



الأكاديمية الجزائرية لعلوم أمراض الحساسية  
Académie Algérienne d'Allergologie

**2ème Cours Supérieur d'Allergologie**  
Alger 06 Février 2016

***Diagnostic biologique  
du Choc anaphylactique.***

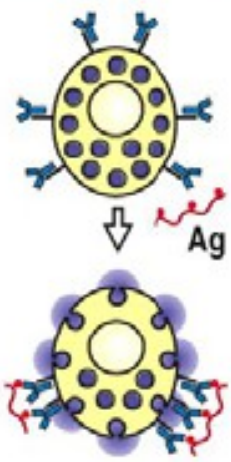
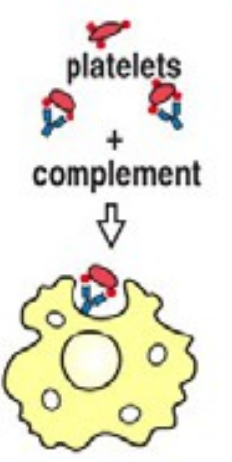
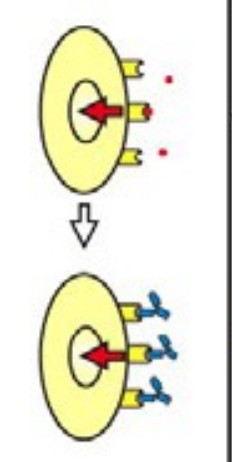
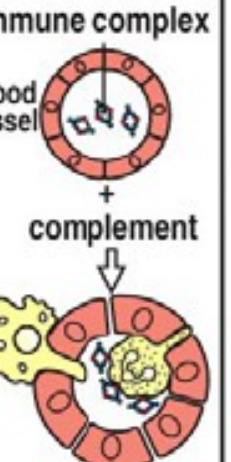
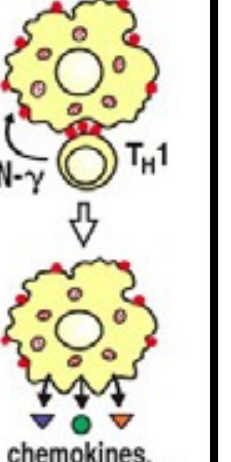


**Pr SALAH S.S.**

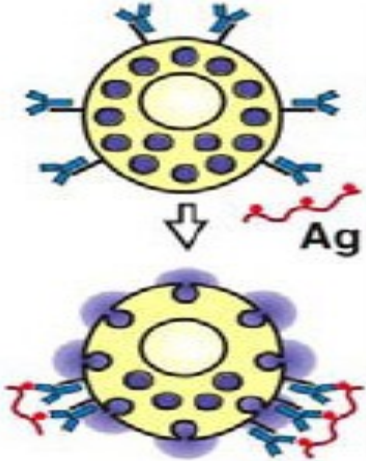
**MCA - Chef de Laboratoire d'Auto-Immunité  
Département d'Immunologie - Institut Pasteur d'Algérie  
Faculté de Médecine d'Alger - Université d'Alger 1**

**DONNES GENERALES**  
**sur**  
**les ETAT d'HS de type I**

# Classification des états d'hypersensibilité (Gell et Coombs)

Type I	Type II		Type III	Type IV
IgE	IgG		IgG	T <sub>H</sub> 1 cells
Soluble antigen	Cell- or matrix-associated antigen	Cell-surface receptor	Soluble antigen	Soluble antigen
Mast-cell activation	Complement, FcR <sup>+</sup> cells (phagocytes, NK cells)	Antibody alters signaling	Complement, Phagocytes	Macrophage activation
				
<ul style="list-style-type: none"> <li>° Rhinite allergique</li> <li>° Asthme,</li> <li>° Choc anaph.</li> <li>° Anaphylaxie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>° Cytopénies médic.</li> <li>° Réaction transfus.</li> <li>° Anémie</li> <li>Hémolytique autoim</li> <li>° Pemphigus</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>° Thyroïdite</li> <li>° Myasthénie.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>° Réaction d'Arthus</li> <li>° Maladie sérique</li> <li>° Lupus érythémateux</li> <li>° Vasculites immuno.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>° IDR tuberculine</li> <li>° Rejet de greffes</li> <li>° Arthrite, Diabète,</li> <li>° Psoriasis</li> </ul>

