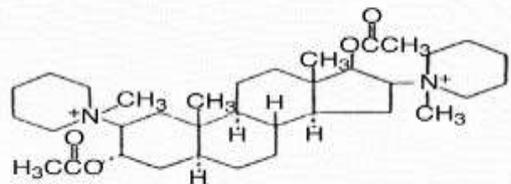
	1989 <i>n</i> = 821	1992 <i>n</i> = 813	1994 <i>n</i> = 1030	1996 <i>n</i> = 734	1998 <i>n</i> = 486	2000 <i>n</i> = 518	2002 <i>n</i> = 502	2004 <i>n</i> = 406	2007 <i>n</i> = 602	2012 <i>n</i> = 489
NMBAs	81.0	70.2	59.2	61.6	69.2	58.2	54.0	49.6	48.0	60.6
Latex	0.5	12.5	19.0	16.6	12.1	16.7	22.3	26.4	20.3	5.2
Hypnotics	11.0	5.6	8.0	5.1	3.7	3.4	0.8	1.4	0.8	2.2
Opioids	3.0	1.7	3.5	2.7	1.4	1.3	2.4	1.4	1.8	1.4
Colloids	0.5	4.6	5.0	3.1	2.7	4.0	2.8	4.6	2.3	0.6
Antibiotics	2.0	2.6	3.1	8.3	8.0	15.1	14.7	12.2	17.9	18.2
Other	2.0	2.8	8.3	2.6	2.9	1.3	3.0	4.4	7.1	11.8



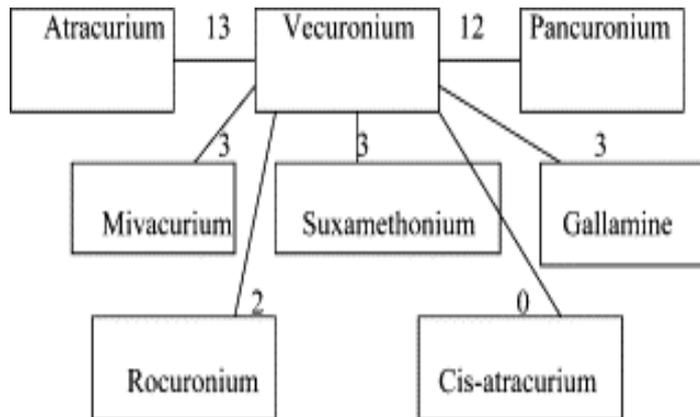
- Offre adaptée pour la plupart des aliments et les venins (le latex)
- Pas d'IgE commerciales disponibles pour les chimiothérapies (Sels de platine, taxanes)
- Techniques spéciales pour les médicaments (haptènes) :
  - Radio Immuno Assay (SAQ, PAPPC), commercial : ImmunoCAP®
- Peu de références commerciales disponibles pour les médicaments:
  - Curares myorelaxants : Suxamethonium, Ammonium Quaternaire (AQ)
    - sensibilité : 40-70% IgE suxamethonium
    - 70-80% pour IgE AQ (plus faible pour Atracurium)
    - Rocuronium, Atracurium (RUO)



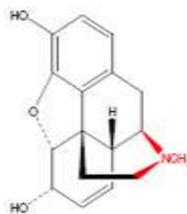
Succinylcholine



Pancuronium



➔ Besoin d'un outil diagnostique simple, sensible et spécifique pour Le dépistage des patients sensibilisés aux curares

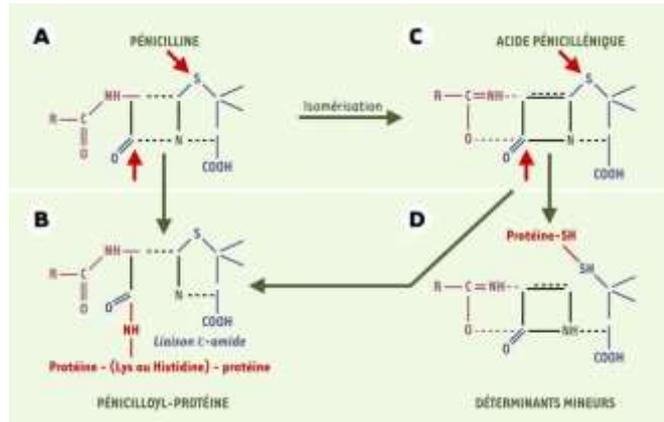


Morphine

### L'hypothèse Morphine :

- . Structure alcaloïde avec une amine tertiaire hydrophile
- . La présence d'IgE dirigées contre la structure ammonium quaternaire signerait une sensibilisation aux curares ?

