

Procédure d'exploration des réactions allergiques graves (grades 3 et 4) lors d'une transfusion comportant du PVA-BM.

Cette procédure annule et remplace la version de décembre 2008.

Les correspondants d'hémovigilance ont déclaré un certain nombre d'effets indésirables à type de réactions allergiques graves survenant chez des receveurs de PSL lors de transfusions comportant du plasma viro-atténué par le bleu de méthylène (PVA-BM).

Le Groupe d'experts de l'Afssaps issu de la Commission nationale d'hémovigilance, a rendu l'avis suivant :

- ✓ *il n'y a pas d'argument à ce jour pour justifier une proposition de retrait du plasma viro-atténué par le bleu de méthylène (PVA-BM) ;*
- ✓ *lors d'une suspicion de réaction allergique grave (Grade 3 selon la définition de la Décision du 5 janvier 2007 fixant la forme, le contenu et les modalités de transmission de la fiche de déclaration d'effet indésirable survenu chez un receveur de produit sanguin labile), les patients doivent être explorés selon le protocole défini par le groupe de travail ;*
- ✓ *après une première réaction allergique associée à une transfusion comportant du PVA-BM, le groupe de travail recommande de ne pas transfuser à nouveau ce produit avant que les explorations complémentaires aient permis d'éliminer une sensibilisation aux composants du PVA-BM et notamment au bleu de méthylène ; il importe que l'EFS fasse en sorte que les délais de constitution de stocks de produits disponibles soient les plus courts possibles, y compris dans les dépôts ;*
- ✓ *le groupe de travail estime nécessaire de proposer aux CRH une procédure commune d'enquête étiologique, que les CRH adapteront aux conditions régionales et diffuseront auprès des CSTH et sous-commissions d'hémovigilance et de sécurité transfusionnelle, de façon à ce qu'elle puisse être appliquée dans chaque établissement de santé après validation des modalités de prélèvement, d'acheminement et de conservation des échantillons du receveur et des PSL incriminés, voire des prélèvements des donneurs concernés.*

Ce document a pour objet de décrire cette procédure d'enquête étiologique qui se déroule en deux temps :

- ✓ *des dosages d'histamine et de tryptase dans les minutes ou les heures qui suivent la réaction allergique grave. Ces dosages doivent être réalisés dans tous les cas d'allergie, quel que soit le PSL en cause.*
- ✓ *des explorations à distance de la réaction allergique grave, soit au moins 4 semaines, voire 6 semaines après cette réaction. Ces tests in vivo et in vitro sont spécifiquement destinés à étayer la responsabilité des composants du PVA-BM et notamment du bleu de méthylène. Ils ne sont donc pas indiqués avec d'autres PSL.*

I. Explorations immédiates :

Ces explorations doivent être réalisées pour tout accident grave¹ soupçonné d'être allergique, quel que soit le produit sanguin labile (PSL) en cause.

Prélèvements sanguins chez le receveur pour le dosage d'histamine et de tryptase :
3 échantillons sont nécessaires :

Délai de prélèvement	< 30 min	30 min à 2 h	> 24 h
Type de dosage	Histamine	Tryptase	Tryptase (taux de base)
Type de tube	EDTA	EDTA ou sec	EDTA ou sec

Ces dosages peuvent être réalisés post-mortem avant d'arrêter la réanimation ou dans les minutes qui suivent (car il y a des faux-positifs si on attend l'autopsie pour prélever).

Circuit des prélèvements

Chaque tube de sang est apporté au laboratoire local dans les deux heures si conservation à température ambiante, ou dans les 16 heures si conservation à 4 °C. Le laboratoire local centrifuge les tubes à température comprise entre 6 et 15 °C, puis **aspire délicatement** le plasma **à distance du culot globulaire** (ne pas aspirer de leucocytes) et le répartit en plusieurs aliquots : 2 aliquots de 300-500 µL par prélèvement et par dosage (histamine, tryptase), en notant l'heure du prélèvement sur chacun. Les aliquots sont congelés à -20°C, puis un aliquot par dosage est transmis, de préférence congelé, au laboratoire qui réalisera les analyses, et l'autre aliquot est conservé congelé.

