

Prévention du risque allergique peranesthésique
Recommandations pour la pratique clinique

Comment rapporter à l'anaphylaxie l'accident observé ?
Tests diagnostiques in vitro¹

Diagnostic of anaphylactoid reactions. In vitro tests

D. Laroche ^{a,*}, L. Guilloux ^b, J.L. Guéant ^c

^aLaboratoire de biophysique, radio-isotopes radio-immunologie, CHRU, avenue Côte-de-Nacre, 14033 Caen cedex, France

^bUnité d'immuno-allergologie, laboratoire Mérieux, avenue Tony Garnier, 69007 Lyon, France

^cLaboratoire de biochimie des protéines, CHU Nancy-Brabois, rue du Morvan, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy, France

Reçu le 30 mai 2002; accepté le 30 mai 2002

POINTS ESSENTIELS

– Le dosage des médiateurs pendant une réaction compatible avec un mécanisme anaphylactique ou devant un décès brutal incompris, est un élément important du diagnostic, dont le but est de prouver une dégranulation des mastocytes et/ou des basophiles. Les médiateurs étant fugaces, les prélèvements recueillis tardivement ne seront pas informatifs. Il est donc nécessaire de pratiquer les prélèvements dès que la situation clinique est maîtrisée. En cas d'inefficacité de la réanimation, il convient de prélever avant l'arrêt de celle-ci, plutôt qu'en post-mortem. La chronologie des prélèvements par rapport aux signes cliniques sera précisée, et les résultats seront interprétés en tenant compte de cette chronologie et de la sévérité de la réaction.

– Il vaut mieux prélever plus d'échantillons que nécessaire, à des instants différents, afin de disposer d'une sérothèque complète. Pour faciliter le recueil dans des conditions d'urgence, chaque bloc devrait disposer de sachets dédiés, contenant le matériel nécessaire aux prélèvements, ainsi que le protocole de recueil pour l'anesthésiste, un protocole destiné au laboratoire pour la décantation, le stockage et l'expédition des échantillons, et une fiche de renseignements cliniques pour permettre l'interprétation des résultats.

– L'histamine et la tryptase sont les médiateurs les mieux étudiés. Afin d'augmenter la sensibilité diagnostique, il est conseillé d'associer leurs dosages.

• *Histamine plasmatique* : une augmentation de la concentration peut être due à une anaphylaxie ou à un mécanisme non spécifique par atteinte exclusive des basophiles. Le pic étant immédiat, et corrélé avec la sévérité de la réaction, l'histamine doit être mesurée le plus précocement possible après le début de la réaction, et d'autant plus précocement que la réaction est moins sévère. Le délai idéal se situe 5 à 15 minutes après la réaction, pour les réactions cutanées pures (grade 1), avant 30 minutes pour les réactions de grade 2, et entre 30 minutes et 2 heures pour les réactions plus sévères. Un tube de sang prélevé sur EDTA, de 7,5 mL pour les adultes ou 4,5 mL pour les enfants, est transmis au laboratoire local dans les 2 heures ou conservé à 4 °C une nuit maximum. Après centrifugation, le plasma est aspiré délicatement pour éviter toute contamination par des leucocytes, puis congelé à –20 °C. Le dosage est inutile chez les femmes enceintes et les patients sous héparine à forte dose, en raison de l'activation de la diamine oxydase qui détruit rapidement l'histamine libérée.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : mc.laxenaire@chu-nancy.fr

¹ Ce travail a fait l'objet d'une première publication dans Ann Fr Anesth Reanim 2002 ; 21 (suppl 1) : 73-96.

- **Tryptase** : l'augmentation de la concentration de tryptase témoigne d'une dégranulation mastocytaire et est en faveur d'un mécanisme anaphylactique. Du fait de l'importante dispersion des valeurs normales d'un individu à l'autre, un échantillon à distance de la réaction peut être utile, en particulier pour les réactions modérées, pour interpréter les faibles augmentations. Il sera obtenu soit le lendemain, soit à la consultation d'allergologie, soit en récupérant un prélèvement fait avant anesthésie. Un doublement de la valeur de base est reconnu comme critère de positivité dans ces cas. Après son expulsion des mastocytes dans les tissus, la tryptase diffuse vers les vaisseaux, où elle est détectable 15 minutes après le début des signes. Le pic est observé, selon les patients, entre 15 minutes et 2 heures après la réaction, la concentration est corrélée à la sévérité des signes, et la demi-vie d'élimination est de 90 minutes. Le dosage nécessite un tube sec ou EDTA de 7,5 mL de sang (4,5 mL pour les enfants). Les délais optimaux de prélèvement sont : 15 à 60 minutes pour les grades 1 et 2 ; 30 minutes à 2 heures pour les grades 3 et 4. Il faut prélever du sang même si les délais optimaux sont dépassés, car la positivité excède souvent 6 heures pour les grades de sévérité élevés.
- **Méthylhistamine urinaire** : Ce dosage n'est pas recommandé en première intention, car il est moins sensible que les précédents. Il peut parfois être utile pour les réactions d'importance moyenne. Les urines doivent être recueillies pendant une à deux heures à partir du début de la réaction, en jetant les urines présentes auparavant dans la vessie si le patient est sondé. Ce test est inutile pour les patients en collapsus, du fait du défaut de filtration.

Les autres médiateurs n'ont pas fait la preuve de leur utilité diagnostique.

Les tests diagnostiques in vitro sont de trois types : le dosage des médiateurs libérés pendant la réaction, la recherche dans le sérum, d'IgE spécifiques du médicament présumé responsable, et les tests cellulaires visant à mettre en évidence les IgE spécifiques fixées sur leurs cellules-cible.

1. Dosage des médiateurs libérés

L'anaphylaxie est due à la présence à la surface des basophiles et des mastocytes, d'immunoglobulines E (IgE) spécifiques d'un agent antigénique, l'administration de cet agent provoquant alors une libération brutale de médiateurs pathogènes. La dégranulation du basophile peut être spécifique, IgE-dépendante ou non spécifique par d'autres mécanismes. L'importance de l'histaminolibération non spécifique est alors proportionnelle à la concentration du médicament histaminolibérateur ou à la vitesse d'injection. La dégranulation du mastocyte nécessite que le médicament diffuse vers les espaces périvasculaires où il se trouve, ce qui atténue les effets de dose. C'est pourquoi, on considère qu'une activation mastocytaire est plus vraisemblablement due à un mécanisme immunologique.

Parmi les réactions peranesthésiques typiques, il est indispensable d'identifier celles qui procèdent d'un mécanisme IgE-dépendant. En effet, celles-ci impliquent l'exclusion définitive du produit responsable, voire des agents de la même classe pharmacologique, toute ré-introduction, même en quantité minime, étant susceptible de provoquer une nouvelle réaction, volontiers plus sévère. En revanche, les réactions dues à une histaminolibération non spécifique ne

sont qu'une contre-indication relative, du fait de la relation dose-effet.

Le diagnostic étiologique repose sur les tests allergologiques, pratiqués six semaines après la réaction. D'après le dernier bilan des consultations d'allergo-anesthésie colligé en France, 53 % des réactions peranesthésiques typiques sont anaphylactiques, les autres étant qualifiées d'anaphylactoïdes, c'est-à-dire de mécanisme non élucidé [1]. La mesure des médiateurs impliqués dans la réaction anaphylactique est une approche indépendante, complémentaire, destinée à prouver la dégranulation des mastocytes et/ou des basophiles. Entre 1994 et 1996, 10 % des patients adressés à une consultation d'allergo-anesthésie en France ont bénéficié de la mesure de médiateurs pendant la réaction [1].

La dégranulation IgE-dépendante provoque, à partir des mastocytes et des basophiles, une libération explosive d'histamine qui sera potentiellement mesurable dans le plasma. L'histamine libérée va exercer son action en se fixant sur ses récepteurs. La fraction non fixée est métabolisée par le foie et le rein (et le placenta chez la femme enceinte) grâce à deux enzymes, la N-méthyltransférase et la diamine oxydase [2]. Chez le sujet normal, le métabolisme de l'histamine se fait préférentiellement par la voie de la N-méthyltransférase, conduisant d'abord à la formation de N-méthylhistamine, puis d'acide N-méthylimidazole acétique. L'histamine et ses métabolites sont filtrés par le rein et retrouvés dans les urines dans l'heure qui suit la stimulation pour l'histamine et la méthylhistamine, et 2 à 5 heures plus tard pour l'acide méthylimidazole acétique [3]. L'étude de l'histamine ou de ses métabolites ne permet pas de différencier la dégranulation du mastocyte de celle du basophile.

On dispose dans ce but du dosage de la tryptase, protéase neutre, absente des basophiles, qui est expulsée parallèlement à l'histamine lors de la dégranulation mastocytaire [4].

Dans la deuxième phase de la réaction IgE-dépendante, les leucotriènes (LT) et les prostaglandines (PG) sont synthétisées à partir de l'acide arachidonique membranaire, puis excrétées. Il est possible de mesurer les concentrations plasmatiques de LTC₄, D₄, E₄ (anciennement *Slow Reacting Substance of Anaphylaxis*) et de la PGD₂, ainsi que certains de leurs métabolites urinaires. Dans une troisième phase, des cytokines sont synthétisées et excrétées.

1.1. Tryptase

Du fait de sa localisation essentiellement mastocytaire [5], la tryptase mesurée dans le plasma est un reflet de l'activation des mastocytes tissulaires [6]. Deux formes moléculaires de tryptase ont été décrites dans le plasma, l' α -protryptase et la tryptase β . Cette dernière est la forme préférentiellement stockée dans les granules, et libérée avec l'histamine lors des réactions anaphylactiques [7]. L' α -protryptase est la forme physiologique de tryptase sécrétée en permanence par les mastocytes [8]. Sa concentration est considérablement augmentée dans les mastocytoses systémiques [9], tandis que celle de la tryptase β n'est que peu ou pas augmentée [10].

1.1.1. Dosage plasmatique de la tryptase β

La tryptase β est mesurée par méthode immunoradiométrique, la molécule étant prise en « sandwich » entre deux anticorps monoclonaux notés respectivement G5 pour l'anticorps de capture, fixé sur la paroi du tube, spécifique de la tryptase β , et G4 marqué à l'Iode 125 pour la détection [7] (RIACT Tryptase ; Pharmacia & Upjohn, Uppsala, Suède). La sensibilité analytique est de $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, et l'effet-crochet est observé à partir de $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (l'effet-crochet ou *hook effect* est dû à la saturation de l'anticorps de capture par des concentrations très élevées de la molécule à doser, l'excès de celle-ci captant alors l'anticorps de détection au détriment du sandwich). La molécule peut être mesurée dans le sérum ou le plasma, et dans différentes sécrétions [7]. La cotation est BR100. Ce dosage n'est plus commercialisé actuellement.

Les sujets normaux ont des concentrations de tryptase β inférieures au premier point de gamme du dosage ($< 2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) [7], de même que les patients anesthésiés sans réaction [11].

Parmi les études cliniques publiées, il faut distinguer les mesures effectuées pendant des tests de provocation [12–16], ce qui est un bon modèle expérimental, de celles effectuées dans les suites de réactions médicamenteuses inopinées, peranesthésiques [11,17–23] ou non [12,24,25].

Une série importante de tests de provocation par piqûre d'hyménoptère a été publiée, concernant des volontaires et des patients ayant précédemment présenté une réaction. Aucune augmentation significative de tryptase n'est observée chez les volontaires, ni chez les patients n'ayant pas réagi au test. Cinq pour cent des patients ayant développé une réaction cutanée ou cutanéomuqueuse ont une augmentation dépassant le seuil des valeurs normales, contre 94 % des patients ayant eu une hypotension sévère [13]. Pour ces derniers, les concentrations de tryptase β augmentent dès la première minute, avec un pic vers la 15^e minute, suivi d'une faible diminution à une heure de la réaction. L'augmentation de concentration à 5 minutes est inversement corrélée à la baisse de la pression artérielle moyenne [13]. Pour les tests de provocation orale par des médicaments, les patients à réaction atypique ou développant uniquement des signes cutanéomuqueux n'ont pas d'augmentation des concentrations de tryptase β deux heures plus tard, tandis que ceux avec des réactions sévères ont une augmentation plus ou moins importante, en fonction de la présence ou de l'absence d'une hypotension. Le pic est observé 30 à 360 minutes après le début des signes [14]. Dans une série de tests de provocation à l'aspirine, les concentrations de tryptase β n'étaient augmentées que chez les patients ayant eu une réaction systémique [15], comme lors de tests de provocation alimentaires [16].

Parmi les études de réactions inopinées, plusieurs séries de réactions peranesthésiques ont été publiées, ainsi que des cas cliniques. Dans une série de 15 patients, la concentration de tryptase β est augmentée seulement pour les réactions de grade supérieur à 2 [11]. Dans une série de 30 patients, les concentrations sont augmentées chez les sujets ayant une hypotension sévère, mais pas dans les bronchospasmes isolés [19]. Des concentrations augmentées sont trouvées aussi bien dans des échantillons prélevés très précocement, 10 à 15 minutes après les premiers signes, que plusieurs heures après la réaction [11]. Dans une réaction de grade 3, l'évolution de la concentration plasmatique est suivie depuis la 30^e minute et jusqu'à 72 heures après le début de la réaction, montrant une diminution lente jusqu'à obtenir une valeur normale après la 12^e heure [23]. Dans une série de 300 patients, 45 % des patients ont une augmentation de la concentration, et des valeurs augmentées sont décelées chez de nombreux patients plus de 6 heures après la réaction [20]. Chez des patients ayant réagi à un médicament hors du contexte de l'anesthésie, les concentrations sont augmentées deux heures après l'accident dans 84 % des réactions systémiques et dans 42 % des réactions urticariennes [24]. Chez des patients ayant présenté une réaction immédiate sévère à des produits de contraste iodés, les concentrations de tryptase β sont corrélées à la sévérité de la réaction [25], mesurée par le score de Ring et Messmer [26].

Les demi-vies d'élimination sont évaluées respectivement à 90 minutes chez un patient ayant réagi à une piqure d'hyménoptère, et à 120 minutes chez un autre réagissant après une prise d'indométhacine per os [12]. Chez trois patients ayant eu des réactions peranesthésiques de grade 3, la demi-vie d'élimination de la tryptase est évaluée à 90 min [11].

Parmi 300 patients ayant eu une réaction peranesthésique, 96 % de ceux ayant une augmentation de la tryptase β ont un test cutané positif ou des IgE positives au médicament suspect, et 95 % de ceux ayant une concentration normale ont une exploration allergologique négative [20]. Une augmentation de la concentration de la tryptase β lors d'une réaction peranesthésique est donc en faveur d'un mécanisme anaphylactique [20]. Dans d'autres séries moins importantes, un mécanisme IgE-dépendant est également démontré chez les patients ayant une augmentation de la concentration de la tryptase β [11,17,18,21,22]. Inversement, parmi les patients à tests cutanés positifs, 68 % ont des concentrations de tryptase β augmentées [21]. Les auteurs de cas cliniques retiennent l'augmentation de concentration de la tryptase β comme un élément positif du diagnostic d'anaphylaxie, alors qu'une histaminolibération non spécifique est suspectée en cas de concentration de tryptase normale [27-36].

