

Institut de Médecine: Département de Clinique et
de Pathologie Médicales.
(Professeur: H. Van Cauwenberge)
Université de Liège, Belgique.

ETUDE DE LA SERO-AGGLUTINATION
D'HEMATIES «PENICILLINEES»
CHEZ L'HOMME ALLERGIQUE ET NON
ALLERGIQUE A LA PENICILLINE

Par

M. RADERMECKER* & J. SALMON

En 1958, Ley et Coll. (21) observent l'agglutination des globules rouges humains incubés avec de la pénicilline, par le sérum de certains sujets préalablement traités par cet antibiotique. Ils démontrent le mécanisme immunologique de cette réaction mais ne notent aucune relation entre cette hémagglutination et l'allergie clinique à la pénicilline.

Cette question, d'un intérêt pratique évident, a été fort étudiée au cours des dernières années au moyen de globules rouges «pénicillinés» directement à pH neutre (13-14-24-26-29-32) ou par l'intermédiaire de la benzidine (6-7-16). Les conclusions publiées sont contradictoires: certains auteurs ne trouvent pas de rapport net entre l'existence d'anticorps hémagglutinants et l'hypersensibilité à la pénicilline (7-21-24-32), tandis que d'autres accordent une valeur diagnostique à ce test (13-16-26-29). La sensibilité de l'hémagglutination peut être accrue si les hématies sont incubées avec la pénicilline en milieu alcalin (28-37). Toutefois, la mise en oeuvre de techniques trop sensibles risque d'enlever toute valeur pratique à la réaction (20). Pour ces raisons, nous pensons utile de rapporter les résultats d'une étude comparative de la

* Chargé de Recherches au Fonds National de la Recherche Scientifique.

séro-agglutination de globules rouges humains « pénicillinés » à pH neutre chez 195 adultes normaux, chez 43 patients sous pénicillinothérapie et chez 35 allergiques à la pénicilline.

Des tests cutanés réalisés à l'aide de pénicilline G ou de pénicilloyl-polylysine (PPL) ont été pratiqués chez certains sujets présentant une hémagglutination positive et chez la plupart des allergiques.

MATERIEL ET METHODES

1. Sujets

Les 195 sujets normaux, âgés de 21 à 65 ans, sont donneurs de sang et fréquentent régulièrement le service de transfusion sanguine de l'Hôpital de Bavière. Ils sont reconnus indemnes de toute affection, notamment allergique, sur la base d'un contrôle médical régulier.

Le groupe des patients sous pénicillinothérapie comprend 41 adultes et 2 enfants, respectivement âgés de 12 et 14 ans, hospitalisés au service de Médecine pour des affections diverses. Parmi ceux-ci, 23 malades ont reçu au moins 3.000.000 U de pénicilline par jour. Parfois, la dose quotidienne atteignait 50.000.000 U. Les autres patients, qui avaient déjà été traités par la pénicilline auparavant, ont été soumis à un rappel de 1.000.000 U par jour, pendant 5 à 10 jours. Les sérums ont été prélevés chaque fois, une dizaine de jours après la dernière injection.

Les sujets allergiques à la pénicilline sont divisés en deux catégories selon la probabilité de leur sensibilisation et l'ancienneté des symptômes anaphylactiques.

Nous considérons comme allergiques probables 21 patients qui nous ont déclaré avoir présenté il y a plus d'un an, des symptômes atopiques cutanés ou généraux constatés par un médecin et survenus après l'administration de pénicilline.

Nous reconnaissons comme allergiques très probables sinon certains 14 patients ayant manifesté en l'absence de sensibilisation cutanée à la procaine, des signes d'intolérance médicamenteuse peu de temps après l'administration de pénicilline G ou de pénicilline retard – à l'exclusion de tout autre médicament – et ayant cédé lors de l'interruption de la drogue. Ces sujets que nous avons observés personnellement peu de temps après le début de leur affection ont été recrutés dans les services de Médecine et de Dermatologie de l'Hôpital de Bavière. Les réactions allergiques appartenaient aux types I, II et IV de COOMBS (11) et consistaient en éruption scarlatiniforme ou morbilliforme (4), choc anaphylactique (3) urticaire avec ou sans oedème de Quincke (3), eczéma (3) et maladie sérique (1). Plusieurs allergiques qui recevaient d'autres médicaments en plus de la pénicilline ont été exclus de cette série en l'absence de tests cutanés positifs à la pénicilline ou au PPL.

