

**Procédure d'exploration devant
Une Réaction allergique grave (grades ≥ 3) (tout PSL)
Une Réaction allergique (tout grade) lors d'une transfusion
comportant du PVA-BM**

DANS TOUS LES CAS, AVERTIR LE SITE TRANSFUSIONNEL DE DISTRIBUTION OÙ LES Poches de PSL SERONT ADRESSÉES ET CONSERVÉES DANS L'ATTENTE DES TESTS

I. **1^{er} Temps** = Explorations immédiates :

Ces explorations doivent être réalisées pour tout EIR grave soupçonné d'être allergique, quel que soit le produit sanguin labile (PSL) en cause tout EIR allergique grave ou non grave soupçonné d'être imputable au plasma-BM

- **Prélèvements chez le receveur pour le dosage d'Histamine et de Tryptase :**

☞ **3 échantillons sont nécessaires :**

Délais des prélèvements	< 30 min	> 30 min et < 2 h	> 24 h
Type de dosage	Histamine	Tryptase	Tryptase (taux de base)
Type de tube	EDTA	EDTA ou sec	EDTA ou sec

- **Circuit des prélèvements**

Chaque tube de sang est adressé **non congelé** au laboratoire de l'ES, accompagné de la prescription d'analyse suite à un incident transfusionnel (Effet Indésirable Receveur) :

- dans **les deux heures**, si conservation à température ambiante,
- ou **dans les 16 heures**, si conservation à + 4°C.

Le laboratoire de l'ES selon qu'il réalise ou pas les analyses :

- ✓ centrifuge les tubes à réception,
- ✓ puis **aspire délicatement** le plasma (ou sérum) à **distance du culot globulaire dans les 2/3 supérieurs des tubes au dessus du culot** (ne pas aspirer de leucocytes)
- ✓ et **transfère** le plasma (ou le sérum) dans un tube stérile sec pour chaque prélèvement et par dosage (histamine, tryptase) en notant l'heure du prélèvement sur chacun des tubes.
- ✓ **Il réalise les analyses.**
- ✓ **S'il ne les réalyse pas**, les échantillons sont stockés **congelés** et **transmis si besoin, par le laboratoire habituel de l'ES** (transport congelé) au laboratoire « correspondant » qui réalisera alors les analyses (**Histamine et/ou Tryptase selon l'organisation**)
- ✓ Un aliquot est conservé congelé

Au niveau des CHU :

Marseille : Histamine et Tryptase. **Dr Vitte Joana** - Biologiste - Service du Pr Bongrand Pierre : Hôpital de la Conception laboratoire d'immunologie : T : 04 91 38 18 90 secrétariat : 04 91 38 18 53 **du lundi au vendredi 8h30-16h30**

Nice : Tryptase. **Dr Vivinus Mylène** - Laboratoire d'immunologie CHU de Nice Hôpital Archet - Route Saint Antoine de Ginestière 6200 Nice. T : 04 92 03 56 43

- **Interprétation des résultats**

Histamine

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 plasmatique normale est < 6 nmol/L ;**
- ☞ **Une concentration supérieure à 9 nmol/L est considérée comme positive.**

Supprimé : jpaProcédure allergie PVA-BM_V7val.doc

Supprimé : jpaProcédure(Afssaps)_PVA-BM_EIR-Allergie.doc

Tryptase

Le pic de concentration de **Tryptase** est atteint **plus tardivement**, 30 minutes à 2 heures après la réaction. **Il ne faut pas prélever** dans les 30 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 plasmatique normale 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 **nécessaire** de disposer d'un **taux de base à distance (24 heures ou plus)** pour interpréter les concentrations.

- **Circuit de la poche de sang** : elle est adressée au site de distribution de l'EFS-AM qui le met ensuite à disposition des allergologues à leur demande. (NB : précisez le site EFS aux allergologues)

II. 2^{ème} Temps = Explorations à distance (4 à 6 semaines) :

Les explorations **spécifiques** à 6 semaines sont réalisées, **même si les dosages d'Histamine et/ou de Tryptase sont normaux ou non réalisés**.

