



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

ÉCOLE DOCTORALE BioSE (Biologie-Santé-Environnement)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ

Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé »

par Frédéric HASDENTEUFEL

**ÉTUDE DES RELATIONS STRUCTURE – ACTIVITÉ
EN ALLERGIE MÉDICAMENTEUSE**

Le 7 novembre 2011

Membres du jury :

Rapporteurs : Pr. Olivier CLEMENT, Université René Descartes, Paris, France
Pr. Jean-Marc MALINOVSKY, Université de Reims, Reims, France

Examineurs : Pr. Annick BARBAUD, Université Henri Poincaré, Nancy, France
Dr. Cyrille HOARAU, Université François Rabelais, Tours, France
Pr. Gilles KARCHER, Université Henri Poincaré, Nancy, France
Pr. Paul-Michel MERTES, Université Henri Poincaré, Nancy, France
Dr. Jean SAINTE-LAUDY, CHU Dupuytren, Limoges, France
Pr. Gisèle KANNY, Université Henri Poincaré, Nancy, France

Membre invité : Dr. Samuel LUYASU, Cliniques du Sud-Luxembourg, Arlon, Belgique

EA 3999 : Maladies allergiques – diagnostic et thérapeutique
Service de médecine interne, immunologie clinique et allergologie, CHU de Nancy
29, avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 54035 NANCY Cedex

ÉCOLE DOCTORALE BioSE (Biologie-Santé-Environnement)

Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ

Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé »

par Frédéric HASDENTEUFEL

**ÉTUDE DES RELATIONS STRUCTURE – ACTIVITÉ
EN ALLERGIE MÉDICAMENTEUSE**

Le 7 novembre 2011

Membres du jury :

Rapporteurs : Pr. Olivier CLEMENT, Université René Descartes, Paris, France
Pr. Jean-Marc MALINOVSKY, Université de Reims, Reims, France

Examineurs : Pr. Annick BARBAUD, Université Henri Poincaré, Nancy, France
Dr. Cyrille HOARAU, Université François Rabelais, Tours, France
Pr. Gilles KARCHER, Université Henri Poincaré, Nancy, France
Pr. Paul-Michel MERTES, Université Henri Poincaré, Nancy, France
Dr. Jean SAINTE-LAUDY, CHU Dupuytren, Limoges, France
Pr. Gisèle KANNY, Université Henri Poincaré, Nancy, France

Membre invité : Dr. Samuel LUYASU, Cliniques du Sud-Luxembourg, Arlon, Belgique

<p>EA 3999 : Maladies allergiques – diagnostic et thérapeutique <i>Service de médecine interne, immunologie clinique et allergologie, CHU de Nancy</i> 29, avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 54035 NANCY Cedex</p>

REMERCIEMENTS

Fluctuat nec mergitur.

Mes remerciements s'adressent en premier lieu à Madame le Professeur Gisèle Kanny, pour avoir accepté l'encadrement de ce travail de thèse d'Université et pour avoir su m'écouter, me conseiller et me soutenir tout au long de sa préparation. Que de chemin parcouru depuis mon externat...Puisse cette thèse être à la hauteur de vos exigences.

Je remercie Messieurs les Professeurs Olivier Clément et Jean-Marc Malinovsky de me faire l'honneur d'accepter de venir juger ce manuscrit et d'assister à la soutenance de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.

Je souhaite aussi remercier Madame le Professeur Annick Barbaud de sa présence au sein de ce jury. Sous votre égide et celle de Madame le Professeur Kanny, un travail fructueux associant le service de Dermatologie et celui de Médecine Interne, Immunologie Clinique et Allergologie a pu être initié, constituant le premier maillon de futurs travaux scientifiques.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur le Docteur Cyrille Hoarau, qui me fait l'honneur d'accepter de juger ce travail de thèse. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Gilles Karcher. Merci infiniment d'avoir accepté de participer à ce jury, et merci pour tout ce que vous avez fait pour moi depuis mes débuts chez Genclis et Posifit.

A Monsieur le Professeur Paul-Michel Mertes. Je vous remercie de m'avoir permis de participer à vos travaux de recherche, qui m'ont fait découvrir le domaine de l'allergo-anesthésie, et de m'avoir accordé votre confiance et votre soutien. Merci d'avoir accepté de venir juger ce travail de thèse.

A Monsieur le Docteur Jean Sainte-Laudy. Votre expertise en biologie de l'allergie médicamenteuse est internationalement reconnue. C'est un grand honneur pour moi de pouvoir vous recevoir à Nancy et de vous compter parmi les membres de ce jury aujourd'hui.

A Monsieur le Docteur Samuel Luyasu. Merci mille fois d'avoir accepté de participer à cette soutenance de thèse. Tout au long de ces années, j'ai pu apprécier ta compétence, ta rigueur, ton dynamisme, ta disponibilité. Et ce toujours dans le cadre de relations empreintes d'amitié et d'un humanisme profond et sincère. Puissent nos travaux de recherches se perpétuer ainsi.

A Madame Pascale Bihain et Monsieur le Docteur Bernard Bihain. Chacun dans votre domaine d'expertise, vous avez contribué à me faire découvrir de nouveaux horizons et à élargir mes connaissances. Merci de m'avoir permis d'intégrer votre entreprise, et merci pour votre soutien pendant la préparation de ce travail.

J'ai une pensée toute particulière pour Monsieur le Docteur Jean Cinqualbre, qui nous a malheureusement quittés il y a peu. Vous avez toujours été présent et disponible pour moi, distillant volontiers vos conseils avec bienveillance et gentillesse. Encore tout récemment, vous vous enquérissiez de l'état d'avancement de ma thèse, m' enjoignant à toujours aller de l'avant et à achever ce travail. C'est à présent chose faite.

Je tiens également à remercier l'ensemble de l'équipe de recherche EA 3999 « Maladies allergiques : diagnostic et thérapeutique » pour sa patience et la rigueur de ses conseils, ainsi que les sociétés GENCLIS et POSIFIT, qui ont assuré mon financement pendant toute la durée de ce travail. Merci également à Monsieur le Docteur Nicolas Hougardy, avec qui j'ai eu la chance de collaborer très régulièrement ces dernières années.

Je n'oublie pas toutes les personnes qui m'ont offert une oreille attentive durant ces dix dernières années, et notamment Messieurs les Professeurs Alain Nicolas, Pierre Olivier, François Plenat et Jean-Yves Jouzeau. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.

Enfin, je tiens à remercier ma famille ainsi que mes amis sans qui cette longue aventure universitaire, scientifique et humaine n'aurait pu être possible.

À mes grands-parents.

À ma mère. À ma tante.

À Emilie.

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux, figures et photographies9

Liste des abréviations et symboles.....15

Introduction.....18

Première partie : relations structure-activité - données bibliographiques

1. Bref historique des relations structure-activité.....19

- *Introduction et définitions*
- *Considérations historiques*

2. Relations structure-activité en allergie médicamenteuse.....24

- *Applications des relations structure-activité dans les réactions d'hypersensibilité médicamenteuses retardées*
- *Applications des relations structure-activité dans les réactions d'hypersensibilité médicamenteuses immédiates*

Deuxième partie : tests diagnostiques en allergie médicamenteuse immédiate et retardée

1. Tests cutanés.....43

- *Prick-tests*
- *Intradermoréactions*
- *Patch-tests*

2. Tests biologiques : tests d'activation des basophiles.....45

- *Principe et intérêt du test d'activation des basophiles*
- *Technique CD203c*
- *Technique CD63*

Troisième partie : étude des relations structure-activité en allergie médicamenteuse immédiate

1. Allergie immédiate aux antibiotiques bêta-lactames.....48
 - *Problématique*
 - *Physico-chimie et RSA pharmacologique des antibiotiques bêta-lactames*
 - *Cas clinique*
 - *Etude des relations structure-activité*
 - *Validation clinique*
 - *Etude prospective et validation immunochimique*
 - *Conclusions et perspectives*

2. Allergie immédiate aux produits de contraste utilisés en IRM (gadolinés).....70
 - *Introduction*
 - *Physico-chimie des produits de contraste IRM gadolinés*
 - *Cas cliniques*
 - *Etude des relations structure-activité*
 - *Validation clinique*
 - *Discussion*

3. Allergie médicamenteuse immédiate en allergo-anesthésie.....77
 - *Introduction*
 - *Classification et physico-chimie des curares*
 - *Etude des relations structure-activité (en cours)*

4. Allergie immédiate à l'insuline humaine recombinante.....82
 - *Problématique*
 - *Cas clinique. Matériel et méthodes*
 - *Résultats*
 - *Etude des relations structure-activité*
 - *Conclusions*

Quatrième partie : étude des relations structure-activité dans les réactions d'hypersensibilité retardée au Visipaque® (iodixanol).....90

- *Problématique*
- *Physico-chimie des produits de contraste iodés*
- *Cas cliniques. Matériel et méthodes*
- *Résultats*
- *Etude des relations structure-activité*

Conclusion et perspectives.....101

Références bibliographiques.....104

Annexes.....119

- **Hasdenteufel F**, Luyasu S, Renaudin JM, Trechot P, Kanny G. Anaphylactic shock associated with cefuroxime axetil : structure-activity relationships. *Ann Pharmacother* 2007, 41, 1069-72.
- **Hasdenteufel F**, Luyasu S, Renaudin JM, Paquay JL, Carbutti G, Beaudouin E, Moneret-Vautrin DA, Kanny G. Anaphylactic shock after first exposure to gadoterate meglumine: two case reports documented by positive allergy assessment. *J Allergy Clin Immunol* 2008, 121, 527-8. Reply. *J Allergy Clin Immunol* 2008, 122, 216-7.
- Luyasu S, Hougardy N, **Hasdenteufel F**, Jacquenet S, Weber E, Moneret-Vautrin A, Kanny G. Choc anaphylactique à l'insuline humaine recombinante : suivi d'un protocole d'accoutumance par tests d'activation des basophiles. *Rev Med Interne* 2011, 32, 39-42.
- **Hasdenteufel F**, Waton J, Cordebar V, Studer M, Collignon O, Luyasu S, Beaudouin E, Renaudin JM, Morisset M, Kanny G, Barbaud A. Delayed hypersensitivity reactions cause by iodixanol: an assessment of cross-reactivity in 22 patients. *J Allergy Clin Immunol* 2011; article sous presse.

LISTE DES TABLEAUX, FIGURES ET PHOTOGRAPHIES

Tableaux :

Tableau 1 : Scores attribués aux résultats des patch-tests (Fischer, 1986 ; Brockow, 2002).

Tableau 2 : Résultats des tests cutanés.

Tableau 3 : Comparaison des résultats obtenus en tests cutanés et en TAB pour la patiente #2.

Tableau 4 : Résultats des tests cutanés et des tests de réintroduction.

Tableau 5 : Étude des réactivités croisées chez 1085 patients ayant présenté une réaction d'hypersensibilité immédiate aux curares.

Tableau 6 : Détail du protocole d'accoutumance à l'insuline recombinante humaine sans protamine (Actrapid®).

Tableau 7 : Caractéristiques physico-chimiques comparées des PCI.

Tableau 8 : Résultats des tests cutanés et de réintroduction des patients ayant présenté des tests cutanés positifs à l'iodixanol.

Tableau 9 : Bilan des réintroductions effectuées.

Figures :

Figure 1a : Exemples de bioisostères en série aliphatique (de gauche à droite : maillons alkyl, éther, sulfure).

Figure 1b : Exemples de bioisostères en série aromatique (de gauche à droite : benzène, pyrimidine, pyridine, thiophène).

Figure 2 : Structure chimique du captopril.

Figure 3 : Structure cristalline de la protéase HIV-1 synthétique (à gauche ; Wlodawer, 1989) et du complexe protéase HIV-1 / Ro 31-8959 (saquinavir, Hoffmann La Roche) (à droite ; Roberts, 1990).

Figure 4 : Formules chimiques semi-développées de quelques stéroïdes (de gauche à droite et de haut en bas) : hydrocortisone (groupe A), acétonide de triamcinolone (groupe B), bétaméthasone (groupe C), et prednicarbate (groupe D).

Figure 5 : Structure chimique du noyau cyclopentanoperhydrophenanthrène, qui constitue le squelette de base de tous les stéroïdes (gauche) ; structure chimique et numérotation des stéroïdes (droite).

Figure 6 : Structures chimiques des synergistines du groupe I (à gauche) et du groupe II (à droite).

Figure 7 : Formules chimiques semi-développées des antibiotiques bêta-lactames ayant donné des tests cutanés positifs (céfuroxime axetil, céfotaxime, céfépime, ceftriaxone et oxacilline).

Figure 8 : Formules chimiques semi-développées des antibiotiques bêta-lactames ayant donné des tests cutanés négatifs.

Figure 9 : Deux stratégies de couplage des bêta-lactames utilisées pour les études immunochimiques *in vitro* : a) couplage via la fonction 2'-carboxyle sur le noyau thiazolidine (pénicillines, à gauche) ou dihydrothiazine (céphalosporines) ; (b) ouverture du cycle azetidino-2-one (= bêta-lactame) par attaque nucléophile (céphalosporines, à droite).

Figure 10 : Formules chimiques semi-développées de la benzylpénicilline (= pénicilline G, à gauche) et de la céfalotine (à droite).

Figure 11 : Structure chimique générique des présumées entités hapténiques de céphalosporines synthétisées par Sanchez-Sancho et coll.

Figure 12 : Formule chimique semi-développée du triméthoprime.

Figure 13 : Exemples de chaque sous-type de curare (de gauche à droite) : suxaméthonium (curare dépolarisant, non-compétitif), pancuronium (curare de structure aminostéroïde, non-dépolarisant, compétitif) et atracurium (curare de structure benzyloquinolinium, non-dépolarisant, compétitif).

Figure 14 : Formules chimiques semi-développées de quelques composés comportant une fonction ammonium quaternaire (encadré rouge) et pouvant être présents dans certaines formulations cosmétiques ou pharmaceutiques (de gauche à droite) : chlorure de benzalkonium (Mercryl[®], Pharmatex[®],...) et bromure de cétrimonium (excipient : Agrippal[®], Influvac[®],...).

Figure 15 : Formules chimiques semi-développées de la pholcodine (à gauche) et du suxaméthonium (à droite).

Figure 16 : Formules chimiques semi-développées de la morphine, de la codéine et de la nalorphine.

Figure 17 : Structure chimique et numérotation du morphinane (structure de base de la morphine, à gauche) ; A, B et C constituent le noyau phénanthrène, C et D le motif isoquinoléine.

Figure 18 : Structures chimiques des produits de contraste IRM macrocycliques (de gauche à droite) : Gd-DOTA, Gd-HP-DO3A et Gd-HP-DO3A-butrol.

Figure 19 : Structures chimiques des produits de contraste linéaires (open-chain) (de gauche à droite) : Gd-BOPTA, Gd-DTPA et Gd-DTPA-BMA.

Figure 20 : Structures chimiques du ligand dérivé du tétra-azacyclododécane (à gauche) et du DTPA (à droite).

Figure 21 : Principes comparés des TAB CD63 et CD203c (schéma adapté d'après Ebo, 2006).

Figure 22 : Principe du TAB CD203c (schéma reproduit avec l'aimable autorisation du Dr. Nicolas Hougardy, service de biologie, Cliniques du Sud-Etats-Unis, Arlon, Etats-Unis).

Figure 23 : exemple d'histogramme biparamétrique granularité – CRTH2.

Figure 24 : Squelettes de base des pénicillines, céphalosporines et monobactames (de gauche à droite).

Figure 25 : Relations structure – activité pharmacologique des antibiotiques bêta-lactames.

Figure 26 : Formules chimiques semi-développées des pénicillines.

Figure 27 : Formules chimiques semi-développées des céphalosporines.

Figure 28 : Formules chimiques semi-développées des carbapénèmes.

Figure 29 : Formule chimique semi-développée de l'aztréonam (monobactame).

Figure 30 : Formules chimiques semi-développées des inhibiteurs de bêta-lactamases.

Figure 31 : Formules chimiques semi-développées des bêta-lactames ayant donné des tests cutanés positifs.

Figure 32 : Formules chimiques semi-développées des bêta-lactames ayant conduit à des tests cutanés négatifs.

Figure 33 : Représentation schématique de l'approche employée pour la validation biologique (TAB) des RSA (exemple de l'amoxicilline).

Figure 34 : Formules chimiques semi-développées des molécules employées.

Figure 35a : Histogramme biparamétrique du TAB à l'amoxicilline (patiente #1), concentration 0,025 mg/mL, réalisé 4 mois après le choc.

Figure 35b : Résultats des TAB (technique CD203c) pour la patiente #1, un an après le choc.

Figure 36 : Résultats du bilan TAB (technique CD203c) pour la patiente #2.

Figure 37 : Résultats du bilan TAB (technique CD 63) pour la patiente #3.

Figure 38 : Classification chimique des produits de contraste IRM.

Figure 39 : Formules chimiques semi-développées des produits de contraste gadolinés macrocycliques.

Figure 40 : Formules chimiques semi-développées des produits de contraste gadolinés linéaires.

Figure 41 : Formule chimique semi-développée du ligand tétraazacyclododécane.

Figure 42 : Formule chimique semi-développée du ligand BOPTA.

Figure 43 : Formule chimique semi-développée du chlorure de suxaméthonium (Celocurine[®], curare dépolarisant).

Figure 44 : Formules chimiques semi-développées des curares non-dépolarisants de type aminostéroïdes.

Figure 45 : Formules chimiques semi-développées des curares non-dépolarisants de type benzylisoquinolinones.

Figure 46 : Tests d'activation des basophiles aux insulines (0,1 UI/mL) et à la protamine (0,35 µg/mL) (avant réalisation du protocole d'accoutumance).

Figure 47 : Évolution du pourcentage de basophiles activés par l'insuline humaine (0,1 UI/mL) au cours du temps.

Figure 48 : Séquences comparées des différentes insulines.

Figure 49 : Formules chimiques semi-développées, DCI et appellations commerciales des PCI.

Figure 50 : Répartition du délai d'apparition de la réaction d'hypersensibilité à l'iodixanol.

Figure 51 : Structures chimiques comparées du iohexol (gauche) et de l'iodixanol (droite).

Photographies :

Photographie 1 : Intradermoréaction positive au gadotérate de méglumine (Dotarem®).

Photographie 2 : Exanthème maculo-papuleux siégeant au niveau de l'abdomen d'une patiente.

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

Abréviations :

7-ACA : Acide 7-AminoCéphalosporanique

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

6-APA : Acide 6-AminoPénicillanique

C1G / C2G / C3G : Céphalosporine de première / deuxième / troisième génération

CASE : Computer Automated Structure Evaluation

CD : Cluster de Différenciation

CH : Centre Hospitalier

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

Coll. : Collègues

CoMFA : Comparative Molecular Field Analysis

CRTH2 : Chemoattractant Receptor-homologous molecule expressed on TH2 cells

DCI : Dénomination Chimique Internationale

DEREK : Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge

DYLOMMS : Dynamic lattice-oriented molecular modelling system

EAACI : European Academy of Allergy and Clinical Immunology

ECA : Enzyme de Conversion de l'Angiotensine

EDTA : (Acide) Ethylène Diamine TétrAcétique

EECDRG : European Environmental and Contact Dermatitis Research Group

ENDA : European Network on Drug Allergy

ESCD : European Society of Contact Dermatitis

FDA : Food and Drug Administration

FITC : Fluorescein IsoThioCyanate

Gd : Gadolinium

GERAP : Groupe d'Etude des Réactions Anaphylactoïdes Peranesthésiques

HLA : Human Leukocyte Antigen

IDR : Intradermoréaction

IEC : Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion

IgE : Immunoglobuline E
IgG : Immunoglobuline G
IP : Inhibiteur de Protéase
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry
MDM : Minor Determinant Mixture
Mn : Manganèse
MTD : Minimum Topological Difference
PaT : Patch-Test
PBS : Phosphate Buffered Saline
PCI : Produits de Contraste Iodés
PC-IRM : Produits de Contraste utilisés en Imagerie par Résonance Magnétique
QSAR : Quantitative Structure – Activity Relationship
2D-QSAR : Two-dimensional Quantitative Structure – Activity Relationship
3D-QSAR : Three-dimensional Quantitative Structure – Activity Relationship
RAST : Radio AllergoSorbent Test
RSA : Relation Structure – Activité
RSAQ : Relation Structure – Activité Quantitative
3D-RSAQ : Relation Structure – Activité Quantitative tridimensionnelle
SAR : Structure – Activity Relationship
SIDA : Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquis
TAB : Test d'Activation des Basophiles
TAL : Test d'Activation Lymphocytaire
TIMES-SS : Tissue Metabolism Simulator for Skin Sensitization
TOPKAT : Toxicity Prediction by Komputer Assisted Technology

Symboles :

°C : degré Celsius
h : heure
j : jour
L : Litre
logP : logarithme du coefficient de partage (P)
M_r : masse molaire d'un composé

UI : Unité Internationale

INTRODUCTION

Les relations structure – activité (RSA) constituent la relation existant entre structure chimique et activité pharmacologique pour une série de composés (Wermuth, 1998). Elles ont été abondamment utilisées dans les industries pharmaceutique, chimique et cosmétique, tout particulièrement pour la conception rationnelle de nouveaux principes actifs et de nouvelles entités chimiques.

Dans ce travail de thèse, l'objet principal était d'appliquer le concept de RSA à l'allergie médicamenteuse (qu'elle soit de type immédiat ou retardé) en se basant sur l'évaluation qualitative des résultats des tests cutanés et biologiques. Les objectifs étaient de :

- Identifier le ou les épitopes allergéniques responsable(s) de l'allergie médicamenteuse,
- Prédire le pouvoir allergénique potentiel de molécules apparentées (au sein ou en dehors d'une même famille thérapeutique),
- Sélectionner de manière non – empirique des alternatives thérapeutiques appartenant à la même famille de composés que la molécule incriminée mais ne possédant pas l'épitope allergénique.

Ce travail de thèse comporte quatre parties : la première présente le concept de RSA, quelques considérations historiques ainsi qu'une revue de la littérature sur les applications des RSA en allergie médicamenteuse (cette revue a fait l'objet d'une soumission à la revue *Current Clinical Pharmacology*) ; la deuxième détaille la méthodologie des tests diagnostiques (cutanés et biologiques) employés dans ce travail de thèse ; la troisième s'intéresse plus particulièrement à l'étude des RSA en allergie médicamenteuse immédiate ; enfin, la quatrième et dernière partie illustre un exemple d'application en allergie médicamenteuse retardée (iodixanol, produit de contraste iodé).

PREMIÈRE PARTIE :

RELATIONS STRUCTURE – ACTIVITÉ

DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

1. *Bref historique des relations structure – activité*

Introduction et définitions.

Le terme de *relations structure-activité* (RSA) décrit la relation existant entre structure chimique et activité pharmacologique pour une série de composés (Wermuth, 1998). En terminologie anglo-saxonne, on utilise le terme de *structure-activity relationship* ou *SAR*. Le vocable « RSA » recouvre en fait différentes approches, allant de simples considérations de similarité ou de diversité des molécules à l'établissement de relations mathématiques liant la structure chimique à une activité mesurable.

Les *RSA qualitatives* (*qualitative SAR* ou *qSAR*) sont dérivées de données non-continues, comme par exemple la présence ou l'absence d'une propriété ou d'une activité d'intérêt. S'il existe des relations mathématiques reliant la structure chimique à l'activité pharmacologique de manière quantitative pour une série de composés, on parlera de *relations structure-activité quantitatives* (*RSAQ*, *quantitative SAR* ou *QSAR* ; Wermuth, 1998). Enfin, le terme de *RSA tridimensionnelles* (*three-dimensional QSAR* ou *3D-QSAR*) se rapporte à des méthodes reliant spatialement la structure tridimensionnelle de composés modélisés à celle d'autres composés (Marshall, 1988 ; Kubinyi, 1993 ; Green, 1995). Il existe bien d'autres approches en RSA, comme les *HQSAR* (*Hologram QSAR*), *I-QSAR* (*Inverse-QSAR*) ou les *RSAQ binaires* (*binary QSAR*) (Tong, 1998 ; Cho, 1998 ; Gao, 1999a ; Gao, 1999b).

Parmi les notions importantes, il convient de définir les termes suivants (Wermuth, 1998 ; Moreira Lima, 2005) :

- *Bioisostère* : il s'agit de groupes fonctionnels échangeables sans modification majeure de l'activité biologique (Figure 1a et 1b).

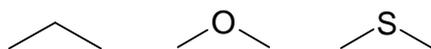


Figure 1a : Exemples de bioisostères en série aliphatique (de gauche à droite : maillons alkyl, éther, sulfure).

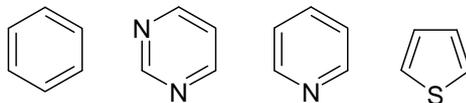


Figure 1b : Exemples de bioisostères en série aromatique (de gauche à droite : benzène, pyrimidine, pyridine, thiophène).

- *Pharmacophore* : désigne l'élément structural porteur de l'activité.
- *Toxophore* : désigne l'élément structural porteur d'une toxicité.

Les RSA ont été utilisées de manière intensive dans les industries pharmaceutiques, chimiques et cosmétiques, tout particulièrement pour la conception de nouvelles entités chimiques ou principes actifs. Elles ont également prouvé leur utilité dans l'évaluation des risques en toxicologie ainsi que des risques environnementaux. Après une revue succincte de l'histoire des RSA et RSAQ, l'intérêt de ces méthodes en allergie médicamenteuse retardée et immédiate sera discuté à l'aide d'exemples sélectionnés issus de la littérature.

Considérations historiques.

Premières découvertes.

L'exemple le plus ancien de RSA remonte à 1868 (Crum-Brown, 1868), lorsque deux scientifiques britanniques, Alexander Crum-Brown et Thomas Fraser, publièrent une étude sur la réaction entre la structure chimique et l'activité physiologique. Dans les décennies qui suivirent, Richet établit une relation entre la toxicité et les propriétés physicochimiques d'une série de composés organiques polaires (éthers, alcools, cétones), indiquant que « plus ils sont solubles, moins ils sont toxiques » (Richet, 1893). De manière indépendante, Meyer et Overton ont décrit une corrélation linéaire entre la lipophilie (coefficient de partage huile – eau) et les effets biologiques (narcotiques), la « théorie lipoïde de la narcose » (Meyer, 1899 ; Overton, 1901).

En 1937, Hammett introduisit une méthode pour séparer les effets des substituants (propriétés donneuses ou capteuses d'électrons) sur les mécanismes des réactions de chimie

organique (Hammett, 1937). Quelques années plus tard, Taft améliora le modèle de Hammett en proposant le premier paramètre stérique, E_s (Taft, 1952). En 1962, Hansch et coll. publièrent leur étude princeps sur la corrélation de l'activité biologique de substances régulatrices de la croissance végétale (acides phénoxyacétiques monosubstitués sur le cycle benzénique) avec les constantes de substitution de Hammett et l'hydrophobicité (Hansch, 1962). Deux ans plus tard, le même groupe de recherche introduisit un nouveau paramètre, π (hydrophobicité relative d'un substituant), qui peut être défini comme suit :

$$\pi_x = \log P_x - \log P_H$$

où π_x représente l'hydrophobicité relative d'un substituant, et P_x et P_H les coefficients de partage respectifs de la molécule dérivée et de la molécule parente (Fujita, 1964). Cette méthode est à présent connue sous le terme de RSAQ « traditionnelle », de Hansch-Fujita ou bidimensionnelle (*traditional QSAR* ; *Hansch-Fujita QSAR* ; *two-dimensional QSAR* ou *2D-QSAR*) (Hansch, 1964 ; Martin, 1978). En 1964, Free et Wilson ont suggéré l'approche dite "de novo" qui postule que chaque substituant apporte un effet additif et constant à l'activité biologique, quels que soient les autres substituants présents dans le reste de la molécule (Free, 1964 ; Selassie, 2003) :

$$BA = \sum a_i x_i + u$$

où BA représente l'activité biologique, u la contribution moyenne de la molécule parente, a_i la contribution de chaque motif structural et x_i la présence ($x_i = 1$) ou l'absence ($x_i = 0$) d'un motif structural particulier.

Quelques années plus tard, les indices topologiques (*topological indices*, *2D-descriptors*) décrivant l'intégralité de la structure moléculaire ont été introduits. L'origine de cette terminologie remonte au début des années 1970 (Hosoya, 1971), bien que les premiers travaux sur les descripteurs constitutionnels numériques aient démarré pratiquement 25 ans en arrière avec Wiener (Wiener, 1947). Ces indices topologiques de première génération étaient des nombres entiers basés sur des invariants vertex locaux entiers, et intéressaient essentiellement les propriétés physiques des hydrocarbures saturés (alcanes). Parmi d'autres travaux importants, les indices topologiques de Randić (*molecular branching* ; Randić, 1975), de Balaban (Balaban, 1982), la différence topologique minimale de Simon (*Minimum Topological Difference*, *MTD* ; Simon, 1974) et l'approche de connectivité moléculaire selon

Kier et Hall (Kier, 1976 ; Hall, 1977 ; Kier, 1986) constituèrent le socle nécessaire à l'avènement de l'ère moderne des RSAQ / 3D-RSAQ.

Avènement de l'ère QSAR / 3D-QSAR moderne.

Les propriétés tridimensionnelles ont progressivement été envisagées dès la fin des années 1970 avec l'utilisation de techniques statistiques et l'amélioration des outils informatiques. Parmi de nombreuses autres techniques, DYLOMMS (*Dynamic lattice-oriented molecular modelling system*, 1981) et CoMFA (*Comparative Molecular Field Analysis*, développée entre 1983 et 1987) ont été deux approches pionnières en 3D-RSAQ. Cette dernière utilise des techniques de corrélation statistiques pour l'analyse de la relation quantitative entre l'activité d'une série de composés avec un alignement spécifié et leurs propriétés électroniques et stériques tridimensionnelles. D'autres propriétés (hydrophobicité, liaisons hydrogène) peuvent également être incorporées à l'analyse (Wermuth, 1998 ; Van de Waterbeemd, 1997).

Il existe d'innombrables exemples de conception de principes actifs ayant utilisé les RSAQ ou les 3D-RSAQ. Le plus ancien d'entre eux est probablement la création du captopril (Laboratoires Squibb), le premier inhibiteur de l'enzyme de conversion (IEC) de l'angiotensine par voie orale (Ondetti, 1977 ; Cushman, 1991 ; Patlak, 2004). Cette enzyme joue un rôle crucial dans la régulation de la pression sanguine en transformant l'angiotensine I (inactive) en angiotensine II, un peptide aux puissantes propriétés hypertensives. La recherche d'inhibiteurs potentiels de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) commença à la fin des années 1960 avec l'évaluation toxicologique du venin d'une vipère brésilienne, *Bothrops jararaca* (Ferreira, 1965). L'activité inhibitrice de ce venin sur l'ECA avait été démontrée (Bakhle, 1968), et un lien potentiel entre cette propriété et l'augmentation de la chute de la pression artérielle après la morsure de la vipère avait été évoqué. Ondetti et Cushman, 2 scientifiques des Laboratoires Squibb, commencèrent à isoler des peptides issus du venin, et parvinrent à séquencer l'un d'entre eux, le téprotide. Ce dernier était doté d'une bonne activité antihypertensive, mais ne rencontra pas le succès commercial escompté à cause d'une faible biodisponibilité orale et d'un coût très élevé. En conséquence, sa production fût donc suspendue. Se basant sur une publication de Byers et Wolfenden qui décrivait l'inhibition de la carboxypeptidase A par l'acide L-benzylsuccinique (Byers, 1973), Ondetti et Cushman émirent l'hypothèse que des analogues dipeptidiques tels que la succinyl-L-proline (analogue du dipeptide Gly-Pro) ou la D-2-méthylsuccinyl-L-proline (analogue du dipeptide

Ala-Pro) pourraient constituer des inhibiteurs potentiels de l'ECA. Ils développèrent un modèle de RSA basé sur les interactions chimiques spécifiques entre les composés et le site actif de l'ECA. Le groupement succinyl carboxyle s'est révélé être en interaction avec l'ion zinc du site actif de l'ECA, ce qui amena les chercheurs à essayer d'augmenter la puissance inhibitrice des composés en modifiant ce motif carboxyle. Le motif sulfhydryle (-SH) fût finalement retenu, ce qui conduisit à la synthèse du captopril (Figure 2) dont les essais cliniques débutèrent en 1977. L'autorisation de la FDA fut obtenue en 1981.

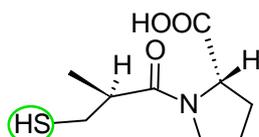


Figure 2 : Structure chimique du captopril. Le groupement sulfhydryle est entouré en vert.

Les inhibiteurs de protéase (IP) du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) constituent un autre exemple de design rationnel de principe actif basé sur la structure. En 1989, 2 groupes de recherche révélèrent la structure cristallographique de la protéase du VIH (Nadia, 1989 ; Wlodawer, 1989). Cette dernière appartient à la famille des protéases aspartiques, et est responsable du clivage des précurseurs polypeptidiques encodés par les gènes *gag* et *gag-pol* en enzymes matures fonctionnelles et protéines de structure. L'inhibition de la protéase du HIV conduisant à l'obtention de virions immatures et donc interrompant le cycle de vie du virus, des essais de synthèse d'inhibiteurs de structure peptidique puissants et sélectifs furent entrepris (Figure 3) (Roberts, 1990 ; Vella, 1994).



Figure 3 : Structure cristalline de la protéase HIV-1 synthétique (à gauche ; Wlodawer, 1989) et du complexe protéase HIV-1 / Ro 31-8959 (saquinavir, Hoffmann La Roche) (à droite ; Roberts, 1990).

Des chercheurs des Laboratoires Hoffmann La Roche déterminèrent la séquence minimale nécessaire pour inhiber la protéase du VIH. Ces inhibiteurs contiennent une liaison isostérique non-hydrolysable remplaçant le site de clivage amide Phe¹⁶⁷ / Pro¹⁶⁸ et miment l'état de transition tétraédrique de la réaction protéolytique ; les motifs hydroxyéthylène et hydroxyéthylamine sont des exemples de remplacement isostérique classique. Le saquinavir (Invirase®) a été le premier IP sur le marché et a reçu l'AMM de la FDA pour le traitement du SIDA en 1995 (Brik, 2003).

2. Relations structure – activité en allergie médicamenteuse

En allergie médicamenteuse, les RSA sont couramment utilisées dans la dermatite de contact, une réaction d'hypersensibilité de type IV, afin de pouvoir déterminer le potentiel allergénique d'un composé donné sans nécessiter d'expérimentation(s) animale(s). En allergie médicamenteuse immédiate, cette approche est restée assez confidentielle, avec quelques applications aux curares et aux antibiotiques bêta-lactames (pénicillines, céphalosporines).

Relations structure – activité en allergie médicamenteuse retardée.

Application des RSA dans la dermatite de contact.

L'allergie de contact peut être induite par une large gamme de produits chimiques (colorants, parfums, produits naturels, excipients pharmaceutiques, principes actifs) après contact prolongé ou répété avec la peau. Elle est considérée comme une réaction d'hypersensibilité retardée (hypersensibilité de type IV), dont la médiation est assurée par des lymphocytes T spécifiques de l'antigène. Les RSA sont étudiées dans le domaine de la dermatite de contact (Goodwin, 1986 ; Lepoittevin, 1999). La nécessité de trouver des tests alternatifs non-animaux pour évaluer l'activité pharmacologique ou toxicologique des nouvelles entités chimiques a conduit à un regain d'intérêt pour les RSA (Lepoittevin, 1999 ; Karlberg, 2008). En effet, une interdiction des tests *in vivo* des ingrédients composant les cosmétiques et autres produits de beauté doit entrer en vigueur d'ici 3 ans (EU Directive 2003/15/EC, 2003). Actuellement, l'évaluation du risque potentiel de sensibilisation cutanée repose sur des méthodes *in vivo* telles que l'« essai de ganglion lymphatique local » (*Local Lymph Node Assay, LLNA*) (Kimber, 1995 ; Basketter, 2001) ; bien que des méthodes *in vitro*

existent, elles manquent encore de sensibilité, de sorte que de faibles sensibilisants peuvent ne pas être identifiés.

D'un point de vue historique, Landsteiner et Jacobs ont été les premiers à décrire une corrélation entre réactivité chimique et sensibilisation cutanée (Landsteiner, 1936) ; ils introduisirent la notion selon laquelle l'interaction d'un *haptène* (c'est-à-dire une petite molécule chimiquement réactive de faible poids moléculaire (< 1000 Da), qui se lie aux protéines ou peptides et les modifie de manière covalente) avec une protéine cutanée était le pré-requis nécessaire à la sensibilisation cutanée. En se basant sur cette hypothèse, Dupuis et Benezra perfectionnèrent la *théorie électrophile de la sensibilisation cutanée* cinq décennies plus tard, ce qui donna naissance à l'ère moderne des RSA en allergie de contact (Dupuis, 1982). Dans cette théorie, le produit chimique sensibilisant se comporte comme un électrophile, et les protéines cutanées comme des nucléophiles. Le premier modèle de RSAQ a été développé par Roberts et Williams en 1982 et consistait en des corrélations entre la capacité de sensibilisation et les paramètres physico-chimiques pour une série d'agents alkylants (Roberts, 1982). L'indice d'alkylation relatif (*Relative Alkylation Index, RAI*) a constitué la base de nombreuses RSAQ mécanistiques. Il est utilisé pour quantifier le degré d'alkylation des protéines porteuses et pour le corréler avec le potentiel de sensibilisation. L'équation générale est la suivante :

$$\mathbf{RAI = \log D + a \log k + b \log P}$$

où RAI désigne l'indice d'alkylation relatif, D la dose de sensibilisant, P le coefficient de partage octanol / eau et k la constante de vitesse ou constante de vitesse relative pour la réaction du sensibilisant avec un nucléophile modèle ; a et b sont des constantes expérimentales valables pour une série de composés réagissant selon le même mécanisme. Un des principaux inconvénients de cette méthode est qu'elle ne concerne que des substances chimiques réagissant selon le même mécanisme. Des RSAQ statistiques, globales, ont été développées de manière empirique par application de différentes méthodes statistiques à des séries de données biologiques et des descripteurs d'information structurale, topologique ou géométrique (Magee, 1994 ; Estrada, 2003 ; Estrada, 2004 ; Li, 2007). Cependant, un mécanisme sous-jacent bien caractérisé fait souvent défaut à ces méthodes.

Parallèlement aux modèles RSAQ, des systèmes informatiques dits « systèmes experts » (*computer-based Expert Systems*) ont été développés afin de prédire le potentiel allergénique d'allergènes présumés. DEREK for Windows (*Deductive Estimation of Risk from*

Existing Knowledge), TOPKAT (*Toxicity Prediction by Komputer Assisted Technology*), CASE / MultiCASE (*Computer Automated Structure Evaluation*) et TIMES-SS (*Tissue Metabolism Simulator for Skin Sensitization*) constituent des exemples de tels systèmes. DEREK est un système commercial expert de règles qui corrèle des alertes structurales concernant la réactivité des substances chimiques avec les protéines et leur potentiel de sensibilisation cutanée (Barratt, 1994a ; Barratt, 1994b) ; outre la prédiction de la sensibilisation cutanée, DEREK peut aussi être utilisé pour l'évaluation de la mutagénicité et de la carcinogénicité. Les règles sont constamment remises à jour, et les utilisateurs peuvent également fournir leurs propres règles. TOPKAT est un système statistique basé sur les relations linéaires d'énergie libre couplées à une analyse par régression statistique. Il a été développé en utilisant des données issues de tests de maximisation sur le cochon d'inde. CASE / MultiCASE est un autre exemple de système statistique ; il coupe les molécules en petits fragments associés à une toxicité spécifique. Il peut être utilisé pour prédire d'autres paramètres toxicologiques d'intérêt, tels que la mutagénicité ou la carcinogénicité. TIME-SS est un système expert hybride entre les systèmes basés sur la connaissance et les systèmes statistiques ; il prédit le métabolisme cutané et l'interaction du composé parent et de ses métabolites avec les protéines cutanées.

L'étude des schémas de réactivité croisée entre différents stéroïdes chez les patients avec une allergie de contact aux corticostéroïdes constitue sans doute le plus célèbre exemple d'analyse des RSA en hypersensibilité médicamenteuse retardée (Coopman, 1989 ; Lepoittevin, 1995). Coopman et coll. ont identifié 4 groupes structuraux principaux concernant les schémas de réactivité croisée des corticostéroïdes en se basant sur des données issues de la littérature et sur des données expérimentales de patch-tests (Coopman, 1989). Selon les auteurs, les substitutions sur le noyau D ou la chaîne latérale C₂₀ / C₂₁ ont un impact sur la corrélation avec des patch-tests positifs, alors que d'autres particularités structurales (présence d'une double liaison dans le noyau A, substitutions par un fluor sur le noyau B) étaient dénuées d'influence. Finalement, les corticostéroïdes ont été répartis en plusieurs groupes (Figure 4) : le groupe A comprend l'hydrocortisone, le pivalate de toxicortol ainsi que les composés apparentés ; le groupe B se compose de l'acétonide de triamcinolone, du desonide, de l'amcinonide, du budesonide et des composés apparentés ; bétaméthasone, dexaméthasone et composés apparentés appartiennent au groupe C ; le groupe D inclut les dérivés ester tels que l'hydrocortisone-17-butyrate, le prednicarbate ou le clobetasone-17-butyrate.

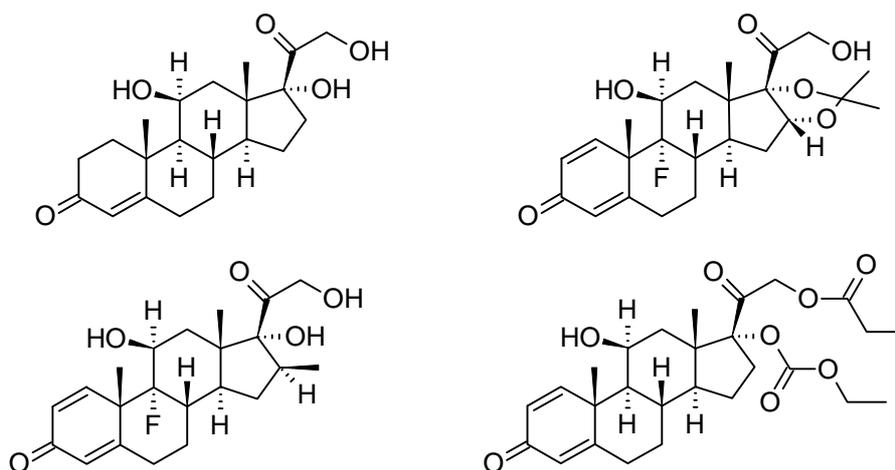


Figure 4 : Formules chimiques semi-développées de quelques stéroïdes (de gauche à droite et de haut en bas) : hydrocortisone (groupe A), acétonide de triamcinolone (groupe B), bétaméthasone (groupe C), et prednicarbate (groupe D).