Dans les cas de réactions fatales, un prélèvement avant l'arrêt de la réanimation peut permettre le diagnostic d'anaphylaxie si la concentration de tryptase β est franchement augmentée [11,20,37]. Le dosage a été proposé comme test diagnostique post-mortem [38]. Il semble cependant que même un seuil très élevé ($>10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) ne soit pas suffisant pour affirmer la cause allergique du décès [39], surtout si le prélèvement est effectué en intracardiaque sur corps réfrigéré [40]. Certains patients décédés de cause non anaphylactique (en particulier traumatique) ont des concentrations post-mortem de tryptase β franchement augmentées [41]. La présence, dans le sang prélevé post-mortem, d'IgE spécifiques du produit suspecté serait un argument supplémentaire à prendre en compte, associé à la positivité de la tryptase β [42,43].

1.1.2. Dosage plasmatique de la tryptase totale

Le dosage de la tryptase totale est disponible depuis mars 1997 (UniCAP Tryptase, Pharmacia & Upjohn) [44]. Il a remplacé celui de la tryptase β , dont la commercialisation a été arrêtée courant 1997. La méthode de dosage est de type immunofluorimétrique, et nécessite un automate de dosage. Deux anticorps monoclonaux sont utilisés, respectivement B12 comme anticorps de capture, reconnaissant à la fois la tryptase β et l' α -protryptase, et l'anticorps G4 marqué à la β -galactosidase avec lecture fluorimétrique. Le dosage est conseillé sur serum, mais le plasma EDTA peut aussi être utilisé. La congélation-décongélation du sérum n'a pas

d'effet sur les valeurs mesurées. La sensibilité analytique est de $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ [44], la reproductibilité de 7 % au seuil des valeurs normales. Ce nouveau dosage n'est pas encore à la nomenclature.

Les sujets normaux ont des concentrations détectables, la moyenne variant de $1,9$ à $4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, selon la population testée, avec une grande variabilité inter-individus (extrêmes : $0,4$ à $13,9 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) [44]. Il n'y a pas de différence significative entre des sujets normaux et des patients souffrant de rhinite [44]. Chez un même sujet, les concentrations sont stables au cours du temps [44]. La concentration moyenne trouvée chez des sujets anesthésiés sans réaction est de $6,0 \pm 2,4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ [37]. Une corrélation linéaire est observée entre des concentrations plasmatiques augmentées de tryptase β et les concentrations de tryptase totale mesurées dans le même échantillon, lors de tests de provocation aux venins d'hyménoptères [44], et lors de réactions peranesthésiques sévères [37], ce que confirme la bonne concordance diagnostique des deux tests [45].

Lors de tests de provocation au venin d'hyménoptère, un doublement du taux de base est observé dans 94 % des réactions sévères avec hypotension et dans 45 % des réactions modestes, on n'observe pas de modifications significatives chez les témoins ni chez les patients ne réagissant pas au test [44]. L'augmentation est inversement corrélée à la chute de pression artérielle. Le pic est le plus souvent observé 15 à 60 minutes après le début des symptômes [44]. Lors de réactions anaphylactiques peranesthésiques, les concentrations de tryptase totale augmentent dès la 10^e minute, avec un pic situé entre 30 min et 2 h selon les individus, puis retournent aux valeurs normales le lendemain de la réaction chez la majorité des patients [37]. Pour des réactions de grade 3, les concentrations restent pratiquement en plateau entre 30 et 90 minutes après la réaction [46]. Comme pour la tryptase β , l'augmentation de la tryptase totale est généralement associée à une positivité des tests cutanés [47-50].

Du fait de la grande variabilité inter-individus des valeurs normales, l'établissement du seuil de positivité est plus difficile à obtenir que pour la tryptase β . Pour les tests de provocation, le doublement des valeurs de base 15 à 60 min après réaction serait un élément de diagnostic plus sensible qu'une valeur isolée [44]. Pour les réactions peranesthésiques modérées, où les concentrations sont peu augmentées, il est nécessaire de les comparer à une valeur de base, mesurée le lendemain [37]. Pour les autres réactions médicamenteuses, un seuil de $8,23 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, pour un prélèvement effectué dans les six premières heures donne une sensibilité diagnostique de 94 % et une spécificité de 92 %, et la comparaison des concentrations pendant la réaction et à distance rend le test plus discriminant [51].

1.1.3. Limites du dosage de tryptase

L'histaminolibération non spécifique ne modifie pas de manière significative la concentration de tryptase totale, le modèle utilisé pour le démontrer étant l'injection rapide de vancomycine chez des volontaires [52].

Exceptionnellement des augmentations de la concentration de tryptase, non liées à un accident allergique, peuvent être observées, liées soit à un artefact de prélèvement, soit au terrain du patient. Les prélèvements réalisés dans des tubes fluorés donnent des résultats faux-positifs [20]. Les patients ayant une mastocytose systémique ont des concentrations de tryptase totale considérablement augmentées, celles de tryptase β étant subnormales [9,10]. Au cours des épisodes d'ischémie myocardique, une augmentation minime des concentrations intracardiaques de tryptase β , n'excédant pas le seuil de normalité, est observée [53]. Les basophiles de certains asthmatiques pourraient synthétiser de la tryptase [54], et éventuellement en libérer de manière non spécifique. Aucune publication n'a étayé cette hypothèse.

Une diminution modérée des concentrations de tryptase β est constatée dans du sang conservé plus de 24 h à température ambiante [37].

1.2. Histamine

La mise en évidence d'une concentration d'histamine augmentée dans le plasma permet de rattacher une symptomatologie évocatrice à une histaminolibération *in vivo*.

La majorité des études publiées n'entrent pas dans le cadre des réactions qui sont au centre de ces recommandations pour la pratique clinique. Il s'agit de protocoles pharmacologiques *in vivo* et *in vitro*, mettant en évidence le pouvoir histaminolibérateur de différents médicaments chez des sujets *a priori* non sensibilisés. Les augmentations de la concentration d'histamine détectées sont faibles (voire inférieures au seuil de normalité) ou modérées, touchent une proportion importante des sujets [55] et dépendent de la dose du médicament administré [56]. Il n'y a pas de corrélation entre les signes cliniques et les augmentations de la concentration d'histamine [57], ce qui pourrait être dû au manque de précision des dosages dans la zone des valeurs normales [58]. Les résultats de ces études ne devraient pas être extrapolés aux véritables réactions anaphylactiques, observées chez des sujets sensibilisés : le mécanisme est différent, et les signes cliniques sont plus sévères, suggérant une libération de médiateurs beaucoup plus intense. De même, la courte demi-vie d'élimination de l'histamine du plasma (102 secondes) a été mesurée chez le sujet sain perfusé par de l'histamine exogène [59], ce qui ne saurait être comparé à l'inondation histaminique obtenue dans les réactions anaphylactiques. Malgré cette évidence, de nombreux auteurs, se basant sur les études pharmacologiques,

postulent qu'il est inutile de mesurer l'histamine plasmatique, son élimination étant présumée totale en moins de 10 minutes. Dans cet exposé, nous nous limiterons aux études de réactions présumées immunologiques.

1.2.1. Dosage de l'histamine

Les méthodes de mesure de l'histamine plasmatique sont nombreuses. Historiquement, après le dosage biologique sur iléon de cobaye, particulièrement peu sensible, le dosage fluorimétrique après chromatographie a longtemps été le test de référence et de nombreuses données ont été obtenues, des années 1970 jusqu'à nos jours, avec cette technique. Les autres méthodes sont le dosage radio-enzymatique, la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse [58].

En 1987, un dosage radioimmunologique a été mis sur le marché en France [60] (RIA Histamine, Immunotech, Beckman-Coulter, Marseille, France). Dans cette méthode, l'histamine des échantillons et des calibrateurs est transformée par acylation avant d'entrer en compétition avec l'histamine marquée à l'Iode 125, vis-à-vis des sites d'un anticorps monoclonal hautement spécifique fixé sur le tube. La sensibilité analytique est de $0,2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, la reproductibilité est de 13 % dans la zone normale des concentrations. Seule la méthylhistamine croise partiellement dans ce dosage [61]. Ce dernier est fait sur plasma-EDTA de préférence, l'EDTA bloquant la libération spontanée dans le tube en chélatant le calcium. Les sujets normaux ont des concentrations moyennes de $1,7 \pm 0,7 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ [61], et les contrôles anesthésiés de $1,6 \pm 0,6 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ [11]. Les auteurs anglosaxons expriment les résultats en $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, la correspondance est la suivante : $1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} = 0,11 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, soit $1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1} = 9 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$. Cette dernière valeur est considérée comme le seuil de positivité franche du test, les concentrations allant de 6 à $9 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ étant considérées comme suspectes [37]. Ce dosage est soumis à entente préalable, il est coté BR 150.

Lors de tests de provocation au venin d'hyménoptère, le pic d'histamine est observé dès la première minute qui suit la réaction. L'augmentation est liée à l'amplitude de la baisse de la pression artérielle pour les réactions sévères [13], et au score clinique pour les réactions modérées [62]. Dans les réactions peranesthésiques, des concentrations franchement augmentées peuvent être mesurées 10 min à 2 h après la réaction [11,17]. Le pic est d'autant plus élevé que la réaction est plus sévère [37]. La demi-vie d'élimination est de 15 à 20 minutes, probablement du fait d'une saturation du métabolisme enzymatique de l'histamine, de ce fait, la plupart des patients ont encore une augmentation de la concentration 60 minutes après le début de la réaction, et même au-delà de 2 heures dans les réactions très sévères [63]. Dans une série d'anaphylaxies prouvées, une augmen-

tation de la concentration d'histamine a été détectée chez 56 % des patients [21]. La concordance avec les concentrations de tryptase est généralement bonne [11,17,46], mais certains patients ont uniquement une augmentation de la concentration d'histamine [11,17] et d'autres uniquement de tryptase [37]. L'histamine serait un marqueur plus sensible que la tryptase dans les réactions modérées [17,22]. L'association des dosages d'histamine et de tryptase augmenterait la sensibilité diagnostique [21]. Dans les réactions aux produits de contraste, la concentration maximum est corrélée au score de sévérité de la réaction, et la demi-vie d'élimination est analogue à celle trouvée pour les réactions peranesthésiques [25].

Il est conseillé de prélever le sang dans les 5 à 30 minutes qui suivent une réaction de grade 1 ou 2, alors que l'on peut repousser le prélèvement de 30 à 120 minutes, après tous les gestes urgents, pour les réactions de grade 3 et 4 [37]. Quelques séries [22,45,6] et des cas cliniques [32,64,65] ont confirmé la faisabilité de cette approche.

1.2.2. Limites du dosage de l'histamine

Deux types d'artefacts doivent être évités : l'altération des basophiles dans le tube prélevé, provoquant des faux-positifs et la disparition de l'histamine soit *in vivo*, soit dans le tube prélevé, provoquant des faux-négatifs.

Des recommandations draconiennes ont été édictées pour le dosage fluorimétrique, visant à mesurer de manière aussi rigoureuse que possible des histaminolibérations faibles lors de protocoles pharmacologiques : prélèvement à l'aide d'un cathéter, interdiction d'utiliser un garrot et des tubes sous vide ou en verre, nécessité de rejeter le premier échantillon prélevé et de refroidir aussitôt dans la glace pilée le tube de sang, centrifugation à 4 °C dans les minutes suivant le prélèvement, aspiration très douce du plasma à distance de la couche des globules blancs, congélation immédiate du plasma à –20 °C [66]. Ces recommandations rendaient en pratique impossible l'utilisation du dosage de l'histamine pendant une réaction inopinée.

Une recherche systématique des faux-positifs et des faux-négatifs, pour le dosage radioimmunologique, a montré que la plupart de ces recommandations étaient inutiles dans le cadre du diagnostic des réactions anaphylactoïdes [63] : il n'y a pas de faux-positifs si les prélèvements sont faits à l'aide d'un garrot dans des tubes sous vide, par ponction veineuse directe. Il n'y a pas de faux-négatifs si l'on utilise un tube de verre. Il est possible de retarder la centrifugation d'une nuit si le sang est conservé à 4 °C ou de 2 heures à température ambiante. Il n'est pas utile de placer le tube de sang dans la glace pilée, ni de centrifuger à 4 °C. L'histamine est très stable dans le plasma séparé, jusqu'à 5 jours à température ambiante [63].

En revanche, les aspirations de plasma mal maîtrisées, avec aspiration conjointe d'une partie de la couche des

globules blancs, provoquent de fortes augmentations de la concentration d'histamine mesurée. D'autre part les concentrations sont modérément augmentées dans les échantillons spontanément hémolysés, parallèlement à la concentration d'hémoglobine [63]. Deux situations cliniques sont associées à des faux-négatifs du fait d'un métabolisme de l'histamine anormalement rapide [63] : les femmes enceintes [37], du fait de la synthèse par le placenta de diamine oxydase en quantités mille fois supérieures à la normale à partir du deuxième semestre de gestation [67] ; et les patients recevant de l'héparine chez qui la diamine oxydase est augmentée proportionnellement à la dose d'héparine reçue [68]. L'effet des héparines de bas poids moléculaire n'a pas été étudié.

1.2.3. Histamine sanguine totale

L'histamine mesurée après hémolyse totale du sang représente le contenu total en histamine, c'est-à-dire le stock d'histamine des basophiles et l'histamine libre. La plage des valeurs normales est importante, allant de 200 à 2000 nmol·L⁻¹. Après un choc anaphylactique, l'histamine sanguine totale augmente d'abord du fait de la diffusion vers le plasma de l'histamine libérée par les mastocytes dans les tissus. Du fait de la métabolisation de l'histamine libérée, la concentration diminue jusqu'à une valeur très faible le lendemain de la réaction, puis elle augmente, le stock d'histamine dans les basophiles se reconstituant progressivement, pour atteindre un plateau après 5 à 7 jours [69]. L'effondrement de la concentration d'histamine sanguine totale le lendemain de la réaction pourrait permettre le diagnostic d'histaminolibération massive *a posteriori*. Cependant, l'étude de sujets-témoins anesthésiés et opérés montre une diminution très importante de l'histamine sanguine totale le lendemain de l'intervention, et l'observation de la coloration des granules des basophiles suggère un relargage lent pendant et après une intervention chirurgicale [70]. L'étude des variations de l'histamine sanguine totale pendant les jours qui suivent une réaction allergique ne permet donc pas d'obtenir une certitude diagnostique. Pour la même raison, l'étude de la coloration des basophiles, ou l'évaluation de leur nombre par la numération globulaire ne devraient plus être utilisées pour ce diagnostic.

1.3. Méthylhistamine urinaire

L'histamine libérée est rapidement transformée en méthylhistamine dans le plasma, qui est filtrée et excrétée par le rein. Le pic urinaire de méthylhistamine est observé 1 heure après perfusion d'histamine chez le sujet normal et le retour au taux de base intervient 2 heures plus tard [3]. Le pic de méthylhistamine plasmatique est décalé de quelques minutes par rapport à celui de l'histamine, et la demi-vie d'élimination est plus longue [71]. De ce fait, il avait été

proposé de mesurer plutôt la méthylhistamine que l'histamine dans le plasma après une réaction anaphylactoïde [71]. Aucune étude de série n'est venue étayer cette théorie depuis 1985.

1.3.1. Dosage de la méthylhistamine urinaire

La mesure de la méthylhistamine dans les urines a un double intérêt : le recueil est facile et se fait de manière retardée, de préférence une heure après la réaction anaphylactoïde. Contrairement à un dosage plasmatique qui donne une vue instantanée du paramètre mesuré, la valeur trouvée dans l'urine représente le cumul de l'ensemble de l'histamine libérée, progressivement stockée dans la vessie au fur et à mesure du catabolisme et de la filtration.

