



HAL
open science

Étude de la mise en œuvre du test d'activation des basophiles pour le diagnostic des hypersensibilités médicamenteuses

Juliette Charpy

► **To cite this version:**

Juliette Charpy. Étude de la mise en œuvre du test d'activation des basophiles pour le diagnostic des hypersensibilités médicamenteuses. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03188773

HAL Id: dumas-03188773

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03188773v1>

Submitted on 2 Apr 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2020

Thèse n°117

THESE POUR L'OBTENTION DU

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par Juliette CHARPY

Née le 29/04/1993 à PONTARLIER

Le 23 octobre 2020

**ETUDE DE LA MISE EN OEUVRE DU TEST D'ACTIVATION DES
BASOPHILES POUR LE DIAGNOSTIC
DES HYPERSENSIBILITES AUX MEDICAMENTS**

Sous la direction de : Dr Julien GORET

Membres du jury :

Pr MAMANI-MATSUDA, Maria

Présidente

Dr ROUZAIRE, Paul-Olivier

Examineur

Dr GUEZ, Stéphane

Examineur

Dr SARRAT, Anne

Examinatrice

Dr GORET, Julien

Directeur

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier les membres de mon jury,

Professeure Maria MAMANI-MATSUDA

Professeure des Universités à l'Université de Bordeaux.

Pour l'honneur que vous me faites d'accepter la présidence de cette thèse.

Pour votre disponibilité, vos conseils et le temps que vous m'avez consacré parallèlement à ce travail de thèse.

Docteur Paul-Olivier ROUZAIRE

Maître de Conférence des Universités à l'Université de Clermont-Ferrand, Praticien Hospitalier au Service d'histocompatibilité et immunogénétique du CHU de Clermont-Ferrand.

Pour l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail.

Pour vos conseils avisés et votre vision experte lors de la rédaction du questionnaire sur le TAB, les échanges que nous avons pu avoir et l'intérêt que vous portez à ce travail.

Docteur Stéphane GUEZ

Praticien Hospitalier, Chef du Service de médecine interne et post-urgence du CHU de Bordeaux.

Pour l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail.

Pour le regard clinique que vous pourrez apporter sur l'ensemble de ces pages.

Docteur Anne SARRAT

Praticien Hospitalier au Service d'immunologie et immunogénétique du CHU de Bordeaux.

Pour l'honneur que vous me faites d'accepter de siéger parmi les membres du jury.

Pour votre encadrement lors de mes passages dans le secteur humoral où j'ai découvert l'allergologie et pour l'aide précieuse que vous m'avez apportée pour la récolte des réponses pour le questionnaire.

Docteur Julien GORET

Praticien Hospitalier au Service d'immunologie et immunogénétique du CHU de Bordeaux

Pour l'honneur que tu me fais d'avoir accepté de diriger ce travail.

Pour le temps que tu m'as consacré depuis maintenant plus de deux ans, les sessions de validation d'allergologie, les corrections précises et justifiées de ce travail de thèse. Merci pour ta bonne humeur, ta disponibilité sans faille et tous les projets dans lesquels tu m'as intégrée.

Je souhaite également remercier

Tous les biologistes du réseau AllergoBioNET

Pour leurs réponses au questionnaire sur le TAB en France et plus particulièrement le

Docteur Pascale NICAISE ROLAND *pour son aide et remarques pertinentes dans l'élaboration du questionnaire.*

Car cette thèse ne serait probablement rien sans vous, je remercie aussi :

***Le Pr Laurence Millon**, pour m'avoir fait découvrir ce qu'était un biologiste médical, pour l'inspiration que tu me donnes par ton parcours professionnel et pour tes coups de pouce tout au long de mes études de pharmacie.*

Mes amis de fac

***Bertille, Fanny, Victoria, Guing's, Q1, Q2**, pour tous ces moments partagés depuis la deuxième année de nos études, les événements faluche, les RP, les soirées, tous ces moments qui permettaient de décompresser des cours.*

***Ingrid, Carine, Jeanice**, les « meufs » de l'internat, grâce à vous ces années de préparation du concours sont passées comme une lettre à la poste, je vous dirais une chose « Meeerci beaucoup, merci beaucoup, merci beaucoup ».*

***Maxence**, le dijellierain, pour les révisions de l'internat à distance, les soirées à Dijak, et toutes nos autres péripéties aux quatre coins de la France.*

Mes amis d'internat

*Ma famille bordelaise, **Claire, Séverine et Ludivine**, le hasard fait bien les choses, présentes dans les moments de doute, comme dans les moments de joie et d'euphorie. **Nathalie**, pour les sorties footing, **Sarrah**, parce que tu es unique, **Annabelle**, pour ta bonne humeur.*

*Mes **co-internes**, les co-workeuses du soir, Aurélie et Mélanie, la Team Immuno, And-Nan, Guillaume, Damien, Jean, Noémie, Valentin, Chloax et Clément. Merci aussi à Khalil, Thomas, Paola, Florence, Léa, Charlotte B, Marine, Justine, Laure, Maxime, Ghanou, Côme, et Charlotte F qui ont partagé les stages avec moi et à tous les autres internes avec qui j'ai eu la chance de travailler.*

***Mes coloc d'Heugas**, Mathilde, Matthieu, Marie, Mélanie, Cassandre et Pauline, pour ces cinq derniers mois en votre compagnie, les barbecues et la piscine étaient un bon moyen de me changer les idées.*

***Mes amis du 14 rue Eugène Jacquet**, Marie-No, Albane, Thomas, Elisa, Elise, Mathilde...*

Mes amis de la FNSIP-BM

*Tous d'abord le **bureau du Love**, Mo' et Romain, nos préz de folie, Aurélie, Clémence, Marion, Béré, Lucas, Quentin, Louis, Alex', JD, Guillaume, merci pour l'année exceptionnelle qu'on a passé ensemble à défendre les internes, les réunions, les AG mais surtout pour tout le reste.*

***Audrey et Clémence**, grâce à qui j'ai continué à vivre cette aventure.*

*Et pour finir, **Charlotte**, pour ton soutien inébranlable, tu réponds présente à chaque fois que j'ai besoin de toi, toujours de bon conseil que ce soit pour ma vie professionnelle ou personnelle.*

***Alicia**, interne bordakoise de la FNSIP-BM, ne sachant où te mettre, tu seras remerciée à part ! Tu as été présente à toutes les étapes de ma vie d'étudiante, merci pour ton amitié !*

Ma famille

***Anne et Jean-Paul**, mes parents, pour la chance que vous m'avez donné d'effectuer ces études de Pharmacie, pour la confiance que vous me faites, le soutien que vous me portez depuis toujours.*

*Les jumeaux, **Baptiste et Perrine**, pour être les meilleurs frères et sœurs du monde.*

***Babeth**, ma première lectrice, pour les dernières petites corrections mais aussi les madeleines et les balades dans le quartier qui m'ont permis de ne pas perdre de vue mes objectifs pendant les années charnières de la PACES et de l'internat.*

***L'ensemble de ma famille**, pour m'avoir fait grandir dans un environnement prônant l'amour, l'humour et les bons repas, qui sont à n'en pas douter les trois piliers sur lesquels repose une vie réussie.*

Table des matières

Table des Figures	7
Table des Tableaux	9
Listes des abréviations	10
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	12
I – Introduction.....	13
1- Définition de l’hypersensibilité aux médicaments (HSM).....	14
2- Épidémiologie	14
2-1 Prévalence et incidence	14
2-2 Facteurs de risque.....	17
3- Physiopathologie des HSM	19
3-1 Mécanismes mis en jeu dans les HSM	19
3-2 Hypersensibilité Immédiate aux Médicaments (HSMI)	20
3-3 Pseudo-allergie	29
4- Manifestations cliniques	31
5- Stratégie diagnostique des HSMI.....	33
5-1 Anamnèse et imputabilité	33
5-2 Tests diagnostiques.....	33
II- Test d’Activation des Basophiles	46
1- Principe et aspects techniques du TAB.....	46
1-1 Principe du TAB.....	46
1-2 Prélèvement et préparation des cellules.....	47
1-3 Réalisation technique	49
2- Paramètres d’interprétation des résultats	58
2-1 CD-max	59
2-2 Index de stimulation (IS).....	59
2-3 CD-sens	59
2-4 AUC	60
2-5 Interprétation des résultats.....	60
3- Avantages et limites du TAB	60
3-1 Avantages	61
3-2 Limites.....	62
4- Perspectives et développement du TAB.....	64
4-1 Marqueurs de suivi de l’efficacité d’une éviction, immunothérapie allergénique et induction de tolérance	64
4-2 Exploration d’autres mécanismes d’activation mastocytaire (stimulation direct) et utilisation d’inhibiteurs.....	64
4-3 Utilisation du principe de sensibilisation passive des basophiles avec du sérum patient.....	65
III- Place du TAB dans les HSMI	66
1- Place du TAB dans la stratégie d’exploration globale des HSMI	66
2- Agents bloquants neuromusculaires (NMBA)	68
3- β -lactamines (BL).....	69
4- Fluoroquinolones (FQ).....	69
5- AINS et Aspirine.....	70
6- Sels de platine	71
7- Anticorps monoclonaux	71
8- Inhibiteurs de la pompe à protons (IPP).....	72

CHAPITRE 1 : ANALYSE DES DEMANDES AU CHU DE BORDEAUX	74
I - Objectifs	75
II - Matériels et Méthodes.....	75
III - Résultats	76
1 - Nombre de demandes et médecins prescripteurs.....	76
2 - Démographie des patients testés	77
3 - Indications.....	78
4 - Résultats des TAB.....	80
5 - Apport diagnostique du TAB et l'impact de son résultat sur la PEC	81
IV - Discussion	87
CHAPITRE 2 : ANALYSE DES PRATIQUES DU TAB EN FRANCE	90
I - Objectifs	91
II - Matériels et Méthodes.....	91
III - Résultats	92
1 - Volume annuel des prescriptions de TAB.....	92
2 - Organisation du laboratoire.....	94
3 - Conditions pré-analytiques	95
4 - Réalisation technique	95
4-1 Kit commercial.....	95
4-2 Automates de CMF	96
4-3 Nombre de polynucléaires basophiles.....	96
4-4 Origine des allergènes et nombre de dilutions par TAB	96
4-5 Marqueurs d'identification et d'activation des basophiles	97
5 - Qualité.....	98
6 - Indications et interprétation dans le cadre de l'exploration des HSM.....	98
IV - Discussion	99
DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES	102
CONCLUSION.....	105
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	107
ANNEXES	117

Table des Figures

Figure 1 Pourcentages d'allergies médicamenteuses courantes par rapport à toutes les allergies médicamenteuses signalées entre 1990 et 2013. (A) Allergies aux antibiotiques. (B) Allergies aux médicaments analgésiques. (C) Allergies aux médicaments antihypertenseurs. (D) Autres médicaments.(11).....	16
Figure 2 Substances responsables des réactions d'HSI allergiques peranesthésiques recensées dans 6 enquêtes épidémiologiques du GERAP de 1984 à 2000 (14).....	17
Figure 3 Schéma de l'HS immédiate non allergique et allergique d'après Nicolas et al. 2015 (3)	19
Figure 4 Classification revisitée des maladies allergiques de Gell et Coombs adaptée par Pichler (27).....	20
Figure 5 Phase de sensibilisation de l'hypersensibilité médiée aux IgE, d'après Palomares, 2017 (28)	21
Figure 6 Représentation schématique de la conformation structurale d'une IgG (a) et d'une IgE (b). (39).....	24
Figure 7 Voie de signalisation lors de la phase de déclenchement médiée aux IgE (deuxième contact), Wu 2011 (43).....	28
Figure 8 Mécanismes impliqués dans l'hypersensibilité immédiate non IgE médiée	31
Figure 9 Schématisation de la réalisation des TC et image de papule (57).....	34
Figure 10 Cinétique des marqueurs tryptase et histamine lors d'une réaction anaphylactique mesurée au laboratoire (63)	39
Figure 11 Principe des immunodosages des IgE pour les 3 principaux fournisseurs (68).....	42
Figure 12 Diminution de l'activation des basophiles induite par les anti-IgE en fonction du temps d'acheminement des prélèvements (81)	47
Figure 13 Principe de fonctionnement d'un CMF (88)	50
Figure 14 Principe du TAB traditionnel (92)	53
Figure 15 Profil cinétique de l'expression des marqueurs d'activation des basophiles (98) ...	55
Figure 16 Diagrammes HistaFlow chez un patient réactif à la céfazoline montrant une dégranulation claire des basophiles en réponse à la céfazoline (100 µg/ml)	57
Figure 17 Caractéristiques de la courbe dose-réponse de l'activation des basophiles (101) ...	58
Figure 18 Logigramme de la stratégie d'exploration d'une HSMI à partir des tests disponibles d'après (49)(124).....	67
Figure 19 Évolution du nombre de demandes de TAB depuis 2015 au CHU de Bordeaux	77
Figure 20 Répartition en pourcentage des classes médicamenteuses testées par TAB de janvier 2015 à aout 2020 au CHU de Bordeaux (n=84).....	78
Figure 21 Répartition en pourcentage des antibiotiques testés par TAB de janvier 2015 à aout 2020 au CHU de Bordeaux (n=48)	79
Figure 22 Répartition en pourcentage des différentes indications des TAB au CHU de Bordeaux de 2015 à 2020 (n = 84).....	80
Figure 23 Résultats des TAB de janvier 2015 à août 2020 au CHU de Bordeaux (n=69)	80
Figure 24 Résultats des TAB en fonction des médicaments testés de janvier 2015 à août 2020 au CHU de Bordeaux.	81
Figure 25 Pourcentage de l'apport diagnostique du TAB en fonction des médicaments testés et du résultat du TAB.	81
Figure 26 Résumé des résultats du bilan allergologique chez 12 patients ayant eu un TAB aux pénicillines.....	82
Figure 27 Résumé des résultats du bilan allergologique chez 13 patients ayant eu un TAB aux céphalosporines	83

Figure 28 Résumé des résultats du bilan allergologique chez 7 patients ayant eu un TAB aux autres antibiotiques.....	84
Figure 29 Résumé des résultats du bilan allergologique chez 11 patients ayant eu un TAB aux NMBA.....	85
Figure 30 Apport diagnostique du TAB en fonction des classes médicamenteuses testées. ...	86
Figure 31 Évolution du nombre de TAB réalisés de 2017 à 2019 sur le territoire français. Somme des prescriptions en gras.	92
Figure 32 Évolution de TAB médicaments réalisés de 2017 à 2019 sur le territoire français. Somme des prescriptions en gras.	93
Figure 33 Délai de rendu des résultats (n=14)	94
Figure 34 Temps d'acheminement au laboratoire accepté (n=14).....	95
Figure 35 Origine des allergènes utilisés pour le TAB médicaments (n=14)	96
Figure 36 Nombre de dilutions utilisées (n=14).....	97
Figure 37 Marqueurs d'activation des basophiles selon les laboratoires (n=14).....	98
Figure 38 Indications des TAB réalisés par les laboratoires (n= 14).....	99

Table des Tableaux

Tableau 1 Classification des effets indésirables selon le mécanisme d'après l'OMS (1).....	14
Tableau 2 Association d'allèles HLA aux médicaments dans les manifestations d'hypersensibilité retardée (D'après (24))	18
Tableau 3 Exemples schématiques pour l'hypothèse haptène/pro haptène, le concept p-i et le modèle du répertoire du soi modifié.....	22
Tableau 4 Caractéristiques principales des deux types de récepteurs Fc aux IgE	25
Tableau 5 Caractéristiques des basophiles et mastocytes d'après (42).....	26
Tableau 6 Récapitulatif des médiateurs préformés et néoformés après dégranulation mastocytaire.....	28
Tableau 7 Classification des réactions anaphylactiques selon à la sévérité des manifestations cliniques (modifiée selon Ring et Messmer 1977) (51)	32
Tableau 8 Récapitulatifs des effets des médiateurs libérés lors d'une réaction anaphylactique (44)(43).....	32
Tableau 9 Les tests cutanés dans les HSMI (60).....	35
Tableau 10 Récapitulatifs des concentrations sûres et non irritables à utiliser pour les tests cutanés des BL, médicaments peranesthésiques et autres classes médicamenteuses d'après (58).....	36
Tableau 11 Comparaison des différents allergènes disponibles (médicaments) entre les trois principaux fournisseurs. En gras, allergènes communs	43
Tableau 12 Résumé des performances des tests pour l'hypersensibilité immédiate en fonction des classes médicamenteuses	45
Tableau 13 Structure, expression cellulaire, fonctions, avantages et inconvénients des différents marqueurs d'identifications disponibles pour la réalisation du TAB.	51
Tableau 14 Caractéristiques des deux principaux marqueurs de l'activation des polynucléaires basophiles	53
Tableau 15 Outils diagnostiques actuels pour l'exploration de l'HSMI d'après (63)	66
Tableau 16 Indications du TAB	76
Tableau 17 Pourcentage des prescriptions de TAB médicaments vis à vis des prescriptions totales de TAB par année et par laboratoire	94

Listes des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
BCR	B Cell Receptor
BL	β -lactamines
CD	Cellule dendritique
CDD	Cross-reactive Carbohydrate Determinants
CHU	Centre hospitalo-universitaire
CI	Contre-indication
CIQ	Contrôle de qualité interne
CMF	Cytométrie de flux
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
COX	Cyclooxygénase
CPA	Cellules présentatrices d'antigène
CV	Coefficient de variation
EAACI	Académie Européenne d'Allergologie et d'Immunologie Clinique
EDTA	Éthylène diamine tétraacétique
EEQ	Évaluation externe de la qualité
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ELISPOT	<i>Enzyme-Linked ImmunoSPOT</i>
ENDA	Réseau européen pour l'allergie aux médicaments
ETP	Équivalent temps plein
Fc	Domaine cristallisable
FEIA	Fluorescent Enzyme ImmunoAssay
fMLP	Formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine
GERAP	Groupe d'Étude des Réactions Anaphylactoïdes Per-anesthésiques
HLA	<i>Human Leucocyt Antigen</i>
HMG-CoA	Hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A
HS	Hypersensibilité
HSM	Hypersensibilité aux médicaments
HSMI	Hypersensibilité médicamenteuse immédiate
IDR	Intradermoréaction
IEC	Inhibiteur de l'enzyme de conversion à l'angiotensine
Ig	Immunoglobuline
IgEs	IgE spécifiques
IL	Interleukine
ILC2	Cellule lymphoïde innée de type 2
IPP	Inhibiteur de la pompe à protons
IS	Index de stimulation
ITAM	<i>Immunoreceptor Tyrosine-based Activating Motif</i>
LBM	Laboratoire de biologie médicale
LTh	Lymphocyte T helper

MAPK	Mitogen-activated protein kinases
MFI	Intensité moyenne de fluorescence
MRGPRX2	Récepteurs X2 couplés à la protéine G
NABM	Nomenclature des actes de biologie médicale
NET	Pièges extracellulaires neutrophiles
NKT	Natural Killer T
NMBA	Agent de blocage neuromusculaire
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PAF	<i>Platelet Activator Factor</i>
PBMC	Cellules mononucléées sanguines périphériques
PCI	Produit de contraste iodé
PEC	Prise en charge
PKC	Protéine Kinase C
PLA2	Phospholipase A2
PT	Prick test
Rast	<i>Radio Allergo Sorbent Test</i>
RCP	Réunion de concertation pluridisciplinaire
RIHM	Référentiel des actes Innovants Hors Nomenclatures
STAT	<i>Signal transducer and activator of transcription</i>
TAB	Test d'Activation des Basophiles
TC	Tests cutanés
TCR	T Cell Receptor
TP	Test de provocation
TRM	Test de réintroduction médicamenteuse
TTL	Test de transformation lymphocytaire
VPN	Valeur prédictive négative

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I – Introduction

Les hypersensibilités aux médicaments (HSM) sont fréquentes : elles touchent environ 7 à 12 % de la population mondiale, avec une prévalence plus importante chez les femmes âgées de type caucasienne polymédicamenteuses. Un panel de tests permet aujourd'hui de caractériser une HSM avec précision : les tests cutanés (TC), le dosage des IgE spécifiques (IgEs), le test d'activation des basophiles (TAB) et les tests de réintroduction médicamenteuse (TRM). Le TAB, est un test fonctionnel, ayant pour but de reproduire *ex vivo* la réaction d'hypersensibilité (HS) allergique se déroulant *in vivo*, par mise en contact de cellules sanguines avec l'allergène incriminé. Il quantifie l'activation des polynucléaires basophiles par cytométrie de flux (CMF). Le TAB occupe une place de plus en plus importante dans l'exploration des HSM et sa mise en place est souhaitée au laboratoire d'Immunologie du CHU de Bordeaux.

Dans l'étude bibliographique constituant la première partie de ce travail, nous décrivons tout d'abord les réactions d'HSM, en particulier les HSM immédiates (HSMI) médiées par les immunoglobulines (Ig) de type E, leur épidémiologie, leur mécanisme physiopathologie et leurs manifestations cliniques. S'en suivra une présentation des tests diagnostiques actuellement disponibles et utilisés dans l'exploration des HSMI. Le TAB, les méthodes d'expression de ses résultats, ses limites et avantages seront ensuite développés afin de cerner la complexité de sa mise en place au laboratoire et sa place au sein de la stratégie diagnostique des HSMI au regard des autres tests allergologiques disponibles.

Dans le premier chapitre, l'objectif de mon travail était d'évaluer les demandes de TAB au CHU de Bordeaux et de déterminer les indications, le volume et l'apport diagnostique du TAB pour l'exploration des HSM. Dans le second chapitre, nous avons évalué les procédures des laboratoires français par la réalisation d'une enquête pour adapter notre future pratique.

Enfin, la dernière partie présentera les perspectives de développement du TAB et ses futures autres indications au laboratoire.

1- Définition de l'hypersensibilité aux médicaments (HSM)

Les réactions d'HSM sont des effets indésirables consécutifs à la prise de médicaments. Elles peuvent être causées par le principe actif et/ou les excipients. Le terme d'HSM recouvre l'ensemble des réactions cutanées et/ou systémiques induites par la prise d'un médicament qu'elles soient de nature allergique ou non. Elles appartiennent aux effets indésirables des médicaments de type B selon la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) c'est à dire qu'il s'agit d'une réponse sans lien avec les propriétés pharmacologiques, indépendante de la dose, imprévisible, nocive et involontaire au médicament pris à une dose normalement utilisée chez l'homme (Tableau 1)(1). Les allergies médicamenteuses sont des HSM pour lesquelles un mécanisme immunologique précis a été démontré c'est-à-dire lorsque l'on a mis en évidence des anticorps ou des lymphocytes spécifiques du médicament incriminé. Ce sont des HSM à médiation immunitaire (2).

Tableau 1 Classification des effets indésirables selon le mécanisme d'après l'OMS (1)

Effets indésirables	Type A (Augmented)	Type B (Bizarre)	Type C (Continuous)
Mécanisme	Pharmacologique	Immunoallergique Non Immunoallergique	Inconnu Toxicité chronique
Fréquence	Élevée (0,5-30 %)	Rare < 1 %	Rare < 1 %
Délai de survenue	+/- Suggestif	Très suggestif	Non suggestif retardé
Mortalité	Faible	Importante	Faible
Dose dépendant	Oui	Non	Non
Réadministration	Possible	Contre-indiquée	Contre-indiquée
Mesures réglementaires	Retrait rare Modification du Résumé des Caractéristiques du Produit	Aboutit souvent au retrait du médicament	Aboutit souvent au retrait du médicament

2- Épidémiologie

2-1 Prévalence et incidence

L'HSM représente 15 % de l'ensemble des effets indésirables des médicaments (3). Elle est de mécanisme immunologique dans 6 à 10 % des cas (4). Les réactions d'HSM affectent 10 à 20 % des patients hospitalisés (3). Une étude américaine (5) a démontré que 6,7 % de ces patients présentaient des HSM graves et que 0,32 % en sont décédés.

Les données sur l'incidence des HSM en ambulatoire sont plus limitées mais on estime que 7 à 12 % de la population générale peut être touchée (3). Dans une étude de cohorte prospective de 4 semaines sur des patients externes adultes suivis dans des cliniques (6), 25 % des patients ont signalé des HSM, dont 13 % étaient graves. Une autre étude rétrospective (7) a rapporté que 18 % des patients adultes externes ont signalé des effets indésirables liés à un médicament prescrit au cours de la dernière année. Dans la population pédiatrique (8), les effets indésirables observés en ambulatoire semblent être moins fréquents, le taux moyen d'HSM est de 1,46 %. L'ensemble de ces chiffres est à nuancer. En effet, on note à la fois un sous-diagnostic des HSM, dû à une sous ou non-déclaration par les médecins pour les cas les moins graves. Par contre, on souligne un sur-diagnostic des HSM allergiques devant des symptômes survenant au cours d'un traitement.

Une étude longitudinale de dossiers de patients provenant du système de santé américain collectés entre 2000 et 2013 a montré que 53,1 % des patients présentent des réactions d'HSMI (9). Les réactions cliniques comprenaient l'urticaire (48,8 %), les démangeaisons (15,0 %) et l'œdème de Quincke (14,1 %). Les patients les plus touchés étaient des femmes (70,3 %) caucasienne (77,5 %). Ces données ont été confirmées par une étude de 2004 (10), évaluant la prévalence de l'allergie médicamenteuse dans une population portugaise en auto-déclaration : les femmes étaient également significativement plus sensibles à déclarer une allergie médicamenteuse que les hommes (10,2 % contre 5,3 %). Des différences notables ont été toutefois identifiées pour certains HSM rares, y compris la néphrite interstitielle aiguë, qui est décrite plus fréquemment chez les hommes (9). Les patients d'origine asiatique présenteraient plus d'éruptions médicamenteuses et d'effets indésirables cutanés sévères (9).

Parmi les médicaments responsables, les HSM allergiques aux β -lactamines (BL) sont prédominantes, suivies par l'aspirine et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (10). Au cours des dernières années, les allergies à la pénicilline signalées ont diminué mais sont restées l'allergie aux antibiotiques la plus fréquemment signalée avec une prévalence de 12,8 % des utilisateurs. Suivent les antibiotiques sulfonamides (7,4 %), les opiacés (6,8 %) et les AINS (3,5 %) (11). La proportion relative d'allergies aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) (2 %) et aux inhibiteurs de l'hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A (HMG CoA) réductase (statines) (1,5 %) a plus que doublé depuis le début des années 2000 (11) (Figure 1). Il a été décrit une plus forte prévalence d'HSM aux AINS, aux IEC et aux diurétiques thiazidiques chez les patients noirs (11).

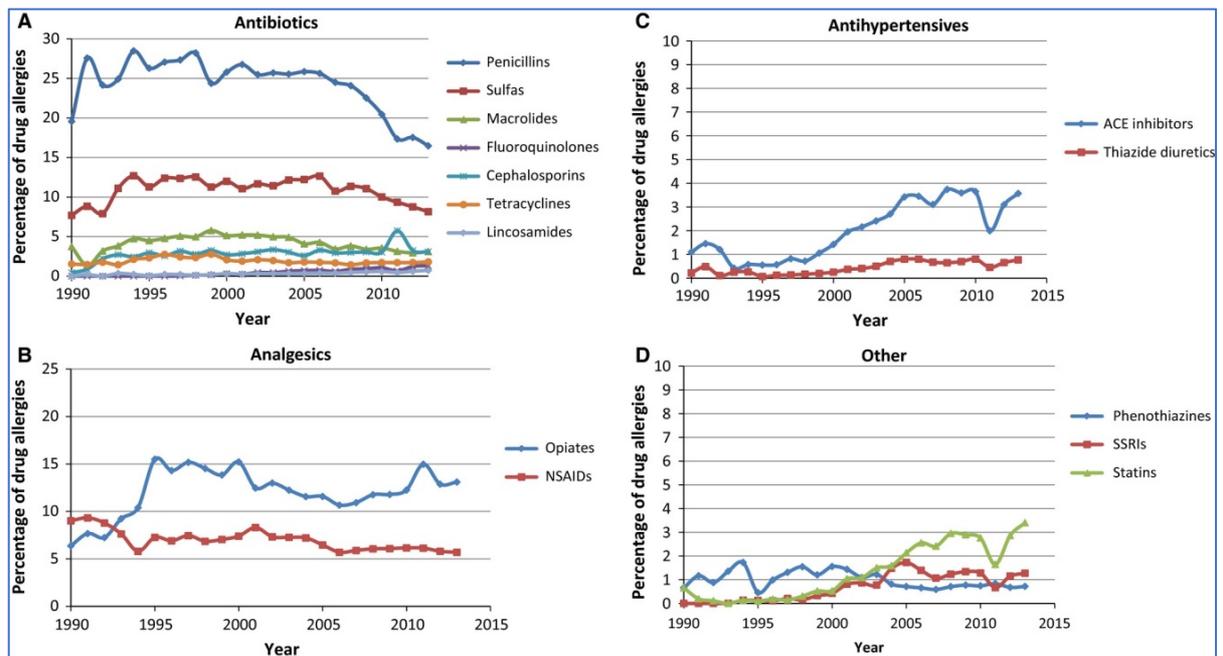


Figure 1 Pourcentages d'allergies médicamenteuses courantes par rapport à toutes les allergies médicamenteuses signalées entre 1990 et 2013. (A) Allergies aux antibiotiques. (B) Allergies aux médicaments analgésiques. (C) Allergies aux médicaments antihypertenseurs. (D) Autres médicaments.(11)

Selon la dernière enquête épidémiologique réalisée par le Groupe d'Études des Réactions Anaphylactoïdes Per-anesthésiques (GERAP) (12), les médicaments les plus fréquemment responsables d'une anaphylaxie au cours d'une anesthésie sont les agents de blocage neuromusculaire ou curares (NMBA) dans 61,5 % des cas suivis par les antibiotiques (18,6 %), les colorants (5,5 %) et le latex (5,3 %). Une réaction croisée à tous les NMBA est retrouvée dans 4,3 % des cas. C'est-à-dire que la sensibilisation à un NMBA peut déclencher une réaction d'HS à une autre molécule de la même famille. Les réactions croisées entre le suxaméthonium et le rocuronium sont fréquentes (30,6 %), comme les réactions entre le rocuronium et le cisatracurium (30,2 %) alors qu'elles étaient plus rares entre le suxaméthonium et le cisatracurium (17,6 %). Le nombre de réactions allergiques à l'administration d'un soluté d'expansion volémique est stable, les gélatines étant plus fréquemment incriminées que les amidons. Les réactions aux morphiniques et aux hypnotiques demeurent très rares compte tenu de leur fréquence d'utilisation. Quant aux réactions mettant en cause les anesthésiques locaux, elles sont exceptionnelles (Figure 2) (13).

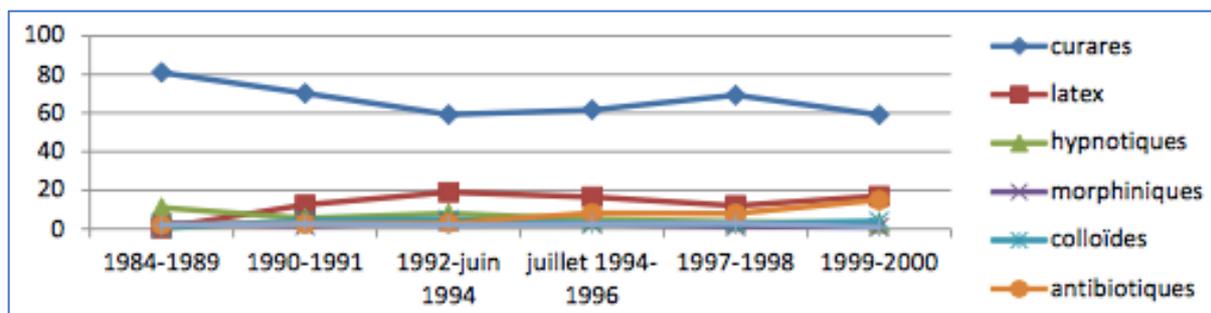


Figure 2 Substances responsables des réactions d'HSI allergiques peranesthésiques recensées dans 6 enquêtes épidémiologiques du GERAP de 1984 à 2000 (14)

Si certains groupes de médicaments sont connus depuis des années comme déclencheurs de réactions d'HSM par exemple les BL ou les agents de chimiothérapie classiques (carboplatine, cisplatine, taxanes) (15). D'autres médicaments, tels que les anticorps monoclonaux, sont entrés en pratique clinique plus récemment, mais ils peuvent également provoquer des réactions d'HSI. Les anticorps monoclonaux chimériques (rituximab, infliximab...) induisent ces réactions plus souvent que les anticorps monoclonaux humanisés, mais même les anticorps monoclonaux entièrement humains diffèrent dans les profils de glycosylation, ce qui peut entraîner la formation de déterminants allergéniques et des réactions anaphylactiques (16). Au cours des dernières années, des HSM à la sulfasalazine et les médicaments antituberculeux ont également été signalés (17).

2-2 Facteurs de risque

Comme décrit précédemment, un profil type des patients possédant des facteurs de risque de développer une HSM est actuellement établi. Il se définit par une femme caucasienne, d'un âge avancé avec des comorbidités telles que le diabète, une pathologie cardiovasculaire et des médications multiples (18)(19)(20). La prédisposition féminine peut s'expliquer par une consommation accrue de médicaments, des facteurs génétiques, des changements épigénétiques et un rôle des hormones sur les cellules immunitaires (21). Des antécédents atopiques tels que la mastocytose systémique, l'urticaire chronique et l'asthme ont également montré un risque augmenté d'HSM (20)(22). La génétique et le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH ou HLA pour *Human Leucocyt Antigen*) compose une part importante des facteurs de risque d'HSM. La prédisposition génétique la plus connue est l'association HLA B*57:01 et HS à l'abacavir (23) mais depuis quelques années de nouvelles associations génétiques dans les HSM ont été décrites. Les manifestations allergiques liées au HLA sont cependant le plus souvent de mécanisme retardé comme le montre le tableau récapitulatif 2.

Tableau 2 Association d'allèles HLA aux médicaments dans les manifestations d'hypersensibilité retardée (D'après (24))

Molécule	Manifestation clinique	Allèle HLA	Populations étudiées	OR	VPN	VPP	NNT
Abacavir	HSS, rash, fièvre, malaise, troubles gastro-intestinaux	B*57:01	Caucasienne, Africaine, Afro-américaine	690	100% (patch-test)	55%	13
Allopurinol	SJS/TEN DRESS	B*58:01	Caucasienne, chinoise	>800	100% (pop. chinoise)	3%	250
Efavirenz	Rash	DRB1*01	Française	-	-	-	-
Nevirapine	DRESS	B*14/Cw8 Cw8 Cw4 DRB1*15 B*3505 B*3501 B*15/DRB1*15	Italienne, japonaise, chinoise (Han), asiatique, australienne	-	-	-	-
	Rash	B*35 :05 Cw4	Thaïlandaise, Africaine, Asiatique, Européenne	-	97%	16%	-
	Hépatite	DRB1*01 :01 DRB1*01 :02	Européenne, australienne, sud-africaine	-	96%	18%	-
Flucoxacilline	Hépatite	B*57:01 DRB1*0107- DQB1*0103	Européenne		>99%	<1%	13819
Amoxicilline et aminopénicillines	Hépatite	HLA*02 :01 DQB1*0602 DRB*15 :01- BQB1*06 :02	Européenne	-	-	-	-
	Rash	A*2 DR*52	Italienne	-	-	-	-
Sulfaméthoxazole	SJS/TEN	B*38	Européenne	-	-	-	-
Sulfamides	SJS/TEN	A*29 B*12 DR7	C	-	-	-	-
Isoniazide	DILI	NAT2, CYP2E1*5 *1B	V et	-	-	-	-
Carbamazépime	SJS/TEN	B*15:02	Caucasienne, chinoise	>1000	100% (population chinoise)	3%	100
	DRESS	A*31:01	Européenne, chinoise, japonaise	9,5	>99%	<1%	5000
Dapsone	DRESS, rash, hépatite	B*13:01	Australienne, chinoise, japonaise	81	>99%	<1%	13819

NNT, nombre de patients à tester pour une manifestation clinique (number needed to treat) ; *OR*, Odd ratio ; *VPN*, Valeur prédictive négative ; *VPP*, valeur prédictive positive ; *DRESS*, Syndrome de réaction au médicament avec éosinophilie et troubles systémiques (drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms) ; *HSS*, syndrome d'hypersensibilité (HSS) ; *SJS/TEN*, Syndrome de Stevens-Johnson et de nécrose épidermique toxique (toxic epidermic necrolysis) ; *DILI*, lésion hépatique d'origine médicamenteuse

Des associations médicamenteuses particulières abaissent le seuil de sensibilité et d'activation mastocytaire. C'est le cas, par exemple, chez des patients recevant des β -bloquants associés à des IEC qui se sont révélés être plus à risque de symptômes anaphylactiques sévères (25).

3- Physiopathologie des HSM

3-1 Mécanismes mis en jeu dans les HSM

La réaction d'HSM résulte d'une activation du mastocyte provoquant la dégranulation du contenu de ses granules. Le mécanisme peut être non allergique sans reconnaissance du médicament par le système immunitaire (pharmacologique, etc...) ou allergique en impliquant l'immunité spécifique dite adaptative (Figure 3).

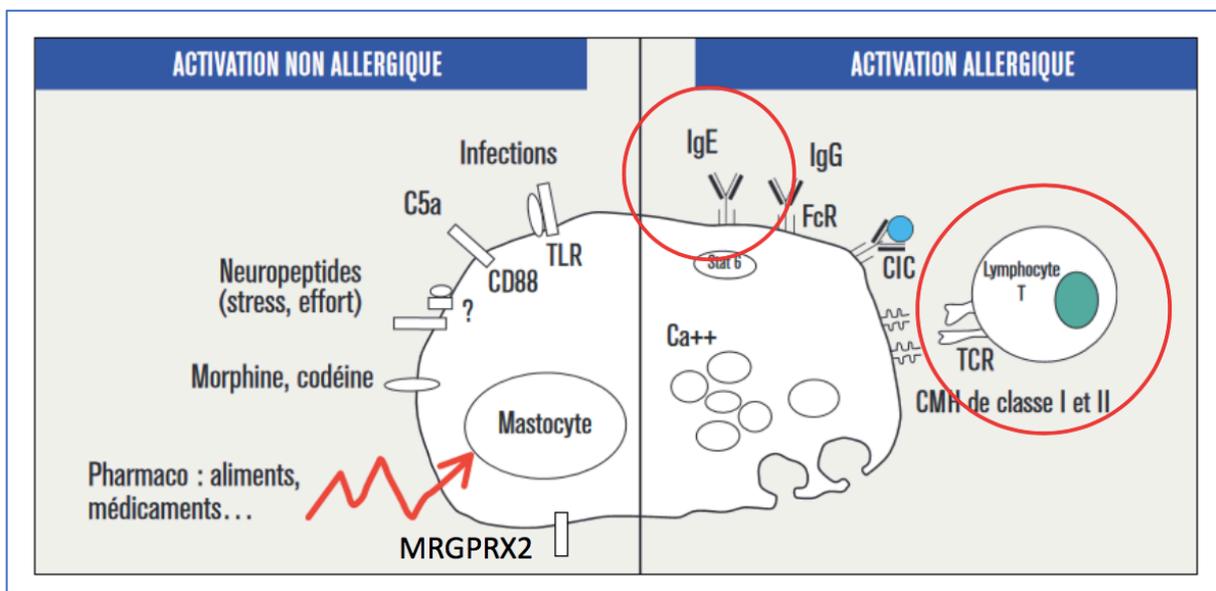


Figure 3 Schéma de l'HS immédiate non allergique et allergique d'après Nicolas et al. 2015 (3)

La réaction allergique peut être due à des anticorps (HS de types I à III) ou aux lymphocytes T (HS de types IV), selon la classification modifiée de Gell & Coombs adaptée par Pichler en 2003 (Figure 4) (26)(27).

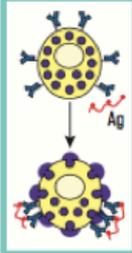
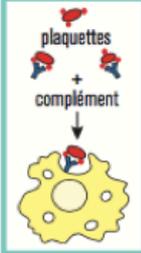
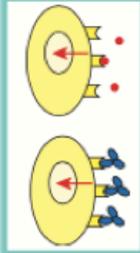
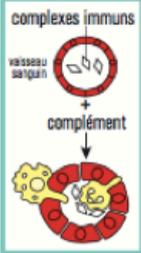
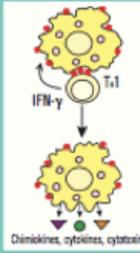
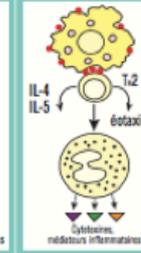
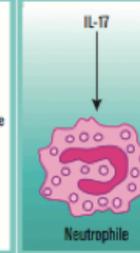
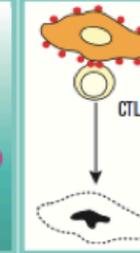
TYPE I	TYPE II		TYPE III	TYPE IV			
IgE	IgG		IgG	CD4 Th1	CD4 Th2	CD4 Th17	CD8 cytotoxique
Ag solubles	Ag cellulaires ou matriciels	Récepteurs cellulaires	Ag solubles	Ag solubles	Ag solubles		Ag cellulaires
Mastocyte	Complément, phagocytes, NK	Ac altérant la signalisation	Complément, phagocytes	Macrophages	Éosinophiles	Neutrophiles	Cytotoxicité
							
ALLERGIES AUX MÉDICAMENTS							
Choc anaphylactique	Cytopénie médicamenteuse		Vasculrite immuno-allergique, pseudo-maladie sérique	Exanthème, DRESS	DRESS	Pustulose exanthématique	Nécrolyse épidermique, Syndrome de Lyell/syndrome de Stevens-Johnson

Figure 4 Classification revisitée des maladies allergiques de Gell et Coombs adaptée par Pichler (27)

Dans cette thèse, seule l'HSMI (type I) médiée par les Ig de sous-type E (IgE) sera traitée et détaillée.