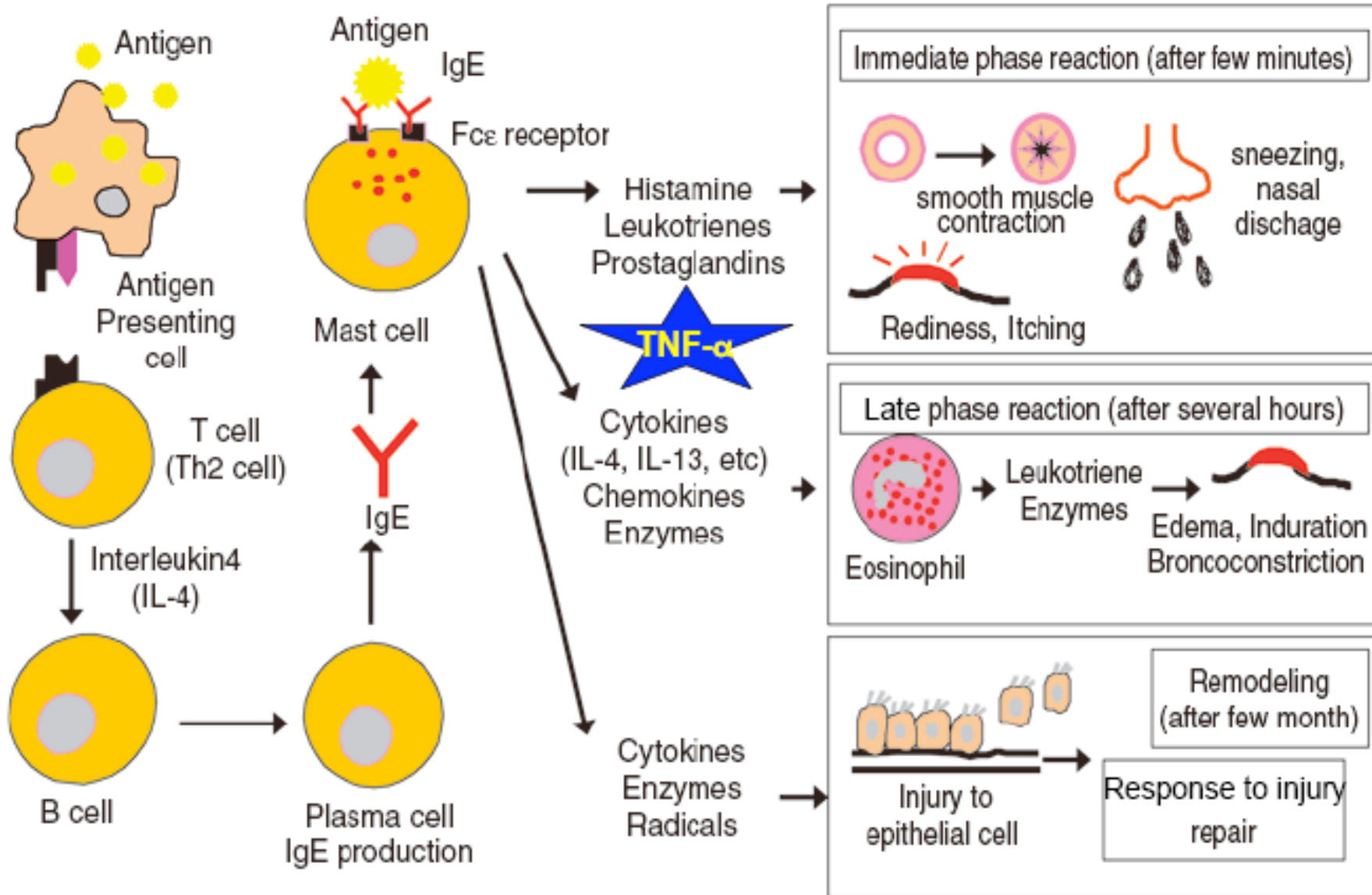
# Classification des états d'hypersensibilité (Gell et Coombs)

	Type I
Anticorps	IgE
Antigène	Antigène soluble
Mécanisme effecteur	Activation des mastocytes 

## Exemples :

- Rhinite allergique
- Asthme allergique (Mastocytes)
- Choc anaphylactique (basophiles)

# Phases précoces et tardives de la réponse inflammatoire allergique



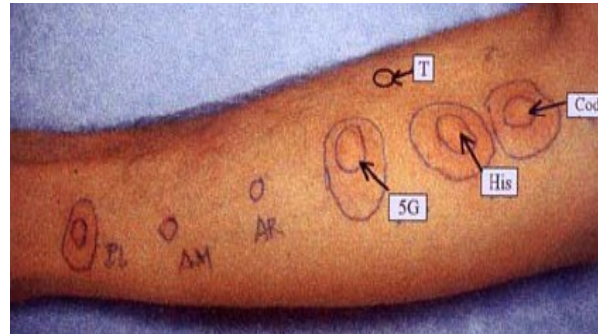
**EXPLORATION BIOLOGIQUE**  
**des**  
**ETATS d'HS de type I**

Le diagnostic des maladies atopiques repose sur **trois éléments** essentiels :



1. Interrogatoire  
(Anamnèse)

2. Tests cutanés (anaphylaxie active) :  
identification de l'agent Causal



3. Bilan immunologique in-vitro : deux types de tests
  1. **exploration du terrain allergique.**
  2. **recherche de l'agent causal.**