Quelques années plus tard, Lepoittevin et coll. poursuivirent ces investigations et entreprirent des calculs statistiques sur des cas cliniques complémentaires et des analyses conformationnelles sur des corticostéroïdes choisis (Lepoittevin, 1995). Les groupes A, B et D sont apparus assez homogènes en terme de volume et de forme, ce qui explique pourquoi les réactivités croisées entre corticostéroïdes appartenant à des groupes différents sont relativement peu probables. Cliniquement, la réactivité croisée entre le budésônide (groupe B) et certaines molécules du groupe D (par exemple l'hydrocortisone-17-butyrate) a été expliquée en se basant sur les résultats de l'analyse conformationnelle. Les groupements chimiques spécifiques présents sur la face α du noyau D déterminent l'appartenance à chaque groupe de corticostéroïdes et semblent être des épitopes significatifs des patients ayant présenté une allergie aux corticostéroïdes (Figure 5).

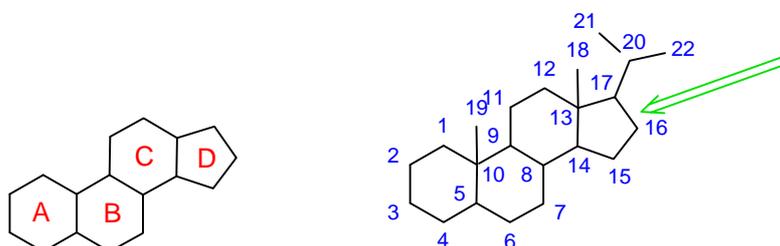


Figure 5 : Structure chimique du noyau cyclopentanoperhydrophenanthrène, qui constitue le squelette de base de tous les stéroïdes (gauche) ; structure chimique et numérotation des stéroïdes (droite). La flèche verte montre la face α du noyau D, épitope présumé des patients ayant présenté une dermatite de contact aux corticostéroïdes.

Enfin, il convient de remarquer que plusieurs composés ne sont pas allergéniques par eux-mêmes, mais peuvent être activés par le biais de différentes voies de bioactivation (hydroxylations, époxydations, oxydations, conjugaisons). Une revue très détaillée du sujet a été proposée par Karlberg et coll. (Karlberg, 2008). Le sulfaméthoxazole (Naisbitt, 2004) et l'hydrocortisone (Isaksson, 2000) sont deux exemples bien connus de principes actifs se comportant comme des prohaptènes.

Autres applications des RSA en allergie médicamenteuse retardée.

Une étude expérimentale des RSA a été utilisée pour analyser les déterminants antigéniques du sulfaméthoxazole reconnus par les lymphocytes T dans un modèle animal *in vivo* (Naisbitt, 2001). Les résultats montrent que l'induction d'une réponse immunitaire cellulaire chez le rat peut dépendre du métabolisme du médicament (en l'Etat-Unis de la génération de nitroso-sulfaméthoxazole) et de l'hapténation à la surface de la cellule.

Barbaud et coll. ont étudié la réactivité croisée entre la pristinamycine et d'autres synergistines (virginiamycine et dalfopristine-quinupristine) chez des patients ayant présenté des réactions cutanées indésirables à la pristinamycine (Barbaud, 2004). Les réactivités croisées entre la pristinamycine et la virginiamycine et entre la pristinamycine et la dalfopristine – quinupristine ont été trouvées respectivement dans 9 cas sur 22 et 7 cas sur 8. Ces proportions élevées de réactivité croisée ont été expliquées par des similarités dans leurs structures chimiques (Figure 6).

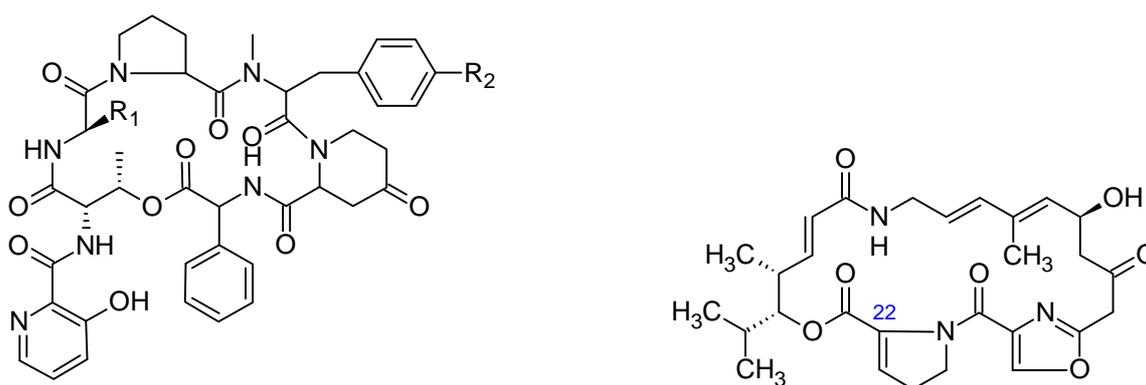


Figure 6 : Structures chimiques des synergistines du groupe I (à gauche) et du groupe II (à droite). Les synergistines diffèrent par leurs substituants R₁ et R₂ (groupe I) et par la présence d'une double liaison en position 22 (groupe II).

Relations structure – activité en allergie médicamenteuse immédiate.

Antibiotiques bêta-lactames.

Les bêta-lactames (pénicillines, céphalosporines, monobactames, carbapénèmes, inhibiteurs de bêta-lactamases) sont les antibiotiques les plus utilisés au monde, et ils sont actuellement responsables de la majorité des réactions d'hypersensibilité immédiates en pratique clinique (Neugut, 2001 ; Renaudin, 2007). La sensibilisation IgE-dépendante aux pénicillines est supposée se produire après conjugaison avec des protéines porteuses, bien que certains détails relatifs à ce mécanisme soient encore inconnus. Ceci a conduit au concept classique de déterminants allergéniques « *majeurs* » et « *mineurs* » de la pénicilline, en fonction de la nature des modifications apportées au cycle et du point d'attache à la protéine porteuse (Levine, 1966). Le terme « *majeur* » se rapporte au fait que la grande majorité (95 %) des molécules de pénicilline se lient de manière covalente aux protéines donne des dérivés pénicilloyl ; les autres conjugués appartiennent à la famille des déterminants « *mineurs* », qui comprend les pénicillenate, acide pénicilloïque, pénicillanyl, penamaldate, penaldate, D-pénicillamine et pénicoyl. En ce qui concerne les céphalosporines, il semblerait que le conjugué instable céphalosporoyl-protéine subisse des réactions ultérieures pour donner de nombreux produits de dégradation, qui n'ont jusqu'ici pas été totalement isolés et caractérisés. Les tests cutanés employant les déterminants majeur (conjugué benzylpénicilline-polylysine, appelé couramment *PPL*) et mineur (*minor determinant mixture* ou *MDM*) constituent une méthode de diagnostic des réactions d'hypersensibilité immédiate aux bêta-lactames, aussi bien en Europe (Torres, 2003) qu'aux Etats-Unis (Joint task force on practice parameters, 1999). Ces tests ne sont cependant plus disponibles en Etats-Unis.

Cependant, il convient de préciser que ce modèle haptène – protéine porteuse ne tient pas compte de la diversité chimique et structurale des chaînes latérales des bêta-lactames (Baldo, 1994). Les chaînes latérales, tout comme le noyau bêta-lactame, ont été étudiées en tant que vecteur potentiel de l'allergénicité croisée entre les médicaments et au sein des classes médicamenteuses (Baldo, 2000 ; Blanca, 2005). Plusieurs études ont comporté des comparaisons de réactivité croisées sur la base de résultats des tests cutanés (Novalbos, 2001 ; Poston, 2004 ; DePestel, 2008 ; Hasdenteufel, 2007 ; Pichichero, 2005 ; Romano, 2005). La structure chimique des chaînes latérales des céphalosporines n'est pas corrélée avec la classification « générationnelle », antimicrobienne (céphalosporines de première, deuxième, troisième et quelquefois quatrième génération) de ces principes actifs, et une réactivité croisée

entre céphalosporines appartenant à des « générations » différentes ou entre céphalosporines et pénicillines est possible (Hasdenteufel, 2007 ; Pichichero, 2005). Hasdenteufel et coll. ont récemment rapporté l'observation d'une réaction allergique immédiate au céfuroxime axétil et décrit une approche RSA basée sur l'exploitation des tests cutanés pour prédire la probabilité de réaction indésirable aux antibiotiques apparentés chez un patient donné (Hasdenteufel, 2007). Dans cette étude, tous les antibiotiques bêta-lactames ayant donné des tests cutanés positifs portaient soit un groupement méthoxyimino (céfuroxime, céfotaxime, céfépime, ceftriaxone), soit un motif isoxazole substitué méthyl (oxacilline), qui est un *bioisostère* de ce dernier. Le patient n'était pas sensibilisé aux autres composés dépourvus de ce groupement ou possédant des groupements de plus fort encombrement stérique (tel que le groupement alkoxyimino du ceftazidime) (Figures 7 et 8).

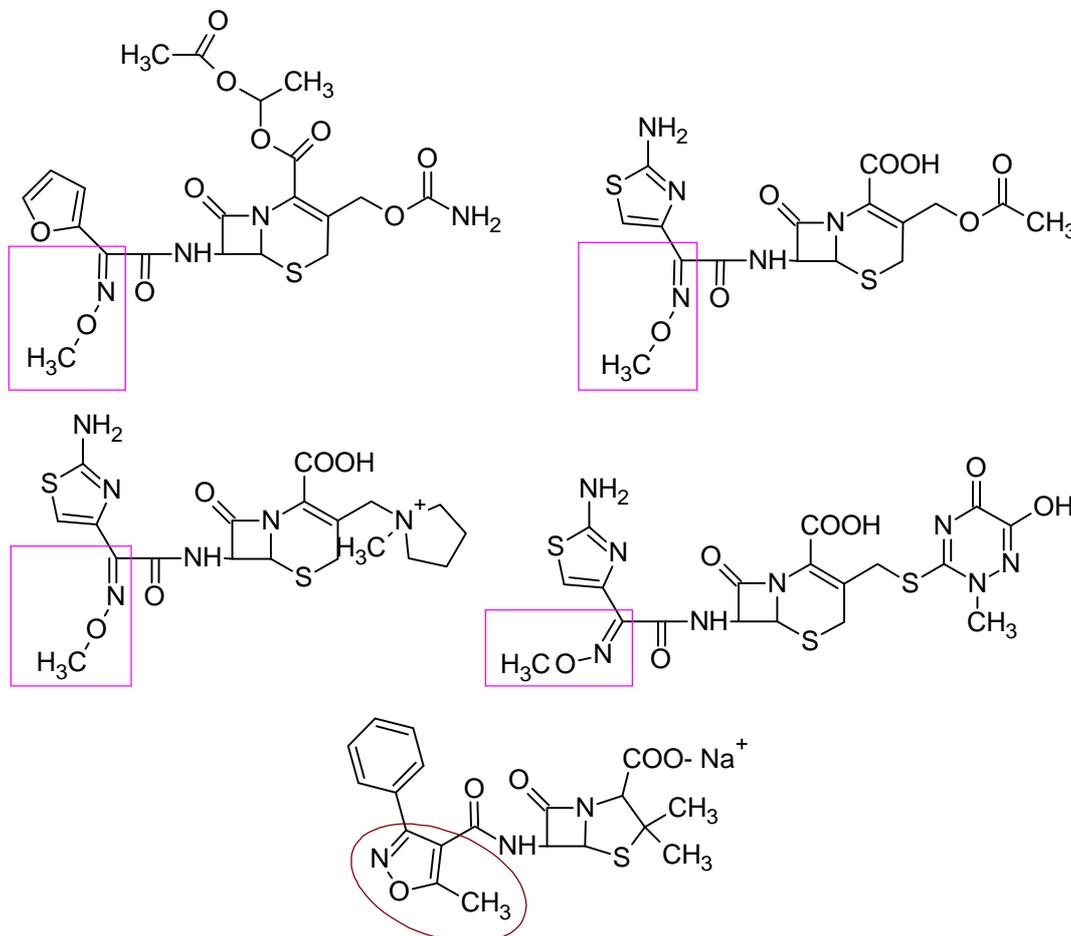


Figure 7 : Formules chimiques semi-développées des antibiotiques bêta-lactames ayant donné des tests cutanés positifs (céfuroxime axetil, céfotaxime, céfépime, ceftriaxone et oxacilline). Les encadrés violets présentent le groupement méthoxyimino commun à chacune de ces molécules ; le motif isoxazole substitué méthyl est entouré en brun (Hasdenteufel, 2007).

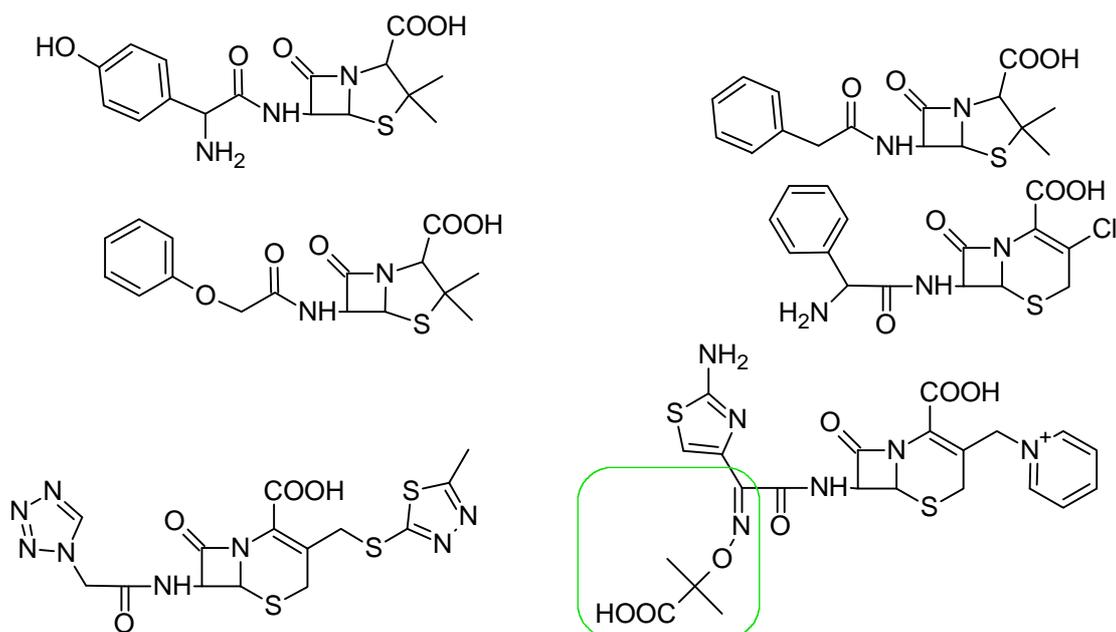


Figure 8 : Formules chimiques semi-développées des antibiotiques bêta-lactames ayant donné des tests cutanés négatifs. Le groupement alkoxyimino est encadré en vert (Hasdenteufel, 2007).

Le groupement alkoxyimino, tout comme l'isoxazole substitué méthyle, ont été introduits dans les chaînes latérales des antibiotiques bêta-lactames pour augmenter leur résistance vis-à-vis des souches productrices de bêta-lactamases ; ces groupements chimiques visent à protéger le cycle bêta-lactame en constituant une sorte de « bouclier » (encombrement stérique), qui l'empêche d'être hydrolysé par les bêta-lactamases (Marcy, 1970 ; Neu, 1986 ; Patrick, 2001). De plus, ce concept de bouclier stérique pourrait expliquer pourquoi le groupement méthoxyimino et son bioisostère sont plus exposés que le reste de la molécule et donc pourraient favoriser la sensibilisation chez ce patient. La validation clinique de cette étude RSA a été effectuée par le biais d'un test de réintroduction à l'amoxicilline chez ce patient, test qui fût effectivement bien toléré jusqu'à une dose cumulée de 1g administrée sur 2h par voie intraveineuse.

A ce jour, peu d'études immunochimiques *in vitro* ont utilisé des méthodes basées sur les RSA pour déterminer la spécificité des IgE dans le cas des réactions d'hypersensibilité immédiates aux pénicillines (Harle, 1990 ; Baldo, 1995 ; Zhao, 2002) ou aux céphalosporines (Zhao, 2002 ; Pham, 1996 ; Sanchez-Sancho, 2003 ; Kim, 2005). Deux méthodologies basées sur les RSA ont été utilisées pour étudier la spécificité de la réponse IgE (Figure 9) :

- Couplage du bêta-lactame d'intérêt avec une protéine porteuse (par exemple la sérum albumine humaine) sans ouverture du cycle, suivie d'études d'inhibition (Baldo, 1994).
- Synthèse d'entités chimiques mimant les structures hapténiques supposées être couplées aux protéines *in vivo* (Sanchez-Sancho, 2003). Dans ce dernier cas, l'intégrité structurale du bêta-lactame initial n'est pas préservée.

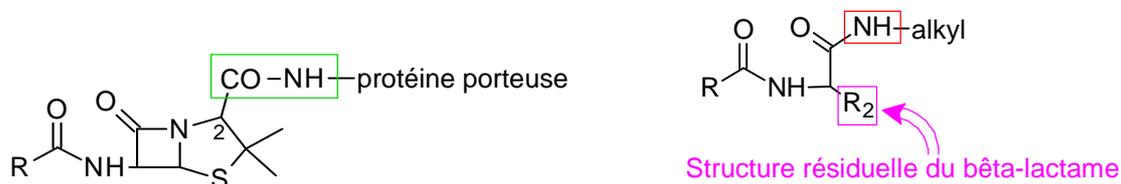


Figure 9 : Deux stratégies de couplage des bêta-lactames utilisées pour les études immunochimiques *in vitro* : a) couplage via la fonction 2'-carboxyle sur le noyau thiazolidine (pénicillines, à gauche) ou dihydrothiazine (céphalosporines) ; (b) ouverture du cycle azetidino-2-one (= bêta-lactame) par attaque nucléophile (céphalosporines, à droite).

Baldo et coll. ont trouvé des schémas de réactivité croisée hétérogènes chez les patients ayant présenté une allergie à la pénicilline (Harle, 1990) ; certains patients avaient un épitope probablement localisé sur la chaîne R₁, alors que d'autres reconnaissaient le noyau thiazolidine. Le même groupe de recherche étudia le schéma de reconnaissance des IgE issus de 3 sera de patients allergiques à la flucloxacilline (Baldo, 1995). En utilisant divers dérivés d'isoxazolylpénicilline et de benzylpénicilline, des méthodes quantitatives d'inhibition hapténiques ont démontré que la chaîne latérale 5-méthyl-3-phényl-4-isoxazolyl pouvait être le déterminant allergénique chez ces 3 patients. Un des 3 sera reconnu également la benzylpénicilline ; un motif structurel complémentaire commun à toutes les pénicillines (tel que le motif *péname* ou une partie de celui-ci) pourrait donc aussi être reconnu par ce patient. Un an plus tard, Baldo et coll. utilisèrent la même démarche pour l'analyse de 12 sera de patients allergiques au céfaclor (Pham, 1996) ; comme ce fût le cas pour les sera de patients souffrant d'allergie à la pénicilline (Harle, 1990), les résultats des études d'inhibition révélèrent des schémas de reconnaissance multiples et hétérogènes : les substituants présents sur le noyau dihydrothiazine (R₂), ainsi que les groupements chimiques de la chaîne latérale R₁ pourraient expliquer ces résultats. En 2002, le même groupe de recherche a étudié les motifs chimiques pouvant expliquer l'existence de réactivité croisée entre la benzylpénicilline et la céfalotine (un dérivé 7-(2-hétéroaryl-acétamido)-céphème) par la biais d'inhibitions quantitatives (Zhao, 2002) ; les auteurs conclurent que le groupement méthylène, présent dans les chaînes latérales des 2 composés, était le principal site présumé de liaison aux IgE. Une

autre explication pourrait être la *bioisostérie* des chaînes latérales de la benzylpénicilline et de la céfalotine (Figure 10). En effet, le benzène et le thiophène constituent un exemple typique de bioisostérie cyclique classique.

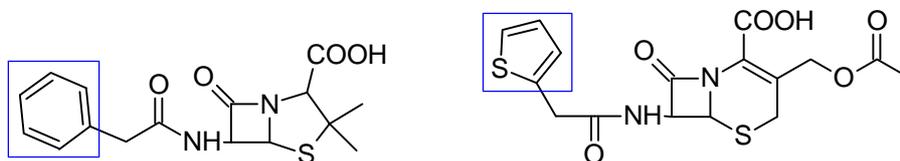


Figure 10 : Formules chimiques semi-développées de la benzylpénicilline (= pénicilline G, à gauche) et de la céfalotine (à droite). Les groupements chimiques encadrés en bleu sont des bioisostères cycliques classiques.

En utilisant une méthode comparable, Kim et coll. s'intéressèrent aux sera de 3 patients allergiques au céfador (Kim, 2005). Des études d'inhibition révélèrent 2 schémas de reconnaissance distincts, le premier comprenant la chaîne latérale R₁ et le second englobant la molécule de céfador dans son intégralité.

En 2003, Sanchez-Sancho et coll. décrivent la synthèse multi-étapes et la caractérisation physico-chimique d'une série de 6 α N-acyl-L-alanylbutanamides, entités chimiques proposées comme structures hapténiques potentielles des céphalosporines (Figure 11) (Sanchez-Sancho, 2003).

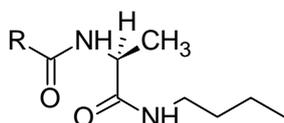


Figure 11 : Structure chimique générique des présumées entités hapténiques de céphalosporines synthétisées par Sanchez-Sancho et coll. R représente la chaîne latérale de chaque dérivé de céphalosporine.

Le principal inconvénient de cette méthode est qu'elle ne tient pas compte de la chaîne latérale R₂, qui est supposée disparaître pendant le processus de dégradation de l'intermédiaire céphalosporoyl. Des études d'inhibition en RAST (Radio Allergosorbent Test) ont été menées avec ces composés sur les sera de 4 patients ayant présenté une réaction allergique aux céphalosporines (ceftriaxone et céfuroxime) ; les résultats obtenus suggèrent l'implication de la chaîne latérale R1 ou de son bioisostère hétéroaryl-méthoxyimino dans le schéma de reconnaissance de 3 patients et de structures additionnelles non identifiées pour le patient restant. Les études d'inhibition fournissent des résultats comparables à ceux des tests cutanés et

des RAST. Ces résultats furent confirmés ultérieurement par une étude comportant 24 patients ayant présenté des réactions d'hypersensibilité immédiate aux céphalosporines et ayant eu un RAST positif à au moins une céphalosporine ; les études RAST et RAST – inhibition démontrèrent le rôle prédominant de la chaîne latérale R₁ dans la pathogénèse de la réaction (Antunez, 2006).

Sulfonamides (antibiotiques et non-antibiotiques) et autres agents anti-bactériens.

Le concept de RSA a été utilisé pour la détermination des sites de liaison du sulfaméthoxazole aux IgE chez 3 patients (Harle, 1988). Les études d'inhibition avec différents composés du groupe des sulfonamides ont démontré l'implication du groupement 5-méthyl-3-isoxazolyl.

Verdel et coll. ont conduit une étude cas-témoin sur la relation potentielle entre la structure chimique des principes actifs sulfonamides (antibiotiques ou non-antibiotiques) et leur potentiel de déclenchement d'évènements allergiques chez des patients atteints de diabète en utilisant une base de données, la *General Practice Research Database* (Verdel, 2006). Les sulfonamides ont été répartis en 3 sous-groupes selon la présence ou l'absence d'un substituant N₁ et/ou d'une arylamine en N₄. Aucune différence majeure ne fût retrouvée entre les 3 sous-groupes.

Smal et coll. utilisèrent des immunoassays sur les sera de 2 patients ayant présenté une anaphylaxie consécutive à l'administration de triméthoprime (Smal, 1988). Chaque patient présenta un schéma de reconnaissance épitopique différent ; le premier sérum réagit contre le groupement 3,4-diméthoxybenzyl, et le second à la fois contre le triméthoxybenzyl et les noyaux diaminopyridine du triméthoprime (Figure 12). Les auteurs conclurent que l'implication de plusieurs épitopes antigéniques dans les réactions d'hypersensibilité immédiate au triméthoprime était possible.

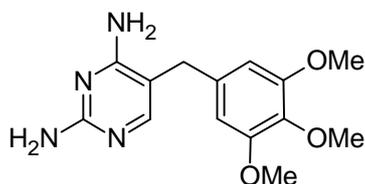


Figure 12 : Formule chimique semi-développée du triméthoprime.

Allergo-anesthésie (curares).

Les curares (appelés également relaxants musculaires) peuvent causer des réactions d'hypersensibilité immédiate susceptibles d'engager le pronostic vital. Selon le pays, la prévalence de ces réactions est comprise entre 1 :5000 et 1 :200000 (Mertes, 2008). Au début des années 1980, Baldo et Fisher lancèrent les premières études immunochimiques sur le sujet. En utilisant plusieurs curares ainsi que d'autres composés dotés d'une fonction amine tertiaire ou ammonium quaternaire, ils apportèrent la démonstration que des groupements ammoniums substitués intervenaient vraisemblablement dans le mécanisme physiopathologique de ces réactions (Baldo, 1983a ; Baldo, 1983b). Cependant, le déterminant allergénique n'est probablement pas unique puisque de nombreux schémas de réactivité croisée existent ; ainsi, des groupements vicinaux pourraient également être reconnus par les patients (Baldo, 1993). Didier et coll. ont cherché à étudier la relation entre la longueur et la flexibilité de la chaîne reliant les 2 groupements ammonium et l'histaminolibération (Didier, 1987). Une longueur supérieure ou égale à 6 Å semblait être optimale pour l'obtention de l'histaminolibération. À l'inverse, une longueur de chaîne inférieure à 4 Å ne permet pas une histaminolibération significative.

Contrairement à d'autres principes actifs, les curares ne semblent pas pouvoir se lier aux protéines plasmatiques. Leur divalence permettrait d'expliquer comment il peut y avoir libération de médiateur sans liaison aux protéines (Vervloet, 1985 ; Didier, 1987). Par ailleurs, cette divalence s'avère également nécessaire pour leurs propriétés pharmacologiques (blocage neuromusculaire ; Figure 13).

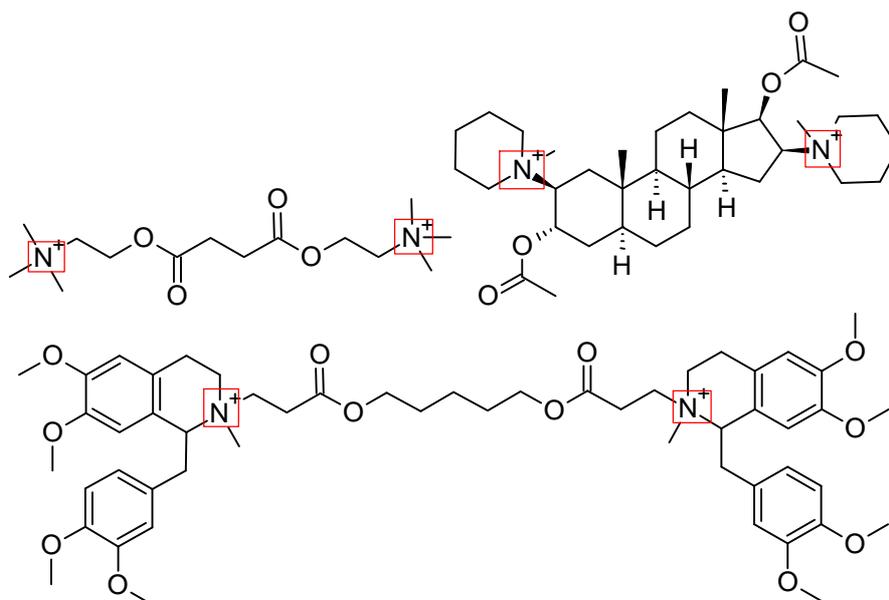


Figure 13 : Exemples de chaque sous-type de curare (de gauche à droite) : suxaméthonium (curare dépolarisant, non-compétitif), pancuronium (curare de structure aminostéroïde, non-dépolarisant, compétitif) et atracurium (curare de structure benzyloquinolinium, non-dépolarisant, compétitif).

Selon les pays, jusqu'à 75 % des patients ayant présenté une allergie immédiate aux curares n'avaient jamais été exposés à ces médicaments. Dans leur article de revue très exhaustif, Baldo, Fisher et Pham ont étudié l'origine présumée des anticorps aux curares, origine qui reste encore mystérieuse à ce jour (Baldo, 2008). Parmi d'autres hypothèses, des agents de l'environnement, tels les cosmétiques ou les désinfectants (Figure 14), et l'exposition à d'autres principes actifs comportant également des fonctions ammonium pourraient être responsables de la sensibilisation aux curares.

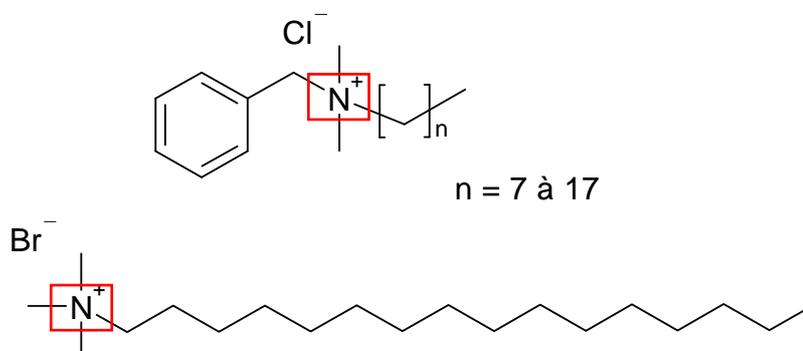


Figure 14 : Formules chimiques semi-développées de quelques composés comportant une fonction ammonium quaternaire (encadré rouge) et pouvant être présents dans certaines

formulations cosmétiques ou pharmaceutiques (de gauche à droite) : chlorure de benzalkonium (Mercryl[®], Pharmatex[®],...) et bromure de cétrimonium (excipient : Agrippal[®], Influvac[®],...).

Etant donné le fait que les anaphylaxies aux curares sont environ 6 fois plus fréquentes en Norvège qu'en Suède, et que la pholcodine est accessible sans ordonnance en Norvège mais pas en Suède, l'« hypothèse de la pholcodine » a été avancée par Florvaag et coll. (Figure 15) (Florvaag, 2005a ; Florvaag, 2005b ; Florvaag, 2006 ; Florvaag, 2009). La pholcodine est un antitussif de structure morphinique.

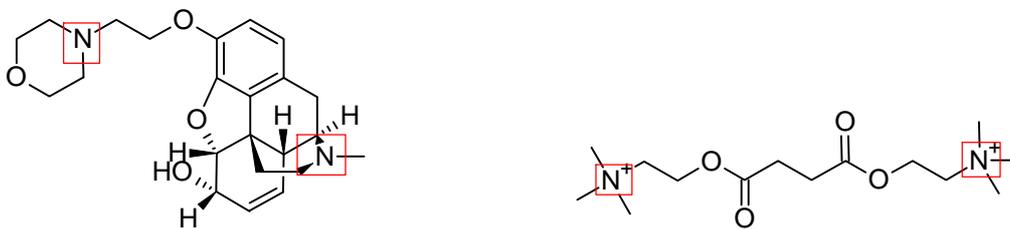


Figure 15 : Formules chimiques semi-développées de la pholcodine (à gauche) et du suxaméthonium (à droite). Ces molécules sont toutes deux dotées de deux atomes d'azote (« divalence »).

Récemment, une étude multicentrique a été entreprise pour valider cette hypothèse dans 9 pays fortement ou faiblement consommateurs de pholcodine : Suède, Danemark, Etats-Unis, Etats-Unis, Pays-Bas, Finlande, Norvège, Etats-Unis et Etats-Unis (Johansson, 2010). Les résultats obtenus étaient plutôt controversés, indiquant au moins l'existence d'une corrélation partielle entre la consommation de pholcodine et la prévalence d'une sensibilisation IgE à la pholcodine, la morphine et au suxaméthonium ; la corrélation avec le suxaméthonium n'était atteinte que si les données des Pays-Bas et des Etats-Unis étaient exclues de l'analyse. En outre, certains résultats (en particulier aux Etats-Unis, où une prévalence élevée d'IgE à la pholcodine et au suxaméthonium a été retrouvée malgré le fait qu'aucun médicament à base de pholcodine ne soit disponible sur le marché) indiquent que d'autres facteurs environnementaux pourraient être impliqués. En 2007, la pholcodine a été retirée du marché norvégien par son fabricant ; des études sont en cours pour évaluer l'effet de cette décision sur la prévalence de la sensibilisation IgE, mais il semblerait bien qu'il y ait une diminution de cette prévalence ainsi que de la fréquence des anaphylaxies aux curares (Johansson, 2010).

Morphine et analgésiques morphiniques.

La morphine, à l'instar d'autres analgésiques morphiniques, sont connus pour être de puissants principes actifs histaminolibérateurs (Flacke, 1987). Harle et coll. analysèrent les RSA en utilisant des études d'inhibition hapténiques sur le sérum d'un patient ayant présenté une anaphylaxie consécutive à l'administration de papaveratum – hyoscine (Harle, 1989). Une importante réactivité croisée a été trouvée avec la codéine, et, dans une moindre mesure, avec la nalorphine (Figure 16). La réactivité croisée était significativement plus faible avec la mépéridine, la méthadone et tous les autres opioïdes testés. Sur la base de ces résultats et des structures chimiques respectives de ces principes actifs, les auteurs conclurent que le noyau cyclohexényl (cycle C) avec une fonction hydroxyle située en position C₆ et un substituant méthyle sur l'atome d'azote (cycle D) pourraient constituer les épitopes allergéniques de la morphine chez ce patient (Figure 17).

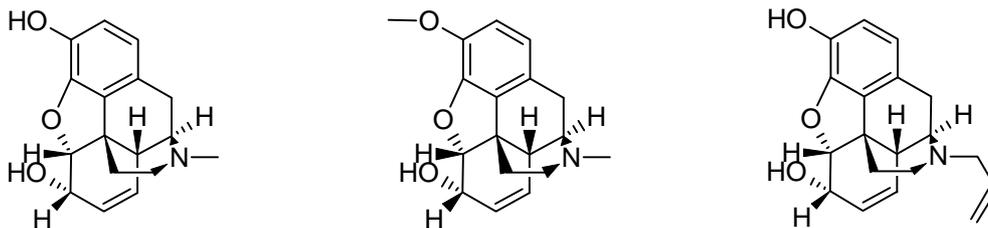


Figure 16 : Formules chimiques semi-développées de la morphine, de la codéine et de la nalorphine.

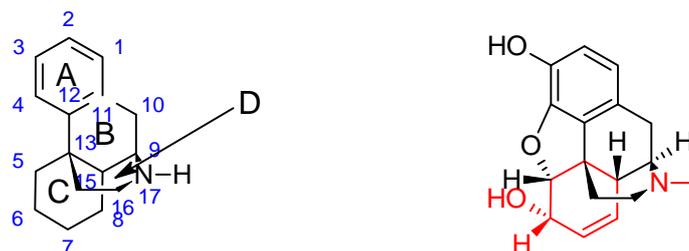


Figure 17 : Structure chimique et numérotation du morphinane (structure de base de la morphine, à gauche) ; A, B et C constituent le noyau phénanthrène, C et D le motif isoquinoléine. Les épitopes allergéniques présumés de la morphine pour le patient sont dessinés en rouge (à droite) (Harle, 1989).

Insuline et dérivés d'insuline.

Les RSA de l'insuline ont été abondamment étudiées depuis sa découverte par Frederick Banting et Charles Best en 1921. L'insuline humaine est composée de 2 chaînes peptidiques, la chaîne A (21 acides aminés) et la chaîne B (30 acides aminés). Ces chaînes sont liées par deux pont disulfure intercaténaux. Il existe en outre un pont disulfure intracaténaire au sein de la chaîne A. L'octapeptide situé en position C-terminale de la chaîne B joue un rôle dans le comportement d'auto-association de l'insuline, les 5 derniers résidus n'étant pas essentiels pour obtenir une activité biologique *in vitro* (Mayer, 2007). Cette région a été étudiée et a conduit à l'émergence des analogues lents et rapides de l'insuline.

L'apparition de l'insuline humaine recombinante a significativement diminué la fréquence de l'allergie à l'insuline par rapport aux anciennes insulines d'origine non-humaine (Patterson, 1990 ; Scherntaner, 1993). Les raisons qui pourraient expliquer l'immunogénicité de l'insuline humaine injectée par voie sous-cutanée restent pour l'heure mystérieuses. Parmi les hypothèses évoquées, il a été proposé que des altérations chimiques de la molécule (agrégation pendant le stockage ou après l'injection), de même que des paramètres relatifs au processus de production, pourraient être responsables de ce phénomène (Brange, 1990 ; Fineberg, 2007). Quelques auteurs ont signalé l'importance du résidu B30 (*Thr*), qui pourrait constituer l'un des déterminants immunogéniques de l'insuline humaine (Kumar, 1979 ; Yokoyama, 2003). Luyasu et coll. ont récemment rapporté une observation de choc anaphylactique à l'insuline humaine et à la protamine chez un patient de 50 ans, diabétique de type 2 ; le schéma de réactivité croisée entre les différents dérivés d'insuline a été évalué à l'aide de TAB. Des modifications et / ou substitutions sur les résidus B28 et B29 (insuline asparte, lispro et détémir) seraient à même d'expliquer la diminution d'activation des basophiles chez ce patient (Luyasu, 2011). Dans le cas de l'allergie à l'insuline détémir, un analogue lent de l'insuline, Sola-Gazagnes et coll. émettent l'hypothèse de l'implication du motif *myristoyl* dans la pathogénèse de la réaction, peut-être par le biais d'une interaction non spécifique avec les composants de la membrane cellulaire des cellules dendritiques ou des lymphocytes (Sola-Gazagnes, 2007).

Antagonistes des récepteurs H₂.

Les antagonistes des récepteurs H₂, de même que les inhibiteurs de la pompe à protons, sont des médicaments supprimant la sécrétion gastrique. Morisset et coll. ont décrit

un cas de réaction d'hypersensibilité immédiate à la ranitidine étayé par l'histoire clinique, les tests cutanés et d'histaminolibération leucocytaire (Morisset, 2000) ; un traitement par la nizatidine provoqua des symptômes identiques. La nizatidine donna un prick-test négatif, mais l'IDR ne put être réalisée faute de forme injectable disponible pour ce principe actif. Les prick-tests et IDR furent négatives pour la cimétidine et la famotidine. Cette dernière fut choisie pour un test de réintroduction orale, test qui fut bien toléré. Ce schéma de réactivité croisée a été expliqué en utilisant une approche SAR ; la famotidine est dotée d'un motif guanidyl sur le cycle thiazole, qui permet l'établissement d'une liaison hydrogène et « gèle » probablement la conformation. La chaîne aliphatique de connexion est plus courte que celles de la ranitidine et de la nizatidine ; enfin, le motif polaire est un groupement amidine à la place de la guanidine dans les composés susmentionnés.

Produits de contraste utilisés en IRM.

Les produits de contraste utilisés en IRM sont très couramment utilisés et généralement considérés comme sûrs, bien que des effets secondaires graves puissent survenir après l'injection. Les cas de choc anaphylactique induits par les produits de contraste contenant du gadolinium sont rares. Leur prévalence est comprise entre 0,004 et 0,01 % selon les auteurs (Li, 2006 ; Herborn, 2007). L'ion gadolinium libre (Gd^{3+}) étant hautement toxique (blocage des canaux calciques voltage-dépendants, dépression du système réticulo-endothélial), des chélates ont été conçus afin de réduire sa toxicité aiguë tout en préservant ses propriétés en IRM (Bellin, 2008 ; Morcos, 2008). Selon la structure chimique du chélate, les produits de contraste utilisés en IRM peuvent être répartis en 2 sous-types différents : sous-types macrocyclique et linéaire (*open-chain*) (Figures 18 et 19). Les produits de contraste IRM peuvent également être classés en composés ioniques ou non-ioniques. La structure moléculaire et le caractère ionique influencent leur stabilité, le PC-IRM le plus stable étant le Gd-DOTA (macrocyclique, ionique) et les moins stables étant les dérivés linéaires non-ioniques (type Gd-DTPA-BMA, Gd-DTPA-BMEA) (Morcos, 2008).

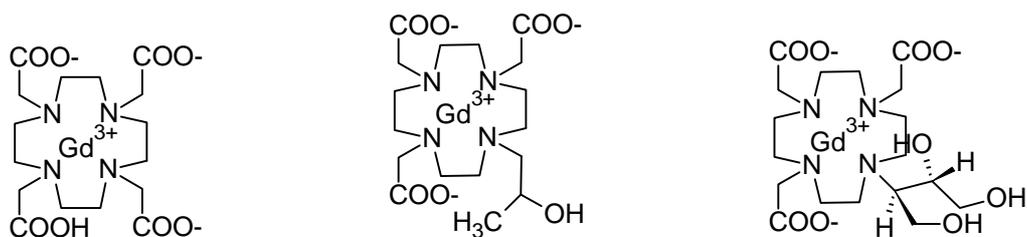


Figure 18 : Structures chimiques des produits de contraste IRM macrocycliques (de gauche à droite) : Gd-DOTA, Gd-HP-DO3A et Gd-HP-DO3A-butrol. Les liaisons de coordination n'apparaissent pas sur les schémas.

