

Ontwikkelingen in de diagnostiek naar type IV medicatie overgevoelighedsreacties

Nascholingsdag NVVA
17 januari 2020 Breukelen

Rik Brooimans
Laboratoriumspecialist Medische Immunologie

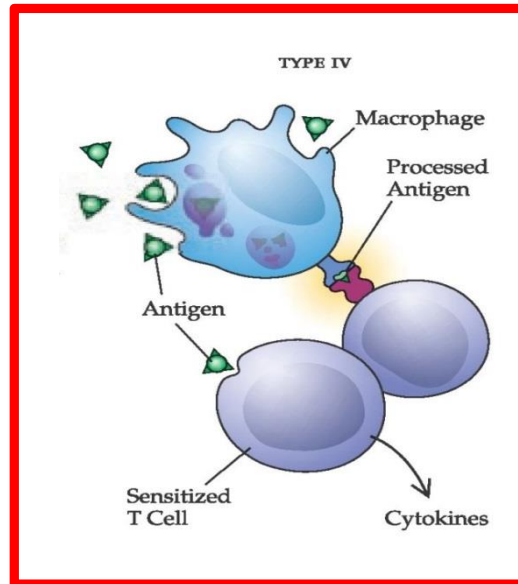
Disclosures

- Geen disclosures spreker.

Geneesmiddelenallergie

- Het vaststellen van een geneesmiddelenallergie is belangrijk om hernieuwde blootstelling te voorkomen.
- Het uitsluiten van een geneesmiddelenallergie is belangrijk om het arsenaal aan te gebruiken geneesmiddelen niet onnodig te beperken.

Geneesmiddelenallergie



Vertraagde reactie (1-3 dagen)

Eczemateuze huidafwijkingen

Conjunctivitis

Maculo-papuleus exantheem

Acute gegeneraliseerde exanthemateuze pustulose
(AGEP)

Stevens-johnsonsyndroom (SJS),

Toxische epidermale necrolyse (TEN)

'Drug-induced hypersensitivity syndrome' (DHS)

Diagnostiek van type IV allergie

Twee methoden om een type IV allergie aan te tonen: het plakproefonderzoek en de in vitro lymfocyten transformatie/proliferatie test (LTT/LPT).

- Plakproefonderzoek: beschikbaarheid test substantie, dosering, passering huid barrière.

Soms is een metaboliseringsstap nodig om het veroorzakend molecuul te laten ontstaan.

- Het basisprincipe van de LPT is de transformatie (oudere naam: lymfocyten transformatie test) van gesensitiseerde lymfocyten (“memory cells”) naar het blastenstadium en de daaropvolgende proliferatie als respons op hernieuwd contact met het antigeen.

De LPT die de DNA-replicatie meet wordt het meest gebruikt.

DNA-replicatie kan gemeten worden door middel van inbouw van radio-actief gelabeld [3H] thymidine in de prolifererende lymfocyten.

Tegenwoordig wordt ook gebruik gemaakt van fluorescente tracers, waarbij de celdeling flowcytometrisch bepaald wordt.

Lymfocyt transformatie test (LTT)

- Meest bestudeerde drugs zijn B-lactam antibiotica met een sensitiviteit en specificiteit variërend van 58% tot 89% en 85% tot 100%, respectievelijk. (Mayorga et al, Allergy, 2016)
- Sensitiviteit en specificiteit hangen af van de klinische manifestatie van de overgevoeligheidsreactie. Hoger in MPE, AGEP en Dress dan in SJS/TEN. (Porebski et al, Clin Exp Allergy 2013)
- Bij non-immediate reacties is de sensitiviteit van de LTT hoger dan bij de huidtesten. (Luque et al, Allergy, 2001)
- Positieve resultaten hoeven niet altijd een effector respons te impliceren, omdat er sprake kan zijn van proliferatie van Treg cellen.