3-2 Hypersensibilité Immédiate aux Médicaments (HSMI)

L'HSMI, à l'instar de toutes les HS à mécanisme immunologique allergique, peut être décrite en deux phases successives : une phase de sensibilisation suivie d'une phase de révélation des symptômes.

3-2-1 Phase de Sensibilisation

La phase de sensibilisation correspond à l'activation de lymphocytes T helper (Th) CD4+ et de lymphocytes B spécifiques (Figure 5B et C). Cette activation est renforcée par un contexte cytokinique favorable qui polarise l'immunité adaptative vers la voie Th2. Cette voie va permettre la commutation de classes des lymphocytes B spécifiques ayant reconnu l'antigène et ainsi favoriser la production d'IgEs. (Figure 5D). L'HSMI est en effet médiée par cette IgE qui se lie à son récepteur à la surface des cellules effectrices (Figure 5E). À ce stade, les patients ne présentent aucun symptôme. Il y a une mise en route des réponses immunologiques de mémorisation pour les lymphocytes B (LBmém.) et T (LTmém.). Les cellules sont prêtes à réagir lors de nouvelles rencontres avec l'allergène.

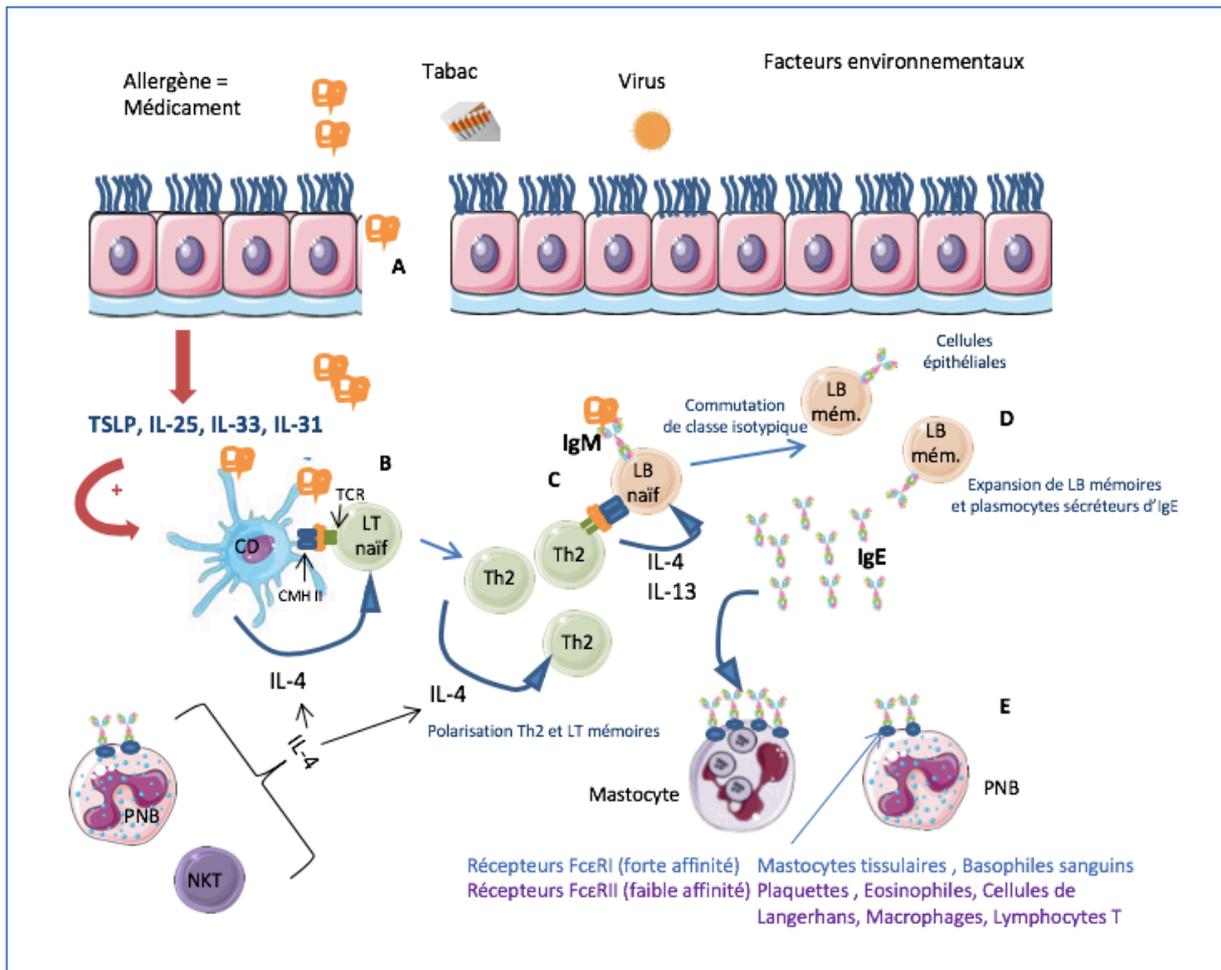


Figure 5 Phase de sensibilisation de l'hypersensibilité médiée aux IgE, d'après Palomares, 2017 (28)
PNB : Polynucléaire basophile, **CD** : Cellule dendritique, **CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité, **IL** : Interleukine, **Ig** : Immunoglobuline, **L** : Lymphocyte, **NKT** : Natural Killer T, **TCR** : T Cell Receptor, **TSLP** : Thymic stromal lymphopoietin

3-2-1-1 Activation de Th spécifiques

L'activation des Th spécifiques repose sur trois principaux modèles non exclusifs (29)(30)(31) : le modèle haptène/prohaptène, le modèle d'interaction pharmacologique (concept p-i) et le modèle de répertoire du soi modifié (Tableau 3) (32). Dans les HSMI, c'est le modèle haptène/prohaptène qui est impliqué.

Tableau 3 Exemples schématiques pour l'hypothèse haptène/pro haptène, le concept p-i et le modèle du répertoire du soi modifié

	Modèle haptène/prohaptène	Concept p-i Interaction pharmacologique avec le récepteur immunitaire	Modèle du répertoire du soi modifié
Mécanisme	L'allergène se lie de manière covalente à un peptide du soi qui est alors reconnu par les CPA, puis présenté avec le CMH aux lymphocytes T comme un antigène	La molécule se lie de façon non covalente directement au HLA ou au TCR sans apprêtement de l'antigène ou chargement du peptide. Cette réaction peut survenir lors de la première exposition	L'antigène se lie de manière non covalente au sein du sillon de liaison au peptide, modifiant ainsi le répertoire de peptides capables de se lier au HLA
Schéma			
Exemples	BL (liaison à l'albumine), AINS, sels de platine, anticorps monoclonaux	BL, Fluoroquinolones (FQ), AINS, produits de contraste, carbamazépine (HLA-B*15:02), allopurinol, abacavir (HLA-B*57:01), vancomycine	

CPA : Cellule présentatrice d'Antigène, **CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité, **HLA** : Human Leucocyt Antigen, **TCR** : T Cell Receptor

Le dogme, fondé sur des données générées au début du 20^{ème} siècle (33) qui mentionne qu'un médicament a besoin de se lier de manière covalente à une protéine pour former un nouvel antigène (complexe haptène-carrier) est toujours d'actualité. Il indique que les petites molécules comme les médicaments ou les métabolites de médicaments sont trop petites pour déclencher une réponse immunitaire spécifique par elles-mêmes (34). Certains médicaments sont des pro-haptènes et ne peuvent se lier de manière covalente aux protéines qu'après avoir été métabolisés. Ce n'est qu'après cette liaison qu'un nouvel antigène est généré (complexe haptène-protéine) (35). Ce premier modèle correspond donc à l'altération de protéines par la liaison du médicament. Ceci génère une entité « non-soi » considérée comme un néo-antigène, prise en charge par les cellules présentatrices d'antigène (CPA) professionnelles, telles que les cellules dendritiques (CD) présentes dans les muqueuses des voies respiratoires, de l'intestin ou de la peau. Les CD mûrissent et migrent vers les ganglions lymphatiques pour

présenter l'antigène aux lymphocytes Th. La formation d'un nouvel antigène n'est cependant pas une condition préalable à tous les HSM et ne représente qu'une partie de celles-ci.

Les deux autres modèles d'activation lymphocytaire sont impliqués dans les HS de type IV (Figure 4). Le concept p-i (« interaction pharmacologique avec les récepteurs immunitaires ») consiste en une interaction directe des médicaments avec les récepteurs immunitaires (HLA ou *T Cell Receptor* (TCR)), ce qui conduit à une réaction médiée par les lymphocytes T, qui présente des caractéristiques d'HS et/ou de réactions allo-immunes et/ou auto-immunes (36).

Lors du modèle du répertoire du soi modifié, la spécificité de liaison de la molécule HLA est modifiée par la présence du médicament, entraînant la présentation de nouveaux ligands. Les lymphocytes T normalement auto-tolérants sont exposés et activés par ces néo-auto-peptides présentés par le complexe HLA-médicament (37).

3-2-1-2 Sélection des lymphocytes B

Parallèlement à l'activation des Th spécifiques, l'allergène est reconnu par le lymphocyte B spécifique. La probabilité qu'un lymphocyte B s'active directement par reconnaissance directe de l'antigène par son *B Cell Receptor* de type IgM (BCR) est très faible. Une activation efficace des lymphocytes B nécessite la combinaison des deux signaux, le premier reçu par le BCR (premier signal), spécifique d'antigène, et le second dépendant d'interactions récepteurs/ligands membranaires ou solubles (cytokines) non spécifiques de l'antigène (second signal) apporté par les lymphocytes T folliculaires auxiliaires dans le cadre d'une coopération T-B où le lymphocyte B se comporte en CPA. Dans la réaction allergique, le lymphocyte B reçoit de la part du lymphocyte Th2 spécifique des signaux solubles nécessaires à sa prolifération et à sa survie comme l'IL (Interleukine) de type 4 (IL-4) qui joue un rôle dans la commutation de classe préférentielle vers les IgE, la maturation de l'affinité et la différenciation des plasmocytes (Figure 5 C-D).

3-2-1-3 Rôle des cytokines

Dans l'allergie, la réponse est orientée vers la voie type Th2 grâce à cet environnement cytokinique favorable comprenant de l'IL-4, l'IL-5, l'IL-9, l'IL-13 et très peu d'IL-12 impliqué dans la voie Th1.

Les cellules tissulaires résidentes contribuent à la sensibilisation allergique (28). En effet, les cellules épithéliales forment une barrière imperméable représentant la première ligne de défense contre les dangers de l'environnement.

Ces cellules épithéliales, différentes selon les tissus, ne doivent pas être seulement considérées comme une simple barrière physique, mais aussi comme d'importantes cellules immunorégulatrices capables de produire différentes cytokines après stimulation, telles que l'IL-25, l'IL-33, l'IL-31 ou le *Thymic stromal lymphopoietin* (TSLP). Elles contribuent à la polarisation de la voie Th2 et à la production d'IgE favorisant ainsi la sensibilisation (Figure 5A).

Les polynucléaires basophiles et les cellules *Natural Killer T* (NKT) contribuent également à cette sensibilisation en produisant de façon précoce de l'IL-4. Les cellules lymphoïdes innées de type 2 (ILC2) acteurs importants avec un rôle essentiel dans l'inflammation allergique des poumons et de la peau, produisent qu'en à elles de IL-13 mais pas IL-4 (38).

3-2-1-4 Les IgEs et leurs récepteurs cellulaires

Les IgE ont une concentration sérique très faible, de 50 à 100 µg/L environ (100 000 fois moins que les IgG), notamment du fait d'une demi-vie sérique courte. En effet, si les IgE persistent plusieurs mois à la surface des cellules, ils ne persistent seulement que quelques jours sous forme libre dans le sang périphérique.

L'architecture globale de la molécule d'IgE diffère le plus significativement de celle d'IgG en ce qui concerne le domaine cristallisable (Fc) de la chaîne lourde et l'absence d'une région charnière dans la chaîne ε. L'IgE-Fc est composé de 6 domaines arrangés en un dimère des domaines Cε2-Cε3-Cε4 (Figure 6) (39).

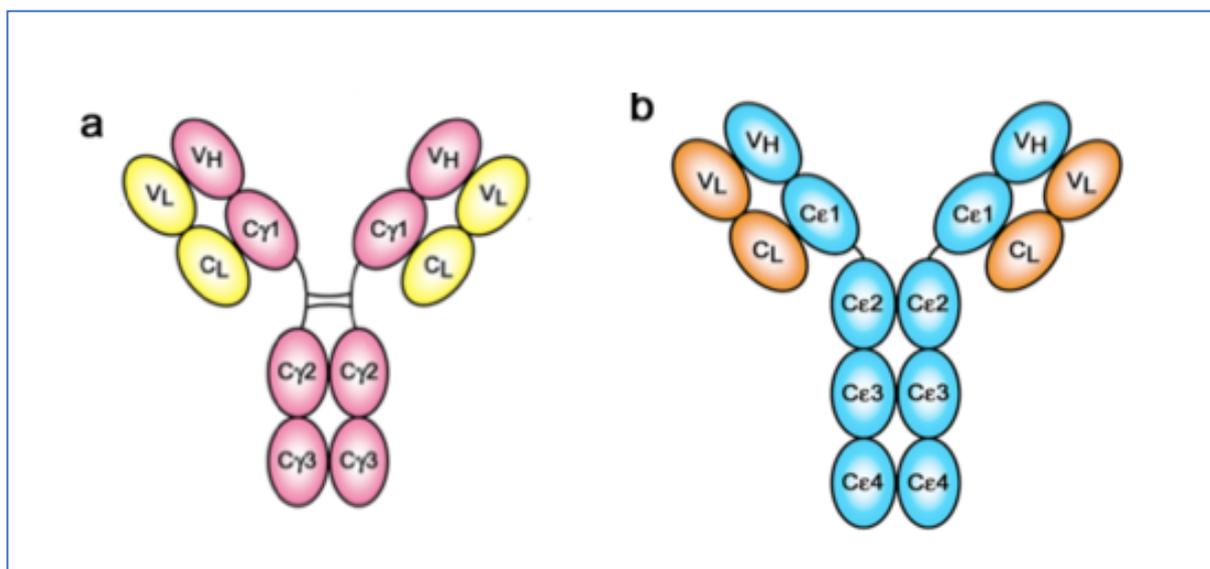
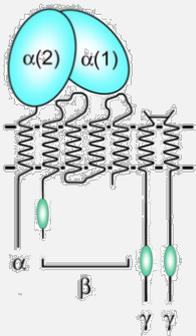
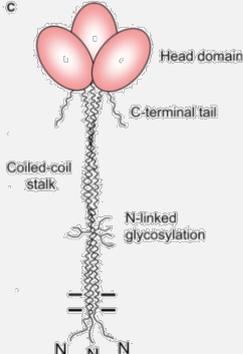


Figure 6 Représentation schématique de la conformation structurale d'une IgG (a) et d'une IgE (b). (39)

Les IgE se lient, par le Fc à des récepteurs présents à la surface des cellules créant un site de liaison multivalent pour l'antigène médicamenteux (Figure 5E). Il existe deux types de récepteurs décrits actuellement aux IgE FcεRI (de haute affinité) et FcεRII ou CD23 (de faible affinité) dont les caractéristiques sont détaillées dans le tableau 4 (40).

Tableau 4 Caractéristiques principales des deux types de récepteurs Fc aux IgE

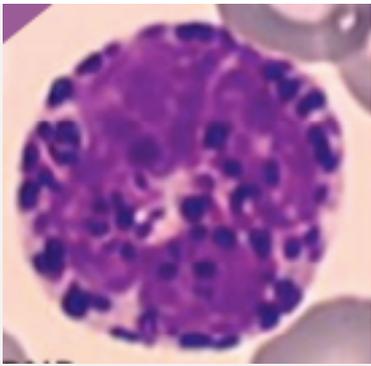
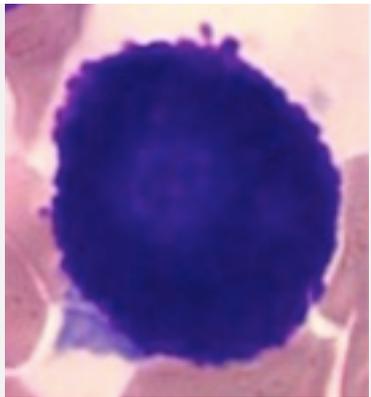
Récepteurs	FcεRI	FcεRII (CD23)
Superfamille	Immunoglobuline	Lectine (Ca ²⁺ dépendant)
Expression cellulaire	Mastocytes tissulaires Basophiles circulants	Plaquettes Lymphocytes T et B Éosinophiles Cellules de Langerhans Macrophages
Structure	Complexe tétramérique αβγ ₂ 	Homotrimère 
Molécules liées	IgE non liées au médicament	Complexes immuns IgE-médicaments
Interaction entre l'IgE et son récepteur	Interaction hydrophobe entre la chaîne α (FcεRI) et le domaine Cε3 (IgE) stabilisée par le domaine Cε2	Interaction entre le domaine « tête » (CD23) et les domaines Cε3 (63%) - Cε4 (12%) (IgE) indépendante du Ca ²⁺ /- liaison au corécepteur CD21
Voie de signalisation	ITAM (motif situé dans la région intracellulaire des chaînes β et γ)	Voie Protéine Kinase C (PKC)
Affinité	Haute K _a = 10 ¹⁰ - 10 ¹¹ M ⁻¹	Faible K _a = 10 ⁶ - 10 ⁷ M ⁻¹
Remarques	Forme trimère αγ ₂ sur CD, cellules de Langerhans, monocytes, macrophages, neutrophiles, éosinophiles et plaquettes	Existe sous forme liée à la membrane (mCD23) et sous formes de fragments solubles (sCD23) libérés par protéolyse de la tige

La liaison des IgE sur les récepteurs présents à la surface des plasmocytes va jouer un rôle dans la régulation de la production d'IgE. L'engagement de CD23 membranaire (mCD23) par des complexes immuns IgE-médicament sans le corécepteur CD21 fournit un signal de régulation négative pour la synthèse d'IgE. Les molécules CD23 solubles (sCD23) peuvent exister dans des états monomères ou trimériques. Ces deux états ont des effets opposés sur les lymphocytes B qui expriment des IgE membranaires (mIgE), respectivement une régulation à la baisse ou à la hausse des IgE. En effet, c'est la co-réticulation sCD23 trimérique avec les mIgE en présence de CD21 qui conduit à une régulation à la hausse. La liaison des mIgE à CD23 protège également cette dernière contre la protéolyse et empêche la formation de sCD23. sCD23 a donc un rôle, conjointement avec mCD23, dans l'homéostasie de la synthèse en IgE (41).

3-2-2 Phase effectrice

Celle-ci se déroule lors d'une seconde exposition au médicament et met en jeu les mastocytes et les polynucléaires basophiles.

Tableau 5 Caractéristiques des basophiles et mastocytes d'après (42)

	<i>Basophile</i>	<i>Mastocyte</i>	
<i>Origine</i>	Cellule hématopoïétique	Cellule hématopoïétique	
	CD 34+	CD 34+	
<i>Site de maturation</i>	Moelle osseuse	Moelle osseuse et/ou tissu	
<i>Caractéristiques</i>	Taille	5-7 μm	5-10 μm
	Durée de vie	Heure	Mois
	Noyau	Segmenté	Rond
	Localisation	Sang	Tissu
<i>Aspect cytologique</i>			

Ces cellules effectrices sont d'origine myéloïde et émergent de la différenciation des cellules souches hématopoïétiques. Les polynucléaires sont retrouvés au niveau sanguin contrairement aux mastocytes qui effectuent leur maturation au niveau tissulaire (42). Les caractéristiques de ces cellules sont détaillées dans le Tableau 5.

Le médicament, lors de sa réintroduction, effectue un pontage des IgE, préalablement synthétisés et fixés à la surface des basophiles et des mastocytes entraînant la libération de médiateurs responsable des symptômes cliniques. Pour déclencher une réaction allergique, l'allergène doit être multivalent, c'est-à-dire qu'il doit posséder de multiples épitopes (répétitifs ou non) pour pouvoir être reconnu au minimum par deux IgEs. La structure hapténique rend le pontage de deux IgE difficilement réalisable à la surface des polynucléaires basophiles.

La signalisation intracellulaire FcεRI dans les mastocytes passe par un réseau de molécules de signalisation et de protéines adaptatrices, conduisant à des effets sur la migration et l'adhésion des cellules, la croissance et la survie, la dégranulation, la production d'eicosanoïdes et la production de cytokines et chimiokines (Figure 7) (43). Le FcεRI dispose de motifs ITAM (*Immunoreceptor Tyrosine- based Activating Motif*) couplés aux tyrosine-kinases *lyn* et *syk* (44)(43). La voie de la Protéine Kinase C (PKC) est activée et provoque la migration des granules sécrétoires vers la membrane plasmique et l'exocytose du contenu granulaire dans le milieu extracellulaire. L'efficacité de la dégranulation IgE-dépendante est augmentée par la fusion des granules entre elles grâce à de véritables canaux qui permettent au contenu granulaire de cheminer vers les granules ayant déjà fusionné avec la membrane plasmique. Le contenu des granules est libéré sans que chaque granule se déplace jusqu'à la membrane plasmique et fusionne avec celle-ci. Le phénomène d'exocytose mastocytaire est rapide, atteignant son maximum environ 15 minutes après l'agrégation par l'allergène médicamenteux, d'où le nom d'HSI. Dans un second temps, l'activation de la Phospholipase A2 (PLA₂) permet le métabolisme des phospholipides des membranes des granules (acide arachidonique et lysophosphatidylcholine) et la libération différée, deux heures après, de médiateurs lipidiques néoformés (Tableau 6).

Les manifestations cliniques déclenchées par ces médiateurs sont décrites au paragraphe 4.

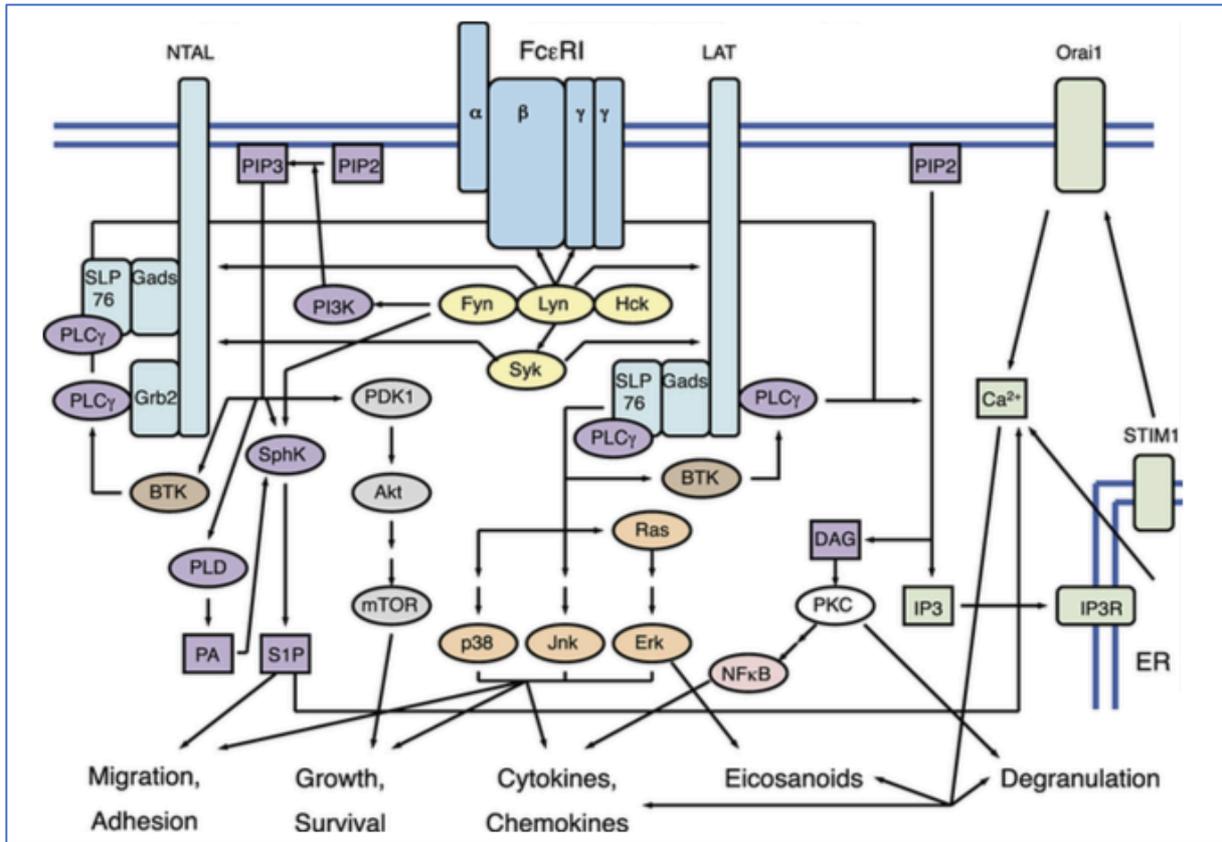


Figure 7 Voie de signalisation lors de la phase de déclenchement médiée aux IgE (deuxième contact), Wu 2011 (43)

FcεRI à la surface des mastocytes est un complexe tétramérique composé d'une sous-unité α, d'une sous-unité β et de deux sous-unités γ liées par un pont disulfure (bleu). La signalisation de FcεRI proximale est médiée par les kinases de la famille Src et Syk (jaune). Les protéines adaptatrices incluent LAT, NTAL/LAB/LAT2, Grb2 Gads et SLP76 (bleu clair). Les voies de signalisation lipidique sont médiées par PI3K, SphK, PLD et PLC (violet). La signalisation du calcium se déroule selon un processus en deux étapes, consistant en la libération initiale des réserves intracellulaire de calcium (ER), suivie d'un afflux de calcium extracellulaire (vert). Les molécules et voies de signalisation supplémentaires incluent Btk, qui relie l'activation de PI3K à l'activation PLC (marron), Ras/MAPK (orange), PDK1/Akt/mTOR (gris), PKC (blanc) et NF-κB (rose). PA = acide phosphatidique IP3R : récepteur d'inositol 1,2,5-triphosphate.

Tableau 6 Récapitulatif des médiateurs préformés et néoformés après dégranulation mastocytaire

Médiateurs	Préformés	Néoformés
	Amines vasoactives (histamine), protéases (tryptase, héparine), cytokines, facteurs de croissance	Leucotriènes, prostaglandines, 5-lipoxygénases dérivés de l'acide arachidonique, Platelet Activator Factor (PAF) dérivé de la lysophosphatidylcholine
Libération	Immédiate (15 minutes)	Différée (2 heures après la dégranulation)
Temps de régénération	72 heures	-

3-2-3 Des réactions anaphylactiques non IgE dépendantes

Les anticorps de la classe IgG peuvent être également responsables de réaction d'HS, via la génération de complexes immuns IgG/allergène. Ces complexes engagent les récepteurs gamma Fc (Fc γ R) sur diverses cellules myéloïdes, tels que les monocytes/macrophages, les polynucléaires neutrophiles et basophiles ou les mastocytes. En effet, les neutrophiles jouent un rôle pathogène dominant dans les modèles murins d'anaphylaxie sévère, y compris les modèles induits par les IgG humaines et le Fc γ R humain, suggérant que les neutrophiles pourraient également contribuer à l'anaphylaxie chez l'homme (45). Les neutrophiles peuvent même être suffisants pour induire des symptômes anaphylactiques, car ils peuvent libérer rapidement un certain nombre de médiateurs lipidiques et protéiques et leur acide désoxyribonucléique (ADN) génomique et mitochondrial sous la forme de pièges extracellulaires neutrophiles (NET), un processus appelé NETose. Ils sont les principaux producteurs de *Platelet Activator Factor* (PAF) qu'ils libèrent *in vitro* lors de la liaison au Fc γ R. Des concentrations élevées de PAF peuvent être notamment détectées dans le sérum de patients humains après une anaphylaxie aux NMBA et être corrélées à la sévérité de la réaction (45). Ainsi, cette voie IgG, Fc γ R et neutrophiles peut coexister avec la voie classique dépendante des IgE et aggraver les réactions d'HSMI associée aux IgE comme les HS aux NMBA (45). Elle pourrait également être responsable d'HSM chez les patients sans marqueur de l'activation immunitaire IgE-dépendante, précédemment désignée comme HS « non allergique » et éclairer certaines approches diagnostiques des réactions d'HSI induites par NMBA.

3-3 Pseudo-allergie

Parfois, il est difficile de caractériser le mécanisme immunologique d'une HSM. De plus, avec certains médicaments, la réaction d'HS est observée à la première administration du médicament, ce qui va à l'encontre du mécanisme immunoallergique en deux phases comme précédemment expliqué. Au vu de ces observations, il faut envisager que des mécanismes alternatifs non allergiques sont mis en jeu lors de la réaction d'HSM. Ces HS sont appelées « pseudo-allergie » (36). Elle repose sur des interactions médicamenteuses avec les récepteurs ou les enzymes cibles. Elles peuvent conduire à l'activation directe des mastocytes ou à une production accrue de médiateurs inflammatoires. Les IgE ou les lymphocytes T spécifiques ne sont alors pas impliqués (Figure 3).

3-3-1 Effet pharmacologique sur les enzymes

L'activité pharmacologique de certains médicaments sur le blocage d'enzymes comme la cyclooxygénase (COX) (46) peut entraîner une augmentation du niveau des médiateurs tels que les leucotriènes. C'est le cas des traitements par AINS par exemple (Figure 8A). Chez la plupart des patients, le mécanisme de l'effet indésirable n'est pas allergique (47).

D'une autre manière, lors d'un traitement par IEC, la bradykinine n'est plus dégradée par l'enzyme de conversion. Sa persistance anormale dans l'organisme peut provoquer des réactions tels que les angioedèmes à bradykinine (48).

3-3-2 Stimulation directe des récepteurs X2 couplés à la protéine G (MRGPRX2)

Pour d'autres médicaments, c'est la stimulation directe des récepteurs MRGPRX2 des cellules effectrices de l'inflammation (15) qui est responsable de l'activation mastocytaire (Figure 8B). En condition physiologique, le MRGPRX2 est activé par des neuropeptides comme la substance P ou certains opioïdes et cela provoque le relargage d'histamine et de tryptase par les mastocytes (49). On retrouve dans de récentes expériences *in vitro* (15), que les NMBA, les fluoroquinolones (FQ) et la vancomycine sont capable d'activer des récepteurs MRGPRX2, ce qui entraîne une dégranulation des mastocytes. Si les NMBA induisent la majorité des réactions anaphylactiques lors d'une anesthésie générale, jusqu'à 85 % de ces réactions surviennent chez des patients sans exposition préalable aux NMBA. La réaction anaphylactique induite par le médicament chez les patients naïfs de médicament peut s'expliquer par une sensibilisation croisée aux IgE ou par la présence d'un mécanisme non dépendant des IgE. Les FQ représentent également un groupe de médicaments qui peuvent provoquer des réactions anaphylactiques chez les patients naïfs de médicament.

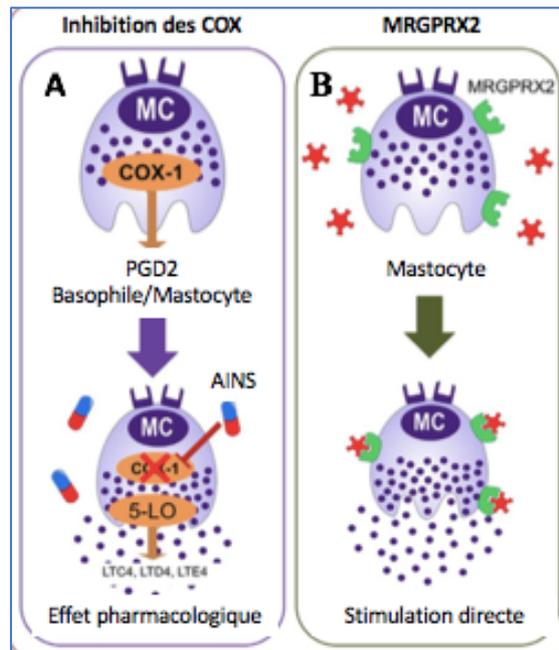


Figure 8 Mécanismes impliqués dans l'hypersensibilité immédiate non IgE médiée

Les réactions pseudo-allergiques dépendent de la dose. Ils nécessitent généralement des doses sensiblement plus élevées pour déclencher des symptômes cliniques que les réactions induites par les IgE (36).

4- Manifestations cliniques

Cliniquement, les réactions d'HSM sont généralement classées comme immédiates ou non (retardées) en fonction de leur apparition pendant le traitement. Les réactions d'HSMI surviennent dans les 1 à 6 heures après la dernière administration du médicament. En règle générale, elles surviennent dans la première heure suivant la première administration d'un nouveau traitement d'où le caractère indispensable de consigner les heures d'apparition des symptômes et leur durée. Ils se manifestent généralement sous la forme de symptômes isolés tels que l'urticaire, l'œdème de Quincke, la conjonctivite, la rhinite, le bronchospasme, les symptômes gastro-intestinaux (nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales). Dans les situations les plus sévères des réactions d'HSI, la manifestation clinique peut être définie par le terme d'anaphylaxie (50).

Il s'agit d'un syndrome clinique associant de manière variable des signes respiratoires (dyspnée et bronchospasme) et/ou circulatoires (tachycardie, hypotension, collapsus) et le plus souvent des signes cutanéomuqueux (urticaire, œdème, grave lorsqu'il touche le larynx). D'autres signes cliniques (douleurs abdominales, diarrhée, vomissement) peuvent être également associés.

Les différents grades de réaction anaphylactique sont définis par la classification de Ring and Messmer présentée dans le tableau 7 (51)(52). Cette échelle de gravité est un outil aidant à évaluer la sévérité de la réaction anaphylactique.

Le grade I de sévérité modérée est défini par des signes cutanéomuqueux généralisés ou non. Le grade II est caractérisé par une atteinte multiviscérale qui reste modérée. Le grade III comprend des symptômes plus sévères menaçant la vie comme une défaillance mono ou multiviscérale. Les patients sont généralement transférés en réanimation pour la suite de la prise en charge. Le dernier grade (IV), le plus grave, est représenté par l'arrêt respiratoire ou cardiovasculaire. L'apparition d'un des symptômes classe le choc dans le grade correspondant.

Tableau 7 Classification des réactions anaphylactiques selon à la sévérité des manifestations cliniques (modifiée selon Ring et Messmer 1977) (51)

Grade	Cutané	Gastro-intestinal	Respiratoire	Cardiovasculaire
I	Érythème, urticaire avec ou sans angioedème	-	-	-
II	Érythème, urticaire avec ou sans angioedème	Nausées	Dyspnée	Tachycardie (> 20 bats/min) Hypotension (> 20 mm Hg systolique)
III	Érythème, urticaire avec ou sans angioedème	Vomissements, diarrhées	Bronchospasme, Cyanose	Choc et troubles du rythme
IV	Érythème, urticaire avec ou sans angioedème	Vomissements, diarrhées	Arrêt respiratoire	Arrêt cardiaque

Ces manifestations cliniques sont le résultat de la libération de médiateurs lors de la réaction anaphylactique (Tableau 8). Ils sont liés à l'apparition de signes cliniques immédiats ou retardés.

Tableau 8 Récapitulatifs des effets des médiateurs libérés lors d'une réaction anaphylactique (44)(43)

Voies	PKC	PLA ₂	Transcription
Médiateurs impliqués	Histamine, tryptase, chymase	Prostaglandines, leucotriènes, PAF	IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, TNF
Délai d'apparition	Effets immédiats	Maintien des effets immédiats Initiation des effets retardés	Effets retardés
Manifestations cliniques	Vasodilatation, adhésion leucocytaire, bronchospasme	Contraction des muscles lisses, augmentation de la perméabilité vasculaire	Inflammation, recrutement, activation et survie des leucocytes, orientation Th1/Th2, remodelage tissulaire

PKC : Protein Kinase C, **PLA₂** : PhosphoLipase A₂, **PAF** : Platelet Activated Factor, **IL** : Interleukine, **TNF** : Tumor Necrosis Factor

5- Stratégie diagnostique des HSMI

5-1 Anamnèse et imputabilité

Les réactions d'HSMI, comme dit précédemment, constituent un problème de santé important dont le diagnostic correct n'est pas toujours simple et souvent négligé. La première étape, primordiale, nécessite un interrogatoire poussé permettant de déterminer avec précision l'imputabilité du médicament.

Il est indispensable de reprendre l'anamnèse et la chronologie de l'apparition de signes d'HS (50). En effet, le patient pour lequel on suspecte une allergie médicamenteuse a dû être exposé au médicament lors de la phase de sensibilisation, avant de présenter une réaction. Il n'est pas rare d'avoir des omissions pour les produits qui ne sont pas considérés comme des médicaments ou au contraire conclure trop rapidement à l'imputabilité d'une molécule par le patient, notamment lorsque les consultations sont effectuées à distance de l'épisode. Des réactions croisées entre les différents médicaments sont possibles (pholcodine, dérivé morphinique et curares en raison de la présence du groupement ammonium quaternaire), et peuvent être responsables de déclenchement de réactions d'HS (53).

La co-administration avec d'autres médicaments, le mode d'administration (voie per-os, intraveineuse, sous-cutanée) ainsi que les antécédents tels que un terrain atopique familial ou personnel, de l'asthme, des allergies connues doivent être recueillis (54).

Les registres et l'implication de la pharmacovigilance ainsi que les données recueillies par les professionnels de santé (pharmaciens d'officine, médecins généralistes, urgentistes...) sont essentielles pour pouvoir orienter le diagnostic.

5-2 Tests diagnostiques

La deuxième étape de diagnostic se concentre sur les tests allergologiques. Lors de la sélection de ces tests, il est important de considérer le caractère immédiat ou non de la réaction. Les prick-tests (PT) et les intradermoréactions (IDR) à lecture immédiate sont les outils les plus facilement disponibles pour diagnostiquer les réactions immédiates (55)(56). La détermination du taux d'IgEs est toujours la méthode *in vitro* la plus courante pour évaluer de telles réactions, notamment quand les TC sont irréalisables (eczéma, peau aréactive) ou que l'interprétation est difficile (dermographisme). Désormais de nouveaux outils sont également disponibles au diagnostic et à la prise en charge tels que les tests cellulaires dont le TAB.

5-2-1 Les tests *in vivo*

5-2-1-1 Tests cutanés (TC)

Les TC sont des méthodes permettant le diagnostic médical des allergies, en provoquant une réaction allergique contrôlée de faible ampleur. Ils consistent à faire pénétrer des allergènes dans l'épiderme pour le PT et dans le derme pour les IDR afin d'observer ou non la réponse d'HS immédiate de l'individu, qui se manifeste par un érythème, une papule et un prurit (Figure 9). La réalisation des TC est décrite dans le tableau 9.

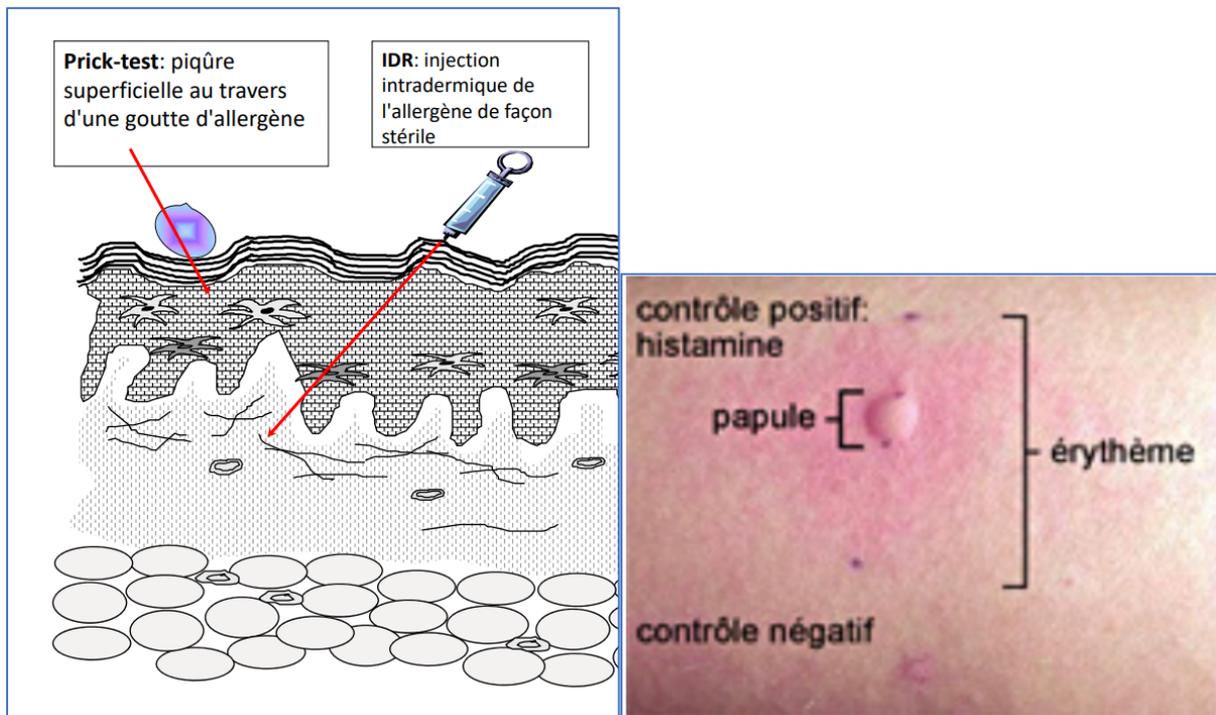


Figure 9 Schématisation de la réalisation des TC et image de papule (57)

La préparation parentérale du médicament suspect, de préférence la forme intraveineuse à la concentration recommandée, doit être utilisée pour le PT et l'IDR (58). Lorsque le médicament n'est disponible que sous forme de comprimé ou de capsule seul le PT peut être effectué. Il consiste à dissoudre le contenu des comprimés / gélules dans une solution NaCl à 0,9 % et à utiliser la concentration maximale pouvant être atteinte pour rendre le test aussi sensible que possible. La plupart des médicaments sont peu solubles dans l'eau et c'est souvent la suspension saturée qui est utilisée. Ces tests sont peu douloureux mais doivent être pratiqués par un médecin allergologue ou par du personnel formé par celui-ci. Le PT est l'examen de première intention du bilan allergologique car l'infraction cutanée est moins importante que pour l'IDR.

