

**Procédure d'exploration des EIR de type allergique de grade  $\geq 2$** **Mise à jour juillet 2012****DANS TOUS LES CAS AVERTIR LE SITE TRANSFUSIONNEL DE DISTRIBUTION****Ces explorations doivent être réalisées pour tout accident de grade égal ou supérieur à 2 soupçonné d'être allergique, quel que soit le produit sanguin labile (PSL) en cause**

Symptômes	Grade de l'EIR
Au moins 2 organes atteints : signes cutané –muqueux, symptômes cardio-vasculaires (hypotension modérée), symptômes respiratoires (toux, dyspnée), symptômes digestifs.	<b>2</b>
Collapsus cardio-vasculaire (choc, arythmie, tachycardie bradycardie) +/- symptômes <b>OU</b> Bronchospasme	<b>3</b>

**I. 1<sup>er</sup> Temps = Explorations immédiates :**

- **Prélèvements chez le receveur pour le dosage d'Histamine, Tryptase et Ig A :**

☞ **4 échantillons sont nécessaires :**

Délais des prélèvements	< 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

<b>Préférence &gt; 24 h</b>
<b>Dosage Ig A</b> (Recherche Anti Ig A si déficit)
<b>Sec</b>

- **Circuit des prélèvements : il est régionalement proposé :**

*sauf autre circuit adapté 24h/24 mis en place dans l'établissement*

Chaque tube de sang est adressé au **site transfusionnel de distribution** accompagné du bon d'analyse suite à un incident transfusionnel :

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

Le **laboratoire de l'EFS** :

- ✓ centrifuge les tubes à réception,
- ✓ puis **aspire délicatement** le plasma(ou sérum) à **distance du culot globulaire** (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.
- ✓ les échantillons sont stockés à 4°C et **transmis par l'EFS** (transport à 4°C) au **laboratoire référent** :  
Mr le Pr.BIENVENU, laboratoire d'immunologie, Centre de Biologie Sud-CHLS qui réalisera les analyses.

- **Interprétation des résultats**

**Histamine**

Après une réaction allergique sévère, la concentration d'**Histamine** est maximum 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 est < 6 nmol/L ;**
- ☞ Une concentration supérieure à 9 nmol/L est considérée comme positive.

**Tryptase**

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 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.

**Ig A**

Résultat à interpréter en fonction des transfusions de plasma : si déficit une recherche d'anti-IgA est à réaliser.

En cas d'EIR « Allergie » de grade  $\geq 3$ , la chronologie d'administration des PSL et des médicaments entre 6 heures avant et 6 heures après le début des signes doit être précisée.

## II. **2<sup>ème</sup> 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

**Ces explorations sont spécifiques aux EIR allergiques avec menace vitale (Grade 3)**

Dans le cas du PFC, il importe de conserver à  $-20^{\circ}\text{C}$  la (les) poche(s) 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.

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

#### Préambule :

*Chaque fois que cela est possible* prendre rendez-vous 4 à 6 semaines après l'effet indésirable pour l'exploration allergologique, **il est régionalement proposé :**

- ☞ Avec le Centre Hospitalier Lyon-Sud
  - allergo-anesthésie (service du Pr.V. PIRIOU) -  
Dr Rolande DUBOST. *Secrétariat (mardi-merc-jeu) 04.78.86.12.60*
  - ou immunologie clinique (service du Pr F.BERARD). *Secrétariat : 04.78.86.15.72*
- ☞ **ou** un autre service d'immuno-allergologie

qui, après contact avec l'EFSRA (Hémovigilance : 04.72.71.17.19), pourra organiser les explorations diagnostiques cutanées décrites page 3

**Rappel :** Le groupe de travail « Allergie » de l'ANSM recommande qu'après une première réaction allergique (Effet indésirable receveur quel que soit le grade) associée à une transfusion comportant **l'un des types de PFC viro-atténués SD et IA**, de ne pas transfuser **le même type de** produit avant que les explorations complémentaires aient permis d'éliminer une sensibilisation aux composants du PFC viro-atténué.

En cas de réaction survenant après transfusion de PFC-Se, il est recommandé de ne pas administrer de PFC-Se issus du même donneur.

## TESTS DIAGNOSTIQUES CUTANÉS

### Méthodologie à adapter par immuno-allergologue

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

	Prick-test	IDR			
		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					
Forfex (PEG)					
PFC du donneur <sup>1</sup> (PFC-SD ou PFC-IA)					
Amotosalen (si PFC IA) - contacter EFS					
Autre : .....					
Témoin Négatif					

Selon PFC  
utilisé

**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.

**PFC du donneur<sup>1</sup> :** Si possible un échantillon du même don (segment clos stérile de tubulure du PFC transfusé, autre PFC issu du même don), à défaut un nouveau PFC **viro atténué** issu du même donneur.