- $\beta$ -lactamines (pénicillines G et V, amoxicilline, ampicilline, cefactor )
  - **sensibilité limitée (< 50%)**  $\triangle$  ! si IgE totales > 500 kUI/L risque de faux positifs



**Performances restent insuffisantes : tests cutanés restent la référence**

**Sensibilité des tests diminue avec le temps : délai <3 ans entre la réaction et le test souhaitable**



## Bilan étiologique à distance:

### Consultation d' Allergologie

- Interrogatoire, feuille d'anesthésie ++
- Tests cutanés

### Hôpital de jour/Biologie spécialisée

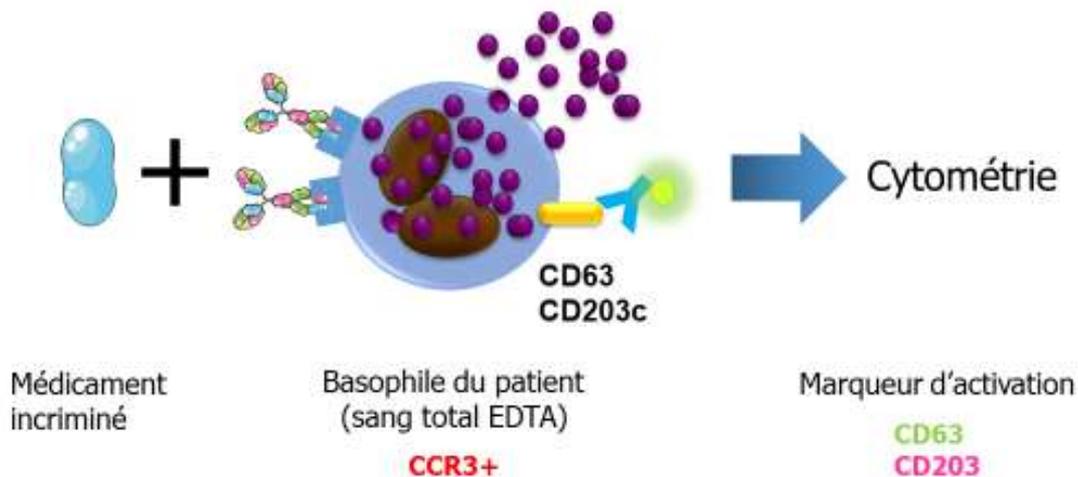
#### **-Tests de provocation**

- Contre-indiqué si réaction avec risque vital
- Aliments
- Médicaments : antibiotiques, Curares : rare, cas complexes

#### **-Test d'activation des basophiles**

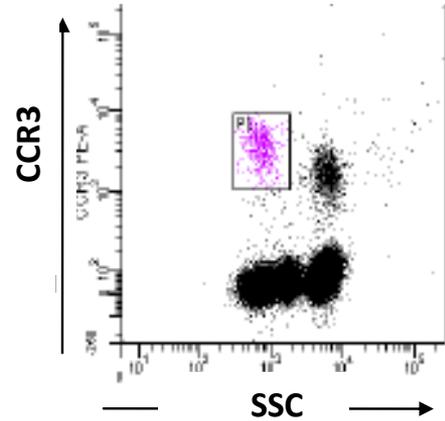


## Biologie Spécialisée : test d'activation des basophiles

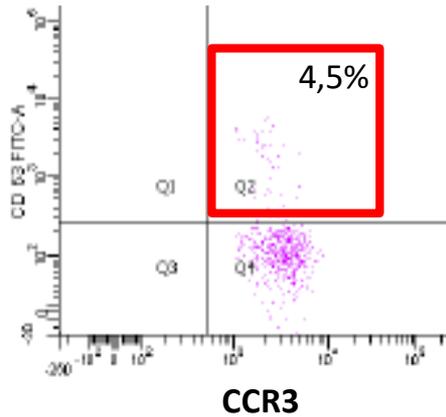




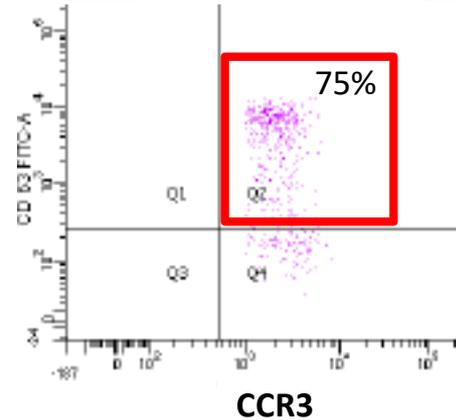
## Fenêtrage des basophiles



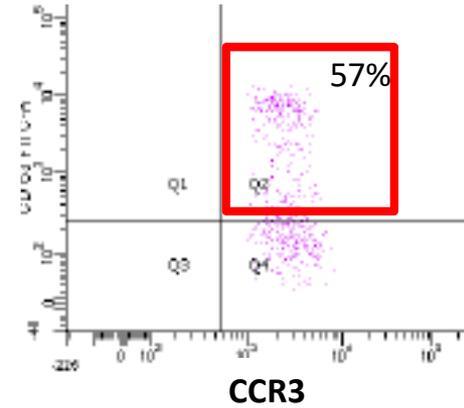
### Contrôle négatif



### Contrôle positif



### Suxaméthonium





## Indications (surtout pour les médicaments)

- En cas d' anaphylaxie avec IDR négatives et histoire clinique évocatrice.
- Protocole non validé pour les tests cutanés et/ou dosages d'IgE spécifiques non disponibles ou non contributifs
- Pour éviter le risque d'un test de réintroduction pouvant induire une réaction systémique
- Etude des réactivités croisées afin d'identifier les alternatives possibles