La positivité des TC (PT et/ou IDR) est un argument fort pour définir l'imputabilité du produit ou du médicament dans la survenue de la réaction (55). A l'inverse, leur négativité n'exclut pas une HS. La valeur diagnostique des TC dépend de la nature de la réaction cutanée et du type de molécule impliquée. Leur spécificité est excellente mais leur sensibilité est variable. Il est généralement admis d'effectuer les TC entre 6 semaines et 6 mois après la réaction aiguë (59). Quand c'est possible, il faut avoir arrêté les corticoïdes, les dermocorticoïdes et les antihistaminiques depuis au moins 7 jours ou les traitements immunosuppresseurs 1 mois avant les tests (60).

Tableau 9 Les tests cutanés dans les HSMI (60)

	PT	IDR
<i>Quand ?</i>	1 ^{ère} intention	Si PT négatif
<i>Comment ?</i>	Peau de la face antérieure de l'avant-bras piquée avec une aiguille ou lancette à travers la solution de médicament	Injection par voie intradermique au niveau de la peau de l'avant-bras palmaire de 0,02 à 0,05 ml de la concentration la plus faible
<i>Contrôle positif (histamine, 1 mg/mL)</i>	Oui	Oui
<i>Contrôle négatif (0,9% Na Cl)</i>	Oui	Oui
<i>Concentration</i>	1 : 10 ou 1 : 1000	Dilutions en série du médicament suspect 1 : 100 à 1 : 10 000 Augmentation des concentrations par étapes logarithmiques.
<i>Temps de lecture pour HSMI</i>	Après 15 minutes	A 15, 20 ou 30 minutes
<i>Positivité</i>	Papule de diamètre > à celui du témoin négatif et > à 3 mm	Papule de diamètre > à 3 mm et 2 x le diamètre de la papule d'injection (4 à 6 mm) ou papule > à 8 mm

Devant le faible poids moléculaire des médicaments les rendant très peu immunogènes, le choix du réactif approprié pour réaliser les suspensions ou solutions à tester pose un problème majeur pour la réalisation de ces derniers. Les concentrations à utiliser pour tester les médicaments ne sont pas toujours correctement standardisées, commercialisées ou publiées.

Le groupe de travail de l'Académie Européenne d'Allergologie et d'Immunologie Clinique (EAACI) sur l'HSM (58) a émis des recommandations afin de standardiser les TC reproductibles avec des concentrations de médicaments sûres et non irritantes dans la pratique clinique. Ils recommandent la concentration de médicament pour les TC visant à atteindre une spécificité d'au moins 95%. Il a été possible de définir une concentration médicamenteuse spécifique pour les BL (pénicillines et céphalosporines), les médicaments peropérateurs (NBMA et anesthésiques locaux), les héparines, les agents chimiothérapeutiques (sels de platine) et les produits de contraste iodés (PCI) (Tableau 10).

Tableau 10 Récapitulatifs des concentrations sûres et non irritables à utiliser pour les tests cutanés des BL, médicaments peranesthésiques et autres classes médicamenteuses d'après (58)

DCI	Médicaments		PT		IDR	
	Cpure	Dilution	Cmax	Dilution	Cmax	
BL						
<i>Penicilloyl-polylysine</i>	5 x 10 ⁻⁵ mM	Non dilué	5 x 10 ⁻⁵ mM	Non dilué	5 x 10 ⁻⁵ mM	
<i>Benzylpénicilline</i>	10.000 UI	Non dilué	10.000 UI	Non dilué	10.000 UI	
<i>Amoxicilline</i>	20 mg/mL	Non dilué	20 mg/mL	Non dilué	20 mg/mL	
<i>Ampicilline</i>	20 mg/mL	Non dilué	20 mg/mL	Non dilué	20 mg/mL	
<i>Céphalosporines</i>	2 mg/mL	Non dilué	2 mg/mL	Non dilué	2 mg/mL	
Peranesthésiques						
<i>Thiopental</i>	25 mg/mL	Non dilué	25 mg/mL	1/10	2,5 mg/mL	
<i>Propofol</i>	10 mg/mL	Non dilué	10 mg/mL	1/10	1 mg/mL	
<i>Kétamine</i>	10 mg/mL	Non dilué	10 mg/mL	1/10	0,2 mg/mL	
<i>Etomidate</i>	2 mg/mL	Non dilué	2 mg/mL	1/10	0,5 mg/mL	
<i>Midazolam</i>	5 mg/mL	Non dilué	5 mg/mL	1/10	0,005 mg/mL	
<i>Fentanyl</i>	0,05 mg/mL	Non dilué	0,05 mg/mL	1/10	0,05 mg/mL	
<i>Alfentanil</i>	0,5 mg/mL	Non dilué	0,5 mg/mL	1/10	0,0005 mg/mL	
<i>Sufentanil</i>	0,005 mg/mL	Non dilué	0,005 mg/mL	1/10	0,005 mg/mL	
<i>Remifentanil</i>	0,05 mg/mL	Non dilué	0,05 mg/mL	1/10	0,01 mg/mL	
<i>Morphine</i>	10 mg/mL	1/10	1 mg/mL	1/1000	0,01 mg/mL	
<i>Atracurium</i>	10 mg/mL	1/10	1 mg/mL	1/1000	0,02 mg/mL	
<i>Cis-atracurium</i>	2 mg/mL	Non dilué	2 mg/mL	1/100	0,002 mg/mL	
<i>Mivacurium</i>	2 mg/mL	1/10	0,2 mg/mL	1/200	0,01 mg/mL	
<i>Rocuronium</i>	10 mg/mL	Non dilué	10 mg/mL	1/200	0,05 mg/mL	
<i>Pancuronium</i>	2 mg/mL	Non dilué	2 mg/mL	1/50	0,04 mg/mL	
<i>Suxamethonium</i>	50 mg/mL	1/5	10 mg/mL	1/100	0,5 mg/mL	
Autres médicaments ou classes médicamenteuses						
<i>Anticoagulants</i>						
<i>Héparine</i>		Non dilué		1/10		
<i>Héparinoïdes</i>		Non dilué		1/10		
<i>Sels de platine</i>						
<i>Carboplatine</i>			10 mg/mL		1 mg/mL	
<i>Oxaliplatine</i>			1 mg/mL		0,1 mg/mL	
<i>Cisplatine</i>			1 mg/mL		0,1 mg/mL	
<i>AINS</i>						
<i>Pyrazolones</i>		Poudre			0,1 mg/mL	
<i>Autres AINS</i>		Poudre			0,1 mg/mL	
<i>Anticorps monoclonaux</i>						
<i>Adalimumab</i>			50 mg/mL		50 mg/mL	
<i>Etanercept</i>			25 mg/mL		5 mg/mL	
<i>Infliximab</i>			10 mg/mL		10 mg/mL	
<i>Omalizumab</i>			1,25 µg/mL		1,25 µg/mL	
<i>Autres</i>						
<i>Anesthésiques locaux</i>		Non dilué		1/10		
<i>PCI</i>		Non dilué		1/10		
<i>Bleu patenté</i>		Non dilué		1/10		
<i>Chlorexidine</i>		5 mg/mL			0,002 mg/mL	
<i>IPP</i>		Non dilué			40 mg/mL	

DCI : dénomination internationale commune **Cpure** : concentration pure, **Cmax** : concentration maximale non irritante

L'interprétation des TC est délicate. En effet, il est très fréquent d'obtenir des discordances entre les TC et la clinique. Les résultats faussement positifs sont ceux pour lesquels la réponse du TC au médicament testé est interprétée comme positive alors que le patient ne développe pas de symptômes adéquats s'il est réexposé au médicament. Les causes courantes les plus probables sont une sensibilisation de faible affinité à un haptène du médicament mais sans significativité clinique, une dégranulation spontanée des mastocytes, une dilution trop fortement concentrée produisant ainsi une réaction immédiate non spécifique des mastocytes ou un traumatisme physique des TC chez les patients atteints de dermatographe ou d'urticaire. Les TC interprétés à tort comme négatifs chez les individus ont diverses raisons, principalement techniques : le manque d'antigène en raison d'une dilution inappropriée, la pénétration insuffisante de l'antigène au niveau des mastocytes dermiques, l'utilisation exclusive d'une méthode relativement insensible (par exemple, test de rayures) et la mauvaise lecture de résultat. Les faux négatifs peuvent être expliqués par l'effet bloquant des médicaments tels que les antihistaminiques et, moins souvent, les antidépresseurs tricycliques ou la théophylline. Une dernière hypothèse est à considérer : le médicament responsable de l'HS peut nécessiter un métabolisme, qui peut ne pas se produire dans les 20 minutes du test. De plus, ce médicament administré par voie cutanée ne subira pas le métabolisme hépatique. Pour finir, le PT ou IDR ne doivent pas être effectués dans une période de temps où les mastocytes ont dégranulé et ne sont pas encore restaurés soit 6 semaines après une manifestation d'HSM.

Pour les cliniciens moins aguerris, une mauvaise interprétation des résultats lors de la lecture (diamètre de l'érythème plutôt que des papules) ou une absence de contrôles négatifs (sérum physiologique, solvant du réactif) et positifs (histamine à 1 mg/mL) peuvent être à l'origine de ces discordances avec les signes cliniques.

5-2-1-2 Test de réintroduction médicamenteuse (TRM)

La méthode de référence pour le diagnostic et l'exploration des réactions d'HSMI est le TRM ou test de provocation (TP ou TPO si la réintroduction se fait par voie *per os*) (50). Le réseau européen pour l'allergie aux médicaments (ENDA) associé au groupe de travail de l'EAACI sur l'HSM médicaments a défini les TRM comme « l'administration contrôlée d'un médicament afin de diagnostiquer des réactions d'HSM ». Le test consiste à administrer le médicament en principe de la même manière que lors de la survenue de la réaction (*per os*, parentérale (intraveineuse, intramusculaire, sous-cutanée), topique (nasale), bronchique,

conjonctivale, cutanée, etc...). La voie orale est privilégiée si possible, car l'absorption est plus lente que lorsque le TRM est effectué par voie parentérale. Les effets indésirables peuvent être ainsi traités plus tôt. Le dosage des préparations dépend de nombreuses variables, notamment le type de médicament lui-même, la gravité de la réaction d'HSM à l'étude, la voie d'administration, le temps de latence attendu entre l'application et la réaction, l'état de santé du patient et sa co-médication. Il faut commencer par une faible dose, en l'augmentant par étape et en s'arrêtant dès que les premiers symptômes objectifs se produisent. Si aucun symptôme n'apparaît, la dose unique maximale du médicament spécifique doit être atteinte et l'administration de la dose quotidienne définie est souhaitable. En cas de réaction immédiate précédente (c'est-à-dire survenue moins d'une heure après l'administration du médicament), la dose initiale doit être comprise entre 1:10 000 et 1:10 de la dose thérapeutique, en fonction de la gravité de la réaction ; l'intervalle de temps entre les doses doit être d'au moins 30 minutes.

Le TRM permet formellement d'établir ou exclure le diagnostic, car il reproduit non seulement les symptômes d'HS, mais également toute autre manifestation clinique indésirable, quel que soit le mécanisme. On distingue deux indications principales pour les TRM : la première est d'exclure l'HS quand les antécédents sont non suggestifs et chez les patients présentant des symptômes non spécifiques (symptômes vagues, autres exemples) ; l'autre est d'établir un diagnostic de certitude quand les antécédents sont évocateurs d'HSM avec des tests allergologiques négatifs, non concluants ou non disponibles. Un résultat de TRM positif optimise l'évitement des allergènes, tandis qu'un résultat négatif permet d'éliminer une fausse étiquette d'HSM. Pour ces raisons, les TRM sont souvent effectués en dernier pour exclure avec certitude un diagnostic d'HS lorsque d'autres tests allergologiques sont négatifs. Les TRM sont également effectués lorsque la sensibilité des tests allergologiques *in vivo* et *in vitro* pour évaluer les réactions allergiques à certains médicaments, tels que les antibiotiques non BL, les héparines et les glucocorticoïdes, est limitée. Ils sont également effectués pour diagnostiquer des réactions d'HS aux AINS chez des sujets présentant un schéma de réaction croisée, car les TC et les méthodes de diagnostic *in vitro* ne sont pas performants. La valeur prédictive négative (VPN) du TRM est rassurante (> 90%) (58)(61)(Tableau 12).

Ce test implique un risque important de complications graves pouvant menacer le pronostic vital ce qui implique de le réaliser sous surveillance médicale lors d'une hospitalisation pour parer à d'éventuelles réactions graves. Il peut également être contre-indiqué pour des raisons pratiques (femmes enceintes, patients à risque accru en raison de la comorbidité comme les infections aiguës, l'asthme non contrôlé, les maladies cardiaques, hépatiques, rénales ou autres

sous-jacentes) et surtout éthiques et ne doit donc être envisagé qu'après avoir évalué le rapport bénéfique/risque chez chaque patient. Certains co-médicaments doivent être arrêtés avant de réaliser un TRM car ils peuvent interférer avec un traitement d'urgence (les bêtabloquants par exemple) ou masquer les symptômes d'une réponse positive aux tests (antihistaminiques H1 et glucocorticoïdes par exemple).

5-2-2 Les tests *in vitro*

Afin de compléter ces investigations, des examens biologiques peuvent être ajoutés à ces tests *in vivo*. Ces derniers recherchent, dans un premier temps, à objectiver la dégranulation mastocytaire (dosage de tryptase et histamine), définir une sensibilisation au médicament ou affirmer le mécanisme IgE-médié de l'HSM.

5-2-2-1 Exploration du choc anaphylactique : dosage de tryptase et d'histamine

La dégranulation mastocytaire peut être déterminée par l'élévation des marqueurs que sont la tryptase sérique et l'histamine plasmatique (62). La cinétique de l'histamine et de la tryptase est représentée dans la Figure 10.

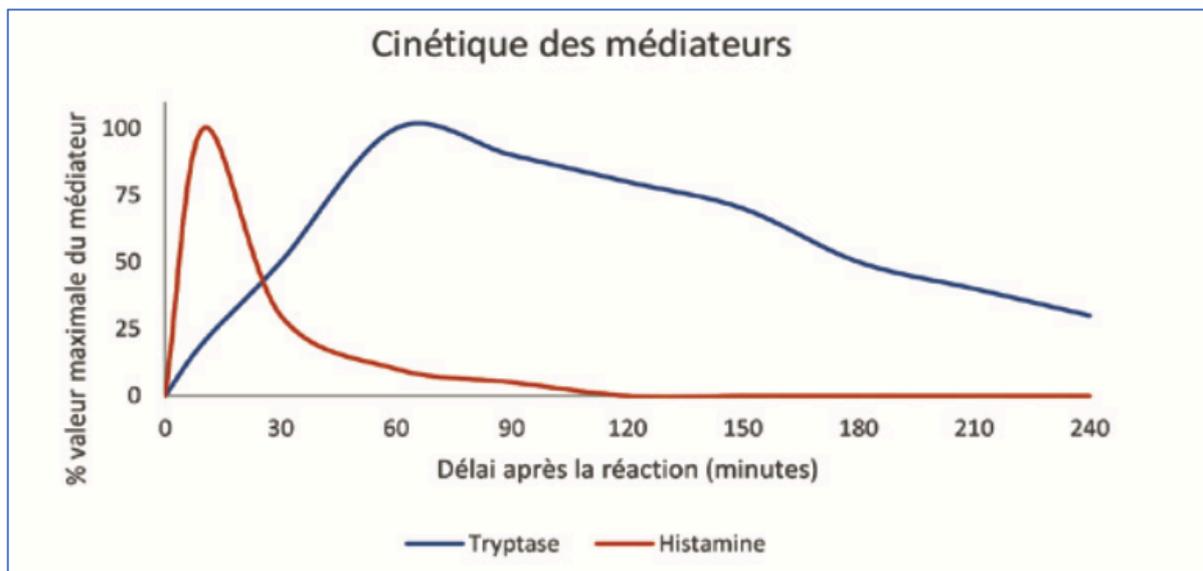


Figure 10 Cinétique des marqueurs tryptase et histamine lors d'une réaction anaphylactique mesurée au laboratoire (63)

a) Dosage de la tryptase sérique

L'augmentation franche de la concentration de tryptase sérique est en faveur d'une dégranulation mastocytaire même si une concentration normale n'exclut pas le diagnostic. Les concentrations sont normales ou peu augmentées dans les réactions cutanéomuqueuses (grade 1) et les réactions systémiques modérées (grade 2). Les délais optimaux de prélèvement sont de 15 à 60 minutes pour les grades 1 et 2 ; 30 minutes à deux heures pour les grades 3 et 4. La positivité excède souvent six heures pour les grades de sévérité élevée. Du fait de l'importante dispersion des valeurs normales d'un individu à l'autre, un échantillon à distance de la réaction (taux basal) est nécessaire pour interpréter les faibles augmentations. Exceptionnellement des augmentations de concentration de tryptase basale, non liées à un accident allergique, peuvent être observées chez des patients ayant une mastocytose systémique ou une leucémie aigüe myéloïde. Le dosage de la tryptase se fait principalement par technique *Fluorescent Enzyme ImmunoAssay* (FEIA). Il est également réalisable par technique *Enzyme-Liked Immunosorbent Assay* (ELISA).

b) Dosage de l'histamine plasmatique

La mise en évidence d'une concentration d'histamine augmentée dans le plasma peut être due à un mécanisme d'HSI allergique ou non allergique activant exclusivement les polynucléaires basophiles. Le pic d'histamine est observé dès la première minute qui suit la réaction. Le pic est d'autant plus élevé que la réaction est grave. L'histamine libérée est ensuite éliminée rapidement en 15 à 20 minutes pour les réactions les moins sévères. Le dosage du taux plasmatique d'histamine doit être effectué le plus précocement possible après le début de la réaction, surtout en cas de réaction peu sévère. Pour les réactions cutanéomuqueuses isolées (grade 1), le délai idéal pour quantifier le pic d'histamine se situe moins de 15 minutes après la réaction, pour les réactions de grade 2, avant 30 minutes, et pour les réactions plus sévères, avant deux heures. La lyse spontanée ou provoquée des basophiles dans le tube prélevé provoque des faux-positifs (64). Il est possible de conserver le sang total une nuit à +4 °C, ou deux heures à température ambiante. Après centrifugation, le plasma doit être aspiré délicatement pour éviter toute contamination par des polynucléaires basophiles, puis congelé à -20°C (65). Il ne faut pas réaliser de dosage de l'histamine plasmatique dans les situations cliniques qui sont associées à des faux-négatifs.

C'est le cas pour les femmes enceintes à partir du deuxième semestre de gestation (synthèse placentaire de diamine oxydase, enzyme de dégradation de l'histamine) et les patients recevant de l'héparine (augmentation de diamine oxydase, proportionnelle à la dose d'héparine reçue)(63)(64). Le dosage de l'histamine est réalisable actuellement par méthode radio-immunologique ou immuno-enzymatique.

c) Performances et stratégie diagnostique

La mise à jour de la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) considère le dosage de l'histamine comme obsolète. Une étude rétrospective menée par sept laboratoires français entre 2011 et 2015 (66) a évalué la pertinence du dosage de l'histamine dans l'exploration d'un choc en complément de la tryptase. On retient de cette étude un seuil optimal de positivité de 8 µg/L pour la tryptase et de 18 nmol/L pour l'histamine. L'analyse de la cinétique ($\text{pic} > \text{taux basal} \times 1,2 + 2 \mu\text{g/L}$), y compris quand le pic de tryptase est $< 8 \mu\text{g/L}$, permet d'obtenir une sensibilité et spécificité de 84 %. Cependant, l'utilisation de l'histamine au seuil de 18 nmol/L permet de diminuer le taux de faux-négatifs de 24 % à 19 %.

Il convient donc de réaliser une cinétique de la tryptase avec des prélèvements au moment du choc (T0), 1 heure après (T1) et 24 heures après (T2, taux basal). L'association du dosage d'histamine à T0 dans les réactions modérées peut être réalisé (67). Ces stratégies augmentent la performance diagnostique de ces dosages.

5-2-2-2 Recherche et dosage des IgE spécifiques (IgEs)

Du fait de leurs faibles concentrations, la mise en évidence des IgEs réclame des techniques particulières de dosage qui historiquement faisaient appel à la radioactivité, d'où le nom commercial alors beaucoup utilisé de *Radio Allergo Sorbent Test* (Rast) maintenant obsolète (63). La détection d'IgEs sériques est, à l'heure actuelle, exécutée par technique d'immunodosage où l'IgE anti-humain secondaire est conjugué à une enzyme avec lecture colorimétrique dans l'ELISA ou avec lecture de fluorescence dans le FEIA (Figure 11). Le dosage est quantitatif et s'étend sur une grande étendue de valeurs. Les unités sont arbitraires (kUA/L) et définies par le fournisseur du système de dosage. Les valeurs obtenues lors du dosage des IgEs ne sont pas interchangeables entre les différents fournisseurs (68). ImmunoCap (ThermoFisher, anciennement Phadia, Waltham, Massachusetts, Etats-Unis), Immulite (Siemens, Munich, Allemagne) et Hytec-288 (Hycor, Garden Grove, Californie, Etats-Unis) détiennent la plus grande part du marché mondial.

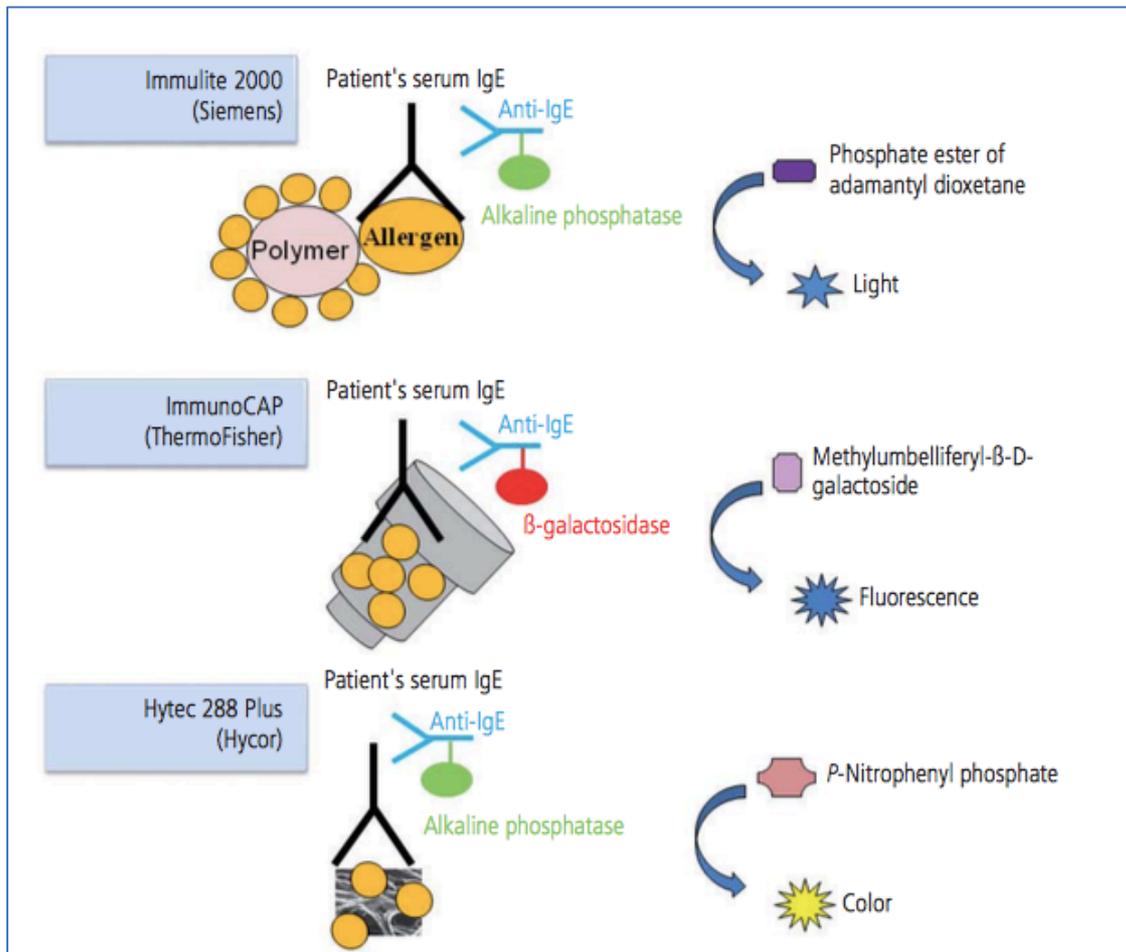


Figure 11 Principe des immunodosages des IgE pour les 3 principaux fournisseurs (68)
 Dans la première étape, l'allergène (en phase fluide ou solide selon le test) se lie aux IgEs du sérum.
 Dans la deuxième étape, l'IgEs est détectée par un deuxième anticorps anti-IgE conjugué à une enzyme. Cette enzyme catalyse la transformation d'un substrat spécifique avec une propriété quantifiable (couleur ou fluorescence).

Seul un nombre limité de dosages d'IgEs vis-à-vis des médicaments sont disponibles, cela diffère selon les fournisseurs (Tableau 11).

Tableau 11 Comparaison des différents allergènes disponibles (médicaments) entre les trois principaux fournisseurs. En gras, allergènes communs

Fournisseurs	Thermofisher	Siemens	Hycor
<i>Réactifs disponibles pour les médicaments</i>	Penicilloyl G (c1)	Penicilloyl G (c1)	Penicilloyl G (c1)
	Penicilloyl V (c2)	Penicilloyl V (c2)	Penicilloyl V (c2)
	Insulin Porcine (c70)	Insulin Porcine (c70)	Insulin Porcine (c70)
	Insulin Bovine (c71)	Insulin Bovine (c73)	Insulin Bovine (c73)
	Insulin Human (c73)	Insulin Human (c74)	Insulin Human (c74)
	Ampicillin (c5)	Ampicillin (c203)	Ampicillin (c203)
	Amoxicillin (c6)	Amoxicillin (c204)	Amoxicillin (c204)
	Suxaméthonium (c202)		Suxamethonium (c202)
	Cefaclor (c7)		Cephalosporines (c201)
	Ammonium quaternaire (c260)		Persulfate d'ammonium (c604)
	Chlorexidine (c8)		Chymopapain (c3)
	Gélatine bovine (c74)		ACTH (c206)
	Pholcodine (c261)		Paracetamol (c209)
			Acide acétylsalicylique (c217)

De nombreuses incertitudes subsistent quant à leur utilité diagnostique, leur performance et leur rendement. Une interprétation correcte des résultats des IgEs aux médicaments n'est pas toujours aisée. Bien que le dosage d'IgEs sériques circulants puisse fournir des informations utiles, cette technique peut rarement être appliquée comme un test biologique solitaire pour documenter ou exclure la sensibilisation, notamment car il n'a pas de valeurs prédictives absolues.

Pour les laboratoires de biologie médicale (LBM), le principal problème est la faible sensibilité, qui ne peut pas être augmentée sans perte significative de spécificité. Le calcul des résultats d'un ratio IgEs/IgEtotales pourrait augmenter la spécificité des tests (69). De plus, les médicaments et autres petites molécules agissent généralement sous forme d'haptène.

Or les réactifs pour rechercher les IgEs sont des molécules natives non liées qui peuvent ne pas être reconnues par les IgEs bien qu'il y ait une sensibilisation vraie *in vivo*. Enfin, des

réactions croisées entre allergènes sont expliquées par la reconnaissance par l'IgE d'un même épitope présent sur deux allergènes différents. Ces réactions impactent l'interprétation d'un bilan biologique en allergologie.

Ainsi pour les NMBA, la sensibilité et la spécificité sont acceptables mais varient respectivement de 38,5 à 92 % et 85,7 à 100 % (69). La quantification de l'IgEs vis-à-vis de la morphine semble être un biomarqueur fiable pour rocuronium et suxaméthonium, mais pas pour les benzyloquinolines telles que l'atracurium et cisatracurium (70). Pour les antibiotiques, la sensibilité et la spécificité des IgEs varient respectivement entre 0 et 85 % et 52 et 100 % (69). Aucune autre étude n'a été réalisée pour évaluer la performance des dosages des IgEs vis-à-vis des autres classes de médicaments disponibles par les fournisseurs. En conclusion, en raison de leur sensibilité variable, les résultats doivent être interprétés avec prudence. Ces tests *in vitro* ont une moins bonne sensibilité et spécificité que les TC mais ils peuvent être associés aux TC pour aider à confirmer ou rejeter le diagnostic. (Tableau 12).

Tableau 12 Résumé des performances des tests pour l'hypersensibilité immédiate en fonction des classes médicamenteuses

	<i>TRM</i>	<i>Tests cutanés</i>		<i>IgE spécifiques</i>		<i>TAB</i>		<i>Bibliographie</i>
	VPN	Se	Spé	Se	Spé	Se	Spé	
<i>NMBA</i>	> 90 %	Se et Spé variées +++		38 à 92 %	86 à 100%	36 à 92%	81 à 100 %	(69)(71)(72)
<i>BL</i>	94 à 98 %	50 à 70% (Se)		0 à 85 %	52 à 100 %	22 à 44 %	80 à 97 %	(58)(69) (71)(73) (72)
<i>FQ</i>	> 90 %	32 %	25 %	Se varie en fonction de la FQ +++ (30% à 55%)		57 à 77 %	78 à 100 %	(69)(71)(74)
<i>AINS</i>	> 96%	Pas de TC recommandés		Non disponibles		20 à 40 %	86 à 100 %	(61)(72)(76)
<i>PCI</i>	100 %	62,5 %	83,5 %	Non disponibles		46 à 63 %	89 à 100 %	(71)(76)(77)
<i>IPP</i>	> 95 %	66,7 %	100 %	Non disponibles		73,8 %	100 %	(79)

NMBA : Agents de Blocage neuromusculaire), *BL* : β -lactamines, *FQ* : Fluoroquinolones, *AINS* : Anti-inflammatoires non stéroïdiens, *PCI* : Produits de contrastes iodés, *IPP* : inhibiteurs de la pompe à protons

5-2-2-3 Tests lymphocytaires

Il existe des tests lymphocytaires comme le test de transformation lymphocytaire (TTL) ou l'Enzyme-Linked ImmunoSPOT (ELISPOT). Ils ont une place centrale dans la stratégie d'exploration des HS retardée à médiation cellulaire mais étant donné l'implication moindre du LT dans l'HS de type 1, ces tests perdent leur intérêt dans cette indication et ne sont pas recommandés.

5-2-2-4 Test d'Activation des Basophiles (TAB)

Le TAB est un test *ex vivo* pour étudier les HSMI allergiques. Il évalue la dégranulation des basophiles par CMF. Nous l'aborderons dans la partie suivante.

II- Test d'Activation des Basophiles

Les cellules étudiées lors de ce test, sont les polynucléaires basophiles, qui contrairement aux mastocytes activés également à l'origine des réactions d'HSI, sont accessibles pour l'analyse et présents dans le sang circulant. Le TAB a été développé pour le diagnostic des HS de type I par Sainte-Laudy et al. au milieu des années 90 (79) après la découverte du CD63 comme marqueur d'activation des basophiles par Knol et al (81). De nouveaux marqueurs d'activation des polynucléaires basophiles, détaillés dans la suite de la thèse, ont ensuite complété ou pris la place du CD63 dans de nouveaux protocoles. Aujourd'hui, ce test n'est pas suffisamment standardisé et de nombreuses études sur la performance du TAB en fonction de son indication sont encore nécessaires.

1- Principe et aspects techniques du TAB

1-1 Principe du TAB

Le TAB a pour but de reproduire *ex vivo* les conditions qui ont conduit aux phénomènes allergiques *in vivo*. Il consiste à mettre en contact les basophiles du patient avec un allergène suspecté (aéroallergène, trophallergène, médicament ...). Les basophiles possèdent à leur surface les IgEs de l'allergène liés aux récepteurs FcεRI et leur pontage déclenche alors la dégranulation cellulaire. Celle-ci provoque la sécrétion de médiateurs et des modifications phénotypiques qui peuvent être mesurées en CMF notamment.

Des méthodes alternatives pour évaluer l'activation spécifique des basophiles *ex vivo* impliquent l'étude de récepteurs inhibiteurs particuliers, la phosphorylation des molécules de signalisation intracellulaires et la quantification du contenu intracellulaire en histamine dans une technique comme le HistaFlow®.

1-2 Prélèvement et préparation des cellules

1-2-1 Conditions pré-analytiques

1-2-1-1 Temps d'acheminement

Le TAB sur sang total devrait idéalement être effectué dans les 4 heures suivant le prélèvement de sang pour maximiser la viabilité et la fonctionnalité des basophiles car leur réactivité diminue considérablement au fil du temps. Sturm et al. (81) ont montré qu'une perte de réactivité des basophiles de 70,9 % était retrouvée pour un délai d'acheminement au laboratoire supérieur à 18 heures à + 4°C. Les meilleures réponses ont été obtenues lorsque les échantillons de sang ont été traités immédiatement. Un temps de stockage de 24 à 48h a entraîné une réduction significative de l'activation des basophiles (n = 18, p < 0,05) (Figure 12).

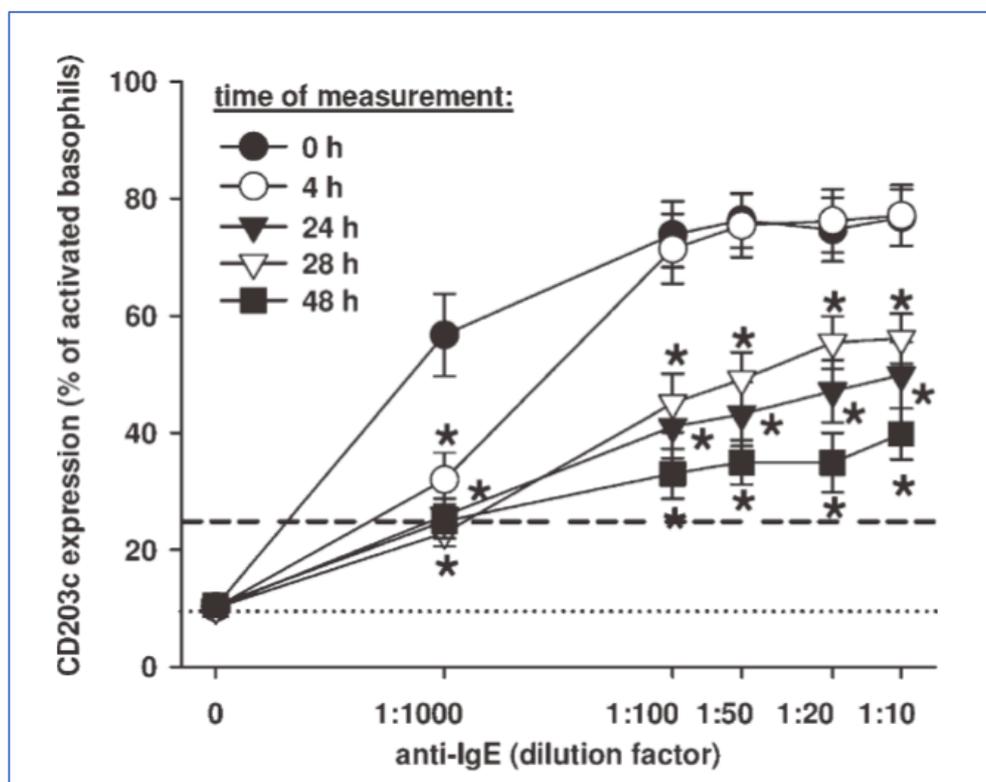


Figure 12 Diminution de l'activation des basophiles induite par les anti-IgE en fonction du temps d'acheminement des prélèvements (81)

Si un délai plus long est nécessaire entre la collecte de sang et la réalisation des tests (par exemple, études multicentriques ou centres cliniques situés loin du laboratoire de référence), le sang peut être traité dans les 24 heures si le tube est conservé à +4°C (52).

1-2-1-2 Température d'acheminement

Des discordances ont été rapportées dans la littérature quant à la pertinence d'un préchauffage éventuel du sang et des différents réactifs à +37 °C préalablement à la réalisation du TAB (83).

1-2-1-3 Délai après un accident allergique

Le délai de réalisation du TAB après un accident allergique doit être de minimum six semaines afin de permettre une reconstitution optimale du pool granulaire (84).

1-2-2 Matrices

Bien que les différentes techniques de TAB soient décrites en utilisant du sang total traité par l'Éthylènediaminetétraacétique (EDTA) ou même traité au citrate, les meilleurs résultats sont obtenus avec du sang total hépariné. L'activation des basophiles est dépendante du calcium et l'utilisation de chélateurs (EDTA) ou de produits liant le calcium peut avoir un effet délétère sur les résultats du test (85).

1-2-3 Préparation des cellules

Plusieurs méthodes de préparation des cellules sont possibles. L'analyse des basophiles peut être effectuée à partir du sang total ou à partir de cellules mononucléées sanguines périphériques (PBMC) obtenues à l'aide de techniques de centrifugation (utilisation de buffy coat) ou de techniques utilisant des gradients de densité. Les techniques utilisant des leucocytes isolés ont été rapportées comme plus sensibles que celles utilisant du sang total sans qu'un véritable consensus ne soit aujourd'hui établi à ce sujet (86). Cependant, faire les tests sur sang total par opposition aux leucocytes isolés peut être plus physiologique et mimer les conditions *in vivo* en présence d'autres facteurs (anticorps bloquants, individus non atopiques ...) (83). Le choix du sang total présente également l'avantage d'être techniquement plus rapide et de présenter moins de manipulations, donc plus adapté à une pratique quotidienne de laboratoire.

L'utilisation de leucocytes isolés présente plusieurs inconvénients : les différentes étapes préanalytiques nécessaires à la séparation des cellules peuvent entraîner une perte des basophiles et induire leur activation de manière non spécifique. De plus, ces étapes sont difficiles à standardiser d'un opérateur à l'autre (87).

1-3 Réalisation technique

La réalisation du TAB est conditionnée par deux étapes essentielles. La première étape consiste à identifier les basophiles parmi l'ensemble des cellules circulantes du sang total, la seconde étape permet d'identifier les basophiles dégranulés.

1-3-1 Cytométrie de flux (CMF)

La technique de la CMF permet d'identifier à partir d'une suspension cellulaire, les caractéristiques individuelles de chaque cellule telles que la taille, la forme et le contenu ainsi que des marqueurs de surface ou intracellulaires grâce à un marquage par des anticorps couplés à des fluorochromes.

Les cellules en suspension passent une à une devant un ou plusieurs faisceau(x) laser grâce à un système fluide. Des détecteurs optiques captent des signaux émis par chaque cellule tels que : la lumière diffusée aux petits angles (Forward Scatter, FSC) qui renseigne sur la taille des cellules, la lumière diffusée à 90 degrés (Side Scatter, SSC) qui renseigne sur la forme, la structure interne et la granularité des cellules et des signaux de fluorescence.