Antigeen-specifieke T cellen

- Antigeen-specifieke T cellen spelen een centrale rol in de vorming van zowel specifieke immuunresponsen als in de vorming van immunologisch geheugen.
- Informatie betreft hun aantal, fenotype, en functionele capaciteit is belangrijk om de immuunstatus van een patiënt in te kunnen schatten.

Bepaling van Antigeen-specifieke T cellen

- Tegenwoordig is flowcytometrie de methode om Ag-specifieke T cellen te kwantificeren en te karakteriseren.
- Hier voor zijn verschillende methodes beschikbaar:
 - Proliferatie van Ag-specifieke T cellen kan flowcytometrisch worden bepaald dmv CFSE labeling of vergelijkbare fluorescente tracers.
 - Directe labeling van de specifieke TCR mbv recombinant MHC-peptide multimeren.
 - Bepaling van Ag-specifieke T cellen door detectie van intracellulaire cytokine productie.
 - Detectie van activatie merkers, die tot expressie komen na Ag-specifieke stimulatie.

Bepaling van Ag-specifieke T cellen door detectie van activatie markers CD25 en CD134 (OX40)

Establishment of a Healthy Human Range for the Whole Blood “OX40” Assay for the Detection of Antigen-Specific CD4+ T Cells by Flow Cytometry

Ross Sadler,¹ Elizabeth A. L. Bateman,¹ Victoria Heath,¹ Smita Y. Patel,² Phillip P. Schwingshackl,¹ Alice C. Cullinane,¹ Lisa Ayers,¹ and Berne L. Ferry^{1*}

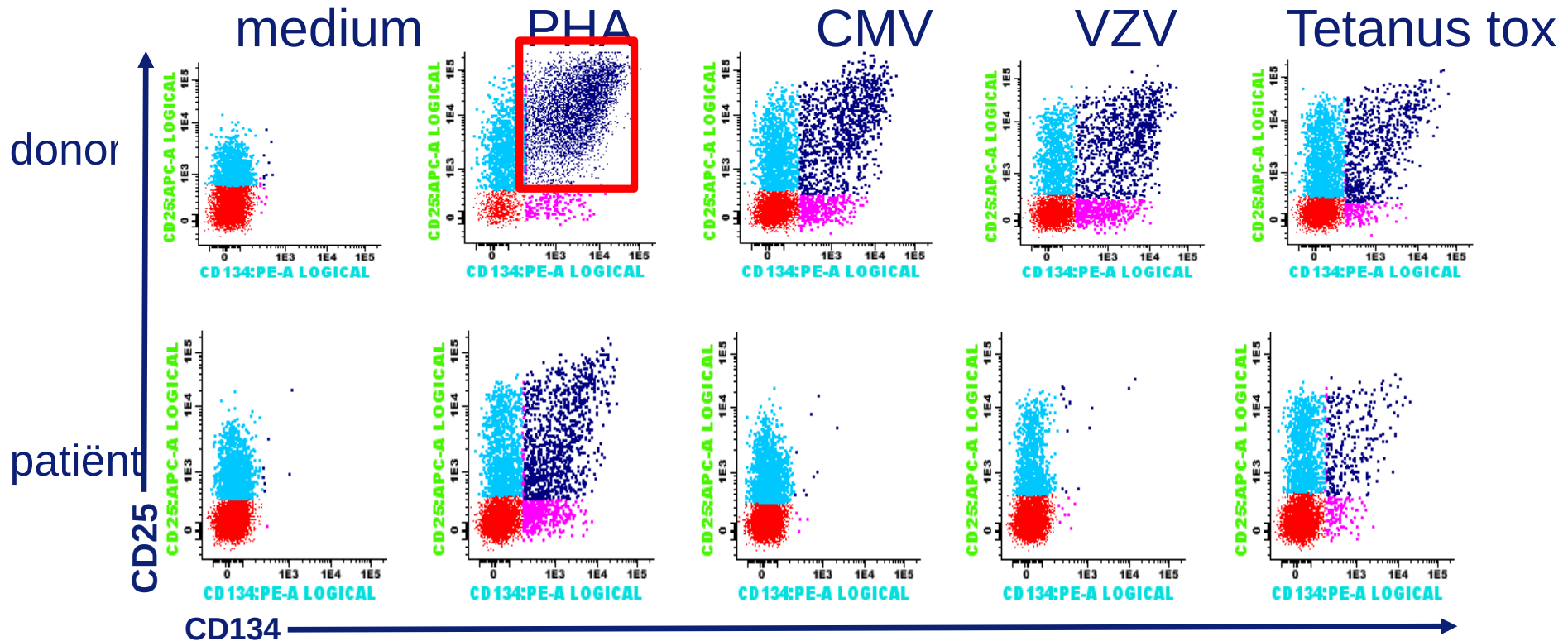
¹Department of Immunology, Churchill Hospital, Oxford University Hospitals NHS Trust, Oxford, United Kingdom