## Performances et limites

-**Aliments** (arachide, œuf, lait) et **venins d'hyménoptères** : sensibilité 75-95%

-**Médicaments** : sensibilité variable meilleure pour les curares (de 40 à 80%) que pour les bêta-lactamines (maximum 50%) mais le plus souvent modérée

**Spécificité élevée (>90%) : intérêt du TAB surtout pour sa valeur prédictive positive**

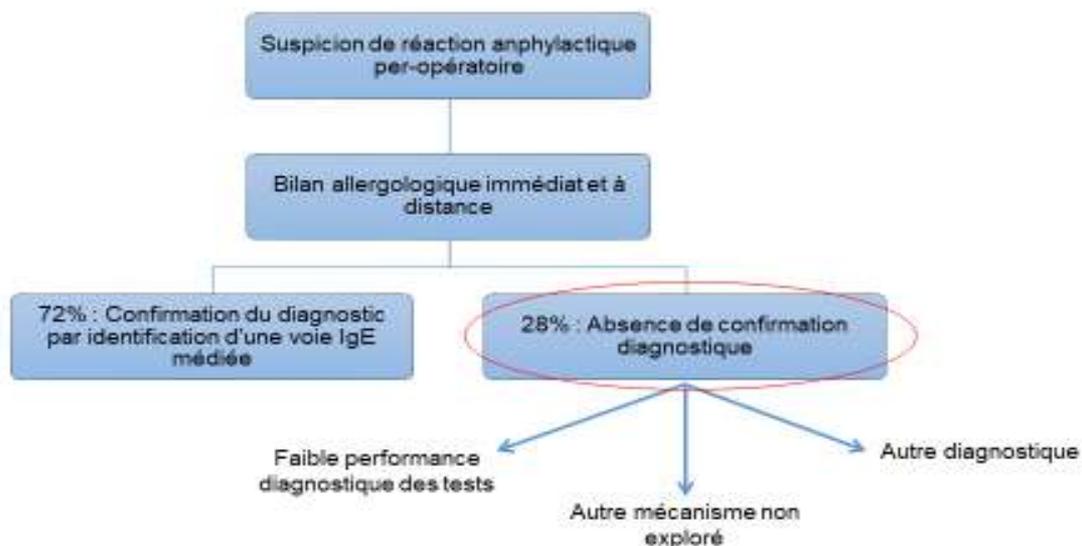
Sensibilité peut diminuer si le délai entre la réaction et le test est supérieure à un an