Parmi ces signaux de fluorescence, il y a ceux émis par la cellule elle-même, on parle d'autofluorescence et ceux émis par un anticorps couplé à un fluorochrome et qui se lie spécifiquement à la cellule. Ces signaux optiques sont alors convertis en signaux électroniques proportionnels qui sont numérisés et analysés avec un ordinateur. Les données recueillies se présentent sous forme de graphiques (dot plot) ou d'histogrammes auxquels s'ajoutent des statistiques concernant les populations cellulaires et les paramètres étudiés tels que le pourcentage (%), le coefficient de variation (CV) et l'intensité de fluorescence moyenne (MFI), etc... (Figure 13)

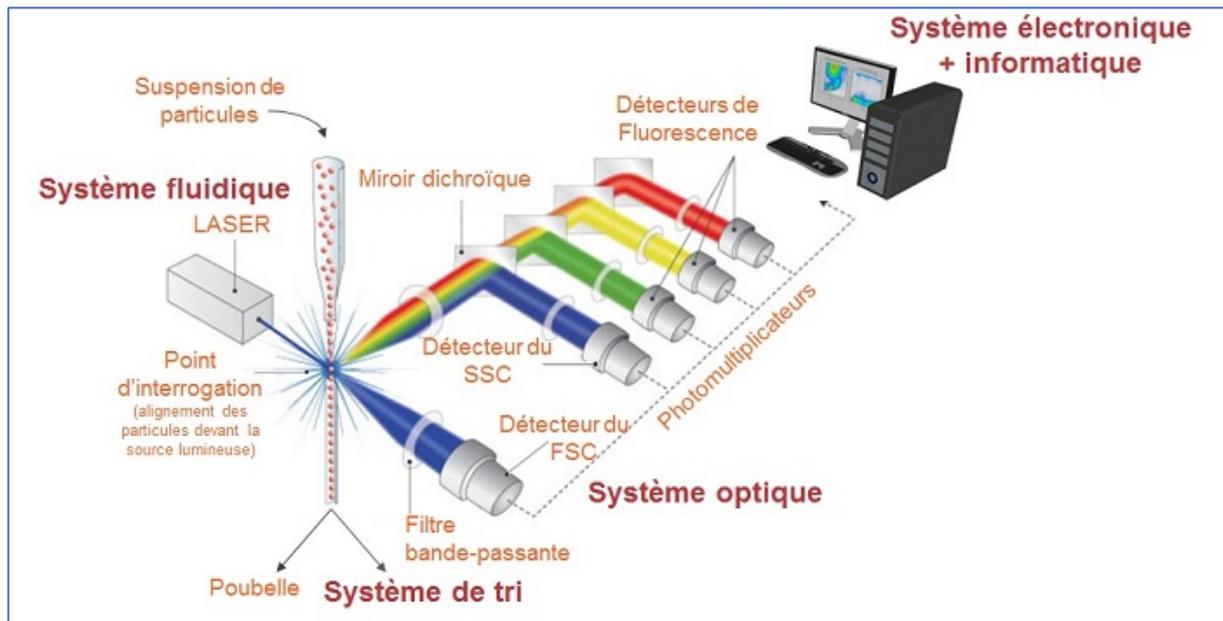


Figure 13 Principe de fonctionnement d'un CMF (88)

1-3-2 Identification des basophiles

Les polynucléaires basophiles sont, dans un premier temps, identifiés par la taille et leur granulosité à l'aide d'un dot plot FSC vs SSC. Ils sont ensuite identifiés par des combinaisons de marqueurs tels que CCR3⁺/CD3^{neg}, CRTH2^{hi}/CD3^{neg}, CD123^{hi} / HLA-DR^{neg} ou IgE⁺ / CD203c⁺... De ces marqueurs, seul le CD203c est spécifique à la lignée. Dans une étude d'Eberlein et al. (89), il a été montré que l'identification par le marqueur CCR3 permet d'obtenir le nombre relatif de basophiles le plus élevé, suivi du marquage par des anticorps anti-IgE et par la combinaison des anticorps anti-IgE/antiCD203c. Pour avoir une population de basophile de très grande pureté, une stratégie d'identification utilisant l'IgE est recommandée. En effet, il semble y avoir moins de contamination en sélectionnant les basophiles grâce au marqueur IgE. En pratique, le couple IgE/CD203⁺ est majoritairement utilisé pour l'identification des basophiles ce qui permet d'obtenir le nombre de basophiles le plus élevé possible avec une certaine pureté de l'échantillon (89). Les caractéristiques des marqueurs pouvant être utilisés lors de l'étape d'identification des basophiles sont résumées dans le tableau 13.

Tableau 13 Structure, expression cellulaire, fonctions, avantages et inconvénients des différents marqueurs d'identifications disponibles pour la réalisation du TAB.

Marqueurs	Autres noms	Structure	Expression cellulaire	Fonctions	Avantages/inconvénients (89)
<i>CCR3</i>	CD193, Récepteur de la chimiokine (C-C) 3	Récepteur transmembranaire de chimiokines lié à la protéine G	Éosinophiles, basophiles, mastocytes +++ cellules dendritiques et lymphocytes Th2 +	Recrutement d'éosinophiles, basophiles dans la peau et les poumons (hyperréactivité bronchique, terrain atopique...)	A : Rendement le plus élevé, Très bonne sensibilité en association avec CD3
<i>CD3</i>	Cluster de différenciation 3	Complexe protéique membranaire constitué de 4 chaînes différentes ($\gamma\delta\epsilon_2$)	Lymphocytes T périphériques, cellules dendritiques T, thymocytes	Corécepteur du TCR	A : exclusion des LT activés présentant des marqueurs communs aux basophiles
<i>CRTH2</i>	CD294, récepteur 2 de la PG D ₂	Récepteur transmembranaire couplé à la protéine G	Lymphocytes Th2, ILC2 ++ éosinophiles, basophiles ++	Blocage de l'apoptose des LTh2, Chimiotactisme des cellules CRTH2 ^{pos} vers les sites d'inflammation allergique	I : non spécifique des basophiles
<i>CD123</i>	IL3R α	Chaîne α du récepteur IL-3 de 70 kDa	Progéniteurs hématopoïétiques, mastocytes, macrophages, LB CD5+	Rôle dans la prolifération cellulaire de LAM, dans la libération d'histamine par les basophiles, la sécrétion d'IL-8 médiée par les cellules endothéliales et la transmigration des PNN	I : Variabilité interindividuelle plus élevée
<i>HLA-DR</i>	Antigène majeur du complexe d'histocompatibilité (CMH) de classe II	GP hétérodimère transmembranaire composée d'une chaîne α (36 kDa) et d'une sous-unité β (27 kDa)	CPA : LB, cellules dendritiques, monocytes, macrophages et cellules épithéliales thymiques ainsi que sur les LT activés	Rôle majeur dans la médiation des interactions cellulaires lors de la présentation de l'antigène aux LT CD4+	A : exclusion des monocytes I : Association CD123/HLA-DR moins sensible
<i>CD203c</i>	Ectonucléotide Pyrophosphatase Phospho-diestérase (E-NPP3)	GP transmembranaire de type II	Basophiles, mastocytes	Réticulation des Fc ϵ RII entraîne une régulation positive et une surexpression du CD203c (mastocytose systémique, réaction allergique)	A : Spécifique des basophiles, élimine les contaminations cellulaires I : Expression basale faible, doit être utilisé en association
<i>IgE</i>	Immunoglobuline E	4 domaines constants (Fc) 1 domaine variable (Fab) X 2	Éosinophiles, basophiles, mastocytes, monocytes, cellules dendritiques	Fixation aux Fc ϵ RII (sensibilisation) pontage de l'allergène et dégranulation des mastocytes et basophiles (réaction anaphylactique)	A : Grande pureté , Sensibilité augmentée I : Non spécifique, variation inter- et intra-individuelle de la densité des Fc ϵ RI et de la fixation des IgE

CD : Cluster de Différenciation, **TCR** : T Cell Receptor, **CRTH** : Chemoattractant receptor homologous molecule expressed on Th2 cells, **Da** : Dalton, **LAM** : Leucémie Aiguë Myéloïde, **PNN** : Polynucléaire Neutrophile, **HLA** : Human Leucocyte Antigen, **LTh** : Lymphocytes Thelper, **LB** : lymphocytes B, **GP** : Glycopeptide, **CPA** : Cellule Présentatrice d'Antigène,

1-2-3 Détection de l'activation des basophiles

Kleine-Tebbe et al. ont décrit que les doses d'allergènes induisant l'activation des basophiles pouvaient être extrêmement variables entre différents individus (90). Cependant, chez un même patient, l'activation peut aussi être induite par des concentrations qui peuvent varier sur plusieurs logarithmes. En pratique, les basophiles sont testés avec deux ou trois concentrations d'allergènes, les ratios de dilution variant d'un facteur dix (86)(91).

1-3-3-1 Contrôles négatifs et positifs

Il est obligatoire d'avoir au sein du test au minimum un contrôle négatif (tampon seul) et un contrôle positif (anticorps anti-IgE monoclonal ou polyclonal ou anticorps anti-FcεRI monoclonal). Le contrôle négatif permet d'évaluer l'activation spontanée des basophiles du patient et de déterminer le seuil de positivité de la technique. Ce seuil nécessite d'être ajusté pour chaque patient et chaque test. Il est essentiel lors de l'interprétation du test. Le but du contrôle positif est d'exclure les mauvais répondeurs : le test est en effet ininterprétable chez 5 à 10 % des individus (86). De plus, les contrôles positifs vérifient la viabilité des basophiles et plus précisément l'activation via la voie IgE dépendante. C'est donc l'utilisation d'anticorps anti-IgE ou anti-FcεRI qui est recommandée. A l'inverse, le formyl-méthionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP), ligand de FPR-1, qui active le basophile via la voie des *mitogen-activated protein kinases* (MAPK) et de la phospholipase C (PLC) n'est pas recommandé car il ne mime pas une activation IgE médiée. Il n'est utile que pour vérifier la viabilité cellulaire.

1-3-3-2 Mesure de l'expression de marqueurs phénotypiques

a) Principaux marqueurs d'activation des basophiles : CD63 et CD203

Deux marqueurs sont aujourd'hui particulièrement recherchés dans le TAB par CMF : la surexpression du marqueur CD203c ou l'expression du CD63 (Figure 14)(85).

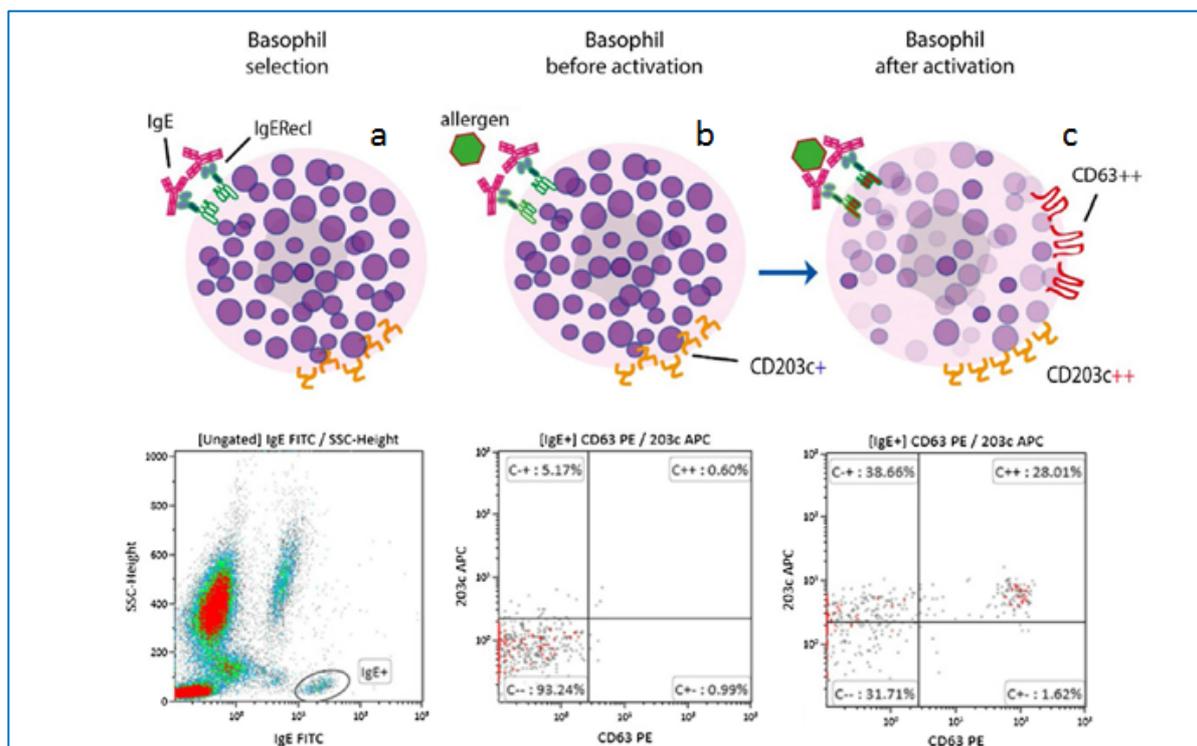


Figure 14 Principe du TAB traditionnel (92)

Leurs caractéristiques sont détaillées dans le Tableau 14 (93)(80).

Tableau 14 Caractéristiques des deux principaux marqueurs de l'activation des polynucléaires basophiles

	CD203c	CD63
<i>Nom</i>	Ectonucléotide Pyrophosphatase Phosphodiesterase (E-NPP3)	Lysosome Associated Membrane Protein (LAMP-3)
<i>Exprimé par Basophiles quiescents</i>	Basophiles, Mastocytes Expression constitutive faible	PBMCs, plaquettes Non exprimé à la surface cellulaire Exprimé à la surface des granules intracytoplasmiques
<i>Basophiles activés</i>	Sur-expression	Expression à la surface cellulaire
<i>Cinétique</i>	Rapide (5-15 min)	Plus lente (10-25 min)
<i>Effet de l'IL3</i>	Non induits par l'IL-3	Induction par l'IL-3
<i>Fonction</i>	Inconnue	Associée à la libération des médiateurs
<i>Influences des antiallergiques</i>	Non significative	Significative
<i>Expression parallèle</i>	CD13, CD164	CD107a (LAMP-1), CD107b (LAMP-2)

À ce jour, ces deux marqueurs sont utilisés en routine, seuls ou couplés, et la communauté scientifique n'est pas arrivée à un consensus concernant la supériorité de l'un sur l'autre. Cela peut s'expliquer par les différences intrinsèques des fluorochromes, qui diffèrent selon les études (94). L'importante variabilité individuelle et les aspects techniques propres à chaque protocole peuvent éventuellement expliquer ces divergences. Le CD63 est un marqueur d'activation plus sensible et plus précoce des basophiles humains.

Cependant, il n'est exprimé que dans une minorité de polynucléaires basophiles, même à des doses optimales d'agoniste, alors qu'il est présent dans toutes les cellules sous forme de pool intracellulaire. Le CD203c quant à lui est moins sensible comme marqueur d'activation, car il existe également une expression constitutive à l'état de repos. En revanche, ce marqueur est régulé à la hausse dans toutes les cellules après activation, également dans celles qui ne sont pas identifiées comme activées à l'aide de CD63 (95). L'association des deux marqueurs est donc intéressante et semble à privilégier notamment lors qu'un patient est non répondeur pour l'un des deux marqueurs et également pour augmenter la sensibilité du TAB (96).

La sensibilité ainsi que la spécificité des TAB en fonction des marqueurs va également varier suivant le médicament testé. En effet, la régulation à la hausse de ces marqueurs semble être liée à deux mécanismes de dégranulation différents, anaphylactique ou fragmentaire. La dégranulation anaphylactique est caractérisée par la fusion des granules à la membrane plasmique, conduisant à l'exposition du CD63. La dégranulation fragmentaire est entraînée par la formation de petites vésicules à partir des granules qui sont progressivement transférées vers la membrane plasmique et libérées en l'absence de fusions de membrane cytoplasmique granule-granule ou granule, comme le décrit Dvorak et al. (97). Il a été décrit que différents médicaments, même des médicaments du même groupe pharmacologique, interagissent avec les basophiles de différentes manières, activant spécifiquement l'une de ces 2 voies (78). Ces performances seront détaillées dans la suite de la thèse.

Enfin, un dernier avantage du CD203c est que contrairement au CD63, les TAB utilisant le CD203c peuvent être effectués même dans le cas d'un traitement antiallergique (corticostéroïdes ou antihistaminiques) (81).

b) Autres marqueurs d'activation et cinétique

L'activation des basophiles peut également être quantifiée au moyen d'autres marqueurs de surface, comme l'expression de CD107a (*lysosome-associated membrane glycoprotein 1*) ou la surexpression de CD13 (aminopeptidase N) et CD164 (*Sialomucin core protein 24*) et de molécules intracellulaires telles que la phosphorylation de MAPK (p38 MAPK) ou *Signal transducer activator transcription 5* (STAT5) (98).

c) Cinétique d'activation

Le CD203c, CD164, et CD13 atteignent leur demi-expression maximale après 2 min. Cela correspond au temps pour lequel l'expression des marqueurs d'activation est égale à 50 % de leur expression maximale. La valeur de plateau est atteinte après 10 à 20 min. En revanche, l'expression du CD63 et du CD107a est retardée, la demi-expression maximale n'est observée qu'après environ 10 min, et l'expression complète est atteinte après 25 à 30 min (Figure 15). La cinétique d'expression pour les molécules déjà présentes à l'état basal est donc différente de la cinétique d'expression *de novo* (81). Cette différence entre les deux types de cinétique est à prendre en compte dans le choix des marqueurs d'activation pour le TAB et pour la mise en place technique de ce type de test (98).

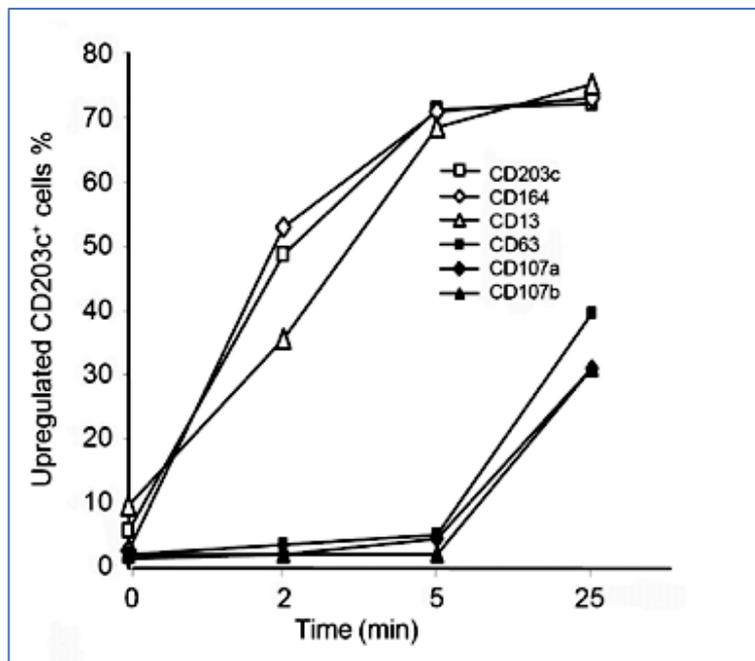


Figure 15 Profil cinétique de l'expression des marqueurs d'activation des basophiles (98)

L'activation IgE-médiée des basophiles est un processus relativement rapide, qui atteint son maximum dans les 15 à 20 min qui suivent la stimulation allergénique. Les différents protocoles de TAB comportent donc généralement des incubations de cette durée, et sont réalisables en moins d'une heure.

d) Pré-incubation

L'IL-3 constitue une cytokine activatrice des basophiles (99). Elle est parfois utilisée dans différents protocoles de TAB. Une courte pré-incubation avec IL-3 pourrait augmenter la sensibilité des tests fondés sur le CD63. Au contraire, dans les tests fondés sur le CD203c et p38 MAPK, l'amorçage avec l'IL-3 provoque une augmentation non spécifique (83).

1-3-3-4 Mesure de la libération de médiateurs

Il a été récemment démontré que l'histamine intracellulaire et sa libération par les basophiles activés *in vitro* peuvent être analysées avec succès par CMF (HistaFlow) en appliquant une méthode au fluorochrome d'affinité enzymatique. Celle-ci se fonde sur l'affinité de l'histaminase diamine oxydase (DAO) pour son substrat. Lors de la dégranulation du basophile, c'est-à-dire de son activation, il y a une libération de l'histamine à l'extérieur du basophile. L'histamine étant le substrat de la DAO, moins il y a d'histamine dans les granules moins la DAO est exprimée (92). Un exemple de stratégie de fenêtrage est présenté dans la Figure 16 (100). Les performances de ce test n'ont pas été évaluées par la communauté médicale et scientifique.

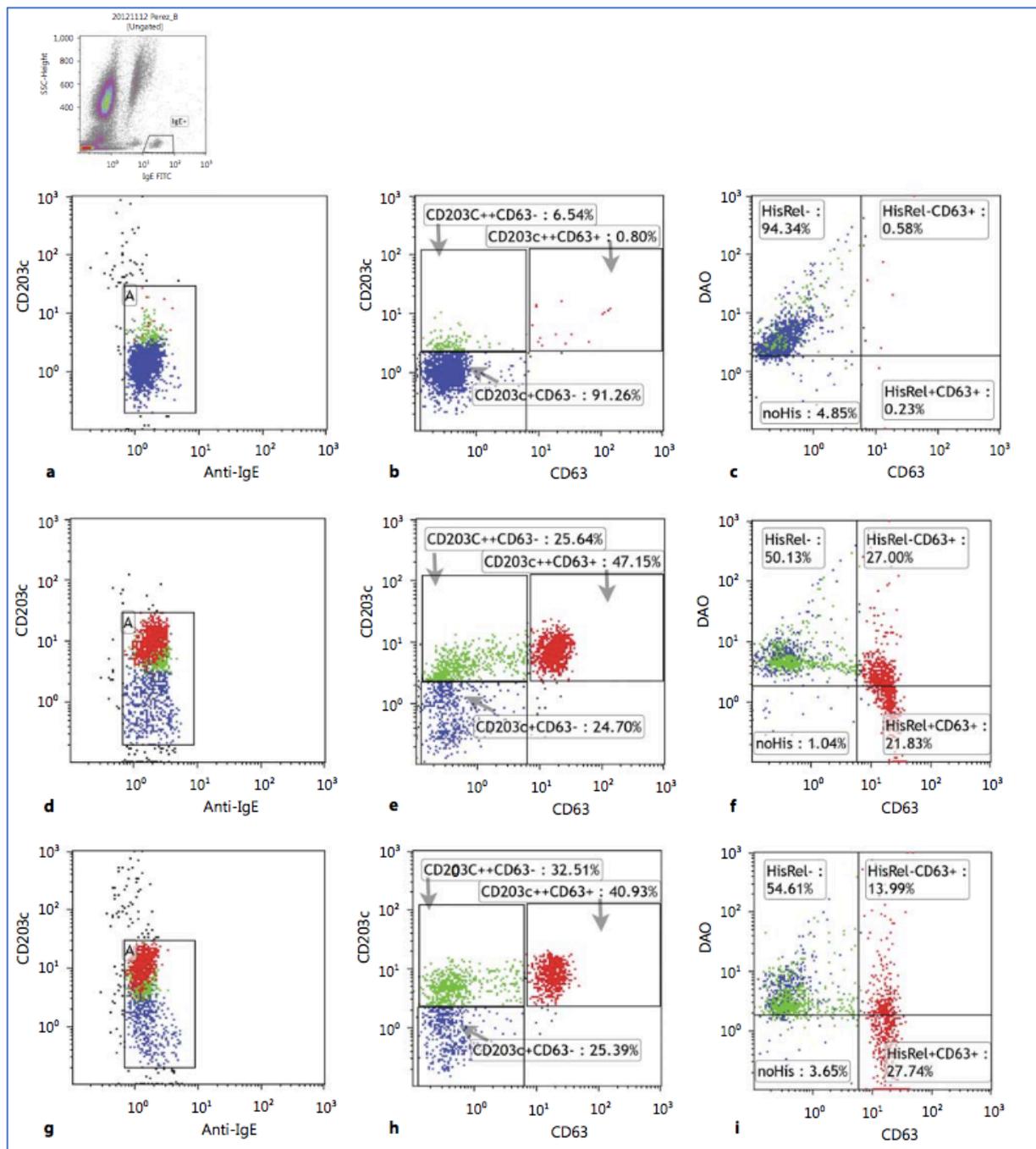


Figure 16 Diagrammes HistaFlow chez un patient réactif à la céfazoline montrant une dégranulation claire des basophiles en réponse à la céfazoline (100 µg/ml)
 a – c Basophiles quiescents stimulés avec un tampon. d – f Réponse à la stimulation de contrôle positif avec anti-IgE. g - i Réponse lors de la stimulation avec l'antibiotique. Notez que seuls les basophiles CD203c ++ CD63+ libèrent de l'histamine (diminution de DAO, c, f, i) (100).

2- Paramètres d'interprétation des résultats

Un aspect important de la dégranulation des basophiles induite par les allergènes est la courbe dose-réponse des allergènes. La courbe dose-réponse de la stimulation des basophiles humains à médiation IgE avec des concentrations croissantes d'antigène est généralement très large (souvent supérieure à 5 log de différence) et est souvent en forme de cloche, c'est-à-dire ayant des gammes de doses à la fois sous et supra-optimales. De plus, il existe une grande variabilité de sensibilité aux basophiles et de réactivité maximale entre différents donneurs allergiques au même allergène (101) (Figure 17).

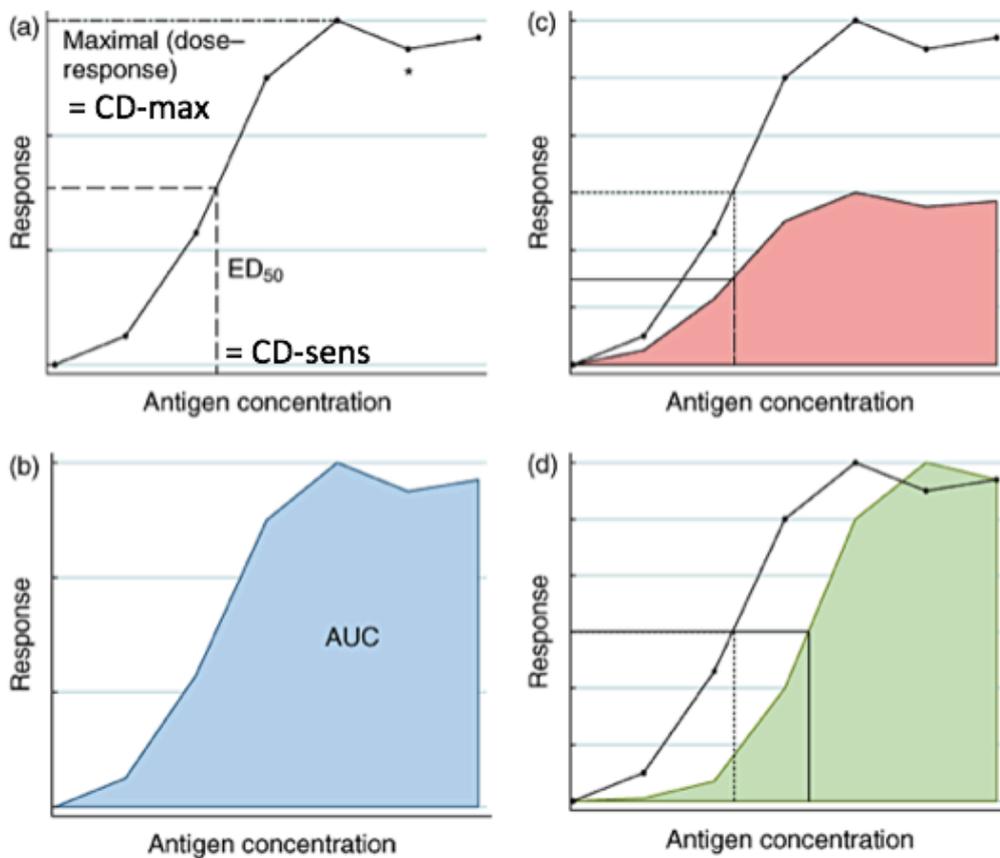


Figure 17 Caractéristiques de la courbe dose-réponse de l'activation des basophiles (101)

A. Réponse à la dose maximale ou réactivité aux basophiles et Dose efficace à 50% de la réponse à la dose maximale (DE50) ou sensibilité aux basophiles. B. Aire sous la courbe (AUC). C. Variation de la réponse à la dose maximale des basophiles entre donneurs ayant une sensibilité aux basophiles similaire. D. Variation de la sensibilité aux basophiles entre les donneurs avec une réponse à la dose maximale similaire.

Les résultats du TAB peuvent être rendus sous plusieurs formes.

2-1 CD-max

La réponse à la dose maximale est dénommée réactivité aux basophiles ou « CD-max ». Cela correspond au pourcentage maximal d'activation des polynucléaires basophiles. Ce pourcentage dépend du contrôle négatif, ajusté pour chaque patient. Les seuils de positivité aux tests varient selon les études et les allergènes. Ces seuils sont définis grâce aux courbes dose-réponse afin d'établir une sensibilité et une spécificité optimales (102). Les recommandations vont de 5% pour certains médicaments à 15% pour les allergies alimentaires (102)(91). Le seuil de positivité est plus faible pour les médicaments, molécules hapténiques, car ils engendrent une plus faible activation des basophiles que pour les allergènes protéiques.

2-2 Index de stimulation (IS)

Un ratio de positivité, également appelé IS, peut être calculé. Il correspond au pourcentage de basophiles activés (ex : nombre de CD203c^{high} ou CD63^{pos} /nombre total de basophiles) en présence de l'allergène ramené sur le pourcentage de basophiles activés du témoin négatif du patient. Ce ratio est comparé à un seuil de positivité à définir pour chaque médicament, généralement déterminé à 2. Pour des valeurs au-delà de ce seuil, confirmé à différentes concentrations d'allergène, le résultat du TAB est considéré comme positif. L'avantage d'utiliser un ratio de positivité est de prendre en compte les variabilités interindividuelles et d'adapter l'interprétation à chaque patient.

2-3 CD-sens

La sensibilité des basophiles aux allergènes peut être mesurée comme la dose d'allergène minimale engendrant la dégranulation de 50% des basophiles (LC-50). Plus cette dose est faible, plus la sensibilité à l'allergène est sévère car cela signifie qu'une très faible dose provoque une activation massive des polynucléaires basophiles. La sensibilité aux CD (CD-sens) est calculée en multipliant par 100 l'inverse de la valeur du LC-50 (96). Différentes études appuient la bonne corrélation entre les résultats des PT, des IgEs, du CD-sens et la sévérité des réactions anaphylactiques ce qui en fait un outil important dans l'analyse des résultats du TAB (104)(105).

2-4 AUC

On peut utiliser la méthode de l'aire sous la courbe (AUC). Elle permet de mesurer, selon une unité arbitraire, la surface présente entre la courbe et l'axe des abscisses. Cette valeur permet de quantifier l'évolution de l'activation des basophiles tout au long des dilutions et elle regroupe la spécificité du CD-max et la sensibilité CD-sens (106). Des études sont en cours pour évaluer son intérêt.

2-5 Interprétation des résultats

L'interprétation des TAB est complexe et nécessite le maximum d'informations concernant le patient, sa symptomatologie, le médicament incriminé et les résultats des tests allergologiques complémentaires. Il est indispensable en interprétant les résultats de ce test de prendre en compte les limites du test (condition d'acheminement du tube, mécanisme d'HS suspectée, ...). Les résultats devront toujours être comparés à des témoins négatifs et positifs. Les seuils de positivité sont à définir par médicament et par patient et sont individualisés à chaque test. C'est pour l'ensemble de ces raisons que les tests doivent être interprétés par des biologistes spécialisés et aguerris ayant de bonnes connaissances de la physiopathologie des HS et des connaissances techniques quant à la réalisation du TAB.

Cela implique également que l'interprétation de ces tests se fasse au regard des données de la littérature (réactions croisées, augmentation de la sensibilité par addition de tests ...) et bien évidemment en fonction de la clinique en collaboration avec les médecins (réunion de concertation pluridisciplinaire par exemple).

3- Avantages et limites du TAB

Le TAB est considéré comme une adaptation à la CMF du test de dégranulation des basophiles dont il est l'héritier. Ce test antérieur consistait à examiner au microscope les modifications des propriétés tinctoriales des basophiles activés en utilisant des colorants spéciaux (bleu de toluidine, bleu alcian). Les deux tests partagent les limites inhérentes à toute étude cellulaire que l'on pourrait décliner sous forme d'une succession d'interrogations : dans quelle mesure une étude *ex vivo* peut-elle reproduire une réaction *in vivo* ? Jusqu'à quel point un basophile sanguin est-il représentatif du mastocyte tissulaire ? Une cellule sortie de son microenvironnement, avec des variations de température, garde-t-elle son fonctionnement physiologique ?

Par rapport à son prédécesseur, le TAB apporte les avantages de la CMF notamment la rapidité de lecture (des milliers ou dizaines de milliers d'éléments en une minute contre une centaine de cellules en une vingtaine de minutes). Il est probablement moins subjectif et d'une bien plus grande finesse.

Nous allons aborder ces différents points ci-dessous.

3-1 Avantages

3-1-1 Réaction cellulaire vraie

Le TAB n'est pas un test qui consiste en une simple liaison d'une IgE sur une molécule, mais d'une vraie réaction cellulaire, plus proche de la réalité. En toute rigueur, le test ne prouve pas que l'activation cellulaire passe obligatoirement par la voie du récepteur de haute affinité, FcεRI, mais il montre la capacité de l'allergène à provoquer une dégranulation dans un délai court.

3-1-2 Adaptation à des situations singulières

Le caractère *artisanal* du TAB permet en effet de pouvoir l'adapter aux cas particuliers. Il peut ainsi rendre de précieux services dans les situations où une forte probabilité se heurte à une pénurie de moyens pour conforter le diagnostic, notamment lorsque l'allergène soupçonné n'a pas rencontré la logique industrielle. Par exemple, il n'est pas possible de rechercher des IgEs contre le bleu de patenté V sodique à 2,5 %. Cependant, ce colorant peut être responsable d'une réaction d'HS lors d'une injection périaréolaire pour visualiser les ganglions sentinelles dans le cadre d'une mastectomie. De même, une suspicion d'allergie à l'acide valproïque peut être confirmée par la réalisation d'un TAB en utilisant la posologie et le médicament administré au patient alors que la recherche d'IgEs anti-dépakine n'est pas disponible. Le TAB peut ainsi être adapté à la molécule incriminée et à sa dose.

3-1-3 Faible réactivité des IgE vis-à-vis des *Cross-reactive Carbohydrate Determinants* (CDD)

Un avantage supplémentaire du TAB réside enfin dans une moins grande vulnérabilité aux réactivités des IgE pour les motifs sucrés partagés, les CCD. Ces réactions croisées entre allergènes dans les dosages d'IgEs ne sont pas considérées *a priori* comme significatives en tant que cause de manifestations allergiques. Elles peuvent être suspectées dans les dosages

d'IgEs en utilisant l'argument indirect d'un artifice technique : une recherche conjointe de réactivités avec divers composés particulièrement riches en motifs sucrés (broméline, muxF3).

3-2 Limites

3-2-1 Interférences médicamenteuses

Les antihistaminiques, qui ciblent les récepteurs de l'histamine, n'ont aucune influence sur les TAB (81) contrairement aux corticostéroïdes (influence sur le CD63) et aux médicaments immunosuppresseurs tels que la ciclosporine A (85).

3-2-2 Patient non répondeur

Chez environ 5 à 10% des patients, les basophiles ne répondent pas à un contrôle positif, que ce soit anti-IgE, fMLP ou anti-FcεRI (86). Dans un tel cas, on peut décider de stimuler avec l'allergène. Néanmoins, si l'allergène donne également une réponse négative, la procédure doit être arrêtée car il pourrait s'agir d'une réponse faussement négative (ce que l'on appelle le non-répondeur). Les résultats ne seront pas concluants. Ce phénomène pourrait être expliqué par la présence de basophiles non libérateurs qui expriment FcεRI normalement mais ne parviennent pas à exprimer la tyrosine kinase Syk (107).

Les résultats faussement négatifs pourraient également s'expliquer par d'autres causes telles qu'une exposition récente à l'allergène avec une réfractarité temporaire des polynucléaires basophiles. D'un autre côté, la sensibilité du test peut diminuer de manière significative au fil du temps. Par conséquent, il est recommandé d'effectuer une analyse entre 6 semaines et 12 mois après l'événement aigu (84). Les résultats faussement négatifs peuvent également avoir des causes techniques telles qu'une manipulation et un stockage incorrect, une provocation inappropriée des cellules avec des allergènes mal identifiés qui contiennent des composants cytotoxiques ou inhibiteurs et l'utilisation de concentrations cytotoxiques (84).

3-2-3 Sources et doses d'allergènes utilisées

Pour le diagnostic des HSM, on utilise les médicaments, de préférence sous forme injectable sinon il faut recourir aux formes disponibles provenant de la pharmacie. Les médicaments doivent être solubles dans l'eau et utilisés à des concentrations qui ne sont pas toxiques pour les polynucléaires basophiles. Pour tester la toxicité, il faut incuber les basophiles avec

différentes concentrations du médicament ou de l'anti-IgE humaine (contrôle positif) pendant 20 min à 37°C et mesurer la viabilité en utilisant de l'iodure de propidium ou un kit de viabilité/cytotoxicité pour les cellules de mammifères. La concentration optimale d'un médicament pour stimuler les basophiles doit être déterminée dans une expérience de courbe dose-réponse incluant une dizaine de patients bien définis positifs au médicament et dix témoins négatifs au médicament (82)(84). Les tests commerciaux se fondent sur les données de la littérature.

3-2-4 Nombre de basophiles minimum pour l'analyse

La difficulté provient de la rareté de cette cellule dans le sang circulant. Elle ne représente en effet qu'une population minime, à peine 0,2 %, de leucocytes. Bien que cent basophiles pourraient probablement suffire, il est souhaitable dans la mesure du possible d'évaluer au moins 300 ou 500 cellules (86)(108).

3-2-5 Nombre de récepteurs à la surface des basophiles comparé aux mastocytes

Le TAB ne teste que l'activation des basophiles sanguins. La réaction de ces cellules est ensuite extrapolée à l'activation des mastocytes. Pourtant, les mastocytes sont les principales cellules qui relarguent des médiateurs responsables des réactions d'HS. Le basophile possède à sa surface le même nombre de FcεRI (10^4 à 10^6) que le mastocyte (109)(110). Cela ne semble donc pas poser de problème pour interpréter un TAB classique avec une recherche de mécanisme IgE dépendant. En revanche, dans une étude sur l'HS à la moxifloxacine, Van Gasse et al (111), montre que la sensibilité du TAB pour la moxifloxacine est dépendante du nombre de MRGPX2 à la surface des polynucléaires basophiles. Ce nombre serait faible et ne permettrait pas de représenter correctement ce qui se passe physiologiquement au niveau tissulaire avec les mastocytes. Ainsi, pour évaluer ces voies d'activation alternatives non dépendant des IgE des mastocytes, cela peut poser problème. Un TAB négatif n'exclura donc pas une HS médiée par l'activation par le MRGPRX2 au niveau des mastocytes.

4- Perspectives et développement du TAB

4-1 Marqueurs de suivi de l'efficacité d'une éviction, immunothérapie allergénique et induction de tolérance

Outre son utilisation comme biomarqueur diagnostique en seconde intention d'HSI, ce test a également un rôle à jouer comme marqueur de suivi de l'efficacité d'une éviction, immunothérapie allergénique ou induction de tolérance. Cette indication est intéressante dans les protocoles de désensibilisation rapide à des médicaments mais elle peut également s'appliquer dans le suivi des effets de l'immunothérapie spécifique aux allergènes (venins d'hyménoptère, phléole, arachide...) (112)(113) ainsi que d'autres traitements immunomodulateurs comme l'omalizumab, anticorps monoclonal anti-IgE (114) ou encore dans le suivi d'éviction alimentaire (115). Aucune étude publiée n'a été réalisée pour montrer une corrélation des résultats de TAB à la dose réactogène induisant une réaction clinique pour les HSMI alors que cela a été montré dans les allergies alimentaires (116). De plus, une corrélation des résultats de TAB à la sévérité clinique des symptômes allergiques pourrait être observée.

4-2 Exploration d'autres mécanismes d'activation mastocytaire (stimulation direct) et utilisation d'inhibiteurs

Une alternative du TAB peut être intéressante lors que l'on veut reclasser une HS allergique en HS non allergique. Cela consiste à ajouter un inhibiteur de la voie d'activation IgE médiée. L'exploration de l'HS se fait en deux étapes :

- La réalisation d'un TAB sans inhibiteur dans un premier temps
- La réalisation d'un TAB avec inhibiteur qui permet de conclure sur le type de mécanisme d'activation mastocytaire (IgE dépendant ou non).

Pour confirmer que l'activation des basophiles est médiée par les IgE, il est possible d'utiliser l'effet inhibiteur de la wortmannine (117). Cette molécule agit comme un inhibiteur puissant et spécifique de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K), enzyme activée par la réticulation d'IgEs sur les FcεRI.

L'utilisation de cet inhibiteur de PI3-K dans des protocoles permet de vérifier que les résultats des TAB sont dus à la présence d'IgEs aux médicaments et non d'une activation des basophiles directe aspécifique. En effet, le TAB sera négatif en présence d'inhibiteur si

l'activation est bien IgE médiée. Au contraire lorsqu'il reste positif cela signifie que le mécanisme d'HS est indépendant des IgEs.

Des protocoles pourraient être développés avec des inhibiteurs d'autres voies d'activation mastocytaire comme celle du MGPRX2 avec le 2-aminoethoxydiphenyl borate (2-APB)(118).

4-3 Utilisation du principe de sensibilisation passive des basophiles avec du sérum patient.

Le principe décrit par Prausnitz-Kuestner est de sensibiliser passivement des polynucléaires basophiles de donneurs sains par le sérum de patient suspect d'HSM pour prouver un mécanisme à médiation IgE (108).

Les principales étapes de la sensibilisation passive sont l'isolement des cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) d'un donneur sain, dont les polynucléaires basophiles, l'élimination des IgE liées aux récepteurs des basophiles du donneur avec de l'acide lactique (pH 3,9) puis l'incubation avec du sérum du patient (1 heure, 37 °C). Le TAB est alors réalisé et donne une indication sur l'état de sensibilisation du sérum du patient testé (119).

Par exemple, cette alternative du TAB présente un intérêt pour l'analyse des mécanismes impliqués lors d'accident transfusionnel allergique. En effet, l'obtention d'un pool de basophiles posent problème pour les patients leucopéniques, faisant des réactions lors de transfusions concomitantes à des traitements (ex : chimiothérapies). Les TAB sont réalisés sur des basophiles issus de donneurs préalablement mis en incubation avec le sérum du patient à tester. S'ils sont présents, les IgEs du patient se fixeront aux FcεR à la surface des basophiles dénués d'IgEs du donneur éliminés par de l'acide lactique. Ce sont ces « quasibasophiles » qui seront analysés (120). Le fait d'incuber les basophiles dans le sérum du patient à tester permet également au médicament de se lier aux protéines porteuses du patient. Cette technique alternative permet d'explorer des réactions d'HS chez des patients leucopéniques dans des conditions similaires aux conditions *in vivo*.