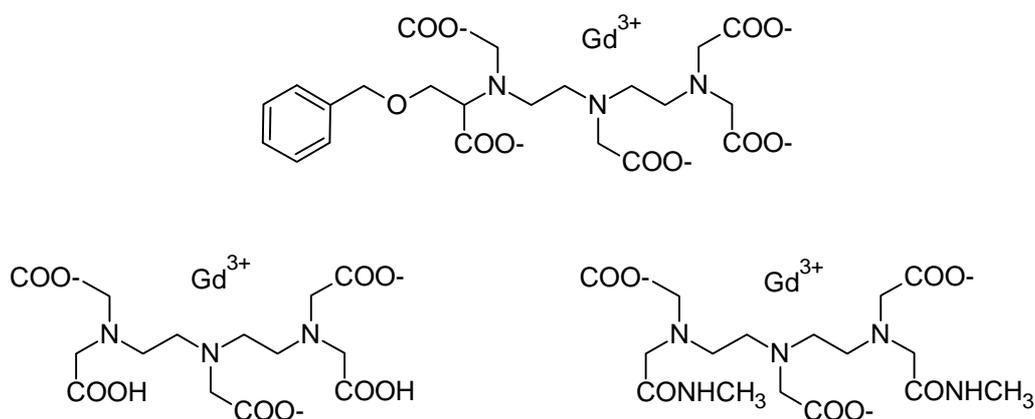


Figure 19 : Structures chimiques des produits de contraste linéaires (open-chain) (de gauche à droite) : Gd-BOPTA, Gd-DTPA et Gd-DTPA-BMA. Les liaisons de coordination n'apparaissent pas sur les schémas.

Hasdenteufel et coll. ont récemment décrit 3 observations de choc anaphylactique survenus après la première exposition au gadotérate de méglumine (Gd-DOTA) (Hasdenteufel, 2008). Des tests cutanés ont été réalisés avec des produits de contraste IRM gadolinés macrocycliques (Gd-DOTA, Gd-HP-DO3A, Gd-DO3A-butrol) et linéaires (Gd-DTPA, Gd-BOPTA, Gd-DTPA-BMA). Les agents de contraste de type macrocyclique ont donné des tests cutanés positifs, alors que toutes les molécules linéaires ont conduit à des résultats négatifs. Une étude des RSA a révélé que tous les produits de contraste IRM ayant donné des tests cutanés positifs possédaient un ligand dérivé du tétra-azacyclododécane, ce qui pourrait expliquer la sensibilisation de ces patients (Figure 20).

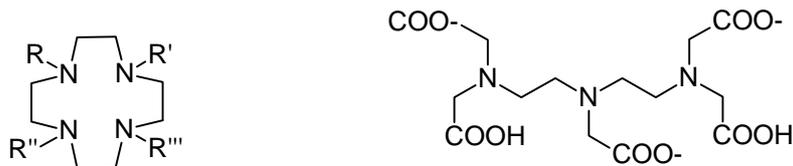


Figure 20 : Structures chimiques du ligand dérivé du tetra-azacyclododécane (à gauche) et du DTPA (à droite).

Le test de réintroduction avec une molécule linéaire (gadopentétate de diméglumine (Gd-DTPA) ; Figures 19 et 20) a été bien toléré chez 2 patients jusqu'à une dose cumulée de 0,1 mmol / kg administrée par voie intraveineuse sur une période de 15 minutes (ce qui correspond à la dose utilisée lors d'une IRM).

Discussion.

L'utilisation du concept de RSA se développe en allergie médicamenteuse. Les approches RSA simples et qualitatives sont dépendantes des tests cutanés et/ou biologiques et des limites de ces tests diagnostiques.

Quelle que soit la méthodologie, il a été démontré que chaque patient ou petit sous-groupe de patient est doté de son propre schéma de réactivité croisée, et qu'aucune règle générale de réintroduction ne peut être édictée sans réaliser au préalable un bilan allergologique individuel adéquat. Les RSA ne doivent pas être considérées comme un outil diagnostique par elles-mêmes, mais plutôt comme une aide à la décision thérapeutique.

Compte tenu de la diversité et la complexité des mécanismes physiopathologiques sous-tendant les allergies médicamenteuses immédiates et retardées, des études mécanistiques et expérimentales impliquant des séries importantes de patients sont indispensables pour approfondir notre connaissance des épitopes responsables des allergies médicamenteuses. Dans ce contexte, des méthodes telles que la cristallographie rayons X, les approches RSA / RSAQ ou 3D-RSAQ et les outils de modélisation informatique pourraient s'avérer très utiles.

DEUXIÈME PARTIE :

TESTS DIAGNOSTIQUES

EN ALLERGIE MÉDICAMENTEUSE

IMMÉDIATE ET RETARDÉE

Dans cette partie, nous nous limiterons à la description des tests diagnostiques cutanés et biologiques ayant été exploités dans le cadre de ce travail de thèse.

1. Tests cutanés

Les tests cutanés (prick-tests, IDR et patch-tests) ont été réalisés conformément aux recommandations du groupe ENDA et de l'EAACI (Brockow, 2002).

Prick-tests.

Après nettoyage de la peau au sérum physiologique et séchage, les prick-tests sont réalisés en piquant la solution d'allergène à tester à travers la peau à l'aide d'une aiguille (face interne de l'avant-bras). Les gouttes d'allergènes ou de solutions contrôles sont disposées sur la peau, puis une aiguille hypodermique (de 25 ou 26 Gauge) est passée à travers la goutte jusque dans l'épiderme avec un angle faible ($< 45^\circ$), le biseau en haut. L'aiguille est alors légèrement soulevée afin de créer une altération cutanée minime en surface. Chaque test est éloigné de 2 à 3 cm minimum. Deux témoins positifs (chlorhydrate d'histamine à 10 mg/mL ou sulfate de codéine à 9%) et un témoin négatif (glycéro salin phénolé) sont également pratiqués. Si le test est négatif au bout de 15 à 20 minutes, des IDR sont pratiquées.

Intradermoréactions.

Les IDR consistent à injecter 0,02 mL de solution d'allergène par voie intradermique sur le dos du patient, ce qui permet d'obtenir une papule d'un diamètre compris entre 3 et 4 mm. Leur sensibilité est meilleure que celle des prick-tests, mais le risque d'obtenir des

réactions irritantes (faussement positives) ou systémiques (urticaire, anaphylaxie) est également plus important.

La lecture immédiate des IDR est réalisée après 15 à 20 minutes. On relève alors le diamètre de la papule et de l'érythème pour les différents allergènes testés ainsi que pour le témoin négatif (solution isotonique de chlorure de sodium) et deux témoins positifs (chlorhydrate d'histamine à 10 mg/mL ou sulfate de codéine à 9%). Le test est considéré comme positif si le diamètre de la papule a augmenté de 3 mm (doublement de la papule) avec présence d'un érythème. Les IDR sont réalisées en commençant par la solution d'allergène la plus diluée ; si l'IDR est négative après 15 minutes, la solution suivante (10 fois plus concentrée) est testée, et ainsi de suite jusqu'à atteindre progressivement la concentration maximale (notion d'échelle médicamenteuse).

Dans le cas des réactions d'hypersensibilité retardée, les IDR sont lues après 24 et 72h. D'autres délais de lecture (48h, 96h) peuvent également être envisagés. Les IDR sont interprétées en fonction du diamètre de l'érythème ainsi que de sa description morphologique (érythème isolé, infiltré, présence de papules ou de vésicules). Une infiltration est considérée comme un résultat positif.

Patch-tests.

Dans le cas des patch-tests, l'allergène est fixé sur le dos du patient (par exemple à l'aide de chambres de Finn) pendant 1 à 2 jours. La peau ne doit pas être lésée, traitée ou nettoyée à l'emplacement où le test doit être réalisé. La lecture s'effectue après 24, 48, 72 et quelquefois 96h, et l'exploitation des résultats repose sur des méthodes internationales (critères EECDRG / ESCD ; Tableau 1).

<i>Tableau clinique</i>	<i>Score</i>	<i>Conclusion</i>
Absence	-	Réaction négative
Erythème modéré	?	Réaction douteuse
Erythème, infiltration, papules isolées	+	Réaction faiblement positive
Erythème, infiltration, papules, vésicules	++	Réaction fortement positive
Erythème intense, infiltration, vésicules coalescentes	+++	Réaction extrêmement positive
	NT	Non testé

Tableau 1 : Scores attribués aux résultats des patch-tests (Fischer, 1986 ; Brockow, 2002).

2. Tests biologiques : tests d'activation des basophiles

Principe et intérêt du test d'activation des basophiles.

Les basophiles sont des cellules circulantes impliquées dans le mécanisme physiopathologique des réactions d'hypersensibilité de type I (IgE-dépendantes). Lors d'une première exposition à un allergène, les cellules B sont activées et deviennent des plasmocytes sécréteurs d'IgE. Ces molécules d'IgE se lient aux récepteurs Fc spécifiques de l'IgE à la surface des mastocytes et des basophiles sanguins. Une seconde exposition à l'allergène conduit au pontage des IgE à la surface des basophiles, ce qui déclenche la libération des médiateurs préformés (histamine) et la synthèse de médiateurs néoformés à partir de l'acide arachidonique membranaire (leucotriènes, prostaglandines) à partir des basophiles (dégranulation).

La réalisation de TAB permet l'exploration des basophiles *in vitro* et s'inscrit dans le cadre du bilan allergologique des réactions d'hypersensibilité immédiate. Les basophiles constituant une population cellulaire faiblement représentée, la cytométrie de flux représente une technique de choix pour leur étude. Les marqueurs de l'activation des basophiles sont nombreux : libération d'histamine, libération de cytokines (interleukines 4 et 14), expression du CD63, surexpression du CD203c. Dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés aux TAB réalisés selon les techniques CD63 et/ou CD203c (Figure 21).

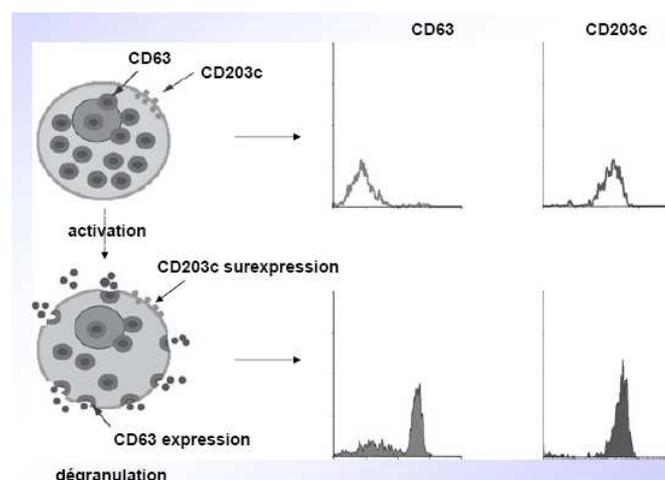


Figure 21 : Principes comparés des TAB CD63 et CD203c (schéma adapté d'après Ebo, 2006).

Contrairement au CD203c, le CD63 n'est pas exprimé de manière constitutive sur le basophile. Après stimulation par un allergène, l'expression du CD63 est plus lente (15 minutes environ) que celle du CD203c (5 minutes environ).

Technique CD203c.

Le pontage de deux récepteurs FcεRI (IgE) par l'allergène induit une surexpression du CD203c qui peut être mesurée par cytométrie (anti-CD203c-PE). Les basophiles sont identifiés par leur expression de la molécule CRTH2 (anti-CRTH2-FITC) (Figure 22).

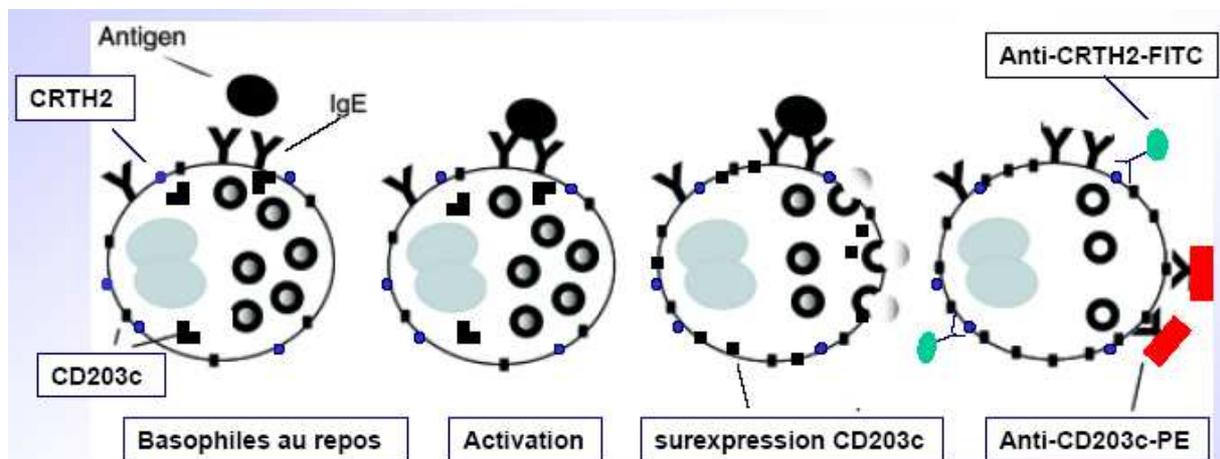


Figure 22 : Principe du TAB CD203c (schéma reproduit avec l'aimable autorisation du Dr. Nicolas Hougardy, service de biologie, Cliniques du Sud-Luxembourg, Arlon, Belgique).

En pratique, le TAB CD203c est réalisé en cytométrie de flux multiparamétrique (Allergenicity kit®, Immunotech, Marseille, France). Cent microlitres de sang total (EDTA) est incubé, durant 15 minutes à 37°C et en présence d'une solution d'activation contenant du calcium, avec 20 µL du triple marquage CRTH2-FITC/CD203c-PE/CD3-PC7, et avec 20µL de PBS, de contrôle positif ou de l'allergène dilué respectivement pour le témoin négatif, le témoin positif ou les dilutions successives d'allergène. Les dilutions d'allergène sont de 10 en 10 au départ d'une solution-mère. Ensuite les tubes sont lysés (2mL), lavés et resuspendus dans du PBS et analysés immédiatement au cytomètre (FACSCanto II, BD Biosciences, San Jose, Calif., USA).

L'identification des basophiles se fait sur base d'un histogramme biparamétrique granularité (SSC-A) - CRTH2 après exclusion des lymphocytes T (CD3) (Figure 23).

L'acquisition comprend au minimum 500 basophiles. Le pourcentage de basophiles activés est défini par l'expression membranaire du CD203c. Au repos, les basophiles n'expriment que faiblement cette protéine. Le pontage, par l'allergène, de deux IgE membranaires induit l'activation de la cellule avec expression majorée du CD203c.

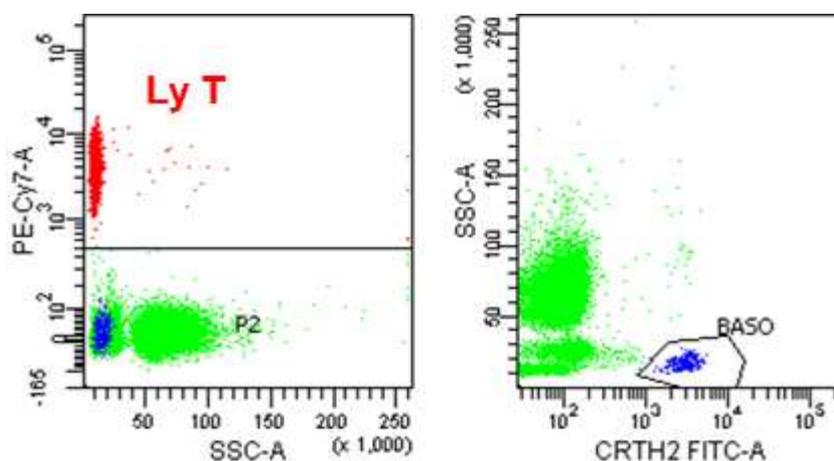


Figure 23 : exemple d'histogramme biparamétrique granulocytose – CRTH2.

Le contrôle négatif permet de déterminer le seuil d'expression spontanée du CD203c qui ne dépasse pas 5% des basophiles. Le contrôle positif (anti-IgE humaine) évalue le pourcentage maximal de basophiles activables (exprimant le CD203c au-delà du seuil basal), et permet l'identification d'un éventuel état réfractaire. Le test est considéré comme positif lorsque le taux des basophiles qui expriment le CD203c est au moins deux fois supérieur au seuil d'expression spontanée. Idéalement, au minimum deux dilutions sont pratiquées pour les allergènes considérés.

Technique CD63.

Le TAB CD63 est réalisé selon le même protocole, sauf pour :

1/ le triple marquage qui est remplacé par le réactif Fastimmune CD63-FITC/CD123-PE/Anti-HLA-DR-PerCP (BD Biosciences, San Jose, Californie, Etats-Unis)

2/ l'identification des basophiles qui se fait sur base d'un histogramme biparamétrique granulocytose – CD123 après exclusion des monocytes (Anti-HLA-DR). Le pourcentage de basophiles activés est défini par l'expression membranaire du CD63.

TROISIÈME PARTIE :

ÉTUDE DES RSA EN ALLERGIE MÉDICAMENTEUSE IMMÉDIATE

1. Allergie immédiate aux antibiotiques bêta-lactames

Problématique.

Les antibiotiques bêta-lactames (pénicillines, céphalosporines, monobactames et autres dérivés apparentés) figurent parmi les médicaments les plus utilisés au monde, et ils sont responsables de la majorité des réactions d'hypersensibilité immédiate (Neugut, 2001 ; Renaudin, 2007). Pour de tels patients, l'approche allergologique « traditionnelle » consiste soit en une éviction totale des antibiotiques bêta-lactames (ce qui pose problème pour trouver des alternatives thérapeutiques à ces principes actifs), soit à éviter certaines sous-familles de bêta-lactames en se basant sur le bilan allergologique.

Physico-chimie et RSA pharmacologique des antibiotiques bêta-lactames.

Structure chimique des antibiotiques bêta-lactames.

La structure de base de tous les antibiotiques bêta-lactames dérive de celle du cycle « bêta-lactame » (dénomination selon la nomenclature chimique systématique : *azetidin-2-one*), auquel peut être accolé ou non un second cycle (Figure 24). Dans le cas des pénicillines, il s'agit d'un noyau *thiazolidine* (cycle saturé comportant 5 sommets), et pour les céphalosporines d'un noyau *dihydrothiazine* (cycle à 6 sommets, monoinsaturé). Les monobactames ne comportent quant à eux aucun cycle adjacent.

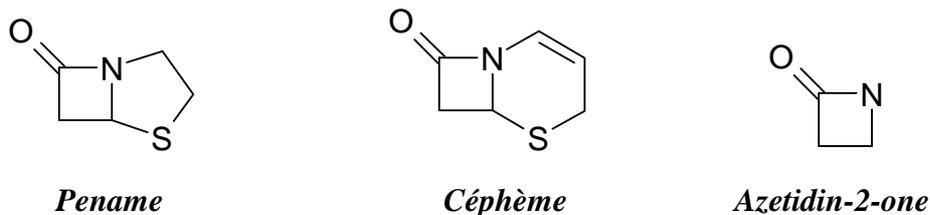


Figure 24 : Squelettes de base des pénicillines, céphalosporines et monobactames (de gauche à droite).

Relations structure-activité pharmacologique.

L'étude des RSA pharmacologique a permis de déterminer quels étaient les motifs structuraux constituant le *pharmacophore* des bêta-lactames. Ce dernier est constitué des 4 éléments suivants (Figure 25) :

- le cycle azetid-2-one (fermé),
- une fonction acide (carboxylique ou sulfonique) greffée sur ce cycle,
- une fonction amide extracyclique,
- ainsi que 2 atomes de carbone asymétriques situés au sein du cycle azetid-2-one.

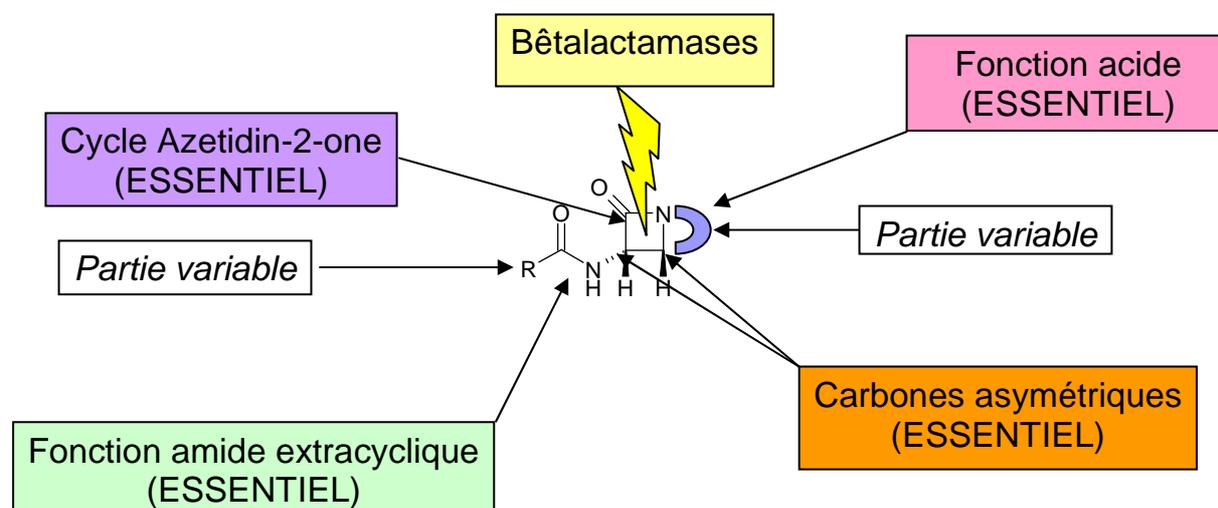
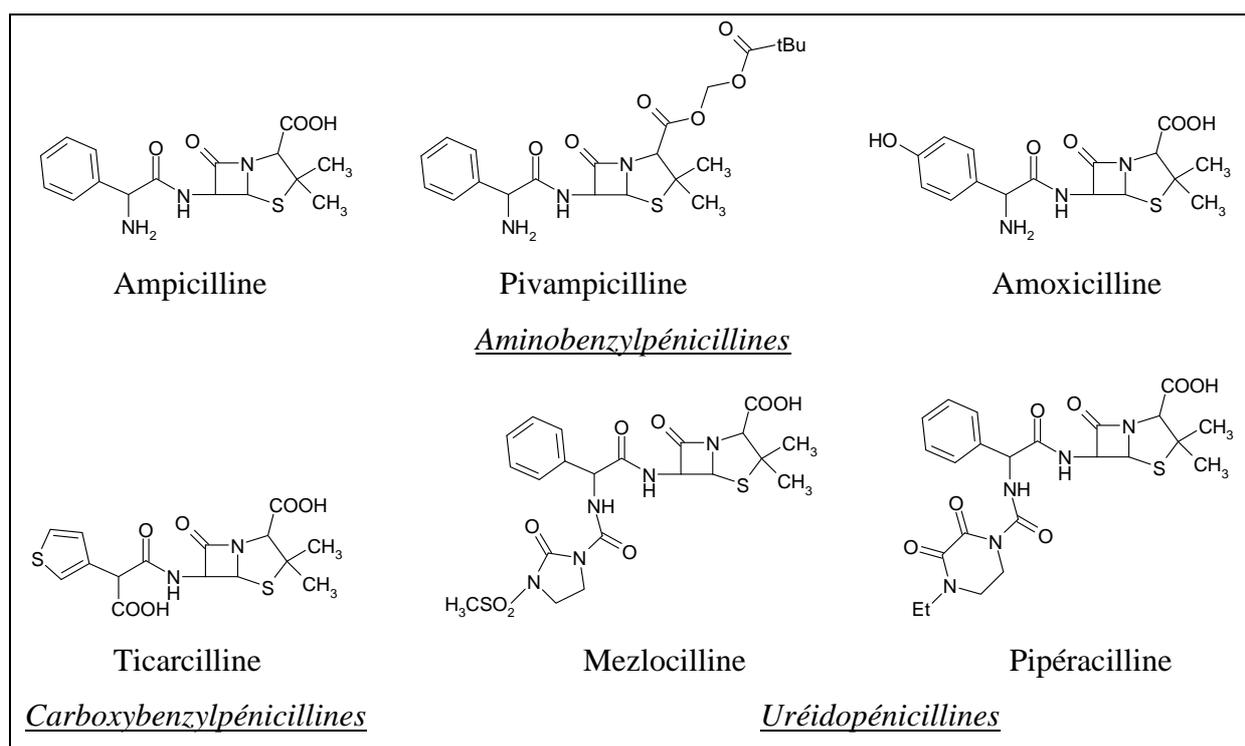
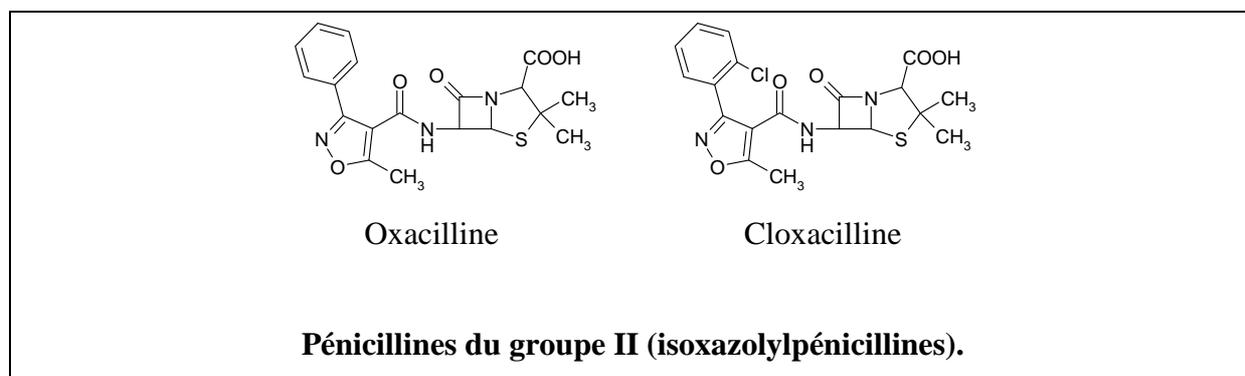
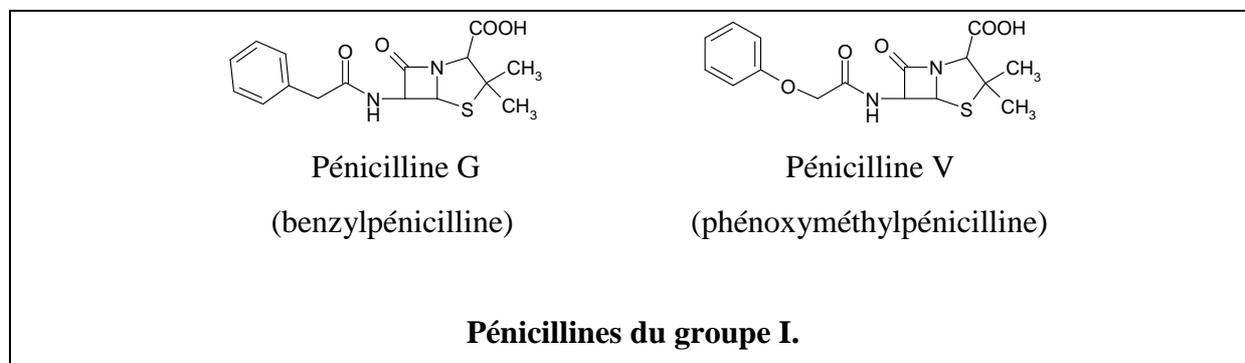
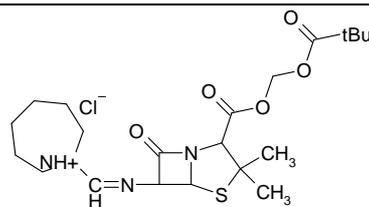


Figure 25 : Relations structure - activité pharmacologique des antibiotiques bêta-lactames. Les quatre éléments essentiels réunis constituent le pharmacophore.

Classification des antibiotiques bêta-lactames.

Les pénicillines sont habituellement classées en 3 groupes : pénicillines G et V (I), M (II) et A (III) (Figure 26).





Pivmecillinam

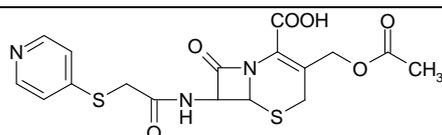
Amidinopénicillines

Pénicillines du groupe III.

Figure 26 : Formules chimiques semi-développées des pénicillines.

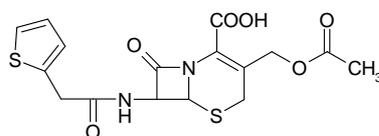
En ce qui concerne les céphalosporines, il existe 2 principaux types de classements :

- un classement dit « *générationnel* », d'origine française, fonction de la chronologie d'apparition du principe actif et de l'étendue de son spectre d'activité ; on parlera ainsi de *céphalosporines de première, deuxième, troisième* et parfois même *quatrième génération*.
- un classement que l'on pourrait qualifier de « *chimique* » ou « *structural* », plus rationnel, fonction de la structure chimique du principe actif (Figure 27) et qui ne se superpose pas au classement précédent. Outre la compréhension des évolutions successives ayant présidé à la conception de nouveaux composés, ce classement s'avère très utile pour pouvoir étudier les RSA dans le cadre des allergies aux céphalosporines et aux autres antibiotiques bêta-lactames.

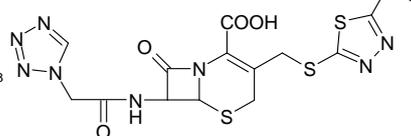


Céfapirine (C1G)

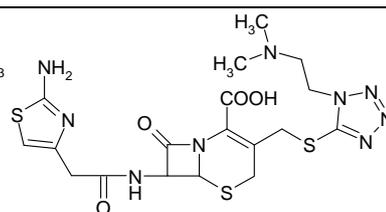
7-amido-3-céphèmes.



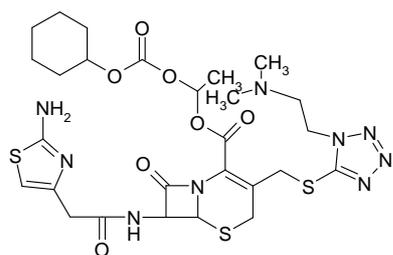
Céfalotine (C1G)



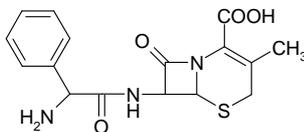
Céfazoline (C1G)



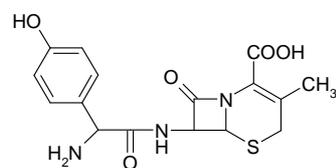
Céfotiam (C3G)



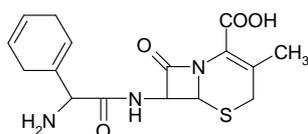
Céfotiam hexétil (C3G)



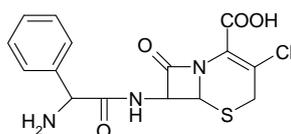
Céfalexine (C1G)



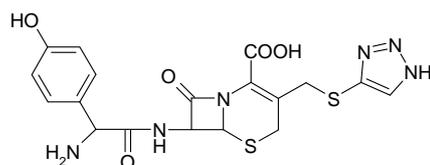
Céfadroxil (C1G)



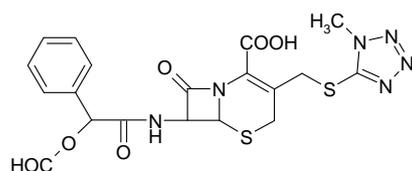
Cefradine (C1G)



Céfaclor (C1G)

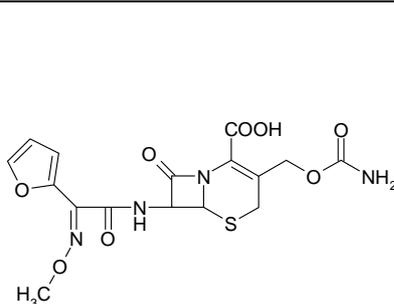


Céfatrizine (C1G)

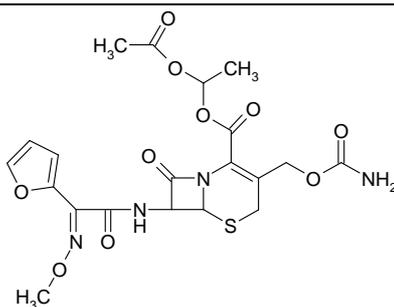


Céfamandole nafate (C2G)

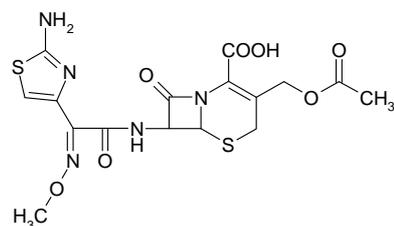
7-(2-aryl / 2-hétéroaryl-acétamido)-céphèmes.



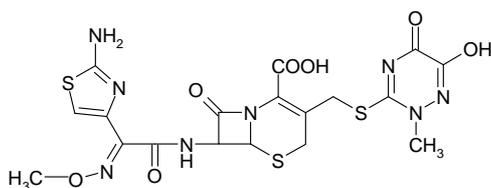
Céfuroxime (C2G)



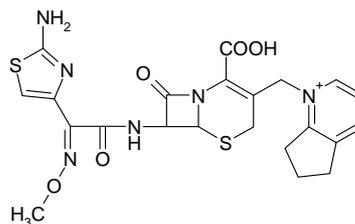
Céfuroxime axétil (C2G)



Céfotaxime (C3G)



Ceftriaxone (C3G)



Cefpirome (C3G)

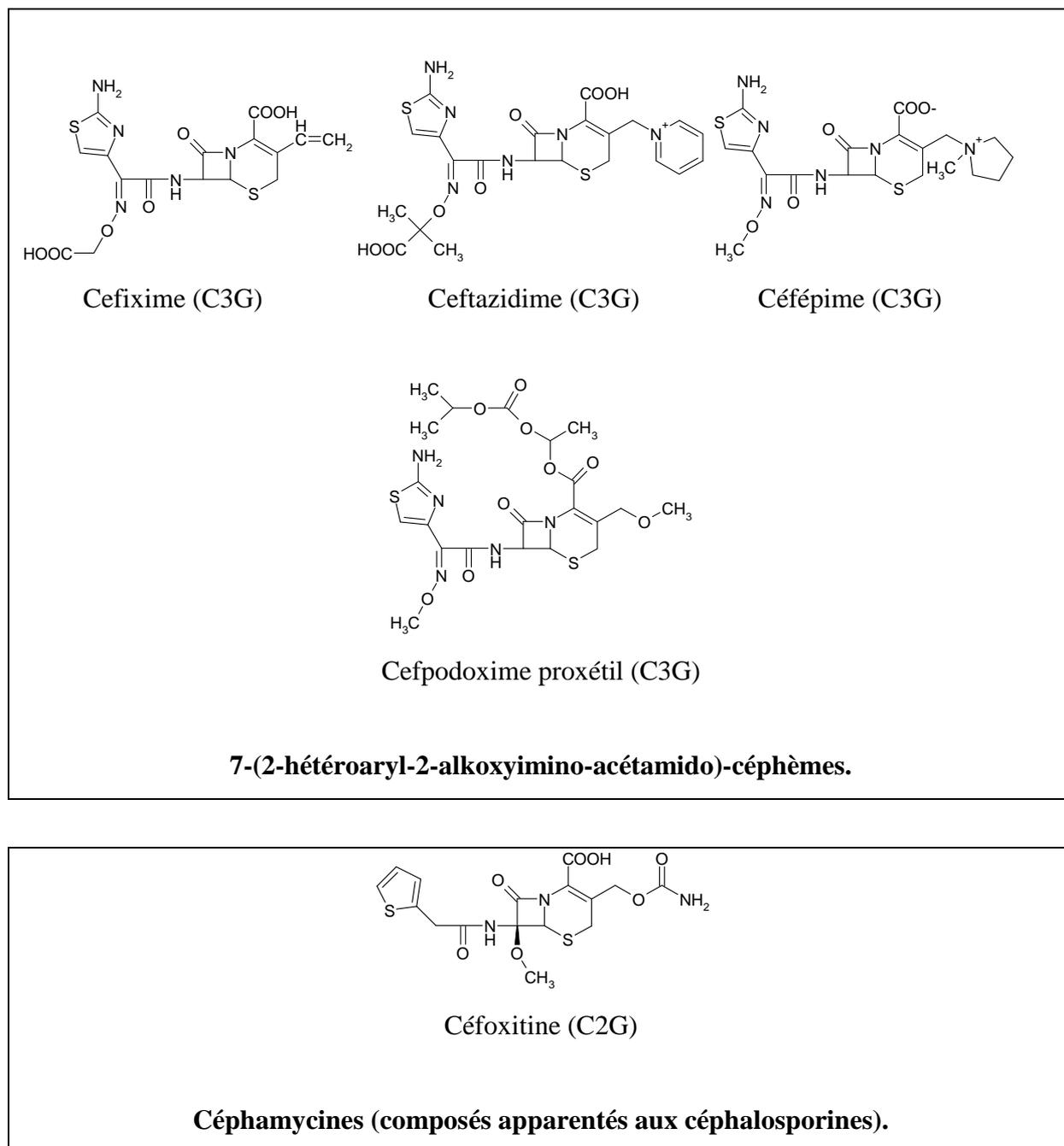


Figure 27 : Formules chimiques semi-développées des céphalosporines.

Carbapénèmes (Figure 28) et monobactames (Figure 29) ne possèdent pas de classement particulier. Quant aux inhibiteurs de bêta-lactamases (Figure 30), il s'agit de composés dépourvus de toute activité antibiotique, mais dont la structure est chimiquement apparentée à celle des bêta-lactames ; il constituent des « inhibiteurs suicides » des bêta-lactamases, et ralentissent ainsi la dégradation des antibiotiques bêta-lactames auxquels ils

sont associés. Un exemple typique d'une telle association est l'Augmentin[®] (amoxicilline + acide clavulanique).

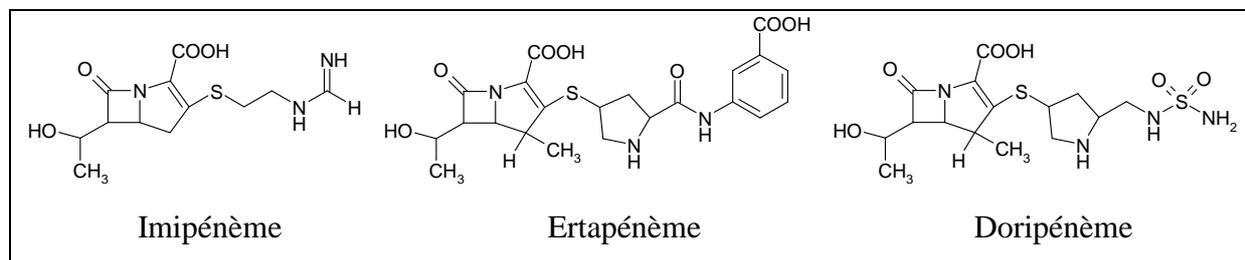


Figure 28 : Formules chimiques semi-développées des carbapénèmes.

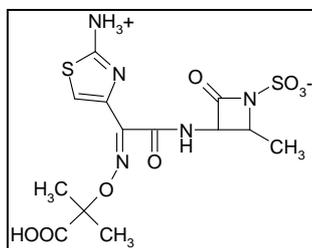


Figure 29 : Formule chimique semi-développée de l'aztréonam (monobactame).

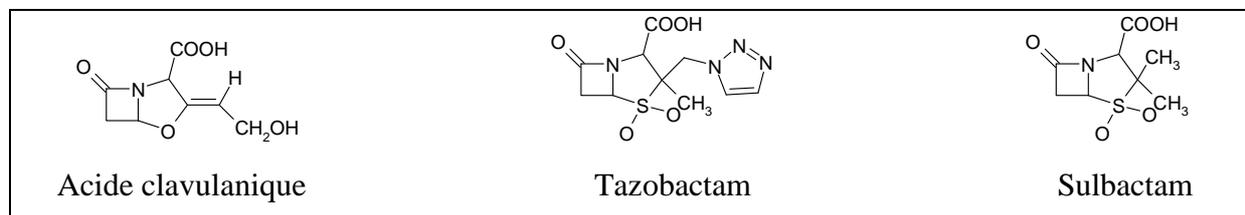


Figure 30 : Formules chimiques semi-développées des inhibiteurs de bêta-lactamases.

Cas clinique.

Une femme de 39 ans est admise aux urgences suite à un choc anaphylactique quelques minutes après la prise d'un comprimé de Zinnat[®] (céfuroxime axétil) 500 mg en automédication dans un contexte de bronchite aiguë. Parmi ses antécédents, on note une dépression, un psoriasis ainsi qu'une douleur thoracique sans coronaropathie identifiée. A noter que la patiente avait déjà pris du céfuroxime axétil lors de traitements précédents.

A l'admission au service d'accueil des urgences, la tension artérielle systolique est mesurée à 60 mmHg, et la patiente, fatiguée, présente une dyspnée, un angioedème facial, un

rash cutané généralisé ainsi qu'une ischémie cardiaque transitoire en territoire inférieur. L'imputabilité du Zinnat® est classée « vraisemblable » ($C_2S_3 = I_3$) selon la méthode française de pharmacovigilance (Begaud, 1985 ; Moore, 1985), et « probable » selon l'échelle de probabilité américaine décrite par Naranjo (Naranjo, 1981). Le traitement du choc a consisté en un remplissage vasculaire et l'administration d'adrénaline et de corticostéroïdes. La récupération a été complète après traitement, et l'électrocardiogramme s'est normalisé. En phase aiguë, la tryptase ressort à 200 µg/L (valeur normale : < 14 µg/L). Trois semaines après la réaction, la valeur est à 5,75 µg/L, signant une absence de mastocytose systémique et confirmant bien l'histaminolibération. Les tests cutanés sont réalisés 4 semaines plus tard suivant les recommandations de l'ENDA et de l'EAACI (Brockow, 2002 ; Torres, 2003). Le prick-test (2.10^{-2} mg/mL) ainsi que l'IDR (2.10^{-6} mg/mL) au céfuroxime sont positifs en lecture immédiate (20 minutes). Un TAB au céfuroxime (méthode CD63) a été réalisé, et est positif. Ces deux éléments viennent confirmer le diagnostic de réaction d'hypersensibilité immédiate au céfuroxime.

Le tableau ci-dessous précise les résultats des autres tests cutanés aux médicaments apparentés (concentrations maximales testées : 2 mg/mL pour les céphalosporines et 25 mg/mL pour les pénicillines) (Brockow, 2002 ; Torres, 2003).