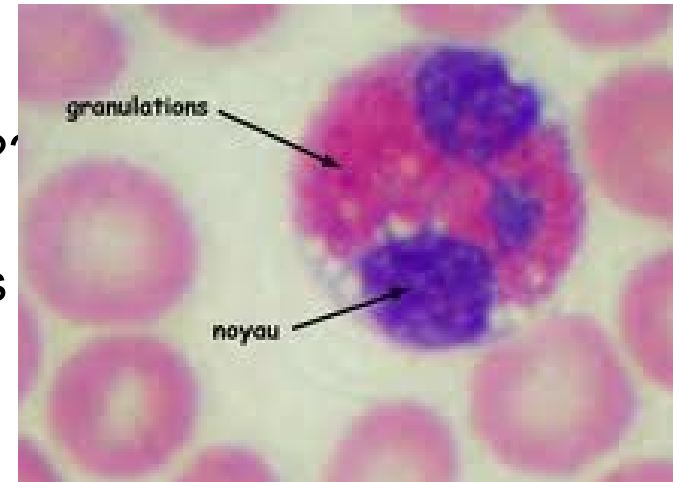


# 1-Tests d'exploration du terrain allergique

## A. Étude des éosinophiles :

Eosinophilie sanguine  $> 300$  cellules/ml : Atopie ?

La recherche et la quantification des éosinophiles dans les sécrétions nasales et bronchiques sont préférées.



 Hyperéosinophilie, observée aussi dans :

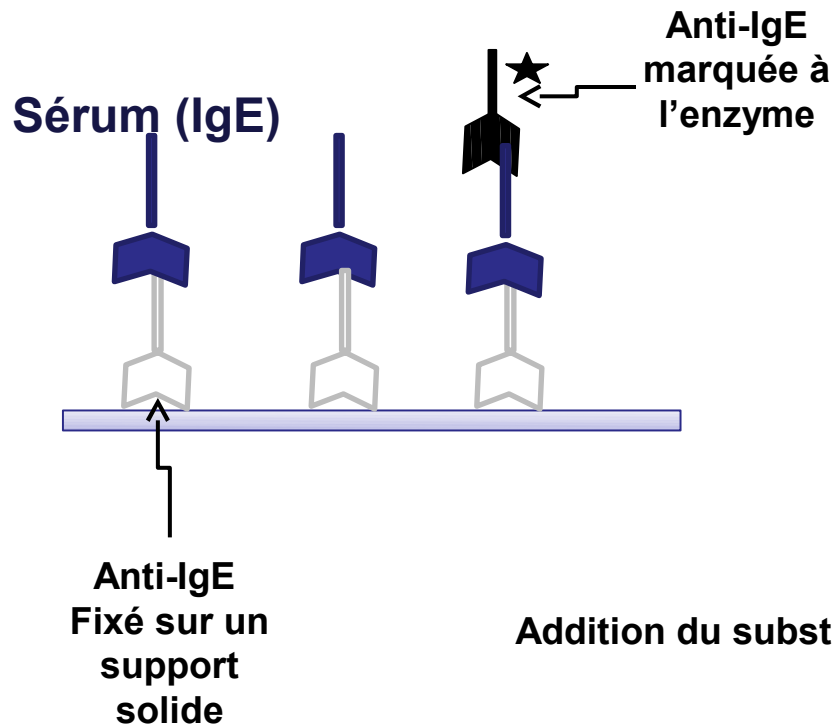
- infections parasitaires
- prise médicamenteuse
- stress



# 1-Tests d'exploration de l'anaphylaxie (terrain allergique)

## B. Dosage des IgE sériques totales:

- ▣ **RIST**=Radio-Immuno-Sorbent-Tests: Dosage compétition en phase solide.
- ▣ **Techniques fluorométrique** : principe semblable à l'ELISA, l'étape finale diffère par l'utilisation de substrat fluorescent.
- ▣ **ELISA** = (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)  
ELISA simple sandwich: sérum à tester mis en contact avec les anticorps anti-IgE préalablement fixés sur un support solide.



**Microplaque ELISA**

Addition du substrat → Produit coloré

## Interprétation du taux d'IgE totales

- Concentration sérique des IgE totales: très faible et varie selon l'âge:  
**Norme (> 8 ans ) = 150UI/ml = 300 ng/ml (1 UI = 2,4ng)**  
**(50-100 ng/ml)**
- Demi-vie très courte (**2-3 jours**) mais très longue quand IgE fixées sur récepteurs (Mastocytes) (Jusqu'à plusieurs mois)
- Taux élevé d'IgE totale  $\Rightarrow$  **maladie atopique**, mais :



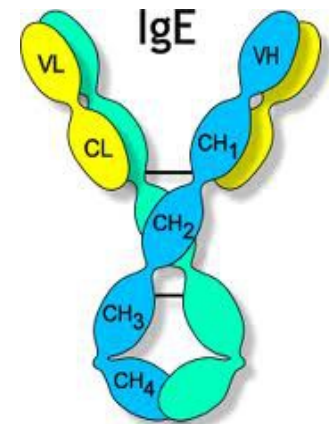
Taux élevés rapportés :

- ✓ Sujets non allergiques.
- ✓ Infections parasitaires, virales ou bactérienne
- ✓ Affections tumorales (maladie de Hodgkin,...)