Elles sont coordonnées par les allergologues référents : Chaque fois que cela est possible, il convient de contacter **les allergologues** pour centraliser les observations et organiser un rendez-vous 4 à 6 semaines après l'effet indésirable receveur afin de réaliser l'exploration allergologique dans le service

de l'AP-HM à Marseille : Dr Birnbaum Joëlle, service du Pr Chanez, Hôpital Nord, bâtiment Etoile, Rez de chaussée, chemin des Bourrely, 13015 Marseille, le mercredi et jeudi toute la journée, secrétariat T : 04 91 96 86 31 - F : 04 91 93 89 02

du CHU de Nice : Dr Leroy Sylvie, Allergologue, Hôpital Pasteur 30 avenue de la voie romaine BP 69, 0601 Nice cedex 1. T : 04 92 03 80 58

Ces explorations sont spécifiques au PVA-BM

Il importe de conserver à - 20°C la (les) poche(s) de PVA-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 janvier 2008.

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.

Le résidu du PVA-BM transfusé est transmis au correspondant d'hémovigilance de l'EFSAM (contact : Dr Cyril Caldani, Tél 04 92 27 52 01 ou Mme Cabassu, Tél 04 91 18 95 04) afin qu'il soit congelé et conservé par l'EFS-AM qui le mettra à disposition du laboratoire d'immunologie sur simple demande.

L'EFSAM se charge également de vérifier s'il existe en stock d'autres unités de PVA-BM du même don afin de les conserver pour les tests cutanés.

Il existe sur le marché une solution de bleu de méthylène injectable importé, le « Bleu de méthylène méthylthioninium chloride proveblue à 0.5%, solution injectable », utilisable pour les tests cutanés et in vitro. Par ailleurs, Macopharma fournira gracieusement et sur simple demande, un flacon contenant 5ml du bleu de méthylène utilisé dans le dispositif de préparation du PVA-BM, dilué à 1% dans l'eau PPI.

[Contact pris à propos de la concentration].

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 LABOURE : 03.20.11.86.78 - typhainelaboure@macopharma.com

a. Tests cutanés

Préambule :

Le groupe de travail « Allergie » de l'Afssaps recommande qu'après une première réaction allergique grave (Effet indésirable receveur de Grade 3) associée à une transfusion comportant du plasma viro-atténué par le bleu de méthylène (PVA-BM), **de ne pas transfuser à nouveau ce produit** avant que les explorations complémentaires aient permis d'éliminer une sensibilisation aux composants du PVA-BM et notamment au bleu de méthylène.

Ce conseil peut être étendu en fonction des patients ou des indications transfusionnelles des receveurs ayant présentés une allergie de gravité 1 ou 2.

La concentration résiduelle est estimée règlementairement en dessous de 30µg/L (et en moyenne inférieure à 8,2 µg/L dans le dernier contrôle de qualité de l'EFS).

Supprimé : jpaFinProcédure allergie PVA-BM_V7val.doc

Supprimé : jpaProcédure(Afssaps)_PVA-BM_EIR-Allergie.doc

TESTS CUTANÉS DIAGNOSTIQUES AU BLEU DE METHYLENE

Identité du patient :	Date de l'EIR :
	Date du bilan :

	Prick-test	I D R			
		1/10.000	1/1.000	1/100	1/10
		PI/PO*	PI/PO*	PI/PO*	PI/PO*
Phosphate de codéine 9% ou Histamine 10mg/mL					
Latex					
Forlax (PEG)					
PVA-BM du donneur *					
Bleu de Méthylène 0.5% (méthylthioninium chloride proveblue)					
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.

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

CONCLUSIONS DES TESTS CUTANÉS :	Signature :
--	--------------------

Protocole : Des Prick-tests doivent être pratiqués selon le protocole référencé ci-dessous

(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).

Ils sont suivis dans certains cas, d'IDR avec le PVA-BM (segment clos stérile de tubulure du PVA-BM transfusé, autre PVA-BM issu du même don), à défaut un nouveau PVA-BM issu du même donneur), le latex du polyéthylène glycol (PEG) et le bleu de méthylène.

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

Méthodologie :

- ☞ Décalquer **Prick** et **IDR positifs** dans les cases correspondantes.
- ☞ Si le prick est positif, pratiquer quand même les IDR (recherche du seuil de réactivité).