Famille	Groupe & classe chimique		DCI	Tests cutanés	
				PT	IDR
PENICILLINES	Groupe I (G/V)		Benzylpénicilline (pénicilline G)	-	-
			Phénoxy méthylpénicilline (pénicilline V)	-	
	Groupe II (M) Isoxazolylpénicillines		Oxacilline	-	+
	Groupe III (A) Aminobenzylpénicillines		Amoxicilline	-	-
CEPHALOSPORINES	C1G 7-(2-aryl / 2-hétéroaryl-acétamido)-céphèmes		Céfaclor	-	
			Céfazoline	-	-
	7-(2-hétéroaryl-2-méthoxyimino-acétamido)-céphèmes	C2G	Céfuroxime	+	+
		C3G	Céfépime	-	+
			Céfotaxime	+	+
	C3G 7-(2-hétéroaryl-2-alkoxyimino-acétamido)-céphèmes		Ceftazidime	-	-

Tableau 2 : Résultats des tests cutanés.

Etude des relations structure-activité.

Tous les bêta-lactames ayant induit des tests cutanés positifs possèdent soit un groupement méthoxyimino (céfuroxime, céfépime, céfotaxime, ceftriaxone), soit un groupement isoxazole substitué méthyl (oxacilline), qui peut être considéré comme un bioisostère du groupement méthoxyimino (Figure 31). Historiquement, ces groupements avaient été introduits dans les chaînes latérales en tant que « bouclier stérique », ce qui augmentait la stabilité du cycle bêta-lactame vis-à-vis de l'hydrolyse par les bêta-lactamases. Ces motifs proéminents pourraient également constituer de probables sites de reconnaissance par les IgE.

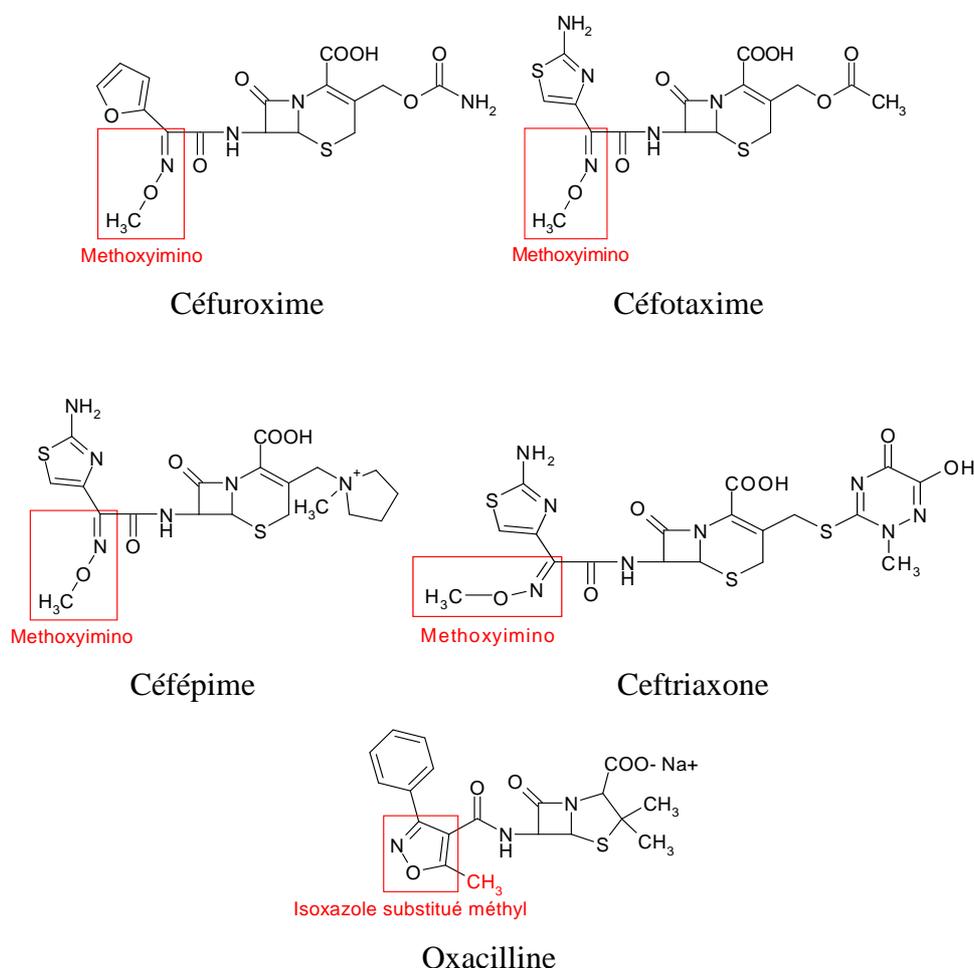


Figure 31 : Formules chimiques semi-développées des bêta-lactames ayant donné des tests cutanés positifs. Le radical méthoxyimino, ainsi que son bioisostère cyclisé, sont encadrés en rouge.

A l'inverse, tous les bêta-lactames dépourvus de ce motif (amoxicilline, céfador, céfazoline, pénicillines G et V) ont montré une absence de réactivité en tests cutanés (Figure 32). La négativité du ceftazidime en tests cutanés peut s'expliquer par la présence d'un groupement alkoxyimino, qui ne peut être assimilé au méthoxyimino à cause d'un encombrement stérique plus important.

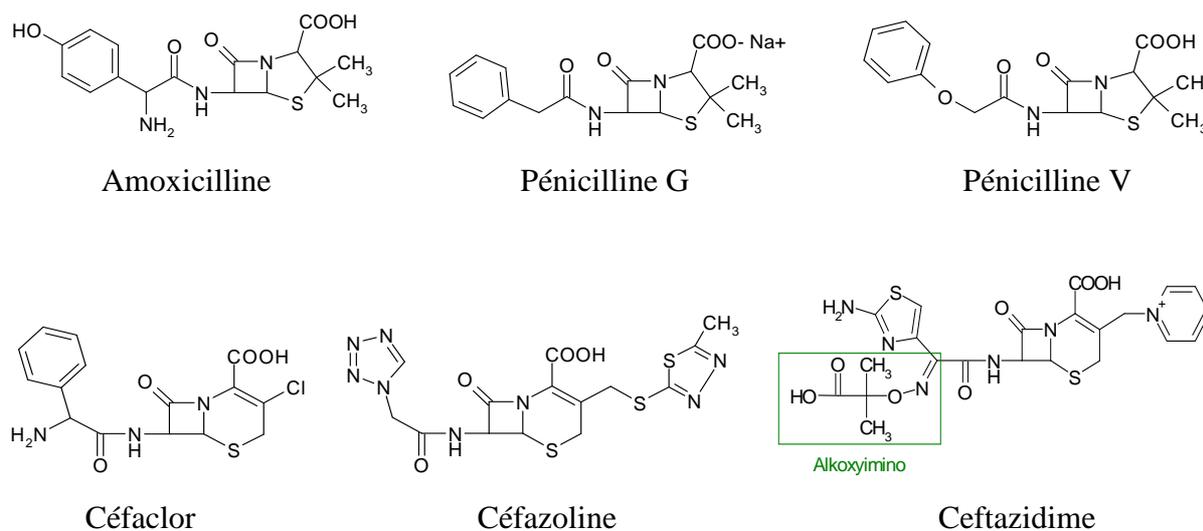


Figure 32 : Formules chimiques semi-développées des bêta-lactames ayant conduit à des tests cutanés négatifs. Notez l'encombrement stérique important du groupement alkoxyimino du ceftazidime (cadre vert).

Validation clinique.

Une réflexion pluridisciplinaire a été engagée afin de procéder au choix d'un antibiotique bêta-lactame à réintroduire. Ce choix a été guidé par trois considérations :

- ✓ Négativité des tests cutanés,
- ✓ Etude des relations structure-activité compatible,
- ✓ Indications thérapeutiques comparables à celle du principe actif incriminé.

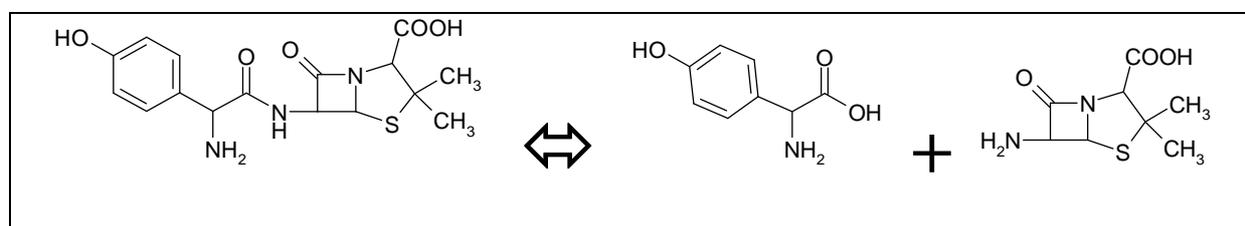
Ainsi, la patiente donna son consentement éclairé pour un test de réintroduction de l'amoxicilline sous surveillance médicale intensive. L'amoxicilline fût bien tolérée jusqu'à une dose cumulée de 1g, administrée par voie intraveineuse sur une période de 2 heures.

Outre la possibilité de réintroduction d'un antibiotique de la même famille thérapeutique, cette observation illustre le fait que des réactivités croisées entre composés appartenant à des familles (pénicillines / céphalosporines) ou à des générations (C₂G / C₃G) différentes peuvent exister, et doivent être prises en compte par le clinicien dans sa recherche d'alternatives thérapeutiques.

Etude prospective et validation immunochimique.

L'analyse des RSA de cette première patiente nous a incités à élargir notre démarche en lançant une étude prospective au sein du service de médecine interne, immunologie clinique et allergologie du CHU de Nancy, ainsi que du service de soins intensifs des Cliniques du Sud-Luxembourg (Arlon, Belgique), afin de colliger de nouveaux cas documentés d'hypersensibilité immédiate aux antibiotiques bêta-lactames. A ce jour, 3 autres patients ont ainsi pu bénéficier de réintroductions d'antibiotiques bêta-lactames en utilisant le même raisonnement.

Concernant la validation biologique des RSA, plusieurs méthodes *in vitro* ont déjà été envisagées dans la littérature pour la détermination du ou des épitopes allergéniques d'un patient (*cf.* première partie, §2). Nous nous sommes orientés vers la réalisation de tests d'activation des basophiles (TAB) en utilisant une approche « *synthon* », c'est-à-dire en décomposant la formule chimique de la molécule incriminée en sa structure de base (noyau pénème ou céphème) et sa chaîne latérale R (pénicillines) ou R₁ (céphalosporines) (Figure 33).



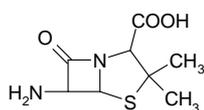
PRINCIPE ACTIF ⇔ CHAÎNE LATÉRALE + STRUCTURE DE BASE

Figure 33 : Représentation schématique de l'approche employée pour la validation biologique (TAB) des RSA (exemple de l'amoxicilline).

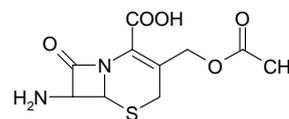
Pour chaque patient, nous avons ainsi testé :

- La structure de base des pénicillines (6-APA) et des céphalosporines (7-ACA),
- Le radical mimant la chaîne latérale de l'antibiotique bêta-lactame incriminé dans la réaction allergique et/ou plusieurs autres radicaux complémentaires (Figure 34).

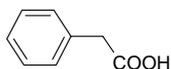
Certains composés ont dû être écartés de l'étude car ils étaient insolubles en milieu aqueux (acide 7-aminodésacétoxycephalosporanique (7-ADCA) et acide 3-(2-chlorophényl)-5-méthyl-4-isoxazole carboxylique) ; la solubilité aqueuse minimale des composés devait excéder 2,5 mg/mL ; cette concentration représente $1/10$ de la concentration maximale utilisée pour la réalisation des tests cutanés aux pénicillines (Brockow, 2002).



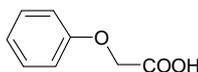
Acide 6-aminopénicillanique (6-APA)
(structure de base des pénicillines)



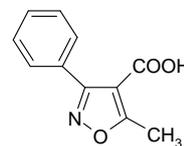
Acide 7-aminocéphalosporanique (7-ACA)
(structure de base des céphalosporines)



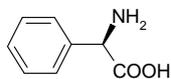
Acide phénylacétique
(pénicilline G)



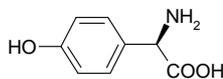
Acide phénoxyacétique
(pénicilline V)



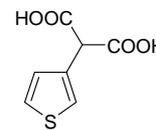
Acide 5-méthyl-3phénylisoxazole-4-carboxylique (oxacilline)



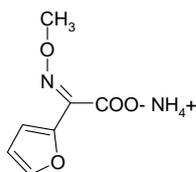
D- α -phénylglycine
(ampicilline, pivampicilline
cefalexine, cefaclor)



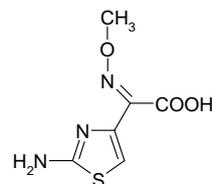
4-hydroxy-D-phénylglycine
(amoxicilline,
céfadroxil, céfatrizine)



Acide 3-thiophène malonique
(ticarcilline)



Acide (Z)-2-méthoxyimino-2-(furyl)acétique
(sel d'ammonium)
(cefuroxime, cefuroxime axétil)



Acide 2-amino- α -methoxyimino-4-
(thiazole)acétique (*syn* majoritaire)
(céfépime, céfotaxime, cefpirome,
cefpodoxime proxétil, ceftriaxone)

Figure 34 : Formules chimiques semi-développées des molécules employées. Le nom du principe actif « parent » comportant la chaîne latérale d'intérêt est indiqué entre parenthèses.

La méthode a été testée sur 5 sujets-témoins (sans histoire d'allergie aux bêta-lactames), pour lesquels toutes les molécules ont donné des résultats négatifs en TAB. Ceci permet de démontrer une absence de réactivité aspécifique (par un mécanisme irritant ou toxique) aux concentrations testées. Ainsi, en cas de TAB positif à l'un des radicaux, il y a mise en jeu d'une réaction cellulaire *probablement* d'origine immune, la preuve absolue de ce mécanisme ne pouvant être apportée que par la réalisation de tests cutanés et/ou de recherche d'IgE spécifiques à ces radicaux.

Trois patientes ayant présenté une réaction d'hypersensibilité immédiate à l'amoxicilline ont donné leur consentement éclairé afin de participer à cette étude (données non publiées) :

- Du fait de la gravité de de son histoire clinique, la première patiente n'a pu bénéficier de tests cutanés ; l'innocuité des TAB nous a conduit à les utiliser en première intention,
- A travers l'observation de la deuxième patiente, nous présenterons un exemple d'étude des RSA et de la concordance entre tests cutanés et TAB,
- Enfin, nous démontrerons l'intérêt des TAB dans le cas de bilans réalisés à distance de l'évènement allergique (troisième observation), où leur sensibilité supérieure à celle des tests cutanés peut permettre d'envisager l'étude des réactivités croisées biologiques et de guider le clinicien dans le choix d'une molécule alternative.

➤ Patiente #1 (Mme S.C.) :

La première patiente, âgée de 30 ans, a présenté un choc anaphylactique gravissime suite à une perfusion d'Augmentin® (collapsus puis arrêt cardiaque). Elle a été traitée par massage cardiaque pendant 30 minutes, remplissage massif et injection d'adrénaline et de corticoïdes. Du fait de la gravité de l'histoire clinique, la pratique de tests cutanés apparaissait trop risquée (seuls des prick-tests à l'amoxicilline ont été effectués au douzième jour du choc, avec un résultat négatif), et des tests biologiques (TAB, ImmunoCap™ Phadia) ont donc été réalisés en première intention. Trois semaines après la réaction, l'ImmunoCap™ amoxicilline s'est révélé faiblement positif (0,21 KU/L), alors que ceux des pénicillines G et V étaient négatifs (<0,10 KU/L). Le TAB à l'amoxicilline (technique CD203c), réalisé au même moment, a montré une franche positivité (34,3 % de basophiles activés) jusqu'à une concentration de 0,00000025 mg/mL, soit la 8^{ème} dilution décimale de la solution-mère d'amoxicilline. Quatre mois après la réaction allergique, le TAB à l'amoxicilline restait encore positif (Figure 35a), de même que celui au céfadroxil et à la 4-hydroxy-D-phénylglycine (chaîne latérale de l'amoxicilline). La figure 35b présente les résultats des TAB obtenus environ 1 an après le choc. On note une perte de sensibilité des basophiles avec le temps, la chaîne latérale de l'amoxicilline donnant des résultats négatifs un an après le choc.

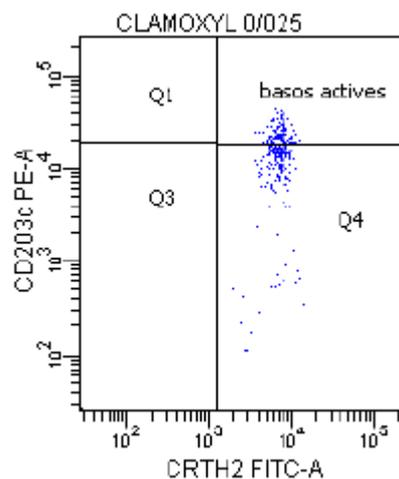


Figure 35a : Histogramme biparamétrique du TAB à l'amoxicilline (patiente #1), concentration 0,025 mg/mL, réalisé 4 mois après le choc.

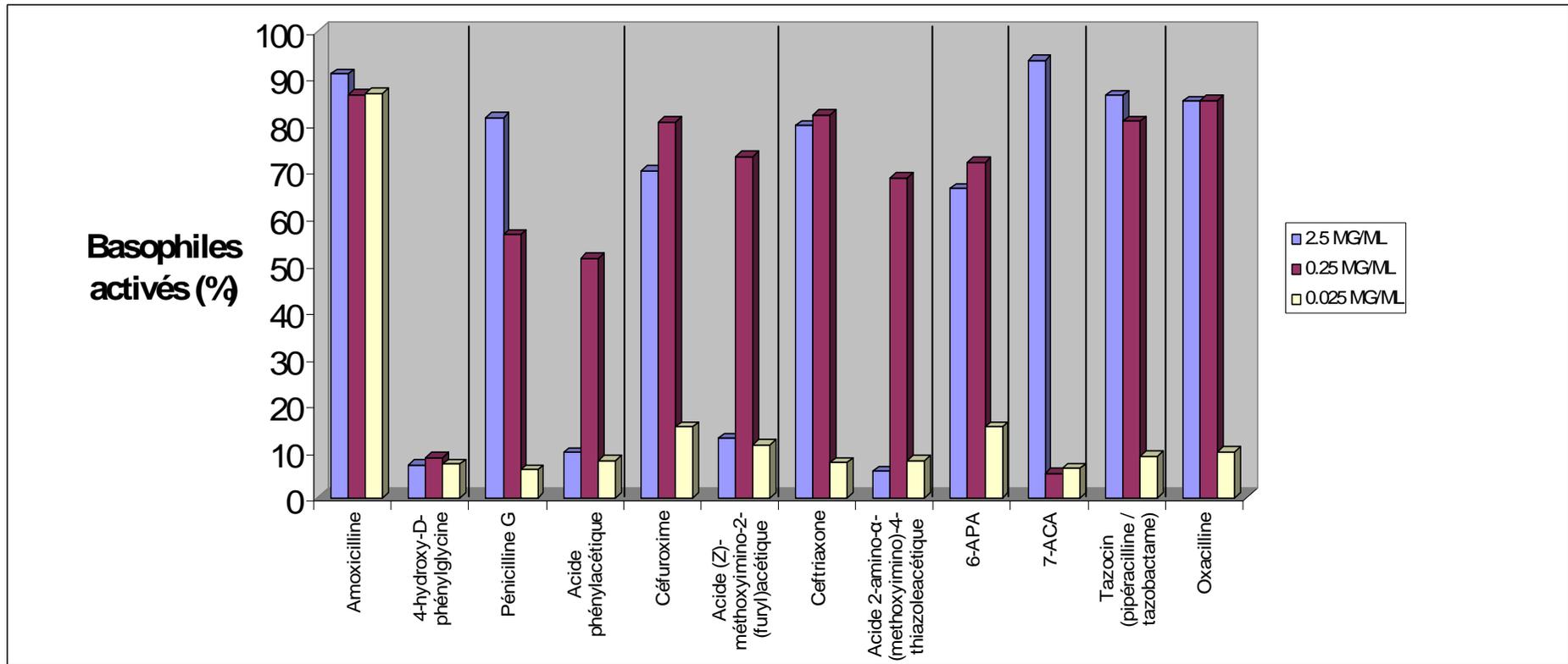


Figure 35b : Résultats des TAB (technique CD203c) pour la patiente #1, un an après le choc. Toutes les molécules testées sont positives, hormis la 4-hydroxy-D-phénylglycine.

Les TAB montrent que les basophiles réagissent non seulement à l'amoxicilline, mais également aux autres molécules testées qui ne partagent pas la même chaîne latérale et n'étaient pas impliquées au moment du choc. On note une positivité des TAB à la structure de base des pénicillines et à celle des céphalosporines.

Nota : dans le cadre de l'urgence (traitement d'une pneumonie à Acinetobacter liée au respirateur), du Méronem[®] (méropénème, famille des carbapénèmes) a été testé en TAB (négatif) puis en tests cutanés (prick-tests et IDR négatifs) puis utilisé chez cette patiente selon un protocole d'accoutumance avec une bonne tolérance.

➤ Patiente #2 (Mme F.V.) :

Il s'agit d'une manifestation à type de choc anaphylactique à l'Augmentin[®] (per os), survenu en avril 2007 chez une patiente de 48 ans. Le bilan allergologique confirme la sensibilisation à l'amoxicilline : prick-test positif à une dilution de 10^{-6} (soit 0,000025 mg/mL ; bilans de 2007 et de novembre 2009) et TAB positif à une dilution de 10^{-8} (soit 0,00000025 mg/mL ; bilans de novembre 2009 et septembre 2010). Le taux des IgE spécifiques à l'amoxicilline est à 0,11 KU/L (octobre 2009). Le tableau 3 présente une comparaison des résultats obtenus en tests cutanés et en TAB pour chaque bilan allergologique effectué, et la figure 36 détaille les principaux résultats des TAB (novembre 2009).

Famille		Principe actif	Date du bilan	Tests cutanés		TAB	
				Prick-tests	IDR	Molécule entière	Chaîne latérale
Pénicillines	Groupe I	Pénicilline G	04/09/2007	+ 0,25 mg/mL			
			27/11/2009	+ 2,5 mg/mL			
			09/09/2010				+ 0,25 mg/mL (*)
		Pénicilline V	04/09/2007	-			
			09/09/2010				+ 0,25 mg/mL (*)
		Groupe II (M)	Oxacilline	04/09/2007	+ 2,5 mg/mL		
	27/11/2009			-			
	09/09/2010						+ 2,5 mg/mL
	Groupe III (A)	Amoxicilline	04/09/2007	+ 0,000025 mg/mL			
			27/11/2009	+ 0,000025 mg/mL			
			30/11/2009			+ 0,0000025 mg/mL (*)	+ 0,025 mg/mL (*)
			09/09/2010			+ 0,0000025 mg/mL (*)	-
		Ampicilline	09/09/2010				+ 0,25 mg/mL (*)
		Pipéracilline	04/09/2007	+ 0,25 mg/mL			
			27/11/2009	+ 2,5 mg/mL			
		Tazocilline	04/09/2007	+ 0,25 mg/mL			
		Ticarcilline	04/09/2007	+ 0,25 mg/mL			
			27/11/2009	+ 25 mg/mL			
			09/09/2010				-

Céphalosporines	CM	Céfoxitine	04/12/2009	-	+ 20 mg/mL		
		7-(2-aryl / 2-hétéroaryl-acétamido)-céphèmes	Céfaclor	04/12/2009	+		
	Céfadroxil		30/11/2009			+ 0,025 mg/mL (*)	+ 0,025 mg/mL (*)
			09/09/2010				-
	Céfalexine		04/12/2009	+			
	Céfamandole		04/12/2009	douteux	+ 0,025 mg/mL		
	Céfatrizine		30/11/2009				+ 0,025 mg/mL (*)
			04/12/2009	+			
			09/09/2010				-
	Céfazoline		04/12/2009	-	+ 2,0 mg/mL		
	Céfotiam		04/12/2009	-			
	Cefradine		04/12/2009	+			
	7-(2-hétéroaryl-2-alkoxyimino-acétamido)-céphèmes		Céfépime	04/12/2009	-	-	
		Céfixime	04/09/2007	-			
			04/12/2009	-			
		Céfotaxime	04/12/2009	douteux	+ 0,02 mg/mL		
			09/09/2010			+ 2,5 mg/mL	-
		Cefpodoxime	04/09/2007	-			
			04/12/2009	-			
		Ceftazidime	04/12/2009	-	-		
		Ceftriaxone	04/09/2007	+ 2,5 mg/mL			
			30/11/2009			+ 0,25 mg/mL (*)	
			04/12/2009	-	-		
			09/09/2010			+ 0,25 mg/mL (*)	-
		Céfuroxime	30/11/2009			+ 0,25 mg/mL (*)	
			04/12/2009	-	-		
			08/09/2010	-			
09/09/2010				+ 0,25 mg/mL (*)	+ 0,25 mg/mL (*)		

Carbapénèmes	Imipénème	04/09/2007	+			
			2,5 mg/mL			
		27/11/2009	-			
Monobactames	Aztréonam	04/09/2007	-			
		27/11/2009	-			

Tableau 3 : Comparaison des résultats obtenus en tests cutanés et en TAB pour la patiente #2. Concernant les TAB, le symbole () signifie qu'il s'agit de la plus faible concentration testée. CM = céphamycines.*

On observe une bonne concordance entre les résultats des tests cutanés et des TAB pour la molécule responsable du choc anaphylactique. Ces résultats indiquent une sensibilisation à la chaîne latérale de l'amoxicilline (identique à celles du céfadroxil et de la céfatrizine), ainsi qu'aux structures de base des pénicillines et des céphalosporines. Les réactivités croisées de cette patiente sont étendues et intéressent notamment les 7-(2-hétéroaryl-2-méthoxyimino-acétamido)-céphèmes (céfuroxime, ceftriaxone, céfotaxime) ainsi que les pénicillines du groupe I (G/V), II (oxacilline) et III (A).

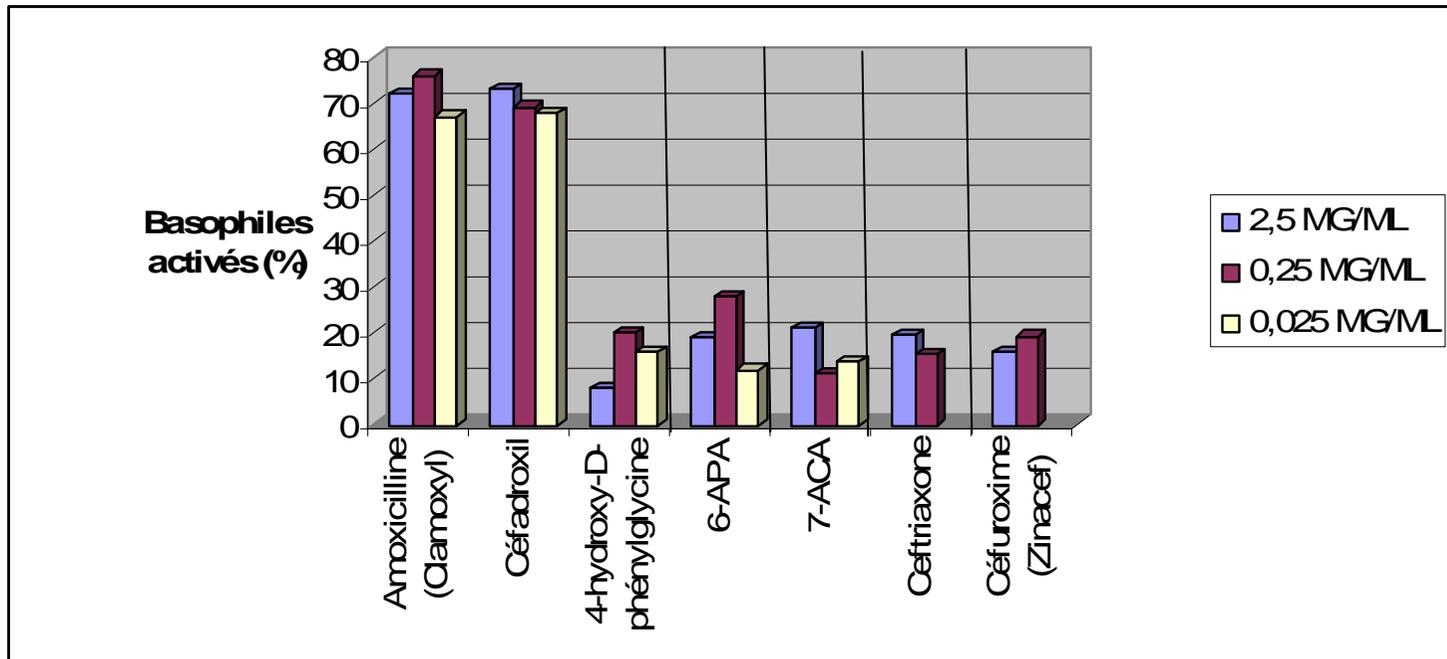


Figure 36 : Résultats du bilan TAB (technique CD203c) pour la patiente #2. Toutes les molécules testées sont positives.

➤ Patiente #3 (Mme J.M.) :

Cette patiente de 28 ans a présenté en 2001 un choc anaphylactique à l'amoxicilline (Augmentin[®], per os) : prurit des extrémités (paumes et plantes), urticaire généralisée, angiooedème et hypotension à 90 mm Hg. Il n'y avait pas de signes respiratoires ou digestifs associés. Le traitement administré au service d'accueil des urgences consistait en un remplissage, administration de corticostéroïdes (Solumédrol[®]) et de cétizirine (Zyrtec[®]). Le bilan allergologique, réalisé 8 ans après le choc, donnait des tests cutanés négatifs à l'amoxicilline. Les résultats des TAB (mai 2010) sont détaillés ci-dessous (Figure 37).

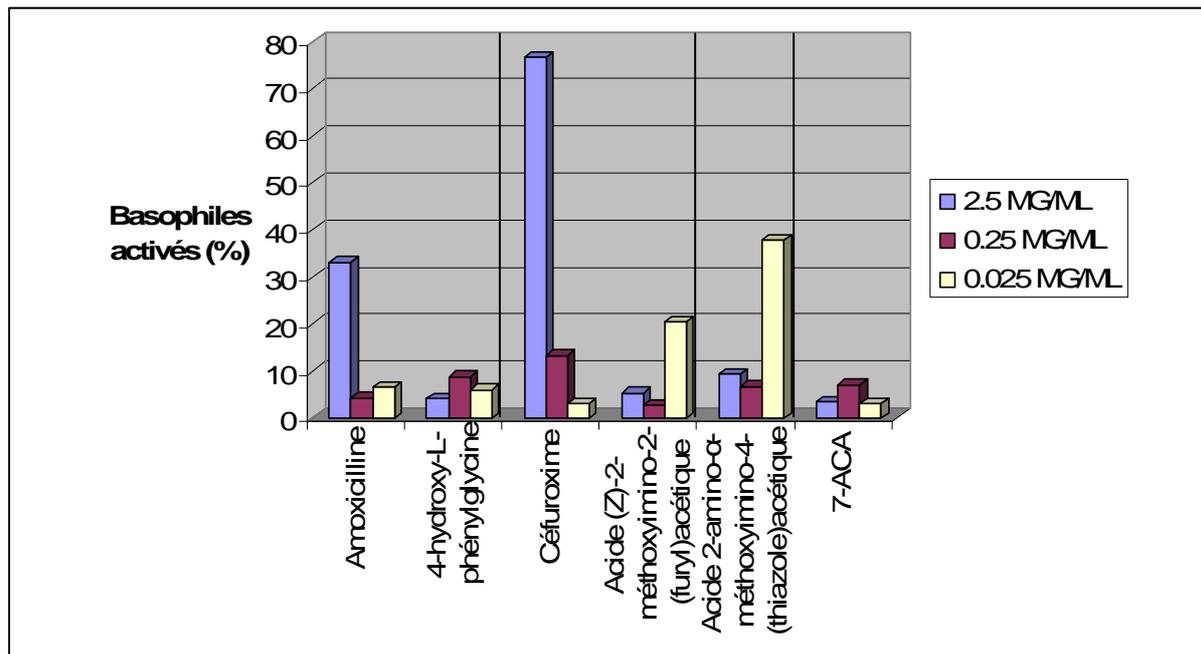


Figure 37 : Résultats du bilan TAB (technique CD 63) pour la patiente #3. L'acide 5-méthyl-3-phénylisoxazole-4-carboxylique (chaîne latérale de l'amoxicilline) est négatif.

Ces résultats indiquent une probable sensibilisation aux chaînes latérales de l'amoxicilline, du céfuroxime et de la ceftriaxone. Il ne semble pas exister de réactivité croisée avec les chaînes latérales des pénicillines du groupe II (type oxacilline). Par ailleurs, un autre bilan TAB (septembre 2010, technique CD203c) a montré l'absence de sensibilisation à la ceftazidime, à l'aztréonam ainsi qu'à l'ampicilline.

Conclusions et perspectives.

Les TAB constituent un outil diagnostique utile en allergie médicamenteuse. Il s'agit d'une procédure moins invasive que les tests cutanés et dépourvue de risque (Riezzo, 2010). Il permet de déceler d'autres sensibilisations que ces derniers.

Il s'agit d'une étude préliminaire portant sur 3 patients, dont les résultats sont à consolider et à confirmer par une étude prospective. Le choix des molécules et radicaux à tester doit être limité aux profils de réactivité du patient, basés sur l'exploration par tests cutanés (quand ceux-ci sont réalisables) et l'étude des RSA.

2. Allergie immédiate aux produits de contraste utilisés en IRM (gadolinés)

Introduction.

Le premier produit de contraste IRM a été mis sur le marché aux Etats-Unis, en Europe et au Japon en 1988 (Magnevist[®], Gd-DTPA). Ces produits sont largement utilisés en imagerie médicale, et ils sont généralement considérés comme sûrs. Cependant, ils peuvent être responsables d'effets secondaires rares, mais potentiellement graves. Ainsi, l'anaphylaxie induite par ces produits présente une incidence qui varie de 0,004 à 0,01 % selon les auteurs (Li, 2006 ; Herborn, 2007). Seules quelques observations sont disponibles dans la littérature, la plupart n'ayant pas fait l'objet d'études systématiques des réactivités croisées (données des tests cutanés souvent incomplètes). La première réaction anaphylactique systémique à un produit de contraste IRM a été décrite en 1990 (gadopentetate de dimeglumine / Gd-DTPA ; Weiss, 1990). En 2003, Beaudouin et coll. ont publié le premier cas d'anaphylaxie au gadoterate de meglumine (Gd-DOTA), documenté par tests cutanés et test d'histaminolibération leucocytaire (Beaudouin, 2003). En 2008, notre équipe a réintroduit un produit de contraste IRM suite à un choc anaphylactique sur la base de l'étude des réactivités croisées par une approche RSA (Hasdenteufel, 2008).

Physico-chimie des produits de contraste IRM gadolinés.

Les produits de contraste IRM peuvent être soit à base de gadolinium (Gd), soit à base de manganèse (Mn). L'ion Gd^{3+} (gadolinium (III), famille des lanthanides) possède 7 électrons non appariés, ce qui permet de conférer à la molécule des propriétés paramagnétiques exploitables en IRM. Cependant, l'ion gadolinium (III) libre est toxique (blocage du système réticulo-endothélial, échange avec les ions calcium endogènes), et ne pourrait être administré en l'état chez l'homme ; c'est pourquoi il est utilisé sous forme de *chélates*. L'ion gadolinium possède au total 9 sites de coordination.

Parmi les agents chélatants utilisés, il existe des ligands macrocycliques (type DOTA) ou linéaires (*open-chain*, type DTPA). La classification chimique usuelle des produits de contraste IRM distingue les agents macrocycliques des agents linéaires (Figures 38 à 40). Une autre classification possible repose sur le caractère ionique ou non-ionique de ces molécules.

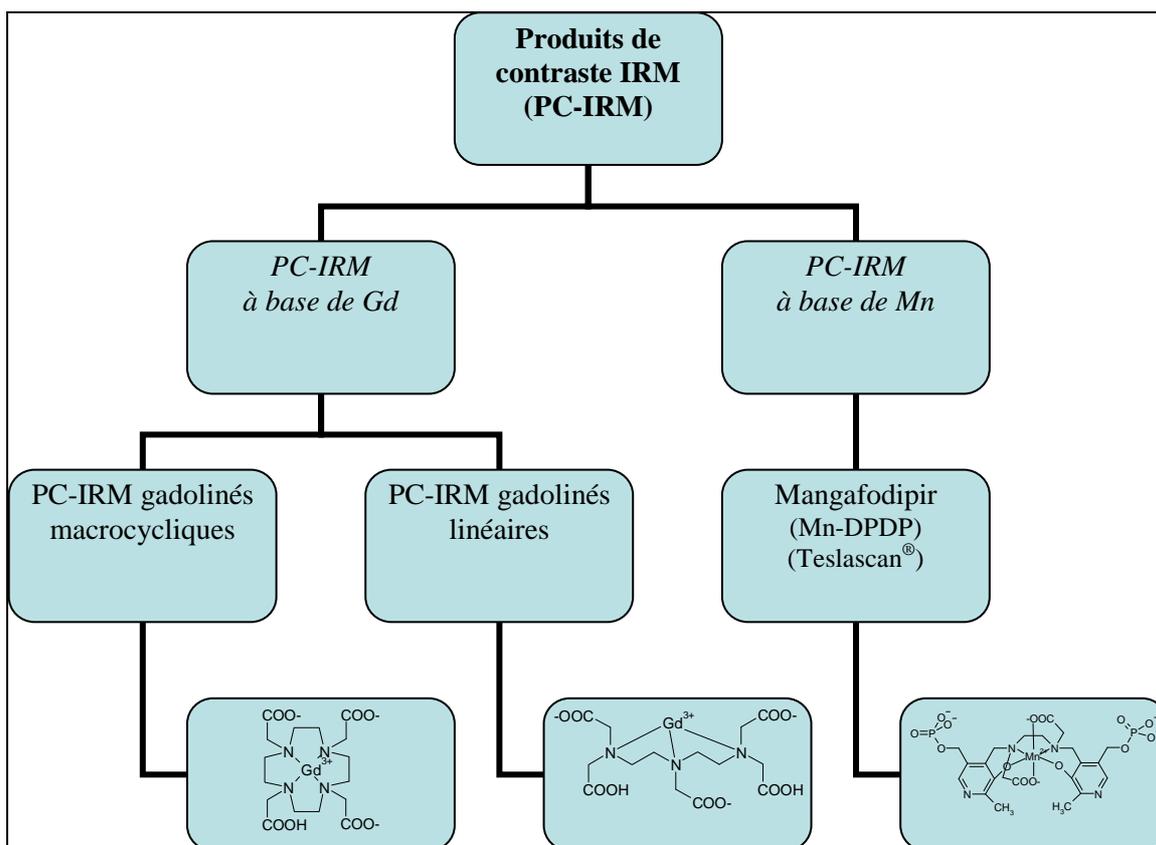


Figure 38 : Classification chimique des produits de contraste IRM. Il est également possible de classer ces produits en composés ioniques et non-ioniques.

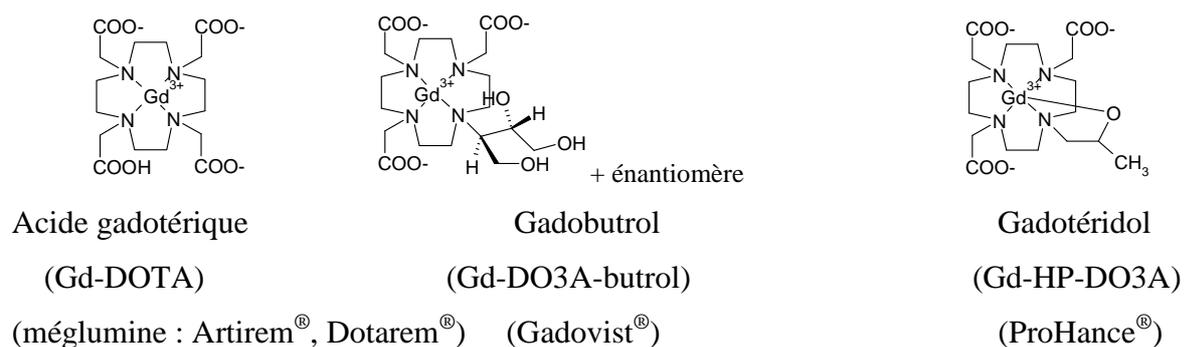
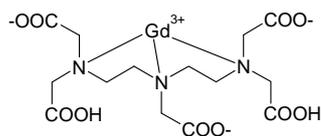


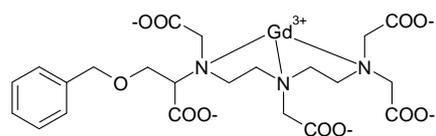
Figure 39 : Formules chimiques semi-développées des produits de contraste gadolinés macrocycliques.



Acide gadopentétique

(Gd-DTPA)

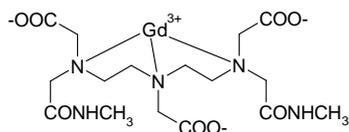
(diméglumine : Magnévist[®])



Acide gadobénique

(Gd-BOPTA)

(diméglumine : MultiHance[®])



Gadodiamide

(Gd-DTPA-BMA)

(Omniscan[®])

Figure 40 : Formules chimiques semi-développées des produits de contraste gadolinés linéaires.

Cas cliniques.

Nous nous sommes intéressés à quatre observations de choc anaphylactique aux produits de contraste IRM survenus au décours de la première exposition du patient. Dans tous les cas, aucune autre exposition préalable au gadolinium (métallurgie, fabriques d'aimants, lampes fluorescentes...) n'a été retrouvée.

Patient #1. Une femme de 61 ans, sans antécédents allergiques, a présenté un choc anaphylactique lors de sa première exposition au Gd-DOTA lors d'une angiographie carotidienne : érythème généralisé, hypotension quelques minutes après l'injection. Le traitement a consisté en un remplissage vasculaire sans administration d'adrénaline.

Patient #2. Un homme de 72 ans dépourvu d'antécédents allergiques a présenté un choc anaphylactique quelques minutes après l'administration de Gd-DOTA lors d'une IRM cérébrale : bronchospasme, urticaire généralisée, angiooedème facial et collapsus. Le traitement était basé sur un remplissage vasculaire, assorti de l'administration d'adrénaline et de corticostéroïdes.

Patiente #3. Une femme de 69 ans, sans antécédents allergiques, présente un choc anaphylactique quelques minutes après l'injection de Gd-DOTA lors d'une IRM hépatique : érythème généralisé, angiooedème facial et bronchospasme avec hypoxémie. Le traitement a consisté en un remplissage vasculaire, complété par l'administration de corticostéroïdes, d'un antihistaminique H₁ et de bronchodilatateur.

