

Procédure d'exploration des Effets Indésirables Receveurs (EIR) de type allergique de grade ≥ 2

Cette procédure annule et remplace la version
de mai 2009.
Elle concerne l'ensemble des PSL

Elle a pour objet de décrire l'enquête étiologique qui se déroule en deux temps :

- ✓ quel que soit le PSL en cause, dans les minutes ou les heures qui suivent la réaction, des dosages d'histamine et de tryptase en cas d'EIR de grade égal ou supérieur à 2 (e-fit 2),
- ✓ des explorations à distance de la réaction en cas d'EIR **grave (grade 3)**, soit au moins 4 semaines, voire 6 semaines après cette réaction, comportant des tests in vitro et/ou in vivo. Ces tests sont destinés à rechercher une sensibilisation à un médicament ou à une substance administrée lors de la réaction d'hypersensibilité et susceptible d'en être à l'origine. Dans le cas du PFC BM, cette exploration est destinée à étayer la responsabilité des composants du PFC-BM et notamment du bleu de méthylène.

Rappel PFC-BM

Après une première réaction allergique associée à une transfusion comportant du plasma viro-atténué par le bleu de méthylène (PFC-BM), le groupe de travail « Allergie » de l'Afssaps recommande de **ne pas transfuser à nouveau ce produit avant que les explorations complémentaires aient permis d'éliminer une sensibilisation aux composants du PFC-BM** et notamment au bleu de méthylène (BM dont la concentration résiduelle est fixée réglementairement en dessous de 30 μ g/L).

I. Explorations immédiates :

Ces explorations doivent être réalisées quel que soit le PSL transfusé, pour tout accident soupçonné d'être allergique de **grade égal ou supérieur à 2** (e-Fit 2), L'exploration des EIR de grade 1 avec signes cutanés isolés est laissée à l'initiative des équipes médicales. En revanche, il est recommandé de réaliser ces dosages d'histamine et de tryptase dans les grades « II » de la classification de Ring et Messmer telle que décrite dans la fiche technique « Allergie », y compris lors d'hypotension isolée.

Prélèvements sanguins chez le receveur pour le dosage d'histamine et de tryptase :

3 échantillons sont nécessaires :

Délai de prélèvement	< 30 min	30 min à 2 h	> 24 h
Type de dosage	Histamine	Tryptase	Tryptase (taux de base)
Type de tube	EDTA	EDTA ou sec	EDTA ou sec

Ces dosages peuvent être réalisés post-mortem avant d'arrêter la réanimation ou dans les minutes qui suivent (risque de faux-positifs en cas de prélèvements lors de l'autopsie).

Circuit des prélèvements

Chaque tube de sang est apporté au laboratoire local dans les deux heures si conservation à température ambiante, ou dans les 16 heures si conservation à 4°C. Le laboratoire local centrifuge les tubes à température comprise entre 6 et 15°C, puis aspire délicatement le plasma à distance du culot globulaire (ne pas aspirer de leucocytes) et le répartit en plusieurs aliquots : 2 aliquots de 300-500 µL par prélèvement et par dosage (histamine, tryptase), en notant l'heure du prélèvement sur chacun. Les aliquots sont congelés à -20°C, puis un aliquot par dosage est transmis, de préférence congelé, au laboratoire qui réalisera les analyses, et l'autre aliquot est conservé congelé.

Interprétation des résultats

Après une réaction allergique sévère, la concentration d'histamine est maximale instantanément, puis décroît avec une demi-vie d'environ 15-20 minutes. Il est recommandé d'effectuer le premier prélèvement le plus tôt possible après le début de la réaction. La concentration normale habituelle est < 6 nmol/L, une concentration supérieure à 9 nmol/L est considérée comme positive.