2. Hémagglutination

Elle a été réalisée se'on la technique originale décrite par Ley et Coll. (121) légèrement modifiée.

A) Source des Cellules

Différents donneurs de sang ORH- ont fourni les hématies nécessaires à l'expérimentation. Le sang est recueilli dans un volume égal de solution d'Alsévère contenant de la pénicilline G de façon à obtenir une concentration finale de 40 mgr/ml. Ce mélange est incubé une heure à 37° puis placé pendant une nuit à 4°. Après quatre lavages successifs dans le liquide physiologique, les hématies y sont remises en suspension à 4 volumes pour cent. Les globules rouges «pénicillinés» sont alors prêts à l'emploi et utilisés de 12 à 24 h. après le prélèvement. Un autre aliquot de sang est prélevé dans l'Alsévère ne contenant pas de pénicilline et préparé de la même manière. Ces cellules sont destinées au contrôle de la réaction et à l'épuisement des sérums à tester et du sérum diluant.

B) Technique de la Réaction

Les sérums étudiés ainsi que le sérum humain normal servant de diluant sont décomplémentés puis épuisés par contact pendant 30 minutes à 4° avec un volume égal des globules rouges lavés et non «pénicillinés». Cette dernière mesure, qui théoriquement n'est pas indispensable, vise à éliminer certaines hémagglutinines pathologiques ou résultant d'une immunisation active.

Dans des tubes à hémolyse de 10 × 100 mm, on pratique des dilutions successives du sérum à tester dans le diluant selon une progression géométrique dont la raison est 0.5. Pour ce faire, on met 0.2 ml de diluant dans chaque tube. On verse 0.2 ml du sérum à analyser dans le premier tube. Puis on prend 0.2 ml du mélange et on les verse dans le second tube et ainsi de suite. 0.2 ml sont éliminés du dernier tube. Enfin, on ajoute 0.02 ml de la suspension à 4 pour cent d'hématies «pénicillinées». Après agitation légère, les tubes reposent 10 minutes à la température du laboratoire, puis sont centrifugés pendant 2 minutes à 1000 tours/minute. La lecture est pratiquée directement après la centrifugation en secouant légèrement chaque tube de façon à remettre le culot en suspension. L'agglutination est facilement visible. Dans les cas douteux, elle peut être décelée en examinant l'aspect du culot de sédimentation. Le titre l'hémagglutination est donné par l'inverse de la dilution maximale déterminant encore une agglutination nette.

La spécificité de l'hémagglutination est assurée grâce à une série de tubes témoins. D'une part, le sérum diluant est mis en présence d'hématies «pénicillinées» et non «pénicillinées»; d'autre part, diverses concentrations de chaque sérum sont mises en contact avec des globules rouges lavés. Aucune agglutination ne doit être décelée dans ces différents tubes.

La sensibilité de la réaction est conditionnée notamment par les propriétés

physico-chimiques du diluant (pH, teneur et nature des protéines) et par le degré de fixation de la pénicilline sur les hématies. Cette dernière a été chaque fois contrôlée au moyen d'un sérum de lapin de référence agglutinant, après épuisement des hétéro-agglutinines, les globules humains « pénicillinés » au titre de 16.384. Ce sérum a été obtenu de la façon suivante :

C) Immunisation des lapins avec le 6-APA

L'acide 6-aminopénicillanique, (6APA) noyau de la molécule de pénicilline, s'est révélé chez le lapin un meilleur antigène que la pénicilline G (4, 31). L'antigénicité croisée entre ces deux produits étant bien démontrée (6, 31), nous l'avons utilisé préférentiellement.