Patiente #4. Une femme de 22 ans a présenté un choc anaphylactique 2 minutes après l'administration de Gd-BOPTA pour une IRM cérébrale : érythème généralisé, collapsus. Le traitement comprenait remplissage vasculaire et administration de corticostéroïdes.

Pour ces 4 patients, des tests cutanés ont été réalisés conformément aux recommandations émises par l'ENDA et l'EAACI (Tableau 4). Les prick-tests et intradermoréactions ont été réalisés avec 3 produits de contraste IRM macrocycliques et 3 produits de contraste IRM linéaires. Dix patients qui avaient déjà subi une IRM avec une bonne tolérance et qui présentaient des tests cutanés négatifs ont servi de témoins négatifs.

<i>Patient #</i>	<i>Âge</i>	<i>Sexe</i>	<i>Produits de contraste IRM macrocycliques</i>			<i>Produits de contraste IRM linéaires</i>			<i>Test de réintroduction</i>
			Gd-DOTA	Gd-HP-DO3A	Gd-DO3A-butrol	Gd-DTPA	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	
1	61	F	PT - IDR +	PT - IDR +	PT - IDR +	PT - IDR -	PT - IDR -	PT - IDR -	- (Gd-DTPA)
2	72	M	PT + *****			PT - IDR -	PT - IDR -	PT - IDR -	
3	69	F	PT - IDR +	PT - IDR +	PT - IDR +	PT - IDR -	PT - IDR -	PT - IDR -	- (Gd-DTPA)
4	22	F	PT - IDR -	PT - IDR -	PT - IDR -	PT - IDR -	PT - IDR +	PT - IDR -	- (Gd-DOTA)

Tableau 4 : Résultats des tests cutanés et des tests de réintroduction. Malheureusement, le patient #2 est décédé d'un cancer de la vessie pendant cette étude ; les tests cutanés

complémentaires au Gd-HP-DO3A et au Gd-DO3A-butrol ainsi que le test de réintroduction n'ont pas pu être menés.



Photographie 1 : Intradermoréaction positive au gadotérate de méglumine (Dotarem®).

Étude des relations structure-activité.

Pour les 3 premiers patients, le gadotérate de méglumine (GD-DOTA) était responsable du choc. Tous les PC-IRM macrocycliques ont conduit à des tests cutanés positifs, alors que les tests cutanés aux PC-IRM linéaires étaient négatifs. Chez ces patients, l'étude des relations structure-activité a postulé l'implication du ligand *tétraazacyclododécane* (présent dans la structure de tous les PC-IRM macrocycliques ; Figure 41) dans la genèse de la réaction.

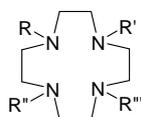


Figure 41 : Formule chimique semi-développée du ligand tétraazacyclododécane.

Pour la quatrième patiente, le choc anaphylactique était imputable au gadobénate de diméglumine (Gd-BOPTA), un PC-IRM de structure linéaire. Le Gd-BOPTA était le seul PC-IRM à donner des tests cutanés positifs. Dans ce cas, l'étude des relations structure-activité met en évidence la chaîne latérale *benzyloxyméthyl* (présente uniquement dans la structure du Gd-BOPTA) comme probable responsable de la monosensibilisation de la patiente (Figure 42).

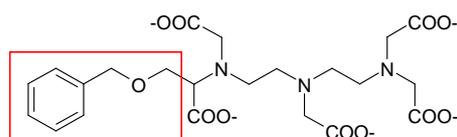


Figure 42 : formule chimique semi-développée du ligand BOPTA. Le radical benzyloxyméthyl est encadré en rouge.

Validation clinique.

De la même manière que pour les antibiotiques bêta-lactames, il a été cherché un PC-IRM alternatif pour ces patients chez lesquels l'administration ultérieure de ce type de produit était indiquée. En se basant sur les mêmes critères que précédemment (négativité des tests cutanés, étude des relations structure-activité compatible et similarité des indications thérapeutiques) :

- ✓ Les patientes #1 et #3 donnèrent leur consentement éclairé pour un test de réintroduction du Gd-DTPA (PC-IRM *linéaire*) sous surveillance médicale intensive. Le Gd-DTPA fût bien tolérée jusqu'à une dose cumulée de 0,1 mmol/kg, administrée par voie intraveineuse sur une période de 15 minutes.
- ✓ La patiente #4 donna son consentement éclairé pour un test de réintroduction du Gd-DOTA (PC-IRM *macrocyclique*) sous surveillance médicale intensive. Le Gd-DOTA fût bien toléré jusqu'à une dose cumulée de 0,1 mmol/kg, administrée par voie intraveineuse sur une période de 15 minutes.

Conclusions et perspectives.

Cette étude démontre que certains patients allergiques aux PC-IRM macrocycliques peuvent tolérer l'administration de PC-IRM linéaires, et inversement. Il faut souligner le fait que chaque patient (ou petit groupe de patient) possède son propre schéma de réactivité croisée ; ceci met en exergue la nécessité de réaliser des tests cutanés appropriés et d'analyser ces résultats par différentes méthodes, y compris l'analyse des relations structure-activité, pour déterminer quelles molécules doivent être évitées et quelles autres peuvent être proposées au patient pour une réintroduction.

En ce qui concerne une éventuelle validation immuno-chimique, la réalisation de TAB avec les ligands d'intérêt est impossible du fait du pouvoir chélatant de ces molécules (chélation du calcium endogène). D'autres approches doivent donc être envisagées.

3. Allergie médicamenteuse immédiate en allerge - anesthésie

Introduction.

Les réactions d'hypersensibilité immédiate aux curares constituent une préoccupation majeure en anesthésie – réanimation ; les curares sont des médicaments essentiels en anesthésie et l'évolution des réactions d'hypersensibilité immédiate à ces composés peut être défavorable et conduire au décès du patient. Ces réactions peuvent survenir lors de la première injection du produit (jusqu'à 75 % des cas en Australie ; Baldo, 2008). Selon les pays, on estime la prévalence de ces réactions entre 1 :200000 et 1 :5000 patients (Mertes, 2008). En France, leur incidence est évaluée à environ 1 :5400 patients d'après une étude récente (Mertes, 2011).

Classification et physico-chimie des curares.

Les curares actuellement sur le marché peuvent être classés selon leur mécanisme pharmacologique (curares dépolarisants (non-compétitifs) et curares non-dépolarisants (compétitifs)) ainsi que selon leur structure chimique (dérivés de la choline, dérivés aminostéroïdes et dérivés benzyloisoquinoliniques) (Figures 43 à 45). Quel que soit le sous-type de curare, 2 atomes d'azote sont toujours présents au sein de la molécule : on parle de « *divalence* » des curares. Cette divalence est responsable des effets pharmacologiques (liaison à la sous-unité α du récepteur ACh) de ces molécules.

Par ailleurs, ces fonctions azotées (ammonium quaternaire ou amine tertiaire) représenteraient tout ou partie du déterminant allergénique impliqué dans les réactions d'hypersensibilité immédiate aux curares. Compte-tenu du fait qu'il existe de nombreux schémas de réactivité croisée entre curares, il semble probable que des groupements vicinaux à ces fonctions azotées soient également reconnus par les patients (Baldo, 1993 ; Mertes, 2010 ; cf. première partie, second paragraphe).

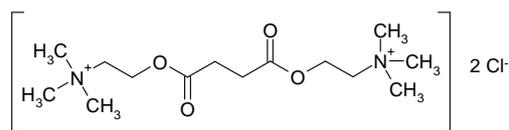
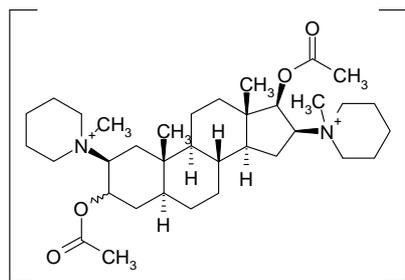
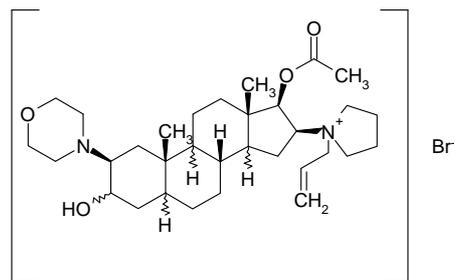


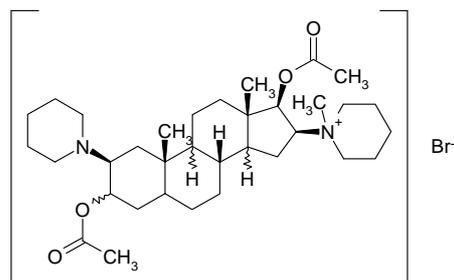
Figure 43 : Formule chimique semi-développée du chlorure de suxaméthonium (succinylcholine, Celocurine[®], curare dépolarisant). La structure chimique de ce composé, hautement flexible, dérive de celle de 2 molécules de choline (= triméthylaminoéthanol).



Pancuronium bromure (Pavulon[®])

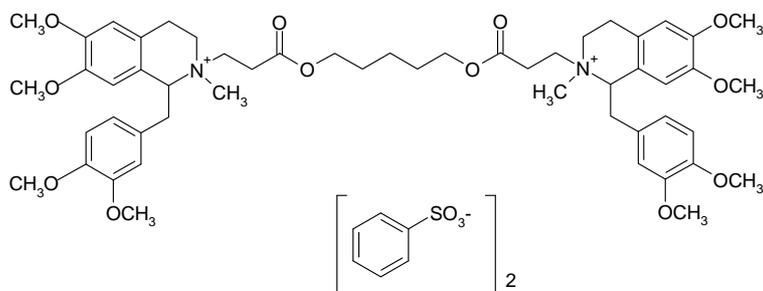


Rocuronium bromure (Esmeron[®])

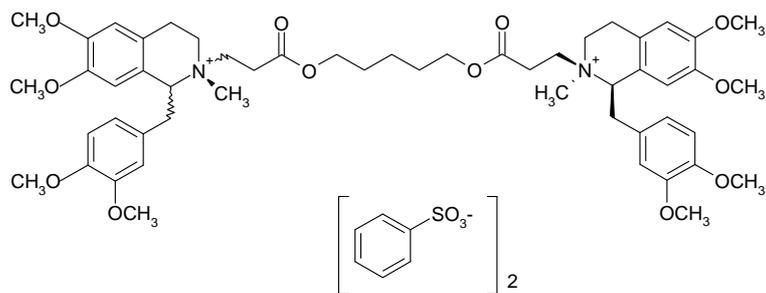


Vécuronium bromure (Norcuron[®])

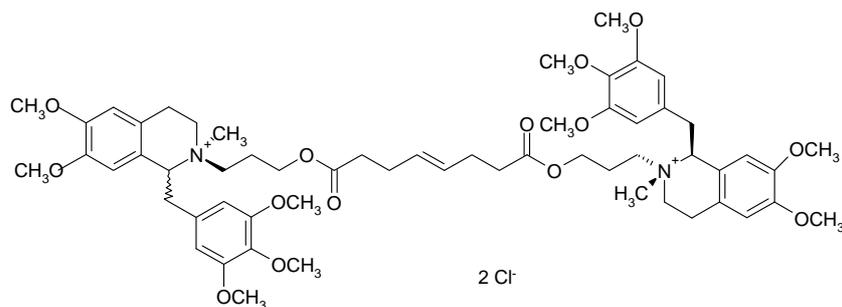
Figure 44 : Formules chimiques semi-développées des curares non-dépolarisants de type aminostéroïdes.



Atracurium bésilate (Tracrium[®])



Cisatracurium bésilate (Nimbex[®])



Mivacurium chlorure (Mivacron[®])

Figure 45 : Formules chimiques semi-développées des curares non-dépolarisants de type benzyloquinolinones. Ces composés présentent une structure beaucoup plus « rigide » que la succinylcholine.

Etude des relations structure – activité (en cours).

Nous avons analysé de manière rétrospective les données de 1085 patients (795 femmes et 290 hommes) ayant présenté une réaction d’hypersensibilité immédiate aux curares et issus de la base du GERAP. En nous basant sur les résultats du bilan allergologique (tests cutanés), nous avons étudié les schémas de réactivité croisée entre les différents curares. Les investigations préliminaires (données non publiées ; Tableau 5) indiquent les résultats suivants :

- La succinylcholine croise le plus souvent avec les curares aminostéroïdes, et notamment avec le vécuronium (67 cas),
- Les curares aminostéroïdes croisent le plus souvent avec d’autres curares aminostéroïdes,
- Les patients ayant présenté une réaction d’hypersensibilité aux curares benzyloquinolinoniques possèdent des schémas de réactivité croisée plus hétérogènes. Comme l’on pouvait s’y attendre, il existe un fort pourcentage de réactivité croisée entre

atracurium et *cis*-atracurium (le *cis*-atracurium constitue l'isomère 1*R*-*cis* 1'*R*-*cis* de l'atracurium, alors que ce dernier est un mélange de 10 stéréoisomères différents).

Molécule responsable		Données	n patients %	♂ / ♀ %	Âge : moyenne +/- SD	Résultats des tests cutanés						
						Curare dépolarisant	Curares non dépolarisants					
							Aminostéroïdes			Benzylisoquinolinones		
							Succinylcholine CELOCURINE®	Pancuronium PAVULON®	Rocuronium ESMERON®	Vécuronium NORCURON®	Atracurium TRACRIUM®	Cisatracurium NIMBEX®
Curare dépolarisant	Succinylcholine	358	98 / 260	Manque valeurs		52	52	67	35	28	19	
		33,0%	27,4 % / 72,6 %									
Curares non dépolarisants	Aminostéroïdes	Pancuronium	40	16 / 24	52,8 +/- 12,4	8		6	11	2	0	0
		Rocuronium	314	75 / 239	48,7 +/- 15,2	76	104		120	17	16	16
		Vécuronium	110	19 / 91	Manque valeurs	20	32	22	(2/3)	9	10	7
	Benzylisoquinolinones	Atracurium	218	65 / 153	43,8 +/- 15,7	39	24	29	44		40	27
		Cisatracurium	18	8 / 10	54,3 +/- 16,6	4	3	3	3	11		6
		Mivacurium	27	9 / 18	41,0 +/- 23,1	5	4	3	8	3	2	
TOTAL		1085	290 / 795	Manque valeurs	152	218	112	253	77	96	75	

Tableau 5 : Étude des réactivités croisées chez 1085 patients ayant présenté une réaction d'hypersensibilité immédiate aux curares. Rouge : composés présentant le nombre le plus élevé de réactivités croisées ; vert : composés présentant le nombre le plus faible de réactivités croisées.

4. Allergie immédiate à l'insuline humaine recombinante

Problématique.

L'allergie à l'insuline humaine et à ses analogues est rare : sa prévalence est estimée à moins de 1%. Pour ces patients pour lesquels l'administration de cette molécule se révèle indispensable, des protocoles d'accoutumance ont été développés. L'objectif de ces derniers est d'induire un état de tolérance vis-à-vis du médicament responsable de la réaction allergique, permettant ainsi son utilisation pour le traitement du patient.

Cas clinique. Matériel et méthodes.

Un homme de 50 ans, atteint d'un diabète de type 2, est traité par glimépiride (6 mg/j), rosiglitazone (4 mg/j) et une injection sous-cutanée quotidienne d'insuline humaine recombinante associée à la protamine (Insulatard®). Un an après l'initiation de l'insulinothérapie, il a présenté une anaphylaxie quelques minutes après une injection sous-cutanée : angiooedème du visage et laryngé, prurit, hypotension (90 mmHg), lipothymie, diarrhée. Depuis 2 mois, des vertiges, des bouffées de chaleur et un prurit généralisé surviennent immédiatement après les injections.

Les tests cutanés (prick-tests et IDR) ont été menés conformément aux recommandations du groupe ENDA de l'EAACI avec les molécules suivantes : insulines humaine, asparte, lispro, détémir, glargine ainsi que les excipients (protamine, métacrésol, zinc, paraben phénol, glycérol, disodium phosphate dihydrate). Les insulines étaient testées aux concentrations de 0,1 à 100 UI/mL, la protamine de 0,035 à 350 µg/mL.

Le pouvoir bloquant du sérum a été évalué à l'aide d'un test de Maunsell. Des concentrations croissantes (d'un facteur 10) d'insuline étaient mélangées à parts égales avec le sérum du patient et incubées pendant 24 heures à température ambiante. Des IDR étaient réalisées d'une part avec ces solutions et d'autre part avec des mélanges insuline (concentrations croissantes) – sérum physiologique. La présence d'un pouvoir bloquant sérique était définie par un gain d'une dilution du seuil de réactivité cutanée des mélanges insuline – sérum autologue par rapport aux mélanges insuline – sérum physiologique.

La majoration de la dose de rosiglitazone à 8 mg/j n'ayant pas suffi à restaurer un équilibre glycémique satisfaisant, la mise en place d'un protocole d'accoutumance rapide était

décidée six semaines après le choc anaphylactique. L'induction de la tolérance était réalisée en unité de réanimation médicale. Elle consistait en une injection toutes les 20 minutes d'insuline humaine recombinante sans protamine (Actrapid®), à des volumes et des concentrations croissantes (Tableau 6).

Volume (mL)	Concentration (UI/mL)	Voie d'administration
0,02	0,05	Intradermique
0,04	0,05	Intradermique
0,08	0,05	Intradermique
0,02	0,5	Intradermique
0,04	0,5	Intradermique
0,08	0,5	Intradermique
0,02	5	Sous-cutanée
0,04	5	Sous-cutanée
0,08	5	Sous-cutanée
0,02	50	Sous-cutanée
0,04	50	Sous-cutanée
0,08	50	Sous-cutanée

Tableau 6 : Détail du protocole d'accoutumance à l'insuline recombinante humaine sans protamine (Actrapid®).

La douzième injection était suivie d'un doublement de la dose toutes les 4 heures, et ce jusqu'à l'obtention de la dose permettant le contrôle glycémique. La tolérance était ensuite maintenue en associant deux analogues d'insuline humaine sans protamine : une injection sous-cutanée d'insuline asparte avant chaque repas et une injection sous-cutanée d'insuline glargine au coucher. Vingt-quatre heures après le début du protocole d'accoutumance, les injections étaient réalisés au domicile par le patient.

Des dosages d'IgE et d'IgG4 spécifiques de l'insuline ainsi que des TAB étaient réalisés afin de préciser la cinétique à long terme des paramètres biologiques d'acquisition de la tolérance. Les dosages des IgE et IgG4 spécifiques étaient réalisés par technique ImmunoCAP™ (Phadia, Suède). Les TAB ont été réalisés en cytométrie de flux (Allergenicity Kit, Immunotech, Marseille). Après triple marquage CRTH2-FITC / CD203c-PE / CD3-PC7, identification et acquisition d'au moins 500 basophiles, le sang total du patient a été incubé avec une solution de témoin négatif, de témoin positif (anti-IgE humaines) et de dilutions d'allergènes. Le témoin négatif précise le seuil d'expression spontanée du CD203c au-dessus duquel se situent au maximum 5 % des basophiles ; le témoin positif évalue quant à lui le pourcentage maximal de basophiles activables. Le test est considéré comme positif si plus de 15 % des basophiles expriment le CD203c au-delà du seuil

d'expression spontanée. Les différentes solutions ont été réalisées par dilutions successives d'un facteur 10 à partir d'insuline à 100 UI/mL. La sensibilité des basophiles était définie par l'inverse de la concentration d'allergène correspondant à 50 % de l'activation maximale, multiplié par 100.

Résultats.

Le bilan allergologique était réalisé 10 jours après le choc anaphylactique. Les tests cutanés étaient positifs pour l'insuline humaine recombinante en prick-test pur (100 UI/mL, papule de 5mm de diamètre, témoin codéine à 3mm, témoin histamine à 5 mm). Deux analogues rapides (asparte et lispro) et deux analogues lents (glargine et détémir) étaient testés en prick-tests et en IDR. Les prick-tests étaient positifs pour l'insuline asparte à 100 UI/mL (3 mm). Les insulines lispro, glargine et détémir étaient positives en IDR (à respectivement 10 UI/mL, 0,1 UI/mL et 0,1 UI/mL). Les tests cutanés aux excipients de l'insuline responsable du choc anaphylactique étaient positifs pour la protamine en IDR à la concentration de 3,5 µg/mL.

Le protocole d'accoutumance rapide était réalisé sans prémédication et était bien toléré, hormis des réactions érythémateuses locales, légères et transitoires qui n'ont pas nécessité de traitement. La tolérance était maintenue avec un recul de deux ans en associant les deux analogues asparte et glargine. Une trousse d'urgence contenant un corticoïde, un anti-histaminique et de l'adrénaline auto-injectable était prescrite par précaution et n'a pas dû être utilisée. La dose d'insuline permettant un contrôle glycémique était supérieure à celle d'avant le choc anaphylactique (66 UI contre 26 UI). À 3 mois, les tests cutanés à l'insuline humaine restaient positifs aux mêmes concentrations qu'initialement, mais le test de Maunsell montrait une moindre réactivité des solutions d'insuline-sérum autologue par rapport aux solutions d'insuline-sérum physiologique (seuil de concentration d'insuline pour IDR positive : 10^{-1} versus 10^{-2} respectivement). Les tests cutanés à l'insuline humaine étaient négatifs à 16 et 24 mois. Des IgE spécifiques de l'insuline humaine étaient initialement décelées au taux de 3,32 kU/L. Elles n'étaient pas détectées pour la protamine. Les taux d'IgE spécifiques de l'insuline humaine baissaient de 3,32 à 2,12 ; 0,40 et 0,28 kU/L, à respectivement 3, 16 et 24 mois. Les taux d'IgG4 spécifiques de l'insuline humaine augmentaient de 180 à 350, 440, 640 et 580 µg/mL, à respectivement 2, 3, 5 et 26 mois. Les TAB étaient positifs pour toutes les insulines, les analogues asparte, lispro et détémir activant moins les basophiles que l'insuline humaine (Figure 46). Le TAB à la protamine était positif

chez le patient et négatif chez 2 sujets témoins non diabétiques. Dès 3 mois, le TAB à la concentration de 0,1 UI/mL d'insuline humaine était négatif (Figure 47). On observait ensuite une baisse continue de la sensibilité des basophiles à l'insuline humaine qui passait de 3650 à 306, 20 et 6, à respectivement 3, 16 et 24 mois.

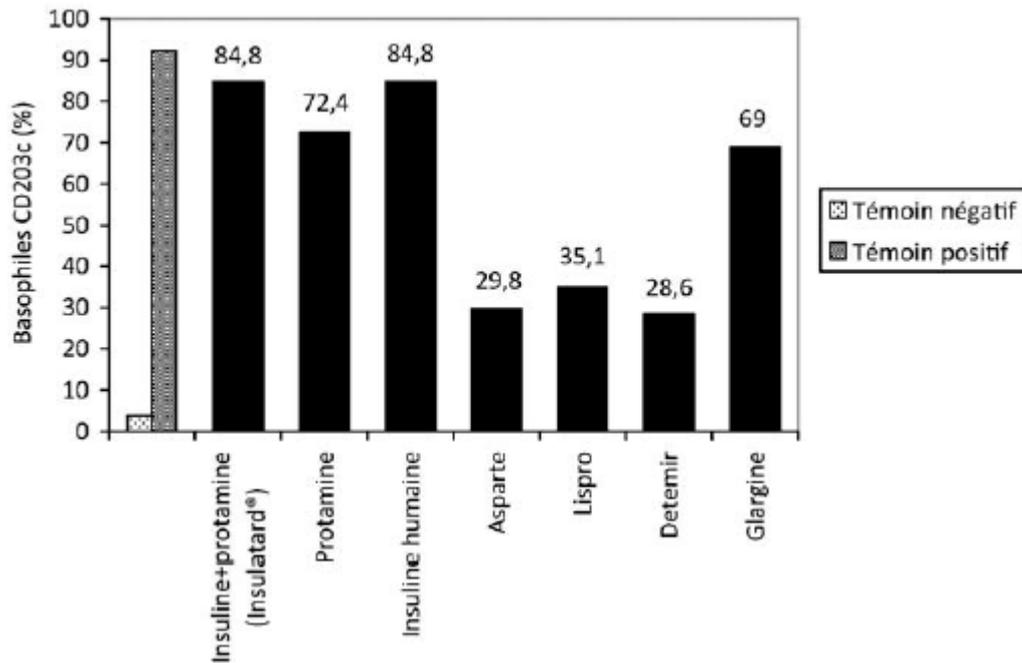


Figure 46 : Tests d'activation des basophiles aux insulines (0,1 UI/mL) et à la protamine (0,35 µg/mL) (avant réalisation du protocole d'accoutumance).

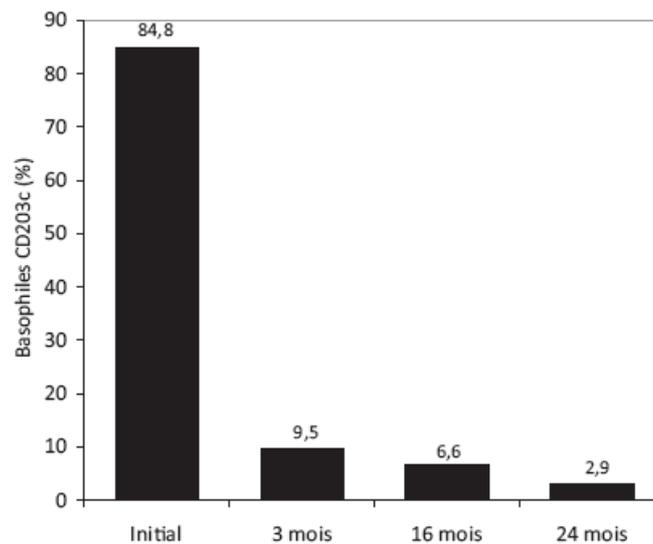


Figure 47 : Évolution du pourcentage de basophiles activés par l'insuline humaine (0,1 UI/mL) au cours du temps.

Etude des relations structure-activité.

L'extrémité C-terminale de la chaîne B de l'insuline humaine est constituée des acides aminés Pro, Lys et Thr en positions B28, B29 et B30 respectivement. L'octapeptide situé en position C-terminale de la chaîne B est impliqué dans le comportement d'auto-association de l'insuline, alors que les cinq derniers acides aminés ne sont pas essentiels à l'obtention d'une activité biologique *in vitro* (Mayer, 2007). Par ailleurs, B30 a été proposé comme l'un des sites potentiels de reconnaissance antigénique par plusieurs auteurs (Kumar, 1979 ; Yokoyama, 2003).

Les analogues rapides de l'insuline humaine ont été modifiés au niveau de l'acide aminé 28 (Asp versus Pro pour l'insuline asparte), des acides aminés 28 et 29 (Lys-Pro versus Pro-Lys pour l'insuline lispro) ou des acides aminés 3 et 29 (Lys versus Asn et Glu versus Lys, respectivement ; insuline glulisine) de la chaîne B. Les analogues lents sont représentés par l'insuline detemir et l'insuline glargine. Dans le cas de l'insuline detemir, une chaîne d'acide gras longue (type myristoyl, acide gras en C₁₄) est greffée sur la Lys en position B29, la Thr en position B30 étant supprimée. L'insuline glargine résulte quant à elle de l'addition de 2 résidus Arg à l'extrémité C-terminale de la chaîne B ainsi que d'une modification de la chaîne A en position 21 (Gly versus Asn) (Figure 48).

Ces modifications et substitutions d'acides aminés aux positions B28 et B29 pourraient conduire à un changement de structure tridimensionnelle, affecter la balance hydrophilie / lipophilie et modifier la répartition des charges électriques de l'extrémité C-terminale de la chaîne B. Ceci expliquerait pourquoi les insulines asparte, lispro et detemir sont moins allergéniques (*i.e.* activent moins les basophiles) chez notre patient. Le cas de l'insuline glargine est particulier dans le sens où son catabolisme aboutit à deux composés structurellement proches de l'insuline humaine (A21-Gly-insuline et A21-Gly-des-30B-Thr-insuline). Cette dégradation débiterait au site d'injection et se poursuivrait dans la circulation sanguine (Kuerzel, 2003). Cela pourrait expliquer pourquoi l'allongement de la chaîne B par deux résidus Arg n'a pas les mêmes conséquences, en terme d'allergénicité chez notre patient, que les modifications de B28 et B29 retrouvées sur les autres analogues, et pourquoi la réactivité des basophiles à l'insuline glargine est proche de celle de l'insuline humaine.

Conclusions.

La baisse de la sensibilité des basophiles, évaluée par tests d'activation, apparaît être un marqueur cellulaire d'efficacité de l'accoutumance médicamenteuse, plus précoce que les tests cutanés et les dosages des IgE spécifiques. Les TAB constituent des tests intéressants pour le diagnostic et le suivi de l'accoutumance aux médicaments, notamment pour ceux pour lesquels un dosage d'IgE spécifiques n'est pas disponible commercialement.

Extrémité de la chaîne A (AA 8 à 21)

Extrémité de la chaîne B (AA 20 à 30-32)

Humaine	-Thr-Ser-Ile-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn-OH	-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Thr-OH
Asparte (Novorapid®)	-Thr-Ser-Ile-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn-OH	-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Asp-Lys-Thr-OH
Glargine (Lantus®)	-Thr-Ser-Ile-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Gly-OH	-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Thr-Arg-Arg-OH
Lispro (Humalog®)	-Thr-Ser-Ile-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn-OH	-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Lys-Pro-Thr-OH
Bovine	-Ala-Ser-Val-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn-OH	-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Ala-OH
Porcine	-Thr-Ser-Ile-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn-OH	-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Ala-OH

QUATRIÈME PARTIE :

ÉTUDE DES RSA DANS LES RÉACTIONS D'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE AU VISIPAQUE[®] (IODIXANOL)

Dans cette troisième et dernière partie, nous allons nous intéresser à un exemple d'application de l'étude des RSA en allergie médicamenteuse retardée : le Visipaque[®] (DCI : iodixanol), un produit de contraste iodé (PCI).

Problématique.

Plus de 70 millions d'injections de PCI sont pratiquées par an dans le monde (Christiansen, 2005). On estime que les réactions d'hypersensibilité retardée aux PCI (délai de survenue compris entre 1 heure et 1 semaine ; Kanny, 2005) surviennent chez 1 à 3 % des patients (Christiansen, 2005), et que les réactions d'hypersensibilité retardée à l'iodixanol concernent environ 0,4 % des patients (Hauessler, 2010).

Les tests cutanés réalisés dans le cadre des réactions d'hypersensibilité retardée aux PCI ont une faible valeur prédictive négative et leur valeur diagnostique apparaît insuffisante (Vernassiere, 2004). Les objectifs de notre étude étaient de présenter une série de patients ayant présenté une réaction d'hypersensibilité retardée à l'iodixanol, d'étudier leur profil de réactivité croisée en tests cutanés et enfin d'évaluer la possibilité de réintroduction d'un autre PCI (Hasdenteufel, 2011).

Physico-chimie des produits de contraste iodés.

Tous les PCI disponibles possèdent un ou deux noyaux benzéniques tri-iodés (l'iode (numéro atomique : 53) qui sont responsables du pouvoir opacifiant de ces molécules, essentiellement par effet photo-électrique) sur lesquels sont greffés des chaînes latérales

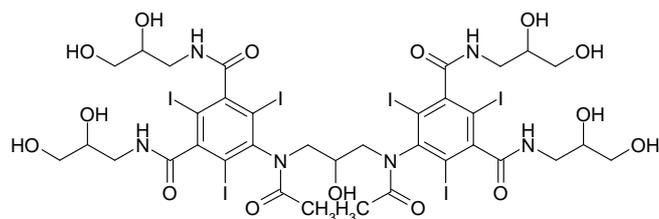
contenant des motifs hydrophiles (type acide carboxylique, carboxamide, hydroxyle), qui influent sur leur profil pharmacologique ainsi que sur leur solubilité aqueuse (Figure 49).

Les PCI peuvent être classés selon plusieurs critères : caractère ionique ou non-ionique, osmolalité (produits hyperosmolaires, isoosmolaires ou hypoosmolaires au plasma sanguin), structure chimique monomérique ou dimérique (Tableau 7). Historiquement, les premiers PCI disponibles sur le marché étaient des composés monomériques mono-iodés, di-iodés puis tri-iodés (exemple : amidotrizoate de sodium et de méglumine, Radioselectan[®]), dont l'osmolalité était élevée. L'osmolalité est un paramètre physico-chimique important pour la bonne tolérance du produit, car elle implique des échanges hydriques plus ou moins importants entre les compartiments vasculaires et extra-vasculaires ; en règle générale, les PCI de basse osmolalité causeront moins d'effets indésirables à l'injection (douleurs à l'injection et sur les trajets vasculaires, bouffées de chaleur, diurèse osmotique, déshydratation cellulaire) que les PCI de haute osmolalité (Silberstein, 2000). Pour abaisser l'osmolalité, 2 stratégies de développement ont été employées :

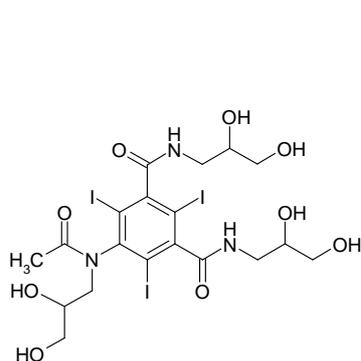
- Passage à une structure dimérique (ioxaglate de sodium et de méglumine, Hexabrix[®]),
- Conception de composés monomériques non-ioniques (type iohexol, Omnipaque[®]).

L'iodixanol (Visipaque[®]) associe ces 2 évolutions : il s'agit actuellement du seul PCI dimérique non-ionique disponible en France.

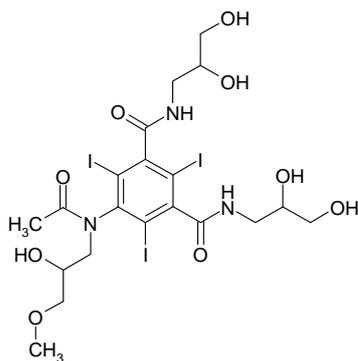
La viscosité constitue un autre paramètre influant sur le profil de tolérance des PCI. Plus la solution est visqueuse, plus le bolus sera compact et la vitesse d'administration lente. Certains PCI très visqueux sont également suspectés de posséder une agressivité directe vis-à-vis de l'endothélium vasculaire. Dans le cas des PCI ioniques, la viscosité dépend également de la nature du contre-ion utilisé (les sels de méglumine sont plus visqueux que ceux de sodium).



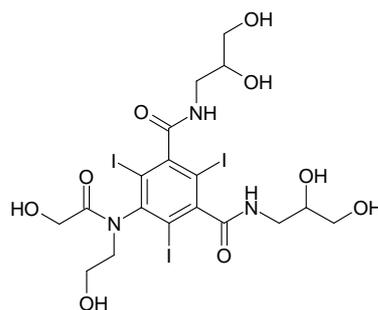
Iodixanol
(**VISIPAQUE®**)



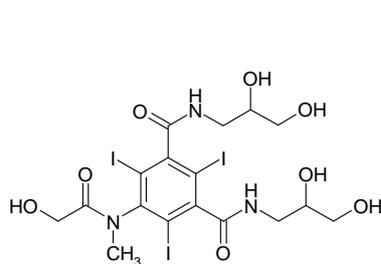
Iohexol
(**OMNIPAQUE®**)



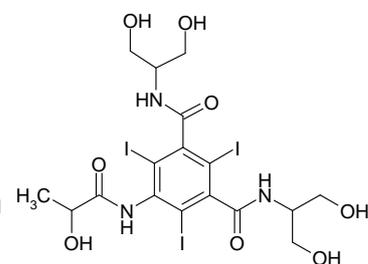
Iopentol
(**IVEPAQUE®**)



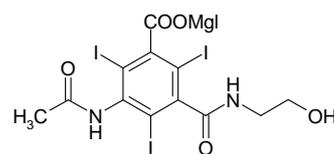
Ioversol
(**OPTIRAY® / OPTIJECT®**)



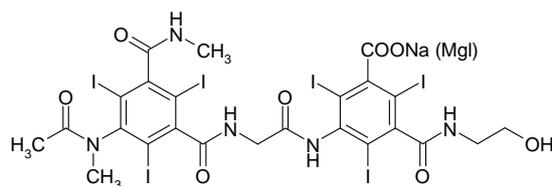
Iomeprol
(**IOMERON®**)



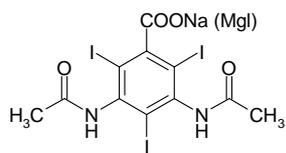
Iopamidol
(**IOPAMIRON®**)



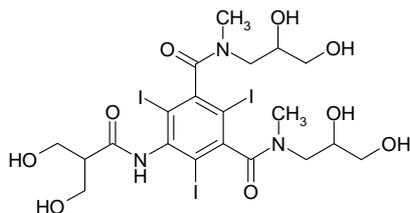
Ioxitalamate (meglumine)
(**TELEBRIX®**)



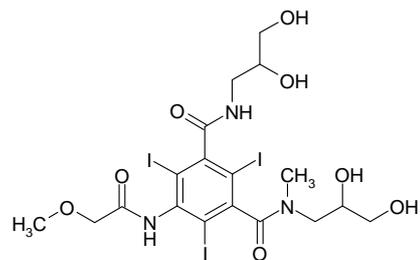
Ioxaglate
(sodium / meglumine)
(**HEXABRIX®**)



Amidotrizoate
(sodium / meglumine)
(RADIOSELECTAN[®])



Iobitridol
(XENETIX[®])



Iopromide
(ULTRAVIST[®])

Figure 49 : Formules chimiques semi-développées, DCI et appellations commerciales des PCI.

PARAMÈTRE	PCI											
	Amidotrizoate	Iobitridol	Iodixanol	Iohexol	Iomeprol	Iopamidol	Iopentol	Iopromide	Ioversol	Ioxaglate	Ioxitalamate	
	RADIO-SELECTAN 76 % (370)	XENETIX 350	VISIPAQUE 320	OMNIPAQUE 350	IOMERON 350	IOPAMIRON 370	IVEPAQUE 350	ULTRAVIST 370	OPTIRAY 350	HEXABRIX 320	TELEBRIX 300	
M_r (g.mol ⁻¹)	614	835	1550	821	777	777	835	791	807	1269	644	
Classification	Monomère	Monomère	Dimère	Monomère	Monomère	Monomère	Monomère	Monomère	Monomère	Dimère	Monomère	
	Tri-iodé	Tri-iodé	Hexa-iodé	Tri-iodé	Tri-iodé	Tri-iodé	Tri-iodé	Tri-iodé	Tri-iodé	Hexa-iodé	Tri-iodé	
	Ionique	Non-ionique	Non-ionique	Non-ionique	Non-ionique	Non-ionique	Non-ionique	Non-ionique	Non-ionique	Ionique	Ionique	
Osmolalité (mOsm.kg ⁻¹ H ₂ O, 37°C)	2100	915	290	780	618	796	810	774	790	600	1710	
Hydrophilie	n _{OH}	absence	6	9	6	5	5	5	4	6	1	1
	LogP (37°C)	nc	-2,62	-3,40	-2,71	nc	-2,42	nc	-2,05	-2,98	-3,00	nc
Viscosité (mPa.s, 37°C)	8,9	10,0	11,4	10,6	7,5	9,4	12,0	9,5	9,0	7,5	nc	

Tableau 7 : Caractéristiques physico-chimiques comparées des PCI. Certains paramètres (osmolalité, viscosité) ne peuvent se comparer qu'à teneur en iode équivalente et/ou à contre-ion équivalent, et varient également en fonction de la température.

logP : logarithme du coefficient de partage octanol / eau ; M_r : masse molaire ; n_{OH} : nombre de fonctions hydroxyle par molécule d'intérêt ; nc : valeur non communiquée. Pour les molécules salifiées (amidotrizoate, ioxaglate et ioxitalamate), la masse molaire et le nombre de fonctions hydroxyle sont indiqués pour la base correspondante..

Cas cliniques. Matériel et méthodes.

Nous avons étudié 22 patients (7 femmes, 15 hommes ; âges extrêmes : 8 à 78 ans, âge moyen : 56 ± 14 ans) ayant présenté une réaction d'hypersensibilité retardée suite à l'administration intravasculaire d'iodixanol (Visipaque[®]), et qui ont tous bénéficié d'un bilan allergologique puis d'une réintroduction d'un autre PCI. Les données ont été collectées de manière rétrospective entre 2002 et 2009 au sein de 3 services hospitaliers (service de médecine interne, immunologie clinique et allergologie / CHU de Nancy ; service d'allergologie / CH d'Epinal ; service de dermatologie / CHU de Nancy).

Les tests cutanés (prick-tests, IDR et patch-tests) ont été réalisés conformément aux recommandations édictées par le groupe ENDA de l'EAACI. Tous les patients ont été testés avec les 7 PCI suivants :

- Iodixanol (Visipaque[®], Amersham Health),
- Iobitridol (Xenetix[®], Guerbet),
- Iohexol (Omnipaque[®], GE Healthcare),
- Iomeprol (Iomeron[®], Altana Pharma),
- Iopamidol (Iopamiron[®], Schering),
- Sodium meglumine ioxaglate (Hexabrix[®], Guerbet),
- Meglumine ioxitalamate (Telebrix[®], Guerbet).

Certains patients (n°1 à 13 et 15 à 18) ont bénéficié de tests cutanés avec 4 PCI supplémentaires (sodium meglumine amidotrizoate, Radioselectan[®], Schering ; iopentol, Ivepaque[®], Amersham Health ; iopromide, Ultravist[®], Schering ; ioversol, Optiray[®], Guerbet). Le patient n°14 a eu des tests cutanés additionnels avec le iopentol et le ioversol.

Vingt patients « contrôles », ayant déjà subi des examens radiologiques par le passé sans effets secondaires, ont également été inclus dans l'étude. Tous ces patients avaient des tests cutanés négatifs (prick-tests, IDR et patch-tests).

Résultats.

Aspects cliniques.

La réaction d'hypersensibilité est apparue dans un délai de 10h à 6j après administration d'iodixanol. Le délai d'apparition des symptômes était inférieur à 3 j dans plus

de 80 % des cas, ce qui concorde avec des données récentes issues de la littérature (Brockow, 2009) (Figure 50). La durée des symptômes s'étendait de 24h à 3 semaines.