Différentes méthodes de dosage ont été utilisées : la chromatographie gazeuse, suivie de spectrométrie de masse [71], et plus récemment, la méthode radioimmunologique (Histamine RIA, Pharmacia, Uppsala, Suède), pour laquelle une faible réaction croisée avec l'histamine native est observée [72]. La mesure se fait sur un échantillon d'urine obtenu lors d'une miction ou sur plusieurs mictions successives. Pour tenir compte d'éventuels phénomènes de dilution des urines par les liquides perfusés au patient, la concentration est rapportée à celle de la créatinine mesurée sur le même échantillon. Les valeurs mesurées sont $< 170 \mu\text{mol}$ par mole de créatinine chez le patient normal et $< 380 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ chez le patient opéré avec anesthésie générale comportant un myorelaxant [17]. Dans les urines, la méthylhistamine est stable à température ambiante pendant une semaine [37]. Paradoxalement, seule la méthylhistamine plasmatique est inscrite à la nomenclature (BR 150).

Une excrétion augmentée de méthylhistamine a été démontrée chez des patients présentant des réactions systémiques après tests de provocation aux venins d'hyménoptères [3,71], ou après réaction à l'injection de produits de contraste iodés [25,73]. Dans une série de 18 patients ayant présenté une réaction peranesthésique, la concentration de méthylhistamine urinaire était normale pour les patients ayant eu une réaction de grade 1 ou 2, et augmentée dans seulement 40 % des réactions de grades 3 et plus, témoignant d'une faible sensibilité diagnostique de ce test [17]. Dans une autre série de 16 anaphylaxies prouvées par les tests cutanés et le dosage d'IgE spécifiques, les résultats sont similaires [37].

1.3.2. Limites du dosage de la méthylhistamine urinaire

Des causes diverses pourraient expliquer le manque de sensibilité diagnostique, à commencer par le moment du recueil des urines. Lors d'un recueil urinaire trop précoce, une faible quantité de méthylhistamine a été excrétée et se trouve diluée dans les urines présentes dans la vessie avant la réaction. Au contraire un recueil trop tardif entraîne une dilution de la méthylhistamine par les urines élaborées par

le rein après la métabolisation de la méthylhistamine plasmatique en acide imidazole-acétique. Par ailleurs, il est nécessaire que la filtration glomérulaire soit conservée pour que la méthylhistamine soit excrétée. Lorsque la pression artérielle chute de manière importante, une insuffisance rénale fonctionnelle, voire une anurie peuvent s'installer. Une augmentation de la créatinine plasmatique liée à l'insuffisance rénale peut également entraîner une augmentation de la créatinine urinaire, et abaisser le rapport méthylhistamine/créatinine urinaire. Enfin, une inhibition de la N-méthyltransférase par les myorelaxants, responsables de la plupart des chocs anaphylactiques pendant l'anesthésie, a été évoquée et prouvée in vitro [74].

Des faux-positifs peuvent être observés : la concentration de la méthylhistamine dans les urines est sujette à de larges variations individuelles liées à l'alimentation. De nombreux aliments contiennent de grandes quantités d'histamine [75]. Il est donc préconisé de faire la mesure urinaire à jeun. Une autre cause d'augmentation de la méthylhistamine urinaire est la mastocytose, qu'elle soit cutanée ou systémique. L'ampleur de cette augmentation peut être un indicateur de l'importance de la prolifération mastocytaire [76].

1.4. Autres médiateurs

Les autres médiateurs potentiellement impliqués dans la réaction anaphylactique ont été peu ou pas étudiés lors de réactions peranesthésiques. Certains médiateurs néoformés à partir de l'acide arachidonique ont été étudiés chez le mouton sensibilisé par des extraits dinitrophénylés d'*Ascaris suum*, lors de réactions anaphylactiques provoquées [77]. Une brusque augmentation de la concentration artérielle de thromboxane B2 est observée dès la première minute après l'injection intra-atriale de sérum-albumine bovine dinitrophénylée, concomitante de l'augmentation de la concentration artérielle d'histamine, ainsi qu'une augmentation plus lente de la concentration de 6-kéto-prostaglandine F1 α [77].

Chez l'homme, les médiateurs lipidiques ont essentiellement été étudiés lors de tests de provocation chez des patients ayant un asthme à l'aspirine [78]. Une augmentation de l'excrétion du métabolite de la PGD2, la 9 α -11 β -PGF2, est observée une heure après une provocation bronchique et pendant une durée inférieure à deux heures [79]. Pendant plusieurs épisodes d'hypotension survenus lors d'un essai de désensibilisation per os à l'aspirine, une excrétion accrue de 11 β -PGF2 α a été démontrée, parallèlement aux augmentations de l'excrétion de l'histamine et de l'acide méthyl-imidazole-acétique [80]. L'excrétion de LTE4 est augmentée la nuit, chez les asthmatiques ayant des exacerbations nocturnes [81], ainsi que 2 à 4 heures après provocation par la sulpyrine chez des patients ayant un asthme à l'aspirine [82], et trois heures après une réaction

peranesthésique ou un test de provocation positif, parallèlement à l'excrétion de la méthylhistamine [83].

Une synthèse anormale de leucotriènes a pu être démontrée dans certaines circonstances : une excrétion accrue de LTE₄ a été décrite, chez certains patients traités par bléomycine et lors d'une réaction sévère à l'asparaginase [84]. Une augmentation par un facteur 3 de la concentration de LTC₄, D₄, E₄, dans le plasma a été démontrée à la phase aiguë de l'infarctus du myocarde [85], ce qui suggère que ce paramètre n'est pas spécifique de l'anaphylaxie.

La libération de sérotonine à partir des plaquettes a été étudiée lors de réactions peranesthésiques immunologiques et non immunologiques. Une libération a pu être montrée indépendamment du mécanisme impliqué [21]. L'*eosinophil cationic protein* (ECP) a été étudié dans les asthmes à l'aspirine, et serait libéré chez certains sujets après provocation [86]. Cependant, dans les heures suivant une réaction médicamenteuse systémique ou urticarienne, aucune relation claire n'a pu être établie sur une série de 20 patients [24]. De même les variations de l'interleukine 6 après des réactions anaphylactoïdes paraissent aléatoires [46].

En conclusion, la mesure de ces médiateurs n'a pas fait la preuve de son utilité dans le diagnostic des réactions peranesthésiques.

1.5. Avis tirés de la littérature internationale

Les revues de la littérature concernant le diagnostic biologique des réactions allergiques peranesthésiques font état depuis 1993 de la possibilité d'aboutir à un diagnostic positif grâce à la mesure de médiateurs. Watkins et Wild pensent que l'association du dosage de la tryptase et de la méthylhistamine urinaire permet de différencier deux cas : si les deux paramètres sont négatifs, le diagnostic d'anaphylaxie doit être rejeté. Si la tryptase est positive, il est nécessaire de pratiquer les tests cutanés [87]. Fisher et Baldo considèrent que la tryptase devrait être systématiquement mesurée après une réaction anaphylactoïde peranesthésique et proposent de prélever du sang une heure après la réaction [88]. Pour Withington, plusieurs prélèvements successifs sont nécessaires pour établir le mécanisme immunologique de la réaction, le premier dès que l'état du patient est stabilisé, puis une heure et six heures après, et à 24 heures, et elle suggère de mesurer l'histamine plasmatique, la tryptase, ou les IgE, en fonction des dosages disponibles localement [89]. Une autre équipe conseille de mesurer les concentrations de tryptase et de méthylhistamine urinaire, si le dosage de l'histamine ne peut pas être pratiqué en routine [90]. Pour Leynadier, l'augmentation de la concentration de la tryptase signe une activation mastocytaire, et le dosage peut avoir une valeur médicolégale [91]. Whittington et Fisher considèrent qu'une concentration d'histamine augmentée prouve que celle-ci est impliquée dans la réaction, et

que les concentrations très élevées suggèrent un phénomène anaphylactique, ils présentent le dosage de la tryptase comme une avancée importante, de bonne sensibilité et spécificité, même si quelques réactions anaphylactiques ne s'accompagnent pas d'une augmentation de sa concentration [92]. Du fait de son excrétion prolongée, la méthylhistamine urinaire leur semble également avoir un intérêt. En revanche, les études de l'activation du complément ne leur semblent pas valides dans ces pathologies [92]. Laxenaire conseille de prélever du sang pour mesurer l'histamine immédiatement après l'institution du traitement, et pour la tryptase 1 à 2 heures après [93].

Des recommandations ont été édictées par certaines sociétés savantes. L'*American Academy* et l'*American College of Allergy, Asthma and Immunology*, dans leurs recommandations officielles de 1998, indiquent qu'il est indispensable d'effectuer les prélèvements dans des délais corrects, pour que les tests soient valides, à savoir un prélèvement pour le dosage de l'histamine dans les 30 à 60 minutes, et un pour celui de la tryptase entre 1 et 2 heures après le début des signes [94]. L'*Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland* et la *British Society of Allergy and Clinical Immunology*, dans leur version révisée de 1995, préconisent de prélever du sang veineux une heure après une réaction survenant pendant l'anesthésie, pour doser la tryptase, une concentration augmentée indiquant une dégranulation mastocytaire.

2. Stratégie minimale

Dans les réactions systémiques sévères, le prélèvement de sang dans un tube sur EDTA, pour doser l'histamine et dans un tube sec pour doser la tryptase, est à faire après les gestes d'urgence, de préférence entre 30 minutes et 2 heures après le début des signes. Si ces délais sont dépassés, il ne faut pas hésiter à prélever, même plus de 6 heures après la réaction. En cas de décès inexpliqué, il faut prélever avant l'arrêt de la réanimation.

Pour les réactions cutanéomuqueuses (y compris œdème de Quincke) ou systémiques modérées, le prélèvement doit être précoce, si possible 15 à 30 minutes après la réaction. Un taux de base peut être nécessaire pour interpréter le taux de tryptase.

Pour les réactions à l'induction, où les curarisants sont très souvent responsables, le dosage des IgE spécifiques des ammoniums quaternaires peut être proposé, car les valeurs mesurées pendant ou peu après la réaction sont identiques à celles obtenues 6 à 8 semaines plus tard.

POINTS ESSENTIELS

- La présence dans le sérum d'IgE spécifiques d'un médicament, conjointement à la positivité des tests cutanés, permet d'affirmer la nature anaphylactique d'une réaction allergique.
- Une méthode de dosage radioimmunologique des IgE spécifiques réagissant avec les myorelaxants a été publiée dès 1983. A l'heure actuelle, les tests disponibles sont :
 - le test CAP-RAST (Pharmacia & Upjohn) pour le suxaméthonium ;
 - le test QAS-RIA (analogue de la choline fixé sur support solide de sépharose) ;
 - le test PAPPC-RIA (analogue de la choline fixé sur support d'agarose),
 les deux derniers détectent les IgE anti-ammonium quaternaire et sont plus sensibles que le premier.
- L'épreuve d'inhibition, par le myorelaxant présumé responsable de la réaction, de la fixation des IgE à l'analogue de choline permet de prouver la spécificité de l'IgE. Cette épreuve ne permet pas d'étudier la sensibilité croisée entre les différents myorelaxants.
- Les IgE spécifiques des myorelaxants sont retrouvées dans le sérum des sujets allergiques au moment même de la réaction, et persistent pendant des années après la réaction.
- Dans la population générale, la prévalence de la positivité des IgE spécifiques anti-ammonium quaternaire est trop élevée pour pouvoir envisager un dépistage des sujets à risque.
- Pour le thiopental, le premier dosage a été mis au point en 1986. La thiopentone est fixée sur un support solide de sépharose. Des résultats faux-positifs peuvent être observés chez les patients porteurs d'IgE spécifiques des myorelaxants.
- Pour les autres agents anesthésiques, les dosages ne sont pas suffisamment validés pour permettre leur recommandation en routine. Des IgE hydrophobes pourraient être impliquées dans la multiréactivité aux médicaments hydrophobes et dans certaines réactions au propofol.

3. Dosage des IGE spécifiques

La recherche d'immunoglobulines E (IgE) reconnaissant des médicaments, et plus particulièrement des agents anesthésiques, présente un intérêt essentiellement dans les réactions allergiques immédiates. En effet, leur présence dans le sérum, conjointement à la positivité des tests cutanés voire des tests cellulaires, permet d'affirmer la nature anaphylactique d'une réaction immédiate. Les tests de dosages sériques doivent permettre non seulement d'affirmer la présence d'anticorps de type IgE, mais aussi de déterminer l'existence de réactions croisées correspondant à une reconnaissance d'épitopes présentant des motifs moléculaires communs. Un troisième objectif, plus fondamental, consiste à mettre en évidence la reconnaissance spécifique d'un épitope médicamenteux. Finalement, les tests de dosages sériques doivent être sensibles et spécifiques pour être en mesure de s'insérer dans une démarche diagnostique. Au contraire des tests cutanés et des tests cellulaires, ils ne permettent pas d'apporter une conclusion sur la réactivité cellulaire médiée par les anticorps détectés dans le sérum. A l'inverse, les tests cutanés et les tests cellulaires ne permettent pas de répondre sur la nature immunologique IgE-dépendante de libération des médiateurs des réactions immédiates.

Une analyse de la littérature a été faite en prenant en compte deux aspects : a) la définition des critères de validation d'une méthode de dosage des IgE en prenant

comme exemple le dosage des IgE anti-myorelaxants ; b) l'évaluation de l'intérêt diagnostique des IgE pour les réactions immédiates à deux catégories d'anesthésiques, les myorelaxants et les hypnotiques.

4. Définition des critères de validation d'une méthode de dosage des IgE

4.1. Principe des principales méthodes de dosages

4.1.1. Dosages utilisant une phase solide médicament-sépharose

En 1983, Baldo et Fisher ont mis au point un dosage radio-immunologique pour la détection des IgE spécifiques vis-à-vis des myorelaxants [95]. Il s'agissait de détecter les IgE chez 24 patients, dont 22 étaient sensibilisés à l'alcuronium et 2 à la d-tubocurarine. Le principe consiste à coupler de manière covalente le myorelaxant en cause sur un gel époxy-sépharose. Après incubation du sérum sur la phase solide médicament-sépharose puis lavage de celle-ci, les IgE fixées sont révélées grâce à une incubation avec un anticorps anti-IgE humaines, de type IgG (fragment Fab), marqué à l'iode 125, suivie de lavages. Le taux de liaison de l'anti-IgE est estimé par comptage isotopique gamma, et les résultats sont exprimés en pourcentage de fixation de la radioactivité [95]. Par la suite, cette équipe s'est attachée à augmenter l'efficacité de la méthode en couplant à la phase

solide des molécules comportant un ammonium substitué, jouant le rôle de l'épitope ammonium quaternaire [96] des myorelaxants [97]. Parmi ces molécules, la mieux adaptée semble être, pour cette équipe, la morphine [98].

Une deuxième méthode (QAS, *Quaternary Ammonium Sépharose*), très proche de la précédente dans son principe, a été développée par Guéant et al. [99]. Elle consiste à coupler sur Sépharose®, un analogue structural de la choline présentant une forte réactivité croisée avec l'ensemble des curares. La chimie de couplage est différente et réalise une liaison éther entre la molécule et la phase solide. En reprenant la même approche faisant appel à un analogue structural, des auteurs ont proposé l'utilisation d'une phase commercialisée comportant du para-aminophénylphosphoryl-choline (PAPPC) couplé à l'agarose [100].

4.1.2. Dosages de type RAST (*RadioAllergoSorbent Test*) ou CAP

La société Pharmacia a réalisé le couplage de certains curares, notamment alcuronium et succinylcholine sur des phases solides commercialisées de type RAST® (disque de papier) ou CAP (éponge) [101]. Le principe de détection fait appel à un anticorps anti-IgE radio-marqué ou conjugué.