5 lapins reçoivent dans chaque patte à une semaine d'intervalle, 20 mgr de 6-APA en solution dans 1 ml de tampon phosphate (pH 7,4) mélangé à 0.5 ml d'adjuvant de Freund. Une dizaine de jours après la dernière injection, une même dose de 6-APA est administrée par voie intramusculaire. Un des lapins présente des symptômes anaphylactiques et meurt. Le lendemain, on pratique une injection intra-veineuse de 1 ml d'une solution de 6-APA à 5 pour cent dans le tampon phosphate. Celle-ci est répétée une semaine plus tard.

Après une dizaine de jours, les lapins sont saignés et les sérums collectés.

3. Tests Cutanés

Afin de préciser les relations existant entre anticorps hémagglutinants et anticorps sensibilisants le peau, nous avons réalisé des tests cutanés à l'aide de pénicilline G et de pénicilloyl-polylysine chez certains individus à hémagglutination positive et chez la plupart de nos sujets allergiques. Ces derniers, dont certains avaient reçu de la pénicilline retard, ont été préalablement testés avec la pénicilline procaine. En présence d'une réaction positive, la sensibilisation cutanée à la Benzyl-pénicilline était alors étudiée; Ces mesures avaient pour but de rendre improbable l'hypothèse d'une allergie à la procaine.

Les tests cutanés ont été pratiqués en milieu hospitalier sous forme de cuti-réactions suivies éventuellement d'injections dans le derme de l'avant bras de 0.02 ml des différentes solutions.

Les produits suivants ont été utilisés :

1. La Benzyl-pénicilline-procaïne en solution dans le liquide physiologique à cinq concentrations différentes s'échelonnant de 12×10^{-6} M (8 U/ml) à 12×10^{-2} M (80.000 U/ml).

2. La pénicilline G (Benzyl-pénicilline sodique) en solution dans liquide physiologique à cinq concentrations différentes s'échelonnant de 8.4×10^{-6} M (5 U/ml) à 8.4×10^{-2} M (50.000 U/ml).

3. une solution unique de Pénicilloyl-polylysine¹ (PPL) contenant approximativement 1×10^{-5} M de groupement Pénicilloyl.

¹ SIGMA Chemical Company, St. Louis, Mo: stock n° PPL 1; lot 43B77L.

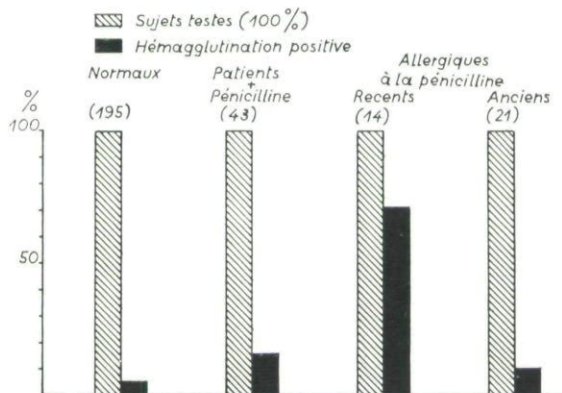


Fig. 1.

Pourcentage d'hémagglutination positive chez des individus normaux, des patients sous pénicilliothérapie et des sujets présentant une sensibilisation ancienne ou récente à la pénicilline.

RESULTATS

Le pourcentage d'hémagglutination positive selon les différents groupes est représenté dans la Fig. 1.

1) Parmi les 195 sérums normaux, 10 soit 5,1 pour cent ont une réaction positive dont le titre, le plus souvent faible, varie de 2 à 32. Quatre sujets ayant des anticorps hémagglutinants ont pu être examinés. Les 2 premiers avaient été traités antérieurement par la pénicilline qui avait été bien tolérée. Le troisième avait reçu un vaccin antipoliomyélitique contenant de la pénicilline. Il n'a pas été possible de déceler le moindre contact avec l'antibiotique chez le quatrième sujet, dont le sérum avait l'activité hémagglutinante la plus forte.

2) 7 hémagglutinations positives soit 16,2 pour cent ont été observées chez les 43 patients sous pénicillinothérapie. Comme dans le groupe précédent, le titre s'échelonnait de 2 à 32. L'absence d'agglutination par le sérum des 7 patients ayant reçu 50.000.000 U de pénicilline par jour suggère qu'il n'y a pas de relation entre la dose d'antibiotique administrée et la production des anticorps hémagglutinants. Cette dernière apparaîtrait davantage conditionnée par le terrain individuel.