Interprétation des résultats

Après une réaction allergique sévère, la concentration d'histamine est maximum instantanément, puis décroît avec une demi-vie d'environ 15-20 minutes. Il est recommandé d'effectuer le premier prélèvement le plus tôt possible après le début de la réaction. La concentration normale est < 6 nmol/L, une concentration supérieure à 9 nmol/L est considérée comme positive.

Le pic de concentration de tryptase est atteint plus tardivement, 30 minutes à 2 heures après la réaction. Il est déconseillé de prélever dans les 15 premières minutes, pour éviter des faux-négatifs. La demi-vie est de 90 minutes. Pour les réactions très sévères, la positivité peut perdurer jusqu'à 6 heures, voire davantage. La concentration normale est < 12,5 µg/L, une concentration > 25 µg/L est considérée comme franchement augmentée. La dispersion inter-individus des valeurs normales étant très vaste, il est recommandé de disposer d'un taux de base à distance (24 heures ou plus) pour interpréter les concentrations.

¹ L'exploration des grades 1 avec signes cutanés isolés est laissée à l'initiative des équipes médicales. En revanche, il est recommandé de réaliser ces dosages d'histamine et de tryptase dans les grades « II » de la classification de Ring et Messmer telle que décrite dans la fiche technique « Allergie », y compris lors d'hypotension isolée.

II. Explorations à 6 semaines

Ces explorations sont spécifiques aux réactions allergiques graves lors de transfusion de PVA-BM. Elles seront réalisées même si les dosages sanguins de tryptase et/ou d'histamine sont normaux ou non réalisés.

Il importe de conserver à -20°C la (les) poche(s) de PVA-BM impliquée(s), débranchée(s) selon la procédure détaillée dans l'annexe B de la fiche technique « Infections bactériennes transmises par transfusion » en date de janvier 2008. Ces produits sont destinés à être utilisés dans les tests in vitro, mais pas pour les tests cutanés en raison de la rupture de stérilité.

Si aucun échantillon de plasma natif et aucune autre poche de PVA-BM du (des) donneur(s) ne sont disponibles, il importe de solliciter un nouveau don du (des) donneur(s) pour obtenir du plasma natif et du nouveau PVA-BM (avec consentement éclairé)². Le plasma natif du donneur, pour des raisons éthiques, ne sera pas utilisé pour les tests cutanés.

Il existe sur le marché une solution de bleu de méthylène à 1% injectable importé par les Laboratoires Aguettant, le « **Bleu de méthylène Martindale Pharma 1%, solution injectable** », utilisable pour les tests cutanés et in vitro.

Par ailleurs, Macopharma fournira gracieusement et sur simple demande, un flacon contenant 5 mL du bleu de méthylène utilisé dans le dispositif de préparation du PVA-BM, dilué à 1% dans de l'eau PPI. Adresse et contacts :

Jacqueline Fauquet : 03.20.11.85.24 (06.50.19.33.85) jacqueline.fauquet@macopharma.com

Béatrice Carvalho : 03.20.11.85.45 (06.63.30.55.65) beatrice.carvalho@macopharma.com

Typhaine Labouré : 03.20.11.86.78 typhainelaboure@macopharma.com

Fax : 03.20.11.84.90

a. Tests cutanés

TESTS CUTANÉS DIAGNOSTIQUES AU BLEU DE METHYLENE

Identité du patient :

Date de l'EIR :

Date du bilan :

Préambule : Le groupe de travail « Allergie » de l'Afssaps recommande qu'après une première réaction allergique associée à une transfusion comportant du plasma viro-atténué par le bleu de méthylène (PVA-BM), de ne pas transfuser à nouveau ce produit avant que les explorations complémentaires aient permis d'éliminer une

² Le donneur ne sera pas re-convoqué si sont disponibles :

- du plasma natif du jour du don en cause : biothèque (1 tube de 0,4 mL de plasma) ou plasmathèque (jusqu'à 42 jours après le don) ;

- du PVA-BM : soit le reliquat du produit transfusé, soit un autre PVA-BM du même don.