Taux normaux rencontrés chez des patients allergiques.

**Dosage des IgE sériques totales pratiqué**  
**Isolément : intérêt limité.**



## 2-Identification de l'agent causal

Basée sur la recherche d'**IgE spécifiques** : circulantes et/ou fixées sur les basophiles.

**Etape fondamentale** surtout :

- **si la pratique des tests cutanés est délicate (hyporéactivité due aux âges extrêmes, dermatographisme, affections cutanées,...)**
- **ou en cas de discordance entre les tests cutanés et l'anamnèse.**

### **A. Recherche des IgE spécifiques circulantes :**

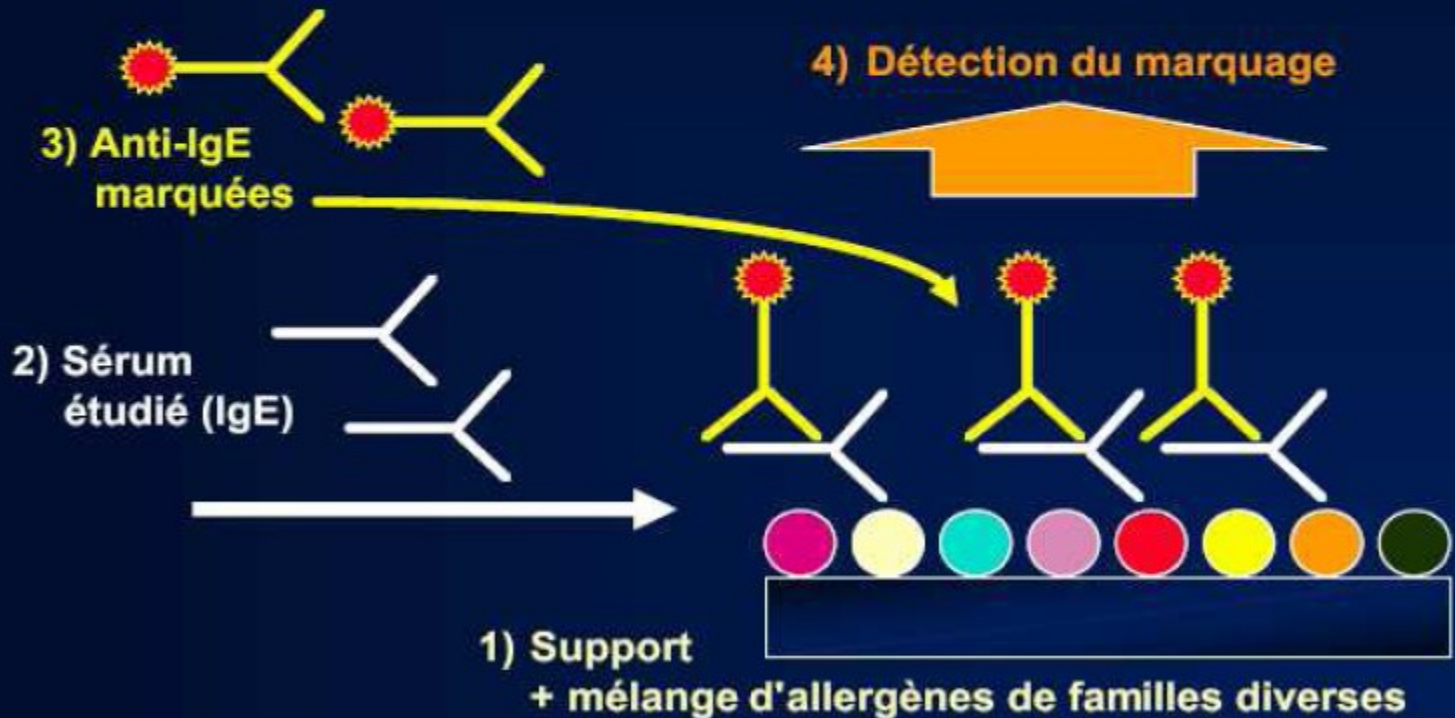
1. Approche qualitative
2. Approche quantitative