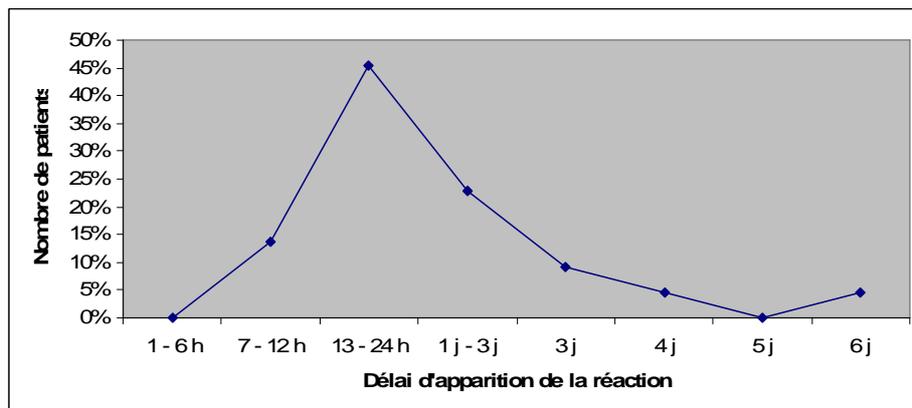


Figure 50 : Répartition du délai d'apparition de la réaction d'hypersensibilité à l'iodixanol.

Vingt patients (90,9 %) ont présenté un exanthème maculo-papuleux intéressant principalement le tronc (Photographie 2) ; dans certains cas, le rash s'est étendu aux membres proximaux ainsi qu'au visage. Un angiooedème facial a été rapporté dans 2 observations. Tous les patients ont eu une évolution sans séquelle, qu'ils aient ou non bénéficié d'un traitement symptomatique médicamenteux. Il convient également de remarquer que 2 patients ont présenté une réaction d'hypersensibilité retardée à l'iodixanol malgré un traitement immunosuppresseur prescrit pour prévention de rejet de greffe (cyclosporine et corticostéroïdes, patients n°13 et 14).



Photographie 2 : Exanthème maculo-papuleux siégeant au niveau de l'abdomen d'une patiente.

Tests cutanés.

Aucun patient n'a eu de tests cutanés positifs en lecture immédiate. En lecture retardée, les tests cutanés à l'iodixanol ont été positifs chez 11 patients sur 22 (50,0 %), dont 8 patients avec IDR positives, 1 avec patch-test positif et 2 autres patients avec IDR et patch-test positifs (Tableau 8). Malgré leur traitement immunosuppresseur, les tests cutanés ont été positifs pour les patients n°13 (IDR et patch-test) et 14 (IDR).

#	Âge	Sexe	TC positifs			Réintroduction avec
			Iodixanol	Autres PCI		
				Ioniques	Non-ioniques	
3	63	M	IDR + (pur, 72 h)	-	-	Iobitridol
6	53	M	IDR + (pur, 24 h)	-	Iohexol (IDR, pur, 24h) Iopentol (IDR, pur, 24h) Ioversol (IDR, pur, 24h)	Iobitridol
9	44	F	PT + (96 h)	-	-	Iobitridol
13	54	F	IDR + (pur, 24 h) PT + (48 h)	-	Iohexol (IDR, pur, 24h) Iopentol (IDR, pur, 24h)	Iobitridol
14	55	M	IDR + (pur, 48 h)	Ioxaglate (IDR, pur, 48h) Ioxitalamate (IDR, pur, 48h)	Iohexol (IDR, pur, 48h) Iomeprol (IDR, pur, 48h) Iopamidol (IDR, pur, 48h) Iopentol (IDR, pur, 48h) Ioversol (IDR, pur, 48h)	Iobitridol
15	58	M	IDR + (10^{-1} , 48 h)	-	Iohexol (IDR, 10^{-1} , 48h) Ioversol (IDR, 10^{-1} , 48h)	Iobitridol
16	57	M	IDR + (10^{-1} , 48 h)	-	-	Iobitridol
18	51	F	IDR + (pur, 24 h) PT + (48 h)	-	Iohexol (IDR, pur, 24h) Ioversol (PT, 48h)	Iobitridol
19	59	M	IDR + (10^{-2} , 24 h)	Ioxitalamate (IDR, 10^{-1} , 48h)	Iomeprol (IDR, pur, 48h) Iopamidol (IDR, pur, 24h)	Iobitridol
20	50	M	IDR + (10^{-1} , 24 h)	-	-	Iobitridol
22	49	M	IDR + (pur, 24 h)	Amidotrizoate (IDR, pur, 24h)	Iobitridol (IDR, pur, 24h) Iohexol (IDR, pur, 24h)	Iomeprol

Tableau 8 : Résultats des tests cutanés et de réintroduction des patients ayant présenté des tests cutanés positifs à l'iodixanol. #, numéro d'identification du patient ; M, patient de sexe masculin ; F, patient de sexe féminin ; IDR, Intradermoréaction ; PT, patch-test ; h, heures.

Une réactivité croisée entre PCI a été observée dans 7 cas ; le iohexol était le PCI qui ressortait le plus souvent (6 cas), suivi par le ioversol (4), le iopentol (3), iomeprol, iopamidol et ioxitalamate (2) et amidotrizoate, iobitridol et ioxaglate (1).

Réintroductions de PCI.

Le tableau suivant présente le bilan des réintroductions effectuées (Tableau 9). Toutes les réintroductions ont été menées au décours d'un autre examen radiologique en utilisant la totalité de la dose préconisée (*full-strength / full-dose challenge test*). La négativité de tous ces tests de réintroduction prouve que les réactions d'hypersensibilité retardée à l'iodixanol ne sont pas induites par tous les PCI. Le choix du iobitridol pour la grande majorité (18/22) des tests de réintroduction a été guidé par le fait que ces patients avaient des tests cutanés négatifs à ce PCI et qu'il s'agissait d'un composé de structure chimique assez éloignée de celle de l'iodixanol.

PCI réintroduit	Patients avec TC positifs à l'iodixanol	Patients avec TC négatifs à l'iodixanol
Iobitridol	10	6
Iobitridol & iomeprol		2
Iohexol		1
Iomeprol	1	
Iopamidol		1
Ioversol		1

Tableau 9 : Bilan des réintroductions effectuées. Toutes les réintroductions ont été bien tolérées (test de réintroduction négatif).

Etude des relations structure-activité.

Dans cette étude, il apparaît clairement qu'il existe plusieurs schémas de réactivités croisées différents ; certains patients présentent une monosensibilisation au iodixanol, quand d'autres montrent des réactivités croisées à un ou plusieurs autre PCI. Ces schémas de réactivité très hétérogènes pourraient s'expliquer par la grande diversité de chaînes latérales

existant parmi les PCI – bien que le motif aromatique tri-iodé de base reste toujours identique quel que soit la molécule.

Le PCI croisant le plus souvent avec l'iodixanol est le iohexol (Omnipaque[®]; 6 patients), ce qui peut s'expliquer par le fait que ce dernier constitue le monomère de l'iodixanol (Figure 51).

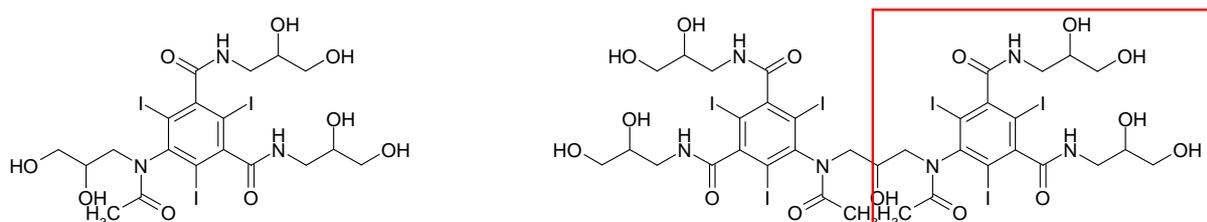


Figure 51 : Structures chimiques comparées du iohexol (gauche) et de l'iodixanol (droite). Une des 2 unités monomériques correspondant au iohexol est encadrée en rouge dans la structure de l'iodixanol.

Ioversol (4 patient), iopentol (3), iomeprol, iopamidol, et ioxitalamate (2), et amidotrizoate, iobitridol, et ioxaglate (1) suivent en terme de nombre de réactivités croisées avec l'iodixanol.

Sur la base de notre expérience clinique, le iobitridol (Xenetix[®]) semble être le PCI le plus indiqué en cas de réaction d'hypersensibilité retardée au iodixanol. Cependant, une publication récente de Seitz et coll. a montré que des réactivités croisées entre iodixanol et iobitridol pouvaient être observées (Seitz, 2009). Ce schéma de réactivité croisée semble être rare, et n'a été observé que chez un seul de nos patients ; il illustre la nécessité de procéder à un bilan allergologique comprenant le plus grand nombre possible de PCI afin de déceler d'éventuelles sensibilisations croisées.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les RSA constituent un concept central en chimie organique et thérapeutique, en particulier dans le cadre de la conception rationnelle de nouvelles entités chimiques et médicamenteuses. En allergologie, les RSA ont été étudiées dans le domaine de la dermatite de contact, afin de déterminer le potentiel allergénique d'un composé donné en évitant le recours à l'expérimentation animale. En allergie médicamenteuse immédiate, cette approche reste plutôt confidentielle, et a été principalement appliquée aux antibiotiques bêta-lactames ainsi qu'aux curares (allergo-anesthésie).

Dans ce travail de thèse, nous avons appliqué ce concept à l'allergie médicamenteuse immédiate et retardée en exploitant les résultats des tests cutanés et/ou biologiques pour différentes classes médicamenteuses.

En **allergie médicamenteuse immédiate**, quatre thématiques ont été explorées :

- **Bêta-lactames** : ces composés, qui figurent parmi les médicaments les plus prescrits au monde, sont responsables de la majorité des réactions d'hypersensibilité immédiate. L'étude des RSA montre que les réactivités croisées sont indépendantes de la classe pharmacologique de la molécule et souligne le fait que des réactivités croisées entre certains composés appartenant à des familles (pénicillines / céphalosporines) ou à des générations (C₂G / C₃G) différentes est possible du fait de leur parenté chimique. Une validation immunochimique préliminaire basée sur une approche « *synthon* » (décomposition de la molécule incriminée en sa structure de base et sa chaîne latérale) a permis d'identifier l'épitope allergénique de 3 patients. Cette démarche associant une exploration des réactivités croisées par tests cutanés et l'étude des RSA a permis la réintroduction d'un antibiotique appartenant à la même famille thérapeutique que le principe actif incriminé.
- **Produits de contraste IRM** : en utilisant une méthodologie similaire par tests cutanés et étude RSA, nous avons montré que certains patients allergiques aux produits de contraste IRM de structure macrocyclique n'étaient pas réactifs aux produits de

contraste IRM linéaires. La réintroduction d'un produit de contraste de structure différente a été possible chez 4 patients.

- Allergo-anesthésie (curares) : l'analyse rétrospective des tests cutanés d'une cohorte de 1085 patients ayant présenté une réaction d'hypersensibilité immédiate aux curares indique qu'il existe des liens entre structure moléculaire et profils de réactivité croisée ; certains curares (aminostéroïdes) croisent préférentiellement au sein de leur famille chimique, alors que d'autres (benzylisoquinolinoniques) présentent un profil de réactivité croisée beaucoup plus hétérogène. Les résultats de cette étude de RSA basée sur les tests cutanés devront être validés par l'étude des réintroductions réalisées au décours du bilan.
- Le TAB semble être un test particulièrement sensible, comme nous l'avons démontré dans le cas de l'allergie immédiate à l'insuline où celui-ci se négative lors de l'acquisition de la tolérance. La baisse de la sensibilité des basophiles, évaluée par TAB, apparaît être un marqueur cellulaire d'efficacité de l'accoutumance médicamenteuse, plus précoce que les tests cutanés et les dosages des IgE spécifiques. Outre son intérêt pour l'étude des réactivités croisées, le TAB constitue une méthodologie de premier plan pour le bilan allergologique des patients chez lesquels les tests cutanés ne sont pas réalisables, comme dans le cas de chocs anaphylactiques graves.

Concernant les **réactions d'hypersensibilité retardée**, nous nous sommes intéressés à l'iodixanol (Visipaque[®]), une molécule de la famille des PCI. Les résultats des tests cutanés à une batterie de PCI ont été analysés par une approche RSA, ce qui a permis de sélectionner un autre PCI sur la base de tests cutanés négatifs et de l'étude RSA pouvant être utilisé chez les patients nécessitant un examen radiologique avec utilisation de PCI. Notre étude porte sur 22 patients qui ont ainsi pu bénéficier d'une nouvelle injection de PCI, avec une bonne tolérance.

Les résultats obtenus montrent l'existence d'un lien entre structure chimique et activité allergénique des molécules. Le recrutement de plus larges cohortes de patients bien phénotypés cliniquement permettra la poursuite de l'exploration des RSA et la validation du concept en allergologie. L'étude RSA constitue un outil diagnostique complémentaire dans la prise de décision pour la réintroduction d'une molécule chez un patient allergique à un

médicament de la même classe pharmaceutique et dont l'utilisation est requise pour son traitement.

Les réactions allergiques constituent un effet secondaire grave consécutif à la prise de médicament. L'adoption d'une approche basée sur les RSA pourrait permettre à l'industrie pharmaceutique de :

- Progresser dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques qui gouvernent l'allergie médicamenteuse,
- Identifier les épitopes allergéniques responsables de ces effets secondaires. Les entités chimiques non médicamenteuses ne pouvant être utilisées pour réaliser des tests cutanés chez l'homme, les TAB constituent aujourd'hui la méthode de choix pour explorer les épitopes du médicament. Ils autorisent l'exploration *in vitro* de l'allergénicité des radicaux et molécules non-médicamenteux,
- *In fine*, de concevoir de nouveaux principes actifs dotés d'un potentiel allergénique réduit.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Antunez C, Blanca-Lopez N, Torres MJ, Mayorga C, Perez-Inestrosa E, Montañez MI, Fernandez T, Blanca M. Immediate allergic reactions to cephalosporins: evaluation of cross-reactivity with a panel of penicillins and cephalosporins. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:404-10.

Bakhle YS. Conversion of angiotensin I to angiotensin II by cell-free extracts of dog lung. *Nature* 1968; 220:919-21.

Balaban AT. Highly discriminating distance-based topological index. *Chem Phys Lett* 1982; 89:399-404.

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.

Baldo BA, Fisher MM. Substituted ammonium ions as allergenic determinants in drug allergy. *Nature* 1983; 306:262-4.

Baldo BA, Fisher MM. Mechanisms in IgE-dependent anaphylaxis to anaesthetic drugs. *Ann Fr Anesth Reanim* 1993; 12:131-40.

Baldo BA, Pham NH. Structure-activity studies on drug-induced anaphylactic reactions. *Chem Res Toxicol* 1994; 7:703-21.

Baldo BA, Pham NH, Weiner J. Detection and side-chain specificity of IgE antibodies to flucloxacillin in allergic subject. *J Mol Recognit* 1995; 8:171-7.

Baldo BA. Diagnosis of allergy to penicillins and cephalosporins. Structural and immunochemical considerations. *Allergy Clin Immunol Int* 2000; 12:206-12.

Baldo B, Fisher M, Pham N. On the origin and specificity of antibodies to neuromuscular blocking (muscle relaxant) drugs. An immunochemical perspective. *Clin Exp Allergy* 2009; 39:325-44.

Barbaud A, Trechot P, Weber-Muller F, Ulrich G, Commun N, Schmutz JL. Drug skin tests in cutaneous adverse drug reactions to pristinamycin: 29 cases with a study of cross-reactions between synergists. *Contact Dermatitis* 2004; 50:22-6.

Barratt MD, Basketter DA, Chamberlain M, Payne MP, Admans GD, Langowski JJ. Development of an expert system rulebase for identifying contact allergens. *Toxic in Vitro* 1994; 8:837-9.

Barratt MD, Basketter DA, Chamberlain M, Admans GD, Langowski JJ. An expert system rulebase for identifying contact allergens. *Toxic in Vitro* 1994; 8:1053-60.

Basketter DA, Gerberick GF, Kimber I. Measurement of allergenic potency using the local lymph node assay. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22:264-5.

Beaudouin E, Kanny G, Blanloeil Y, Guilloux L, Renaudin JM, Moneret-Vautrin DA. Anaphylactic shock induced by gadoterate meglumine (DOTAREM). *Allerg Immunol (Paris)* 2003; 35:382-5.

Begaud B, Evreux JC, Jouglard J, Lagier G. Imputabilité des effets inattendus ou toxiques des médicaments : actualisation de la méthode utilisée en France. *Thérapie* 1985; 40:111-8.

Bellin MF, Van Der Molen AJ. Extracellular gadolinium-based contrast media: an overview. *Eur J Radiol* 2008; 66:160-7.

Blanca M, Cornejo-Garcia JA, Torres MJ, Mayorga C. Specificities of B cell reactions to drugs. The penicillin model. *Toxicology* 2005; 209:181-4.

Brange J, Owens DR, Kang S, Volund A. Monomeric insulins and their experimental and clinical implications. *Diab Care* 1990; 13:923-54.

Brik A, Wong CH. HIV-1 protease: mechanism and drug discovery. *Org Biomol Chem* 2003; 1:5-14.

Brockow K, Romano A, Blanca M, Ring J, Pichler W, Demoly P. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy* 2002; 57:45-51.

Brockow K, Romano A, Aberer W, Bircher AJ, Barbaud A, Bonadonna P, Faria E, Kanny G, Lerch M, Pichler WJ, Ring J, Rodrigues Cernadas J, Tomaz E, Demoly P, Christiansen C; European Network of Drug Allergy and the EAACI interest group on drug hypersensitivity. Skin testing in patients with hypersensitivity reactions to iodinated contrast media – a European multicenter study. *Allergy* 2009;64:234-41.

Byers LD, Wolfenden R. Binding of the biproduct analog benzylsuccinic acid by carboxypeptidase A. *Biochemistry* 1973; 12:2070-8.

Cho SJ, Zheng W, Tropsha A. Focus-2D: a new approach to the design of targeted combinatorial chemical libraries. *Pac Symp Biocomput* 1998; 305-16.

Christiansen C. X-ray contrast media: an overview. *Toxicology* 2005; 209:185-7.

Coopman S, Degreef H, Dooms-Goossens A. Identification of cross-reaction patterns in allergic contact dermatitis from topical corticosteroids. *Br J Dermatol* 1989; 121:27-34.

Crum-Brown A, Fraser TR. On the connection between chemical constitution and physiological action. *Trans R Soc Edinburgh* 1868; 25:151-203.

Cushman DW, Ondetti MA. History of the design of captopril and related inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Hypertension* 1991; 17:589-92.

DePestel DD, Benninger MS, Danziger L, LaPlante KL, May C, Luskin A, Pichichero M, Hadley JA. Cephalosporin use in treatment of patients with penicillin allergies. *J Am Pharm Assoc* 2008; 48:530-40.

Didier A, Cador D, Bongrand P, Furstoss R, Fourneron P, Senft M, Philip-Joet F, Charpin D, Charpin J, Vervloet D. Role of the quaternary ammonium ion determinants in allergy to muscle relaxants. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 79:578-84.

Dupuis G, Benezra C. Allergic contact dermatitis to simple chemicals. A molecular approach. Marcel Dekker: New York 1982.

Ebo DG, Sainte-Laudy J, Bridts CH, Mertens CH, Hagendorens MM, Schuerwegh AJ, De Clerck LS, Stevens WJ. Flow-assisted allergy diagnosis: current applications and future perspectives. *Allergy* 2006; 61:1028-39.

Estrada E, Patlewicz G, Chamberlain M, Basketter D, Larbey S. Computer-aided knowledge generation for understanding skin sensitization mechanisms: the TOPS-mode approach. *Chem Res Toxicol* 2003; 16:1226-35.

Estrada E, Patlewicz G, Gutierrez Y. From knowledge generation to knowledge archive. A general strategy using TOPS-MODE with DEREK to formulate new alerts for skin sensitization. *J Chem Inf Comput Sci* 2004; 44:688-98.

EU Directive 2003/15/EC of the European Parliament and of the Council of 27 February 2003 amending Council Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products (“7th Amendment to the European Cosmetics Directive”). *Off J Eur Union L* 2003; 66:26-35.

Ferreira SH. A bradykinin-potentiating factor (BPF) present in the venom of *Bothrops jararaca*. *Br J Pharmacol* 1965; 24:163-9.

Fineberg SE, Kawabata TT, Finco-Kent D, Fountaine RJ, Finch GL, Krasner AS. Immunological responses to exogenous insulin. *Endocr Rev* 2007; 28:625-52.

Fischer T, Maibach HI. Patch testing in allergic contact dermatitis: an update. *Sem Dermatol* 1986; 5:214-24.

Flacke JW, Flacke WE, Bloor BC, Van Etton AP, Kripke BJ. Histamine release by four narcotics: a double-blind study in humans. *Anaesth Analg* 1987; 68:723-30.

Florvaag E, Johansson SGO, Öman H, Venemalm L, Degerbeck F, Dybendal T, Lundberg M. Prevalence of IgE antibodies to morphine. Relation to the high and low incidences of NMBA anaphylaxis in Norway and Sweden, respectively. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49:437-44.

Florvaag E. Anaphylactic reactions during general anaesthesia. *New Horiz* 2005; 2:1-6.

Florvaag E, Johansson SGO, Öman H, Harboe T, Nopp A. Pholcodine stimulates a dramatic increase of IgE in IgE-sensitized individuals. A pilot study. *Allergy* 2006; 61:49-55.

Florvaag E, Johansson SGO. The pholcodine story. *Immunol Allergy Clin North Am* 2009; 29:419-27.

Free SM, Wilson J. A mathematical contribution to structure-activity studies. *J Med Chem* 1964; 7:395-9.

Fujita T, Iwasa J, Hansch C. A new substituent constant, π , derived from partition coefficients. *J Am Chem Soc* 1964; 86:5175-80.

Gao H, Williams C, Labute P, Bajorath J. Binary quantitative structure-activity relationships (QSAR) analysis of estrogen receptor ligands. *J Chem Inf Comput Sci* 1999; 39:164-8.

Gao H, Bajorath J. Comparison of binary and 2D QSAR analyses using inhibitors of human carbonic anhydrase II as a test case. *J Mol Diversity* 1999; 4:115-30.

Goodwin BF, Roberts DW. Structure-activity relationships in allergic contact dermatitis. *Food Chem Toxicol* 1986; 24:795-8.

Green S, Marshall GR. 3D-QSAR: a current perspective. *Trends Pharmacol Sci* 1995; 16:285-91.

Hall LH, Kier LB. Structure-activity studies using valence molecular connectivity. *J Pharm Sci* 1977; 66:642-4.

Hammett LP. The effect of structure on the reaction of organic compounds. Benzene derivatives. *J Am Chem Soc* 1937; 59:96.

Hansch C, Maloney PP, Fujita T, Muir RM. Correlation of biological activity of phenoxyacetic acids with hammett substituent constants and partition coefficients. *Nature* 1962; 194:178-80.

Hansch C, Fujita T. Rho sigma pi analysis: a method for the correlation of biological activity and chemical structure. *J Am Chem Soc* 1964; 86:1616-26.

Harle DG, Baldo BA, Well JV. Drugs as allergens: detection and combining site specificities of IgE antibodies to sulfamethoxazole. *Mol Immunol* 1988; 25:1347-54.

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.

Harle DG, Baldo BA. Identification of penicillin allergenic determinants that bind IgE antibodies in the sera of subjects with penicillin allergy. *Mol Immunol* 1990; 27:1063-71.

Hasdenteufel F, Luyasu S, Renaudin JM, Trechot P, Kanny G. Anaphylactic shock associated with cefuroxime axetil: structure-activity relationships. *Ann Pharmacother* 2007; 41:1069-72.

Hasdenteufel F, Luyasu S, Renaudin JM, Paquay JL, Carbutti G, Beaudouin E, Moneret-Vautrin DA, Kanny G. Anaphylactic shock after first exposure to gadoterate meglumine: two case reports documented by positive allergy assessment. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121:527-8. Reply. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122:216-7.

Hasdenteufel F, Waton J, Cordebar V, Studer M, Collignon O, Luyasu S, Beaudouin E, Renaudin JM, Morisset M, Kanny G, Barbaud A. Delayed hypersensitivity reactions cause by iodixanol: an assessment of cross-reactivity in 22 patients. *J Allergy Clin Immunol* 2011; article accepted.

Hauessler MD. Safety and patient comfort with iodixanol: a postmarketing surveillance study in 9515 patients undergoing diagnostic CT examinations. *Acta Radiol* 2010;51:924-33.

Herborn CU, Honold E, Wolf M, Kemper J, Kinner S, Adam G, Barkhausen J. Clinical safety and diagnostic value of the gadolinium chelate gadoterate meglumine (Gd-DOTA). *Invest Radiol* 2007; 42:58-62.

Hosoya H. Topological index. A newly proposed quantity characterizing topological nature of structural isomers of saturated hydrocarbons. *Bull Chem Soc Jpn* 1971; 44:2332-9.

Isaksson M, Bruze M, Goossens A, Lepoittevin JP. Patch-testing with serial dilutions of tixocortol pivalate and potential cross-reactive substances. *Acta Dermato-Venereol* 2000; 80:33-8.

Johansson SG, Florvaag E, Oman H, Poulsen LK, Mertes PM, Harper NJ, Garvey LH, Gerth van Wijk R, Metso T, Irgens A, Dybendal T, Halsey J, Seneviratne SL, Guttormsen AB. National pholcodine consumption and prevalence of IgE-sensitization: a multicentre study. *Allergy* 2010; 65:498-502.

Joint Task Force on Practice Parameters, the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology and the Joint Council of Allergy, Asthma and Immunology. Executive summary of disease management of drug hypersensitivity: a practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 83:665-700.

Kanny G, Pichler W, Morisset M, Franck P, Marie B, Kohler C, Renaudin JM, Beaudouin E, Sainte-Laudy J, Moneret-Vautrin DA. T cell-mediated reactions to iodinated contrast media: Evaluation by skin and lymphocyte activation tests. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:179-85.

Karlberg AT, Bergström MA, Börje A, Luthman K, Nilsson JLG. Allergic contact dermatitis - formation, structural requirements, and reactivity of skin sensitizers. *Chem Res Toxicol* 2008; 21:53-69.

Kier LB, Hall LH. *Molecular connectivity in chemistry and drug research*. New-York: Academic Press 1976.

Kier LB, Hall LH. *Molecular connectivity in structure-activity analysis*. Letchworth: Research Studies Press 1986.

Kim SH, Choi JH, Park HS. Heterogeneity of the IgE response to allergenic determinants of cefaclor in serum samples from patients with cefaclor-induced anaphylaxis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 94:700-4.

Kimber I, Hilton J, Dearman RJ, Gerberick GF, Ryan CA, Basketter DA, Scholes EW, Ladics GS, Loveless SE, House RV, Guy A. An international evaluation of the murine local lymph node assay and comparison of modified procedures. *Toxicology* 1995; 103:63-73.

Kubinyi H. *3D-QSAR in drug design: theory, methods and applications*. Leiden: Kluwer / Escom 1993.

Kuerzel GU, Shukla U, Scholtz HE, Pretorius SG, Wessels DH, Venter C, Potgieter MA, Lang AM, Koose T, Bernhardt E. Biotransformation of insulin glargine after subcutaneous injection in healthy subjects. *Curr Med Res Opin* 2003; 19:34-40.

Kumar D. Immunoreactivity of insulin antibodies in insulin-treated diabetics: significance of the beta-chain carboxy-terminal amino acid (B-30) of insulin. *Diabetes* 1979; 28:994-1000.

Landsteiner K, Jacobs JL. Studies on the sensitization of animals with simple chemical compounds III. *J Exp Med* 1936; 64:625-39.

Lepoittevin JP, Drieghe J, Dooms-Goossens A. Studies in patients with corticosteroid contact allergy. Understanding cross-reactivity among different steroids. *Arch Dermatol* 1995; 131:31-7.

Lepoittevin JP. Development of structure-activity relationships (SARs) in allergic contact dermatitis. *Cell Biol Toxicol* 1999; 15:47-55.

Levine BB. Immunologic mechanisms of penicillin allergy. A haptenic model system for the study of allergic diseases in man. *N Engl J Med* 1966; 275:1115-25.

Li A, Wong CS, Wong MK, Lee CM, Au Yeung MC. Acute adverse reactions to magnetic resonance contrast media – gadolinium chelates. *Br J Radiol* 2006; 79:368-71.

Li Y, Tseng YJ, Pan D, Liu J, Kern PS, Gerberick GF, Hopfinger AJ. 4D-fingerprint categorical QSAR models for skin sensitization based on the classification of local lymph node assay measures. *Chem Res Toxicol* 2007; 20:114-28.

Luyasu S, Hougardy N, Hasdenteufel F, Jacquenet S, Weber E, Moneret-Vautrin A, Kanny G. Anaphylactic shock to human insulin: follow-up of a desensitization protocol by basophil activation tests. *Rev Med Interne* 2011; 32:39-42.

Magee PS, Hostynek JJ, Maibach MI. A classification model for allergic contact dermatitis. *Quant Struct Act Relat* 1994; 13:22-33.

Marcy SM, Klein JO. The isoxazolyl penicillins: oxacillin, cloxacillin and dicloxacillin. *Med Clin North Am* 1970; 54:1127-43.

Marshall GR, Cramer RD III. Three dimensional structure-activity relationships. *Trends Pharmacol Sci* 1988; 285-9.

Martin YC. *Quantitative drug design*. New York: Marcel Dekker 1978.

Mayer JP, Zhang F, DiMarchi RD. Insulin structure and function. *Biopolymers* 2007; 88:687-713.

Mertes PM, Aimone-Gastin I, Guéant-Rodriguez RM, Mouton-Faivre C, Audibert G, O'Brien J, Frendt D, Brezeanu M, Bouaziz H, Guéant JL. Hypersensitivity reactions to neuromuscular blocking agents. *Curr Pharm Des* 2008; 14:2809-25.

Mertes PM, Tajima K, Regnier-Kimmoun MA, Lambert M, Iohom G, Guéant-Rodriguez RM, Malinovsky JM. Perioperative anaphylaxis. *Med Clin North Am* 2010; 94:761-89.

Mertes PM, Alla F, Trechot P, Auroy Y, Jouglu E, Groupe d'Etude des Réactions Anaphylactoïdes Peranesthésiques. Anaphylaxis during anesthesia in France: an 8-year national survey. *J Allergy Clin Immunol* 2011; published online April 19 2011.

Meyer H. Zur Theorie der Alkoholnarkose. Erste Mitteilung, welche Eigenschaft der Anesthetica bedingt ihre narkotische Wirkung. *Arch Exp Pathol Pharmacol* 1899 ; 42 :109.

Moore N, Paux G, Begaud B, Biour M, Loupi E, Boismare F, Royer RJ. Adverse drug reactions monitoring: doing it the French way. *Lancet* 1985; ii:1056-8.

Morcos SK. Extracellular gadolinium contrast agents: differences in stability. *Eur J Radiol* 2008; 66:175-9.

Moreira Lima L, Barreiro EJ. Bioisosterism: a useful strategy for molecular modification and drug design. *Curr Med Chem* 2005; 12:23-49.

Morisset M, Moneret-Vautrin DA, Loppinet V, Grandidier S. Cross-allergy to ranitidine and nizatidine. *Allergy* 2000; 55:682-3.

Naisbitt DJ, Gordon SF, Pirmohamed M, Burkhart C, Cribb AE, Pichler WJ, Park BK. Antigenicity and immunogenicity of sulphamethoxazole: demonstration of metabolism-dependant haptentation and T-cell proliferation in vivo. *Br J Pharmacol* 2001; 133: 295-305.

Naisbitt DJ. Drug hypersensitivity reactions in skin: understanding mechanisms and the development of diagnostic and predictive tests. *Toxicology* 2004; 194:179-96.

Naranjo CA, Busto U, Sellers EM. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Pharmacol therap* 1981; 30:239-45.

Navia MA, Fitzgerald PM, McKeever BM, Leu CT, Heimbach JC, Herber WK, Sigal IS, Darke PL, Springer JP. Three-dimensional structure of aspartyl protease from human immunodeficiency virus HIV-1. *Nature* 1989; 337:615-20.

Neu HC. β -lactam antibiotics: structural relationships affecting in vitro activity and pharmacologic properties. *Rev Infect Dis* 1986; 8:S237-59.

Neugut AI, Ghatak AT, Miller RL. Anaphylaxis in the United States, an investigation into its epidemiology. *Arch Intern Med* 2001; 161:15-21.

Novalbos A, Sastre J, Cuesta J, De Las Heras M, Lluch-Bernal M, Bombin C, Quirce S. Lack of allergic cross-reactivity to cephalosporins among patients allergic to penicillins. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:438-43.

Ondetti MA, Rubin B, Cushman DW. Design of specific inhibitors of angiotensin-converting enzyme: new class of orally active antihypertensive agents. *Science* 1977; 196:441-4.

Overton E. *Studien über die Narkose*. Jena: Gustav Fischer Verlag 1901.

Patlak M. From viper's venom to drug design: treating hypertension. *FASEB J* 2004; 18:421.

Patrick GL. *An introduction to medicinal chemistry*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 2001.

Patterson R, Roberts M, Grammer LC. Insulin allergy: re-evaluation after two decades. *Ann Allergy* 1990; 64:459-62.

Pham NH, Baldo BA. β -lactam drug allergens: fine structural recognition patterns of cephalosporin-reactive IgE antibodies. *J Mol Recognit* 1996; 9:287-96.

Pichichero ME. A review of evidence supporting the American Academy of Pediatrics Recommendation for prescribing cephalosporin antibiotics for penicillin-allergic patients. *Pediatrics* 2005; 115:1048-57.

Poston SA, Jennings HR, Poe KL. Cefazolin tolerance does not predict ceftriaxone hypersensitivity: unique side chain precipitate anaphylaxis. *Pharmacotherapy* 2004; 24:668-72.

Randić M. On characterization of molecular branching. *J Am Chem Soc* 1975; 97:6609-15.

Renaudin JMC, Kanny G, Codreanu F, Beaudouin E, Moneret-Vautrin DA. Severe drug-induced anaphylaxis: survey of case reports by allergy vigilance network. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119:S36.

Richet C. CR Séances Soc Biol Ses Fil 1893; 9:775.

Riezzo I, Bello S, Neri M, Turillazzi E, Fineschi V. Ceftriaxone intradermal test-related fatal anaphylactic shock: a medico-legal nightmare. *Allergy* 2010; 65: 130-139.

Roberts DW, Williams DL. The derivation of quantitative correlations between skin sensitisation and physicochemical parameters for alkylating agents, and their application to experimental data for sultones. *J Theor Biol* 1982; 99:807-25.

Roberts NA, Martin JA, Kinchington D, Broadhurst AV, Craig JC, Duncan IB, Galpin SA, Handa BK, Kay J, Kröhn A, Lambert RW, Merrett JH, Mills JS, Parkes KE, Redshaw S, Ritchie AJ, Taylor DL, Thomas GJ, Machin PJ. Rational design of peptide-based HIV proteinase inhibitors. *Science* 1990; 248:358-61.

Romano A, Viola M, Guéant-Rodriguez RM, Valluzzi RL, Guéant JL. Selective immediate hypersensitivity to cefodizime. *Allergy* 2005; 60:1545-6.

Sanchez-Sancho F, Perez-Inestrosa E, Suau R, Montañez MI, Mayorga C, Torres MJ, Romano A, Blanca M. Synthesis, characterization and immunochemical evaluation of cephalosporin antigenic determinants. *J Mol Recognit* 2003; 16:148-56.

Scherntaner G. Immunogenicity and allergenic potential of animal and human insulins. *Diab Care* 1993; 16:155-65.

Seitz CS, Pfeuffer P, Raith P, Bröcker EB, Trautmann A. Radiocontrast media-associated exanthema: identification of cross-reactivity and tolerability by allergologic testing. *Eur J Radiol* 2009;72:167-71.

Selassie CD. In: Abraham DJ, Ed. *Burger's medicinal chemistry and drug discovery*. 6th ed. New-York: John Wiley & Sons Inc. 2003; 1: pp. 4.

Silberstein N, Breilh D, Macquin K, Bailly A, Placet B, Saux MC. Les produits de contraste iodés. *Lyon pharmaceutique* 2000; 51:184-96.

Simon Z. Specific interactions. Intermolecular forces, steric requirements, and molecular size. *Angew Chem Int Ed Eng* 1974; 13:719-27.

Smal MA, Baldo BA, Harle DG. Drugs as allergens: the molecular basis of IgE binding to trimethoprim. *Allergy* 1988; 43:184-91.

Sola-Gazagnes A, Pecquet C, M'Bemba J, Larger E, Slama G. Type I and type IV allergy to the insulin analogue detemir. *Lancet* 2007; 369:637-8.

Taft RW. Polar and steric substituent constants for aliphatic and o-benzoate groups from rates of esterification and hydrolysis of esters. *J Am Chem Soc* 1952; 74:3120-8.

Tong W, Lowis DR, Perkins R, Chen Y, Welsh WJ, Goddette DW, Heritage TW, Sleehan DM. Evaluation of quantitative structure-activity relationship methods for large-scale prediction of chemicals binding to the estrogen receptor. *J Chem Inf Comput Sci* 1998; 38:669-77.

Torres MJ, Blanca M, Fernandez J, Romano A, Weck A, Aberer W, Brockow K, Pichler WJ, Demoly P, ENDA and the EAACI Interest Group on Drug Hypersensitivity. Diagnosis of immediate allergic reactions to beta-lactam antibiotics. *Allergy* 2003; 58:961-72.

Van de Waterbeemd H, Carter RE, Grassy G, Kubinyi H, Martin YC, Tute MS, Willett P. Glossary of terms used in computational drug design (IUPAC recommendations 1997). *Pure Appl Chem* 1997; 69:1137-52.

Vella S. HIV therapy advances. Update on a proteinase inhibitor. *AIDS* 1994; 8:S25-9.

Verdel BM, Souverein PC, Egberts AC, Leufkens HG. Difference in risks of allergic reaction to sulfonamide drugs based on chemical structure. *Ann Pharmacother* 2006; 40:1040-6.

Vernassiere C, Trechot P, Commun N, Schmutz JL, Barbaud A. Low negative predictive value of skin tests in investigating delayed reactions to radio-contrast media. *Contact Dermatitis* 2004;50:359-66.

Vervloet D, Arnaud A, Senft M, Didier A, Bongrand P, Charpin J. Anaphylactic reactions to suxamethonium. Prevention of mediator release by choline. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76:222-5.

Weiss K. Severe anaphylactoid reaction after i.v. Gd-DTPA. *Magn Reson Imaging* 1990; 8:817-8.

Wermuth CG, Ganellin CR, Lindberg P, Mitscher LA. Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1998). *Pure Appl Chem* 1998; 70:1129-43.

Wiener H. Structural determination of paraffin boiling point. *J Am Chem Soc* 1947; 69:17-20.

Wlodawer A, Miller M, Jaskolski M, Sathyanarayana BK, Baldwin E, Weber IT, Selk LM, Clawson L, Schneider J, Kent SB. Conserved folding in retroviral proteases: crystal structure of a synthetic HIV-1 protease. *Science* 1989; 245:616-21.

Yokoyama H, Fukumoto S, Koyama H, Emoto M, Kitagawa Y, Nishizawa Y. Insulin allergy: desensitization with crystalline zinc-insulin and steroid tapering. *Diabetes Res Clin Pract* 2003; 61:161-6.

Zhao Z, Baldo BA, Rimmer J. β -lactam allergenic determinants: fine structural recognition of a cross-reacting determinant on benzylpenicillin and cephalothin. *Clin Exp Allergy* 2002; 32:1644-50.

ANNEXES

- **Hasdenteufel F**, Luyasu S, Renaudin JM, Trechot P, Kanny G. Anaphylactic shock associated with cefuroxime axetil : structure-activity relationships. *Ann Pharmacother* 2007, 41, 1069-72.
- **Hasdenteufel F**, Luyasu S, Renaudin JM, Paquay JL, Carbutti G, Beaudouin E, Moneret-Vautrin DA, Kanny G. Anaphylactic shock after first exposure to gadoterate meglumine: two case reports documented by positive allergy assessment. *J Allergy Clin Immunol* 2008, 121, 527-8. Reply. *J Allergy Clin Immunol* 2008, 122, 216-7.
- Luyasu S, Hougardy N, **Hasdenteufel F**, Jacquenet S, Weber E, Moneret-Vautrin A, Kanny G. Choc anaphylactique à l'insuline humaine recombinante : suivi d'un protocole d'accoutumance par tests d'activation des basophiles. *Rev Med Interne* 2011, 32, 39-42.
- **Hasdenteufel F**, Waton J, Cordebar V, Studer M, Collignon O, Luyasu S, Beaudouin E, Renaudin JM, Morisset M, Kanny G, Barbaud A. Delayed hypersensitivity reactions cause by iodixanol: an assessment of cross-reactivity in 22 patients. *J Allergy Clin Immunol* 2011; article sous presse.

Anaphylactic Shock Associated with Cefuroxime Axetil: Structure–Activity Relationships

Frédéric Hasdenteufel, Samuel Luyasu, Jean-Marie Renaudin, Philippe Trechot, and Gisèle Kanny

Structure–activity relationship (SAR) describes the relationship between chemical structure and pharmacologic activity for a series of compounds.¹ The SAR of a given molecule can be determined by assessing the biological effects of gradual changes in its chemical structure. Using the same reasoning, it is also possible to determine the potential toxicity of the metabolites of a given compound.

In the field of allergy, SAR testing is commonly conducted in the area of contact dermatitis.² In immediate immunoglobulin (Ig) E–mediated drug hypersensitivity, this type of approach is less commonly used. An SAR study can, however, help specify the antigenic determinants of low-molecular-weight compounds (covalent binding with proteins). This method has been applied to the determination of the IgE-binding sites of sulfamethoxazole.³ More recently, study of the immunogenicity of sulfamethoxazole (antigenic determinants recognized by T-cells) has described this type of approach.⁴ Few studies have used this method in the determination of the specificity of IgE antibodies in the case of penicillin⁵ or cephalosporin⁶ hypersensitivity.

Antibiotics with β -lactam rings (mainly penicillins and cephalosporins) are commonly prescribed and are responsible for the majority of immediate drug hypersensitivity reactions.^{7,8} Cross-reactivity among different generations of cephalosporins varies between 0% and 68.8%, with third-generation cephalosporins being less cross-reactive than first- or second-generation ones.⁹ Furthermore, 12–38% of patients who are allergic to penicillins have been shown to react to cephalosporins with a similar side-chain; it has been reported that patients who are allergic to penicillins have a

OBJECTIVE: To present a predictive model of allergenicity based on a structure–activity relationship analysis of β -lactam antibiotics using appropriate skin testing procedures.