Si l'un de ces produits n'est pas disponible, le donneur sera re-convoqué.

sensibilisation aux composants du PVA-BM et notamment au bleu de méthylène. La concentration résiduelle est estimée réglementairement en dessous de 30 µg/L (et en moyenne inférieur à 8,2 µg/L dans le dernier contrôle de qualité de l'EFS). L'exploration allergologique se situe au minimum 4 à 6 semaines après l'effet indésirable.

Protocole : Des prick tests, suivis dans certains cas d'IDR, avec le PVA-BM, le latex, du polyéthylène glycol (PEG) et du bleu de méthylène doivent être pratiqués selon le protocole ci-dessous. Si le prick est positif, pratiquer quand même les IDR lorsque la case correspondante n'est pas grisée (recherche du seuil de réactivité).

Mertes PM, Malinovsky JM, Mouton-Faivre C, et al. Anaphylaxis to dyes during the perioperative period: Reports of 14 clinical cases. J Allergy Clin Immunol 2008 ; 122 : 348-352.

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

		IDR			
	Prick-test	1/10000	1/1000	1/100	1/10
		PI/PO*	PI/PO*	PI/PO*	PI/PO*
Phosphate de codéine 9% ou Histamine 10mg/mL					
Latex					
Forlax (PEG)					
PVA-BM du donneur ¹					
Bleu de méthylène 1% Aguetant					
Témoin négatif					

PI/PO* : papule d'injection (PI) en mm / papule d'œdème (PO) obtenue 20 min après (en mm). Les IDR en pur peuvent donner des réactions non spécifiques.

Critères de positivité : Décaler prick et IDR positifs dans les cases correspondantes.

♦ prick : diamètre de l'œdème > moitié du diamètre de l'œdème du témoin codéine ou ≥ 3 mm avec érythème

♦ IDR : diamètre de PO ≥ 3 mm du diamètre de PI

¹ Si possible un échantillon du même don (segment clos stérile de tubulure du PVA-BM transfusé, autre PVA-BM issu du même don) ; à défaut un nouveau PVA-BM issu du même donneur.

CONCLUSIONS DES TESTS CUTANES :

Signature :

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

Le bleu de méthylène Aguetant et le bleu de méthylène Macopharma seront testés simultanément. Pour la technique Flow CAST 2 Bühlman, le sang total prélevé sur EDTA est dilué au 1 :3 dans le tampon d'activation renfermant du calcium. Puis, 50 µL de cette dilution sont incubés avec 50 µL d'une dilution de bleu de méthylène à 5, 1, 0.2, 0.04 et 0.008 µg/mL en présence d'Anticorps anti CCR3/CD63 comparativement à 1 témoin négatif (50 µL de dilution de sang + 50 µL de tampon d'activation) et à un témoin positif (50 µL de dilution de sang + 50 µL d'anti IgE ou d'anti récepteur).

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

Pour le plasma « bleu de méthylène » 50 µL de la dilution de sang sont mis en présence de 50 µL de plasma « bleu de méthylène »¹ pur, dilué au 1 :5, 1 :25, 1:125. Il convient de réaliser un témoin plasma natif du donneur² dilué dans les mêmes conditions. En cas d'impossibilité d'obtention du plasma du donneur, le protocole alternatif utilise un PVA-BM d'un autre donneur et un PVA-SD (pur et surchargé en BM).

Tout laboratoire réalisant les tests d'activation des basophiles est en mesure de réaliser ce test pour détecter une allergie au bleu de méthylène. Un prélèvement sur EDTA peut être conservé au moins 24 heures. Le protocole-type décrit ici peut être adapté selon les procédures du laboratoire réalisant les tests.

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

2 Plasma natif du même donneur : soit du plasma natif du jour du don en cause, soit du plasma natif issu d'un nouveau don.