Le pic de concentration de tryptase est atteint plus tardivement, 30 minutes à 2 heures après la réaction. Il est déconseillé de prélever dans les 15 premières minutes, pour éviter des faux-négatifs. La demi-vie est de 90 minutes. Pour les réactions très sévères, la positivité peut perdurer jusqu'à 6 heures, voire davantage. La concentration normale habituelle est < 12,5 µg/L, une concentration > 25 µg/L est considérée comme franchement augmentée. La dispersion inter-individus des valeurs normales étant très vaste, il est recommandé de disposer d'un taux de base à distance (24 heures ou plus) pour interpréter les concentrations.

II. Explorations à distance

Ces explorations sont **spécifiques aux EIR allergiques avec menace vitale immédiate** (grade 3 d'e-fit2).

Elles seront réalisées idéalement 4 à 6 semaines après la réaction initiale, même si les dosages sanguins de tryptase et/ou d'histamine sont normaux ou non réalisés. Elles sont destinées à rechercher une sensibilisation à un médicament ou à une substance administrée

lors de la réaction d'hypersensibilité et susceptible d'être à l'origine de celle-ci. Le choix des tests sera réalisé lors de la consultation d'allergologie en fonction de la chronologie et de l'histoire clinique.

Dans le cas du PFC-BM, cette exploration est destinée à étayer la responsabilité des composants du PFC-BM et notamment du bleu de méthylène.

Il importe de conserver à -20°C la (les) poche(s) de PFC-BM impliquée(s), débranchée(s) selon la procédure détaillée dans l'annexe B de la fiche technique « Infections bactériennes transmises par transfusion » en date de mars 2010. Ces produits sont destinés à être utilisés dans les tests in vitro, mais pas pour les tests cutanés en raison de la rupture de stérilité.

Si aucun échantillon de plasma natif et aucune autre poche de PFC-BM du (des) donneur(s) ne sont disponibles, il importe de solliciter un nouveau don du (des) donneur(s) pour obtenir du plasma natif et du nouveau PFC-BM (avec consentement éclairé). Le plasma natif du donneur, pour des raisons éthiques, ne sera pas utilisé pour les tests cutanés.

Macopharma fournira gracieusement et sur simple demande, un flacon contenant 5 mL du bleu de méthylène utilisé dans le dispositif de préparation du PFC-BM, dilué à 1% dans de l'eau PPI. Il est indispensable de **préciser lors de la demande le numéro de lot de la poche du PFC-BM** afin que le bleu de méthylène fourni pour les tests soit le même que celui utilisé pour la préparation du PFC-BM susceptible d'avoir entraîné la réaction allergique. En effet, un nouveau bleu de méthylène (Proveblue, laboratoire Provepharm) devrait être mis en circulation et il y aura dans ce cas inévitablement une période de chevauchement entre les PFC-BM préparés avec les 2 bleus, l'ancien et le nouveau.

Adresse et contacts :

- Jacqueline Fauquet : 03.20.11.85.24 (06.50.19.33.85)
jacqueline.fauquet@macopharma.com
- Béatrice Carvalho : 03.20.11.85.45 (06.63.30.55.65)
beatrice.carvalho@macopharma.com
- Typhaine Labouré : 03.20.11.86.78
typhaine.laboure@macopharma.com
Fax : 03.20.11.84.90

a. Tests cutanés : pour tout EIR de grade 3, quel que soit le PSL

TESTS DIAGNOSTIQUES CUTANES

Identité du patient :

Date de l'EIR :

Date du bilan :

Protocole :

➤ dans le cas d'EIR de grade 3 survenu au cours ou au décours d'une transfusion de PSL hors PFC-BM, et selon avis allergologique, des prick tests suivis d'IDR avec le latex et les médicaments utilisés au cours de l'épisode transfusionnel seront pratiqués selon le protocole ci-dessous.

➤ en cas d'EIR de grade 3 survenu lors de l'utilisation de PFC-BM, des prick tests suivis d'IDR avec le latex, le PFC-BM, le BM et éventuellement d'autres produits utilisés au cours de l'épisode transfusionnel selon avis allergologique seront pratiqués selon le même protocole.