CASE SUMMARY: A 39-year-old woman was diagnosed with anaphylactic shock a few minutes after taking a 500 mg tablet cefuroxime of axetil and was admitted to the emergency department with dizziness, facial angioedema, generalized skin rash, and inferior cardiac ischemia. Skin testing confirmed the involvement of cefuroxime as the cause of the anaphylactic reaction, and the reaction was defined as probable according to the Naranjo probability scale. We then performed skin testing to study cross-reactivity between different β -lactam antibiotics. In addition to this initial assessment, a structure–activity relationship (SAR) analysis was done. It showed that the patient was sensitized to β -lactam antibiotics presenting a methoxyimino group, but not to similar compounds lacking this chemical group (eg, amoxicillin or penicillin G or V). Challenge with amoxicillin under intensive medical monitoring was tolerated up to a cumulated dose of 1 g, administered intravenously over 2 hours.

DISCUSSION: This study demonstrates that SAR analysis could be useful to predict potential adverse reactions to related antibiotics and to select alternative strategies when antibiotic administration is essential.

CONCLUSIONS: An SAR-based approach could help physicians and pharmacists provide allergic patients with relevant advice and propose viable alternatives regarding drug therapy.

KEY WORDS: anaphylactic shock, cefuroxime axetil, drug allergy, structure–activity relationship.

Ann Pharmacother 2007;41:1069-72.

Published Online, 8 May 2007, www.theannals.com, DOI 10.1345/aph.1K050

fourfold risk of developing an allergic reaction to a cephalosporin compared with patients with no penicillin allergy.¹⁰

We report a case of an immediate allergic reaction to cefuroxime axetil and describe an SAR analysis based on skin tests to predict the likelihood of adverse reactions to related antibiotics.

Case Report

A 39-year-old woman was admitted to the emergency department with anaphylactic shock that occurred a few minutes after she took a 500 mg tablet of cefuroxime axetil (Zinnat, GlaxoSmithKline, Genval, Belgium) used to treat acute bronchitis. Her past medical history included depression, psoriasis, and chest pain without identified coro-

Author information provided at the end of the text.

www.theannals.com

The Annals of Pharmacotherapy ■ 2007 June, Volume 41 ■ 1069

naropathy. The patient was taking Deanxit (consisting of flupentixol 0.5 mg and melitracin 10 mg), trazodone 100 mg, lormetazepam 2 mg, and aspirin 100 mg, all on a daily basis. Cefuroxime axetil was taken as self-medication (first dose that day). The patient had received treatment with cefuroxime axetil before this event occurred.

On admission, the woman's systolic blood pressure was 60 mm Hg; symptoms included faintness, dyspnea, facial angioedema, and generalized skin rash, and transitory inferior cardiac ischemia was diagnosed. The electrocardiogram showed subendocardial lesions in the inferior territory. The reaction was defined as probable according to the Naranjo probability scale.¹¹ Treatment consisted of blood volume expansion, epinephrine, and corticosteroids and complete recovery was achieved, including normalization of the electrocardiogram.

The concentration of serum tryptase, sampled at the acute stage of the reaction, was 200 µg/L (normal <14). Three weeks after the reaction, the level of tryptase returned to normal (5.75 µg/L). Thus, systemic mastocytosis was excluded.

Skin tests were performed 4 weeks later with cefuroxime (Zinacef, GlaxoSmithKline, Genval, Belgium), following the guidelines previously reported.^{12,13} The prick test was positive at a concentration of 2.10⁻² mg/mL (wheal of 5 mm in diameter; positive control with codeine phosphate 9%: 4 mm). The intradermal test (IDT), which was carried out with cefuroxime and read after 20 minutes, was clearly positive at a concentration of 2.10⁻⁶ mg/mL, with the wheal expanding from 3 to 14 mm. The human basophil activation test, using CD63 expression, was positive with cefuroxime.

The diagnosis of anaphylactic shock due to cefuroxime allergy was established as a result of this initial assessment.

Additional cutaneous tests for assessment of cross-reactivity were performed to complete the diagnosis. Prick tests and IDT were carried out on the forearm, with increasing concentrations up to a maximum of 2 mg/mL for cephalosporins and 25 mg/mL for penicillins, as described elsewhere^{12,13} (Table 1).

Cefotaxime (2.10⁻⁵ mg/mL), ceftriaxone (2.10⁻³ mg/mL), and cefepime (2.10⁻² mg/mL) produced the lowest threshold concentrations regarding IDT. Amoxicillin, cefaclor, cefazolin, ceftazidime, and penicillins G and V yielded negative skin tests.

The patient provided written informed consent for a challenge with increasing doses of amoxicillin under intensive medical monitoring. This investigation revealed that amoxicillin was well tolerated up to a cumulated dose of 1 g, administered over 2 hours intravenously.

Discussion

We used different β-lactams in the SAR analyses in an attempt to relate the structure of each molecule to skin reactivity. All of the antibiotics that showed positive results

carried either a methoxyimino group (cefuroxime axetil, cefotaxime, cefepime, ceftriaxone) or an isoxazole group with a methyl substituent (oxacillin), which is a bioisostere of the methoxyimino group (Figure 1).

On the other hand, amoxicillin, cefaclor, cefazolin, and penicillins G and V, which have no methoxyimino group, showed negative results to skin tests. Ceftazidime, also yielding negative results, has an alkoxyimino group that cannot be considered as a bioisostere of the methoxyimino moiety because of a greater steric hindrance (Figure 2).

This analysis reveals that our patient was sensitized to β-lactams with a methoxyimino group, but was not sensitized to antibiotics without this chemical group, such as amoxicillin or penicillin G or V. Because of similar indications for treatment, amoxicillin can be regarded as a valuable alternative to cefuroxime.

A cross-reaction between cefuroxime and cefotaxime, documented by in vitro and/or in vivo tests, has been reported.^{6,14,15}

The methoxyimino group, as well as the methyl-substituted isoxazole moiety, has been introduced in the side chain of β-lactam antibiotics to enhance their stability to β-lactamases.¹⁶⁻¹⁸ Thus, we raise the hypothesis that, due to their role of steric shielding, the methoxyimino group and its bioisostere could comprise the site of IgE recognition.

Conclusions

This case study emphasizes the usefulness of SAR-based investigation in drug allergy. Such an approach could prove beneficial in deciding which molecules should be avoided and which could reasonably be used to treat further infections in allergic patients. However, SAR-based approaches should not be used in isolation in deciding whether there is a potential for cross-reactivity.

Through this SAR analysis, the importance of the β-lactam side chain in triggering the IgE-mediated mechanism has been confirmed. In this case, we further postulated that

Table 1. Skin Tests Carried Out with Different β-Lactams

Drug	Prick Tests	IDT
Amoxicillin	-	-
Benzylpenicillin	-	-
Cefaclor	-	not done
Cefazolin	-	-
Cefepime	-	+
Cefotaxime	+	+
Ceftazidime	-	-
Ceftriaxone	+	+
Cefuroxime	+	+
Oxacillin	-	+
Phenoxymethylpenicillin	-	not done

IDT = intradermal testing.

the methoxyimino group and its bioisostere are directly responsible for binding of the molecule to IgEs.

Frédéric Hasdenteufel PharmD, Industrial Pharmacist, EA 3999 "maladies allergiques: diagnostic et thérapeutique," Department of Internal Medicine, Clinical Immunology and Allergology, University Hospital of Nancy, Nancy, France

Samuel Luyasu MD, Doctor of Internal Medicine and Allergologist, Arlon, Belgium

Jean-Marie Renaudin MD, General Practitioner and Allergologist, EA 3999 "maladies allergiques: diagnostic et thérapeutique," Department of Internal Medicine, Clinical Immunology and Allergology, University Hospital of Nancy

Philippe Trechot PharmD PhD, Department of Pharmacovigilance, University Hospital of Nancy

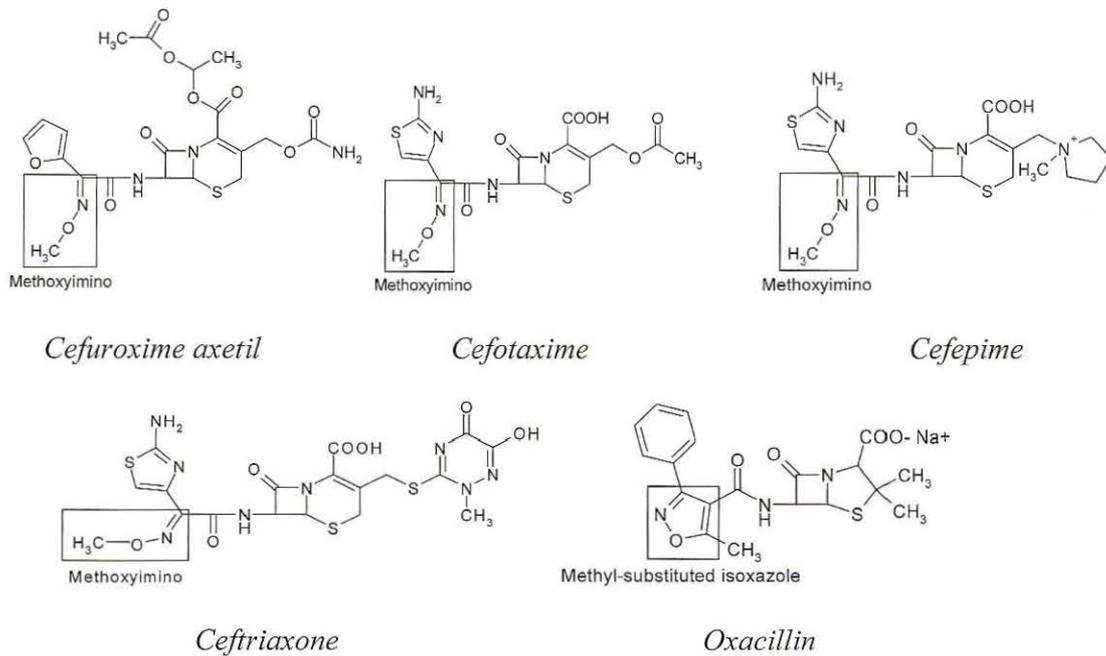


Figure 1. Structure of molecules yielding positive results in skin tests.

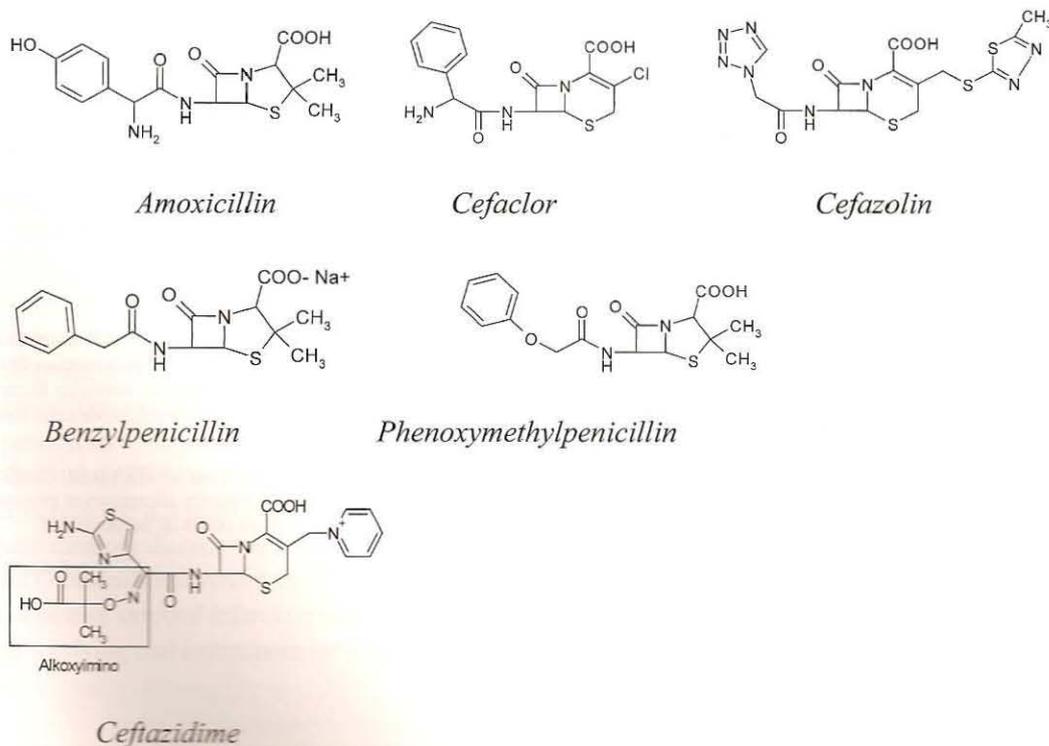


Figure 2. Structure of molecules yielding negative results in skin tests.

Gisèle Kanny MD PhD, Professor of Internal Medicine, College of Medicine, University of Nancy; Head of EA 3999 "maladies allergiques: diagnostic et thérapeutique," Department of Internal Medicine, Clinical Immunology and Allergology, University Hospital of Nancy

Reprints: Dr. Kanny, EA 3999 "maladies allergiques: diagnostic et thérapeutique," Department of Internal Medicine, Clinical Immunology and Allergology, Hôpital Central, University Hospital of Nancy, F-54035 Nancy Cedex, France, fax 0033/383852864, g.kanny@chu-nancy.fr

References

1. Wermuth CG, Ganellin CR, Lindberg P, Mitscher LA. Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1998). *Pure Appl Chem* 1998;70:1129-43.
2. Goodwin BF, Roberts DW. Structure-activity relationships in allergic contact dermatitis. *Food Chem Toxicol* 1986;24:795-8. DOI 10.1016/0278-6915(86)90188-2
3. Harle DG, Baldo BA, Well JV. Drugs as allergens: detection and combining site specificities of IgE antibodies to sulfamethoxazole. *Mol Immunol* 1988;25:1347-54. DOI 10.1016/0161-5890(88)90050-8
4. Naisbitt DJ, Gordon SF, Pirmohamed M, et al. Antigenicity and immunogenicity of sulphamethoxazole: demonstration of metabolism-dependent haptenation and T-cell proliferation in vivo. *Br J Pharmacol* 2001;133:295-305. DOI 10.1038/sj.bjp.0704074
5. Baldo BA, Pham NH, Weiner J. Detection and side-chain specificity of IgE antibodies to flucloxacillin in allergic subject. *J Mol Recognit* 1995;8:171-7. DOI 10.1002/jmr.300080302
6. Sanchez-Sancho F, Perez-Inestrosa E, Suau R, et al. Synthesis, characterization and immunochemical evaluation of cephalosporin antigenic determinants. *J Mol Recognit* 2003;16:148-56. DOI 10.1002/jmr.621
7. Neugut AI, Ghatak AT, Miller RL. Anaphylaxis in the United States, an investigation into its epidemiology. *Arch Intern Med* 2001;161:15-21. DOI 10.1001/archinte.161.1.15
8. Renaudin JMC, Kanny G, Codreanu F, Beaudouin E, Moneret-Vautrin DA. Severe drug-induced anaphylaxis: survey of case reports by allergy vigilance network. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119(suppl 1):S36. DOI 10.1016/j.jaci.2006.11.160
9. Atanaskovic-Markovic M, Velickovic TC, Gavrovic-Jankulovic M, Vuckovic O, Nestorovic B. Immediate allergic reactions to cephalosporins and penicillins and their cross-reactivity in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16:341-7.
10. Novalbos A, Sastre J, Cuesta J, et al. Lack of allergic cross-reactivity to cephalosporins among patients allergic to penicillins. *Clin Exp Allergy* 2001;31:438-43. DOI 10.1046/j.1365-2222.2001.00992.x
11. Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1981;30:239-45.
12. Brockow K, Romano A, Blanca M, Ring J, Pichler W, Demoly P. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy* 2002;57:45-51. DOI 10.1034/j.1398-9995.2002.13027.x
13. Torres MJ, Blanca M, Fernandez J, et al. Diagnosis of immediate allergic reactions to beta-lactam antibiotics. *Allergy* 2003;58:961-72. DOI 10.1034/j.1398-9995.2003.00280.x
14. Saenz de San Pedro B, Mayorga C, Torres MJ, Florido JF, Quiralte J, Blanca M. Boosted IgE response after anaphylaxis reaction to cefuroxime with cross-reactivity with cefotaxime. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;89:101-3.
15. Romano A, Mayorga C, Torres MJ, et al. Immediate allergic reactions to cephalosporins: cross-reactivity and selective responses. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:1177-83. DOI 10.1067/mai.2000.111147
16. Marcy SM, Klein JO. The isoxazolyl penicillins: oxacillin, cloxacillin and dicloxacillin. *Med Clin North Am* 1970;54:1127-43.
17. Neu HC. β -lactam antibiotics: structural relationships affecting in vitro activity and pharmacologic properties. *Rev Infect Dis* 1986;8(suppl 3):S237-59.
18. Patrick GL. An introduction to medicinal chemistry. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 2001.

EXTRACTO

OBJETIVO: Presentar un modelo para predecir la alergenidad basado en el análisis de la relación estructura-actividad de los antibióticos β -lactámicos utilizando procedimientos de test cutáneos apropiados.

RESUMEN DEL CASO: Se diagnosticó un shock anafiláctico a una mujer de 39 años pocos minutos después de tomar un comprimido de cefuroxima axetilo y posteriormente fue ingresada en un servicio de urgencias con mareos, angioedema facial, rash cutáneo generalizado e isquemia cardíaca inferior (la reacción fue clasificada como probable conforme a la escala de probabilidad de Naranjo para las RAM). Las pruebas cutáneas confirmaron la implicación de cefuroxima como causa de la reacción anafiláctica. Posteriormente realizamos un test cutáneo para estudiar las reacciones cruzadas entre diferentes antibióticos β -lactámicos. Además de esta valoración inicial se hizo un análisis de la relación estructura-actividad (SAR). Éste mostró que la paciente estaba sensibilizada frente a antibióticos β -lactámicos que presentan un grupo metoxiimino, pero no frente a compuestos similares sin ese grupo químico (pe, amoxicilina o penicilina G o V). Se toleró la administración de una dosis de hasta 1 g de amoxicilina a lo largo de 2 horas de perfusión bajo vigilancia médica intensiva.

DISCUSIÓN: Este estudio revela que el análisis SAR podría ser útil para predecir reacciones adversas potenciales a otros antibióticos relacionados y seleccionar estrategias alternativas cuando la administración de antibióticos es indispensable.

CONCLUSIONES: Un enfoque basado en un análisis SAR podría ayudar a los médicos y farmacéuticos a facilitar consejos apropiados a los pacientes alérgicos y proponer alternativas viables de cara a futuros tratamientos farmacológicos.

Juan del Arco

RÉSUMÉ

OBJECTIF: Présenter un modèle prédictif d'allergénicité basé sur l'analyse des relations structure-activité des antibiotiques β -lactames en utilisant des procédures de tests cutanés appropriées.

SOMMAIRE DU CAS: Une femme âgée de 39 ans a présenté un choc anaphylactique quelques minutes après avoir ingéré un comprimé de cefuroxime axétil et a été ensuite admise aux urgences avec vertige, angiooedème facial, rash cutané généralisé, et ischémie cardiaque inférieure transitoire (réaction probable selon l'échelle de Naranjo). Les tests cutanés à lecture immédiate (prick-tests et intradermoréactions) ont confirmé l'implication du cefuroxime dans la genèse du choc anaphylactique. Nous avons ensuite procédé à des tests cutanés dans le but d'étudier la réactivité croisée entre les différents antibiotiques β -lactames et réalisé une analyse des relations structure-activité (RSA). Celle-ci montre que la patiente est sensibilisée aux antibiotiques β -lactames présentant un groupement méthoxyimino, mais qu'elle ne l'est pas aux composés ne possédant pas ce groupement chimique, comme l'amoxicilline ou les pénicillines G ou V. La réintroduction de l'amoxicilline sous surveillance médicale a été tolérée jusqu'à une dose cumulée de 1 g, administrée par voie intraveineuse sur une période de plus de 2 heures.

DISCUSSION: Cette étude révèle que l'analyse des RSA pourrait être utile pour prédire la réactivité croisée d'antibiotiques proches de celui ayant induit la réaction allergique et envisager des stratégies thérapeutiques alternatives quand l'utilisation d'un antibiotique de cette famille est indispensable.

CONCLUSIONS: Une approche basée sur les RSA pourrait aider médecins et pharmaciens à conseiller les patients allergiques et proposer des choix alternatifs concernant les futures prises de médicaments.

Frédéric Hasdenteufel

Anaphylactic shock after first exposure to gadoterate meglumine: Two case reports documented by positive allergy assessment

To the Editor:

We report 2 cases of life-threatening anaphylactic reactions to gadoterate meglumine (Gd-DOTA) documented by positive skin test results. Since the first marketing authorization of gadopentate dimeglumine (Gd-DTPA) in the United States, Europe, and Japan in 1988, gadolinium-based contrast agents have been widely used, and they currently account for approximately 30% of all magnetic resonance imaging (MRI) procedures. Anaphylactic shock induced by gadolinium-containing products is rare: incidence ranges from 0.004% to 0.01%.^{1,2} Gd-DOTA is an ionic cyclic gadolinium-containing product with high osmolality. Systemic anaphylaxis reactions to Gd-DTPA were first described in 1990.³ A patient with history of asthma and anaphylactic shock to iodinated contrast media presented laryngeal and facial edema minutes after intravenous injection of Gd-DTPA. Since this early report, some severe cases of anaphylactoid reactions (grade III to IV) caused by Gd-DTPA⁴ or to Gd-DOTA⁵ have been documented in the literature. A case of allergic anaphylaxis caused by Gd-DOTA documented by positive skin tests and leukocyte histamine release test (LHRT) has been previously reported.⁶

Skin tests were performed in accordance with drug allergy European Network of Drug Allergy/European Academy of Allergology and Clinical Immunology recommendations.⁷ Skin prick tests (SPTs) with undiluted MRI contrast agents were followed by intradermal tests (IDTs) with different concentrations of MRI contrast agents (first a 10⁻³ dilution and then a gradual increase to the undiluted contrast medium). SPTs were performed on the volar forearm, and a diameter greater than 3 mm was considered a positive response for an immediate reading at 15 minutes, with a positive response to codeine phosphate 9% and negative to the control saline. IDTs were performed by intradermally injecting of 0.02 to 0.05 mL, raising a papula of 3 to 4 mm on the back. An increase in wheal diameter of greater than 3 mm is considered a positive response for the immediate reading at 15 minutes. Ten controls who had previously undergone MRI examination with good tolerance and had negative skin tests were included. Additional LHRT was performed for 1 patient. Two other patients who had completely negative LHRT served as control subjects. Table I summarizes the results of both skin and biological tests.

In case 1, a 61-year-old woman without an allergy history presented generalized erythema and a decrease in blood pressure (80/40 mmHg) within minutes after the first injection of Gd-DOTA

while undergoing carotid angiography for acute ischemic stroke. It was the patient's first MRI examination, and the anaphylactic shock was treated with fluids; she did not receive epinephrine. She has had surgery of lumbar disk hernia. Gd-DOTA SPT was negative (280 mg/mL), and IDT was positive (28 mg/mL). SPT and IDT were negative with gadopentate dimeglumine (Gd-DTPA; Magnevist, Bayer HealthCare Pharmaceuticals, Wayne, NJ), gadobenate dimeglumine (Gd-BOPTA; Multihance, Bracco Diagnostics Inc, Princeton, NJ) and gadodiamide (Gd-DTPA-BMA; Omniscan, GE Healthcare, Princeton, NJ). LHRT was positive for Gd-DOTA, with the maximum histamine release 47.8% (28 mg/mL).

In case 2, a 72-year-old man with no allergy history developed anaphylactic shock (bronchospasm, generalized urticaria, facial angioedema, and collapse) within minutes during a cerebral MRI with Gd-DOTA. The shock was treated with intravenous fluids and intravenous injection of epinephrine and corticosteroids before admission in an intensive care unit. No previous exposure to gadolinium-based agents was documented. SPT was positive with Gd-DOTA at 280 mg/mL, and SPT and IDT with meglumine were negative at 100 mg/mL. IDTs with other gadolinium-based media (Gd-DTPA, Gd-BOPTA, and Gd-DTPA-BMA) were negative.

These case reports demonstrate an immediate reaction to Gd-DOTA documented by skin tests and LHRT. The hypothesis of nonspecific histamine release does not appear to be plausible because controls had negative skin tests. Moreover, the ability of gadolinium-based contrast agents to induce a nonspecific histamine release has been studied on *ex vivo* and *in vivo* models using canine mast cells.⁸ It appears that the Gd-DTPA concentrations able to induce an *in vitro* mast cell degranulation by osmotoxicity are about 100 to 400 times the estimated serum concentrations found in patients after a standard injection of 0.1 to 0.2 mmol/kg Gd-DTPA. IgE-mediated allergy caused by meglumine is ruled out by negative skin tests results with other MRI contrast agents containing meglumine (Gd-DTPA and Gd-BOPTA).

These patients have no allergy background. Interestingly, and as previously described by Rahman et al,⁴ these cases of anaphylactic shock to Gd-DOTA occurred on their first exposure to gadolinium-containing products. However, no other previous exposure to gadolinium (ie, in metallurgical plants, magnet manufactures, fluorescent lamps, or television sets) was found in these patients' histories. Reaction after first exposure to a drug has already been described for neuromuscular blockers, for which immediate allergy occurs without previous exposure in about 30% of tested patients.⁹ It could be postulated that a macrocyclic structure similar to Gd-DOTA could have induced a latent sensitization.

Because of the results of the allergy assessment that documented a clear monosensitization to Gd-DOTA for both cases, other tested MRI contrast agents would constitute a valuable

TABLE I. Results of skin and biological tests

Patient no.	Age (y)	Sex	Gd-DOTA	Gd-DTPA	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA
1	61	Female	SPT -	SPT -	SPT -	SPT -
			IDT +	IDT -	IDT -	IDT -
			LHRT +			
2	72	Male	SPT +	SPT -	SPT -	SPT -
			IDT not done	IDT -	IDT -	IDT -

alternative for MRI procedures in these patients. However, the predictive value of skin testing could be established only by the further use of these contrast media and demonstration of an acceptable tolerance. This has not been pursued in these patients because of lack of indication for another MRI examination as well as ethical reasons.

These 2 cases of IgE-mediated anaphylaxis to Gd-DOTA underline the importance of an appropriate allergy assessment, principally skin tests, to document the drug's involvement.

Frédéric Hasdenteufel, PharmD^a
Samuel Luyasu, MD^b
Jean-Marie Renaudin, MD^a
Jean-Louis Paquay, MD^b
Giuseppe Carbutti, MD^b
Etienne Beaudouin, MD^a
Denise Arne Moneret-Vautrin, MD^a
Gisèle Kanny, MD, PhD^a

From ^aEquipe d'accueil 3999, Allergy Diseases: Diagnosis and Therapeutics, Department of Internal Medicine, Clinical Immunology and Allergology, University Hospital of Nancy, Nancy, France; and ^bthe Department of Internal Medicine and Intensive Care, Clinic of South Luxembourg, Arlon, Belgium. E-mail: frederic.hasdenteufel@wanadoo.fr

Disclosure of potential conflict of interest: The authors have declared that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Herborn CU, Honold E, Wolf M, Kemper J, Kinner S, Adam G, et al. Clinical safety and diagnostic value of the gadolinium chelate gadoterate meglumine (Gd-DOTA). *Invest Radiol* 2007;42:58-62.
- Li A, Wong CS, Wong MK, Lee CM, Au Yeung MC. Acute adverse reactions to magnetic resonance contrast media: gadolinium chelates. *Br J Radiol* 2006;79:368-71.
- Weiss KL. Severe anaphylactoid reaction after i.v. Gd-DTPA. *Magn Reson Imaging* 1990;8:817-8.
- Rahman SL, Harbinson M, Mohiaddin R, Pennell DJ. Acute allergic reaction upon first exposure to gadolinium-DTPA: a case report. *J Cardiovasc Magn Reson* 2005;7:849-51.
- Meuli RA, Maeder P. Life-threatening anaphylactoid reaction after iv injection of gadoterate meglumine. *Am J Roentgenol* 1996;166:729.
- Beaudouin E, Kanny G, Blankoel Y, Guilloux L, Renaudin JM, Moneret-Vautrin DA. Anaphylactic shock induced by gadoterate meglumine (DOTAREM). *Allerg Immunol (Paris)* 2003;35:382-5.
- Brockow K, Romano A, Blanca M, Ring J, Pichler W, Demoly P. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy* 2002;57:45-51.
- Baxter AB, Lazarus SC, Brasch RC. In vitro histamine release induced by magnetic resonance imaging and iodinated contrast media. *Invest Radiol* 1993;28:308-12.
- Moneret-Vautrin DA, Laxenaire MC. The risk of allergy related to general anesthesia. *Clin Exp Allergy* 1993;23:629-33.

Available online October 8, 2007.
doi:10.1016/j.jaci.2007.08.027

Non-IgE-mediated chronic allergic skin inflammation revealed with rBet v 1 fragments

To the Editor:

Atopic dermatitis (AD) is a chronic inflammatory skin disorder affecting about 3% to 10% of patients with IgE-mediated allergies.¹ The cardinal features of AD are eczematous and erythematous skin lesions, which are characterized by spongiosis, epidermal hyperplasia, and perivascular infiltrates consisting of T cells, monocytes, macrophages, and antigen-presenting cells. AD thus resembles many features of delayed-type hypersensitivity. The symptoms of AD are triggered in the vast majority of patients with AD by exogenous exposure

to allergens (ie, extrinsic AD), among them food and aeroallergens.² External application of allergens to the skin by means of atopy patch tests (APT) can also be used to elicit the characteristic eczematous skin lesions in patients with AD for diagnostic purposes.²

The contribution of IgE-mediated versus non-IgE-mediated mechanisms to chronic inflammation in patients with AD is a matter of discussion. Evidence for an important role of IgE-mediated mechanisms comes from the following findings. Patients with AD with high levels of IgE express higher levels of FcεRI on monocytes and dendritic cells, and it has been demonstrated *in vitro* that IgE-facilitated antigen presentation activates allergen-specific T cells more efficiently than allergen presentation through non-IgE-mediated mechanisms.³ Furthermore, there are reports that certain patients with AD benefit from treatment with anti-human IgE antibodies.⁴ On the other hand, skin manifestations in patients with AD can be improved by using therapy strategies targeting T cells in a relatively selective manner.⁵ In fact, there is also evidence for non-IgE-mediated inflammation in other chronic manifestations of allergy, such as asthma.⁶

To study the contribution of IgE-mediated versus non-IgE-mediated mechanisms in chronic allergic skin inflammation, we used a purified IgE-reactive major allergen (ie, the birch pollen allergen Bet v 1 [molecular weight, 17.4 kDa])⁷ and 2 non-IgE-reactive hypoallergenic fragments thereof (F1: amino acids 1-74 [molecular weight, 8 kDa]; F2: amino acids 75-160 [molecular weight, 9.4 kDa]),⁸ which together comprise the full T-cell epitope repertoire of the Bet v 1 allergen but lack IgE reactivity and allergenic activity (ie, basophil activation and induction of immediate-type skin reactions) for APTs in patients with AD. We performed skin prick tests and APTs in 5 patients with AD and birch pollen allergy, a patient with birch pollen allergy without skin manifestations, an allergic person without birch pollen allergy, and 2 non-allergic individuals using rBet v 1 or a mix of the 2 rBet v 1 fragments (F1: amino acids 1-74; F2: amino acids 75-160).

The demographic, clinical, and serologic characterization of the individuals is summarized in Table I. IgE reactivity to rBet v 1 and rBet v 1 fragments (F1 and F2) was tested in a nondenaturing dot-blot assay⁸ and showed that each of the 6 patients with birch pollen allergy (patients A-F) contained rBet v 1-specific IgE (Fig 1 and Table I: 13->100 kU_{A/L}), but none of them contained IgE specific for the Bet v 1 fragments F1 and F2 (Fig 1 and Table I).

Skin prick testing performed on the backs of the patients confirmed the results of the dot-blot experiments because each of the 6 patients with birch pollen allergy but none of the individuals without birch pollen allergy showed immediate-type skin reactivity to rBet v 1 (20 and 40 μg/mL) after 20 minutes (Table I and Fig E1 in the Online Repository at www.jacionline.org). None of the 6 patients with birch pollen allergy had immediate-type skin reactions to equimolar mixes of the rBet v 1 fragments, which was in agreement with the negative result from the IgE dot-blot experiment (Table I and see Fig E1). In parallel to skin prick tests, APTs were performed with aluminum cups (Finn Chambers on Scanpor, Large, Epitest Ltd Oy, Tuusula, Finland) containing 160 μg of rBet v 1 or a mix containing 80 μg of each rBet v 1 fragment, as previously described.⁹ When the APT result was read and photo documented after 48 hours, we found that rBet v 1 induced a positive eczematous reaction of varying intensity in each of the patients with birch pollen allergy and AD (subjects A-E)

The case herein described, as in the study by Makowska et al,¹ demonstrates that a substance can be absorbed by the airway mucosa and cause distant reactions, both allergic and nonallergic. We believe that 2 factors contributed to the development of the systemic reaction. First is the excessive dose of the allergen to which the patient had been exposed because of the nonobservance of the SBC protocol. If the correct inhalation intervals had been observed, a positive result and consequent SBC interruption would have occurred with a higher dilution. For the second factor, the existing inflammation of the airways might have contributed to allergen absorption and development of an urticarial reaction.

The present report underlines the importance of compliance with all norms for the performance of SBC to avoid the occurrence of iatrogenic events, one of the main causes of adverse reactions. Careful clinical anamnesis should be performed during bronchial challenge because the presence of signs of asthma is associated with an increased risk of test complications.

*Pedro Giavina-Bianchi, MD, PhD
Lorena C. Diniz, MD
Rosana C. Agondi, MD, PhD
Maria H. Porter, MD
Jorge Kalil, MD, PhD*

From the Division of Clinical Immunology and Allergy, University of São Paulo, São Paulo, Brazil. E-mail: saudesos@saudesos.com.br.

Disclosure of potential conflict of interest: The authors have declared that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Makowska JS, Grzegorzczak J, Bienkiewicz B, Wozniak M, Kowalski ML. Systemic responses after bronchial aspirin challenge in sensitive patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:348-54.
2. Hargreave FE, Dolovich J, Boulet LP. Inhalation provocation tests. *Semin Respir Med* 1983;4:224-8.
3. Inman MD, Watson R, Cockcroft DW, Wong BJO, Hargreave FE, O'Byrne PM. Reproducibility of allergen-induced early and late asthmatic responses. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:1191-5.
4. Melillo G, Bonini S, Cocco G, Davis RJ, De Monchy JGR, Frolund L, et al. EAACI provocation tests with allergens. Report prepared by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology Subcommittee on provocation tests with allergens. *Allergy* 1997;52(suppl 35):1-35.

Available online May 12, 2008.
doi:10.1016/j.jaci.2008.04.004

Reply

To the Editor:

We would like to thank Giavina-Bianchi et al¹ for sharing their interesting case of a patient who had generalized urticaria 24 hours after inhalation of house dust mite allergen during specific bronchial challenge. The delayed skin response to inhaled allergen was preceded by a dual (early- and late-phase) asthmatic response confirming specific, IgE-mediated sensitization to the culprit allergen.

Similarly, the immediate bronchial obstruction after challenge with lysine aspirin can be followed by delayed extrabronchial symptoms, such as urticaria. Our report of delayed reactions after aspirin challenge² resembles the case of Giavina-Bianchi et al,¹ even though the aspirin-induced bronchial reaction is not immunologic or IgE dependent. Aspirin reactions are caused by the inhibition of cyclooxygenase-1 and associated activation of inflammatory cells with mediator release.

Three of our 13 patients with positive responses to aspirin had skin symptoms (dermal flush, angioedema, or both) within

2 hours after inhalation of aspirin (early reaction), and another 3 patients had urticaria 3 to 12 hours after the challenge.

Although skin reactions after aspirin occurred earlier than after allergen challenge, the delayed skin reaction was preceded by an immediate bronchial response, as was observed with allergen challenge. This observation suggests that non-IgE-mediated mast cell activation in aspirin-sensitive asthma also is associated with a systemic delayed response similar to that seen with high-dose allergen challenge.

Giavina-Bianchi et al¹ suggested that delayed urticaria after inhalation of a high dose of allergen could result from systemic absorption of allergen from the bronchi, but this mechanism is less likely with aspirin challenge. We observed that only in patients with late reactions, as opposed to early reactors, did an increased recruitment of leukocyte and eosinophil progenitor (CD125⁺CD34⁺CD45⁺) cells into the peripheral circulation occur 24 hours after the challenge. This suggests that the immediate bronchial response after inhalation challenge with either allergen or aspirin can result in the systemic release of factors, such as eotaxin-2, which stimulate the liberation of bone marrow cells associated with delayed generalized reactions.

Regardless of the mechanisms responsible for delayed skin reactions after inhaled allergen or aspirin, both reports stress the possibility of a systemic response to a local challenge.

*Marek L. Kowalski, MD, PhD
Joanna S. Makowska, MD, PhD*

From the Department of Immunology, Rheumatology and Allergy, Medical University of Lodz, Lodz, Poland. E-mail: marek.kowalski@sk.umed.lodz.pl.

Disclosure of potential conflict of interest: The authors have declared that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Giavina-Bianchi P, Diniz LC, Agondi RC, Porter MH, Kalil J. Urticaria after specific bronchial challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:214-5.
2. Makowska JS, Grzegorzczak J, Bienkiewicz B, Wozniak M, Kowalski ML. Systemic responses after bronchial aspirin challenge in sensitive patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:348-54.

Available online June 3, 2008.
doi:10.1016/j.jaci.2008.03.032

Anaphylactic shock after first exposure to a macrocyclic gadolinium chelate: A few comments

To the Editor:

Magnetic resonance imaging contrast agents are classically considered to be safe,^{1,2} although anaphylactic reactions can in fact occur with any category of contrast agent.¹⁻⁴ Hasdenteufel et al⁵ have recently reported 2 cases of anaphylactic shock associated with the administration of the macrocyclic gadolinium chelate gadoterate meglumine (Gd-DOTA). These cases were documented by skin tests (positive intradermal test result at 28 mg/mL for patient 1 and positive skin prick test result at 280 mg/mL for patient 2), as well as positive leukocyte histamine release test results for patient 1. To our knowledge, this is the first study in which skin tests were carried out in patients who experienced shock after exposure to a gadolinium chelate.

The 2 cases presented occurred on the supposed first exposure to gadolinium chelate. Because no other previous exposure to gadolinium was documented in these patients and because skin prick test and intradermal test results were negative with

gadopentetate dimeglumine, gadobenate dimeglumine, and gadodiamide, the authors postulated that a macrocyclic structure similar to Gd-DOTA could have induced a latent sensitization. Macrocyclic gadolinium chelates differ from open-chain molecules in that they display a higher thermodynamic and kinetic stability and are therefore less likely to dissociate *in vivo*.^{6,7}

It is worth mentioning that all 3 contrast agents used as controls in skin tests were open-chain linear molecules.⁶ It is unfortunate that another macrocyclic gadolinium chelate, such as gadoteridol (Gd-HP-DO3A) or gadobutrol (Gd-BT-DO3A; both are also marketed in France), was not selected as a control because this would have allowed a better understanding of the putative role of the gadolinium ligand in the sensitization of these patients. Gd-DOTA and Gd-HP-DO3A are both tetra-aza macrocyclic ligands, which differ in the presence of an isopropanol moiety in the case of Gd-HP-DO3A, thus making it nonionic. The structure of Gd-BT-DO3A includes a butanetriol moiety.

In conclusion, the question of the sensitizing role of the ligand macrocyclic structure in these 2 patients remains open.

Jean-Marc Idée, PharmD, MS
Claire Corot, PharmD, PhD

From the Research Division, Guerbet, Roissy, France. E-mail: idee@guerbet-group.com.

Disclosure of potential conflict of interest: The authors are employees of Guerbet, manufacturer of meglumine gadoterate.

REFERENCES

- Li A, Wong CS, Wong MK, Lee CM, Au Yeung MC. Acute adverse reactions to magnetic resonance contrast media. Gadolinium chelates. *Br J Radiol* 2006;79:368-71.
- Runge VM. Safety of approved MR contrast media for intravenous injection. *J Magn Reson Imaging* 2000;12:205-13.
- Murphy KJ, Brunberg JA, Cohan RH. Adverse reactions to gadolinium contrast media: a review of 36 cases. *Am J Roentgenol* 1996;167:847-9.
- Kalogeromitros DC, Makris MP, Aggelides XS, Spanoudaki N, Gregoriou SG, Avgerinou G, et al. Anaphylaxis to gadobenate dimeglumine (MultiHance): a case report. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;144:150-4.
- Hasdenteufel F, Luyasu S, Renaudin JM, Paquay JL, Carbutti G, Beaudouin E, et al. Anaphylactic shock after first exposure to gadoterate meglumine: two case reports documented by positive allergy assessment. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:527-8.
- Idée JM, Port M, Raynal I, Schaefer M, Le Greneur S, Corot C. Clinical and biological consequences of transmetallation induced by contrast agents for magnetic resonance imaging: a review. *Fundam Clin Pharmacol* 2006;20:563-76.
- White GW, Gibby WA, Tweedle MF. Comparison of Gd-(TPA-BMA) (Omniscan) versus Gd(HP-DO3A) (ProHance) relative to gadolinium retention in human bone tissue by inductively coupled mass spectroscopy. *Invest Radiol* 2006;41:272-8.

Available online June 11, 2008.
doi:10.1016/j.jaci.2008.05.013

Reply

To the Editor:

We thank Drs Idée and Corot¹ for their comments regarding our recent report on 2 cases of anaphylactic shock occurring after first

exposure to gadoterate meglumine (Gd-DOTA; Dotarem; Guerbet, Roissy, France).²

We agree with the authors' remarks and have completed the initial allergy assessment with 2 other macrocyclic magnetic resonance imaging (MRI) contrast agents: gadoteridol (Gd-HP-DO3A; Prohance; Bracco Diagnostics, Inc, Princeton, NJ) and gadobutrol (Gd-DO3A-butrol; Gadovist; Bayer Schering Pharma AG, Berlin, Germany). Gd-DO3A-butrol is another nonionic macrocyclic gadolinium chelate that is also marketed in France and differs from Gd-HP-DO3A only by its N10 substituent. Skin tests were performed in accordance with drug allergy European Network of Drug Allergy/European Academy of Allergology and Clinical Immunology recommendations.³ Table 1 summarizes the results of skin tests.