²Department of Clinical Immunology, John Radcliffe Hospital, Oxford University Hospitals NHS Trust, Oxford, United Kingdom

Cytometry 2014

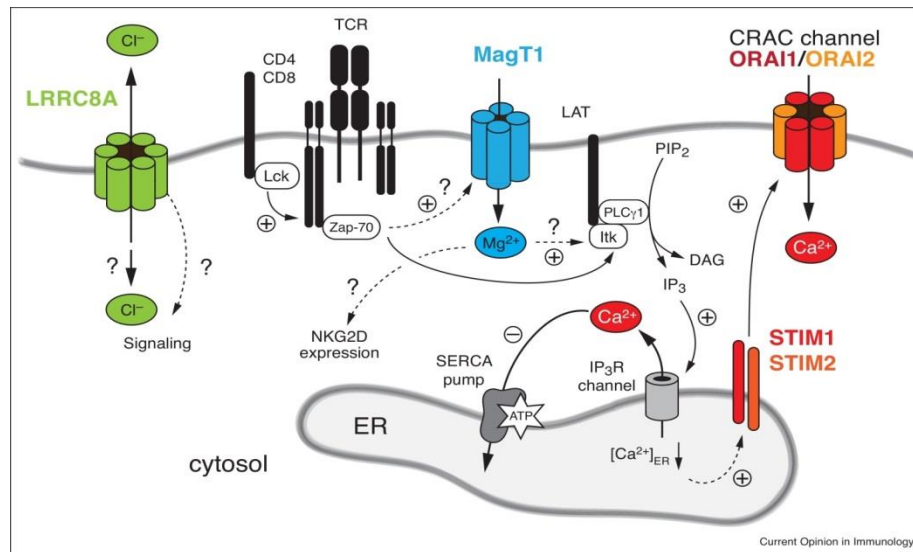
- Validate the OX40 assay as a method to detect Ag-specific T cells, which is suitable for clinical immunology diagnostic laboratory use.

Ag-specifieke CD4+ T cell respons



Principe: bepaling van het percentage CD25 en CD134 dubbel-positieve cellen binnen de CD4 T-lymfocyten.

STIM1 deficiency leads to absent CD4+ T-cel respons



	% CD134+CD25+ van de CD4+ T-lymfocyten		
	Pt	Normal donor	Reference values
medium	0.1	0.06	0.02 - 0.19
PHA	4.8	75.2	11.9 – 63.4
Staph. enterotoxin type B	3.0	24.7	10.1 – 30.2
CMV	0.08	13.0	1.4 – 12.3
Candida	0.1	8.3	0.1 – 8,5
Tetanus toxoid	0.09	9.5	0.2 – 8,5
HSV type 1	0.09	21.0	1.7 – 14,2
VZV	0.03	13.7	1.0 – 7.7

Medicatie overgevoeligheid – OX40 assay

- Is de OX40 assay geschikt voor het meten van allergeen-specifieke T cellen bij patiënten, waarbij een sterke verdenking is dat een type IV reactie is opgetreden tegen een toegediend medicijn.