III- Place du TAB dans les HSMI

Le TAB est désormais considéré comme un outil dont les possibilités sont particulièrement intéressantes et a toute sa place au sein de la stratégie d'exploration de l'HSMI. En règle générale, pour les médicaments, la spécificité du test est excellente, mais la sensibilité reste à améliorer (Tableau 12). Nous détaillons dans les paragraphes suivants les performances du TAB ainsi que ces différentes indications selon les principales classes médicamenteuses responsables d'HSMI.

1- Place du TAB dans la stratégie d'exploration globale des HSMI

L'association de tests *in vivo* et *in vitro/ex vivo* semble être la meilleure stratégie pour explorer une HSMI. Leur performance, leurs avantages et inconvénients diffèrent et leur disponibilité varie pour chaque classe médicamenteuse. Ces données, résumées dans le Tableau 15, sont à prendre en compte pour placer le TAB dans la stratégie d'exploration des HSMI vis-à-vis des autres tests allergologiques.

Tableau 15 Outils diagnostiques actuels pour l'exploration de l'HSMI d'après (63)

<i>Diagnostic</i>	<i>Méthodes</i>	<i>Avantages</i>	<i>Inconvénients</i>
<i>In vivo</i>	PT	Facile, rapide, risque très faible, bonne spécificité	Peu sensible
	IDR	Sensibilité augmentée, rapide, risque faible	Faux positif (irritation), difficilement réalisable chez l'enfant
	TRM	Preuve ultime	Risque important
<i>In vitro/phase aiguë</i>	Tryptase	Évalue la dégranulation mastocytaire	Demi-vie courte, comparaison avec taux basal
	Histamine	Augmente sensibilité pour grade faible	Demi-vie très courte, conditions conservation prélevement
<i>In vitro/ex vivo/identification de l'agent responsable</i>	IgE spécifiques	Sérum stockable	Nombre limité d'allergène (médicaments) disponible sensibilité et spécificité variable
	TAB	Bonne spécificité, disponible pour un large panel de médicaments	Sensibilité variable, absence stockage possible, patients non répondeurs, manque de standardisation, absence de seuil

C'est donc la combinaison judicieuse de ces tests qui permet d'atteindre des spécificités et sensibilités satisfaisantes. Un logigramme inspiré de la littérature (49)(124) est proposé ci-après, pour optimiser et stratifier l'utilisation et l'association des tests allergologiques disponibles (Figure 18). Le TAB trouve sa place lorsque les autres tests ne sont pas réalisables : TC indisponibles pour le médicament, trop dangereux ou ininterprétables (dermographisme, hyperréactivité aspécifique...), IgE non commercialisés ou non fiables et TRM impossible. Il peut également être réalisé avant un TRM pour sécuriser ce test réalisé en dernière intention du fait de sa dangerosité. Pour finir, son résultat peut permettre de trancher lorsqu'il est observé une discordance entre les résultats des tests allergologiques et les signes cliniques afin d'affirmer ou exclure une HSM.

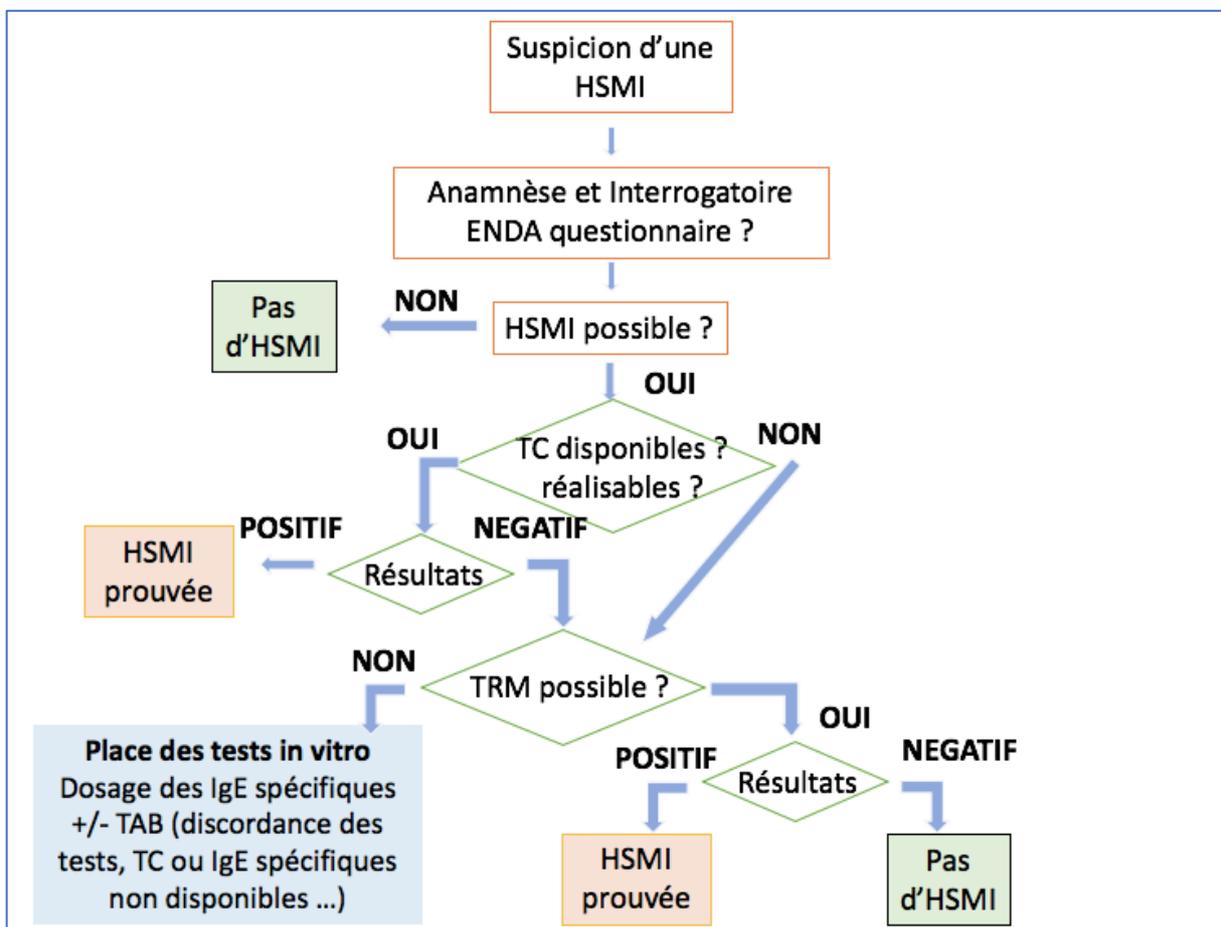


Figure 18 Logigramme de la stratégie d'exploration d'une HSMI à partir des tests disponibles d'après (49)(124)

2- Agents bloquants neuromusculaires (NMBA)

Les NMBA représentent la cause la plus fréquente de HSMI pendant l'anesthésie (121). De nombreux TC sont disponibles pour les différentes molécules avec de bonnes performances. De Campos et al. (72) ont examiné onze études pour évaluer la performance du TAB dans le diagnostic des HSMI aux NMBA. La sensibilité des TAB pour les NMBA varie entre 36 et 92 %, tandis que la spécificité est excellente, de 93 à 100 %. Les variations de sensibilité peuvent être expliquée par le délai entre la réaction et le test généralement non pris en compte dans les études évaluant les tests biologiques. En effet, dans l'étude de Kvedariene et al. (122), la sensibilité des TAB (CD63) était de 47,6 % pour des réactions d'HS survenues dans les 4 à 8 ans avant le test et jusqu'à 85,7 % pour les réactions survenues au cours des 3 dernières années. Des données préliminaires suggèrent également que les TAB pour les NMBA pourraient avoir des sensibilités différentes pour chaque NMBA, mais le nombre limité de cas pour chaque médicament dans les études ne permet pas de tirer une conclusion définitive (123). Uyttebroek et al. (124) ont évalué l'utilité des TAB pour identifier la sensibilisation à l'atracurium et pour étudier la réactivité croisée entre les relaxants musculaires. Cinq patients sur huit atteints d'anaphylaxie périopératoire à l'atracurium étaient également sensibilisés à d'autres NMBA. Deux patients exposés à l'atracurium avec un TC à l'atracurium négatif avaient des TAB clairement positifs. Un seul patient sensibilisé au cisatracurium présente un TAB à l'atracurium positif et aucune réaction croisée entre le rocuronium, suxaméthonium et atracurium n'a été constaté. Ces résultats suggèrent que le TAB peut être une méthode de diagnostic utile pour l'anaphylaxie induite par l'atracurium et peut être complémentaire aux TC. L'intérêt principal du TAB pour les NMBA est de pouvoir distinguer les molécules directement responsables de la réaction d'HS, étudier la réactivité croisée entre les relaxants musculaires et ainsi proposer des protocoles d'anesthésie adaptés au patient, lors d'une future chirurgie nécessitant une nouvelle curarisation. Il ne peut cependant pas remplacer les TC qui restent les tests les plus performants pour évaluer les HS aux NMBA. Avec un $IS \geq 1,76$ et un pourcentage de basophiles activés $> 5,01\%$ comme seuil, la performance des TAB pour les NMBA est de 68,18% de sensibilité et 100% de spécificité (123).

3- β -lactamines (BL)

Les TAB aux BL sont bien décrits, avec une sensibilité un peu plus faible que les NMBA, mais toujours une excellente spécificité. Les TAB ont montré une sensibilité entre 22 et 55 % et une spécificité de 80 à 97 % (72). De Week et cols (125) ont mené une étude dans 10 centres européens, évaluant au total 178 patients allergiques aux BL. Lorsqu'un seul allergène a été évalué, le taux de positivité varie de 16 % pour la pipéracilline à 33 % pour l'amoxicilline. Cependant, lorsque l'on combine 4 allergènes « pénicilline » (ampicilline, amoxicilline, benzyl-penicilline et penicilloyl-polylysine), une sensibilité globale de 48,3 % a été atteinte. Ces résultats soulignent la nécessité de tester plus d'un allergène, et avec au moins deux concentrations, afin d'obtenir des résultats optimaux. Dans l'étude d'Abuaf et al (126), le CD203c a montré une plus grande sensibilité que le CD63 pour le diagnostic de l'allergie à l'amoxicilline (60 % vs 20 %). Cependant, des résultats faussement positifs, confirmés par un TRM négatif, ont été observés avec le CD203c ainsi qu'avec le CD63.

4- Fluoroquinolones (FQ)

Il est connu que l'HS aux FQ peut impliquer différentes voies d'activation mastocytaire (spécifique dépendante des IgE ou non spécifique par le biais du récepteur MRGPRX2). En effet, certaines FQ sont capables d'induire directement la libération d'histamine, ce qui est à l'origine de résultats faux positifs lors des TC (49). L'indisponibilité commerciale de dosages d'IgEs validés et le risque de réaction sévère lors d'un TRM aux FQ laisse une place importante aux TAB dans la stratégie diagnostique (117). Néanmoins, il est difficile d'évaluer les performances du TAB dans cette allergie médicamenteuse car la sensibilité du TAB dépend de l'entité clinique, de la FQ responsable et du marqueur d'activation utilisés. En effet, si dans l'étude de Demir et al. (127) la sensibilité du TAB aux FQ n'est que de 10 %, celle publiée par Ben Said et al. (128) est contradictoire et montre une sensibilité de 100%. Dans une étude récente, Fernandez et al. (74), étudient 17 patients présentant des réactions allergiques immédiates aux FQ. La meilleure sensibilité chez les patients allergiques à la moxifloxacine a été obtenue avec le CD203c (sensibilité = 36,4 % ; spécificité = 94,4 %) alors qu'il s'agit du CD63 pour les patients allergiques à la ciprofloxacine (sensibilité 83,3 % ; spécificité 88,9 %). La meilleure sensibilité-spécificité a été obtenue en utilisant un IS de 3. La réactivité croisée entre les FQ est difficile à prévoir avec le TAB en raison du petit nombre de patients inclus dans les quelques études publiées (117)(127)(128).

Rouzaire et al. (129) ont montré que la valeur prédictive négative (VPN) du TAB aux FQ était excellente dans la prise en charge des patients avec suspicion d'HSMI aux FQ et que c'était un outil précieux dans la décision de réaliser des TRM pour ces patients.

5- AINS et Aspirine

La majorité des réactions cliniques aux AINS ne sont pas spécifiques à un AINS. Inversement, les patients présentant une HSMI à une molécule pourraient en tolérer une autre (130). De plus, comme vu précédemment, le mécanisme le plus souvent impliqué est non-immunologique. A partir de ces observations, l'intérêt ainsi que la fiabilité du TAB est très controversée dans le cadre de diagnostic d'HSI aux AINS. Les études évaluant les TAB aux AINS sont très hétérogènes en termes de sensibilité et spécificité. Le TAB est plus prédictif chez les sujets présentant des HSI sélectives aux AINS que chez les sujets présentant une HS à plusieurs AINS dite « multiple » (72). Il convient donc de distinguer les performances du TAB pour les HSI sélectives d'un AINS et les HS issus de réactions croisées.

Les études sur les TAB dans les HSI non sélectifs à l'aspirine ou aux AINS sont contradictoires ou peu concluantes. Elles montrent généralement une sensibilité insuffisante (environ 20 à 40%) dans le diagnostic de ces réactions (72). Abuaf et al. (47) ont évalué 60 patients atteints de HSI multiples aux AINS et ont observé une faible sensibilité globale aux TAB de 21%. La sensibilité augmentait à 64% dans les réactions sévères. Gamboa et al. (131) ont étudié des patients présentant une HS multiple aux AINS confirmée par les antécédents cliniques d'au moins deux réactions à deux ou plusieurs AINS différents ou par test de provocation. Le TAB à l'aspirine a montré une sensibilité de 43,3% et une spécificité de 100%. Pour les autres AINS, la sensibilité et la spécificité étaient de 15% et 100% pour le métamizole, 43,3% et 93,3% pour le diclofénac et 54,8% et 74,1% pour le naproxène. Associant tous les résultats, la sensibilité globale augmentait de 63,3%.

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que le TAB n'est pas une méthode fiable dans le diagnostic de l'HS multiple aux AINS. La gravité de la réaction et le mécanisme de dégranulation peuvent avoir un impact sur la sensibilité des TAB. Le TAB ne semble donc pas être un outil très pertinent dans l'exploration des HSI non sélectives aux AINS et doit être réalisé au cas par cas.

Concernant les performances des TAB pour diagnostiquer les HSI sélectives à un AINS, seules des études s'intéressant à l'HSI sélective aux pyrazolones et notamment au dipyrone

(métamizole) sont disponibles (130)(132)(133). Cette molécule n'ayant pas l'autorisation de mise sur le marché en France, les études ne sont pas détaillées.

6- Sels de platine

Il existe des données prometteuses évaluant l'utilisation des TAB comme biomarqueur prédictif d'HSI aux sels de platine, de leur sévérité ainsi que comme biomarqueur prédictif de résultat de la désensibilisation rapide à ces traitements. En 2012 (134), une étude prospective a suivi des patients qui recevaient du carboplatine pour le traitement de cancers gynécologiques. Des TAB évaluant l'expression de CD203c à la surface des basophiles ont été réalisés. Il a été observé que pour les six patients qui sont devenus allergiques au médicament au cours de l'étude, leurs basophiles présentaient une expression accrue de CD203c la veille de la réaction. De plus, l'HSI avait tendance à être plus sévère chez les patients avec un TAB positif. Plus récemment, Giavina et al. (135) ont évalué le TAB en tant que biomarqueur chez les patients subissant une désensibilisation rapide au carboplatine et à l'oxaliplatine. C'est une méthode sûre et efficace pour réintroduire des médicaments progressivement chez les patients réactifs. Le TAB était positif chez 11 des 15 patients allergiques (73,3%), avec une expression accrue de CD203c dans 11/15 (73,3%) et de CD63 dans 6/15 (40,0%). Une expression plus élevée de CD63 a été observée chez les patients présentant des HSI initiales sévères. Les patients présentant des réactions anaphylactiques importantes pendant la désensibilisation avec des niveaux de tryptase élevés, avaient un TAB positif. En revanche, les patients témoins avaient tous des TAB négatifs.

A l'heure actuelle, aucune étude n'a établi le seuil de positivité pour les TAB aux sels de platine. Par analogie aux autres médicaments, le seuil de positivité à 5% est souvent utilisé. La cinétique d'expression du CD203c par les basophiles semble être un outil plus intéressant afin de suivre le traitement des patients et ainsi d'éviter des HSI sévères. Le TAB peut également être utile dans l'évaluation de la désensibilisation rapide au médicament (136). L'utilisation du marqueur CD203c est plus sensible que le marqueur CD63, mais l'expression de ce dernier semble corrélée à la sévérité de la réaction d'HSI.

7- Anticorps monoclonaux

Les TAB peuvent être un outil diagnostique supplémentaire dans l'investigation des HSMI secondaires à l'administration des anticorps monoclonaux. Son intérêt dans l'évaluation de la réussite des protocoles de désensibilisation rapide avec ces médicaments dépend cependant de

l'anticorps monoclonal testé. De la Varga Martines et al. (137), ont présenté le cas de deux patients avec des réactions au point d'injection à l'étanercept. Les TC sont négatifs mais ils ont présenté des TAB positifs, ce qui indique une sensibilité supérieure du TAB. Malgré une désensibilisation réussie, il n'a pas été constaté de décroissance de l'expression du CD63. Thévenot et al (138) dans leur *case report*, ont montré que la désensibilisation rapide à l'adalimumab est associée à une diminution de l'expression du CD63 et du CD203c à la surface des basophiles. Un cas d'anaphylaxie sévère au pertuzumab, avec augmentation des taux de tryptase, chez une femme de 38 ans atteinte d'un cancer du sein a été étudié à l'aide de TC et de TAB. Alors que le PT et l'IDR étaient tous deux négatifs, le TAB était positif pour les deux marqueurs, CD63 et CD203c. La patiente a été désensibilisée avec succès (139). Piva et al (140) ont évalué le TAB dans le diagnostic de cinq patients traités pour des maladies lymphoprolifératives soupçonnées d'avoir un HSI secondaire au rituximab. L'expression de CD63 était plus élevée chez les patients présentant des réactions par rapport aux 18 témoins sains. Dans tous ces papiers, la spécificité du TAB est proche de 100 % et la sensibilité est bonne mais varie en fonction des médicaments. La disponibilité, les performances et la facilité de réalisation du TAB comparé aux TC et aux dosages des IgEs place ce test au centre de l'exploration d'HSMI aux anticorps monoclonaux. Aucune étude n'a évalué le seuil de positivité du TAB ainsi que l'IS.

8- Inhibiteurs de la pompe à protons (IPP)

De nombreuses HSI ont été observées après traitement par des IPP, notamment avec les principes actifs, oméprazole, pantoprazole et lansoprazole. Le TAB a montré son intérêt dans le diagnostic de ces HSMI. Dans l'étude de Laguna et al. (78), les auteurs ont comparé les deux marqueurs, CD63 contre CD203c. En ce qui concerne les différentes entités cliniques, choc anaphylactique, anaphylaxie et urticaire, ils n'ont trouvé aucune différence significative entre l'expression du CD203c et du CD63, calculée en pourcentage ou IS. De plus, aucun cas de TAB avec le CD203c positif (IS > 2) et de TAB avec le CD63 négatif n'a été observé. Il était donc égal d'utiliser l'un ou l'autre des marqueurs dans un protocole TAB.

Les TC avaient une sensibilité à 66,7 % et une spécificité de 100 %. Lorsque l'on ajoutait un TAB avec un seuil de positivité de 10% de basophiles activés, la sensibilité diagnostique était augmentée et atteignait les 73,8 % sans réduire la spécificité (78). Un IS supérieur à 2 permettait d'interpréter positif un TAB aux IPP avec une sensibilité et spécificité satisfaisantes. Ces valeurs montrent que le TAB pourrait être très utile dans le cadre du bilan

allergologique, car il peut aider le clinicien à décider d'effectuer ou non un TRM, en particulier chez les patients présentant des réactions sévères, comme c'est le cas de la plupart des patients allergiques aux IPP. La plupart des patients allergiques à l'oméprazole avaient également un TAB positif au pantoprazole mais pas au lansoprazole. Des réactions croisées entre les différents IPP ont été démontrées (141)(142). Le fait que cette réactivité croisée *in vitro* peut prédire la tolérance clinique est actuellement inconnue.

CHAPITRE 1 : ANALYSE DES DEMANDES AU CHU DE BORDEAUX

Nous avons vu que le TAB était un élément important dans le diagnostic des HSMI. Nous souhaitons le mettre en place au laboratoire d'Immunologie tout d'abord dans le cadre des explorations des HSM. Dans ce premier chapitre, nous avons donc cherché à évaluer quelles étaient les demandes, les indications, la pertinence diagnostique et les résultats des TAB au CHU de Bordeaux.

I - Objectifs

L'objectif de cette partie était d'analyser la demande actuelle des TAB par nos médecins prescripteurs ainsi que de récolter des données sur les principales indications et les classes médicamenteuses testées. Ce travail a pour but d'évaluer les besoins actuels afin de préparer la mise en place de la technique au CHU de Bordeaux. Dans un second temps, les résultats de ces TAB ont été récupérés puis analysés afin d'évaluer leur apport diagnostique et l'impact des résultats sur la prise en charge (PEC) du patient.

II - Matériels et Méthodes

Le recueil a été réalisé à partir de la base de données Synergie du laboratoire d'Immunologie et d'Immunogénétique du CHU de Bordeaux du 01/01/2015 au 21/08/2020 (extraction du code informatique 9TACB). Les TAB contre les médicaments suspectés étaient réalisés au laboratoire sous-traitant d'Immunologie du CHU de Limoges. Ils ont été réalisés en mesurant l'expression de CD63 dans la population de basophiles. Le seuil de positivité a été défini à l'aide d'un contrôle négatif sans aucun médicament. L'anti-IgE et l'anti-récepteur IgE ont été utilisés comme contrôle positif. Tous les résultats ont été exprimés en indice d'activation établi grâce à un algorithme spécifique prenant en compte l'expression du CD63 et la MFI IgE à la surface du basophile comme décrit par Saint-Laudy et al. en 2007 (143). Deux dilutions ont été testées par médicament. Les résultats étaient considérés positifs lorsque l'indice était supérieur à 32 pour les 2 concentrations successives. Si un seul indice était supérieur à 32, le TAB était interprété comme à la limite de la positivité.

Les résultats de chaque TAB ont été récupérés pour analyse. Les molécules testées ont été recueillies pour chaque demande. Les dossiers d'exploration d'une HS non médicamenteuse ont été exclus. Les renseignements cliniques ont été obtenus par l'intermédiaire des courriers des médecins récupérés sur le logiciel patient DXCare. Les renseignements cliniques suivants ont été recueillis : indication du TAB, manifestations cliniques, médicament(s) suspecté(s),

antécédents allergiques, PEC du patient après le résultat du TAB. Les résultats des tests allergologiques, TC et dosage des IgEs ont été recueillis respectivement sur le logiciel patient DXCare et sur le logiciel Synergie.

Après avoir identifié les indications de chaque TAB grâce au dossier patient, nous les avons triés en 8 grands groupes (Tableau 16). Il pouvait y avoir plusieurs indications pour un même dossier.

Tableau 16 Indications du TAB

INDICATIONS

1	Discordance entre la clinique et les TC et/ou le dosage des IgEs
2	TC ininterprétables / contre-indiqués / impossibles
3	Recherche des IgEs non disponibles
4	Éviter un TRM ou TRM impossible
5	Diagnostic différentiel
6	Confirmer une hypersensibilité
7	Exclure une hypersensibilité
8	Identifier le médicament incriminé (choc anesthésie +++)

Pour évaluer l'apport diagnostique du TAB, le critère d'évaluation principal a été le diagnostic final retenu par le clinicien allergologue au regard du faisceau d'arguments cliniques, biologiques et du TRM si celui-ci a été réalisé, permettant ainsi le diagnostic étiologique de la réaction d'HS. Il a été ainsi considéré un apport diagnostique lorsqu'un TAB positif affirmait le diagnostic de l'HSM et engendrait une contre-indication (CI) absolue du médicament. De plus, l'apport diagnostique a été considéré lorsqu'un TAB négatif à un médicament permettait d'exclure l'HSM et faisait lever la CI à ce médicament. Dans ces deux cas, le résultat du TAB avait un impact sur la suite de la PEC du patient.

III - Résultats

1 - Nombre de demandes et médecins prescripteurs

Quatre-vingt-six dossiers ont été analysés. Deux ont été exclus. Au final, 84 dossiers de TAB correspondant à 52 patients ont été comptabilisés pour des HSM entre 2015 et 2020. Une augmentation significative du nombre de prescriptions a été observée depuis 2017 (400 % d'augmentation) (Figure 19). Les chiffres de 2020 suivent cette tendance : 30 TAB de janvier à août 2020 ont été réalisés.

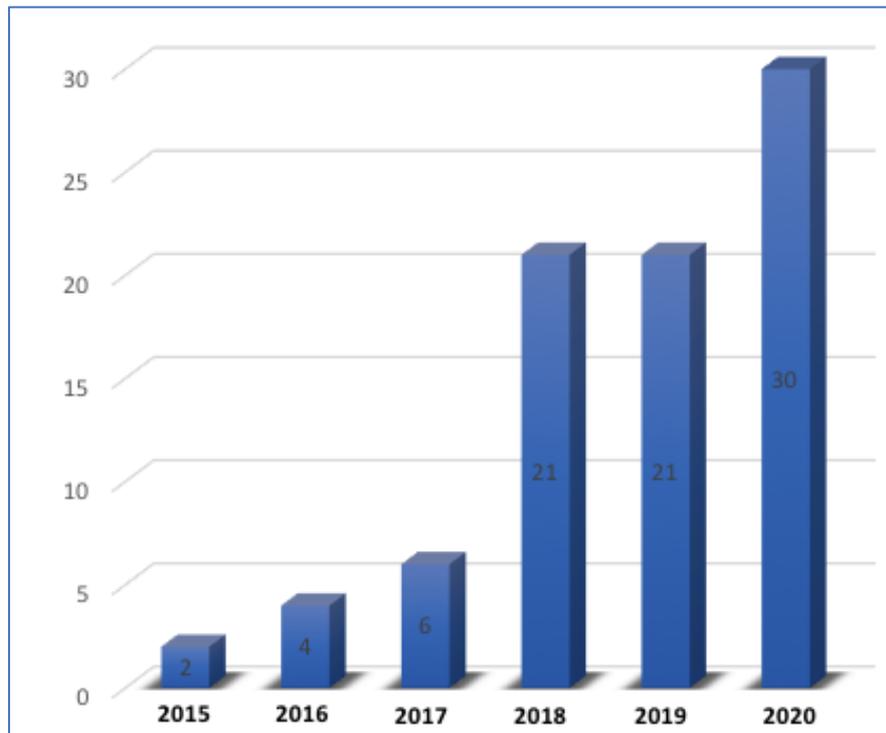


Figure 19 Évolution du nombre de demandes de TAB depuis 2015 au CHU de Bordeaux

Les principaux prescripteurs sont des médecins allergologues ou anesthésistes expérimentés. Le service d'Allergologie du Dr S. GUEZ au CHU de Bordeaux était à l'initiation de 66 % des prescriptions de TAB pour les HSM. Les anesthésistes-allergologues ont prescrit 28 % des TAB pour l'exploration des HSM. Les 4 % restants ont été prescrits par le service de dermato-pédiatrie du Dr F. BORALEVI, et un allergologue de ville. Les patients se font prélever, dans la majorité des cas, au centre de prélèvement adulte (60 %) ou en hôpital de jour (21 %). Les autres lieux de prélèvement sont le service de médecine post-urgence (7 %), le service de pneumologie et le service d'insuffisance respiratoire et transplantation pulmonaire (1%), le centre de prélèvement pédiatrique (< 1 %), et d'autres services d'hospitalisation du CHU de Bordeaux (11%).

2 - Démographie des patients testés

Sur l'ensemble des dossiers, seuls quatre dossiers pédiatriques ont été comptabilisés, correspondant à 2 enfants de 8 et 10 ans. Pour les patients adultes, la moyenne d'âge des patients était de 50 ans (de 18 à 84 ans) avec un ratio Homme/Femme égal à 0,73 (Annexe 1).

3 - Indications

La principale classe médicamenteuse testée était les antibiotiques (57 %), parmi ces tests, les molécules testées étaient principalement les pénicillines (54 % des TAB aux antibiotiques) et les céphalosporines (32 %) mais on retrouvait également des tests aux glycopeptides (6%), FQ (4%), tétracyclines (3%) et métronidazole (3%) (Figure 21). Suivaient les TAB testant les HS aux NMBA (18%). Les antalgiques testés (6 %) étaient le paracétamol et la pholcodine. Les AINS (3 %) testés sont l'ibuprofène et l'acide tiaprophénique. L'anesthésique testé (3 %) était le propofol. Dans les autres médicaments (13 %), on retrouve un test au sumatriptan, au bleu de patenté, au décapeptyl, au valproate de sodium, au vaccin anti-tétanos, à l'ondansétron, deux à la bétadine et au ioméron (Figure 20).

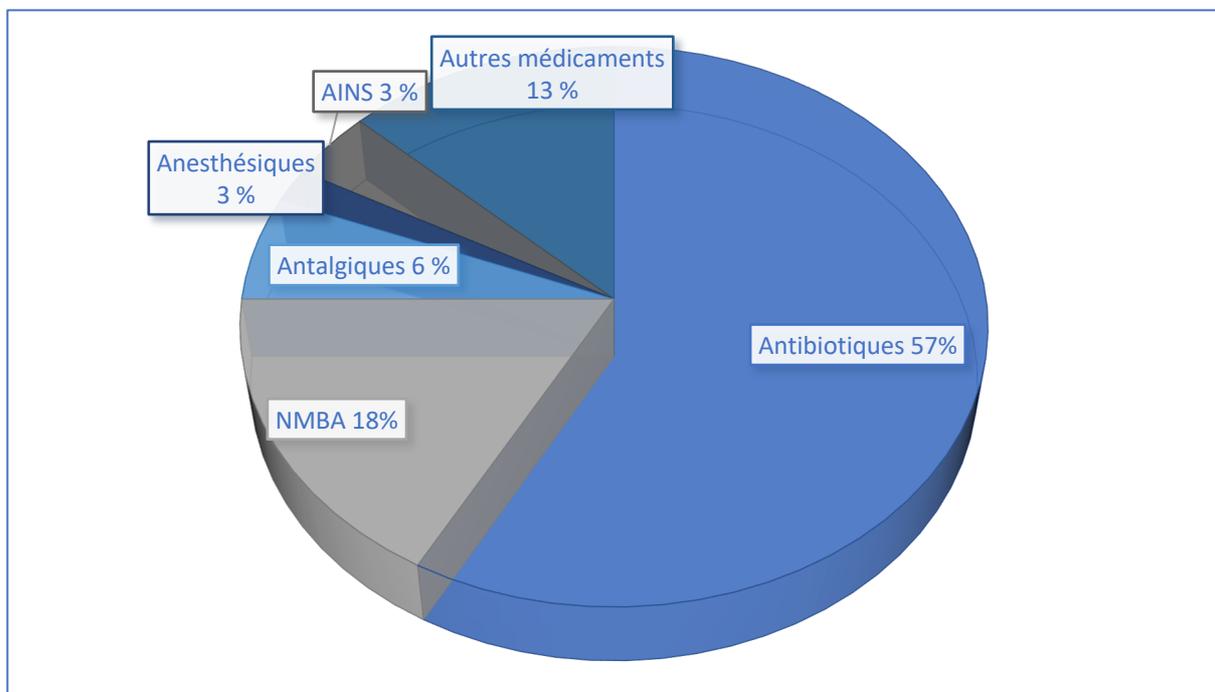


Figure 20 Répartition en pourcentage des classes médicamenteuses testées par TAB de janvier 2015 à août 2020 au CHU de Bordeaux (n=84)

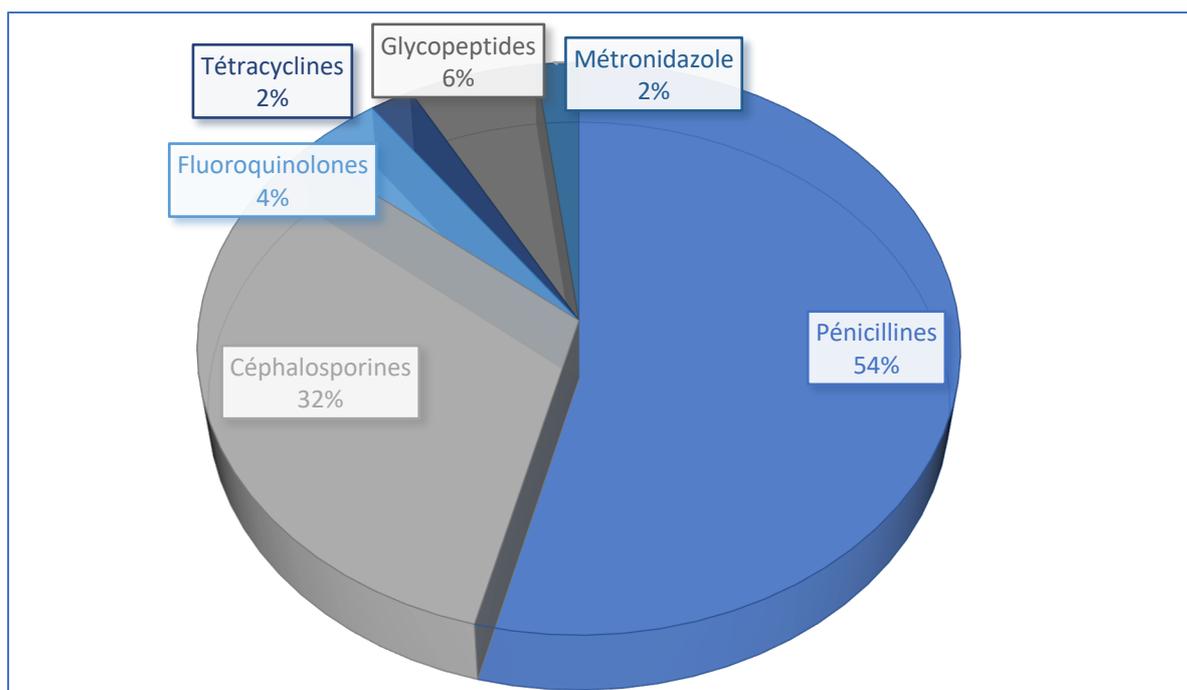


Figure 21 Répartition en pourcentage des antibiotiques testés par TAB de janvier 2015 à aout 2020 au CHU de Bordeaux (n=48)

L'analyse des indications a montré que, dans 28 % des cas, la réalisation du TAB était motivée par une discordance entre la clinique et le résultat des TC et/ou des IgEs quand ils étaient disponibles. L'autre indication la plus fréquemment retrouvée était l'impossibilité d'obtenir un résultat de TC (29 % des cas) en raison de l'indisponibilité des allergènes à tester, la CI à les réaliser chez certains patients ou le fait qu'ils soient ininterprétables. Le TAB était demandé, respectivement, pour exclure ou affirmer une HS dans 14 et 11 % de ces cas. Dans ces indications, le TAB apportait une information supplémentaire pour trancher sur un mécanisme IgE médié avant d'avoir recourt au TRM.

Les 4 autres indications étaient des cas plus isolés s'associant souvent aux 4 indications plus fréquentes. Le TAB a été demandé dans le diagnostic différentiel d'un angioedème à bradykinine ou pour aider à identifier la molécule responsable du choc anaphylactique lors d'une anesthésie avec introduction de plusieurs médicaments simultanément. Dans deux cas, le TRM est trop risqué pour les patients compte tenu de leur état clinique, le TAB était l'alternative la plus sûre afin de pouvoir caractériser et/ou confirmer les HSM (Figure 22).

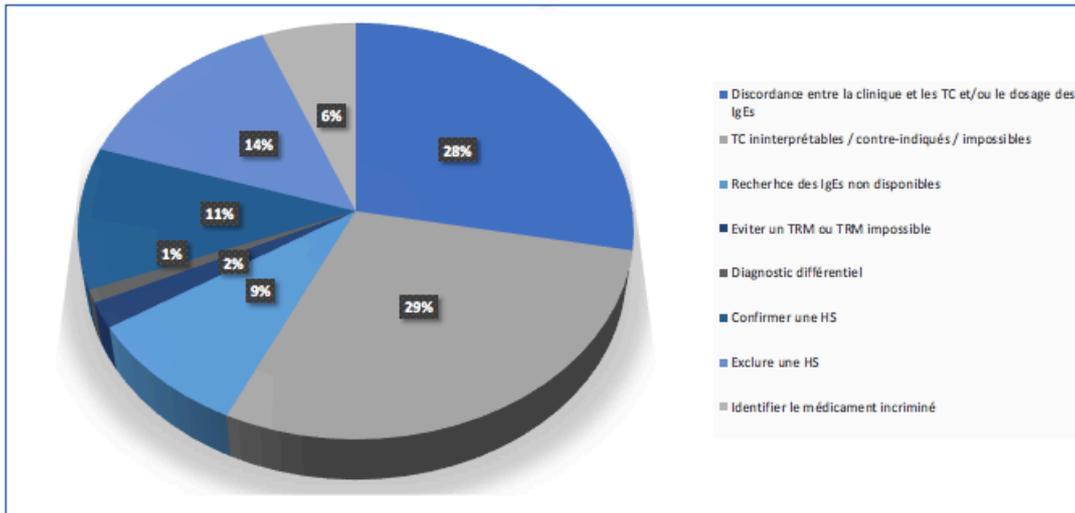


Figure 22 Répartition en pourcentage des différentes indications des TAB au CHU de Bordeaux de 2015 à 2020 (n = 84)

4 - Résultats des TAB

Sur les 84 dossiers d'HSM, les résultats du TAB ont pu être récupérés pour 69 dossiers : une non-conformité d'acheminement et trois résultats jamais reçus ont été observés. De plus, les résultats des TAB envoyés après le 30 juin 2020 par le laboratoire n'étaient pas encore disponibles. Le délai de rendu de résultat était en moyenne de 33 jours.

Il y a très peu de résultat positif (9,8 %), en raison de la faible sensibilité des TAB notamment pour les médicaments. Pour 5,6 % des TAB, le résultat est douteux à la limite de la positivité. Pour 79 % des TAB, le résultat est négatif. Les statistiques des résultats des TAB sont représentées dans la figure 23 et les résultats analysés par classe médicamenteuse sont représentés dans la figure 24.

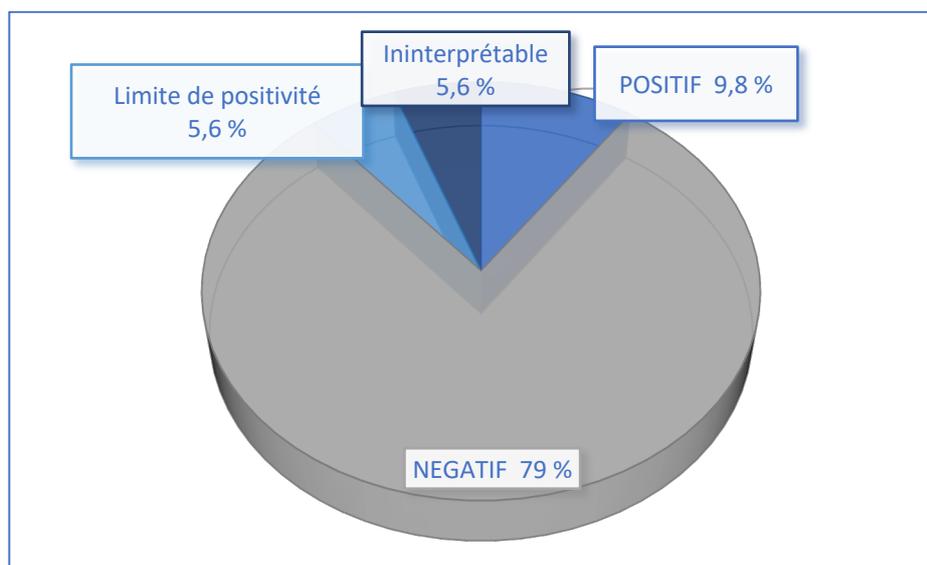


Figure 23 Résultats des TAB de janvier 2015 à août 2020 au CHU de Bordeaux (n=69)

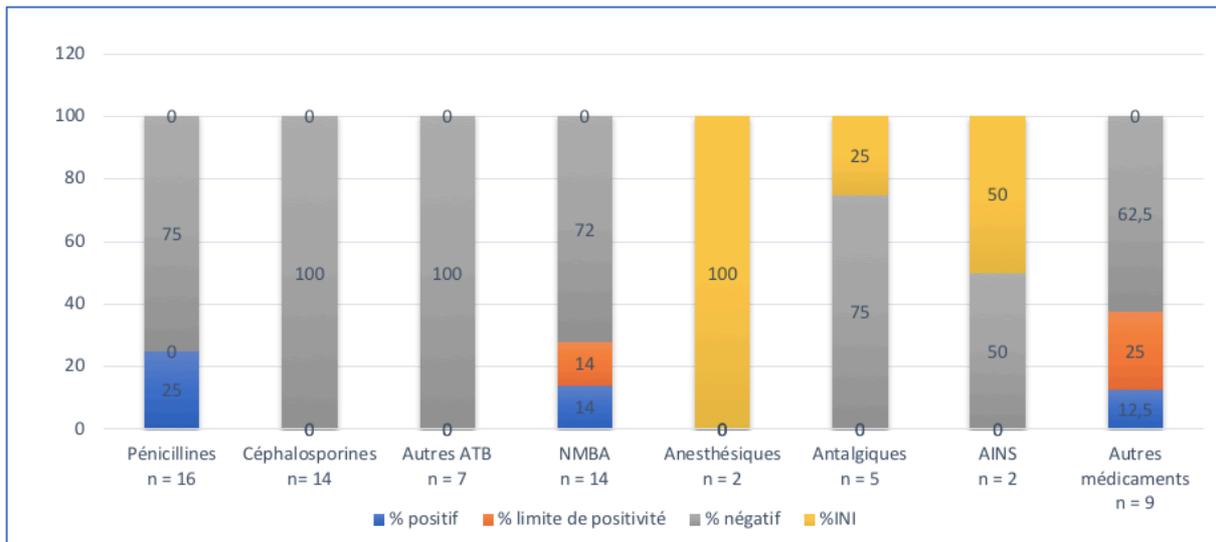


Figure 24 Résultats des TAB en fonction des médicaments testés de janvier 2015 à août 2020 au CHU de Bordeaux.