4.2. Critères de validation

La préparation d'une phase solide nécessite plusieurs étapes de validation : évaluation de la sensibilité et de la spécificité à partir de la définition de critères de positivité, évaluation de la reconnaissance spécifique IgE-médicaments et de l'immunoréactivité croisée avec d'autres molécules, évaluation de la fixation non spécifique des IgE sur la phase solide.

4.2.1. Évaluation de la sensibilité, de la spécificité, et définition des critères de positivité respectivement à partir de sérums de patients allergiques et de sujets contrôles

Plusieurs études de type cas-témoins ont étudié la limite de positivité [95,99,100], pour les différents types de phase solide. Aucune des études précitées n'a établi le seuil de positivité à partir de courbe ROC (relation inverse sensibilité — spécificité en fonction de la valeur-seuil retenue). Deux types de critères de positivité ont été utilisés : le premier critère de positivité est un pourcentage de fixation supérieur à la somme : moyenne plus 2 écarts types des valeurs mesurées à partir de sérums de témoins. Un deuxième critère consiste à faire le rapport des pourcentages de fixation obtenus respectivement pour le sérum du patient et pour un « pool » de sérums de témoins. Lorsque ce rapport est supérieur à 3, le dosage est considéré comme franchement positif, il est intermédiaire entre 2 et 3, et négatif lorsqu'il est inférieur à 2. Seul le premier critère est

utilisé pour l'estimation de la sensibilité dans les 3 études précitées [95,99,100]. La sensibilité de la méthode initiale est évaluée à 58 % pour l'alcuronium et 45 % pour la d-tubocurarine en utilisant respectivement une phase sépharose-alcuronium et une phase sépharose-tubocurarine [95]. Cette sensibilité a été estimée à 62,5 % pour l'alcuronium avec le sépharose-alcuronium dans une étude cas-témoins incluant 16 patients ayant fait une réaction allergique et ayant des tests cutanés positifs [102]. Une autre étude cas-témoins incluant 34 patients retrouve une sensibilité de 43 % en utilisant le sépharose-alcuronium et le sépharose-choline comme phase solide [103].

La sensibilité du RAST succinylcholine et du RAST alcuronium (Pharmacia) est évaluée respectivement à 66,7 % et à 40,7 % dans une étude cas-témoins réalisée sur 27 patients [99].

La sensibilité et la spécificité du dosage QAS-RIA sont estimées respectivement à 87,5 % et 100 % dans une étude cas-témoins sur 83 patients et 20 témoins [99]. Le dosage PAPPC-RIA montre une sensibilité de 97 %, une spécificité de 97 % et une valeur prédictive positive de 94 % dans une étude cas-témoins sur 31 patients et 34 témoins [100].

En utilisant le couplage de la morphine, Fisher et al., sur 347 patients, calculent une sensibilité de 85 %, une spécificité de 98 %, et un pouvoir prédictif positif de 96 % [98].

4.2.2. Évaluation de l'immunoréactivité croisée avec d'autres molécules et de la reconnaissance spécifique IgE-médicaments

L'immunoréactivité croisée a été mise en évidence par une épreuve d'inhibition de la fixation des IgE spécifiques en présence de différents myorelaxants et d'analogues structuraux comportant des groupements ammoniums quaternaires et tertiaires dans leur structure. Cette approche, mise en œuvre dès 1983 par Baldo et Fisher, a permis de montrer que les IgE anti-myorelaxants reconnaissent un épitope comportant nécessairement la présence d'un ammonium quaternaire ou d'un ammonium tertiaire protoné [96]. La réactivité croisée a ainsi été mise en évidence chez des patients allergiques aux curares à l'aide non seulement de myorelaxants mais également de la néostigmine, de la morphine, du pentholiéneum, du triméthaphan [95,96,104], ainsi que de la spasmodine, de la citicoline, de la lécithine [105] et des protéines neurotoxiques de type bungarotoxines [106]. L'épreuve d'inhibition peut donc également être considérée comme une étape de validation du dosage IgE-RIA qui permet de confirmer la nature spécifique de la liaison à la phase solide.

L'immunoréactivité croisée peut également être explorée par l'étude de la fixation des IgE sur différentes phases solides sépharose-analogues structuraux des myorelaxants et sépharose-myorelaxants. Cette approche a été développée

notamment avec la morphine et le triméthaphan [95,96,104].

La spécificité de la liaison IgE-médicament fait appel au concept d'affinité de l'IgE pour le médicament. La constante d'association correspondant à la liaison de l'IgE au médicament fixé sur la phase solide (valeur inverse de la constante de dissociation, selon la loi d'action de masse), est égale à l'inverse de la constante d'inhibition de cette liaison par le médicament sous forme soluble. La détermination de la constante d'inhibition peut se faire par la méthode de Dixon, en mesurant la liaison de l'IgE au médicament sur phase solide en fonction de la concentration en inhibiteur. L'inhibiteur est ici le médicament soluble. La constante d'inhibition étant égale à la constante de dissociation, et à l'inverse de la constante d'association, cette méthode permet donc d'estimer l'affinité des IgE pour le médicament soluble. Une liaison non spécifique est une liaison ayant une affinité très faible voire nulle, tandis qu'une liaison spécifique a une affinité forte, correspondant à une constante de dissociation inférieure à $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. L'étude de la spécificité de la liaison IgE-myorelaxant a été étudiée sur une série de 12 patients, à l'aide de 6 curares différents : suxaméthonium, pancuronium, vécuronium, gallamine, alcuronium et atracurium [107]. La constante d'inhibition varie entre $1,5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ et $2,5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, confirmant la nature spécifique de la liaison IgE-myorelaxant. Cependant, les différences d'affinité vis-à-vis des 6 myorelaxants sont variables d'un patient à l'autre. Pour 3 des 12 patients, l'affinité variait d'un facteur 100 à 1 000 entre les 6 myorelaxants testés, et seulement d'un facteur 10 pour les autres patients. Ces résultats montrent que l'ammonium quaternaire n'est pas le seul déterminant épitopique impliqué. En effet, la reconnaissance de l'ammonium quaternaire par les IgE de patients sensibilisés nécessite un environnement hydrophobe dépourvu de groupements polaires tels que les groupements hydroxyles [105,108]. Le rôle de l'environnement est suggéré par le fait que le tétraéthylammoniumméthyl-trihydroxyméthyl couplé sur du sépharose n'est pas reconnu par les IgE anti-ammoniums quaternaires, car cette molécule possède des ammoniums quaternaires et tertiaires dans un environnement hydrophile. Ceci explique que le tiémonium qui possède un groupement hydroxyle à une distance de 3 Å de l'ammonium quaternaire présente une affinité très faible pour les IgE anti-myorelaxants. D'un point de vue plus général, la détermination de l'affinité permet d'estimer la concentration du médicament susceptible de saturer les IgE spécifiques dans un sérum. Elle devrait permettre, en la confrontant aux données pharmacocinétiques, de modéliser la liaison médicament-anticorps dans les compartiments sanguins et tissulaires [107].

4.2.3. Évaluation de la fixation non spécifique des IgE sur la phase solide

L'adsorption non spécifique des IgE sur les phases solides de type CAP ou RAST n'a pas fait l'objet de publications. Baldo et Fisher ont testé l'adsorption non spécifique des IgE sur la phase solide époxy-sépharose en couplant sur du sépharose de l'éthanolamine et de la d-galactosamine [95,104]. Guéant et al. ont testé la fixation non spécifique sur une phase solide sépharose-éthanolamine et sur une phase solide sépharose-Tris-aminométhane [99,102]. Ces supports ont été testés en présence de sérums de sujets sains, de sérums de sang de nouveau-né prélevé au cordon (dépourvus d'IgE) et de sérums de sujets atopiques (taux élevé d'IgE). Dans tous les cas le pourcentage de fixation est inférieur à la limite de positivité définie. Pour Baldo et al., les pourcentages de fixation supérieurs à 2,5 fois la fixation obtenue avec le sang du cordon sont considérés comme positifs [95,96,104].

Il est montré dans une étude cas-témoins incluant 78 patients que la fixation non spécifique sur des phases hydrophobes telles que l'octyl-sépharose et le phényl-sépharose est plus élevée chez les patients qui présentent une allergie médicamenteuse aux produits anesthésiques que chez les sujets témoins [108]. Cette fixation non spécifique est également plus élevée chez les sujets atopiques. Les sérums ayant un taux d'IgE hydrophobes très élevé peuvent produire des réactions croisées lorsque les dosages d'IgE spécifiques sont réalisés avec certains supports où le sépharose est couplé à des médicaments de structures très différentes tels que les pénicillines, la glafénine, le propofol, la mexilétine, ayant tous en commun un groupement cyclohexényl substitué. Ces réactions croisées peuvent être expliquées par des réactions non spécifiques, de type hydrophobe et π - π entre les IgE hydrophobes et la phase solide et être responsables de résultats faux-positifs. L'inhibition du dosage IgE-RIA en présence du médicament soluble n'est pas toujours possible car le médicament hydrophobe peut s'adsorber sur la phase solide. Cette observation montre que les études rapportées dans la littérature entre 1983 et 1998, et utilisant l'inhibition pour caractériser les déterminants épitopiques médicamenteux, présentent d'importants risques de résultats erronés.

5. Intérêt diagnostique du dosage des IgE dans les réactions allergiques immédiates aux curares et aux hypnotiques

Le dosage des IgE spécifiques permet de confirmer le type du mécanisme responsable de la réaction allergique, en complément des tests cutanés.

5.1. Curares

La concordance entre les tests cutanés et le dosage des IgE spécifiques a été évaluée par Moneret et al. dans une étude chez 34 patients et 20 témoins. Les tests cutanés sont positifs dans 75 % des cas et le dosage d'IgE dans 43 % avec une concordance de 66 % [103]. Cependant, cette étude a été réalisée avec une méthode de dosage des IgE peu sensible (couplage direct médicament-sépharose). L'évaluation de la phase solide SAQ a été réalisée chez des patients qui présentent un contexte clinique évocateur et des tests cutanés positifs. Elle montre que le pourcentage d'inhibition est inférieur avec un myorelaxant produisant un test cutané négatif qu'avec le myorelaxant impliqué, donnant une réaction cutanée positive, chez 11 des 14 patients testés [99]. Le SAQ-RIA a également été comparé avec les tests cutanés et l'histaminolibération dans une étude cas-témoins incluant 40 patients et 44 témoins [109]. Les sensibilités respectives des tests cutanés, du SAQ-RIA et de l'histaminolibération *in vitro* sont respectivement de 88, 82,5 et de 65 %. La concordance entre le SAQ-RIA et l'histaminolibération est de 64 % et celle entre le SAQ-RIA et les tests cutanés de 82,5 %. Baldo et Fisher comparent, sur une série de 29 patients, les tests cutanés et les dosages radio-immunologiques d'IgE spécifiques. Les tests cutanés sont positifs dans 72 % des cas, et le dosage des IgE est également positif dans 72 % des cas lorsque le médicament incriminé dans la réaction allergique est couplé à la phase solide. En tenant compte de la réactivité croisée et en utilisant d'autres myorelaxants que celui responsable de l'accident allergique, 79 % et 83 % des patients présentent respectivement des tests cutanés positifs et un dosage d'IgE positif [110]. Ceci montre qu'aucun des 2 types de tests cités ne donne une sensibilité de 100 % et qu'ils sont complémentaires. Il n'y a pas de corrélation entre le seuil de réactivité cutanée et le taux d'IgE spécifiques, ce qui s'explique par le fait que les tests cutanés révèlent la présence d'IgE fixées sur les mastocytes de la peau, tandis que le dosage des IgE mesure les IgE libres dans le sérum [111].

Les IgE spécifiques anti-myorelaxants sont retrouvées très longtemps après un épisode allergique. Dans une étude réalisée par Fisher et Baldo, les IgE sont détectées dans le sérum de 21 des 22 patients testés, un an après la réaction allergique [112]. Didier et al. suivent 21 patients pendant 1 à 4 ans après une réaction au suxaméthonium, et montrent que le taux de fixation est modifié chez 26 % d'entre eux, plus souvent dans le sens d'une diminution [113]. Laroche et al. montrent sur 14 patients que le taux des IgE anti-myorelaxants, mesuré pendant la réaction, est similaire à celui retrouvé 8 semaines plus tard, indiquant ainsi que la sensibilisation est présente avant la réaction [18]. Il y a une bonne concordance des taux d'IgE avec les dosages de

médiateurs et les tests cutanés [18]. Le dosage des IgE plasmatiques peut être réalisé à l'occasion de la consultation allergologique. Lorsqu'il est prescrit au moment de la réaction, ce dosage ne trouve sa place dans la démarche diagnostique que s'il est réalisé conjointement aux dosages des médiateurs de la réaction anaphylactique (tryptase et histamine). En cas de décès dans les suites immédiates de la réaction, le dosage des IgE spécifiques des myorelaxants a permis le diagnostic étiologique dans quelques cas [114]. Il est recommandé, dans un but médico-légal, d'associer ce dosage à celui de la tryptase [42].

La présence d'IgE anti-myorelaxants sériques permet de confirmer la nature allergique IgE-médiée d'une réaction. Cependant, en dehors de ce contexte, la présence d'IgE anti-ammoniums quaternaires dans le sérum d'un sujet n'implique pas nécessairement la libération de médiateurs par ce sujet lors de l'administration de myorelaxants. La même observation a été faite pour les tests cutanés. Une étude prospective a été réalisée par Porri et al. [115] sur 258 sujets âgés de 20 à 40 ans consultant dans un centre de médecine préventive avec recherche d'atopie par tests cutanés aux pneumallergènes et par dosages sériques de type Phadiatop. Le bilan allergologique est complété par des prick-tests aux myorelaxants et par la recherche d'IgE spécifiques anti-myorelaxants. Un test cutané ou un dosage d'IgE spécifiques aux myorelaxants était positif chez 9,3 % des patients. L'atopie n'apparaît pas comme un facteur favorisant la présence d'IgE anti-myorelaxants. Ceci montre également que la prévalence, dans la population générale, de la présence d'IgE ou de la réactivité cutanée aux ammoniums quaternaires, est beaucoup plus élevée que l'incidence des réactions, chez les patients anesthésiés. Le dosage des IgE spécifiques ne doit donc pas être réalisé à titre prédictif dans la population générale.

5.2. Morphiniques et hypnotiques

5.2.1. Opioides

Un mécanisme IgE-dépendant a été décrit avec le papaveretum [116]. Pour le dosage des IgE les phases solides sont préparées par couplage du sépharose avec de la morphine et de la codéine. Par ailleurs, une réactivité croisée est mise en évidence avec la nalorphine, la péthidine, la méthadone [110].

5.2.2. Thiopental et barbituriques

Le thiopental a été le premier hypnotique incriminé dans une réaction anaphylactique [117]. Un dosage radio-immunologique a été mis au point en 1986 par Harle et al. [118], pour la détection des IgE spécifiques dans le sérum des patients sensibilisés. La méthode de préparation de la phase solide est identique à celle utilisée pour les myorelaxants et utilise de l'époxy-sépharose. Les épreuves d'inh-

bition avec le thiopental soluble montrent qu'il existe plusieurs déterminants épitopiques possibles, les groupements éthylys et pentyls en position 5, et la région thio [119]. Le couplage du thiopental sur sépharose produit, à pH alcalin, une modification qui rend accessible le noyau pyrimidique [118,119]. Il semble qu'il existe une interaction entre les IgE anti-thiopental et les IgE spécifiques des curares. Les IgE spécifiques des curares sont inhibées en présence de mercapto-pyrimidine, du fait de la présence d'un ammonium tertiaire protoné. La nature de l'interaction thiopental-myorelaxants pour la liaison avec les IgE est donc probablement spécifique [97]. Deux cas d'anaphylaxie après administration simultanée de thiopental et de suxaméthonium puis de pancuronium ont été rapportés [120]. Les tests cutanés sont positifs pour les 2 anesthésiques mais la réactivité croisée des IgE n'a pas été recherchée.