<b>CONCLUSIONS DES TESTS CUTANÉS :</b>	
	<b>Signature :</b>

#### Protocole :

- dans le cas d'EIR de grade 3 survenu au cours ou au décours d'une transfusion de PSL **hors PFC**, et selon avis allergologique, des pricks tests suivis d'IDR avec le latex et les médicaments utilisés au cours de l'épisode transfusionnel seront pratiqués selon protocole ci-dessous.
- en cas d'EIR de grade 3 survenu lors de l'utilisation de **PFC**, des pricks tests suivis d'IDR avec le latex, le **PFC**, éventuellement l'**Amotosalen** et 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 de 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 et 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  $\geq 3$  mm avec érythème
- **IDR :** diamètre de PO  $\geq 3$  mm du diamètre de PI

**b. Tests in vitro : pour tout EIR de grade 3 avec PFC-IA ou PFC-SD**

**PROTOCOLE DU TEST D'ACTIVATION DES BASOPHILES  
PAR CYTOMETRIE EN FLUX  
POUR TESTER L'ALLERGIE AU PFC-IA OU PFC-SD**

Chaque fois que cela est possible prendre rendez-vous 4 à 6 semaines après l'effet indésirable pour l'exploration allergologique **in vitro**.

L'organisation de cette exploration nécessite une coordination de la consultation immuno-allergo, du prélèvement du patient, et de la mise à disposition par l'EFS des échantillons de **PFC-IA ou PFC-SD** conservés lors de l'incident.

Il est nécessaire que :

- Le Centre Hospitalier Lyon-Sud
  - Service d'allergo-anesthésie du Pr.V. PIRIOU  
Dr Rolande DUBOST. *Secrétariat (mardi-merc-jeu) 04.78.86.12.60*
  - ou Service d'immunologie clinique du Pr F.BERARD. *Secrétariat : 04.78.86.15.72*

➤ **Ou** le service d'immuno-allergologie réalisant les tests diagnostiques cutanés

☞ contactez l'EFSRA (Hémovigilance : 04.72.71.17.19),

☞ prescrivez les explorations suivantes

☞ prenez rendez-vous avec le laboratoire référent :

Mr le Pr.BIENVENU, laboratoire d'immunologie, Centre de Biologie Sud-CHLS qui réalisera les analyses

**L'Amotosalen (contacter EFS)** sera **éventuellement** testé. Pour la technique Flow2 CAST<sup>®</sup> (Buhlman Laboratoires AG), le sang total est prélevé sur EDTA

Les échantillons sont préparés de la manière suivante; ils sont choisis selon le PFC à tester :

• **Pour l'Amotosalen :**

Tube test : 50  $\mu$ L de sang total + 100  $\mu$ L de tampon d'activation + 50  $\mu$ L de dilution **d'Amotosalen** (en tampon d'activation) 5, 1, 0,2, 0,04 et 0,008  $\mu$ g/mL en présence d'Anticorps anti CCR3/CD63

• **Pour le PFC – IA :**

Tube test : 50  $\mu$ L de sang total + 100  $\mu$ L de tampon d'activation + 50  $\mu$ L PFC – **IA** pur dilué au 1/5, 1/25, 1/125 + 20 au 1/5, 1/25 + 20  $\mu$ L d'anti-corps anti CCR3/CD63

Il convient de réaliser un témoin 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-**IA** d'un autre donneur.

• **Pour le PFC – SD :**

Tube test : 50  $\mu$ L de sang total + 100  $\mu$ L de tampon d'activation + 50  $\mu$ L PFC – **SD** pur dilué au 1/5, 1/25, 1/125 + 20 au 1/5, 1/25 + 20  $\mu$ L d'anti-corps anti CCR3/CD63

**En l'absence d'une possibilité de témoin plasma natif du donneur (puisque'il s'agit d'un pool de plasma) un PFC-SD d'un autre lot sera éventuellement testé en parallèle.**

• **Tubes Témoins :**

Tube témoin négatif : 50  $\mu$ L de sang total + 150  $\mu$ L de tampon d'activation + 20  $\mu$ L d'anticorps anti CCR3/CD63

Tube Témoin positif : 50  $\mu$ L de sang total + 100  $\mu$ L de tampon d'activation + 50  $\mu$ L d'anticorps anti récepteur d'Ig E (ou 50  $\mu$ L de fMLP) + 20  $\mu$ L d'anticorps anti CCR3/CD63

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

Un prélèvement sur EDTA peut être conservé 24 heures à **4°C**