Le nombre (n) correspond au nombre de TAB pour chaque classe médicamenteuse.

5 - Apport diagnostique du TAB et l'impact de son résultat sur la PEC

Dans cette partie, nous avons évalué, par classe médicamenteuse (Figure 25) puis pour chaque patient (Figure 26 à 29), l'apport diagnostique du TAB.

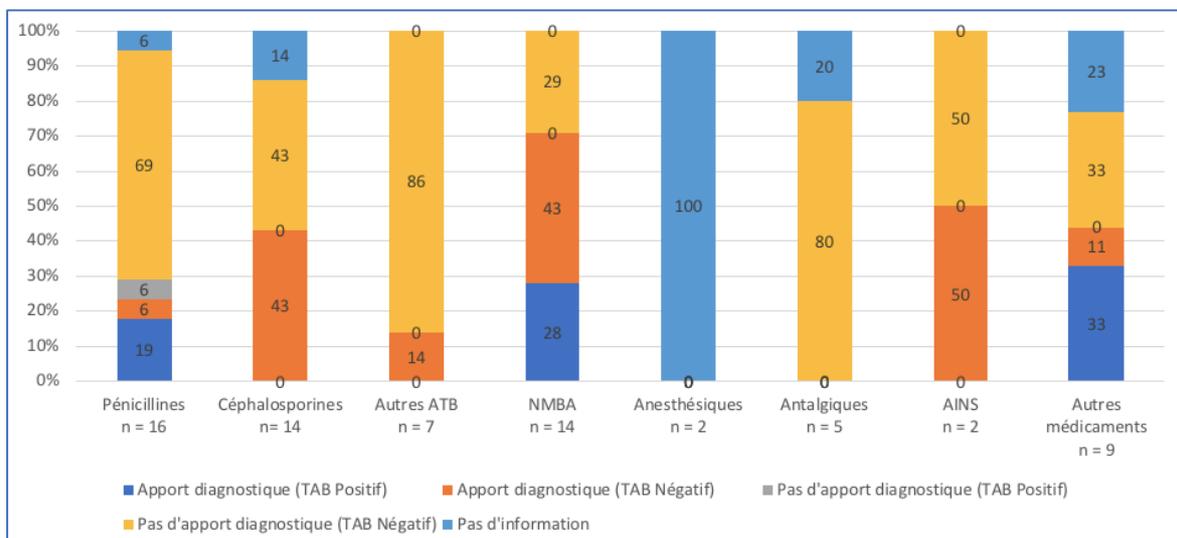


Figure 25 Pourcentage de l'apport diagnostique du TAB en fonction des médicaments testés et du résultat du TAB.

Le nombre (n) correspond au nombre de TAB pour chaque classe médicamenteuse.

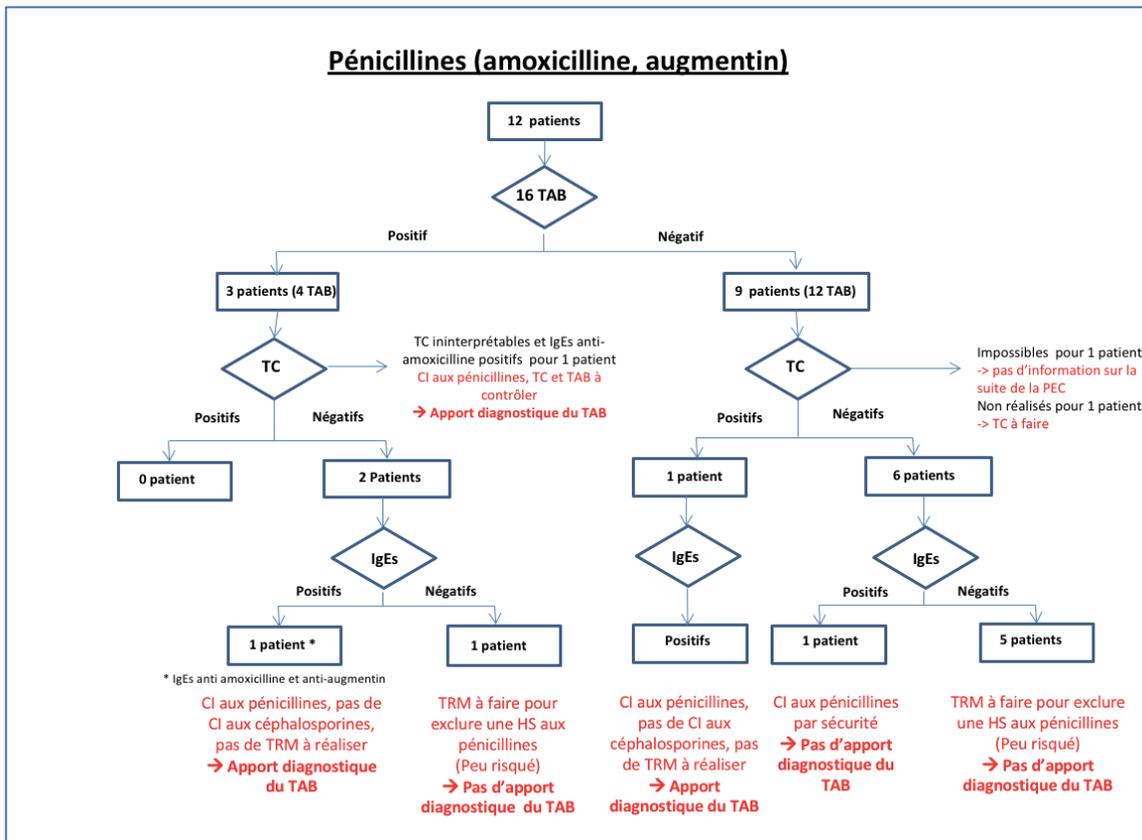


Figure 26 Résumé des résultats du bilan allergologique chez 12 patients ayant eu un TAB aux pénicillines

Pour les TAB aux pénicillines (n=12 patients), il n'a pas été possible de recueillir d'informations sur la suite de la PEC et sur le diagnostic pour 1 patient. Nous avons observé un résultat de TAB positif pour 3 patients (Figure 26). Ceci a engendré la CI à l'Amoxicilline pour 2 patients. En effet, d'autres arguments tels que des IgEs anti-amoxicilline et anti-augmentin allaient dans le sens de l'HSM à l'amoxicilline malgré des TC retrouvés négatifs. Il n'a donc pas été nécessaire de réaliser un TRM afin d'affirmer l'HSM et nous avons considéré un réel apport diagnostique du TAB dans ces situations. Pour le troisième patient qui présentait des TC négatifs ainsi qu'une absence d'IgEs anti-amoxicilline, il a été conseillé de poursuivre l'exploration de l'HS par un TRM.

Pour les 9 patients ayant un TAB négatif : il n'a pas été possible de statuer sur l'apport diagnostique du TAB pour 2 patients, on a retrouvé un apport diagnostique pour 1 patient. Pour les 6 autres patients, le TAB n'a pas permis d'exclure l'HS aux pénicillines. Il n'y pas d'apport diagnostique du TAB. Au total, l'apport diagnostique du TAB aux pénicillines a été évalué présent pour 25 % des patients (3/12) (Figure 26).

Céphalosporines (cefazoline, cefuroxime, ceftazidime, ceftriaxone)

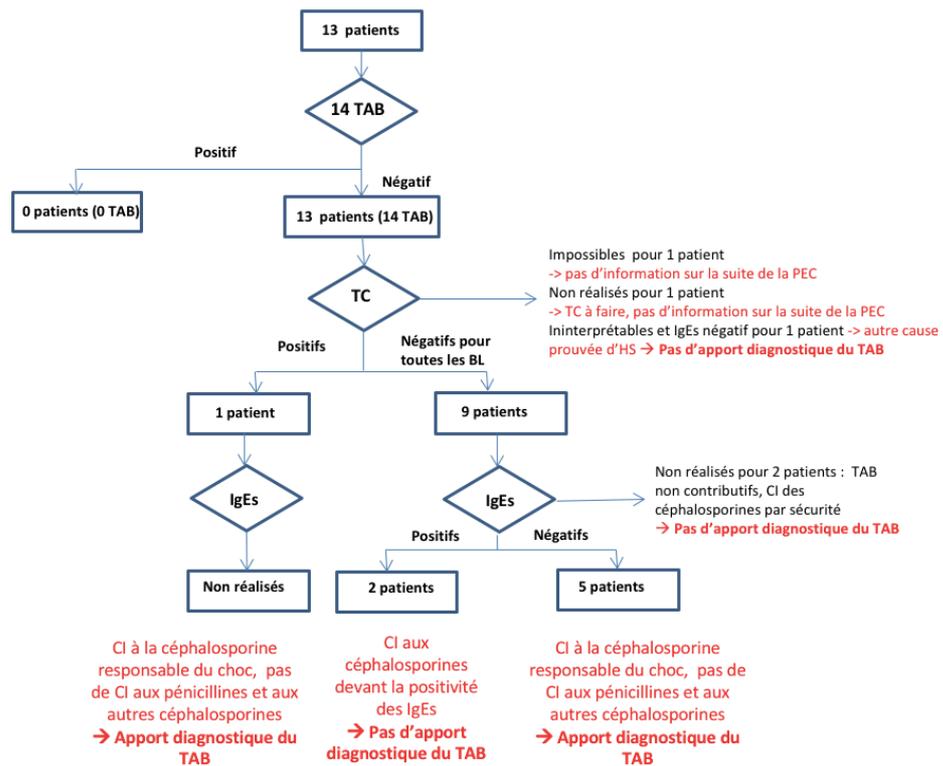


Figure 27 Résumé des résultats du bilan allergologique chez 13 patients ayant eu un TAB aux céphalosporines

Pour les TAB aux céphalosporines (n=13 patients), il n'a pas été possible de recueillir des informations sur la suite de la PEC et sur le diagnostic posé pour 2 patients (Figure 25). Concernant les résultats obtenus, tous ont été retrouvés négatifs. La CI absolue aux céphalosporines (critère d'évaluation de l'apport diagnostique) a été levée pour 43 % des patients (6/13 patients) (Figure 27). Cela a montré un impact non négligeable sur la future PEC et les futures alternatives thérapeutiques disponibles pour le patient.

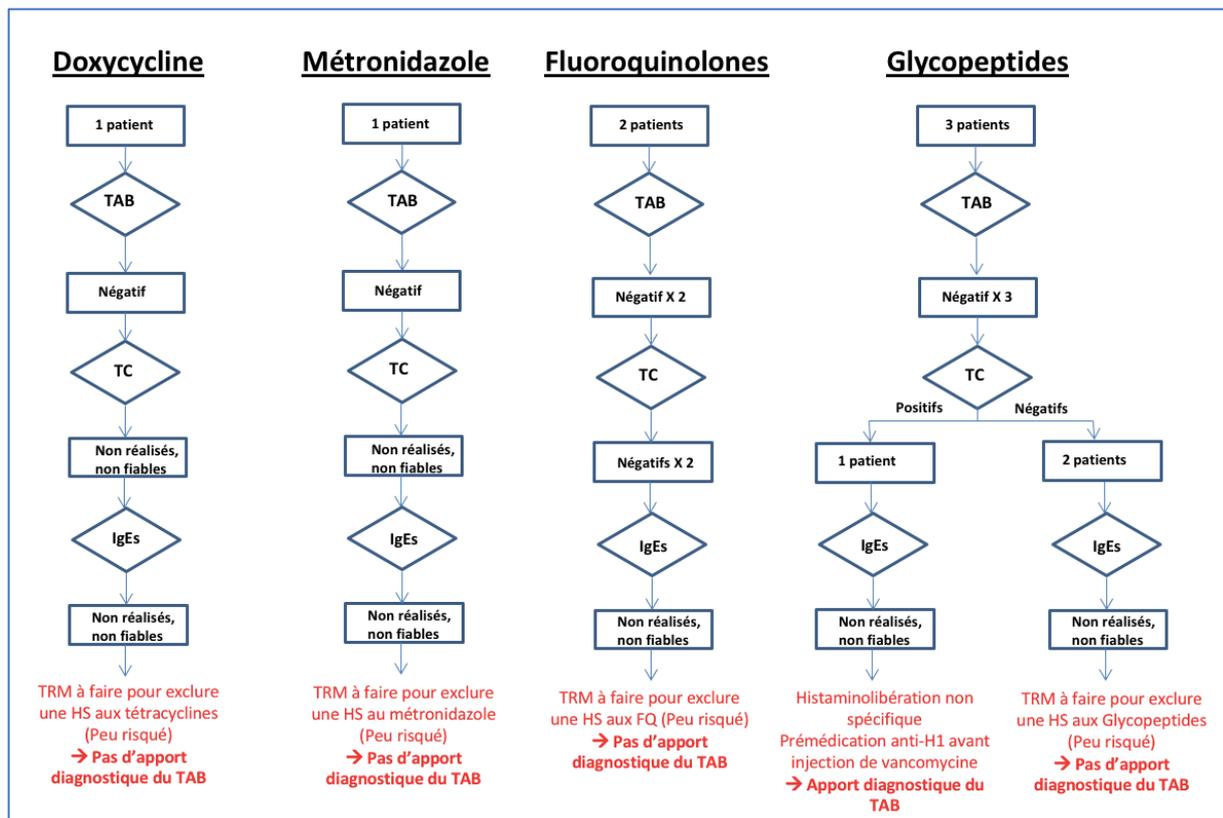


Figure 28 Résumé des résultats du bilan allergologique chez 7 patients ayant eu un TAB aux autres antibiotiques

L'apport diagnostique du TAB pour les autres antibiotiques n'était présent que pour un seul patient (Figure 25). Cela a permis de conclure à un mécanisme histaminolibérateur non spécifique pour la vancomycine. Si besoin, le patient pourra, après prémédication antihistaminique, recevoir une injection de vancomycine. Tous les autres TAB aux autres antibiotiques ont également été retrouvés négatifs, le TRM était nécessaire à la suite de la PEC du patient (Figure 28).

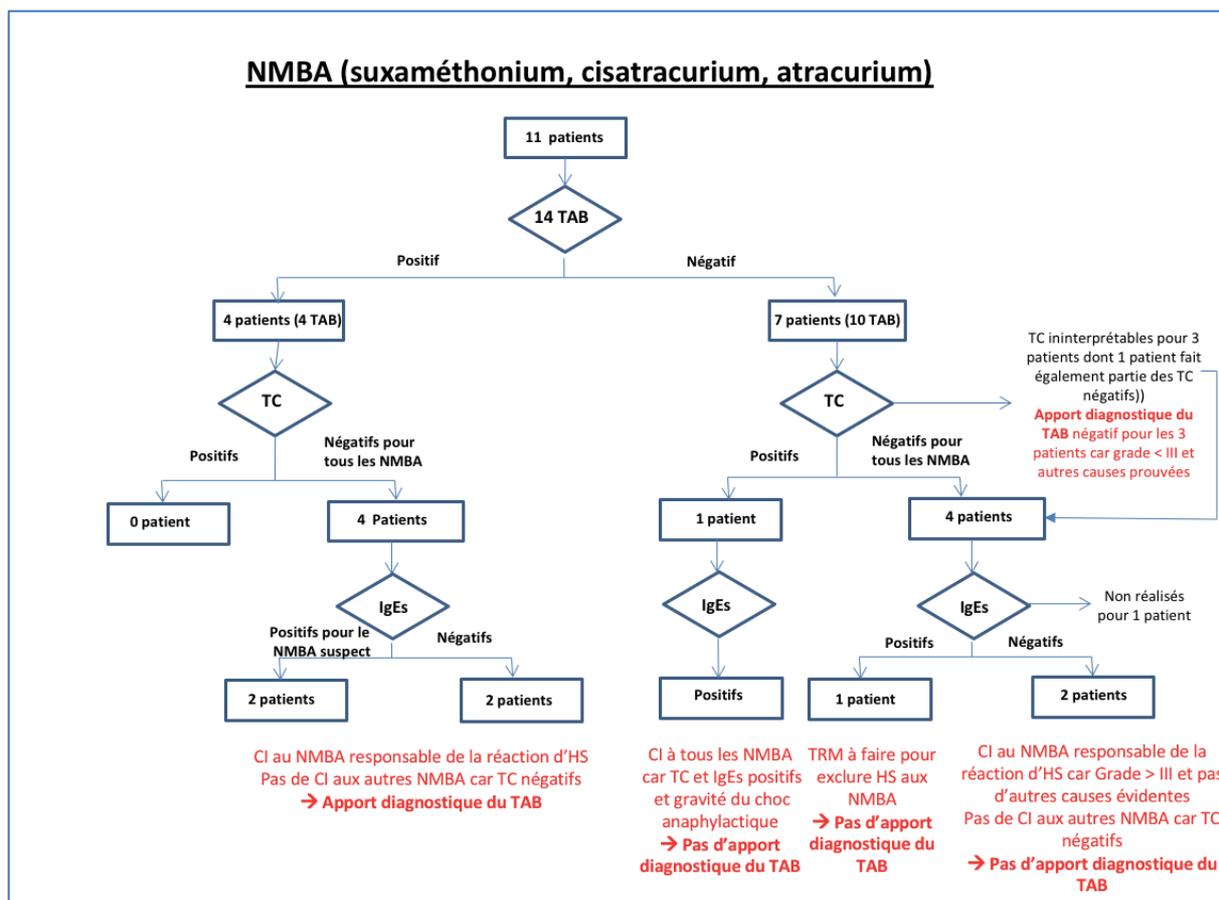


Figure 29 Résumé des résultats du bilan allergologique chez 11 patients ayant eu un TAB aux NMBA

A propos des résultats des TAB testant les NMBA, on a observé 28 % de résultats positifs ou à la limite de la positivité (Figure 24). Cela correspond à 4 patients (2 TAB au suxaméthonium, 1 au cisatracurium et 1 à l'atracurium). Pour ces 4 patients, le TAB positif a permis d'incriminer spécifiquement la molécule testée et ainsi lever la CI pour les autres NMBA (apport diagnostique dans 100 % des cas). La CI à tous les NMBA a été levée suite au résultat du TAB retrouvé négatif pour 3 des patients (43 %). Pour une partie des patients, d'autres causes telles que l'administration en simultanée de Plasma Frais Congelé (PFC) ou une HS à un autre médicament (pénicillines) ont été prouvées comme à l'origine du choc anaphylactique. Pour d'autres, c'est la faible gravité du choc (Grade < III) associé au TAB négatif qui a permis de lever la CI absolue aux NMBA. Pour le reste des patients avec un TAB négatif, la CI a été maintenue par précaution en raison de la gravité du choc (Grade > ou = III) ou en présence d'autres arguments ne permettant pas d'exclure une vraie HS aux NMBA tels que la positivité des TC ou des IgEs anti-ammonium quaternaire. Au total, l'apport diagnostique du TAB aux NMBA a été évalué présent pour 64 % des patients (7/11) (Figure 29).

Pour les TAB aux AINS (n=2 patients), l'apport diagnostique était présent pour un des patients (Figure 25).

En ce qui concerne les TAB réalisés vis-à-vis des autres médicaments (sumatriptan, bleu de patenté, décapeptyl, valproate de sodium, vaccin anti-tétanos, bétadine et ioméron), nous ne disposons que d'un ou deux dossiers par molécule et aucune statistique n'a pu être réalisée. On a retrouvé un apport diagnostique pour 44 % des dossiers (4/9) (Figure 25). Le résultat de TAB au sumatriptan négatif a eu un impact sur la PEC du patient. Il a permis la réintroduction d'un médicament indispensable au traitement du patient (sumatriptan chez une femme migraineuse). Un autre résultat négatif a permis la réinjection de bleu de Patenté lors d'une chirurgie dans le cadre d'une PEC de cancer du sein. Le résultat du TAB positif au vaccin anti-tétanos a enclenché la CI à ce vaccin et des recommandations en cas de plaie. Il en est de même pour le patient chez lequel on retrouve un TAB positif à la bétadine.

L'apport diagnostique concernant les TAB testant les antalgiques (n=5 patients) est nul (Figure 25). On note qu'il n'a pas été possible de recueillir d'informations sur la suite de la PEC et sur le diagnostic posé pour 1 patient. De même, il n'a pas été possible de récupérer d'informations sur la PEC du patient pour lequel le TAB au propofol (anesthésique) a été ininterprétable à deux reprises.

Le résumé de l'apport diagnostique vis-à-vis des différentes classes médicamenteuses est représenté dans la Figure 30.

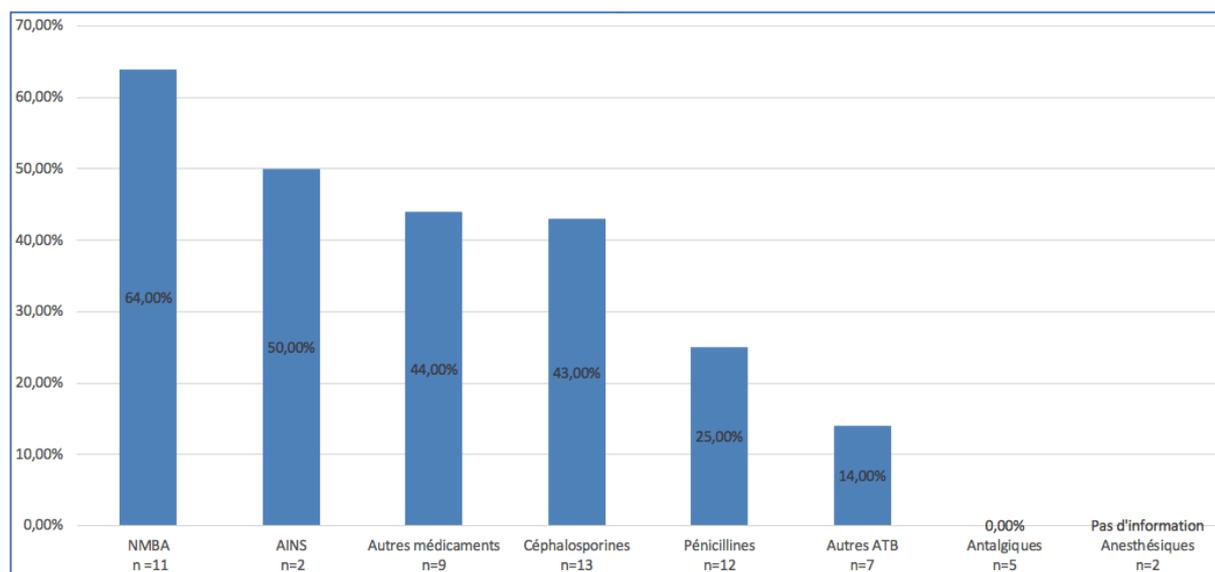


Figure 30 Apport diagnostique du TAB en fonction des classes médicamenteuses testées.

Le nombre (n) correspond au nombre de patients qui ont eu un TAB pour chaque classe médicamenteuse.

En conclusion, le résultat du TAB a un impact sur la PEC du patient non négligeable et l'apport diagnostique du TAB était présent pour 50 % des dossiers (35/69). Quarante-vingt-un pour cent des résultats positifs ont eu un impact sur la PEC des patients, ils confirmaient l'HS au médicament testé et enclenchait une CI absolue de ce dernier. Les résultats négatifs ont eu un impact sur la PEC des patients pour 39 % des dossiers. Malheureusement, les résultats des TRM n'ont pas pu être récupérés car pour la totalité des dossiers et des patients les TRM n'ont pas été réalisés.

IV - Discussion

Les résultats présentés ci-dessus, n'ont pas une forte valeur statistique car c'est un faible échantillon de tests. Il serait intéressant de réaliser cette étude à plus grande échelle, nationale par exemple, notamment pour avoir un nombre d'échantillon supérieur à 30 pour chaque classe médicamenteuse et pour inclure de nouveaux dossiers permettant de l'élargir à d'autres indications. En effet, les dossiers analysés dans cette partie sont des dossiers qui ont posés problème au diagnostic pour les cliniciens et les biologistes lors des réunions de concertation pluridisciplinaire (RCP). Ils ne sont donc pas représentatifs des cas d'HSM en général au CHU de Bordeaux. Le principal biais de cette étude est la restriction des prescripteurs (Service d'Allergologie du Dr S. GUEZ pour plus de 60 % des dossiers). Il n'est donc pas étonnant de voir une prédominance des indications du TAB qui correspond aux habitudes du médecin prescripteur et prenant en compte les patients qui viennent consulter. La population étudiée est très hétérogène et on a cependant retrouvé une prédominance féminine (sexe ratio H/F à 0,73) décrite dans la littérature (21). La population pédiatrique est très peu représentée. Cela est expliqué par le peu de prescription des pédiatres, la demande de TAB n'étant pas intégrée dans leur pratique de routine. De plus, les enfants ne sont pas la population cible des HSM (8).

L'apport diagnostique a été évalué par classe médicamenteuse pour plus de clarté et simplicité mais pour la plupart des patients, la prescription associait des TAB à plusieurs médicaments. C'est notamment le cas pour les dossiers des patients ayant fait une réaction d'HS lors de l'induction anesthésique. Des TAB pour l'ensemble des médicaments suspectés d'HS (antibiotiques, anesthésiques) ont été prescrits simultanément afin de déterminer le médicament responsable de la réaction d'HS au moment du choc (62).

Les TAB pour lesquels on retrouve l'apport diagnostique le plus élevé, présent pour 64 % des patients, sont ceux vis-à-vis des NMBA, bien qu'aucun des tests n'a été retrouvé positif. En effet, l'association des TC et du TAB a une VPN excellente pour les NMBA comme décrite par Leysen et al (144) sur 272 patients avec 100 patients ayant une deuxième anesthésie. Le dosage des IgEs anti-ammonium quaternaires, au contraire, est moins prédictif cliniquement que les tests cellulaires et leur positivité n'empêche pas toujours une utilisation ultérieure de NMBA lors d'une nouvelle anesthésie (144). Les TAB aux NMBA prescrits au CHU de Bordeaux avaient pour but de rechercher les réactions croisées et donc de limiter les CI absolues à tous les NMBA pour les futures anesthésiques (principale indication du test décrite dans la littérature) (124).

L'apport diagnostique du TAB aux pénicillines est moins important que pour les tests au NMBA (présents pour 25 % des patients). D'après Chen et al. (145), on retrouve une preuve diagnostique dans seulement 10 à 30 % des patients « étiquetés » allergiques aux pénicillines. De plus, en cas d'allergie avérée à un type de BL, la plupart des patients pourront tolérer d'autres BL (146). Au vu de ces informations, il est donc recommandé de réaliser une réintroduction surveillée des pénicillines pour pallier aux faux négatifs et positifs des TC et au manque de sensibilité du TAB et des IgEs (72)(146)(Tableau 12). Cela explique la poursuite de la PEC pour la moitié des patients (5 avec un TAB aux pénicillines négatif et 1 avec un TAB positif mais des TC et des IgEs négatifs) par la réalisation d'un TRM afin de confirmer ou invalider le diagnostic.

Les réactions d'HS sélective à un type de céphalosporines sont fréquentes (147) et donc les réactions croisées entre les céphalosporines sont moins fréquentes que celles entre les pénicillines (146). Comme décrit dans les *case report* de Almeida et al. (147), pour 43 % des patients, le bilan de diagnostic d'HSM réalisé a confirmé une HS sélective à la céphalosporine responsable de la réaction avec une tolérance aux autres BL, de sorte qu'une réactivité croisée a été exclue. Une étude de Romano et al. de 2015 (148) qui impliquaient une centaine de patients avec suspicion d'HS aux céphalosporines a suggéré que l'HS aux céphalosporines ne semble pas être une HS de classe transversale. Des provocations orales ont été réalisées avec des céphalosporines avec des chaînes latérales différentes du médicament coupable et ont été bien tolérées. Par conséquent, il est important que les patients qui ont besoin d'un traitement alternatif se voient prescrire des céphalosporines avec différents déterminants de la chaîne latérale différents de ceux des médicaments coupables.

L'évaluation de l'apport diagnostique du TAB est partielle en raison de la perte de vue de certains patients (suite de la PEC par le médecin traitant après avis de l'allergologue) ou du

manque d'informations cliniques dans les dossiers de patients. Cependant, l'apport diagnostique évalué est relativement important d'après nos données et par classe médicamenteuse. Cela est encourageant pour le développement de ce test et sa mise en pratique dans les stratégies d'exploration des HSM au laboratoire d'Immunologie du CHU de Bordeaux.

Dans le cadre du développement du TAB au CHU de Bordeaux, il est possible d'envisager que des TAB pourraient être réalisés avant tout TRM comme le place Santos et al. dans leur publication (149). Cela pourrait entraîner une augmentation des prescriptions, de même si le TAB trouve une place au sein de la stratégie des pneumologues ou pédiatres allergologues pour les aéro- et trophallergènes respectivement.

Lors de l'analyse des demandes, on voit que toutes les HSM ne sont pas représentées. La question se pose sur l'intérêt de développer le TAB pour les médicaments moins ou non testés à l'heure actuelle : il convient donc d'en discuter avec le service de pharmacovigilance, les potentiels prescripteurs et d'évaluer leur besoin et leur envie de développer la stratégie du TAB pour les autres HSM les moins courantes comme les sels de platine ou les anticorps monoclonaux. Des indications autres que celles recueillies dans les dossiers analysés pourraient apparaître comme le suivi de tolérance à certaines immunothérapies.

CHAPITRE 2 : ANALYSE DES PRATIQUES DU TAB EN FRANCE

I - Objectifs

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les pratiques des laboratoires réalisant le TAB sur le territoire français aussi bien dans la réalisation technique que dans l'interprétation. L'objectif secondaire était d'évaluer le volume annuel de prescriptions dans les différents centres français et de déterminer son évolution. Ce travail permettait de relancer le projet de recueil de données sur le TAB déposé en 2017 au Référentiel des actes Innovants Hors Nomenclatures (RIHN) dirigé par le Dr Paul Rouzair (CHU de Clermont-Ferrand) et le Dr Pascale Roland Nicaise (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris - APHP) pour le réseau AllergoBioNet.

II - Matériels et Méthodes

Un questionnaire Google Form a été envoyé aux biologistes du réseau AllergoBioNet. Le recueil de données a été réalisé entre le 21/07/2020 et le 07/09/2020. Les réponses récoltées pour les laboratoires ne réalisant pas le TAB mais le sous-traitant ont été exclues. Le questionnaire pour les laboratoires réalisant le TAB permettait de récupérer des données sur :

- Le volume annuel de prescriptions de TAB (nombre de dossiers patient et nombre d'allergènes) et de TAB médicaments en rétrospectif sur les 3 dernières années
- L'organisation du laboratoire pour la réalisation du TAB (sur rendez-vous, à la demande, par série, nombre d'équivalent temps plein (ETP) technique et biologique, formation des internes, délai de rendu de résultats)
- Les conditions pré-analytiques (temps d'acheminement accepté, matrice utilisée)
- La réalisation technique (technique maison ou kit commercial, marqueurs d'identification et d'activation des basophiles utilisés, automate de CMF, origine des allergènes, nombre d'événements nécessaires et suffisants à l'interprétation, nombre de dilutions)
- La qualité (contrôle de qualité interne -CIQ-, évaluation externe de la qualité -EEQ-, coefficients de variation acceptables propres au laboratoire)
- Les indications et l'interprétation (choix du paramètre d'interprétation -CD max, CD sens, IS ...-, seuils de positivité) vis-à-vis des différentes classes médicamenteuses (BL, autres antibiotiques, NMBA, sels de platine, produits de contraste, IPP, AINS, anticorps monoclonaux)

Le réseau AllergoBioNet (<http://www.allergobionet.fr>) est une association réunissant des praticiens exerçant dans un cadre hospitalier et ayant pour but de réunir les compétences dans le domaine de l'immuno-allergologie biologique.

III - Résultats

Le taux de réponse des laboratoires réalisant le TAB était de 82 %. Les réponses au questionnaire ont été obtenues pour vingt-deux laboratoires. Quatorze laboratoires réalisaient le TAB, quatre ne réalisaient pas le TAB et n'avaient pas de demande de la part des cliniciens. Quatre laboratoires ne réalisaient pas le TAB mais sous-traitaient l'analyse à un laboratoire extérieur. La suite des résultats présentés concerne les laboratoires réalisant le TAB, c'est-à-dire 63 % (n=14). Depuis l'enquête pour le RIHN en 2017, deux centres supplémentaires réalisaient le TAB en France.

1 - Volume annuel des prescriptions de TAB



Figure 31 Évolution du nombre de TAB réalisés de 2017 à 2019 sur le territoire français. Somme des prescriptions en gras.

Il a été observé une augmentation progressive des prescriptions du TAB de 2017 à 2019 pour tous les laboratoires excepté pour ceux du CHU de Reims et Grenoble (Figure 31). Le nombre de prescriptions de TAB et TAB médicaments en 2017 pour le CHU de Marseille n'était pas disponible. Le pourcentage d'augmentation de prescriptions totales de TAB en trois ans en France est de 189 %.



Figure 32 Évolution de TAB médicaments réalisés de 2017 à 2019 sur le territoire français. Somme des prescriptions en gras.

Une augmentation totale des prescriptions du TAB médicaments a également été observée de 2017 à 2019 (Figure 32). Les données pour le CHU de Grenoble n'étaient pas disponibles. Le pourcentage d'augmentation de prescriptions totales de TAB médicaments en trois ans en France est de 178 %.

A l'exception du centre Sorbonne Université et du CHU de Toulouse, tous les laboratoires avaient des prescriptions de TAB médicaments dans le cadre de l'exploration d'HSM. Pour les CHU de Reims, Strasbourg et Lyon, 100 % des demandes de TAB étaient des TAB médicaments. Pour les CHU de Rennes, Saint-Etienne, Caen et l'hôpital Bichat de Paris, les TAB médicaments correspondaient à plus de 60 % des demandes.

Pour les CHU de Lille, Marseille, Clermont-Ferrand et Angers, les demandes de TAB médicaments correspondaient à 52 % des demandes globales de TAB (Tableau 17). Les autres indications dans ces laboratoires étaient l'exploration des allergies respiratoires (2/14) et alimentaires (7/14) ainsi que le suivi de désensibilisation au venin d'hyménoptères (9/14) et le suivi d'immunothérapie (6/14).

Tableau 17 Pourcentage des prescriptions de TAB médicaments vis à vis des prescriptions totales de TAB par année et par laboratoire

	Reims	Lyon	Sorbonne Université	Rennes	Saint Etienne	Lille	Marseille	Grenoble	Toulouse	Bichat	Angers	Strasbourg	Caen	Clermont Ferrand
2017	100,00%	100,00%	0,00%	61,11%	100,00%	22,52%			0,00%	66,67%	33,33%	100,00%	86,96%	100,00%
2018	100,00%	100,00%	0,00%	90,84%	88,89%	37,30%	51,72%		0,00%	66,67%	33,89%	100,00%	85,71%	14,29%
2019	100,00%	100,00%	0,00%	88,61%	88,89%	47,26%	26,19%		0,00%	66,67%	34,17%	100,00%	100,00%	12,12%

Le nombre de médicaments testés par dossier patient était en moyenne de 2,4 (entre 1 à 4,6).

2 - Organisation du laboratoire

Tous les laboratoires excepté celui du CHU de Saint-Etienne (1 série par semaine), réalisaient le TAB sur prise de rendez-vous. Le nombre d'ETP technique et biologique dépendait du volume des prescriptions et variait entre 0,1 et 3,5 ETP technique et entre 0,1 et 1 ETP biologique. Dans 78,6 % des cas, les internes n'étaient pas formés à valider l'analyse.

Le délai de rendu des résultats variait en fonction des laboratoires d'un rendu de résultat dans la journée à plus une semaine de délai (Figure 33).

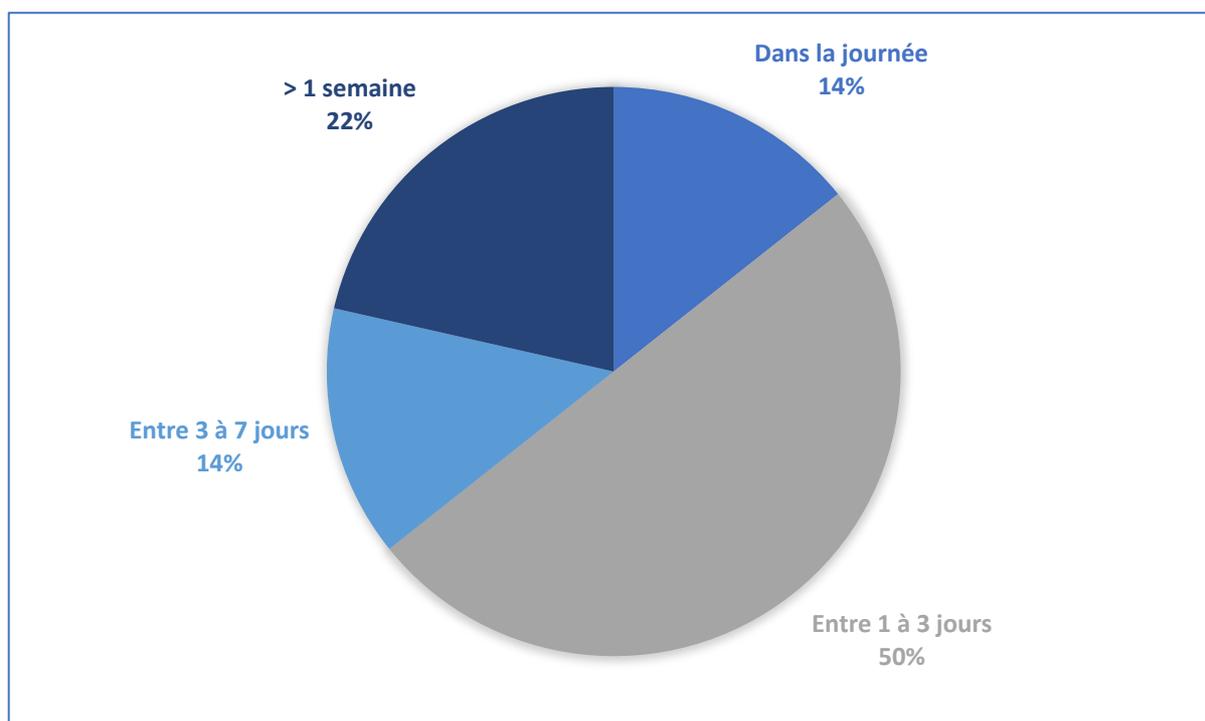


Figure 33 Délai de rendu des résultats (n=14)

3 - Conditions pré-analytiques

Les laboratoires acceptaient un temps d'acheminement à proportion égale inférieur à 4 heures pour 50 % et inférieur à 24 heures pour 50 %. Aucun des laboratoires n'acceptait un temps d'acheminement supérieur à 24 heures entre le prélèvement et la réalisation du TAB (Figure 34).

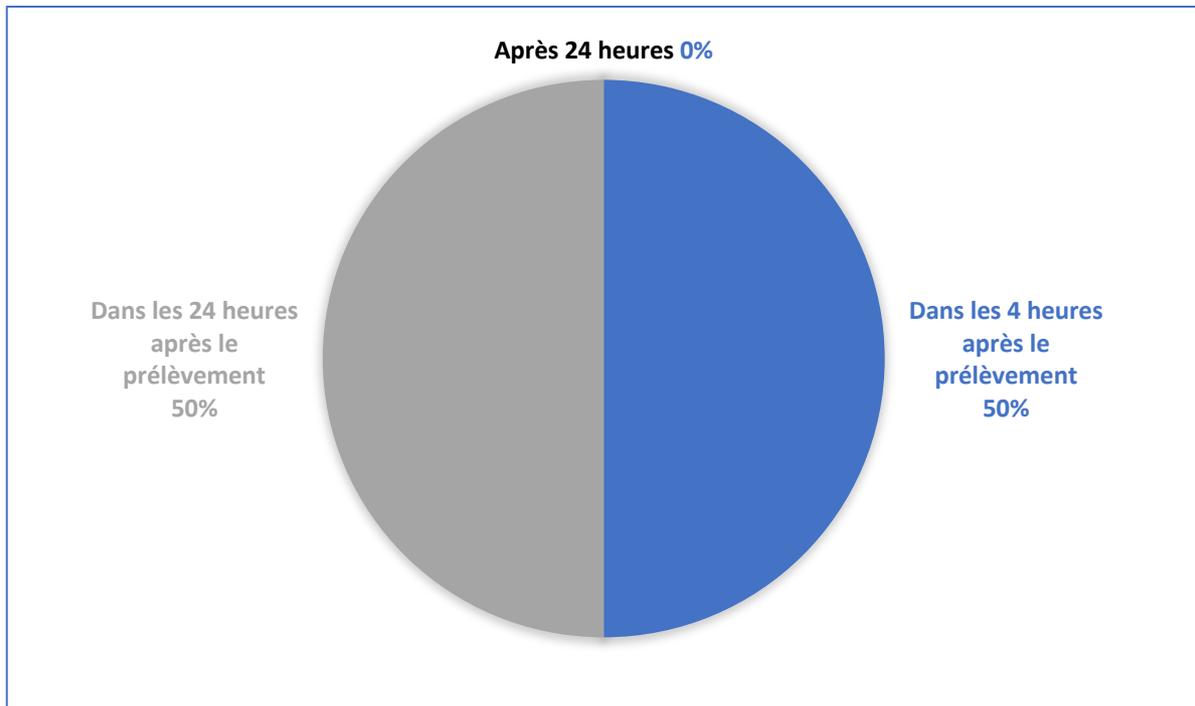


Figure 34 Temps d'acheminement au laboratoire accepté (n=14)

Tous les laboratoires réalisaient les TAB sur sang total prélevé sur tube EDTA excepté le CHU de Toulouse qui réalisait les TAB sur sang total sur tube hépariné. Au CHU de Marseille, le sang total prélevé sur tube hépariné était également accepté.