5.2.3. Propofol

Dans la première observation d'une réaction anaphylactique au propofol les tests cutanés, l'histaminolibération et le dosage des IgE sériques sont tous trois positifs [121]. Cependant la spécificité des IgE n'est pas établie, dans la mesure où le support utilisé est préparé par adsorption du propofol sur du sépharose couplé à de l'albumine sérique humaine [121]. Dans une deuxième étude la présence d'IgE sériques est retrouvée chez 10 des 14 patients étudiés [122].

Cependant, la nature spécifique de la liaison IgE-propofol reste incertaine. En effet, la nature très hydro-

phobe du propofol nécessite sa solubilisation dans une phase micellaire phospholipidique avec les lécithines phosphatidyl-inositol-choline pouvant interagir avec les IgE anti-ammoniums quaternaires [123], fréquemment retrouvées chez ces patients [108,122]. De plus, la nature hydrophobe du propofol facilite sa liaison avec des IgE hydrophobes. Le propofol a pu être couplé de manière covalente au sépharose et le dosage des IgE ainsi réalisé a pu être comparé avec différents supports : sépharose-propofol, sépharose-phényl, et sépharose-octyl [108]. Il existe une très bonne concordance entre les dosages sépharose-phényl et sépharose-propofol. Ceci n'est pas surprenant puisque le propofol est un cyclohexényl substitué.

Chez un patient ayant réagi à l'injection de propofol, il est retrouvé un niveau très élevé d'IgE hydrophobes conjointement à des dosages d'IgE positifs avec des phases solides sépharose-propofol, -paracétamol, -mexilétine, -pénicilline [108]. Il est donc probable que les IgE reconnaissant le propofol ne sont pas spécifiques de cette molécule, ce qui explique que les patients qui ont une réaction anaphylactoïde ont souvent des tests cutanés négatifs malgré un contexte clinique de réactions immédiates et la présence d'IgE sériques. La présence simultanée d'IgE réagissant avec le propofol et d'IgE anti-ammoniums quaternaires peut faire évoquer une potentialisation de la réactivité cellulaire lors de l'administration conjointe de curares et de propofol. Cette hypothèse a été validée *in vitro* par des épreuves d'histaminolibération [124].

POINTS ESSENTIELS

- La présence d'immunoglobulines peut être révélée par des tests évaluant les différents médiateurs libérés par les leucocytes circulants, mis au contact des agents suspectés.
- *Curares*. Le test d'histaminolibération leucocytaire (HL) se pratique à distance (6 à 8 semaines) d'un accident présumé allergique. Après incubation des leucocytes en présence de différentes concentrations du produit à tester, l'histamine libérée par les basophiles est mesurée par une technique radio-immunologique. La réponse obtenue en forme de dôme est en faveur d'un mécanisme IgE-dépendant. La contrainte de cet examen est le délai maximal (< 24 heures) d'acheminement du prélèvement au laboratoire. La sensibilité du test HL varie de 40 à 100 % selon les études, sa spécificité de 98 à 100 %. Cette sensibilité est en général moins bonne que celle des tests cutanés ou que la recherche des IgE spécifiques circulantes. Cet examen est à réaliser en cas de discordance entre clinique, tests cutanés et IgE spécifiques circulantes. Ce n'est pas un test diagnostique de première intention. Il peut être utile en complément des tests cutanés dans l'exploration des sensibilisations croisées. Le test de dégranulation des basophiles humains (TDBH) ne doit plus être utilisé, car il est peu sensible et peu spécifique. Les autres tests cellulaires (cytométrie de flux, libération de sulphidoleucotriènes...) ne sont pas à l'heure actuelle suffisamment validés dans cette application.
- *Hypnotiques et morphiniques*. Aucun test cellulaire n'est suffisamment validé pour une application en routine de ces tests pour ces classes thérapeutiques.

– *Antibiotiques*. Test d'histaminolibération : la sensibilité et la spécificité du test sont faibles avec les bêta-lactamines (environ 60 %), et non-évaluées pour les autres classes d'antibiotiques. Test de transformation lymphoblastique : Une réponse proliférative des lymphocytes périphériques après incorporation de thymidine tritiée reflète une sensibilisation des cellules T vis-à-vis de l'allergène. Ce test n'est pas recommandable pour l'aide au diagnostic d'un accident allergique immédiat, car si les différentes études publiées montrent une bonne sensibilité et spécificité du test, elles ne font pas la distinction entre les réactions immédiates et les incidents retardés.

– *Latex*. La sensibilité du test d'HL varie, selon les études, de 45 à 93 %, celle du TTL de 20 à 65 %. La positivité du TTL ne signifierait qu'une exposition au latex et non une allergie. La réponse de ces tests dépend largement de l'extrait de latex utilisé. Ce test est rarement indispensable au diagnostic d'allergie au latex.

6. Tests cellulaires

Des tests biologiques indirects de détection des IgE spécifiques des agents anesthésiques, des antibiotiques, ou du latex peuvent être pratiqués à partir des leucocytes sanguins.

7. Curares

7.1. Test d'histaminolibération

L'histaminolibération leucocytaire a l'intérêt de pouvoir être utilisée pour les médicaments, sans nécessité de couplage à un support solide indispensable pour mettre en évidence des IgE spécifiques circulantes. En 1979, Vervloet et al. [125], Assem [126] montrent que des concentrations croissantes de myorelaxants, incubés en présence des leucocytes de patients ayant fait un choc aux curares, peuvent induire une libération d'histamine, selon une courbe dose-réponse analogue à celle obtenue avec des cellules de sujets allergiques à des allergènes protéiques classiques comme l'ambrosie. Vervloet et al. [127] démontrent ensuite que le suxaméthonium, en l'absence de protéines porteuses dans le milieu réactionnel, agit comme un véritable allergène sur les basophiles de sujets sensibilisés et que l'acétylcholine ou un de ses métabolites, la choline, qui est la partie monovalente de la molécule du suxaméthonium peut jouer le rôle d'haptène, inhibant l'histaminolibération (HL) induite par le suxaméthonium [128]. Ceci prouve que c'est le caractère divalent du suxaméthonium, avec 2 épitopes ammonium quaternaire qui permet l'histaminolibération. Didier et al. [129] établissent que la distance optimale entre 2 épitopes pour induire une histaminolibération est de 6 Ångströms et que les molécules de curares rigides comme le pancuronium sont moins histaminolibératrices. Stellato et al. [130] démontrent que les basophiles de sujets normaux, contrairement aux mastocytes isolés de différents tissus, ne libèrent pas plus de 5 % de leur contenu en histamine en présence de différents curares. La technique de libération d'histamine in

vitro peut donc permettre de diagnostiquer des sujets sensibilisés.

La méthode la plus couramment utilisée dans les premières études [131-133] consiste à séparer les leucocytes du patient par simple sédimentation en présence de dextran, puis différentes étapes de lavage, à incuber ces cellules dans un tampon TRIS-albumine Ca^{2+} Mg^{2+} en présence de différentes concentrations du médicament à tester. L'histamine libérée est ensuite mesurée par une technique fluorimétrique, d'après Shore et al., [134] automatisée par Siraganian [135]. Actuellement un dosage radio-immunologique d'excellentes sensibilité et spécificité, permet de réduire de façon importante le volume de sang nécessaire [60]. Les résultats sont exprimés en pourcentage de l'histamine maximum libérable obtenue en lysant toutes les cellules. Schématiquement, deux profils d'HL peuvent être observés : soit une courbe en dôme caractéristique d'une HL IgE-dépendante, soit une augmentation de l'HL en fonction de la concentration du médicament et suggérant une HL par un mécanisme différent. Un protocole modifié a été développé pour une application en routine de la technique et qui se rapproche plus des conditions physiologiques. Il est réalisé en utilisant directement le sang total dilué et non plus les leucocytes isolés [136-138]. La seule contrainte méthodologique pour effectuer ce test cellulaire est le délai d'acheminement du prélèvement qui doit être inférieur à 24 heures. Sa réalisation doit se faire à distance de l'accident clinique soit 6 à 8 semaines après [132].

La sensibilité du test d'HL dans l'allergie aux curares a été évaluée dans plusieurs études rétrospectives cas-témoins. Les critères d'inclusion des patients prennent en compte soit uniquement le contexte clinique, soit celui-ci associé aux tests cutanés positifs. La sensibilité variait de 52 à 100 % pour le premier type d'étude (52 % [133] ; 60 % [139] ; 88 % [113] ; 90 % [132] et 100 % dans l'étude de Assem, si les patients ont fait une réaction très sévère [131]). Dans le deuxième type d'étude, la sensibilité est estimée entre 40 et 88 % (40 % [140] ; 65 % [138] ; 67 % [141] ; 67 % [142] ; 80 % [143] et 88 % [137]). Le test d'histaminolibération est en général moins sensible que les

tests cutanés (TC) sauf dans une étude [132]. Cet examen est aussi moins sensible que la recherche d'IgE spécifiques anti-ammoniums quaternaires, que ce soit par la technique de Guéant et al. [99], ou par celle de Guilloux et al. [100]. Sa réalisation est plus lourde techniquement et son coût plus élevé.

La spécificité rapportée est de 98 à 100 % [131,132,137]. L'étude de Guilloux et al. [137] donne une valeur prédictive positive (VPP) de 97 % et une valeur prédictive négative (VPN) de 92 %, ceci pour des patients d'une consultation d'allergo-anesthésie ayant fait un incident et dont la prévalence de la pathologie est considérablement plus élevée que celle estimée dans la population générale.

Le véritable intérêt du test d'HL ne réside pas en tant que test diagnostique de première intention, où les TC et la recherche d'IgE spécifiques sont généralement informatifs et concluants, mais plutôt quand il existe une discordance entre ces tests. Un avantage de cet examen serait peut-être sa positivité qui persisterait plus longtemps encore que celle des IgE spécifiques circulantes [113].

Une autre application du test d'HL est l'exploration des réactions croisées entre curares. Il est en effet démontré par de nombreuses études, que celles-ci sont fréquentes et qu'il n'y a aucune sécurité dans l'emploi d'un curare différent chez un patient ayant présenté un choc, en l'absence d'évaluation du risque de réactivité croisée in vivo. Cette évaluation doit se faire par les tests cutanés (IDR) et les tests d'HL [138,142]. L'allergologue conseillera, si un curare est vraiment indispensable, le myorelaxant (MR) ayant donné une IDR négative, ainsi qu'une HL négative à condition que ce test se soit révélé positif avec le curare ayant provoqué l'accident.

Le test d'HL a été utilisé également pour valider un concept de protection hapténique inspiré de ce qui est réalisé dans l'allergie aux dextrans. Dans une étude préliminaire, l'histaminolibération induite par un curare est totalement inhibée dans 57 % des cas, par une préincubation des leucocytes avec différentes concentrations d'haptène monovalent (molécule ne possédant qu'un seul ammonium quaternaire) [140]. Dans une seconde étude [141], des tests d'HL effectués à différents instants après une perfusion d'haptène sont complètement inhibés dans 46 % des essais.

7.2. Autres techniques cellulaires

D'autres techniques cellulaires explorant la sensibilisation des basophiles ont été décrites. Historiquement, le test de dégranulation des basophiles humains (TDBH) est réalisé dans l'exploration des allergies médicamenteuses, mais cet examen pose des problèmes d'interprétation des résultats [144]. En comparant les performances des prick-tests,

des IDR, des dosages des IgE spécifiques circulantes par RIA, des tests d'histaminolibération et enfin des TDBH, Widmer et al. [139] montrent chez 28 patients allergiques aux myorelaxants que le TDBH est de loin l'examen le moins sensible (30 % versus 60 % pour l'HL et 67 % pour les IgE spécifiques circulantes).

Un test reposant sur le même principe que l'histaminolibération, mais avec une visualisation de la réaction basée sur l'apparition d'un marqueur d'activation membranaire (CD63) spécifique de l'activation des basophiles fait l'objet d'études récentes. En utilisant une technique de cytométrie de flux avec triple marquage (CD45, CD63, anti-IgE) des auteurs trouvent, en prenant comme critère d'inclusion le contexte clinique, une sensibilité de 64 % et une spécificité de 93 %, ce qui est équivalent comme performances au test d'HL [145]. Il est rapporté, chez 4 patients ayant fait un choc au curare, un test de cytométrie de flux positif en utilisant ce même triple marquage [146]. D'autres auteurs mentionnent, chez 2 patients allergiques au rocuronium, le test positif deux fois, alors qu'il reste négatif chez 6 sujets contrôles [147].

Quelques publications mettent en évidence la libération d'autres médiateurs comme la sérotonine [143], la protéine cationique de l'éosinophile [148] ou encore le leucotriène C4 [149], mais elles restent relativement isolées.

8. Hypnotiques et morphiniques

Les basophiles de sujets normaux ne libèrent ni histamine, ni sulphidoleucotriène C4 (LTC4) que ce soit en présence de propofol, de kétamine, de thiopental [150], en présence d'opioïdes [151] ou encore de différentes benzo-diazépines, à l'exception du midazolam qui induit une libération variable d'histamine, mais sans relargage de LTC4 [152]. Cependant, la libération d'histamine est plus significative avec le thiopental, le propofol et le chlorméthiazole chez les patients atopiques que chez les sujets sains, mais à des doses in vitro, qui normalement ne sont pas atteintes in vivo, si l'injection du produit est faite lentement [153]. Deux cas d'allergie concomitante curare-thiopental, où le diagnostic a été posé par la positivité des TC et de l'HL, ont été mentionnés [120]. Dans une étude rétrospective chez 14 patients ayant fait un choc au propofol et sélectionnés suivant des critères cliniques, il est trouvé un test d'HL positif chez 3 des 5 patients chez qui le test a pu être réalisé [122]. Plus récemment, il a été mis en évidence une potentialisation de la libération in vitro de l'histamine si le propofol est associé à un curare chez cinq patients ayant fait un choc après l'injection de ces deux produits [124].

9. Antibiotiques

9.1. Test d'histaminolibération

En 1992, Koller et al. [154] rapportent un test d'HL positif chez 4 des 7 malades (57 %) sélectionnés d'après une réaction systémique immédiate après l'injection de pénicilline G. Très récemment, ont été évaluées les performances du test d'HL chez 35 patients ayant une allergie immédiate prouvée à différents médicaments [155]. Pour les 20 cas qui concernent une allergie aux bêta-lactamines, la sensibilité et la spécificité du test sont respectivement de 60 et 62 %. Avec une prévalence de l'allergie aux bêta-lactamines, évaluée dans la population sélectionnée par ces auteurs à 31 %, les VPP et VPN obtenues sont de 41,6 % et 77,5 %. Cette VPN relativement élevée pourrait permettre d'exclure une allergie en cas de réponse négative et le test d'HL pourrait éventuellement (étude préliminaire, 6 patients, dont 3 ont eu un test d'HL positif) éviter un test de provocation chez des patients réellement allergiques avec TC négatifs (30 % des cas).

Quelques études de cas font état du test d'HL pour l'acide clavulanique [156], pour les céphalosporines [157,158], pour les macrolides [155,159,160], pour les quinolones [155] et pour la rifamycine [161].