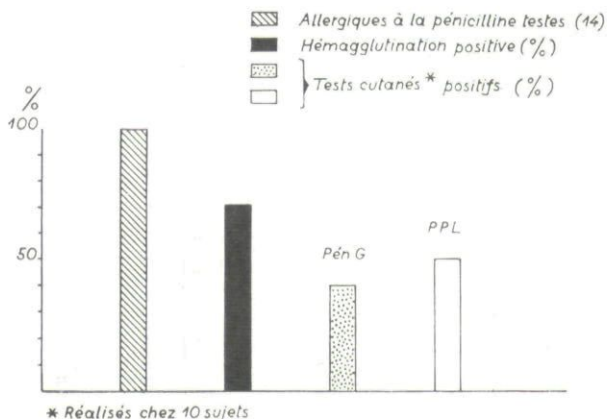


Fig. 2.

Hémagglutination versus tests cutanés à la pén. G et au PPL chez 14 patients avec allergie récente (< 1 an) à la pénicilline.

En effet, des 7 malades avec hémagglutination positive, 3 présentaient une maladie d'origine immunologique probable à savoir un asthme, un syndrome de Stevens-Johnson et une périartérite noueuse. Ici encore, la pénicilline a été bien tolérée par ces patients et les tests cutanés furent négatifs.

3) Alors que 9,5 pour cent seulement des sujets avec allergie ancienne et probable ont une réaction positive, 10 des 14 patients allergiques à la pénicilline, soit 71 pour cent avaient une hémagglutination positive. Chez ces derniers, le titre moyen est supérieur à celui des autres groupes. Les valeurs extrêmes sont 8 et 128. Dans cinq cas, nous avons pu suivre l'évolution de l'activité hémagglutinante en fonction du temps. Chez 2 malades, l'hémagglutination négative au cours de l'affection (maladie sérique et choc anaphylactique) est devenue positive deux ou trois mois plus tard. Elle est toujours restée négative chez les 3 autres patients. Les tests cutanés ont été pratiqués à 10 allergiques certains et à 9 patients dont l'allergie était ancienne et possible. Ils ont été positifs 5 fois pour le PPL et 4 fois pour la pénicilline dans le premier groupe et constamment négatifs dans le second. La figure 2 souligne l'intérêt respectif de l'hémagglutination et des tests cutanés dans le diagnostic de l'allergie à la pénicilline.

DISCUSSION

1) Il est actuellement bien établi que l'agglutination des hématies «pénicillinées» résulte de la présence dans le sérum de certains sujets d'anticorps dits «hémagglutinants» dirigés spécifiquement contre différents déterminants antigéniques dérivés de la pénicilline. L'antigénicité éventuelle de la pénicilline, prouvée chez le lapin (17, 22, 23) fut en fait démontrée chez l'homme dès le début de son utilisation par la production des réactions allergiques. Elle apparaît même un des médicaments les plus allergisants. Ce pouvoir n'est pas seulement lié à son emploi très large ni à son administration souvent parentérale mais aussi à sa structure même. En effet, de nombreux travaux (17, 22, 34) ont montré que la molécule de pénicilline était rapidement transformée dans l'organisme, directement ou par l'intermédiaire de l'acide pénicillénique, en différents dérivés se conjugant facilement aux protéines et dès lors hautement antigéniques. Parmi ceux-ci, le groupement pénicilloyl représente le déterminant antigénique généralement responsable du processus de sensibilisation et de la réaction d'hémagglutination.

La conception immunologique de celle-ci implique que l'on retrouve toujours chez les individus présentant une réaction positive un contact préalable avec l'antibiotique. Ce dernier est presque toujours observé. Tous les auteurs s'accordent sur ce point (21, 29, 33). Il existe cependant quelques exceptions, comme chez un de nos sujets, où aucune injection préparante n'a pu être décelée. Ce fait, parfois constaté chez le patient allergique, est aisément expliqué par la possibilité de sensibilisation «spontanée» à la suite d'infections mycotiques, d'ingestion d'aliment tel que le lait auquel l'antibiotique peut être ajouté dans un but de conservation ou encore de l'administration du vaccin antipoliomyélitique.