### **B. Recherche des IgE spécifiques fixées sur les basophiles :**

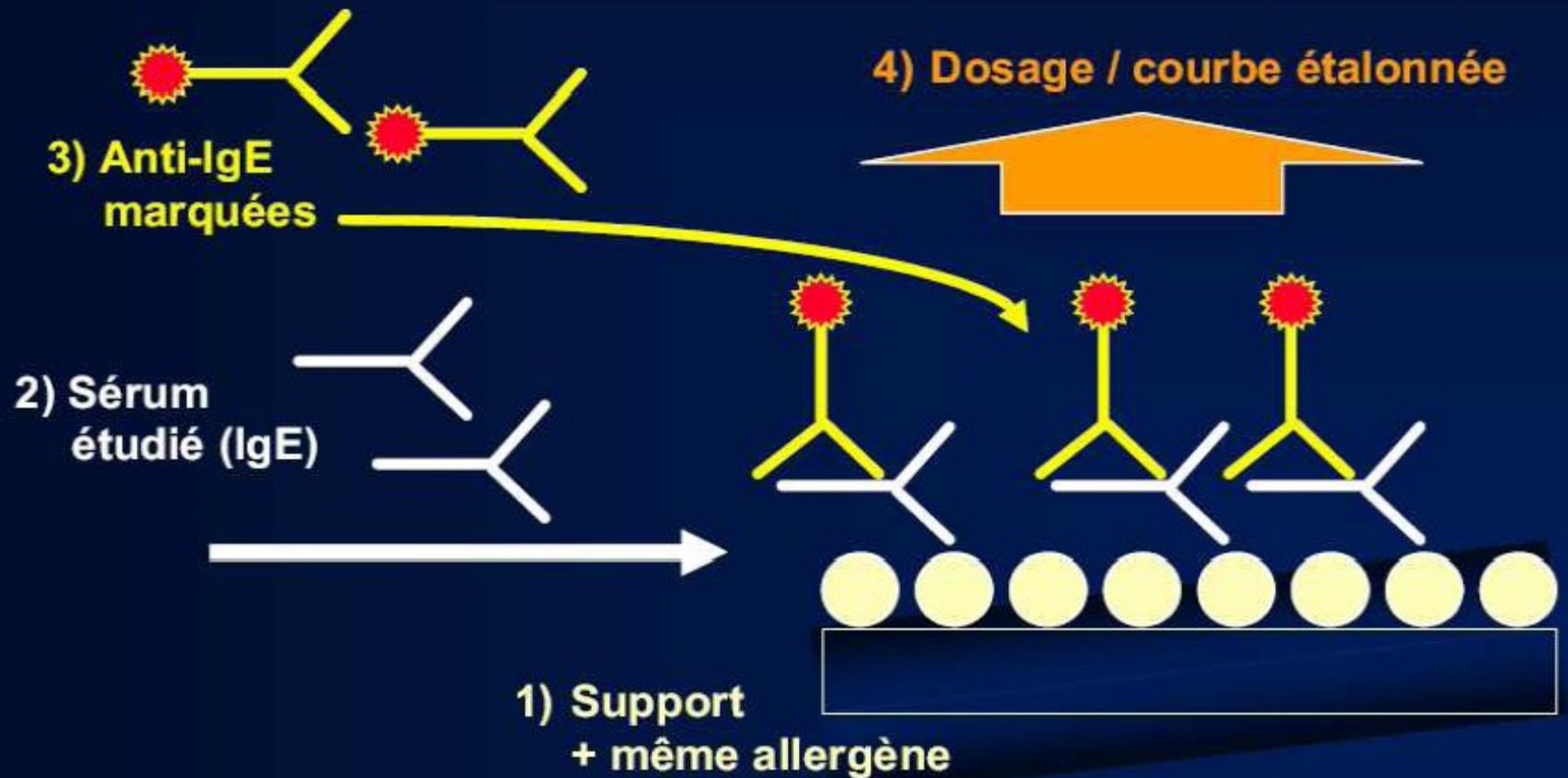
1. Test de dégranulation des basophiles humains (TDBH)
2. Test de libération de l'histamine (TLH)

# Test multiallergénique de dépistage

## Principes



# Dosage des IgE spécifiques



## 2-Identification de l'agent causal

### A. Recherche des IgE spécifiques circulantes (sériques)

1. **Approche qualitative:** utilise des tests multi allergéniques = **tests de dépistage** précoces utilisant des mélanges d'allergènes répondant à des situations épidémiologiques bien particulières, exemple:
  - **Panel respiratoire** : acariens + blattes + phanères d'animaux domestiques
  - **Panel méditerranéens** : Arbres méditerranéens,...
  - **Panel alimentaire** : Allergènes alimentaires,...

**Résultat rendu** : Positif ou Négatif,

2. **Approche quantitative:** utilise des allergènes purifiés avec des techniques de :
  1. Radio-immunologique
  2. Immuno-enzymologie
  3. Fluorométrie
  4. Chimiluminiscence

## IgE spécifiques (sériques)

### *Expression des résultats*

Contrairement aux IgE totales, il n'existe pas de standard international pour le dosage des IgEs.