Casus 1: Samenvatting

66-jarige man met maculopapuleus exantheem, hoge koorts, met hieraan secundair type 2 ischemie van het hart en passagière nierfunctiestoornis na blootstelling aan amoxicilline met een late reactie op een amoxicilline intracutane concentratiereeks.

1. Beta-lactam verbod?
2. Penicillines verbod?
3. Amoxicilline verbod?
4. Andere keuzes?

Casus 1: Beloop

- Plakproef:

Negatief

Intracutane concentratiereeks

15 minuten: Negatief

PPL / MDM:

15 minuten: Negatief

Intracutane concentratiereeks

6 uur: Positief

PPL / MDM

6 uur: Negatief



6 uur



24 uur

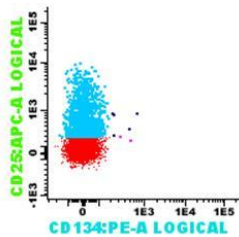
Erasmus MC



Ag-specifieke CD4+ T cell respons

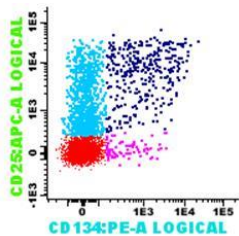
CD25

medium



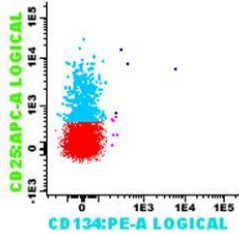
0,12%

Amoxicilline
500 µg/ml



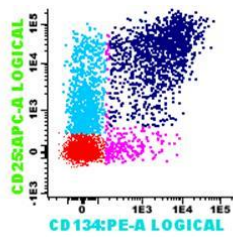
6,6%

Penicilline
500 µg/ml



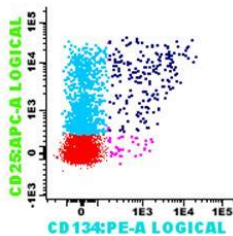
0,08%

SEB



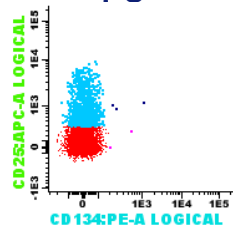
25,8%

Amoxicilline
250 µg/ml



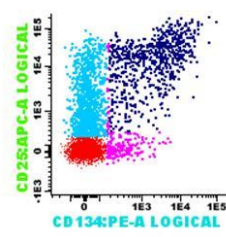
4,0%

Penicilline
250 µg/ml



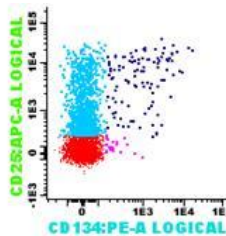