2) L'existence d'anticorps hémagglutinants dirigés contre différents dérivés de la pénicilline et principalement contre le groupement pénicilloyl est actuellement bien démontrée par des expériences d'inhibition spécifique (17, 21, 22, 30, 34).

Les caractères physico-chimiques de ceux-ci ont pu être précisés grâce aux techniques d'électrophorèse et d'ultra-centrifugation: ils appartiennent surtout à la classe des γ_1 M globulines et à un moindre degré des γ_2 globulines (10, 13, 26). Par contre, leurs propriétés biologiques restent mal connues: on ignore notamment leur rôle éventuel et si l'union avec l'antigène *in vivo* libère de l'histamine ou d'autres médiateurs généralement activés au cours du conflit immunologique. Ces anticorps se rencontrent cependant beaucoup plus souvent chez les sujets allergiques à la pénicilline. Nous les avons observés chez 71 pour cent de nos allergiques et chez 5,1 pour cent seulement des individus normaux. Ces résultats, en accord avec certaines données de la littérature (26, 28, 29, 37) confirment l'intérêt de la réaction d'héماغglutination dans le diagnostic de l'hypersensibilité à la pénicilline.

3) *Quelle est la valeur de l'héماغglutination par rapport aux tests cutanés à l'aide de pénicilline ou de PPL?* Comme chacun sait, les cutiréactions et intradermoréactions à la pénicilline sont dangereuses et sont positives chez moins de 40 pour cent des individus allergiques à l'antibiotique (3-9-30-38). L'héماغglutination paraît dès lors un test plus sensible et procurant une sécurité totale au malade. Elle est toutefois moins spécifique, une réaction positive même à dilution élevée pouvant être observée chez des sujets normaux.

L'emploi de pénicilloyl-polylysine constitue un progrès remarquable dans le diagnostic de l'allergie à la pénicilline. En effet, ce haptène est moins dangereux que la pénicilline même puisque aucun accident anaphylactique grave n'a été signalé jusqu'à présent (38) et il induit 70 à 80 pour cent de réactions cutanées positives chez les sujets allergiques (3-23-35). Cette dernière notion est cependant contestée par divers auteurs (2-25-30) qui n'observeraient qu'environ 40 pour cent de tests positifs. Ces divergences résultant en partie de différences dans la sélection des patients, dans la technique et la concentration de PPL employé, restent à aplanir. Nos résultats personnels n'autorisent aucune conclusion valable dans ce domaine en raison de la concentration faible de PPL utilisée

et du nombre limité de sujets testés. Dans ces conditions, la valeur de l'héماغglutination et des tests cutanés au PPL ne sera pas davantage discutée.

4) *Les anticorps héماغglutinants sont-ils responsables des manifestations d'hypersensibilité de type immédiat dues à la pénicilline?* Celles-ci relèvent de deux types d'anticorps sériques: les anticorps sensibilisants la peau ou réaginaires et les anticorps anaphylactiques (5-11-12).

Il est facile de prouver que les anticorps héماغglutinants diffèrent des réagines. En effet, dans notre étude:

- a) les réactions cutanées chez tous les sujets non allergiques testés et présentant une héماغglutination positive, étaient négatives. On peut donc observer des anticorps héماغglutinants en l'absence d'anticorps sensibilisants la peau.
- b) certains allergiques ont des anticorps sensibilisants la peau et pas d'anticorps héماغglutinants.
- c) un sérum héماغglutinant provenant d'un sujet normal ne sensibilise pas la peau humaine.
- d) le chauffage du sérum à 56° pendant 4 heures n'inhibe pas l'activité héماغglutinante.

Enfin, il est démontré que les anticorps héماغglutinants appartiennent aux $\gamma 1$ M et $\gamma 2$ globulines (10-25) alors que les réagines sont des $\gamma 1$ A globulines (1-8-15).