Résultats quantitatifs : 1-Classes de positivité (0 à 6)

❖ < 0,35	Classe 0
❖ 0,35 – 0,70	Classe 1
❖ 0,70 – 3,50	Classe 2
❖ 3,50 – 17,50	Classe 3
❖ 17,50 – 50	Classe 4
❖ 50 – 100	Classe 5
❖ > 100	Classe 6

2-Unités arbitraires (UA/l ou kU/l) [0,1 à 100 kUA/l]

A *t-on* besoin de différencier 3, 6 kU/l de 4 kU/l voire de 17 kU/l (classe 3) si, cliniquement, cela revient au même ?

## IgE spécifiques (sériques)

### *Interprétation des résultats*

La présence d'IgE spé prouve une sensibilisation à un allergène donné.

Informations supplémentaires : corrélation [IgE spé] et symptômes cliniques



Mais il est également indispensable de connaître les allergies croisées existantes.

Le dosage des IgEs ne nécessite pas l'arrêt d'un traitement anti-histaminique.



## Autres tests

- Dosage sanguin **Tryptase /Histamine**
- Dosage ECP (Eosinophil cationic protein) (VN>15 µg/l).
  - Protéine Basique Majeure (MBP)
  - Peroxydase de l'éosinophile (EPO)
  - Neurotoxine dérivée de l'éosinophile (EDN)
- Tests cellulaires :
  - Test d'Histamino-libération
  - Test d'activation des basophiles
    - En cytométrie de flux : étude du CD63, CD203 en présence d'allergène/haptène (médicaments)

# Médiateurs libérés par le Mastocyte et/ou Basophile

Pre-formed  
in granules

Synthesized  
upon mast  
cell activation

Class of product	Examples	Biological effects
Enzyme	Tryptase, chymase, cathepsin G, carboxypeptidase	Remodel connective tissue matrix
Toxic mediator	Histamine, heparin	Toxic to parasites Increase vascular permeability Cause smooth muscle contraction
Cytokine	IL-4, IL-13	Stimulate and amplify T <sub>H</sub> 2 cell response
	IL-3, IL-5, GM-CSF	Promote eosinophil production and activation
	TNF- $\alpha$ (some stored preformed in granules)	Promotes inflammation, stimulates cytokine production by many cell types, activates endothelium
Chemokine	CCL3 (MIP-1 $\alpha$ )	Attracts monocytes, macrophages, and neutrophils
Lipid mediator	Leukotrienes C4, D4, E4	Cause smooth muscle contraction Increase vascular permeability Stimulate mucus secretion
	Platelet-activating factor	Attracts leukocytes Amplifies production of lipid mediators Activates neutrophils, eosinophils, and platelets

Figure 12-12 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

# Exploration des états d'hypersensibilité de type I

## 2-Identification de l'agent causal

### B. Recherche des IgE spécifiques fixées sur les basophiles

- recherche des IgE spécifiques non concluante
- discordance entre les tests cutanés et le dosages des IgE spécifiques.
- **Allergies médicamenteuses**

#### 1. **Test de dégranulation des basophiles humains (TDBH):**

Basé sur la propriété des IgE fixées à dégranuler les basophiles en présence de l'allergène spécifique. Résultats exprimés en Index de dégranulation (ID.%).

- Remplacé par le test d'activation des basophiles (**TAB**) qui s'effectue par cytométrie de flux.
- Aussi appelé FAST Test et qui recherche l'augmentation d'expression sur les membranes cellulaires des polynucléaires basophiles des **CD63** et **CD203c** en présence d'allergène/haptène (**médicaments**).