0,06%

CMV



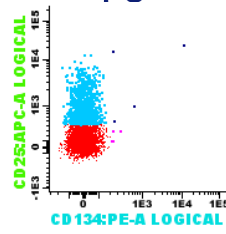
14,1%

Amoxicilline
125 µg/ml



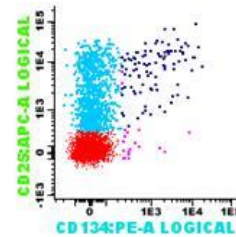
2,1%

Penicilline
125 µg/ml



0,08%

VZV



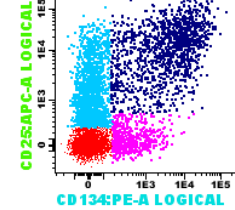
2,0%

CD134

Patient 1

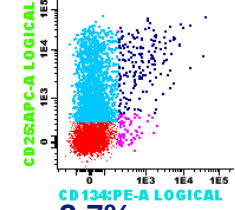
Healthy donor

SEB



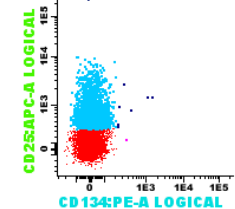
18,5%

VZV



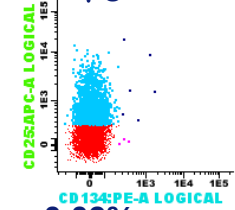
2,7%

Amoxicilline
500 µg/ml



0,10%

Penicilline
500 µg/ml



0,09%

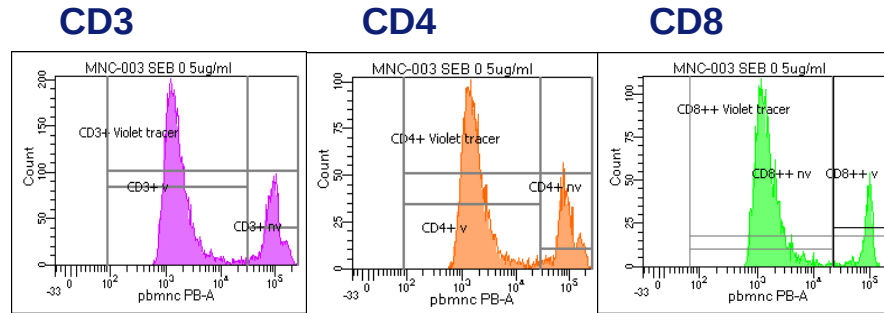
Erasmus MC

E. J. M. J. M. J. M.

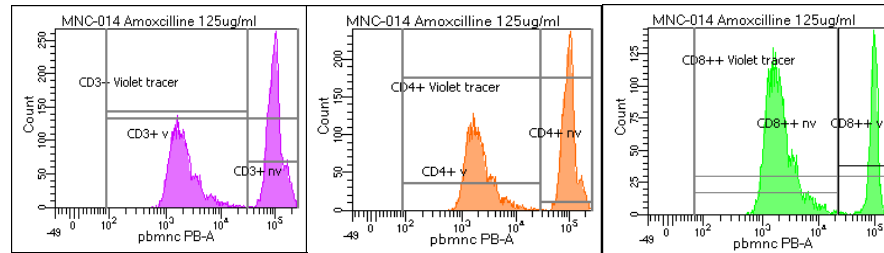
Lymfocyt proliferatie test

Patiënt 1

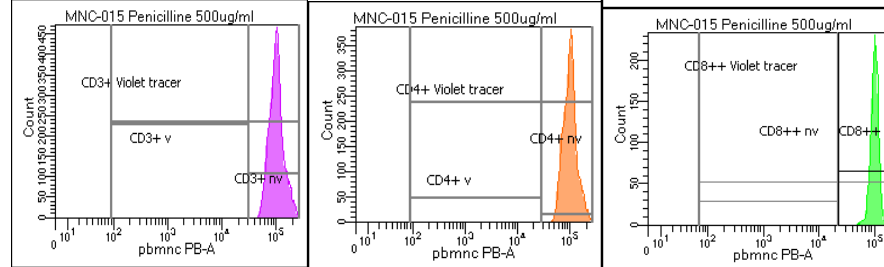
SEB



Amoxicilline



Penicilline



Casus 2: Samenvatting

19-jarige vrouw amoxicilline gekregen van de tandarts vanwege wortelkanaalbehandeling. Hierop volgende avond allergische reactie, bestaand uit; koorts tot 40 graden, en dagen daarna tot 39 graden. Uitslag met zwelling, roodheid van het lichaam, jeukende plakaten. Huidbeeld duurde 6 dagen. In het gezicht en hoofd en benen schilferig huidbeeld. Slijmvlies niet meegedaan.