Les relations existant entre anticorps héماغglutinants et anaphylactiques sont plus difficiles à préciser. En effet, ces derniers, notamment dans le cadre de l'allergie à la pénicilline, ne peuvent être mis en évidence qu'indirectement par la production de réactions morphologiques ou biologiques au niveau de certaines cellules, organes isolés ou animaux passivement sensibilisés et mis au contact de la pénicilline. Dans ces conditions techniques souvent délicates, l'interprétation d'une réponse négative reste toujours hasardeuse. Aussi, il nous a paru que le moyen le plus sûr de vérifier l'absence d'anticorps anaphylactiques anti-pénicilline chez des individus présumés normaux mais dont le sérum agglutinait les hématies pénicillinées était

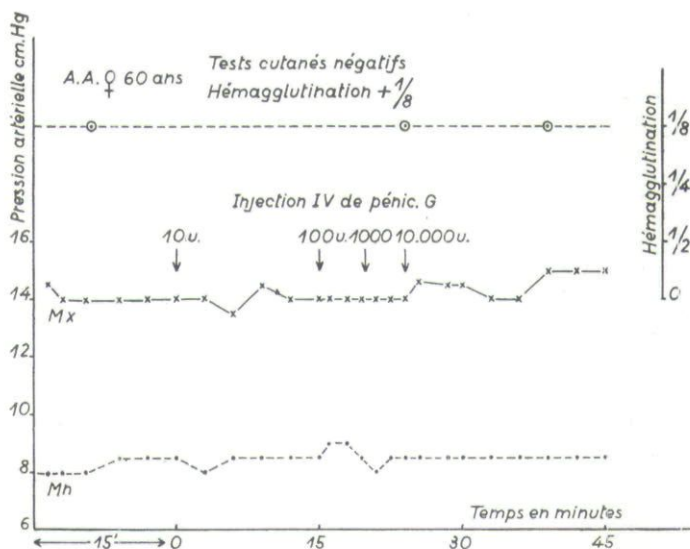


Fig. 3.

Influence de l'injection intra-veineuse de pén. G sur la pression artérielle d'un individu normal dont le sérum agglutine des hématies humaines ORH-pénicillinées.

d'étudier leur tolérance à l'administration parentérale de l'antibiotique. La négativité d'un tel test de provocation apparaît fort peu compatible avec la présence dans l'organisme d'anticorps allergiques.

Dans ce but, nous avons administré de façon prudente de la pénicilline à 3 sujets présentant des tests cutanés négatifs et une hémagglutination positive au titre de 16, 32 et 8. La pénicilline avait toujours été bien tolérée antérieurement. L'antibiotique a été donné par voie orale, intramusculaire ou intraveineuse (Fig. 3) sans le moindre signe d'intolérance.

Ces observations et d'autres (9-29) démontrent que les anticorps hémagglutinants diffèrent des anticorps anaphylactiques et réaginaires et ne sont donc pas responsables des symptômes allergiques. Leur rôle et leurs propriétés biologiques doivent encore être précisés. Ils sont toutefois retrouvés suffisamment souvent dans le sérum des sujets ayant

présenté une intolérance récente à la pénicilline pour que leur détection à l'aide de la réaction d'héماغglutination puisse être considérée comme un test valable quoique non absolu du diagnostic de l'allergie à la pénicilline.

RÉSUMÉ

La séro-agglutination des globules rouges humains «pénicillinés» à pH neutre a été étudiée chez 195 adultes normaux, chez 43 patients sous pénicillinothérapie, chez 21 sujets avec allergie ancienne (> 1 an) et probable à la pénicilline et chez 14 individus présentant une sensibilisation certaine et récente à l'antibiotique.

L'héماغglutination a été positive respectivement chez 5,1 pour cent – 16,2 pour cent – 9,5 pour cent – et 71 pour cent des sujets des quatre groupes considérés. Cette réaction, qui n'est pas totalement spécifique, apparaît plus sensible que les tests cutanés pour diagnostic de l'allergie à pénicilline.

Dans le cadre de cette sensibilisation, diverses observations indiquent que les anticorps héماغglutinants diffèrent des réagines et des anticorps anaphylactiques, généralement responsables des symptômes observés.