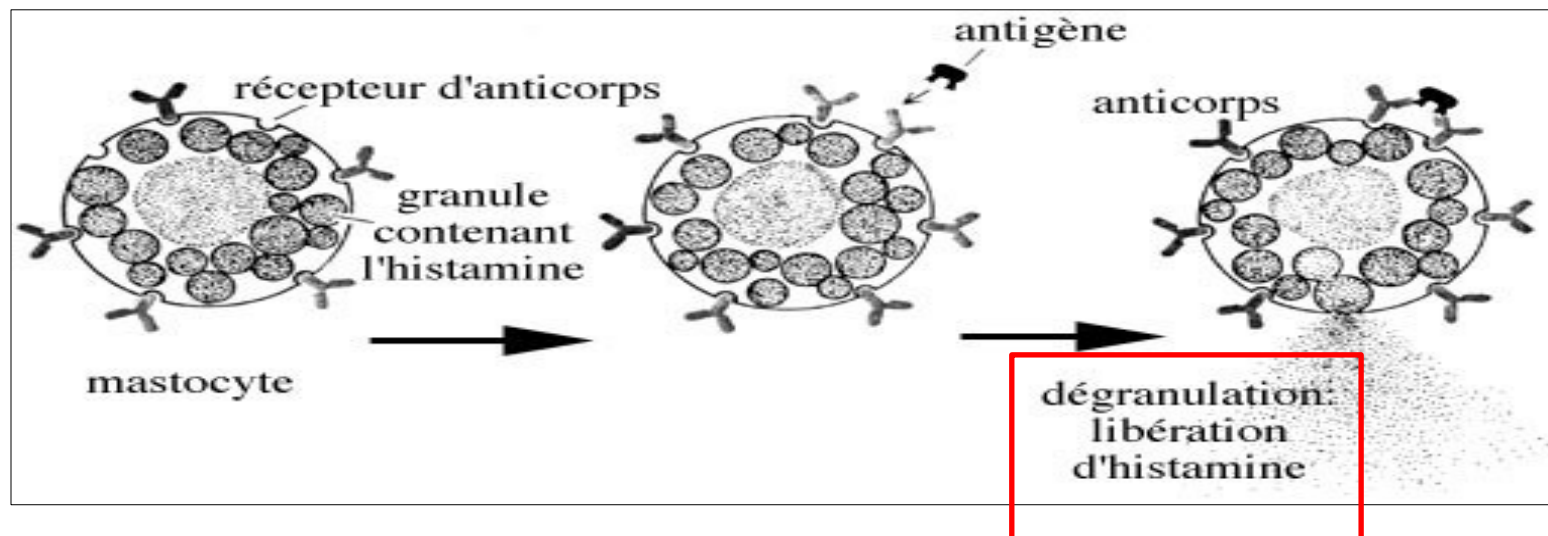
# Exploration des états d'hypersensibilité de type I

## 2-Identification de l'agent causal

### 2. Test de libération de l'histamine (TLH):

Basé sur la mesure de l'histamine après stimulation immunologiques avec l'allergène suspecté. Le dosage se fait par :

- **Fluorométrie**
- **ELISA**
- **Radio-immunologie.**



**DOSAGES BIOLOGIQUES**  
**lors d'un**  
**CHOC ANAPHYLACTIQUE**

# Histamine

- Constituant pré-formé majeur des granules (Masto / Baso)
- Formé par la décarboxylation de la L-histidine
- Effet immédiat (minutes qui suivent la dégranulation)
- Trois types de récepteurs (cardio-vasculaire, digestif, respiratoire)
  - **H1**: contraction musculaire lisse (intestin, bronches), sécrétion de mucus, ***perméabilité vasculaire*** accrue
  - H2 : stimulation sécrétion acide par l'estomac
  - H3 : modulent la transmission de neurotransmetteurs aux extrémités présynaptiques