L'utilisation de la cytométrie de flux a été rapportée lors d'un cas d'allergie au céfapéroz [162] et un cas au clomoxyl [163]. L'utilisation de la libération du leucotriène C₄, chez un patient allergique à l'ampicilline, a été mentionnée [164], tandis qu'une autre équipe trouve une libération des leucotriènes C₄, D₄ et E₄ positive 5 fois chez 7 patients allergiques aux bêta-lactamines [165].

9.2. Test de transformation lymphoblastique

Le test de transformation lymphoblastique (TTL) a été introduit il y a plus de 30 ans pour étudier l'allergie médicamenteuse [166]. Les lymphocytes périphériques du patient sont cultivés en présence de concentrations non toxiques du médicament suspecté. Une réponse proliférative mesurée par incorporation de thymidine tritiée est interprétée comme une sensibilisation spécifique des cellules T à l'égard du médicament testé. Les lymphocytes T étant impliqués dans l'induction des hypersensibilités de type immédiat et retardé, le TTL doit donc pouvoir être utilisé pour investiguer ces deux types de réactions [167].

Cet examen a été trouvé positif chez 4 patients ayant présenté une réaction immédiate à la pénicilline versus 5 résultats négatifs chez des contrôles traités mais ne présentant pas d'effet secondaire [167].

Perez et al. [168] comparent les scores d'imputabilité clinique (échelle de 0 à 6, fondée sur des critères chronologiques et sémiologiques) aux résultats de 129 TTL effec-

tués chez 73 patients ayant présenté des réactions immédiates (type I) ou retardées (type IV) à différents médicaments. La moyenne de ces scores est significativement différente ($p < 0,001$) pour la pénicilline entre les patients ayant un TTL positif ($m = 3,3$) et ceux ayant un test négatif ($m = 2,25$). La différence n'est pas significative pour l'ampicilline. Les patients ayant des réactions retardées vis-à-vis de la pénicilline ont un TTL plus fréquemment positif. Tous médicaments et tous types de réactions confondus et pour un score > 4 , la sensibilité du TTL est de 67 %, et sa spécificité de 55 %.

Nyfelier et al. [169] dans une étude rétrospective portant sur 923 cas d'allergie suspectée à différents médicaments évaluent la sensibilité et la spécificité du TTL. En se fondant sur l'histoire clinique et pour certains patients sur les résultats des tests de provocation, la probabilité de présenter une allergie médicamenteuse a été cotée en 4 classes ($> 0,9$, $0,9-0,5$, $0,5-0,1$, $< 0,1$) et ce score d'imputabilité a été corrélé au TTL. Soixante-dix huit des 100 patients ayant un score $> 0,9$ ont un TTL positif (sensibilité 78 %) et si l'allergie (immédiate, type I ou retardée, type IV) aux bêta-lactamines est analysée séparément, la sensibilité est de 74,4 %. Dans les 102 cas où l'allergie peut être exclue (score $< 0,1$), 15 tests se sont révélés positifs d'où une spécificité de 85 %. Une publication de Cederbrant et al. [170] montre l'importance de l'allergène utilisé pour le TTL. Les auteurs étudient la prolifération lymphocytaire chez 17 patients allergiques à la pénicilline V (10 réactions immédiates) et chez 28 sujets-contrôles, soit en cultivant les lymphocytes en présence de pénicilline V réactive (non conjuguée), soit en utilisant de la pénicilline conjuguée à la poly-L-lysine. Dans le premier cas, la spécificité du test est évaluée à 96 %, alors que dans le second cas 11 sujets-contrôle sur 28 (39 %) ont un TTL positif, soit une spécificité de 61 %.

9.3. Autres techniques cellulaires

Dunoyer-Geindre et al. [171] analysent la libération de PAF-acéther chez 57 patients suspects d'allergie médicamenteuse (38 cas vis-à-vis de la pénicilline, les patients présentant une réaction de type immédiat ou retardée). Une bonne corrélation est retrouvée entre un score clinique > 4 et la libération de PAF. La sensibilité du test est de 75 %, sa spécificité de 86,5 % et les VPP et VPN respectivement de 63,1 % et 76,3 %. La concordance avec le TTL est de 75 %. Pytsky et al. [172] ont proposé de réaliser un test d'inhibition de la chemiluminescence. Chez 16 patients allergiques à la pénicilline, l'intensité de la mesure observée est de $23,8 \pm 3,1$ unités, versus $66,3 \pm 12,6$ chez les contrôles.

Le test d'HL dans l'allergie immédiate aux bêta-lactamines n'est pas un examen de première intention car assez peu sensible (60 %) et de réalisation lourde. Sa bonne valeur

prédictive négative pourrait permettre d'exclure une allergie dans une population sélectionnée. Pour les autres classes d'antibiotiques les données sont encore trop peu informatives. Le TTL montre une bonne corrélation avec les scores cliniques, mais les différentes études publiées ne distinguent pas les résultats obtenus dans les réactions d'hypersensibilité immédiate ou retardée. Sa sensibilité et sa spécificité semblent dépendre également largement de la molécule testée.

10. Latex

Les performances du test d'histaminolibération dans l'allergie immédiate au latex ont été peu étudiées. En 1989 Turjanmaa [173] évalue sa sensibilité à 93 %, alors que la recherche des IgE spécifiques par RAST ne montre qu'une sensibilité de 60 %. D'autres auteurs rapportent une sensibilité de 45 %, versus 56,5 % pour les IgE spécifiques par CAP RAST, ce qui est très inférieur aux chiffres de la littérature pour les IgE circulantes [174]. Quelques cas isolés d'HL positives sont rapportés dans l'évaluation des sensibilisations croisées entre latex et fruits [175–177]. Récemment, dans une étude préliminaire, en utilisant également la cytométrie de flux, il a été trouvé chez 10 patients allergiques le test positif 10 fois, alors qu'il reste négatif chez 10 sujets-contrôle [178].

Plusieurs publications ont évalué la prolifération lymphocytaire en présence de différentes sources de latex. Il s'agit d'extrait brut et/ou d'allergènes purifiés. La sensibilité du TTL varie de 20 à 65 % (20 % [173] ; 39 % [179] ; 57 % [180] et 65 % [181]). La positivité de cet examen dépend de la nature de l'allergène utilisé. Les extraits bruts seraient toxiques pour les cellules [180]. Il n'y a pas de corrélation entre des index de stimulation positifs et le taux d'IgE spécifiques [179–181]. Ce test pourrait être utile pour détecter une sensibilisation chez des patients dont le taux d'IgE est faible, voire indétectable [180], et cet examen pourrait avoir une valeur prédictive intéressante [181]. Pour d'autres auteurs, la positivité du TTL signifierait une exposition au latex et non une allergie [182].

À l'heure actuelle, le diagnostic de l'allergie immédiate au latex, depuis que l'on dispose d'extraits standardisés, ne pose plus de problème, dans la majorité des cas, les tests cutanés associés à la recherche d'IgE spécifiques étant tout à fait informatifs.

Références

[1] Laxenaire MC, et le Groupe d'études des réactions anaphylactoïdes peranesthésiques. Epidémiologie des réactions anaphylactoïdes peranesthésiques. Quatrième enquête multicentrique (juillet 1994–décembre 1996). *Ann Fr Anesth Réanim* 1999;18:796–809.

[2] Schayer RW. Catabolism of histamine in vivo. *Handb Exp Pharmacol* 1966;18:672–83.

[3] Stephan V, Zimmermann A, Kuhr J, Urbanek R. Determination of N-methylhistamine in urine as an indicator of histamine release in immediate allergic reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:862–8.

[4] Schwartz LB, Metcalfe DD, Miller JS, Earl H, Sullivan T. Tryptase levels as an indicator of mast-cell activation in systemic anaphylaxis and mastocytosis. *N Engl J Med* 1987;316:1622–6.

[5] Castells MC, Irani AM, Schwartz LB. Evaluation of human peripheral blood leukocytes for mast cell tryptase. *J Immunol* 1987;138:2184–9.

[6] Schwartz LB. Tryptase : a clinical indicator of mast cell-dependent events. *Allergy Proc* 1994;15:119–23.

[7] Enander I, Matsson P, Nystrand J, Andersson AS, Eklund E, Bradford TR, et al. A new radioimmunoassay for human mast cell tryptase using monoclonal antibodies. *J Immunol Methods* 1991;138:39–46.

[8] Duff Hogan A, Schwartz LB. Markers of mast cell degranulation. *Methods (San Diego, Calif.)* 1997;13:43–52.

[9] Schwartz LB, Sakai K, Bradford TR, Ren S, Sweiman B, Worobec AS, Metcalfe DD. The α form of human tryptase is the predominant type present in blood at baseline in normal subjects and is elevated in those with systemic mastocytosis. *J Clin Invest* 1995;96:2702–10.

[10] Granerus G, Lönnqvist B, Nystrand J, Roupe G. Serum tryptase measured with B12 and G5 antibody-based immunoassays in mastocytosis patients and its relation to histamine turnover. *Br J Dermatol* 1998;139:858–61.

[11] Laroche D, Vergnaud MC, Sillard B, Soufarapis H, Bricard H. Biochemical markers of anaphylactoid reactions to drugs. *Anesthesiology* 1991;75:945–9.

[12] 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* 1989;83:1551–5.

[13] Van der Linden PWG, Hack CE, Poortman J, Vивиé-Kipp YC, Struyvenberg A, van der Zwan JK. Insect-sting challenge in 138 patients : relation between clinical severity of anaphylaxis and mast cell activation. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:110–8.

[14] Ordoqui E, Zubeldia JM, Aranzabal A, Rubio M, Herrero T, Tornero P, et al. Serum tryptase levels in adverse drug reactions. *Allergy* 1997;52:1102–5.

[15] Bosso JV, Schwartz LB, Stevenson DD. Tryptase and histamine release during aspirin-induced respiratory reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:830–7.

[16] Ohtsuka T, Matsumaru S, Uchida K, Onobori M, Matsumoto T, Kuwahata K, et al. Time course of plasma histamine and tryptase following food challenges in children with suspected food allergy. *Ann Allergy* 1993;71:139–46.

[17] Laroche D, Dubois F, Lefrançois C, Vergnaud MC, Gérard JL, Soufarapis H, et al. Marqueurs biologiques précoces des réactions anaphylactoïdes peranesthésiques. *Ann Fr Anesth Réanim* 1992;11:613–8.

[18] Laroche D, Lefrançois C, Gérard JL, Dubois F, Vergnaud MC, Guéant JL, et al. Early diagnosis of anaphylactic reactions to neuromuscular blocking drugs. *Br J Anaesth* 1992;69:611–4.

[19] Watkins J. Tryptase release and clinical severity of anaesthetic reactions. *Agents Actions* 1992;Spec conf issue:C203–5.

[20] Fisher MM, Baldo BA. Mast cell tryptase in anaesthetic anaphylactoid reactions. *Br J Anaesth* 1998;80:26–9.

[21] Guéant JL, Aimone-Gastin I, Laroche D, Pitiot V, Gérard P, Moneret-Vautrin DA, et al. Prospective evaluation of cell mediator release in anaphylaxis to anesthetic drugs. *Allergy Clin Immunol Int* 1996;8:120–2.

- [22] Cottineau C, Drouet M, Costerousse F, Dussaussoy C, Sabbah A. Intérêt des médiateurs plasmatiques (histamine et tryptase) et urinaires (méthylhistamine) lors de réactions anaphylactiques et/ou anaphylactoïdes peranesthésiques. *Allergie Immunol* 1996;28: 270–6.
- [23] Matsson P, Enander I, Andersson AS, Nystrand J, Schwartz L, Watkins J. Evaluation of mast cell activation (tryptase) in two patients suffering from drug-induced hypotensive reactions. *Agents Actions* 1991;33:218–20.
- [24] Fernandez J, Blanca M, Moreno F, Garcia J, Segurado E, del Cano A, et al. Role of tryptase, eosinophil cationic protein and histamine in immediate allergic reactions to drugs. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:160–2.
- [25] Laroche D, Aimone-Gastin I, Dubois F, Huet H, Gérard P, Vergnaud MC, et al. Mechanisms of severe, immediate reactions to iodinated contrast material. *Radiology* 1998;209:183–90.
- [26] Ring J, Messmer K. Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. *Lancet* 1977;1:466–8.
- [27] Ownby DR, Tomlanovich M, Sammons N, McCullough J. Anaphylaxis associated with latex allergy during barium enema examinations. *AJR* 1991;156:903–8.
- [28] Volcheck GW, Li JTC. Elevated serum tryptase level in a case of intraoperative anaphylaxis caused by latex allergy. *Arch Intern Med* 1994;154:2243–5.
- [29] Saitoh J, Mitsuhashi H, Horiguchi Y, Saitoh K, Fukuda H, Shimizu R. Usefulness of measurement of mast cell tryptase for differential diagnosis of anaphylaxis and anaphylactoid reaction. *Masui* 1995; 44:1265–8 [japonais].
- [30] Mounier P, Laroche D, Divanon F, Mosquet B, Vergnaud MC, Esse-Comlan A, et al. Réactions anaphylactoïdes à une solution polyvitaminée injectable contenant un crémophore. *Thérapie* 1995; 50:571–3.
- [31] Takenoshita M, Sugiyama M, Okuno Y, Inagaki Y, Yoshiya I, Shimazaki Y. Anaphylactoid reaction to protamine confirmed by plasma tryptase in a diabetic patient during open heart surgery. *Anesthesiology* 1996;84:233–5.
- [32] Stöckle M, Maachi B, Tunon de Lara M, Roche A, Maurette P. Hypersensibilité au phloroglucinol (Spasfon) dans un contexte d'administration médicamenteuse multiple peranesthésique. *Cah Anesthésiol* 1997;45:133–7.
- [33] Alvarez MJ, Acero S, Mendoza H, Tabar AL. Cuantificación de las concentraciones de triptasa sérica en el diagnóstico de anafilaxia. *Med Clin (Barc)* 1998;110:357–8.
- [34] Lopez-Saez MP, Ordoqui E, Tornero P, Baeza A, Sainza T, Zubeldia JM, et al. Fluorescein-induced allergic reaction. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;81:428–30.
- [35] Butrus SI, Negvesky GJ, Rivera-Velazquez PM, Schwartz LB. Serum tryptase : an indicator of anaphylaxis following fluorescein angiography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999;237:433–4.
- [36] Galindo PA, Borja J, Feo F, Gomez E, Garcia R, Cabrera M, Martinez C. Anaphylaxis to omeprazole. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;82:52–4.
- [37] Laroche D, Mayo P, Lefrançois C, Dubois F, Vergnaud MC, Bricard H. Exploration in vitro de l'anaphylaxie médicamenteuse. *Immunanal Biol Spéc* 1998;13:63–73.
- [38] Yunginger JW, Nelson DR, Squillace DL, Jones RT, Holley KE, Hyma BA, et al. Laboratory investigation of deaths due to anaphylaxis. *J Forensic Sci* 1991;36:857–65.
- [39] Edston E, van Hage-Hamsten M. β -tryptase measurements post-mortem in anaphylactic deaths and in controls. *Forensic Sci Int* 1998;93:135–42.
- [40] Petit N, Moneret-Vautrin DA, Sainte-Laudy J, Kanny G, Vedel G. Dosage post-mortem d'un marqueur biologique d'activation mastocytaire, la tryptase sérique. Etude préliminaire de spécificité. *Rev Fr Allergol* 1997;37:827–31.
- [41] Randall B, Butts J, Halsey JF. Elevated postmortem tryptase in the absence of anaphylaxis. *J Forensic Sci* 1995;40:208–11.
- [42] Fisher MM, Baldo BA. The diagnosis of fatal anaphylactic reactions during anaesthesia : employment of immunoassays for mast cell tryptase and drug-reactive IgE antibodies. *Anaesth Intensive Care* 1993;21:353–7.
- [43] Edston E, Van Hage-Hamsten M, Johansson SGO. Tryptase — at last a useful diagnostic marker for anaphylactic death. *Allergy* 1996;51:443–5.
- [44] Schwartz LB, Bradford TR, Rouse C, Irani E, Rasp G, van der Zwan JK, van der Linden PWG. Development of a new, more sensitive immunoassay for human tryptase : use in systemic anaphylaxis. *J Clin Immunol* 1994;14:190–204.
- [45] Sabbah A, Drouet M, Guittot M. La tryptase : médiateur de la réaction anaphylactique. Etude comparative des dosages fluoro-immuno-enzymométrique (FEIA) et radio-immunologique (RIA). *Immunanal Biol Spéc* 1998;13:161–6.
- [46] Sainte-Laudy J, Cado S. Comparaison des dosages de l'histamine, de la tryptase et de l'interleukine 6 pour l'exploration des réactions anaphylactoïdes médicamenteuses. *Allergie Immunol* 1998;30: 209–11.
- [47] Sabbah A, Hassoun S, Drouet M, Lauret MG, Loiry M, El Founini M, et al. Immuno-biologie allergique et anesthésiologie. *Allergie Immunol* 1998;30:173–6.
- [48] Ryckwaert Y, Barthelet Y, Bonnet-Boyer MC, Rochette A, Capdevila X, d'Athis F. Choc anaphylactique après dose-test d'aprotinine en chirurgie orthopédique pédiatrique. *Ann Fr Anesth Réanim* 1999;18:904–8.
- [49] Toh KW, Deacock SJ, Fawcett WJ. Severe anaphylactic reaction to cisatracurium. *Anesth Analg* 1999;88:462–4.
- [50] Seed MJ, Ewan PW. Anaphylaxis caused by neostigmine. *Anaesthesia* 2000;55:574–5.
- [51] Enrique E, Garcia-Ortega P, Sotorra O, Gaig P, Richart C. Usefulness of UniCAP-tryptase fluoroimmunoassay in the diagnosis of anaphylaxis. *Allergy* 1999;54:602–6.
- [52] Renz CL, Laroche D, Thurn JD, Finn HA, Lynch JP, Thisted R, et al. Tryptase levels are not increased during vancomycin-induced anaphylactoid reactions. *Anesthesiology* 1998;89:620–5.
- [53] Cuculo A, Summaria F, Schiavino D, Liuzzo G, Meo A, Patriarca G, et al. I livelli di triptasi sono elevati durante episodi ischemici spontanei nell'angina instabile ma non dopo test all'ergonovina nell'angina variante. *Cardiologia* 1998;43:189–93.
- [54] Li L, Li Y, Reddel SW, Cherian M, Friend DS, Stevens RL, et al. Identification of basophilic cells that express mast cell granule proteases in the peripheral blood of asthma, allergy, and drug-reactive patients. *J Immunol* 1998;161:5079–86.
- [55] Lorenz W, Duda D, Dick W, Sitter H, Doenicke A, Black A, et al. Incidence and clinical importance of perioperative histamine release : randomised study of volume loading and antihistamines after induction of anaesthesia. *Lancet* 1994;343:933–40.
- [56] Moss J, Rosow CE, Savarese JJ, Philbin DM, Kniffen KJ. Role of histamine in the hypotensive action of d-tubocurarine in humans. *Anesthesiology* 1981;55:19–25.
- [57] Moss J. Muscle relaxants and histamine release. *Acta Anaesthesiol Scand* 1995;39(Suppl 106):7–12.
- [58] Oosting E, Neugebauer E, Keyzer JJ, Lorenz W. Determination of histamine in human plasma : the European external quality control study 1988. *Clin Exp Allergy* 1990;20:349–57.