Nous remercions Mademoiselle *J. Dirix* pour son excellente aide technique ainsi que le Prof. *P. Moureau* et le Dr. *M. Otto-Servais* du Service de Transfusion sanguine qui nous ont autorisés et aidés à récolter les sérums normaux. Le Prof. *S. Lapiere* nous a permis d'explorer en collaboration avec le Dr. *R. Leclercq* certains patients hospitalisés au Service de Dermatologie. Nous leur exprimons notre gratitude.

BIBLIOGRAPHIE

1. *Augustin, R., & Hayward, B. J.*: Human reagins to grass pollens and moulds: Their purification and physico-chemical characterization, *Immunology*, 3, 45, 1960.

2. *Brown, B. C., Price, E. F. & Moore, M. B.*: Penicilloyl-Polylysine as an intradermal test of penicillin sensitivity. *JAMA*, 189, 599-605, 1964.
3. *Budd, M. A., Parker, C. W. & Norden, C. W.*: Evaluation of intradermal skin tests in penicillin hypersensitivity. *JAMA*, 190, 203-205, 1964.
4. *Chisholm, D. R., English, A. R. & McLean, N. A.*: Immunologic response of rabbits to 6-aminopenicillanic acid. *J. Allergy*, 32, 333, 1961.
5. *Criep, L. H.*: *Clinical Immunology and Allergy*; Grune and Stratton, New York and London 1962.
6. *Criep, L. H. & Frieman, H.*: Allergy to Phenethicillin, *New Eng. J. Med.* 263, 891, 1960.
7. *Epp, M.*: Serological procedures for the detection of antibodies to penicillin. *Science* 130, 1472, 1959.
8. *Fireman, Ph., Vannier, W. E. & Goodman, H. C.*: The association of skin sensitizing antibody with the β_2A -globulins in sera from ragweed-sensitive patients. *J. Exp. Med.* 117, 603-620, 1963.
9. *Finke, S. R., Grieco, M. H., Connell, J. T., Smith, E. C. & Sherman, W. B.*: Results of comparative skin tests with penicilloyl-polylysine and penicillin in patients with penicillin allergy. *Am. J. Med.* 38, 71-81, 1965.
10. *Fudenberg, H. H. & German, J. L.*: Certain physical and biologic characteristics of penicillin antibody. *Blood* 15, 683, 1960.
11. *Gell, P. G. H. & Coombs, R. R. A.*: *Clinical Aspects of Immunology*; Blackwell scientific publications—Oxford, 1963.
12. *Halpern, B. N., Liacopoulos, P. & Biozzi, G.*: Bases expérimentales et immunologiques de l'allergie in *Maladies Allergiques: Pasteur Valéry-Radot, P., Wolffromm, R., Charpin, J. et Halpern, B. N.* Editions Médicales Flammarion, Paris, 1963.
13. *Harris, J. & Vaughan, J. H.*: Immunologic Reactions to Penicillin. *J. Allergy* 32, 119, 1961.
14. *Heggie, A. D.*: Incidence of circulating antibody to penicillin in penicillin hypersensitivity reactions. *New Engl. J. Med.* 262, 1160, 1960.
15. *Heremans, J. F. & Vaerman, J. P.*: β_2A -Globulin as a possible carrier of allergic reaginic activity, *Nature*, 193, 1.091, 1962.
16. *Huriez, CL., Jacob, M., Martin, P., Baelden, J. & Fossati, R.*: Etude des hémagglutinations et des tests cutanés dans 29 cas d'intolérance pénicillée à manifestations cutanées. *Bulletin de la Société Française de Dermatologie et de Syphiligraphie*, 70, 173-177, 1963.
17. *Levine, B. B. & Ovary, Z.*: Studies on the mechanism of formation of the penicillin antigen. III. The N-(D-a-benzylpenicilloyl) group as an antigenic determinant responsible for hypersensitivity to penicillin *G. J. exp. Med.* 114, 875-904, 1961.
18. *Levine, B. B.*: N(a-D-penicilloyl) amines as univalent hapten inhibitors of antibody-dependent allergic reactions to penicillin. *J. Med. pharm. Chem.* 5, 1025-1034, 1962.