4 - Réalisation technique

4-1 Kit commercial

Tous les laboratoires utilisaient un kit commercial adapté ou non pour la réalisation de leur TAB. Trois laboratoires (21,4 %) utilisaient le kit de BECKMANN COULTER, Allergenicity®. Neuf laboratoires (64,3 %) utilisaient le kit de BUHLMANN FlowCast® (quatre l'ont adapté). Un des laboratoires utilisait une adaptation du kit de EXBIO BasoFlowEx® et un, une adaptation du kit BECKMANN COULTER DURAClone® IF basophile activation tubes.

4-2 Automates de CMF

Les automates de CMF utilisés par les laboratoires étaient des automates des fournisseurs BD Biosciences (FACS Lyrics, FACS Canto II, LSR II) (n=9/14 soit 64 %) et BECKMAN COULTER (Navios, FC500) (n=5/14 soit 36 %).

4-3 Nombre de polynucléaires basophiles

Pour les laboratoires interrogés, le nombre optimal pour interpréter le TAB était supérieur à 500 basophiles. La limite basse tolérée était de 200 basophiles.

4-4 Origine des allergènes et nombre de dilutions par TAB

Les allergènes utilisés pour les TAB médicaments étaient dans 38 % des cas des médicaments sous forme injectable provenant de la pharmacie à usage intérieur, dans 31 % des cas des allergènes « médicaments » commercialisés par BULHMANN. Quatre laboratoires (31 %) utilisaient les deux origines (Figure 35).

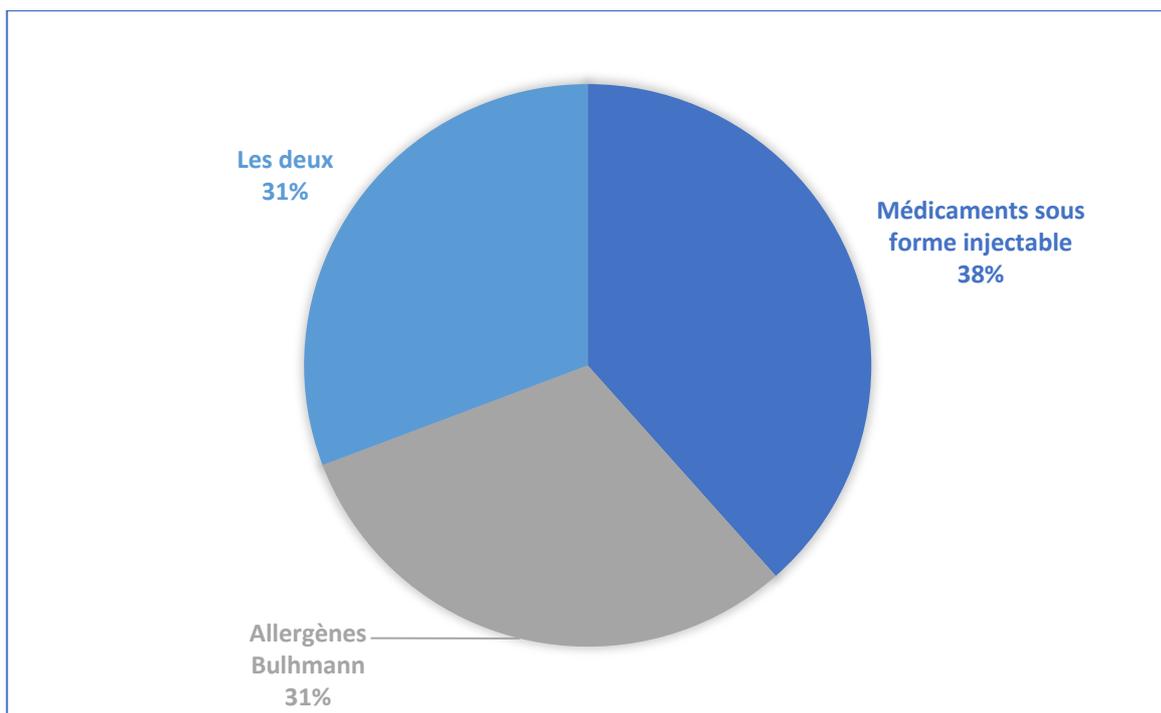


Figure 35 Origine des allergènes utilisés pour le TAB médicaments (n=14)

Le nombre de dilutions par test était de trois pour sept laboratoires sur quatorze. Cinq laboratoires réalisaient quatre dilutions par TAB et deux laboratoires réalisaient cinq dilutions par TAB (Figure 36).

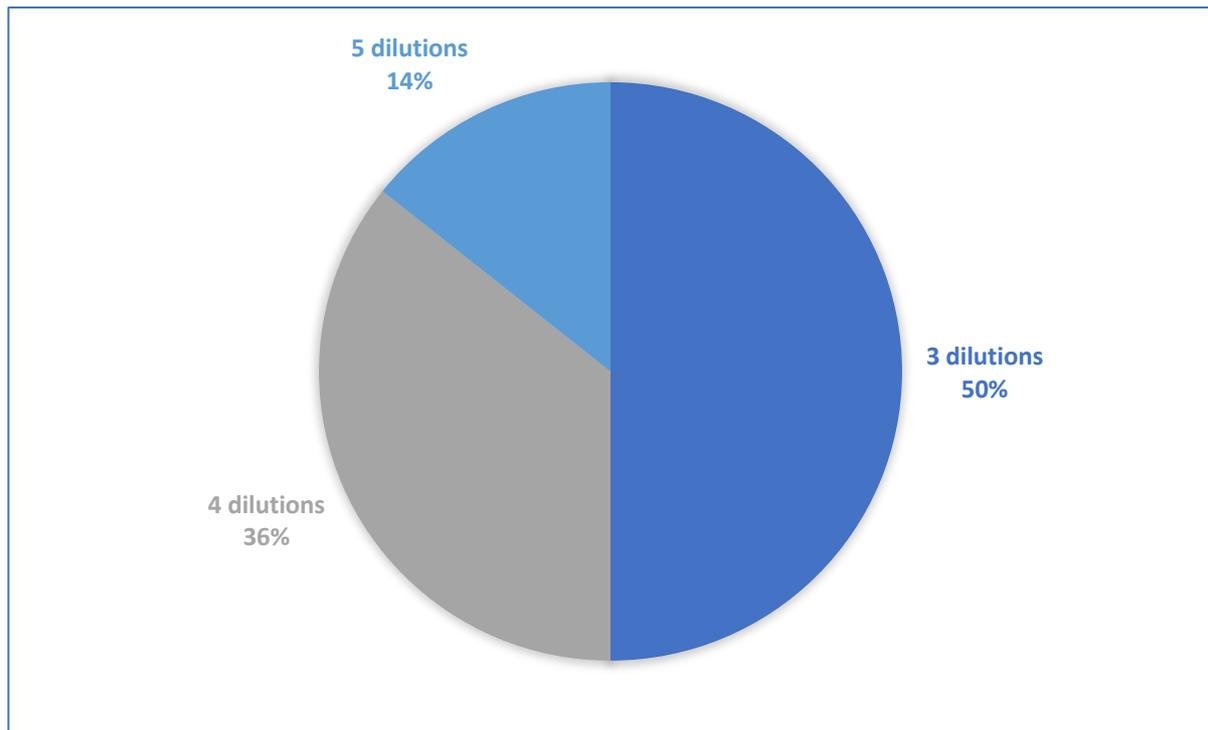


Figure 36 Nombre de dilutions utilisées (n=14)

4-5 Marqueurs d'identification et d'activation des basophiles

Pour les utilisateurs du kit de BULHMANN, les basophiles étaient identifiés grâce au couple CCR3^{pos}/SSC. Pour les utilisateurs des kits de BECKMANN COULTER, les basophiles étaient identifiés grâce à la combinaison des marqueurs CRTH2^{pos}/CD203c^{low/bright}/CD3^{neg}. Pour le laboratoire utilisant le kit adapté de EXBIO, les basophiles étaient identifiés grâce au marqueur CD203c^{pos}.

Le marqueur CD63 seul était utilisé comme marqueur d'activation des basophiles dans 46 % des laboratoires. Ces laboratoires utilisaient le kit de BULHMANN. Le marqueur CD203c était utilisé comme marqueur d'activation dans 23 % des laboratoires. Ils utilisaient tous le kit de BECKMANN COULTER. Les quatre laboratoires restants utilisaient une combinaison du CD63 et du CD203c pour étudier l'activation des basophiles. Ces laboratoires utilisaient des adaptations de kit commercial (Figure 37).

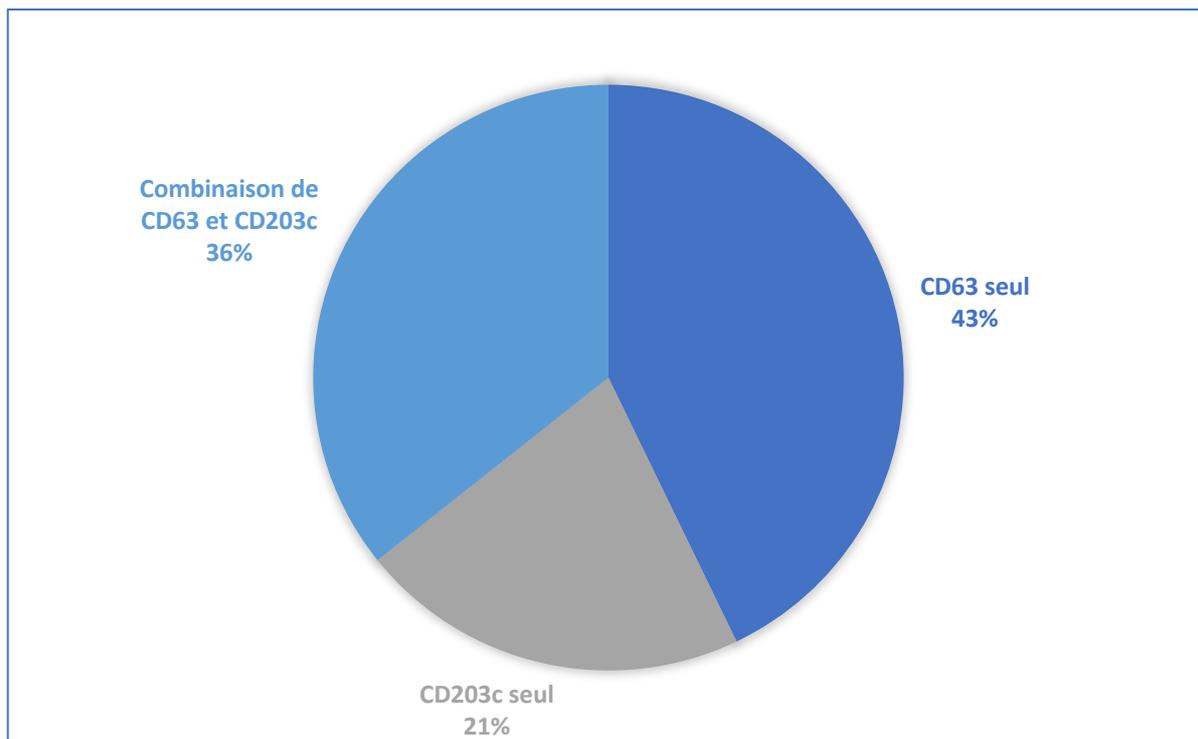


Figure 37 Marqueurs d'activation des basophiles selon les laboratoires (n=14)

5 - Qualité

Six laboratoires sur quatorze utilisaient des CIQ fournisseurs. Pour les huit autres laboratoires, aucun CIQ n'était utilisé. Concernant les EEQ, neuf des quatorze laboratoires utilisaient les EEQ EIL du réseau AllergoBioNet. L'analyse des CV acceptables propres au laboratoire n'a pas pu être réalisée du fait du manque de données et du manque de stabilité des échantillons.

6 - Indications et interprétation dans le cadre de l'exploration des HSM

Tous les laboratoires réalisaient des TAB qui avaient pour indication le diagnostic étiologiques des HSM lorsque les TC et/ou les IgEs sont non contributives ou indisponibles. La moitié des laboratoires réalisait également des TAB qui avaient pour indication le suivi de l'efficacité d'une éviction, d'une immunothérapie ou d'une induction de tolérance, lorsque la seule alternative pour ce suivi serait le TRM. Un des laboratoires réalisait des TAB avant la réalisation d'un TRM (Figure 38).

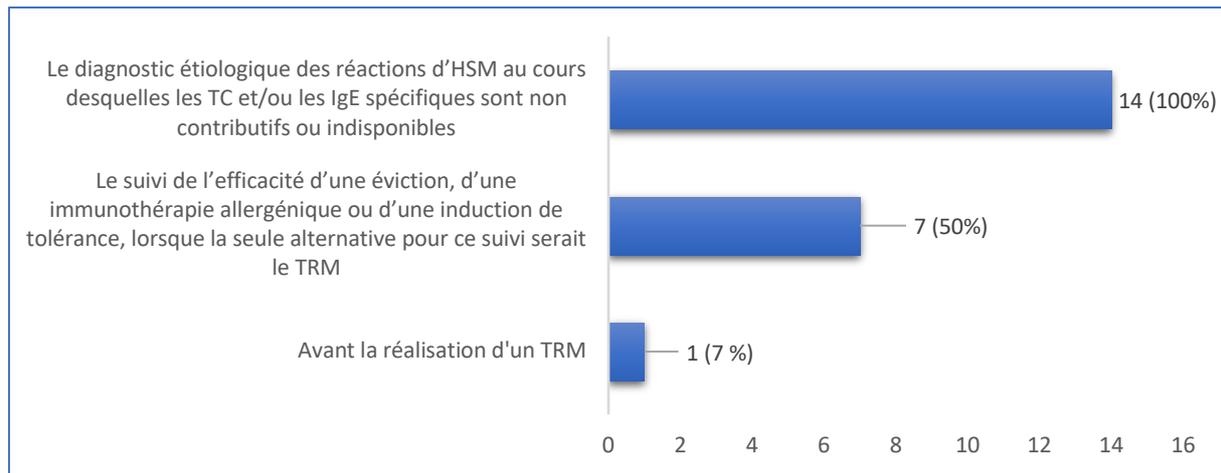


Figure 38 Indications des TAB réalisés par les laboratoires (n= 14)

Les paramètres utilisés pour l'interprétation des TAB dans le cadre des HSM étaient le CD max (pourcentage maximal de basophiles activés) associé à l'IS (% de basophiles activés en présence d'allergène / % de basophiles activés sans allergène) pour 42 % des laboratoires. Vingt-cinq pourcent des laboratoires utilisaient le pourcentage de basophiles activés en présence de l'allergène seul et 33% l'IS seul. Un des laboratoires utilisait l'Intensité Moyenne de Fluorescence (MFI).

Aucun consensus n'a pu être établi concernant les seuils de positivité vis-à-vis des différentes classes médicamenteuses testées. Seuls neuf des quatorze laboratoires ont répondu à cette partie. Les seuils de positivité variaient en fonction des laboratoires allant de 5 à 15 % des basophiles activés. Ils étaient cependant identiques d'une classe médicamenteuse à l'autre au sein du même laboratoire.

IV - Discussion

L'augmentation des prescriptions des TAB médicaments observée au CHU de Bordeaux est retrouvée au niveau national. Cette augmentation est probablement la conséquence du développement de cet outil diagnostique dans les laboratoires et est liée à l'intérêt des allergologues pour ce test (69)(108). Les conditions pré-analytiques décrites par les différents laboratoires semblent plutôt bien harmonisées sur le territoire français. Le temps d'acheminement au laboratoire (de 4 à 24 heures) ainsi que la matrice utilisée (sang total sur tube EDTA) correspondent aux recommandations retrouvées dans la littérature (85). Le délai de rendu de résultat est compatible avec une bonne PEC du patient car c'est un diagnostic étiologique ne nécessitant pas de décision en urgence vis-à-vis du médicament incriminé dans la grande majorité des cas. On observe cependant que le délai de rendu de résultat au CHU de

Bordeaux est bien supérieur au reste de la France et pourrait être raccourci dans le cas où le TAB ne serait plus sous-traité. A propos de la tolérance fixée par les laboratoires interrogés à 200 basophiles étudiés par le TAB correspond à ce qui est recommandé dans la littérature (108).

Tous les laboratoires utilisent comme point de départ technique un kit commercial et aucun n'utilise de technique maison. C'est un point positif pour la standardisation du TAB sur le territoire français. De plus, l'origine des allergènes et les multiples dilutions par test sont similaires d'un centre à l'autre. Dans l'étude de Depince-Berger et al. (150), les kits de FlowCast® (BULHMANN) et BasoFlowEx® (EXBIO) ont été comparés à partir de sang total (EDTA) de donneurs sains stimulés ou non respectivement par des anticorps monoclonaux anti-FcεRI et anti-IgE. Ils proposent une normalisation technique, indépendamment du système ou de l'automate de CMF après avoir démontré la corrélation des résultats entre les deux kits et les automates Navios (BECKMAN COULTER) et FACS CANTO II (BD Biosciences). En effet, 16 échantillons ont été préparés à l'aide des protocoles FlowCast et BasoFlowEx modifiés et analysés sur les deux automates. L'induction de la surexpression de CD63, préparée avec le protocole FlowCast, était étroitement corrélée lors de l'analyse sur FACS Canto II ou Navios ($r^2 = 0,958$) sans aucun biais. Il en est de même pour l'induction de l'expression de CD63 préparée avec le protocole BasoFlowEx ($r^2 = 0,938$). La MFI pour détecter les basophiles avec CCR3 sur le système FlowCast ($r^2 = 0,99$) ou CD203c sur BasoFlowEx ($r^2 = 0,887$) ainsi que les niveaux respectifs de MFI pour le CD63 ($r^2 = 0,969$ et $r^2 = 0,934$) étaient fortement corrélés entre les deux automates. Les résultats de cette étude montrent que quels que soient les kits et les automates de CMF utilisés par les laboratoires français, le résultat qualitatif du TAB sera le même. Aucune étude n'a pour le moment comparé le kit Allergenicity (BECKMANN COULTER) utilisé par certains des laboratoires français.

Le problème de l'interprétation du TAB (positif ou négatif) et des seuils de positivité qui diffèrent d'un laboratoire à l'autre persiste malgré cela car aucun consensus national ni international n'a encore été établi. Des tentatives d'harmonisation des protocoles TAB à l'échelle internationale sous l'égide de l'EAACI sont en cours (108).

A propos de la qualité, une partie des laboratoires étudiés fonctionnent déjà avec des CIQ et/ou des EEQ. Des règles de validation de méthode concernant la CMF ont été publiées (151) mais cela est compliqué à appliquer en raison du manque de normes internationales standardisées, de CIQ et de programme d'EEQ international. Un programme d'échange inter-laboratoire est proposé par AllergoBioNet pour permettre d'accréditer le TAB selon la norme

SO 15189. Pour pallier ce problème de CIQ, des contrôles positifs et négatifs sont réalisés pour chaque série de tests.

Dans tous les cas, la valeur quantitative de la dégranulation des basophiles n'est pas directement corrélée avec le risque ou la gravité de crise allergique. Le test doit donc être interprété avec la situation clinique du patient, compte tenu du type, de la gravité, du retard de la dernière réaction, de l'exposition aux allergènes, du traitement éventuel utilisé au moment du prélèvement de l'échantillon, de la comorbidité et des antécédents médicaux comme la mastocytose, les maladies pulmonaires ou cardiovasculaires. Le type d'allergène doit également être pris en compte.

L'analyse de ces réponses n'est pas exhaustive car tous les laboratoires réalisant le TAB sur le territoire français n'ont pas répondu, il manque *a priori* trois centres français. Cependant, l'obtention des réponses des centres avec une grosse production de résultats comme le CHU de Lyon, Marseille, Paris et Lille permet déjà une analyse importante des données.

DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'association de l'analyse des données locales du CHU de Bordeaux et des données nationales a permis d'avoir une vision globale des demandes.

En effet, si dans un premier temps au niveau local, il semble important de concentrer la réalisation du TAB pour l'indication du diagnostic des HS aux médicaments les plus courants, il est envisageable d'élargir les indications au suivi de désensibilisation des médicaments comme le font certains centres français mais également à d'autres indications (HS aux venins d'hyménoptère, alimentaire) quand les cliniciens qui explorent ces types d'HS seront sensibilisés à l'intérêt de cet outil biologique. L'approche optimale de l'HS nécessite souvent une approche d'équipe et les allergologues-immunologues doivent être des membres essentiels de cette équipe (152). En effet, ces problèmes offrent souvent l'occasion d'une interaction significative entre les allergologues-immunologistes et d'autres membres de la communauté médicale. Cela inclut les médecins de soins primaires ainsi que d'autres spécialistes médicaux et chirurgicaux, et ces interactions peuvent se produire non seulement en ambulatoire, mais aussi dans les hôpitaux et les services d'urgence. Un prochain objectif de ce travail sera donc de présenter les différentes applications du TAB et promouvoir sa place au sein des stratégies d'exploration des HS auprès de nos collègues médecins bordelais. Il existe d'ores et déjà plusieurs réunions de concertation pluridisciplinaire (RCP) au sein du CHU de Bordeaux (Peropératoire, Pédiatrie, Venins d'hyménoptères). L'interaction entre les différents acteurs dans le diagnostic de l'HSM est indispensable et nous savons qu'ils sont très demandeurs d'informations sur ce test *ex vivo*. Afin de préparer la mise en place du TAB au CHU de Bordeaux, une fiche de renseignements a été rédigée dans le but de récupérer toutes les informations nécessaires au biologiste à l'interprétation du TAB. En effet, nous venons de voir que pour une interprétation optimale, il était indispensable de connaître le contexte clinique, la gravité du choc, l'indication du TAB et les résultats des tests allergologiques déjà réalisés. Cette fiche de renseignements sera demandée pour toute prescription d'un TAB aux cliniciens (Annexe 2).

Au niveau national, un retour aux différents membres du réseau AllergoBioNet sera réalisé. Cette synthèse des réponses des différents centres permettra aux laboratoires de se comparer à leurs pairs, aussi bien au niveau de la demande (volume de prescriptions, indications), de la réalisation technique et du rendu de résultats. Afin de faciliter l'interprétation du TAB notamment pour les biologistes moins experts, une aide à l'interprétation reprenant des seuils de positivité, les limites et les particularités des TAB aux différentes classes médicamenteuses

est proposé à partir des données de la littérature et des retours des différents centres français réalisant le TAB (Annexe 3).

Pour finir, le projet de recherche du RIHN pourra être poursuivi dans le but de standardiser la réalisation du TAB et de définir de façon collégiale, selon les différentes méthodes, des seuils de positivité grâce à des études nationales ou internationales. Ainsi, les seuils de positivité décidés arbitrairement pour les différentes études sur les sensibilités et spécificités ne seront plus nécessaires.

L'apport diagnostique (=impact) a été évalué à partir des données bordelaises, où le manque de disponibilité de certaines données a pu être observé. Il pourrait également être évalué à l'échelle nationale en rétrospective s'il est possible d'obtenir les données cliniques et la suite de PEC des patients facilement ou bien en prospective comme cela a déjà été le cas pour l'étude CYPREANE évaluant la validité diagnostique du TAB pour l'identification de l'allergie des curares (Clinicaltrials.gov : 2010-A01022-37). En plus de l'évaluation de l'apport diagnostique du TAB, on pourrait élargir l'étude en évaluant la corrélation des résultats du TAB à la dose réactogène induisant une réaction clinique ou bien à la sévérité clinique des symptômes allergiques. Pour cela, il conviendrait d'avoir accès aux CD-max et CD-sens des TAB analysés mais également accès au dossier clinique des patients. Une collaboration avec les médecins sera indispensable afin de récolter ces données cliniques. La réalisation de TAB aux médicaments tels que les anticorps monoclonaux ou les sels de platine seraient adaptés pour ce type d'étude comme l'ont déjà réalisé Thévenot et al pour le suivi de désensibilisation d'adalimumab (138) ou encore Giavina et al. avec la carboplatine (135).

Pour finir, de nouvelles stratégies de déclenchement des basophiles et de marqueurs d'activation pourraient améliorer les performances diagnostiques du TAB et les projets sont en cours dans de nombreux centres de recherche notamment. De plus, étant donné que ces nouveaux marqueurs pourraient être activés par des voies alternatives, il semble théoriquement justifié d'anticiper que le TAB pourrait être applicable pour diagnostiquer les effets indésirables médicamenteux induits par les basophiles indépendants des IgE (108).

CONCLUSION

Les HSM sont des problèmes de santé importants et sous-estimés entraînant une comorbidité considérable et des coûts de santé supplémentaires notamment devant la difficulté de diagnostic. En effet, ce diagnostic des HSM est difficile pour plusieurs raisons : le type de réaction immunitaire, la liaison du médicament aux protéines (complexe haptène-porteur), la corrélation clinique (résultats des tests *in vitro* ou *in vivo* avec différentes concentrations de médicaments pouvant ne pas être en corrélation avec la clinique), la comédication et comorbidité (médicament déclencheur souvent administré en association avec d'autres médicaments chez des patients atteints de différentes maladies), la performance des tests *in vivo* et *in vitro* disponibles, et le TRM comme test de diagnostic de référence long et potentiellement dangereux limité aux centres spécialisés.

Le TAB comme test diagnostique des HSM est devenu un réel outil d'investigation et son apport diagnostique a été évalué très important. La possibilité de tester plusieurs médicaments en même temps aide à adapter le défi médicamenteux à des alternatives thérapeutiques sûres. La prescription de ce test, à la hausse, est donc déjà pratiquée par les médecins spécialisés comme les allergologues et les anesthésistes mais est encore trop peu connue et sous-exploitée. L'absence de standardisation de ce test récent et la difficulté d'interprétation de ces résultats en sont sûrement la cause. De nouvelles études sont donc nécessaires pour optimiser et standardiser la réalisation du TAB. Les biologistes doivent poursuivre leurs efforts pour que la PEC des patients avec une HSM soit la meilleure possible, rapide et sûre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. WHO Meeting on International Drug Monitoring: the Role of National Centres (1971: Geneva S, Organization WH. International drug monitoring: the role of national centres, report of a WHO meeting [held in Geneva from 20 to 25 September 1971]. World Health Organization; 1972.
2. Demoly P, Adkinson NF, Brockow K, Castells M, Chiriac AM, Greenberger PA, et al. International Consensus on drug allergy. *Allergy*. avr 2014;69(4):420-37.
3. Gomes ER, Demoly P. Epidemiology of hypersensitivity drug reactions. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. août 2005;5(4):309-16.
4. Nicolas JF. Hypersensibilité aux médicaments. *Rev Prat*. 2015;65:23.
5. Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA*. 15 avr 1998;279(15):1200-5.
6. Gandhi TK, Weingart SN, Borus J, Seger AC, Peterson J, Burdick E, et al. Adverse drug events in ambulatory care. *N Engl J Med*. 17 avr 2003;348(16):1556-64.
7. Gandhi TK, Burstin HR, Cook EF, Puopolo AL, Haas JS, Brennan TA, et al. Drug complications in outpatients. *J Gen Intern Med*. mars 2000;15(3):149-54.
8. Impicciatore P, Choonara I, Clarkson A, Provasi D, Pandolfini C, Bonati M. Incidence of adverse drug reactions in paediatric in/out-patients: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Br J Clin Pharmacol*. juill 2001;52(1):77-83.
9. Wong A, Seger DL, Lai KH, Goss FR, Blumenthal KG, Zhou L. Drug Hypersensitivity Reactions Documented in Electronic Health Records within a Large Health System. *J Allergy Clin Immunol Pract*. avr 2019;7(4):1253-1260.e3.
10. Gomes E, Cardoso MF, Praça F, Gomes L, Mariño E, Demoly P. Self-reported drug allergy in a general adult Portuguese population. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. oct 2004;34(10):1597-601.
11. Zhou L, Dhopeswarkar N, Blumenthal KG, Goss F, Topaz M, Slight SP, et al. Drug allergies documented in electronic health records of a large healthcare system. *Allergy*. 2016;71(9):1305-13.
12. Tacquard C, Collange O, Gomis P, Malinovsky J-M, Petitpain N, Mertes P-M. Réactions d'hypersensibilité immédiate per anesthésiques en France entre 2011 et 2012 : résultats de la 10e enquête du GERAP. *Rev Fr Allergol*. 1 avr 2016;56(3):304.
13. Mertes P-M. Anesthésie et allergie bilan du GERAP.pdf [Internet]. [cité 4 mai 2020]. Disponible sur: <https://icarweb.fr/IMG/pdf/17-17.pdf>
14. Mertes P-M, Laxenaire M-C. Épidémiologie des réactions anaphylactiques et anaphylactoïdes peranesthésiques en France. Septième enquête multicentrique (Janvier 2001-Décembre 2002). /data/revues/07507658/V0023I12/04004344/ [Internet]. [cité 4 mai 2020]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/28791>
15. Porebski G, Kwiecien K, Pawica M, Kwitniewski M. Mas-Related G Protein-Coupled Receptor-X2 (MRGPRX2) in Drug Hypersensitivity Reactions. *Front Immunol* [Internet]. 2018 [cité 5 nov 2019];9. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.03027/full>
16. Puxeddu I, Giori L, Rocchi V, Bazzichi L, Bombardieri S, Tavoni A, et al. Hypersensitivity reactions during treatment with infliximab, etanercept, and adalimumab. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol*. févr 2012;108(2):123-4.
17. Ford M, Sahbudin I, Filer A, Steven N, Fisher BA. High proportion of drug hypersensitivity reactions to sulfasalazine following its use in anti-PD-1-associated inflammatory arthritis. *Rheumatol Oxf Engl*. 01 2018;57(12):2244-6.
18. Turner PJ, Jerschow E, Umasunthar T, Lin R, Campbell DE, Boyle RJ. Fatal Anaphylaxis: Mortality Rate and Risk Factors. *J Allergy Clin Immunol Pract*. oct

2017;5(5):1169-78.

19. Bielen C, Bielen L, Likić R. Incidence, etiology, predictors and outcomes of suspected drug hypersensitivity reactions in a tertiary care university hospital's emergency department : A retrospective study. *Wien Klin Wochenschr.* juill 2019;131(13-14):329-36.
20. Park HJ, Park J-W, Yang M-S, Kim M-Y, Kim S-H, Jang GC, et al. Re-exposure to low osmolar iodinated contrast media in patients with prior moderate-to-severe hypersensitivity reactions: A multicentre retrospective cohort study. *Eur Radiol.* juill 2017;27(7):2886-93.
21. Norton AE, Broyles AD. Drug allergy in children and adults: Is it the double X chromosome? *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1 févr 2019;122(2):148-55.
22. Kowalski ML, Agache I, Bavbek S, Bakirtas A, Blanca M, Bochenek G, et al. Diagnosis and management of NSAID-Exacerbated Respiratory Disease (N-ERD)-a EAACI position paper. *Allergy.* 2019;74(1):28-39.
23. Tangamornsuksan W, Lohitnavy O, Kongkaew C, Chaiyakunapruk N, Reisfeld B, Scholfield NC, et al. Association of HLA-B*5701 genotypes and abacavir-induced hypersensitivity reaction: a systematic review and meta-analysis. *J Pharm Pharm Sci Publ Can Soc Pharm Sci Soc Can Sci Pharm.* 2015;18(1):68-76.
24. Phillips EJ, Bigliardi P, Bircher AJ, Broyles A, Chang Y-S, Chung W-H, et al. Controversies in drug allergy: Testing for delayed reactions. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;143(1):66-73.
25. Nassiri M, Babina M, Dölle S, Edenharter G, Ruëff F, Worm M. Ramipril and metoprolol intake aggravate human and murine anaphylaxis: evidence for direct mast cell priming. *J Allergy Clin Immunol.* févr 2015;135(2):491-9.
26. Gell PGH, Coombs RRA. The classification of allergic reactions underlying disease. *Gell PGH Coombs RA Ed Clin Asp Immunol 1st Ed Blackwell Oxf UK.* 1963;317–337.
27. Pichler WJ. Delayed drug hypersensitivity reactions. *Ann Intern Med.* 21 oct 2003;139(8):683-93.
28. Palomares O, Akdis M, Martín-Fontecha M, Akdis CA. Mechanisms of immune regulation in allergic diseases: the role of regulatory T and B cells. *Immunol Rev.* 2017;278(1):219-36.
29. Pichler WJ, Beeler A, Keller M, Lerch M, Posadas S, Schmid D, et al. Pharmacological Interaction of Drugs with Immune Receptors: The p-i Concept. *Allergol Int.* 2006;55(1):17-25.
30. Redwood AJ, Pavlos RK, White KD, Phillips EJ. Human leukocyte antigens: key regulators of T-cell mediated drug hypersensitivity. *HLA.* janv 2018;91(1):3-16.
31. White KD, Chung W-H, Hung S-I, Mallal S, Phillips EJ. Evolving models of the immunopathogenesis of T cell-mediated drug allergy: The role of host, pathogens, and drug response. *J Allergy Clin Immunol.* août 2015;136(2):219-34; quiz 235.
32. Schrijvers R, Gilissen L, Chiriac AM, Demoly P. Pathogenesis and diagnosis of delayed-type drug hypersensitivity reactions, from bedside to bench and back. *Clin Transl Allergy [Internet].* déc 2015 [cité 15 nov 2019];5(1). Disponible sur: <http://www.ctajournal.com/content/5/1/31>
33. Landsteiner K. Über heterogenetisches Antigen und Hapten. XV. Mitteilung über Antigene. 1921;119:294-306.
34. Faulkner L, Meng X, Park BK, Naisbitt DJ. The importance of hapten-protein complex formation in the development of drug allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* août 2014;14(4):293-300.
35. Naisbitt DJ, Farrell J, Gordon SF, Maggs JL, Burkhart C, Pichler WJ, et al. Covalent binding of the nitroso metabolite of sulfamethoxazole leads to toxicity and major histocompatibility complex-restricted antigen presentation. *Mol Pharmacol.* sept

2002;62(3):628-37.

36. Pichler WJ. Immune pathomechanism and classification of drug hypersensitivity. *Allergy*. août 2019;74(8):1457-71.

37. Schrijvers R, Gilissen L, Chiriac AM, Demoly P. Pathogenesis and diagnosis of delayed-type drug hypersensitivity reactions, from bedside to bench and back. *Clin Transl Allergy*. 3 sept 2015;5(1):31.

38. Zhu J. T helper 2 (Th2) cell differentiation, type 2 innate lymphoid cell (ILC2) development and regulation of interleukin-4 (IL-4) and IL-13 production. *Cytokine*. sept 2015;75(1):14-24.

39. Sutton BJ, Davies AM, Bax HJ, Karagiannis SN. IgE Antibodies: From Structure to Function and Clinical Translation. *Antibodies* [Internet]. 22 févr 2019 [cité 28 janv 2020];8(1). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6640697/>

40. Sutton BJ, Davies AM. Structure and dynamics of IgE–receptor interactions: FcεRI and CD23/FcεRII. *Immunol Rev*. 2015;268(1):222-35.

41. Hibbert RG, Teriete P, Grundy GJ, Beavil RL, Reljić R, Holers VM, et al. The structure of human CD23 and its interactions with IgE and CD21. *J Exp Med*. 19 sept 2005;202(6):751-60.

42. Michel M, Serrano E, Vitte J, Mezouar S. Mastocytes et basophiles. *Rev Francoph Lab*. avr 2020;2020(521):32-7.

43. Wu LC. Immunoglobulin E Receptor Signaling and Asthma. *J Biol Chem*. 23 sept 2011;286(38):32891-7.

44. Kinet JP. The high-affinity IgE receptor (Fc epsilon RI): from physiology to pathology. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:931-72.

45. Jönsson F, Chaisemartin L de, Granger V, Gouel-Chéron A, Gillis CM, Zhu Q, et al. An IgG-induced neutrophil activation pathway contributes to human drug-induced anaphylaxis. *Sci Transl Med* [Internet]. 10 juill 2019 [cité 23 juill 2020];11(500). Disponible sur: <https://stm.sciencemag.org/content/11/500/eaat1479>

46. Choi J-H, Kim M-A, Park H-S. An update on the pathogenesis of the upper airways in aspirin-exacerbated respiratory disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. févr 2014;14(1):1-6.

47. Abuaf N, Rostane H, Barbara J, Toly-Ndour C, Gaouar H, Mathelier-Fusade P, et al. Comparison of CD63 Upregulation Induced by NSAIDs on Basophils and Monocytes in Patients with NSAID Hypersensitivity. *J Allergy*. 2012;2012:580873.

48. Bas M. The Angiotensin-Converting-Enzyme-Induced Angioedema. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2017;37(1):183-200.

49. McNeil BD, Pundir P, Meeker S, Han L, Udem BJ, Kulka M, et al. Identification of a mast-cell-specific receptor crucial for pseudo-allergic drug reactions. *Nature*. 12 mars 2015;519(7542):237-41.

50. Bousquet P-J, Gaeta F, Bousquet-Rouanet L, Lefrant J-Y, Demoly P, Romano A. Provocation Tests in Diagnosing Drug Hypersensitivity. *Curr Pharm Des*. 1 sept 2008;14(27):2792-802.

51. Ring J, Messmer K. Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *The Lancet*. 26 févr 1977;309(8009):466-9.

52. Ring J, Laubenthal H, Meßmer K. Incidence and classification of adverse reactions to plasma substitutes. *Klin Wochenschr*. sept 1982;60(17):997-1002.

53. Mertes P-M, Malinovsky J-M, Petitpain N. Relation curares et pholcodine. */data/revues/18770320/v52i3/S1877032012000498/*. 12 avr 2012;52(33):185-8.

54. Demoly P, Kropf R, Pichler WJ, Bircher A. Drug hypersensitivity: questionnaire. *Allergy*. 1999;54(9):999-1003.

55. Kränke B, Aberer W. Skin testing for IgE-mediated drug allergy. *Immunol Allergy*

Clin North Am. août 2009;29(3):503-16.

56. Brockow K, Romano A, Blanca M, Ring J, Pichler W, Demoly P. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy*. janv 2002;57(1):45-51.

57. CHUV Service d'immunologie et allergie. Tests cutanés en allergologie [Internet]. CHUV. [cité 21 juill 2020]. Disponible sur: <https://www.chuv.ch/fr/ial/ial-home/professionnels-de-la-sante/maladies-allergiques/prick-tests-et-intradermoreactions-idr/>

58. Brockow K, Garvey LH, Aberer W, Atanaskovic-Markovic M, Barbaud A, Bilo MB, et al. Skin test concentrations for systemically administered drugs – an ENDA/EAACI Drug Allergy Interest Group position paper. *Allergy*. 2013;68(6):702-12.

59. Barbaud A, Gonçalo M, Bruynzeel D, Bircher A, European Society of Contact Dermatitis. Guidelines for performing skin tests with drugs in the investigation of cutaneous adverse drug reactions. *Contact Dermatitis*. déc 2001;45(6):321-8.

60. Kränke B, Aberer W. Skin Testing for IgE-Mediated Drug Allergy. *Immunol Allergy Clin North Am*. août 2009;29(3):503-16.

61. Defrance C, Bousquet P-J, Demoly P. Evaluating the negative predictive value of provocation tests with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy*. nov 2011;66(11):1410-4.

62. Société française d'anesthésie et réanimation (Sfar), Société française d'allergologie (SFA). Prévention du risque allergique peranesthésique. Texte court. *Ann Fr Anesth Réanimation*. mars 2011;30(3):212-22.

63. Savoye B, Berger A-E, Le Mauff B, Lambert C, le groupe AllergoBioNet pour. Apport de la biologie dans le diagnostic d'allergie immédiate. *Rev Francoph Lab*. avr 2020;2020(521):38-45.

64. Laroche D, Dubois F, Gérard J-L, Lefrançois C, André B, Vergnaud M-C, et al. Radioimmunoassay for plasma histamine: a study of false positive and false negative values. *Br J Anaesth*. avr 1995;74(4):430-7.

65. Les membres de la commission des référentiels de la SFMU, et experts de la SFA, du GFRUP et de la SP2A, Gloaguen A, Cesareo E, Vaux J, Valdenaire G, Ganansia O, et al. Prise en charge de l'anaphylaxie en médecine d'urgence. Recommandations de la Société française de médecine d'urgence (SFMU) en partenariat avec la Société française d'allergologie (SFA) et le Groupe francophone de réanimation et d'urgences pédiatriques (GFRUP), et le soutien de la Société pédiatrique de pneumologie et d'allergologie (SP2A). *Ann Fr Médecine Urgence*. sept 2016;6(5):342-64.