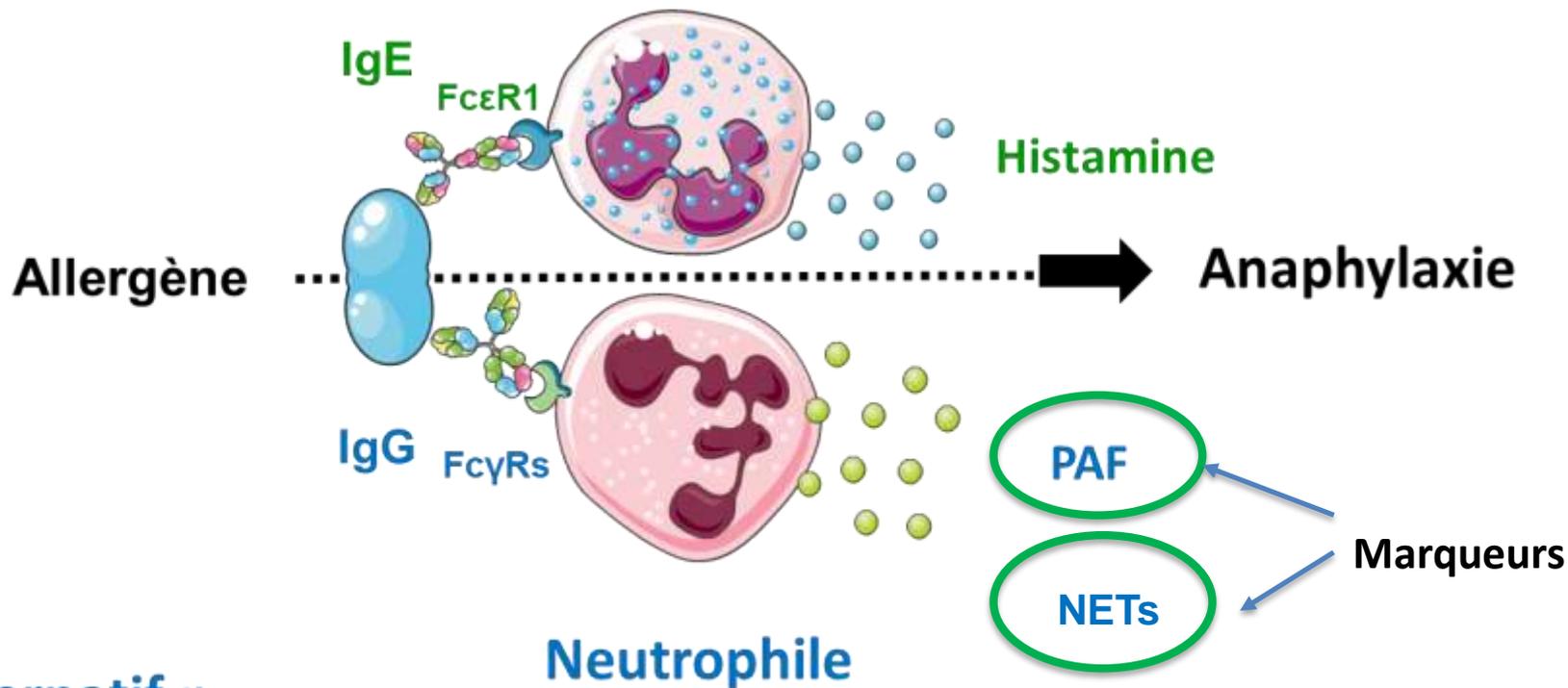
**5 à 10% des sujets sont non répondeurs (absence d'activation via le récepteur aux IgE) rendant le test non interprétable**

**Non remboursé (RIHN)**

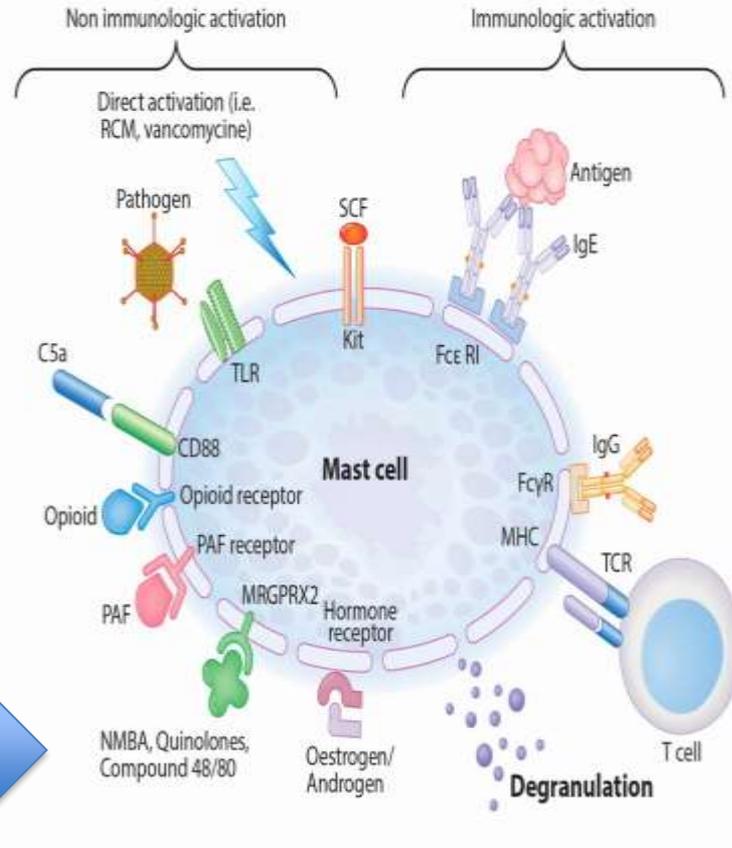


## Limites de l'exploration des réactions anaphylactiques





« Alternatif »



MAS-related G protein-coupled  
receptor-X2  
(MRGPRX2): activation non IgE  
dépendante





## Rôle du biologiste

- S'assurer de la qualité des prélèvements
- Recueil des renseignements cliniques utiles
- Connaissance des variations de la tryptase de base

➔ **Pour évaluer correctement la cinétique des médiateurs au moment der la réaction**

Connaitre les performances et limites des tests actuels:

- IgE spécifiques
- examens spécialisés (test d'activation des basophiles)

➔ **Pour savoir les interpréter, les conseiller (attention en cas de résultat négatif)**