- [59] Ind PW, Brown MJ, Lhoste FJM, Macquin I, Dollery CT. Determination of histamine and its metabolites. Concentration-effect relationships of infused histamine in normal volunteers. *Agents Actions* 1982;12:12–6.
- [60] Morel AM, Delaage MA. Immunoanalysis of histamine through a novel chemical derivatization. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82: 646–54.
- [61] McBride P, Bradley D, Kaliner M. Evaluation of a radioimmunoassay for histamine measurement in biologic fluids. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:638–46.
- [62] Halmerbauer G, Hauk P, Forster J, Urbanek R, Kaufmehl K, Koller DY. In vivo histamine release during the first minutes after deliberate sting challenges correlates with the severity of allergic symptoms. *Pediatr Allergy Immunol* 1999;10:53–7.
- [63] Laroche D, Dubois F, Gérard JL, Lefrançois C, André B, Vergnaud MC, et al. Radioimmunoassay for plasma histamine : a study of false positive and false negative values. *Br J Anaesth* 1995;74: 430–7.
- [64] Moss J, Fahmy NR, Sunder NS, Beaven MA. Hormonal and hemodynamic profile of an anaphylactic reaction in man. *Circulation* 1981;63:210–3.
- [65] Cottineau C, Moreau X, Drouet M, De Brux JL, Brenet O, Delhumeau A. Choc anaphylactique lors de l'utilisation de l'aprotinine à fortes doses en chirurgie cardiaque. *Ann Fr Anesth Réanim* 1993;12:590–3.
- [66] Lorenz W, Neugebauer E, Schmal A. Le dosage de l'histamine plasmatique lors de réactions anaphylactoïdes chez le sujet anesthésié. *Ann Fr Anesth Réanim* 1982;1:271–6.
- [67] Torok EE, Brewer JJ, Dolkart RE. Serum diamine oxidase in pregnancy and in trophoblastic diseases. *J Clin Endocr Met* 1970; 30:59–65.
- [68] Baylin SB, Beaven MA, Krauss RM, Keiser HR. Response of plasma histaminase activity to small doses of heparin in normal subjects and patients with hyperlipoproteinemia. *J Clin Invest* 1973;52:1985–93.
- [69] Laroche D, Gallet E, Bricard H. Histamine sanguine et diagnostic rétrospectif précoce du choc anaphylactique. *Ann Fr Anesth Réanim* 1988;7:425–6.
- [70] Laroche D, Chrysanthou S, Lefrançois C, Gérard JL, Dubois F, Malet M, et al. Evidence of a progressive degranulation of basophil in subjects operated on without adverse reaction. *Agents Actions* 1992;36(special issue):C199–200.
- [71] Keyzer JJ, Breukelman H, Wolthers BG, Richardson FJ, de Monchy JGR. Measurement of N-methylhistamine concentrations in plasma and urine as a parameter for histamine release during anaphylactoid reactions. *Agents Actions* 1985;16:76–9.
- [72] Hammar E, Berglund A, Hedin A, Norrman A, Rustas K, Yttersstrom U, et al. An immunoassay for histamine based on monoclonal antibodies. *J Immunol Methods* 1990;128:51–8.
- [73] Keyzer JJ, Udding H, de Vries K. Measurement of N-methylhistamine concentrations in urine as a parameter for histamine release by radiographic contrast media. *Diagn Imag Clin Med* 1984;53:67–72.
- [74] Harle DG, Baldo BA, Fisher MM. Inhibition of histamine-N-methyltransferase activity by neuromuscular blocking drugs. *Agents Actions* 1985;17:27–31.
- [75] Imamura I, Watanabe T, Maeyama K, Kubota A, Okada A, Wada H. Effect of food intake on urinary excretions of histamine, N-methylhistamine, imidazole acetic acid and its conjugate (s) in humans and mice. *J Biochem* 1984;96:1931–7.
- [76] Keyzer JJ, De Monchy JGR, Van Doormaal JJ, Van Voorst Vader PC. Improved diagnosis of mastocytosis by measurement of urinary histamine metabolites. *N Engl J Med* 1983;309:1603–5.
- [77] Morel DR, Skoskiewicz M, Robinson DR, Bloch KJ, Hoaglin DC, Zapol WM. Leukotrienes, thromboxane A₂, and prostaglandins during systemic anaphylaxis in sheep. *Am J Physiol* 1991;261(Heart Circ Physiol 30):H782–92.
- [78] Lee TH, Smith CM, Arm JP, Christie PE. Mediator release in aspirin-induced reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:827–9.
- [79] O'Sullivan S, Dahlen B, Dahlen SE, Kumlin M. Increased urinary excretion of the prostaglandin D₂ metabolite 9 α ,11 β -prostaglandin F₂ after aspirin challenge supports mast cell activation in aspirin-induced airway obstruction. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98: 421–32.
- [80] Butterfield JH, Kao PC, Klee GG, Yocum MW. Aspirin idiosyncrasy in systemic mast cell disease : a new look at mediator release during aspirin desensitization. *Mayo Clin Proc* 1995;70:481–7.
- [81] Bellia V, Bonanno A, Cibella F, Cuttitta G, Mirabella A, Profita M, et al. Urinary leukotriene E₄ in the assessment of nocturnal asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:735–41.
- [82] Yoshida S, Nakagawa H, Yamawaki Y, Sakamoto H, Akahori K, Nakabayashi M, et al. Bronchial hyperresponsiveness, hypersensitivity to analgesics and urinary leukotriene E₄ excretion in patients with aspirin-intolerant asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 1998;117: 146–51.
- [83] Sabbah A, Drouet M, El Funini M. Intérêt du dosage des leucotriènes E₄ (LTE₄) dans les urines. Etude préliminaire. *Allergie Immunol* 1998;30:177–8.
- [84] Geuenich S, Haberl C, Egger D, Kaspers U, Hültner L, Wilmanns W, et al. Induction of leukotriene production by bleomycin and asparaginase in mast cells in vitro and in patients in vivo. *Biochem Pharmacol* 1998;55:447–53.
- [85] Takase B, Maruyama T, Kurita A, Uehata A, Nishioka T, Mizuno K, et al. Arachidonic acid metabolites in acute myocardial infarction. *Angiology* 1996;47:649–61.
- [86] Szczeklik A. Mediator assays in aspirin-induced asthma. *Allergy Proc* 1994;15:135–8.
- [87] Watkins J, Wild G. Improved diagnosis of anaphylactoid reactions by measurements of serum tryptase and urinary methylhistamine. *Ann Fr Anesth Réanim* 1993;12:169–72.
- [88] Fisher M, Baldo BA. Anaphylaxis during anaesthesia : current aspects of diagnosis and prevention. *Eur J Anaesthesiol* 1994;11: 263–84.
- [89] Withington DE. Allergy, anaphylaxis and anaesthesia. *Can J Anaesth* 1994;41:1133–9.
- [90] McKinnon RP, Wildsmith JAW. Histaminoid reactions in anaesthesia. *Br J Anaesth* 1995;74:217–28.
- [91] Leynadier F. Choc anaphylactique. Physiopathologie, diagnostic, traitement avec la posologie. *Rev Prat* 1995;45:1971–6.
- [92] Whittington T, Fisher MM. Anaphylactic and anaphylactoid reactions. *Baillière's Clin Anaesthesiol* 1998;12:301–23.
- [93] Laxenaire MC. Choc anaphylactique peranesthésique : conduite à tenir. *Ann Fr Anesth Réanim* 1997;16:f2–4.
- [94] The diagnosis and management of anaphylaxis. VII. Evaluation and management of patients with a history of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:S482–5.
- [95] Baldo BA, Fisher MM. Detection of serum IgE antibodies that react with alcuronium and tubocurarine after life-threatening reactions to muscle relaxant drugs. *Anaesth Intensive Care* 1983;11:194–7.
- [96] Baldo BA, Fisher MM. Substituted ammonium ions as allergenic determinants in drug allergy. *Nature* 1983;306:262–4.
- [97] Harle DG, Baldo BA, Fisher MM. Immunoassays employing substituted ammonium compounds other than neuromuscular blocking drugs to increase the detection of IgE antibodies to these drugs. *Mol Immunol* 1990;27:1039–45.