66. Mauff BL, Bienvenu F, Hemont C, Mariotte D, Nicaise PR, Sarrat A, et al. Dosage de l'histamine dans les chocs anaphylactiques : obsolète ou utile ? /data/revues/18770320/v56i3/S1877032016002268/ [Internet]. 6 avr 2016 [cité 5 mai 2020]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/1044531>

67. Schwartz LB, Yunginger JW, Miller J, Bokhari R, Dull D. Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in the circulation after anaphylaxis. *J Clin Invest*. mai 1989;83(5):1551-5.

68. Goikoetxea M, Sanz M, García B, Mayorga C, Longo N, Gamboa P, et al. Recommendations for the Use of In Vitro Methods to Detect Specific Immunoglobulin E: Are They Comparable? *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013;23:7.

69. Decuyper II, Mangodt EA, Van Gasse AL, Claesen K, Uyttbroek A, Faber M, et al. In Vitro Diagnosis of Immediate Drug Hypersensitivity Anno 2017: Potentials and Limitations. *Drugs RD*. juin 2017;17(2):265-78.

70. Van Der Poorten M-LM, Van Gasse AL, Hagendorens MM, Faber MA, De Puyssseleir L, Elst J, et al. Serum specific IgE antibodies in immediate drug hypersensitivity. *Clin Chim Acta* [Internet]. 6 févr 2020 [cité 13 févr 2020]; Disponible sur:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898120300607>

71. Mayorga C, Ebo DG, Lang DM, Pichler WJ, Sabato V, Park MA, et al. Controversies in drug allergy: In vitro testing. *J Allergy Clin Immunol*. 1 janv 2019;143(1):56-65.
72. Campos L, Galvão VR, Kalil J, Castells M, Giavina-Bianchi P. BAT in the Diagnosis of Drug Allergy: a Novel Tool in Clinical Daily Practice? *Curr Allergy Asthma Rep*. 11 mars 2019;19(4):20.
73. Steiner M, Harrer A, Himly M. Basophil Reactivity as Biomarker in Immediate Drug Hypersensitivity Reactions—Potential and Limitations. *Front Pharmacol* [Internet]. 17 juin 2016 [cité 13 févr 2020];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4911350/>
74. Fernández TD, Ariza A, Palomares F, Montañez MI, Salas M, Martín-Serrano A, et al. Hypersensitivity to fluoroquinolones. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 10 juin 2016 [cité 10 mai 2020];95(23). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4907647/>
75. Kowalski ML, Asero R, Bavbek S, Blanca M, Blanca-Lopez N, Bochenek G, et al. Classification and practical approach to the diagnosis and management of hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy*. 2013;68(10):1219-32.
76. Salas M, Gomez F, Fernandez TD, Doña I, Aranda A, Ariza A, et al. Diagnosis of immediate hypersensitivity reactions to radiocontrast media. *Allergy*. sept 2013;68(9):1203-6.
77. Trautmann A, Brockow K, Behle V, Stoevesandt J. Radiocontrast Media Hypersensitivity: Skin Testing Differentiates Allergy From Nonallergic Reactions and Identifies a Safe Alternative as Proven by Intravenous Provocation. *J Allergy Clin Immunol Pract*. oct 2019;7(7):2218-24.
78. Laguna J, Bogas G, Salas M, Mayorga C, Gonzales-Mendiola R, Donocio J, et al. The Basophil Activation Test Can Be of Value for Diagnosing Immediate Allergic Reactions to Omeprazole. *J Allergy Clin Immunol Pract*. oct 2018;6(5):1628-36.
79. Sainte-Laudy J, Vallon C, Guérin JC. [Analysis of membrane expression of the CD63 human basophil activation marker. Applications to allergologic diagnosis]. *Allerg Immunol (Leipz)*. juin 1994;26(6):211-4.
80. Knol EF, Mul FP, Jansen H, Calafat J, Roos D. Monitoring human basophil activation via CD63 monoclonal antibody 435. *J Allergy Clin Immunol*. sept 1991;88(3 Pt 1):328-38.
81. Sturm EM, Kranzelbinder B, Heinemann A, Groselj-Strele A, Aberer W, Sturm GJ. CD203c-based basophil activation test in allergy diagnosis: Characteristics and differences to CD63 upregulation. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010;78B(5):308-18.
82. Hemmings O, Kwok M, McKendry R, Santos AF. Basophil Activation Test: Old and New Applications in Allergy. *Curr Allergy Asthma Rep*. 15 2018;18(12):77.
83. Ebo DG, Dombrecht EJ, Bridts CH, Aerts NE, De Clerck LS, Stevens WJ. Combined analysis of intracellular signalling and immunophenotype of human peripheral blood basophils by flow cytometry: a proof of concept. *Clin Exp Allergy*. nov 2007;37(11):1668-75.
84. Ebo DG, Sainte-Laudy J, Bridts CH, Mertens CH, Hagendorens MM, Schuerwegh AJ, et al. Flow-assisted allergy diagnosis: current applications and future perspectives. *Allergy*. 2006;61(9):1028-39.
85. Bridts CH, Sabato V, Mertens C, Hagendorens MM, De Clerck LS, Ebo DG. Flow Cytometric Allergy Diagnosis: Basophil Activation Techniques. In: Gibbs BF, Falcone FH, éditeurs. *Basophils and Mast Cells* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2014 [cité 1 mars 2020]. p. 147-59. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-1173-8_11
86. Ebo DG, Bridts CH, Hagendorens MM, Aerts NE, Clerck LSD, Stevens WJ. Basophil activation test by flow cytometry: Present and future applications in allergology. *Cytometry B Clin Cytom*. 2008;74B(4):201-10.
87. Rouzair P, Bienvenu F. Basophiles : tests d'activation. *Biol Médicale*. 1 sept

2013;8(3):1-7.

88. Site Université de Reims Champagne Ardenne. Plateau technique de cytométrie en flux [Internet]. univ-reims.fr. [cité 21 juill 2020]. Disponible sur: <https://www.univ-reims.fr/urcacyt/urcacyt-plateau-technique-de-cytometrie-en-flux,17140,31442.html>
89. Eberlein B, Hann R, Eyerich S, Pennino D, Ring J, Schmidt-Weber CB, et al. Optimizing of the basophil activation test: Comparison of different basophil identification markers. *Cytometry B Clin Cytom.* juin 2015;88(3):183-9.
90. Kleine-Tebbe J, Erdmann S, Knol EF, MacGlashan DW, Poulsen LK, Gibbs BF. Diagnostic tests based on human basophils: potentials, pitfalls and perspectives. *Int Arch Allergy Immunol.* 2006;141(1):79-90.
91. De Week AL, Sanz ML, Gamboa PM, Aberer W, Bienvenu J, Blanca M, et al. Diagnostic tests based on human basophils: more potentials and perspectives than pitfalls. II. Technical issues. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2008;18(3):143-55.
92. Mangodt EA, Van Gasse AL, Bastiaensen A, Decuyper I, Uyttebroek A, Faber M, et al. Flow-assisted basophil activation tests in immediate drug hypersensitivity: two decades of Antwerp experience. *Acta Clin Belg.* 2 janv 2016;71(1):19-25.
93. Bühring H-J, Streble A, Valent P. The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) as a marker for cell activation and allergy diagnosis. *Int Arch Allergy Immunol.* avr 2004;133(4):317-29.
94. Boumiza R, Debard A-L, Monneret G. The basophil activation test by flow cytometry: recent developments in clinical studies, standardization and emerging perspectives. *Clin Mol Allergy CMA.* 30 juin 2005;3:9.
95. Boumiza R, Monneret G, Forissier M-F, Savoye J, Gutowski M-C, Powell WS, et al. Marked improvement of the basophil activation test by detecting CD203c instead of CD63. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* févr 2003;33(2):259-65.
96. Chirumbolo S, Vella A, Ortolani R, De Gironcoli M, Solero P, Tridente G, et al. Differential response of human basophil activation markers: a multi-parameter flow cytometry approach. *Clin Mol Allergy CMA.* 16 oct 2008;6:12.
97. Dvorak AM. Piecemeal degranulation of basophils and mast cells is effected by vesicular transport of stored secretory granule contents. *Chem Immunol Allergy.* 2005;85:135-84.
98. Hennersdorf F, Florian S, Jakob A, Baumgärtner K, Sonneck K, Nordheim A, et al. Identification of CD13, CD107a, and CD164 as novel basophil-activation markers and dissection of two response patterns in time kinetics of IgE-dependent upregulation. *Cell Res.* mai 2005;15(5):325-35.
99. Vilariño N, Miura K, MacGlashan DW. Acute IL-3 priming up-regulates the stimulus-induced Raf-1-Mek-Erk cascade independently of IL-3-induced activation of Erk. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 sept 2005;175(5):3006-14.
100. Mangodt EA, Van Gasse AL, Decuyper I, Uyttebroek A, Faber MA, Sabato V, et al. In vitro Diagnosis of Immediate Drug Hypersensitivity: Should We Go with the Flow? *Int Arch Allergy Immunol.* 2015;168(1):3-12.
101. Patil SU, Shreffler WG. Immunology in the Clinic Review Series; focus on allergies: basophils as biomarkers for assessing immune modulation. *Clin Exp Immunol.* 2012;167(1):59-66.
102. Sanz ML, Gamboa PM, Antépara I, Uasuf C, Vila L, Garcia-Avilés C, et al. Flow cytometric basophil activation test by detection of CD63 expression in patients with immediate-type reactions to betalactam antibiotics. *Clin Exp Allergy.* 2002;32(2):277-86.
103. Johansson SGO, Nopp A, Hage M van, Olofsson N, Lundahl J, Wehlin L, et al. Passive IgE-sensitization by blood transfusion. *Allergy.* 2005;60(9):1192-9.
104. Konradsen JR, Nordlund B, Nilsson OB, van Hage M, Nopp A, Hedlin G, et al. High

- basophil allergen sensitivity (CD-sens) is associated with severe allergic asthma in children. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol*. juin 2012;23(4):376-84.
105. Nopp A, Cardell LO, Johansson SGO. CD-Sens Can Be a Reliable and Easy-to-Use Complement in the Diagnosis of Allergic Rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;161(1):87-90.
106. Hoffmann HJ, Santos AF, Mayorga C, Nopp A, Eberlein B, Ferrer M, et al. The clinical utility of basophil activation testing in diagnosis and monitoring of allergic disease. *Allergy*. 2015;70(11):1393-405.
107. Kepley CL, Youssef L, Andrews RP, Wilson BS, Oliver JM. Syk deficiency in nonreleaser basophils. *J Allergy Clin Immunol*. août 1999;104(2 Pt 1):279-84.
108. Hausmann OV, Gentinetta T, Bridts CH, Ebo DG. The basophil activation test in immediate-type drug allergy. *Immunol Allergy Clin North Am*. août 2009;29(3):555-66.
109. Coleman JW, Godfrey RC. The number and affinity of IgE receptors on dispersed human lung mast cells. *Immunology*. déc 1981;44(4):859-63.
110. Malveaux FJ, Conroy MC, Adkinson NF, Lichtenstein J, Lichtenstein LM. IgE receptors on human basophils. Relationship to serum IgE concentration. *J Clin Invest*. 1978;62(1):176-81.
111. Gasse ALV, Sabato V, Uyttebroek AP, Elst J, Faber MA, Hagendorens MM, et al. Immediate moxifloxacin hypersensitivity: Is there more than currently meets the eye? *Allergy*. 2017;72(12):2039-43.
112. Eržen R, Košnik M, Silar M, Korošec P. Basophil response and the induction of a tolerance in venom immunotherapy: a long-term sting challenge study. *Allergy*. juin 2012;67(6):822-30.
113. Thyagarajan A, Jones SM, Calatroni A, Pons L, Kulis M, Woo CS, et al. Evidence of pathway-specific basophil anergy induced by peanut oral immunotherapy in peanut-allergic children. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. août 2012;42(8):1197-205.
114. Nopp A, Johansson SGO, Ankerst J, Bylin G, Cardell LO, Grönneberg R, et al. Basophil allergen threshold sensitivity: a useful approach to anti-IgE treatment efficacy evaluation. *Allergy*. mars 2006;61(3):298-302.
115. Wanich N, Nowak-Węgrzyn A, Sampson HA, Shreffler WG. Allergen-specific basophil suppression associated with clinical tolerance in patients with milk allergy. *J Allergy Clin Immunol*. avr 2009;123(4):789-794.e20.
116. Song Y, Wang J, Leung N, Wang LX, Lisann L, Sicherer SH, et al. Correlations between basophil activation, allergen-specific IgE with outcome and severity of oral food challenges. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1 avr 2015;114(4):319-26.
117. Aranda A, Mayorga C, Ariza A, Doña I, Rosado A, Blanca-Lopez N, et al. In vitro evaluation of IgE-mediated hypersensitivity reactions to quinolones. *Allergy*. 2011;66(2):247-54.
118. Subramanian H, Gupta K, Ali H. Roles of MAS-related G protein coupled receptor-X2 (MRGPRX2) on mast cell-mediated host defense, pseudoallergic drug reactions and chronic inflammatory diseases. *J Allergy Clin Immunol*. sept 2016;138(3):700-10.
119. Pruzansky JJ, Grammer LC, Patterson R, Roberts M. Dissociation of IgE from receptors on human basophils. I. Enhanced passive sensitization for histamine release. *J Immunol Baltim Md 1950*. oct 1983;131(4):1949-53.
120. Yasui K, Matsuyama N, Okamura-Shiki I, Ikeda T, Ishii K, Furuta RA, et al. Clinical utility of a passive immune basophil activation test for the analysis of allergic transfusion reactions. *Transfusion (Paris)*. 2017;57(9):2084-95.
121. Mertes P-M, Laxenaire MC, Lienhart A, Aberer W, Ring J, Pichler WJ, et al. Reducing the risk of anaphylaxis during anaesthesia: guidelines for clinical practice. 2005;15:11.

122. Kvedariene V, Kamey S, Ryckwaert Y, Rongier M, Bousquet J, Demoly P, et al. Diagnosis of neuromuscular blocking agent hypersensitivity reactions using cytofluorimetric analysis of basophils. *Allergy*. 2006;61(3):311-5.
123. Hagau N, Gherman-Ionica N, Sfichi M, Petrisor C. Threshold for basophil activation test positivity in neuromuscular blocking agents hypersensitivity reactions. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 23 oct 2013;9(1):42.
124. Uyttebroek AP, Sabato V, Leysen J, Bridts CH, De Clerck LS, Ebo DG. Flowcytometric Diagnosis of Atracurium-Induced Anaphylaxis. *Allergy*. oct 2014;69(10):1324-32.
125. De Week AL, Sanz ML, Gamboa PM, Aberer W, Sturm G, Bilo MB, et al. Diagnosis of immediate-type beta-lactam allergy in vitro by flow-cytometric basophil activation test and sulfidoleukotriene production: a multicenter study. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19(2):91-109.
126. Abuaf N, Rostane H, Rajoely B, Gaouar H, Autegarden JE, Leynadier F, et al. Comparison of two basophil activation markers CD63 and CD203c in the diagnosis of amoxicillin allergy. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. juin 2008;38(6):921-8.
127. Demir S, Gelincik A, Akdeniz N, Aktas-Cetin E, Olgac M, Unal D, et al. Usefulness of In Vivo and In Vitro Diagnostic Tests in the Diagnosis of Hypersensitivity Reactions to Quinolones and in the Evaluation of Cross-Reactivity: A Comprehensive Study Including the Latest Quinolone Gemifloxacin. *Allergy Asthma Immunol Res*. juill 2017;9(4):347-59.
128. Ben Said B, Berard F, Bienvenu J, Nicolas J-F, Rozieres A. Usefulness of basophil activation tests for the diagnosis of IgE-mediated allergy to quinolones. *Allergy*. avr 2010;65(4):535-6.
129. Rouzair P, Nosbaum A, Denis L, Bienvenu F, Bérard F, Cozon G, et al. Negativity of the basophil activation test in quinolone hypersensitivity: a breakthrough for provocation test decision-making. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;157(3):299-302.
130. Gómez E, Blanca-Lopez N, Torres MJ, Requena G, Rondon C, Canto G, et al. Immunoglobulin E-mediated immediate allergic reactions to dipyrone: value of basophil activation test in the identification of patients. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. août 2009;39(8):1217-24.
131. Gamboa P, Sanz ML, Caballero MR, Urrutia I, Antépara I, Esparza R, et al. The flow-cytometric determination of basophil activation induced by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is useful for in vitro diagnosis of the NSAID hypersensitivity syndrome. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. sept 2004;34(9):1448-57.
132. Gamboa PM, Sanz ML, Caballero MR, Antépara I, Urrutia I, Jáuregui I, et al. Use of CD63 expression as a marker of in vitro basophil activation and leukotriene determination in metamizol allergic patients. *Allergy*. 2003;58(4):312-7.
133. Ariza A, García-Martín E, Salas M, Montañez MI, Mayorga C, Blanca-Lopez N, et al. Pyrazolones metabolites are relevant for identifying selective anaphylaxis to metamizole. *Sci Rep [Internet]*. 31 mars 2016 [cité 19 mai 2020];6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4814906/>
134. Iwamoto T, Yuta A, Tabata T, Sugimoto H, Gabazza EC, Hirai H, et al. Evaluation of basophil CD203c as a predictor of carboplatin-related hypersensitivity reaction in patients with gynecologic cancer. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(9):1487-95.
135. Giavina-Bianchi P, Galvão VR, Picard M, Caiado J, Castells MC. Basophil Activation Test is a Relevant Biomarker of the Outcome of Rapid Desensitization in Platinum Compounds-Allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract*. juin 2017;5(3):728-36.
136. Caiado J, Picard M. Diagnostic tools for hypersensitivity to platinum drugs and taxanes: skin testing, specific IgE, and mast cell/basophil mediators. *Curr Allergy Asthma*

Rep. août 2014;14(8):451.

137. De la Varga Martínez R, Gutiérrez Fernández D, Foncubierta Fernández A, Andrés García JA, Medina Varo F. Rapid subcutaneous desensitization for treatment of hypersensitivity reactions to etanercept in two patients with positive basophil activation test. *Allergol Int Off J Jpn Soc Allergol.* 2017;66(2):357-9.
138. Thévenot J, Ferrier le Bouëdec M, Buisson A, Bommelaer G, D'Incan M, Rouzaire P. Rapid Desensitization to Adalimumab Is Associated With Decreased Basophil Sensitivity. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 23 avr 2019;29(2):141-3.
139. González-de-Olano D, Morgado JM, Juárez-Guerrero R, Sánchez-Muñoz L, Letellez-Fernández J, Malón-Giménez D, et al. Positive basophil activation test following anaphylaxis to pertuzumab and successful treatment with rapid desensitization. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 1 mars 2016;4(2):338-40.
140. Piva E, Chieco-Bianchi F, Krajcar V, Aversa S, Plebani M. Adverse reactions in patients with B-cell lymphomas during combined treatment with rituximab: In vitro evaluation of rituximab hypersensitivity by basophil activation test. *Am J Hematol.* 2012;87(11):E130-1.
141. Elfau MS, Sotillos MG, Clavería LF, Arazuri NS, Ballarín SM, Sanz CC. CASE REPORTS Study of Cross-Reactivity Between Proton Pump Inhibitors.
142. Pérez Pimiento AJ, Prieto Lastra L, Rodríguez Cabrerros MI, Gonzales-Sanchez LA, Rodríguez Mosquera M, Garcia Cubero A. Hypersensitivity to lansoprazole and rabeprazole with tolerance to other proton pump inhibitors - ProQuest. *J Allergy Clin Immunol.* mars 2006;117(3):707-8.
143. Sainte-Laudy J, Boumediene A, Touraine F, Orsel I, Brianchon C, Bonnaud F, et al. Use of both CD63 up regulation and IgE down regulation for the flow cytometric analysis of allergen induced basophil activation. Definition of an activation index. *Inflamm Res Off J Eur Histamine Res Soc Al.* juill 2007;56(7):291-6.
144. Leysen J, Uyttebroek A, Sabato V, Bridts CH, De Clerck LS, Ebo DG. Predictive value of allergy tests for neuromuscular blocking agents: tackling an unmet need. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* août 2014;44(8):1069-75.
145. Chen JR, Tarver SA, Alvarez KS, Tran T, Khan DA. A Proactive Approach to Penicillin Allergy Testing in Hospitalized Patients. *J Allergy Clin Immunol Pract.* juin 2017;5(3):686-93.
146. Comte D, Petitpierre S, Spertini F. Allergie aux b-lactamines. *Rev Médicale Suisse.* 2012;(8):836-42.
147. Almeida JP, Lopes A, Melo AC, Santos MCP, Barbosa MP. Selective hypersensitivity to cefazolin and contribution of the basophil activation test. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2017;49(2):84-7.
148. Romano A, Gaeta F, Valluzzi RL, Maggioletti M, Zaffiro A, Caruso C, et al. IgE-mediated hypersensitivity to cephalosporins: Cross-reactivity and tolerability of alternative cephalosporins. *J Allergy Clin Immunol.* sept 2015;136(3):685-691.e3.
149. Santos AF, Lack G. Basophil activation test: food challenge in a test tube or specialist research tool? *Clin Transl Allergy.* 15 mars 2016;6(1):10.
150. Depince-Berger A-E, Sidi-Yahya K, Jeraiby M, Lambert C. Basophil activation test: Implementation and standardization between systems and between instruments. *Cytometry A.* 1 mars 2017;91(3):261-9.
151. Sack U, Barnett D, Demirel GY, Fossat C, Fricke S, Kafassi N, et al. Accreditation of flow cytometry in Europe. *Cytometry B Clin Cytom.* mai 2013;84(3):135-42.
152. Schatz M, Fiocchi A, Jensen-Jarolim E, Ballas ZK. Controversies in drug allergy: consensus documents from the world experts. *World Allergy Organ J.* 2018;11:41.

ANNEXES

Annexe 1
TABLEAU RECAPITULATIF DES PATIENTS AVEC UN TAB A BORDEAUX DE 2015 à 2017

N	Sexe /Age	ATCD allergiques Non =0 Oui = 1	Grade de la réaction d'HS Selon Ring et Messmer	Classe médicamenteuse	Médicament suspecté d'HS	Indications du TAB	Résultats TAB	Cinétique de la tryptase	Résultats IgEs	Résultats TC	Suite de la PEC	Impact Non = 0 Oui = 1	Prescripteur
							Négatif = 0 Positif =1 Limite de positivité =2 Ininterprétable =3 Pas de résultat = PDR	Non en faveur = 0 En faveur = 1 NREA = non réalisé	(en kUA/L) NREA = non réalisés Pas de résultats = PDR	Négatif = 0 Positif =1 INI =2 NREA = non réalisés			
1	M/39	1	I	ATB	Amoxicilline	1	0	NREA	0,059	0 (Amox + Ceph.)	TRM à réaliser	0	Dr GUEZ
2	F/45	1 (graminés)	I	ATB	Cefuroxime	2 + 7	0	NREA	NREA	0	CI des ceph. Pas de CI pour Pén.	0	Dr GUEZ
3	F/40	0	II	ATB	Amoxicilline + Ac. Clav	6 + 7	PDR	NREA	< 0,1	1 (IDR retardé)	?	?	Dr GUEZ
4	M/68	1 (pollinose)	I II	AINS Anti-émétique	Solumedrol Ondansétron	?	PDR PDR	NREA	PDR PDR	1 1	? ?	? ?	Dr GUEZ
5	F/61	1	I	ATB	Amoxicilline Amoxicilline + Ac. Clav	?	PDR PDR	0	PDR PDR	? ?	? ?	? ?	Dr GUEZ
6	M/46	0	III	ATB	Amoxicilline + Ac. Clav	1	0	1	<0,01	0	Réaliser TC (Ac. Clav) + interrogatoire	0	Dr GUEZ
7	M/10	1 (acariens)	I	Antalgique	Paracétamol	2 + 3	3	NREA	<0,01	NREA	TRM + CI	0	Dr GUEZ
8	F/45	1 (graminés)	I	ATB	Cefazoline	2 + 7	0	NREA	NREA	1	CI des ceph. Pas de CI pour Pén.	0	Dr GUEZ
9	M/69	0	I	ATB	Ceftriaxone	4	0	NREA	NREA	1 (Amox, Aug) 0 (céph.)	CI (C3G et Pen.) sauf ceftazidine	0	Dr KASSAB
10	F/53	0	IV	ATB	Amoxicilline Amoxicilline + Ac. Clav Ceftriaxone Céfuroxime	2	0 0 0	NREA	0,015 0,030	NREA NREA	TC à faire	0 0	Dr GUEZ
11	F/50	1 (familiaux)	II	ATB	Ceftriaxone Amoxicilline	1 + 2	PDR (NC) PDR (NC)	NREA	0,16	1 1	? ?	? ?	Dr GUEZ
12	F/27	1 (crevette/ acariens)	I	ATB	Amoxicilline Cefazoline	2	0 0	NREA	NREA 0,065	NREA NREA	? ?	? ?	Dr GUEZ

13	F/55	1 (asthme)	I	PCI	Ultravist Iomeron	6	2 0	NREA	<0,05 <0,05	1 0 (mais oedème)	CI Iomeron et ultravist mais pas omnipaque	1 1	Dr GUEZ
14	M/61	0	Crises convulsives	ATB	Cefazoline	7	0	0	<0,01	0	Pas de CI à toutes les NL	1	Dr GUEZ
15	M/84	0	I	Antalgique	Paracétamol	5 + 7	0	NREA	<0,01	NREA	CI et mise sous anti-H1 pour chir si besoin	0	Dr GUEZ
16	M/20	0	I	Antalgique ATB	Phlocodine Amoxicilline + Ac. Clav Amoxicilline	6 + 7 + 8	0 0 1	NREA	<0,01 <0,01	0 0	TRM à réaliser	0 0	Dr GUEZ
17	F/49	0	II	ATB	Doxycycline	7	0	NREA	NREA	NREA	TRM à réaliser	0	Dr GUEZ
18	M/63	0	III	ATB NMBA	Cefazoline Atracurium	1	0 2	1	1,46 0,061	0 0	TRM RAS CI à l'atracurium	1 1	Dr BORDES
19	F/55		I	Désinfectant	Betadine	3	PDR	NREA	?	?	?	?	Dr GUEZ
20	F/24	0	I	Anti-épileptique	Sumatriptan	7	0	NREA	NREA	0	TRM RAS	1	Dr GUEZ
21	M/55	1	II	ATB	Ceftriaxone	1	0	NREA	1,305	0	CI aux BL	0	Dr GUEZ
22	F/66	0	II	NMBA	Suxamethonium	1	0	1	<0,1	0 (tous les NMBA)	CI du suxa. Pas de CI aux autres curares	0	Dr PELLERIN
23	F/44	0	III	ATB	Amoxicilline	7	0	NREA	<0,01	0	TRM à réaliser	0	Dr GUEZ
24	F/36	0	III	ATB NMBA	Cefazoline Atracurium Celocurine Acide	2	0 0 0	1	<0,05 <0,05	2 2 2	PFC et CGR responsable	1 1 1	Dr PELLERIN
25	F/56	0	II	AINS ATB	tiapropheniq Ofloxacine	2 + 3	0 0	NREA	NREA NREA	NREA 0	TPO ciplox RAS CI SURGAM et oflacet	1 1	Dr GUEZ
26	M/69	0	I	Anti-épileptique	Valproate de sodium	3	0	NREA	NREA	NREA	?	?	Dr GUEZ
27	M/19	0	I	Vaccins	Anti-tétanos	6	2	NREA	5	1 (IDR)	CI CAT en cas de	1	Dr GUEZ
28	F/62	0	II	ATB NMBA	Céfazoline Atracurium	8	0 0	NREA	3,1 0,31	0 0	CI (pen) car IgEs + et HC TRM RAS levée de la CI	1 1	Dr GUEZ

29	F/79	1 (chimio ou pansements)	III	Produit injecté	Bleu de patenté	3	0	NREA	NREA	0 (bleu et anesthésiques)	Nouvelle chirurgie OK avec anti-H1	1	Dr PELLERIN
30	M/29		III	Anesthésique	Propofol Propofol	1	3 3	1 1	<0,01 0,016	0 0	TAB INI	0 0	Dr PELLERIN
31	F/70	1 (pén.)	II	ATB	Cefuroxime	1	0	NREA	<0,01	0 (toutes les BL)	CI cefuroxime Pas de CI aux autres BL	1	Dr GUEZ
32	F/39	1 (poisson)	II	ATB	Metronidazole Amoxicilline + Ac. Clav	4 1	0 PDR	NREA	NREA PDR	NREA 1 (Ceph.) 0 (Amox)	? ?	? ?	Dr GUEZ
33	F/69		III	NMBA	Suxaméthonium	1	0	NREA	NREA	0 (tous les NMBA)	CI du suxa. Pas de CI aux autres curares	0	Dr PELLERIN
34	F/71	1 (graminés/k iwi)	III	ATB	Amoxicilline Amoxicilline + Ac. Clav	1	PDR PDR	1	<0,01 <0,01	0 (mais dermographiqu e)	? ?	? ?	Dr GUEZ
35	F/45	0	III	ATB	Amoxicilline Ceftriaxone	2	PDR PDR	NREA	PDR PDR	2 2	? ?	? ?	Dr GUEZ
36	M/65	0	III	ATB	C1G C2G C3G Amoxicilline Amoxicilline + Ac. Clav	1 + 2 1	0 0 0 1 1	NREA	<0,01 0,021 <0,01 0,019 0,019	0 0 0 0 0	Levée de la CI CI Amoxicilline	1 1 1 1 1	Dr GUEZ
37	M/44	0	Angine	ATB	Amoxicilline Amoxicilline + Ac. Clav	1	0 0	NREA	<0,01 <0,01	0 0	TRM à réaliser	0 0	Dr GUEZ
38	F/74	1 (amox., codeine et denoral)	II	ATB NMBA	Vancomycine Cisatracurium Atracurium	2	0 0 0	1	NREA <0,01 <0,01	1 (vanco) 2 2	Levée de la CI aux curares	1 1 1	Dr BORDES
39	F/35	0	?	ATB	Cefazoline	1	0	1	NEG	0	?	? ?	Dr GUEZ
40	F/63	1 (pen.)	III	PCI	Iomeron	2	0	NREA	<0,01	2	CI de principe du iomeron Pas de CI autres	0	Dr GUEZ
41	M	1 (pén.)	I	ATB	Amoxicilline	1	0	NREA	<0,01	0 (amox + Ceph.)	TRM à réaliser	0	Dr GUEZ

42	M/52	0	III	NMBA	Suxaméthoniun	1	1	NREA	2,39	0	CI aux curares	1	Dr PELLERIN
43	F/37	0	I	Anti-cancéreux	Decapeptyl	7	0	NREA	NREA	NREA	Poursuite du traitement	1	Dr GUEZ
44	F/53	1 (médt??)	?	ATB	Amoxicilline Amoxicilline + Ac. Clav		PDR	NREA		0	?	?	Dr GUEZ
45	F/8	0	I	ATB	Ciprofloxacine Teicoplanine Vancomycine	1	0 0 0	NREA NREA NREA	NREA NREA NREA	0 0 0	TRM à réaliser	0 0 0	Dr BORALEV
46	F/57	0	III	ATB	Amoxicilline Amoxicilline + Ac. Clav Amoxicilline	6+7 6+7 2	0 0 1	NREA NREA 1	NREA 0,137 0,36	0 1 (IDR) 2	CI CI CI amox et TC/TAB à refaire	1 1 1	Dr PELLERIN
				NMBA	Atracurium Atracurium	6+7 2	0 0		<0,05 <0,01	0 2	CI NMBA par précaution Nouvel op. RAS	1 1	
47	M/51		III	NMBA	Cisatracurium	1	2	NREA	NEG	0	CI au cis. Pas aux autres curares	0	Dr BORDES
48	M/20	1 (PVL)	?	AINS	Ibuprofene	1	3 (PNB hyperactivé)	1	0,082	0	TRM é réaliser	0	Dr GUEZ
49	F/34	1 (para.)	I	ATB	Amoxicilline	7	0	NREA	NREA	0 (toutes les BL)	Pas de CI aux BL	1	Dr GUEZ
50	M/69	0	II	NMBA	Suxamethoniun	1	1	1	<0,10	0 (tous les NMBA)	CI absolue au Suxa. Pas aux autres	1	Dr PELLERIN
51	M/64	0	III	NMBA	Atracurium	1	0	1	0,01 et positif'	0 puis 1	CI conservé devant les TC + Gravité du choc	0	Dr BORDES
51	M		III	Désinfectant	Bétadine	3	1	1	1,686 (polyvidone) 1,291 (betadine)	1 (IDR et Prick)	CI absolue	1	Dr BORDES
52	F/58	0	I	Antalgique	Paracétamol	1+2	0	NREA	<0,05	0 (mais non fiables)	TRM à réaliser	0	Dr GUEZ
53	M/50	0	II	Antalgique ATB	Paracétamol Amoxicilline + Ac. Clav	3	0 0	NREA	0,280 0,025	NREA 0 (mais réaction pulm.)	? ?	? ?	Dr GUEZ

Annexe 3
AIDE À L'INTERPRÉTATION D'UN TAB

Patient :

Age :

Facteur de risque :

Symptomatologie :

Numération formule sanguine :

Médicament suspecté :

DCI :

Seuil de positivité :

Indication du TAB :

Interprétation du test :

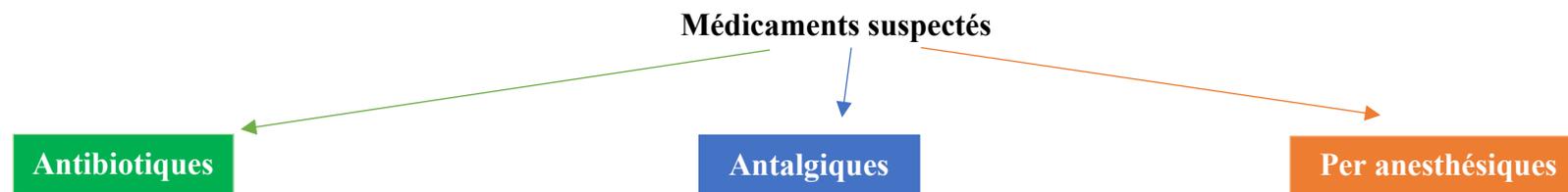
Témoin négatif :

Témoin positif :

Ratio :

Résultat :

SEUIL DE POSITIVITÉ ET LIMITE EN FONCTION DE LA CLASSE DE MÉDICAMENTEUSE



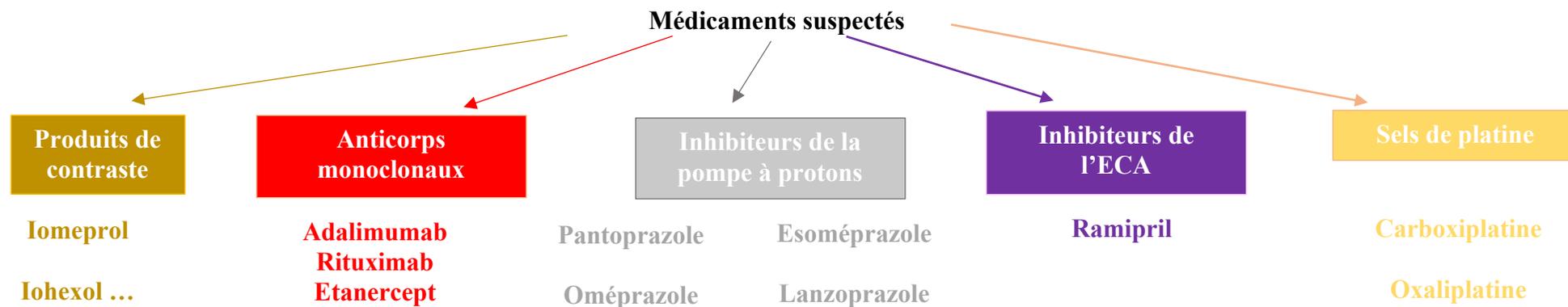
	Fluoroquinolones	Béta-lactamines	AINS	Paracétamol	NBMA	Propofol	Anesthésiques locaux
		↓ Pénicillines					
		↓ Céphalosporines					

SEUIL de positivité	Fluoroquinolones	Béta-lactamines	AINS	Paracétamol	NBMA	Propofol	Anesthésiques locaux
	Cipro : > 5% CD63 Moxi : > 6% CD63	> 5% CD63 SI > 2	> 5% CD63 SI > 2	> ? CD63 SI > ?	> 5,01% CD63 SI > 1,76	> 5% CD63 SI > 2	> 5% CD63 SI > 2

LIMITES	Fluoroquinolones	Béta-lactamines	AINS	Paracétamol	NBMA	Propofol	Anesthésiques locaux
	Activation alternative par MRGPRX2	Faux positifs observés avec le CD63 et CD203c	Activation alternative COX Faible sensibilité	Très mauvaise sensibilité	Activation alternative par MRGPRX2	Influence du délai entre la réaction d'HS et le test sur la sensibilité du TAB	

Commentaires	Fluoroquinolones	Béta-lactamines	AINS	Paracétamol	NBMA	Propofol	Anesthésiques locaux
	Variation de la performance du test en fonction de la FQ et de la symptomatologie clinique	Tester plusieurs pénicillines différentes en simultanée augmente la sensibilité du TAB	Bonne performance pour le diagnostic d'HS spécifique à un AINS. Mauvaise performance pour les HS multiples, issues de réactivités croisées		Intérêt dans l'évaluation des réactions croisées entre les NBMA		

SEUIL DE POSITIVITÉ ET LIMITE EN FONCTION DE LA CLASSE DE MÉDICAMENTEUSE



SEUIL de positivité

> 5% CD63
SI > 2

Pas de seuils de positivité

> 10% CD63
SI > 2

> 6% CD63
SI > 2

Pas de seuils de positivité

LIMITES

Diagnostic différentiel avec angio-oedème à bradykinine

Commentaires

Étude de la cinétique d'expression de CD63 et CD203c dans les protocoles de désensibilisation rapide

Réaction croisée entre pantoprazole et oméprazole mais pas avec Lanzoprazole

% et MFI à comparer avec un taux basal
CINETIQUE

Titre : Étude de la mise en œuvre du test d'activation des basophiles pour le diagnostic des hypersensibilités médicamenteuses.

Résumé : Les hypersensibilités médicamenteuses (HSM) sont fréquentes. Le test d'activation des basophiles (TAB) est complémentaire des tests cutanés (TC) et de la recherche des IgE spécifiques (IgEs) et une alternative au test de provocation. Ce test *ex vivo* quantifie l'activation des basophiles par Cytométrie de flux. L'objectif de ce travail était d'évaluer la mise en place et l'apport diagnostique du TAB pour l'exploration des HSM au CHU de Bordeaux. Dans un second temps, l'objectif était de faire le point sur la réalisation pratique des TAB dans les laboratoires français.

Nous avons analysé rétrospectivement les dossiers des 52 patients pour lesquels des TAB aux médicaments ont été demandés entre 2015 et 2020 au CHU de Bordeaux. Parallèlement, nous avons réalisé un questionnaire qui a été envoyé aux biologistes du réseau AllergoBioNet. Les informations demandées étaient : le volume annuel de prescription, l'organisation, la réalisation, les indications et l'interprétation des TAB.

Nous avons observé un apport diagnostique dans 50 % des demandes analysées. A Bordeaux, les demandes sont en hausse depuis 2017 (400%). Elles concernent majoritairement les antibiotiques (57 %) et les curares (19 %). Les deux indications majeures étaient une discordance entre l'histoire clinique et le résultat des TC et/ou de la recherche des IgEs (27%) ou des TC et/ou les IgEs non contributifs ou indisponibles (28%). Le laboratoire « type » réalise le TAB à partir de sang total (EDTA) (92,9 %), sur rendez-vous (92,8 %), acheminé en moins de 24 h (100 %) à l'aide d'un kit commercial adapté ou non (100 %). Les seuils de positivité et l'interprétation restaient très variables. Développer le TAB pour le diagnostic des HSM prend tout son sens devant l'augmentation des prescriptions et son apport diagnostique. Au niveau national, la standardisation du TAB est en cours mais des travaux sont encore nécessaires pour harmoniser son interprétation.

Mots clés : Immunologie, Allergologie, Diagnostic biologique, Hypersensibilités médicamenteuses, Test d'Activation des Basophiles, Cytométrie de Flux

Title : Evaluation of the implementation of the basophil activation test for the diagnosis of drug hypersensitivity.

Abstract : The basophil activation test (BAT) is complementary to skin tests (ST) and specific IgE assay (sIgE) and an alternative to the provocation test. This *ex vivo* test determines the activation of basophils by flow cytometry. The objective of this work was to assess the implementation and diagnostic contribution of the TAB for drug hypersensitivity at University Hospital of Bordeaux. Secondly, the objective was to assess current practices and procedures of BAT in French laboratories. We retrospectively analyzed the records of patients for whom TABs for drugs were requested between 2015 and 2020 at University Hospital of Bordeaux. To evaluate the current practices, we conducted a national survey (AllergoBioNet network). Information's requested were : annual prescription volume, procedures, indications and interpretation.

We observed a diagnostic contribution in 50% of the records analyzed. In Bordeaux, the total number of BAT is increasing since 2017. They mainly concern antibiotics (57%) and curares (19%). The 2 major indications were a discrepancy between the clinical history and the result of ST and/or sIgE (27%) or inconclusive or unavailable ST and/or sIgE (28%). The French laboratories perform BAT from whole blood (EDTA) (92.9%), sent in less than 24h (100%) using a commercial kit (100%). The positivity thresholds and BAT interpretation remained very variable.

Developing the BAT for the diagnosis of drug allergy makes sense because of its diagnostic contribution. At the national level, the standardization of BAT interpretation is necessary.

Keywords : Immunology, Allergology, Biologic diagnosis, Drug Hypersensitivity, Basophil Activation Test, Flow Cytometry