19. *Levine, B. B. & Price, V. H.*: Studies on the immunological mechanisms of penicillin allergy. II. Antigenic specificities of allergic wheal-and-flare skin responses in patients with histories of penicillin allergy. *Immunology, Lond.* 7, 542-556, 1964.
20. *Levine, B. B.*: Vth Int. Congr. Allergology, Madrid, October 1964.
21. *Ley, A. B., Harris, J. P., Brinkley, M., Liles, B., Jack, J. A. & Cahan, A.*: Circulating antibodies directed against penicillin. *Science* 127, 1118, 1958.
22. *Parker, C. W., de Weck, A. L., Kern, M. & Eisen, H. N.*: The preparation and some properties of penicillenic acid derivatives relevant to penicillin hypersensitivity. *J. Med.* 115, 803-819, 1962.
23. *Parker, C. W., Shapiro, J., Kern, M. & Eisen, H. N.*: hypersensitivity to penicillenic acid derivatives in human beings with penicillin allergy. *J. exp. Med.* 115, 821-838, 1962.
24. *Rudzki, E., Lukasiak, B., Leszczynski, W.*: Penicillin hypersensitivity and haemagglutinating antibodies in workers at a penicillin factory. *Acta Allergol.* XX, 206-214, 1965.
25. *Rytel, M. W., Klion, F. M., Arlander, T. R. & Miller, L. F.*: Detection of penicillin hypersensitivity with penicilloyl-polylysine. *JAMA.* 186, 894, 1963.
26. *Schwartz, R. H. & Vaughan, J. H.*: Immunologic responsiveness of man to penicillin. *JAMA.* 186, 1151-1157, 1963.
27. *Steward, G. T.*: Cross-Allergenicity of Penicillin G and related substances. *Lancet* 509-510, 1962.
28. *Thiel, J. A., Mitchell, S. & Parker, C. W.*: The specificity of hemagglutination reactions in human and experimental penicillin hypersensitivity. *J. Allergy* 35, 399-424, 1964.
29. *Van Arsdel, P. P. Jr., o'Rourke, T. K., Horan, J. D. & Kumasaka, Y.*: Serum hemagglutinating antibodies in penicillin allergy. *JAMA.* 185, 584-587, 1963.
30. *Van Arsdel, P. P. Jr., Tobe, A. D. & Pasnich, L. J.*: Association of hemagglutinating antibodies with skin sensitivity in penicillin allergy. *J. Allergy* 34, 526-534, 1963.
31. *Wagelie, R. G., Dukes, C. D. & McGovern, J. P.*: Antigenicity and cross-reactivity of 6-Aminopenicillanic acid and penicillin G. *J. Allergy* 34, 489, 1963.
32. *Watson, K. C., Joubert, S. M. & Bennett, M. A.*: The occurrence of hemagglutinating antibody to penicillin. *Immunology* 3, 1, 1960.
33. *Watson, K. C.*: Effect of various penicillin compounds on hemagglutination of penicillin coated erythrocytes. *Immunology, Lond.* 5, 610, 1962.
34. *de Weck, A. L.*: Studies on penicillin hypersensitivity. I. The specificity of rabbit «antipenicillin» antibodies. *Int. Arch. Allergy* 21, 20-37, 1962.
35. *de Weck, A. L.*: Etudes sur l'allergie à la pénicilline, IV. Les tests cutanés dans l'allergie à la pénicilline. *Dermatologica* 125, 283, 1962.

36. *de Weck, A. L. & Blum, G.*: Un nouveau test cutané pour la détection de l'allergie à la pénicilline. *Praxis* 3, 67, 1963.
37. *de Weck, A. L.*: *Penicillin Allergy*: Its detection by an improved hemagglutination technique. *Nature, Lond.* 202, 975, 1964.
38. *de Weck, A. L. & Blum, G.*: Recent Clinical and Immunological Aspects of Penicillin Allergy. *Int. Arch. Allergy.* 27, 221-256, 1965.

This document is a scanned copy of a printed document. No warranty is given about the accuracy of the copy. Users should refer to the original published version of the material.