Intradermal test (IDT) result for Gd-HP-DO3A and Gd-DO3A-butrol were positive (280 and 605 mg/mL, respectively) in patient 1. Unfortunately, patient 2 died of bladder cancer, and complementary skin tests with Gd-HP-DO3A and Gd-DO3A-butrol could not be carried out.

Since these 2 reports, we investigated a 73-year-old woman (patient 3) who had anaphylaxis (bronchospasm with hypoxemia, facial angioedema, and generalized erythema) a few minutes after the first injection of Gd-DOTA while undergoing hepatic MRI. The IDT result was positive for macrocyclic MRI contrast agents (0.28 mg/mL for Gd-DOTA, 2.80 mg/mL for Gd-HP-DO3A, and 6.05 mg/mL for Gd-DO3A-butrol), whereas skin prick test and IDT results with linear MRI contrast agents (gadopentetate dimeglumine [Gd-DTPA; Magnevist; Bayer HealthCare Pharmaceuticals, Wayne, NJ], gadobenate dimeglumine [Gd-BOPTA; Multihance; Bracco Diagnostics, Inc, Princeton, NJ], and gadodiamide [Gd-DTPA-BMA; Omniscan; GE Healthcare, Princeton, NJ]) were negative.

In these patients the MRI contrast agents that yielded positive skin test results were of the macrocyclic type. On the other hand, Gd-DTPA, Gd-BOPTA, and Gd-DTPA-BMA, which are open-chain linear molecules, elicited negative skin test results. In patients 1 and 3, Gd-DTPA was well tolerated up to a cumulative dose of 0.1 mmol/kg administered over 15 minutes intravenously.

Therefore the implication of the tetra-azacyclododecane derivative ligand of macrocyclic MRI contrast agents in the genesis of anaphylactic reactions is demonstrated by (1) positive skin test results with contrast media sharing the same macrocyclic ligand, (2) the negativity of skin test results to linear MRI contrast media, and (3) the tolerance of intravenously administered linear Gd-DTPA. This study shows that patients allergic to macrocyclic MRI contrast media can still tolerate linear contrast media and underlines the interest of the structure-activity relationship theory to predict allergenicity.⁴

Frédéric Hasdenteufel, PharmD^a
Samuel Luyasu, MD^b

TABLE 1. Results of skin and challenge tests

Patient no.	Age (y)	Sex	Macrocyclic molecules			Open-chain molecules			Challenge test with Gd-DTPA
			Gd-DOTA	Gd-HP-DO3A	Gd-DO3A-butrol	Gd-DTPA	Gd-BOPTA	Gd-DTPA-BMA	
1	61	F	SPT ⁻ IDT ⁺	SPT ⁻ IDT ⁺	SPT ⁻ IDT ⁺	SPT ⁻ IDT ⁻	SPT ⁻ IDT ⁻	SPT ⁻ IDT ⁻	-
2	72	M	SPT ⁺ IDT (ND)	ND	ND	SPT ⁻ IDT ⁻	SPT ⁻ IDT ⁻	SPT ⁻ IDT ⁻	ND
3	73	F	SPT ⁻ IDT ⁺	SPT ⁻ IDT ⁺	SPT ⁻ IDT ⁺	SPT ⁻ IDT ⁻	SPT ⁻ IDT ⁻	SPT ⁻ IDT ⁻	-

SPT, Skin prick test; ND, not done.

Results of skin tests with Gd-DOTA and open-chain molecules for patients 1 and 2 were published previously.²

Jean-Marie Renaudin, MD^a
Jean-Louis Paquay, MD^b
Giuseppe Carbutti, MD^b
Etienne Beaudouin, MD^a
Denise Anne Moneret-Vautrin, MD^a
Gisèle Kanny, MD, PhD^a

From ^aEA 3999 "Allergy Diseases: Diagnosis & Therapeutics," Department of Internal Medicine, Clinical Immunology and Allergology, University Hospital of Nancy, Nancy, France; and ^bthe Department of Internal Medicine and Intensive Care, Clinic of South Luxembourg, Arlon, Belgium. E-mail: frederic.hasdenteufel@wanadoo.fr. Disclosure of potential conflict of interest: The authors have declared that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Idée JM, Corot C. Anaphylactic shock after first exposure to a macrocyclic gadolinium chelate: a few comments. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:215-6.
2. Hasdenteufel F, Luyasu S, Renaudin JM, Paquay JL, Carbutti G, Beaudouin E, et al. Anaphylactic shock after first exposure to gadoterate meglumine: two case reports documented by positive allergy assessment. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:527-8.
3. Brockow K, Romano A, Blanca M, Ring J, Pichler W, Demoly P. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy* 2002;57:45-51.
4. Hasdenteufel F, Luyasu S, Renaudin JM, Trechot P, Kanny G. Anaphylactic shock associated with cefuroxime axetil: structure-activity relationships. *Ann Pharmacother* 2007;41:1069-72.

Available online June 11, 2008.
doi:10.1016/j.jaci.2008.05.014

Omalizumab and Churg-Strauss syndrome

To the Editor:

Ruppert et al¹ described an interesting case of Churg-Strauss syndrome (CSS) occurring during omalizumab treatment. This is, as far as we know, the third publication in the literature to describe such an event.¹⁻³

Our case was different.^{4,5} We had a patient with CSS whose asthma was uncontrolled, and we administered anti-IgE to achieve asthma control. At present, our patient has been treated with anti-IgE for 1 year. He has well-controlled asthma, maintains a low eosinophil blood count, and has not presented an increase of CSS clinical activity.⁶ Since omalizumab administration started, the patient has not taken systemic corticosteroids.

We believe that CSS in the 3 described cases¹⁻³ is actually caused by systemic steroid tapering rather than anti-IgE use. The patient of Ruppert et al¹ stopped prednisolone and had a rapid and dramatic reduction of fluticasone before CSS diagnosis. It would be interesting to review the patient history for signs of CSS, including increased eosinophil blood count. Bargagli and Rottoli,³ encouraged by our case, continued to administer omalizumab to their patient along with CSS treatment with systemic corticosteroids and had a good outcome.

This is a discussion similar to the one about the use of antileukotriene drugs in asthma. Although the immunopathogenesis of CSS is still poorly known, it is difficult to conjecture that it can be induced or amplified by anti-IgE effects. Our case and that of Bargagli and Rottoli³ strengthen this idea.

All these cases together suggest that you can use omalizumab in patients with CSS to treat and control asthma, but it was also demonstrated that anti-IgE does not control CSS activity. Systemic corticosteroids are the drug of choice to treat CSS, and its tapering in asthmatic patients has to be made with caution, especially when CSS is suspected. Nevertheless, large and long-

term studies would be appropriate before widespread use of omalizumab in patients with asthma and CSS.

Pedro Giavina-Bianchi, MD, PhD
Mara Giavina-Bianchi, MD, PhD
Rosana Agondi, MD, PhD
Jorge Kalil, MD, PhD

From the Division of Clinical Immunology and Allergy, University of São Paulo, São Paulo, Brazil. E-mail: saudesos@saudesos.com.br.

Disclosure of potential conflict of interest: The authors have declared that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Ruppert AM, Averous G, Stanciu D, Deroide N, Riehm S, Pointron V, et al. Development of Churg-Strauss syndrome with controlled asthma during omalizumab treatment. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:253-4.
2. Winchester DE, Jacob A, Murphy T. Omalizumab for asthma. *N Engl J Med* 2006;355:1281-2.
3. Bargagli E, Rottoli P. Omalizumab treatment associated with Churg-Strauss vasculitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;145:268.
4. Giavina-Bianchi P, Giavina-Bianchi M, Agondi R, Kalil J. Three months' administration of anti-IgE to a patient with Churg-Strauss syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1279.
5. Giavina-Bianchi P, Giavina-Bianchi M, Agondi R, Kalil J. Administration of anti-IgE to a Churg-Strauss syndrome patient. *Int Arch Allergy Immunol* 2007;144:155-8.
6. Giavina-Bianchi P, Agondi R, Kalil J. One Year Administration of Anti-IgE to a Patient with Churg-Strauss Syndrome. *Int Arch Allergy Immunol* 2008;146(2):176.

doi:10.1016/j.jaci.2008.05.024

Reply

To the Editor:

We thank Giavina-Bianchi et al¹ for their comments on our article regarding development of Churg-Strauss syndrome (CSS) with controlled asthma during treatment with omalizumab.²

First, Giovanni-Bianchi et al¹ suggest that in the 3 reported cases CSS was due to systemic steroid withdrawal.³⁻⁵ Second, they propose that omalizumab could be used in patients with CSS to treat and control asthma.³

Concerning the first proposal, no signs or symptoms of CSS were detected in our patient before the introduction of omalizumab. Several blood cell counts were performed, and only a slightly increased eosinophilic blood count at $0.761 \times 10^3/L$ was detected 3 years before diagnosis of CSS. Eosinophilia is a mark of CSS but is also frequently associated with severe persistent asthma. Thus no element for CSS was found before anti-IgE treatment. Consequently, the cause of CSS in our patient remains uncertain: the unmasking of a CSS *forme fruste* under corticosteroid tapering is probable, but a direct causative role of omalizumab cannot be ruled out.

Concerning the second proposal, in our case asthma was severe before introduction of omalizumab and did dramatically improve with anti-IgE therapy. Accordingly, we are inclined to agree with Giavina-Bianchi et al¹ that omalizumab could be beneficial in patients with CSS with persistent asthma.³ Nevertheless, in our patient omalizumab did not prevent the extensive eosinophilic infiltration, and corticosteroids remain the key treatment of CSS. Further data will be necessary to validate the use of omalizumab in uncontrolled asthma with CSS.

Anne-Marie Ruppert, MD
Daniela Stanciu, MD
Nicolas Demide, MD
Frédéric de Blay, MD

From the Department of Chest Diseases, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France. E-mail: frederic.deblay@chru-strasbourg.fr.



Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
 www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
 www.em-consulte.com



Communication brève

Choc anaphylactique à l'insuline humaine recombinante : suivi d'un protocole d'accoutumance par tests d'activation des basophiles

Anaphylactic shock to human insulin: Follow-up of a desensitization protocol by basophil activation test

S. Luyasu^{a,*}, N. Hougardy^b, F. Hasdenteufel^c, S. Jacquenet^d, E. Weber^e, A. Moneret-Vautrin^c, G. Kanny^c

^a Service de réanimation médicale, les cliniques du sud-Luxembourg, 137, rue des Déportés, 6700 Arlon, Belgique

^b Laboratoire de biologie clinique, les cliniques du sud-Luxembourg, 137, rue des Déportés, 6700 Arlon, Belgique

^c EA 3999, service de médecine interne, immunologie clinique et allergologie, hôpital Central, CHU de Nancy, 29, avenue du Maréchal-de-Lattre-de-Tassigny, 54035 Nancy cedex, France

^d Genclis SAS, 15, rue du Bois de la Champelle, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

^e Service de médecine interne, les cliniques du sud-Luxembourg, 137, rue des Déportés, 6700 Arlon, Belgique

INFO ARTICLE

Historique de l'article :
 Disponible sur Internet le 23 November 2010

Mots clés :

Insuline
 Choc anaphylactique
 Accoutumance
 Allergie médicamenteuse
 Cytométrie flux
 Basophiles

Keywords:

Insulin
 Anaphylactic shock
 Desensitization
 Tolerance induction
 Drug allergy
 Flow cytometry
 Basophils

RÉSUMÉ

Introduction. – Une molécule responsable d'une anaphylaxie peut être jugée indispensable au traitement d'un patient. C'est le cas de l'insuline chez un patient diabétique. Nous rapportons une observation de choc anaphylactique à l'insuline humaine recombinante associée à la protamine, avec succès d'un protocole d'accoutumance rapide à l'insuline humaine sans protamine.

Observation. – Un homme de 50 ans atteint d'un diabète de type 2 présentait, un an après le début de l'insulinothérapie, un choc anaphylactique quelques minutes après une injection sous-cutanée d'insuline humaine recombinante associée à la protamine (Insulatard®). La mise en place d'un protocole d'accoutumance à l'insuline humaine permettait d'utiliser deux analogues d'insuline humaine sans protamine (aspartate et glargine) pour traiter ce patient, avec un succès maintenu à deux ans. Un mécanisme IgE-dépendant était démontré par tests cutanés positifs à l'insuline et à la protamine ainsi que par la présence d'IgE spécifiques à l'insuline. L'acquisition et le maintien de la tolérance étaient suivis par tests cutanés, test de Maunsell, dosages des IgE et IgG4 spécifiques, et tests d'activation des basophiles. La baisse de la sensibilité des basophiles à l'insuline humaine est un marqueur précoce de l'acquisition de la tolérance.

Conclusion. – L'efficacité de l'accoutumance à l'insuline humaine chez ce patient ayant présenté un choc anaphylactique souligne l'importance de définir les modalités de mise en place de tels protocoles et de suivi de l'acquisition de la tolérance.

© 2010 Société nationale française de médecine interne (SNFMI). Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

ABSTRACT

Introduction. – Despite the occurrence of a severe allergic reaction including an anaphylactic shock, a drug may remain essential and impossible to replace. This may be the case of insulin in a diabetic patient. We describe the case of an anaphylactic shock to human insulin in whom a desensitization protocol was successfully achieved.

Case report. – A 50-year-old type 2 diabetic man presented one year after initiation of the insulin therapy an anaphylactic shock following the subcutaneous administration of a human insulin containing protamine (Insulatard®). A desensitization protocol to human insulin was performed and allowed to use two human insulin analogues containing no protamine (aspartate and glargine), with a two-year event-free follow-up. Positive skin tests with insulin and protamine, and the presence of insulin specific IgE were evidenced of an IgE-mediated mechanism. Desensitization was monitored by skin tests, Maunsell's test, measurement of

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : sluyasu@clinsudlux.be (S. Luyasu).

specific IgE and IgG4, and the basophil activation test. The decrease of basophil sensitivity to insulin is an early marker for tolerance induction.

Conclusion. – The effectiveness of the desensitization to human insulin underlines the importance to define the modalities of such desensitization protocol and of the monitoring of the tolerance induction.

© 2010 Société nationale française de médecine interne (SNFMI). Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Les hypersensibilités médicamenteuses sont fréquentes, la prévalence étant estimée à 7% [1]. L'allergie IgE-dépendante à l'insuline humaine et à ses analogues est rare [2,3]. Le choc anaphylactique représente la forme la plus sévère des hypersensibilités immédiates.

Une molécule responsable d'une anaphylaxie peut être jugée indispensable au patient, comme par exemple l'insuline chez un patient diabétique. C'est dans ce contexte qu'ont été développés des protocoles d'accoutumance [4]. L'objectif est d'induire un état de tolérance vis-à-vis du médicament responsable de la réaction allergique, permettant ainsi son utilisation pour le traitement du patient.

Les mécanismes cellulaires et moléculaires qui gouvernent l'acquisition de la tolérance sont mal connus. Par la libération de leurs médiateurs, les mastocytes et les basophiles sont les cellules effectrices de la réaction allergique IgE-dépendante. Ces cellules semblent également avoir un rôle clé dans l'induction de la tolérance. Ainsi, il a été montré que les mastocytes et les basophiles participent à l'accoutumance par une diminution de l'expression de « signal transducing molecules » tels que syk [5].

Nous rapportons une observation de choc anaphylactique à l'insuline humaine recombinante et à la protamine, avec succès d'un protocole d'accoutumance rapide à l'insuline humaine sans protamine. Le mécanisme IgE-dépendant est démontré par tests cutanés et présence d'IgE spécifiques à l'insuline. L'acquisition de la tolérance est évaluée par tests cutanés, test de Maunsell et suivi biologique de la sensibilisation à l'insuline humaine : IgE et IgG4 spécifiques, tests d'activation des basophiles (TAB). La baisse de la sensibilité des basophiles à l'insuline humaine est corrélée à l'acquisition de la tolérance.

Cette observation démontre l'intérêt de réaliser un bilan allergologique pour mettre en place et suivre un protocole d'accoutumance médicamenteuse chez un patient ayant présenté une réaction anaphylactique à un médicament indispensable à la prise en charge de sa pathologie.

2. Patient et méthodes

Un homme de 50 ans, atteint d'un diabète de type 2, était traité par glimépiride (6 mg/j), rosiglitazone (4 mg/j) et une injection sous-cutanée quotidienne d'insuline humaine recombinante associée à la protamine (Insulatard®). Un an après l'initiation de l'insulinothérapie, il présentait un choc anaphylactique quelques minutes après l'injection sous-cutanée : œdème du visage et laryngé, prurit, hypotension (90 mmHg), lipothymie et diarrhée. Depuis deux mois, il rapportait des vertiges, des bouffées de chaleur et un prurit généralisé immédiatement après les injections, sans que cela n'ait motivé de prise en charge diagnostique et thérapeutique particulière.

Les insulines humaines, asparte, lispro, détémir, glargine et les excipients (protamine, métacrésol, zinc, paraben phénol, glycérol, disodium phosphate dihydrate) étaient testés en prick et en intradermoréactions (IDR). Les prick-tests étaient réalisés sur l'avant-bras, la positivité étant définie par un diamètre de papule supérieur à 3 mm à 20 minutes, en comparaison au

témoin négatif (NaCl 0,9%). Les IDR étaient réalisées dans le dos en injectant 0,02 mL d'allergène de sorte qu'une papule de 3 à 4 mm soit obtenue ; une augmentation du diamètre de la papule de plus de 3 mm à 20 minutes était considérée comme un test positif. Les insulines étaient testées aux concentrations de 0,1 à 100 UI/mL. La protamine était testée aux concentrations de 0,035 à 350 µg/mL.

Le pouvoir bloquant du sérum était évalué par test de Maunsell [6]. Des concentrations croissantes (d'un facteur 10) d'insuline étaient mélangées à parts égales avec le sérum du patient et incubées pendant 24 heures à température ambiante. Des IDR étaient réalisées d'une part avec ces solutions et d'autre part avec des mélanges insuline (concentrations croissantes)–sérum physiologique. La présence d'un pouvoir bloquant sérique était définie par un gain d'une dilution du seuil de réactivité cutanée des mélanges insuline–sérum autologue par rapport aux mélanges insuline–sérum physiologique.

La majoration de la dose rosiglitazone à 8 mg/j n'ayant pas suffi à obtenir un équilibre glycémique satisfaisant, la mise en place d'un protocole d'accoutumance rapide était décidée six semaines après le choc anaphylactique. L'induction de la tolérance était réalisée en unité de réanimation médicale. Elle consistait en une injection toutes les 20 minutes d'insuline humaine recombinante sans protamine (Actrapid®), à des volumes et des concentrations croissants (Tableau 1). Douze injections étaient ainsi réalisées, les six premières étant intradermiques et les six suivantes sous-cutanées. La 12^e injection était suivie d'un doublement de la dose toutes les quatre heures, et ce jusqu'à obtention de la dose permettant le contrôle glycémique. La tolérance était ensuite maintenue en associant deux analogues d'insuline humaine sans protamine : une injection sous-cutanée d'insuline asparte avant chaque repas et une injection sous-cutanée d'insuline glargine au coucher. Vingt-quatre heures après le début du protocole d'accoutumance, les injections étaient réalisées au domicile par le patient.

Des dosages d'IgE et d'IgG4 spécifiques de l'insuline ainsi que des TAB étaient réalisés dans le but de préciser la cinétique à long terme des paramètres biologiques d'acquisition de la tolérance. Les dosages des IgE et IgG4 spécifiques étaient réalisés en ImmunoCAP® (Phadia, Suède). Les TAB étaient réalisés en cytométrie de flux (Allergenkit®[®], Immunotech, Marseille). Après

Tableau 1
Protocole d'accoutumance à l'insuline humaine recombinante sans protamine (Actrapid®).

Volume (mL)	Concentration (UI/mL)	Voie d'administration
0,02	0,05	Intradermique
0,04	0,05	Intradermique
0,08	0,05	Intradermique
0,02	0,5	Intradermique
0,04	0,5	Intradermique
0,08	0,5	Intradermique
0,02	5	Sous-cutanée
0,04	5	Sous-cutanée
0,08	5	Sous-cutanée
0,02	50	Sous-cutanée
0,04	50	Sous-cutanée
0,08	50	Sous-cutanée

triple marquage CRTH2-FITC/CD203c-PE/CD3-PC7, identification et acquisition d'au moins 500 basophiles, le sang total du patient était incubé avec une solution de témoin négatif, de témoin positif (anti-IgE humaines) et de dilutions d'allergènes. L'expression membranaire du CD203c est le marqueur d'activation des basophiles. Au repos, les basophiles n'expriment que faiblement cette protéine. Le pontage de deux IgE membranaires active la cellule avec majoration de l'expression du CD203c. « Le témoin négatif » précise le seuil d'expression spontanée du CD203c au-dessus duquel se situent au maximum 5% des basophiles. « Le témoin positif » évalue le pourcentage maximal de basophiles activables. Le test est positif si plus de 15% des basophiles expriment le CD203c au-delà du seuil d'expression spontanée. Des dilutions successives d'un facteur 10 étaient réalisées au départ d'une solution d'insuline à 100 UI/mL. La sensibilité des basophiles était définie par l'inverse de la concentration d'allergène correspondant à 50% de l'activation maximale, multiplié par 100 [7].

3. Résultats

La mise au point allergologique était réalisée dix jours après le choc anaphylactique. Les tests cutanés étaient positifs pour l'insuline humaine recombinante en prick-test pur (100 UI/mL, papule de 5 mm de diamètre, témoin codéine à 3 mm, témoin histamine à 5 mm). Deux analogues rapides (aspartate et lispro) et deux analogues lents (glargine et détémir) étaient testés en prick-tests et en IDR. Les prick-tests étaient positifs pour l'insuline aspartate à 100 UI/mL (3 mm). Les insulines lispro, glargine et détémir étaient positives en IDR (à respectivement 10 UI/mL, 0,1 UI/mL et 0,1 UI/mL). Les tests cutanés aux excipients de l'insuline responsable du choc anaphylactique étaient positifs pour la protamine en IDR à la concentration de 3,5 µg/mL.

Le protocole d'accoutumance rapide était réalisé sans prémédication et était bien toléré, hormis des réactions érythémateuses locales, légères et transitoires ne nécessitant pas de traitement. La tolérance était maintenue avec un recul de deux ans en associant les deux analogues aspartate et glargine. Une trousse d'urgence contenant un corticoïde, un anti-histaminique et de l'adrénaline auto-injectable était prescrite par précaution et n'a pas dû être utilisée. La dose d'insuline permettant un contrôle glycémique était supérieure à celle d'avant le choc anaphylactique (66 unités versus 26 unités).

À trois mois, les tests cutanés à l'insuline humaine restaient positifs aux mêmes concentrations qu'initialement, mais le test de Maunsell montrait une moindre réactivité des solutions d'insuline-sérum autologue par rapport aux solutions d'insuline-sérum physiologique (seuil de concentration d'insuline pour IDR positive: 10^{-1} versus 10^{-2} respectivement). Les tests cutanés à l'insuline humaine étaient négatifs à 16 et 24 mois.

Des IgE spécifiques de l'insuline humaine étaient initialement décelées au taux de 3,32 kU/L. Elles n'étaient pas détectées pour la protamine. Les taux d'IgE spécifiques de l'insuline humaine baissaient de 3,32 à 2,12 ; 0,40 et 0,28 kU/L, à respectivement trois, 16 et 24 mois. Les taux d'IgG4 spécifiques de l'insuline humaine augmentaient de 180 à 350, 440, 640 et 580 µg/mL, à respectivement deux, trois, cinq et 26 mois.

Les TAB étaient positifs pour toutes les insulines, les analogues aspartate, lispro et détémir activant moins les basophiles que l'insuline humaine (Fig. 1). Le TAB à la protamine était positif chez le patient et négatif chez deux sujets témoins non diabétiques. Dès trois mois, le TAB à la concentration de 0,1 UI/mL d'insuline humaine était négatif (Fig. 2). On observait ensuite une baisse continue de la sensibilité des basophiles à l'insuline humaine qui passait de 3650 à 306, 20 et 6, à respectivement trois, 16 et 24 mois.

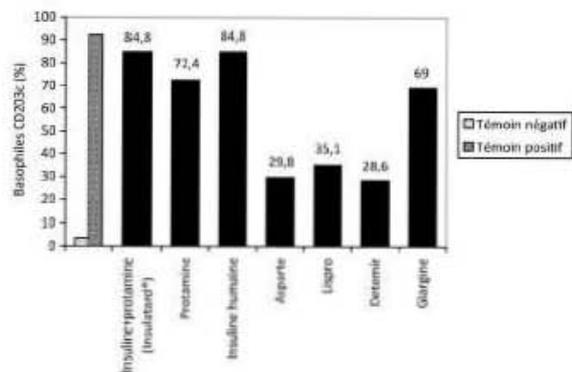


Fig. 1. Tests d'activation des basophiles aux insulines (0,1 UI/mL) et à la protamine (0,35 µg/mL): avant accoutumance.

4. Discussion

Notre patient présentait une allergie de type IgE-dépendant vis-à-vis de l'insuline humaine recombinante et de la protamine. Des observations similaires avec succès de l'accoutumance à l'insuline ont été publiées [2,3]. Chez notre patient, une allergie exclusive à la protamine aurait autorisé l'utilisation d'une insuline dépourvue de ce: additif, sans devoir recourir à un protocole d'accoutumance rapide. La double sensibilisation et l'insuffisance du contrôle glycémique par les seuls anti-diabétiques oraux ont motivé la mise en place du protocole d'accoutumance à l'insuline humaine et le maintien de la tolérance par l'utilisation au long cours d'analogues sans protamine.

D'un point de vue structurel, l'insuline humaine se compose de deux chaînes polypeptidiques dénommées A (d'une longueur de 21 acides aminés) et B (30 acides aminés). Le résidu d'acide aminé situé en position 30 de la chaîne B (B30) a été proposé par plusieurs auteurs comme l'un des sites de reconnaissance antigénique par [8,9].

Les modifications et substitutions d'acides aminés aux positions B28 ou B29 des insulines aspartate, lispro et détémir pourraient expliquer pourquoi elles activent moins les basophiles chez notre patient. A contrario, la réactivité des basophiles à la glargine est proche de celle de l'insuline humaine; cela pourrait s'expliquer par l'identité des résidus d'acides aminés en positions B28 et B29 par rapport à l'insuline humaine.

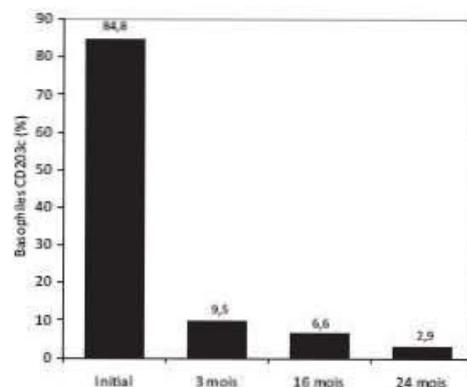


Fig. 2. Pourcentage de basophiles activés par l'insuline humaine à 0,1 UI/mL; évolution dans le temps.

L'insulinothérapie à un rythme de quatre injections par jour permettrait le maintien de la tolérance. Il a été montré que l'acquisition de la tolérance à un médicament est un processus actif et rapidement réversible, dépendant de l'administration continue ou répétée de la molécule concernée [4]. La tolérance peut être rompue en quelques heures ou quelques jours en cas d'arrêt du médicament, nécessitant dès lors la reprise du protocole d'accoutumance. Cette situation est, par exemple, rencontrée en cas d'allergie aux sels de platine dont les cures de chimiothérapie sont espacées de plusieurs semaines.

L'acquisition de la tolérance s'accompagne d'une perte de la sensibilisation à l'insuline humaine au cours du temps attestée par la baisse des différents paramètres de suivi de la réaction allergique : tests cutanés, IgE spécifiques et TAB. A trois mois, le test de Maunsell signait l'acquisition d'un facteur sérique protecteur et le TAB montrait une baisse de la sensibilité des basophiles, le patient ne présentant aucun symptôme aux injections d'analogues d'insuline humaine. La baisse de la sensibilité des basophiles au cours de l'acquisition de la tolérance s'inscrit en miroir de la réponse clinique. Les tests cutanés ne deviennent négatifs que plus tard. Le mécanisme de la perte de sensibilité des basophiles reste hypothétique. Les IgG4 spécifiques pourraient participer à la protection sérique. Au cours de l'immunothérapie aux venins d'hyménoptères, il a été montré que la baisse de sensibilité des basophiles était associée à l'acquisition de la tolérance [10]. Les TAB pourraient donc représenter un outil biologique d'évaluation précoce de l'acquisition de la tolérance.

Il convient de souligner que l'acquisition de la tolérance s'accompagne, chez notre patient, d'un triplement de la dose journalière d'insuline. Cela est compatible avec une résistance à l'insuline pouvant impliquer les IgG spécifiques.

5. Conclusion

L'efficacité de l'accoutumance à l'insuline humaine, chez ce patient ayant présenté un choc anaphylactique, souligne l'importance de définir les modalités de mise en place de tels protocoles et de suivi de l'acquisition de la tolérance.

La baisse de la sensibilité des basophiles, évaluée par tests d'activation, apparaît être un marqueur cellulaire d'efficacité de l'accoutumance médicamenteuse, plus précoce que les tests cutanés et les dosages des IgE spécifiques. Les TAB constituent des tests d'intérêt pour le diagnostic et le suivi de l'accoutumance aux médicaments, notamment pour ceux pour lesquels il n'existe pas de dosage commercialisé d'IgE spécifiques.

Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

Références

- [1] Demoly P, Mannella V, Gomes ER, Romano A. Epidemiology and causes of drug hypersensitivity. In: Pichler WJ, editor. Drug hypersensitivity. Basel: Karger; 2007. p. 2–17.
- [2] Heinzerling L, Kralic K, Roehrlitz H, Zuberbier T, Worm M. Insulin allergy: clinical manifestations and management strategies. *Allergy* 2008;63:148–55.
- [3] Hara M, Izumida Y, Sato N, Ohashi K, Otsuga J, Tobe K, et al. Successful desensitization by glargine administration in a patient with insulin allergy: a case report. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;84:e48–9.
- [4] Comadas JB, Brockow K, Romano A, Ahoer W, Torres MJ, Birchler A. General considerations on rapid desensitization for drug hypersensitivity—a consensus statement. *Allergy* 2010. doi:10.1111/j.1398-9995.2010.02441.
- [5] Kepley CL. Antigen-induced reduction in mast cell and basophil functional responses due to reduced γ HK protein levels. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;138:29–39.
- [6] Kanny G, Coizier A, Ragazzini JP, Monneret-Vaurin DA. Suivi immunologique des desensibilisations aux venins d'hyménoptères : intérêt du test de Maunsell. *Rev Fr Allergol* 1993;33:274–83.
- [7] Nepp A, Johansson SG, Ankerst J, Bylin G, Carlell LO, Grönroberg R, et al. Basophil allergen threshold sensitivity: a useful approach to anti-IgE treatment efficacy evaluation. *Allergy* 2006;61:298–302.
- [8] Kumar D. Immunoreactivity of insulin antibodies in insulin-treated diabetics: significance of the beta-chain carboxy-terminal amino acid (B-30) of insulin. *Diabetes* 1979;28:994–1000.
- [9] Yokoyama H, Fukumoto S, Koyama H, Emoto M, Kitagawa Y, Nishizawa Y. Insulin allergy: desensitization with crystalline zinc-insulin and steroid tapering. *Diabetes Res Clin Pract* 2003;61:161–6.
- [10] Pecorello A, Silar M, Erzen R, Kosnik M, Korosec P. Basophil sensitivity in patients not responding to venom immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 2008;146:248–54.

Letter to the Editor

Delayed hypersensitivity reactions caused by iodixanol: An assessment of cross-reactivity in 22 patients*To the Editor:*

More than 70 million iodinated contrast media (ICM) injections are performed worldwide each year.¹ Delayed hypersensitivity reactions (time to onset between 1 hour and 1 week)² to iodixanol occurred in approximately 0.4% of the patients,³ which is fewer than the average incidence of delayed hypersensitivity reactions to ICM in general (reported in 1% to 3% of the patients).¹ Delayed hypersensitivity reactions to iodixanol mainly consist of maculopapular exanthemas without involvement of other organs.⁴ Skin tests in investigating delayed reactions to ICM have been considered to have a low negative predictive value, and their diagnostic value appears to be insufficient.⁵

We retrospectively analyzed 22 cases of delayed hypersensitivity reactions subsequent to an intravascular iodixanol injection. Seven women and 15 men with a mean age of 56 ± 14 years (8-78 years) were evaluated. In our study reactions occurred within 10 hours to 6 days after intravenous administration of ICM; the time to the onset of the reaction was less than 3 days in more than 80% of the patients (Fig 1), which is in accord with a previous publication.⁶ Reaction duration was 24 hours to 3 weeks. Twenty (90.9%) patients exhibited a maculopapular exanthema with predominant involvement of the trunk; in some the rash extended to the proximal limbs or the face. Facial edema was reported in 2 cases. All patients recovered without sequelae. Two patients experienced delayed reactions despite an immunosuppressive treatment prescribed for prevention of graft rejection (cyclosporine and corticosteroids, patients 13 and 14).

Skin tests were performed in accordance with European Network of Drug Allergy/European Academy of Allergy and Clinical Immunology recommendations⁷ by using iodixanol (Visipaque; Amersham Health, Vélizy, France), iobitridol (Xenetix; Guerbet, Roissy-Charles-De-Gaulle, France), iohexol (Omnipaque; GE Healthcare, Vélizy, France), iomeprol (Iomeron; Altana Pharma, Le Mée-sur-Seine, France), iopamidol (Iopamiron; Schering, Lys-Lez-Lannoy, France), sodium meglumine ioxaglate (Hexabrix, Guerbet), and meglumine ioxitalamate (Telebrix, Guerbet). Some patients (patients 1-13 and 15-18) underwent additional skin tests with sodium meglumine amidotrizoate (Radioselectan, Schering), iopentol (Ivepaque, Amersham

Health), iopromide (Ultravist, Schering), and ioversol (Optiray, Guerbet); patient 14 had additional skin tests with iopentol and ioversol. Skin prick tests were carried out on the volar surface of the forearm, and a wheal diameter of greater than 3 mm compared with the negative control (saline) at 20 minutes was considered a positive immediate response. Intradermal tests (IDTs) were performed on the back by injecting 0.02 mL of ICM to obtain a wheal size of 3 to 4 mm in diameter. An increase in diameter of greater than 3 mm at 20 minutes was considered a positive response.⁷ The IDT results were considered positive on delayed readings if an erythematous indurated papule was observed 24 hours later. If skin prick test responses with undiluted ICM were negative, then IDTs were placed at increasing concentrations, beginning at a 10^{-3} dilution and gradually increasing until the undiluted ICM was reached. In instances of negative immediate skin test results (reading at 20 minutes), patch tests were performed with undiluted ICM, and the results were read according to an internationally accepted method. Delayed readings were done at 24 hours, 48 hours, and, in some cases, 72 hours, 96 hours, or both. Twenty control subjects who had previously undergone ICM-based examination without adverse reactions were included. All of them had negative skin prick, intradermal, and patch test results.

An alternative ICM to which the patient had a negative skin test result was recommended to radiologists if additional ICM-based examination was required.

All patients had negative immediate skin test results. Delayed skin test results with iodixanol were positive in 11 (50.0%) of 22 patients; 8 patients had positive IDT results, 1 had positive patch test results, and 2 others had both delayed positive IDT and patch test results (Table I). Although they were receiving immunosuppressive therapy, skin test results were positive in patients 13 (IDT and patch test) and 14 (IDT). Cross-reactivity to ionic, non-ionic, or both types of ICM was detected in 7 cases; iohexol, the monomer of iodixanol, was the most frequent cross-reacting ICM (6 cases), followed by ioversol (4 cases); iopentol (3 cases); iomeprol, iopamidol, and ioxitalamate (2 cases each); and amidotrizoate, iobitridol, and ioxaglate (1 case each). Twenty-two patients were successfully challenged with another ICM (full-dose challenge), which yielded negative skin test results (Table II).⁸

In summary, skin testing (IDTs and patch tests) was useful in implicating iodixanol as the cause of a delayed hypersensitivity reaction in our patients. Skin testing with a panel of different ICM

[F1-4/C]

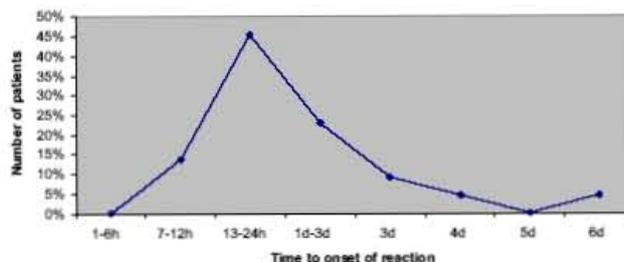


FIG 1. Time to the onset of hypersensitivity reactions.

1

TABLE I. Results of skin and challenge tests of patients who had positive skin test results

Patient no.	Age (y)	Sex	Positive skin test results			Well-tolerated challenge with:
			Iodixanol	Ionic	Other ICM Nonionic	
3	63	M	IDT + (undiluted, 72 h)	–	–	Iobitridol
6	53	M	IDT + (undiluted, 24 h)	–	Iohexol (IDT, undiluted, 24 h) Iopentol (IDT, undiluted, 24 h) Ioversol (IDT, undiluted, 24 h)	Iobitridol
9	44	F	PT + (96 h)	–	–	Iobitridol
13	54	F	IDT + (undiluted, 24 h) PT + (48 h)	–	Iohexol (IDT, undiluted, 24 h) Iopentol (IDT, undiluted, 24 h)	Iobitridol
14	55	M	IDT + (undiluted, 48 h)	Ioxaglate (IDT, undiluted, 48 h) Ioxitalamate (IDT, undiluted, 48 h)	Iohexol (IDT, undiluted, 48 h) Iomeprol (IDT, undiluted, 48 h) Iopamidol (IDT, undiluted, 48 h) Iopentol (IDT, undiluted, 48 h) Ioversol (IDT, undiluted, 48 h)	Iobitridol
15	58	M	IDT + (10^{-1} , 48 h)	–	Iohexol (IDT, 10^{-1} , 48 h) Ioversol (IDT, 10^{-1} , 48 h)	Iobitridol
16	57	M	IDT + (10^{-1} , 48 h)	–	–	Iobitridol
18	51	F	IDT + (undiluted, 24 h) PT + (48 h)	–	Iohexol (IDT, undiluted, 24 h) Ioversol (PT, 48 h)	Iobitridol
19	59	M	IDT + (10^{-2} , 24 h)	Ioxitalamate (IDT, 10^{-1} , 48 h)	Iomeprol (IDT, undiluted, 48 h) Iopamidol (IDT, undiluted, 24 h)	Iobitridol
20	50	M	IDT + (10^{-1} , 24 h)	–	–	Iobitridol
22	49	M	IDT + (undiluted, 24 h)	Amidotrizoate (IDT, undiluted, 24 h)	Iobitridol (IDT, undiluted, 24 h) Iohexol (IDT, undiluted, 24 h)	Iomeprol

–, Negative results for all test procedures; +, positive test result; F, female; M, male; PT, patch test.

TABLE II. Challenge test results in patients with a delayed hypersensitivity reaction to iodixanol and either a positive or negative skin test result to iodixanol

Challenged with:	Patients with positive skin test results to iodixanol	Patients with negative skin test results to iodixanol
Iobitridol	10	6
Iobitridol + iomeprol		2
Iohexol		1
Iomeprol	1	
Iopamidol		1
Ioversol		1

All challenge test results were negative.

provided guidance to alternative ICM that might be administered to these patients if further ICM-based examinations are required. The choice of iobitridol for 18 challenge tests was guided by the finding that these patients had negative skin test results to this compound and that iobitridol has a quite different chemical structure compared with that of iodixanol. Our study tends to suggest that there might be a putative link between the chemical structure and pattern of cross-reactivity among ICM. This study is the largest to date to have investigated the usefulness of skin testing to select a safe ICM for challenging patients with nonimmediate hypersensitivity reactions to iodixanol.

Frédéric Hasdenteufel, PharmD^a
Julie Waton, MD^b
Vanina Cordebar, MD^a
Myriam Studer, MD^b
Olivier Collignon, PhD^c
Samuel Luyasu, MD^a
Eüenne Beaudouin, MD^a

Jean-Marie Renaudin, MD^a
Maurine Morisset, MD, PhD^a
Gisèle Kanny, MD, PhD^a
Annick Barbaud, MD, PhD^b

From ^aEA 3999 "Allergy Diseases: Diagnosis & Therapeutics," Department of Internal Medicine, Clinical Immunology and Allergology, and ^bthe Department of Dermatology, University Hospital of Nancy, Nancy, France; and ^cGenclis S.A.S., Vandœuvre-lès-Nancy, France. E-mail: fhasdenteufel@orange.fr.

Disclosure of potential conflict of interest: The authors have declared that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Christiansen C. X-ray contrast media: an overview. *Toxicology* 2005;209:185-7.
- Kanny G, Pichler W, Morisset M, Franck P, Marie B, Kohler C, et al. T cell-mediated reactions to iodinated contrast media: evaluation by skin and lymphocyte activation tests. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:179-85.
- Haessler MD. Safety and patient comfort with iodixanol: a postmarketing surveillance study in 9515 patients undergoing diagnostic CT examinations. *Acta Radiol* 2010;51:924-33.
- Delgado-Jimenez Y, Perez-Gala S, Aragüés M, Sanchez-Perez J, Garcia-Diez A. Late skin reaction to iodixanol (Visipaque®): clinical manifestations, patch test study, and histopathological evaluation. *Contact Dermatitis* 2006;55:348-53.
- Vernassiere C, Trechot P, Commun N, Schmutz JL, Barbaud A. Low negative predictive value of skin tests in investigating delayed reactions to radio-contrast media. *Contact Dermatitis* 2004;50:359-66.
- Brockow K, Romano A, Aberer W, Bircher AJ, Barbaud A, Bomadonna P, et al. Skin testing in patients with hypersensitivity reactions to iodinated contrast media—a European multicenter study. *Allergy* 2009;64:234-41.
- Brockow K, Romano A, Blanca M, Ring J, Pichler W, Demoly P. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy* 2002;57:45-51.
- Lerch M, Keller M, Britschgi M, Kanny G, Tache V, Schmid D, et al. Cross-reactivity patterns of T cells specific for iodinated contrast media. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1529-36.

doi:10.1016/j.jaci.2011.05.034