Critères de positivité :

- **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 P

Allergologues référents :

- AP-HM à Marseille : Dr Birnbaum Joëlle, service du Pr Chanez, Hôpital Nord, bâtiment Etoile, Rez de chaussée, chemin des Bourrelly, 13015 Marseille, le mercredi et jeudi toute la journée, secrétariat **T : 04 91 96 86 31** - F : 04 91 93 89 02

- CHU de Nice : Dr Leroy Sylvie, Allergologue, Hôpital Pasteur 30 avenue de la voie romaine BP 69, 0601 Nice cedex 1. **T : 04 92 03 80 58**

Supprimé : jpaFinProcédure allergie PVA-BM_V7val.doc

Supprimé : jpaProcédure(Afssaps)_PVA-BM_EIR-Allergie.doc

b. Tests in vitro :

**PROTOCOLE DU TEST D'ACTIVATION DES BASOPHILES
PAR CYTOMETRIE EN FLUX
POUR TESTER L'ALLERGIE AU BLEU DE METHYLENE**

Le bleu de méthylène méthylthioninium chloride proveblue et le bleu de méthylène Macopharma seront testés simultanément.

Prendre rendez-vous avec le laboratoire, afin que celui-ci se procure les réactifs **AVANT** l'arrivée du prélèvement. Prélèvement : 3 tubes EDTA 4,5 mL à conserver et à transporter à + 4°C impérativement.

Pour la technique Flow CAST 2 Bühlman *:

Le sang total prélevé sur EDTA est dilué au 1/3 dans le tampon d'activation renfermant du calcium. Puis, 50 µL de cette dilution sont incubés avec 50 µL d'une dilution de bleu de méthylène à 5, 1, 0.2, 0.04 et 0.008 µg/mL en présence d'Anticorps anti CCR3/CD63 comparativement à :
un témoin négatif (50 µL de dilution de sang + 50 µL de tampon d'activation)
et deux témoins positifs (50 µL de dilution de sang + 50 µL d'anti récepteur IgE ou de fMLP).

L'expression du CD63 est mesurée en % et en MFI.

Chaque témoin positif et négatif est réalisé en duplicate : un tube de chaque est à passer en début de lecture sur le cytomètre, l'autre tube de chaque est passé en fin de lecture sur le cytomètre.

** le CHU de Nice disposera du test 2 Bühlman en 2011.*

Pour le plasma « bleu de méthylène » :

« Cette réalisation est plutôt improbable en PACA, car le plasma BM provient d'autres régions et l'accès au plasma natif du même donneur ou issu du même don est rendu difficile »

50 µL de la dilution de sang sont mis en présence de 50 µL de plasma « bleu de méthylène » **pur** ⁽¹⁾ dilué au 1/5, 1/25, 1/125,

Il convient de réaliser un témoin plasma natif du donneur ⁽²⁾ dilué dans les mêmes conditions.

⁽¹⁾ Si possible le PVA-BM transfusé ou autre PVA-BM issu du même don ; à défaut un nouveau PVA-BM issu du même donneur.

⁽²⁾ Plasma natif du même donneur : soit d'un échantillon natif du PVA-BM transfusé du jour du don, soit issu d'un nouveau don.

En cas d'impossibilité d'obtention du plasma du donneur, ce qui risque d'être le plus souvent le cas en PACA)

Le protocole alternatif utilise un PVA-BM d'un autre donneur et un PVA-SD (pur et surchargé en BM).

Tout laboratoire réalisant les tests d'activation des basophiles est en mesure de réaliser ce test pour détecter une allergie au bleu de méthylène.

Le protocole-type décrit ici peut être adapté selon les procédures du laboratoire réalisant les tests ; les laboratoires concernés les préciseront.

Biologistes des Laboratoires référents :

Marseille : Dr Vitte Joana Biologiste - Service du Pr Bongrand Pierre : Hôpital de la Conception laboratoire d'immunologie :
T : 04 91 38 18 90 secrétariat : 04 91 38 18 53 du lundi au vendredi 8h30-16h30

Nice : Dr Vivinus Mylène - Laboratoire d'immunologie CHU de Nice Hôpital Archet - Route Saint Antoine de Ginestière 6200 Nice. T : 04 92 03 56 43