Si le prick test est positif, pratiquer quand même les IDR (recherche du seuil de réactivité) : *Mertes PM, Malinovsky JM, Mouton-Faivre C, et al. Anaphylaxis to dyes during the perioperative period: Reports of 14 clinical cases. J Allergy Clin Immunol 2008 ; 122 : 348-352.*

Le diluant utilisé pour les tests cutanés est le même que celui du contrôle négatif : sérum physiologique ou eau phénolée.

	Prick-test	IDR				
		1/10000	1/1000	1/100	1/10	
		PI/PO*	PI/PO*	PI/PO*	PI/PO*	
Phosphate de codéine 9% ou Histamine 10mg/mL						
Latex						
Forlax (PEG)						}
PFC-BM du donneur ¹						
Bleu fourni par Macopharma						
Autre :						
Témoin négatif						

PI/PO* : papule d'injection (PI) en mm / papule d'œdème (PO) obtenue 20 min après (en mm). *Les IDR en pur peuvent donner des réactions non spécifiques.*

Critères de positivité : Décalquer prick et IDR positifs dans les cases correspondantes.

◆ **prick : diamètre de l'œdème > moitié du diamètre de l'œdème du témoin codéine ou ≥ 3 mm avec érythème**

◆ **IDR : diamètre de PO ≥ 3 mm du diamètre de PI**

(1) Si possible un échantillon du même don (segment clos stérile de tubulure du PFC-BM transfusé, autre PFC-BM issu du même don) ; à défaut un nouveau PFC-BM issu du même donneur.

CONCLUSIONS DES TESTS CUTANES :

Signature :

b. Tests in vitro : pour tout EIR de grade 3 avec PFC-BM**PROTOCOLE DU TEST D'ACTIVATION DES BASOPHILES PAR CYTOMETRIE EN FLUX POUR TESTER L'ALLERGIE AU BLEU DE METHYLENE**

Le bleu de méthylène fourni par Macopharma sera testé. Pour la technique Flow2 CAST® (Bühlman Laboratories AG), le sang total est prélevé sur EDTA.

Les échantillons sont préparés de la manière suivante :

- Pour le bleu de méthylène :

Tube test : 50 µL de sang total + 100 µL de tampon d'activation + 50 µL de dilution de bleu de méthylène (en tampon d'activation) à 5, 1, 0.2, 0.004, 0.008 µg/mL + 20 µL d'anticorps anti CCR3/CD63.

- Pour le PFC-BM :

Tube test : 50 µL de sang total + 100 µL de tampon d'activation + 50 µL PFC-BM pur dilué au 1/5, 1/25, 1/125 + 20 µL d'anticorps anti CCR3/CD63.

Il convient de réaliser un témoin avec le plasma natif du donneur dilué dans les mêmes conditions.

En cas d'impossibilité d'obtention du plasma du donneur, le protocole alternatif utilise un PFC-BM d'un autre donneur.

- Tubes témoins

Tube témoin négatif : 50 µL de sang total + 150 µL de tampon d'activation + 20 µL d'anticorps anti CCR3/CD63.

Tube témoin positif : 50 µL de sang total + 100 µL de tampon d'activation + 50 µL d'anticorps anti récepteur d'IgE (ou 50 µL de fMLP) + 20 µL d'anticorps anti CCR3/CD63.

Pour tous les tubes (tests et témoins), l'expression du CD63 est mesurée en % et en MFI. Pour plus d'informations, se reporter au manuel d'instruction du fabricant.

Tout laboratoire réalisant les tests d'activation des basophiles est en mesure de réaliser ce test pour détecter une allergie au bleu de méthylène. Un prélèvement sur EDTA peut être conservé 24 h à 4°C avant réalisation des tests. Le protocole-type décrit ici peut être adapté selon les procédures du laboratoire réalisant les tests.