- [98] Fisher MM, Baldo BA. Immunoassays in the diagnosis of anaphylaxis to neuromuscular blocking drugs : the value of morphine for the detection of IgE antibodies in allergic subjects. *Anaesth Intensive Care* 2000;28:167–70.
- [99] Guéant JL, Mata E, Monin B, Moneret-Vautrin DA, Kamel L, Nicolas JP, et al. Evaluation of a new reactive solid phase for radioimmunoassay of serum specific IgE against muscle relaxant drugs. *Allergy* 1991;46:452–8.
- [100] Guilloux L, Ricard-Blum S, Ville G, Motin J. A new radioimmunoassay using a commercially available solid support for the detection of IgE antibodies against muscle relaxants. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:153–9.
- [101] Assem ES. Predictive value of in vitro tests for the IgE-dependent and the IgE-independent anaphylactoid reactions to muscle relaxants. *Ann Fr Anesth Réanim* 1993;12:203–11.
- [102] Guéant JL, Kamel L, Moneret-Vautrin DA, Widmer S, Laxenaire MC, Nicolas JP. Méthode radio-immunologique de détection des IgE spécifiques à l'alcuronium. *Ann Fr Anesth Réanim* 1986;5: 570–3.
- [103] Moneret-Vautrin DA, Guéant JL, Kamel L, Laxenaire MC, El Kholty S, Nicolas JP. Anaphylaxis to muscle relaxant : cross-sensitivity studied by radioimmunoassays compared to intradermal tests in 34 cases. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:745–52.
- [104] Baldo BA, Fisher MM. Anaphylaxis to muscle relaxant drugs : cross-reactivity and molecular basis of binding of IgE antibodies detected by radioimmunoassay. *Mol Immunol* 1983;20:1393–400.
- [105] Guéant JL, Mata E, Masson C, Moneret-Vautrin DA, Laxenaire MC. Non-specific interactions in anti-agent IgE-RIA to anaesthetic agents. *Ann Fr Anesth Réanim* 1993;12:141–6.
- [106] Harle DG, Baldo BA, Fisher MM. Antigenic similarity between the protein neurotoxin alpha-bungarotoxin and neuromuscular blocking drugs. *Agent Actions* 1986;18:512–7.
- [107] Guéant JL, Namour F, Romano A, Mata E, Aimone-Gastin I, Kanny G, et al. Criteria of evaluation and of interpretation of Sepharose-drug IgE-RIA to anaesthetic drugs. *Allergy* 2000;54: 17–22.
- [108] Guéant JL, Mata E, Masson C, Gérard P, Moneret-Vautrin DA, Mouton-Faivre C, et al. Non-specific cross-reactivity of hydrophobic serum IgE to hydrophobic drugs. *Mol Immunology* 1995;32: 259–66.
- [109] Mata E, Guéant JL, Moneret-Vautrin DA, Bermejo N, Gérard P, Nicolas JP, et al. Clinical evaluation of in vitro leukocyte histamine release in allergy to muscle relaxant drugs. *Allergy* 1992;47:471–6.
- [110] Baldo BA, Fisher MM. Diagnosis of IgE-dependent anaphylaxis to neuromuscular blocking drugs, thiopentone and opioids. *Ann Fr Anesth Réanim* 1993;12:173–81.
- [111] Didier A, Benzarti M, Alazia M, Hémon Y, Senft M, Charpin J, et al. Accidents anaphylactiques au suxaméthonium. *Ann Fr Anesth Réanim* 1986;5:361–6.
- [112] Fisher MM, Baldo BA. Persistence of allergy to anaesthetic drugs. *Anaesth Intensive Care* 1992;20:143–6.
- [113] Didier A, Benzarti M, Senft M, Charpin D, Lagier F, Charpin J, et al. Allergy to suxamethonium : persisting abnormalities in skin tests, specific IgE antibodies and leukocyte histamine release. *Clin Allergy* 1987;17:385–92.
- [114] Fisher MM, Baldo BA, Silbert BS. Anaphylaxis during anesthesia : use of radioimmunoassays to determine etiology and drugs responsible in fatal cases. *Anesthesiology* 1991;75:1112–5.
- [115] Porri F, Lemiére C, Birnbaum J, Guilloux L, Lanteaume A, Didelot R, Charpin D, Vervloet D. Prevalence of muscle relaxant sensitivity in a general population : implications for a preoperative screening. *Clin Exp Allergy* 1999;29:72–5.
- [116] Harle DG, Baldo BA, Coroneos NJ, Fisher MM. Anaphylaxis following administration of papaveretum. Case report : Implication of IgE antibodies that react with morphine and codeine, and identification of an allergenic determinant. *Anesthesiology* 1989;71: 489–94.
- [117] Baldo BA, Fisher MM, Harle DG. Allergy to thiopentone. *Clin Rev Allergy* 1991;9:295–308.
- [118] Harle DG, Baldo BA, Smal BA, Wajon P, Fisher MM. Detection of thiopentone reactive IgE antibodies following anaphylactoid reactions during anaesthesia. *Clin Allergy* 1986;16:493–8.
- [119] Harle DG, Baldo DA, Smal MA, Fisher MM. Drugs as allergens : the molecular basis of IgE binding to thiopentone. *Int Archs Allergy Appl Immun* 1987;84:277–83.
- [120] Moneret-Vautrin DA, Widmer S, Guéant JL, Kamel L, Laxenaire MC, Mouton C, Gérard H. Simultaneous anaphylaxis to thiopentone and a neuromuscular blocker : a study of two cases. *Br J Anaesth* 1990;64:743–5.
- [121] Laxenaire MC, Guéant JL, Bermejo E, Mouton C, Navez MT. Anaphylactic shock due to propofol. *Lancet* 1988;2:739–40.
- [122] Laxenaire MC, Mata-Bermejo E, Moneret-Vautrin DA, Guéant JL. Life-threatening anaphylactoid reactions to propofol (Diprivan®). *Anesthesiology* 1992;77:275–80.
- [123] Guéant JL, Aimone-Gastin I, Namour F, Laroche D, Bellou A, Laxenaire MC. Diagnosis and pathogenesis of the anaphylactic and anaphylactoid reactions to anaesthetics. *Clin Exp Allergy* 1998;28: 65–70.
- [124] Aimone-Gastin I, Guéant JL, Laxenaire MC, Moneret-Vautrin DA. Pathogenesis of allergic reactions to anaesthetic drugs. *Int J Immunol Pharmacol* 1997;10:193–6.
- [125] Vervloet D, Arnaud A, Vellieux P, Kaplanski S, Charpin J. Anaphylactic reactions to muscle relaxants under general anesthesia. *J Allergy Clin Immunol* 1979;63:348–53.
- [126] Assem ESK. Characteristics of basophil histamine release by neuromuscular blocking drugs in patients with anaphylactoid reactions. *Agents Actions* 1984;14:435–40.
- [127] Vervloet D, Arnaud A, Senft M, Dor Ph, Bongrand P, Charpin J, et al. Leukocyte histamine release to suxamethonium in patients with adverse reactions to muscle relaxants. *J Allergy Clin Immunol* 1985;75:338–42.
- [128] Vervloet D, Arnaud A, Senft M, Dor Ph, Didier A, Bongrand P, et al. Anaphylactic reactions to suxamethonium. Prevention of mediator release by choline. *J Allergy Clin Immunol* 1985;76:222–5.
- [129] Didier A, Cador D, Bongrand P, Furstoss R, Fourneron P, Senft M, et al. Role of the quaternary ammonium ion determinants in allergy to muscle relaxants. *J Allergy Clin Immunol* 1987;79: 578–84.
- [130] Stellato C, de-Paulis A, Cirillo R, Mastronardi P, Mazzarella B, Marone G. Heterogeneity of human mast cells and basophils in response to muscle relaxants. *Anesthesiology* 1991;74:1078–86.
- [131] Assem ESK. Anaphylactic anaesthetic reactions. The value of paper radioallergosorbent tests for IgE antibodies to muscle relaxants and thiopentone. *Anaesthesia* 1990;45:1032–8.
- [132] Facon A, Gosset P, Tonnel AB, Scherpereel P. Intérêt des tests de libération de l'histamine leucocytaire et des intradermoréactions dans le diagnostic des accidents anaphylactoides aux produits anesthésiques. *Ann Fr Anesth Réanim* 1985;4:233–7.
- [133] Vervloet D, Nizankowska E, Arnaud A, Senft M, Alazia M, Charpin J. Adverse reactions to suxamethonium and other muscle relaxants under general anesthesia. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 71:552–9.
- [134] Shore PA, Burkhalter A, Cohn VH. A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J Pharmacol Exp Ther* 1959;127: 182–6.

- [135] Siraganian RP, Brodsky MJ. Automated histamine release for in vitro allergy testing : I. A method utilizing allergen induced histamine release from whole blood. *J Allergy Clin Immunol* 1976;57:525–40.
- [136] Assem ESK. IgE antibody-dependent and IgE independent release of histamine in patients with anaphylactoid reactions to neuromuscular blockers. *Agents Actions* 1992;36(Special issue):C206–10.
- [137] Guilloux L, Ricard Blum S, Ville G, Motin J. Histamine release assay and radioimmunoassay for the detection of IgE antibodies against neuromuscular blocking drugs. *Ann Fr Anesth Réanim* 1993;12:182–6.
- [138] Mata E, Guéant JL, Moneret-Vautrin DA, Bermejo N, Gerard P, Nicolas JP, et al. Clinical evaluation of in vitro leukocyte histamine release in allergy to muscle relaxant drugs. *Allergy* 1992;47:471–6.
- [139] Widmer S, Moneret-Vautrin DA, Laxenaire MC, Mouton C. Leukocyte histamine release tests for the diagnosis of anaphylactic reaction to curare-like agents. *Allerg Immunol* 1988;20:344–5.
- [140] Moneret-Vautrin DA, Motin J, Mata A, Guéant JL, Kanny G, Widmer S, et al. Preventing muscle relaxant anaphylaxis with monovalent haptens. A preliminary study. *Ann Fr Anesth Réanim* 1993;12:190–202.
- [141] Moneret-Vautrin DA, Kanny G, Guéant JL, Widmer S, Laxenaire MC. Prevention by monovalent haptens of IgE-dependent leukocyte histamine release to muscle relaxants. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:172–5.
- [142] Laxenaire MC, Gastin I, Moneret-Vautrin DA, Widmer S, Guéant JL. Cross reactivity of rocuronium with other neuromuscular blocking agents. *Eur J Anaesthesiol* 1995;11(Suppl):55–64.
- [143] Bermejo N, Guéant JL, Mata E, Gerard P, Moneret-Vautrin DA, Laxenaire MC. Platelet serotonin is a mediator potentially involved in anaphylactic reaction to neuromuscular blocking drugs. *Br J Anaesth* 1993;70:322–5.
- [144] Charpin D, Vervloet D, Lanteaume A, Gonvrenet J, Fondarai J. Etude critique des conditions d'application du test de dégranulation des basophiles humains en diagnostic allergologique. *Rev Fr Allergol Immunol* 1987;2:57–60.
- [145] Abuaf N, Rajoely B, Ghazouani E, Levy DA, Pecquet C, Chabane H, et al. Validation of a flow cytometric assay detecting in vitro basophil activation for the diagnosis of muscle relaxant allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999;10(2 Pt 1):411–8.
- [146] Monneret G, Benoit Y, Gutowski MC, Bienvenu J. Detection of basophil activation by flow cytometry in patients with allergy to muscle-relaxant drugs. *Anesthesiology* 2000;92:275–7.
- [147] Sabbah A. A propos de l'allergie médicamenteuse. *Allerg Immunol (Paris)* 1996;28:230–3.
- [148] Assem ESK. Release of eosinophil cationic protein (ECP) in anaphylactoid anaesthetic reactions in vivo and in vitro. *Agents Actions* 1994;4(Special issue):C11–3.
- [149] Assem ESK. Leukotriene C4 release from blood cells in vitro in patients with anaphylactoid reactions to neuromuscular blockers. *Agents Actions* 1993;38(Special issue II):C242–4.
- [150] Stellato C, Casolaro V, Ciccirelli A, Mastronardi P, Mazzarella B, Marone G. General anaesthetics induce only histamine release selectively from human mast cells. *Br J Anaesth* 1991;67:751–8.
- [151] Stellato C, Cirillo R, de-Paulis A, Casolaro V, Patella V, Mastronardi P, et al. Human basophil/mast cell releasability : IX. Heterogeneity of the effects of opioids on mediator release. *Anesthesiology* 1992;77:932–40.
- [152] Genovese A, Stellato C, Marsella CV, Adt M, Marone G. Role of mast cells, basophils and their mediators in adverse reactions to general anesthetics and radiocontrast media. *Int Arch Allergy Immunol* 1996;110:13–22.
- [153] Laxenaire MC, Mata E, Guéant JL, Moneret-Vautrin DA, Haber JP. Basophil histamine release in atopic patients after in vitro provocation with thiopental, Diprivan and chlormethiazole. *Acta Anaesthesiol Scand* 1991;35:706–10.
- [154] Koller DY, Rosenkranz AR, Pirker C, Götz M, Jarisch R. Assessment of histamine release from basophils in whole blood by benzylpenicilloyl-poly-L-lysine in penicillin-sensitized patients. *Allergy* 1992;47:459–62.
- [155] Demoly P, Lebel B, Messaad D, Sahla H, Rongier M, Daurès JP, et al. Predictive capacity of histamine release for the diagnosis of drug allergy. *Allergy* 1999;54:500–6.
- [156] Fernandez-Rivas M, Carral CP, Cuevas M, Marti C, Moral A, Senent CJ. Selective allergic reactions to clavulanic acid. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:748–50.
- [157] Igea JM, Fraj J, Davila I, Cuevas M, Cuesta J, Hinojosa M. Allergy to cefazolin : study of in vivo cross reactivity with other betalactams. *Ann Allergy* 1992;68:515–9.
- [158] Tadokoro K, Niimi N, Ohtoshi T, Nakajima K, Takafuji S, Onodera K, et al. Cefotiam-induced IgE-mediated occupational contact anaphylaxis of nurses ; cases reports, RAST analysis, and a review of the literature. *Clin Exp Allergy* 1994;24:127–33.
- [159] Igea JM, Quirce S, de la Hoz B, Fraj J, Pola J, Diez Gomez ML. Adverse cutaneous reaction due to macrolides. *Ann Allergy* 1991;66:216–8.
- [160] Lopez Serrano C, Quiralte E, Martinez Alzamora F. Urticaria from erythromycin. *Allergol Immunopathol* 1993;21:225–6.
- [161] Cardot E, Tillie-Leblond I, Jeannin P, Facon A, Breuil K, Patte F, et al. Anaphylactic reaction to local administration of rifamycin SV. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:1–7.
- [162] Sabbah A, Bruchmann C, Drouet M, Vitale L, Lauret MG. Etude du cycle cellulaire par cytométrie de flux dans l'allergie médicamenteuse. *Allerg Immunol (Paris)* 1993;25:91–7.
- [163] Sabbah A, Lauret MG, Maillard H. Etude préliminaire du test d'activation des basophiles à l'aide d'anticorps membranaires par cytométrie de flux dans l'allergie médicamenteuse. *Allerg Immunol (Paris)* 1995;27:274–6.
- [164] Sainte-Laudy J, Vallon C, Guerin JC. Intérêt du test de libération du leucotriène C4 pour le diagnostic d'une allergie médicamenteuse (résultats préliminaires). *Allerg Immunol (Paris)* 1996;28:44–7.
- [165] Sanz ML, Sanchez G, Vila L, Dieguez I, Oehling AK. Antigen-specific sulphidoleukotriene production in allergy to beta-lactam antibiotics. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;118:364–5.
- [166] Halpern B, Ky N, Amache N. Diagnosis of drug allergy in vitro with the lymphocyte transformation test. *J Allergy Clin Immunol* 1967;40:168–81.
- [167] Bircher AJ. Lymphocyte transformation test in the diagnosis of immediate type hypersensitivity reactions to penicillins. *Curr Probl Dermatol* 1995;22:31–7.
- [168] Perez T, Dayer E, Girard JP. Hypersensitivity reactions to drugs : correlation between clinical probability score and laboratory procedures. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1995;5:276–82.
- [169] Nyfeler B, Pichler WJ. The lymphocyte transformation test for the diagnosis of drug allergy : sensitivity and specificity. *Clin Exp Allergy* 1997;27:175–81.
- [170] Cederbrant K, Stejskal V, Broman P, Lindkvist L, Sundell K. In vitro lymphocyte proliferation in the diagnosis of allergy to phenoxymethylpenicillin. *Allergy* 1998;53:1155–61.
- [171] Dunoyer-Geindre S, Ludi F, Perez T, Terki N, Gumowski PI, Girard JP. PAF acether release on antigenic challenge. A method for the investigation of drug allergic reactions. *Allergy* 1992;47:50–4.
- [172] Pytsky VI, Filatov OY. Phenomenon of specific inhibition of luminol-dependent chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes under the influence of allergen. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1996;6:256–60.

- [173] Turjanmaa K, Räsänen L, Lehto M, Mäkinen-Kiljunen S, Reunala T. Basophil histamine release and lymphocyte proliferation tests in latex contact urticaria. In vitro tests in latex contact urticaria. *Allergy* 1989;44:181–6.
- [174] Marais GI, Fletcher JM, Potter PC. In vivo and in vitro diagnosis of latex allergy at Groote Schuur Hospital. *S Afr Med J* 1997;87:1004–8.
- [175] Fernandez de Corres L, Moneo I, Munoz D, Bernaola G, Fernandez E, et al. Sensitization from chestnuts and bananas in patients with urticaria and anaphylaxis from contact with latex. *Ann Allergy* 1993;70:35–9.
- [176] Latasa M, Dieguez I, Sanz ML, Parra MJ, Pajaron MJ, Oehling A. Fruit sensitization in patients with allergy to latex. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1995;5:97–102.
- [177] Rodríguez M, Vega F, Garcia MT, Panizo C, Laffond E, Montalvo A, et al. Hypersensitivity to latex, chestnut, and banana. *Ann Allergy* 1993;70:31–4.
- [178] Ebo DE, Bridts CH, de Clerck LS, van Offel JF, Stevens WJ. Immunoglobulin E-mediated natural rubber latex (NRL) hypersensitivity. *ACI International* 1999;11:112–7.
- [179] Ebo DG, Stevens WJ, Bridts CH, de Clerck LS. Latex-specific IgE, skin testing, and lymphocyte transformation to latex in latex allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:618–23.
- [180] Johnson BD, Kurup VP, Sussmann GL, Arif SA, Kelly KJ, Beezhold DH, et al. Purified and recombinant latex proteins stimulate peripheral blood lymphocytes of latex allergic patients. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;120:270–9.
- [181] Raulf-Heimsoth M, Chen Z, Liebers V, Allmers H, Baur X. Lymphocyte proliferation response to extracts from different latex materials and to the purified latex allergen Hev b 1 (rubber elongation factor). *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:640–51.
- [182] Murali PS, Kelly KJ, Fink JN, Kurup VP. Investigations into the cellular immune responses in latex allergy. *J Lab Clin Med* 1994;124:638–43.