# Dosage de l'Histamine

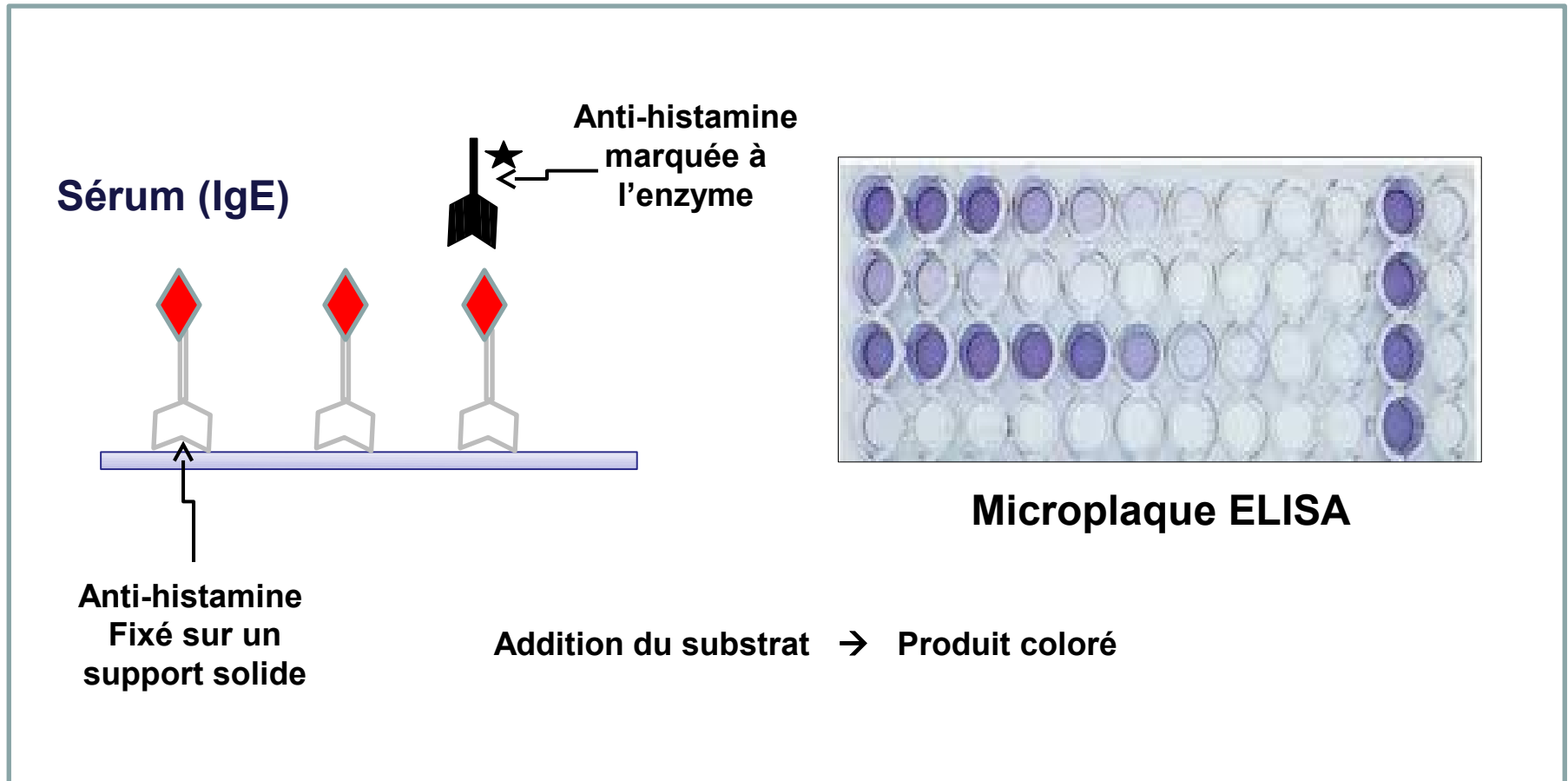
- Histamine : **URGENCE** (Choc anaphylactique)
  - $\frac{1}{2}$  vie plasmatisque : 1-3 minutes (sujet sain)  
10 à 20 minutes (choc)
  - Décroissance rapide : 1 heure
  - Dosage d'Histamine (sanguin) : Reflet des stocks
  - Prélèvement sur EDTA, ds la  $\frac{1}{2}$  h, ds la glace.
  - Centrifugé ds les 20 minutes.
  - Interférences : grossesse, trt à l'héparine

# Dosage de l'Histamine

- Dosage urinaire du métabolite de l'histamine :  
Méthylhistamine urinaire dans les premières heures  
(Retiré du marché et n'est plus commercialisé actuellement).
- **Dosage de l'Histamine (sang) :**
  - Son dosage est effectué par radio-immunologie  
(technologie lourde) (consignes de prélèvement très strictes).
  - ***Dosage immuno-enzymatique.***



# Dosage de l'Histamine



Sa valeur normale est  $< 6 \text{ nmol/l}$ .

# Tryptase

Protéine enzymatique tétramérique (2 s/u  $\alpha$  + 2 s/u  $\beta$ ) stockée dans les granules des Masto tissulaires et libérée en même temps que l'histamine par exocytose.

- $\frac{1}{2}$  vie longue : **2 heures**
- Son dosage par techniques de routine **immuno-enzymo** est désormais possible (Unicap 100 - Phadia).
- Il doit être réalisé sur **2 (3) prélèvements** :
  - le premier à 15 - 30 min
  - et le second à 1 - 2 h (6h) après le début des symptômes.

# Tryptase

- **Pas de conditions particulières de prélèvement.**
- Sa valeur normale est **< 12,5 µg/l.**
- Le seuil de positivité pour cette molécule est difficile à déterminer et est souvent évalué à un doublement de la valeur de base.
- Sa spécificité et sa sensibilité sont meilleures que pour l'histamine.
- Interférence si mastocytose systémique.

# Nouveautés dans le CA

- L'implication des **PNN** au cours de l'anaphylaxie a récemment été démontrée dans un modèle murin.
- Il est en cours d'évaluation par plusieurs équipes au cours du **CA** per-anesthésique (étude multicentrique NASA).
- Dans ce cadre, ces résultats préliminaires suggèrent l'activation des PNN au moment du choc, en réponse à la fixation de **complexes immuns** IgG spécifiques / allergène (curare myorelaxant) sur les récepteurs Fc pour les IgG (Fc $\gamma$ R) présents sur les PNN (résultats non publiés).

JönssonF, et al. Human FcRIIA induces anaphylactic and allergic reactions.  
Blood 2012;119(11):2533–44.

# MERCI pour votre ATTENTION

## TRAITEMENT DE L'ANAPHYLAXIE

Pour les  
téméraires



Pour les  
craintifs



Pour les  
imbéciles



Allergie France