- Verdenking allergische reactie op amoxicilline

Intracutane concentratiereeks met amoxicilline, afgelezen na 15 minuten: **negatief**

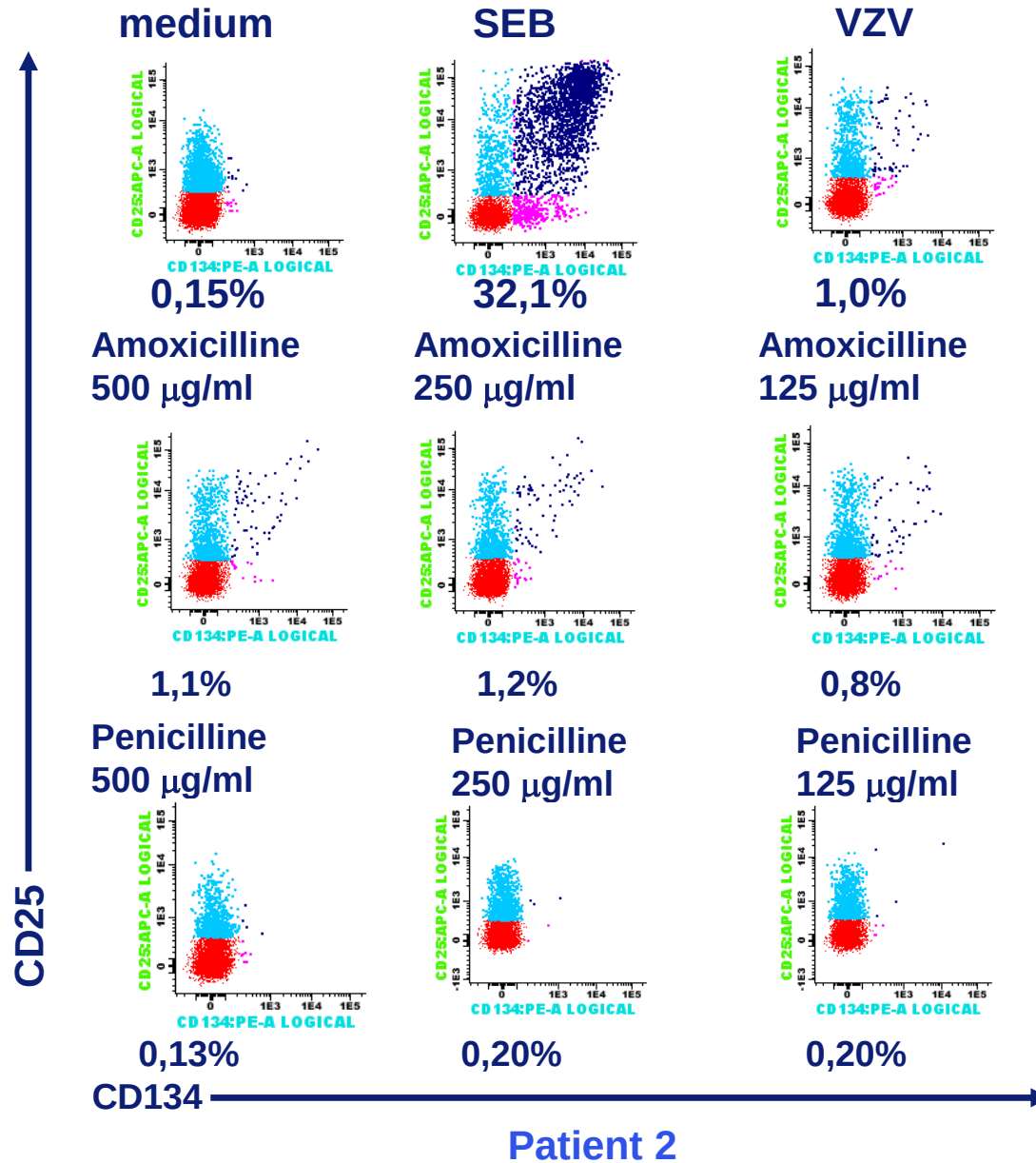
Uitslag met intracutane concentratie reeks penicilline PPL is negatief.

Uitslag met intracutane concentratie reeks penicilline MDM is negatief.

Test plekken fors groot geworden om zes uur 's avonds met uiteindelijk ook zwelling aangezicht. Geen koorts gehad. Wel forse jeuk.

- Late reactie op amoxicilline met ook **laat-positieve** huidtest met systemische reactie.

Ag-specifieke CD4+ T cell respons

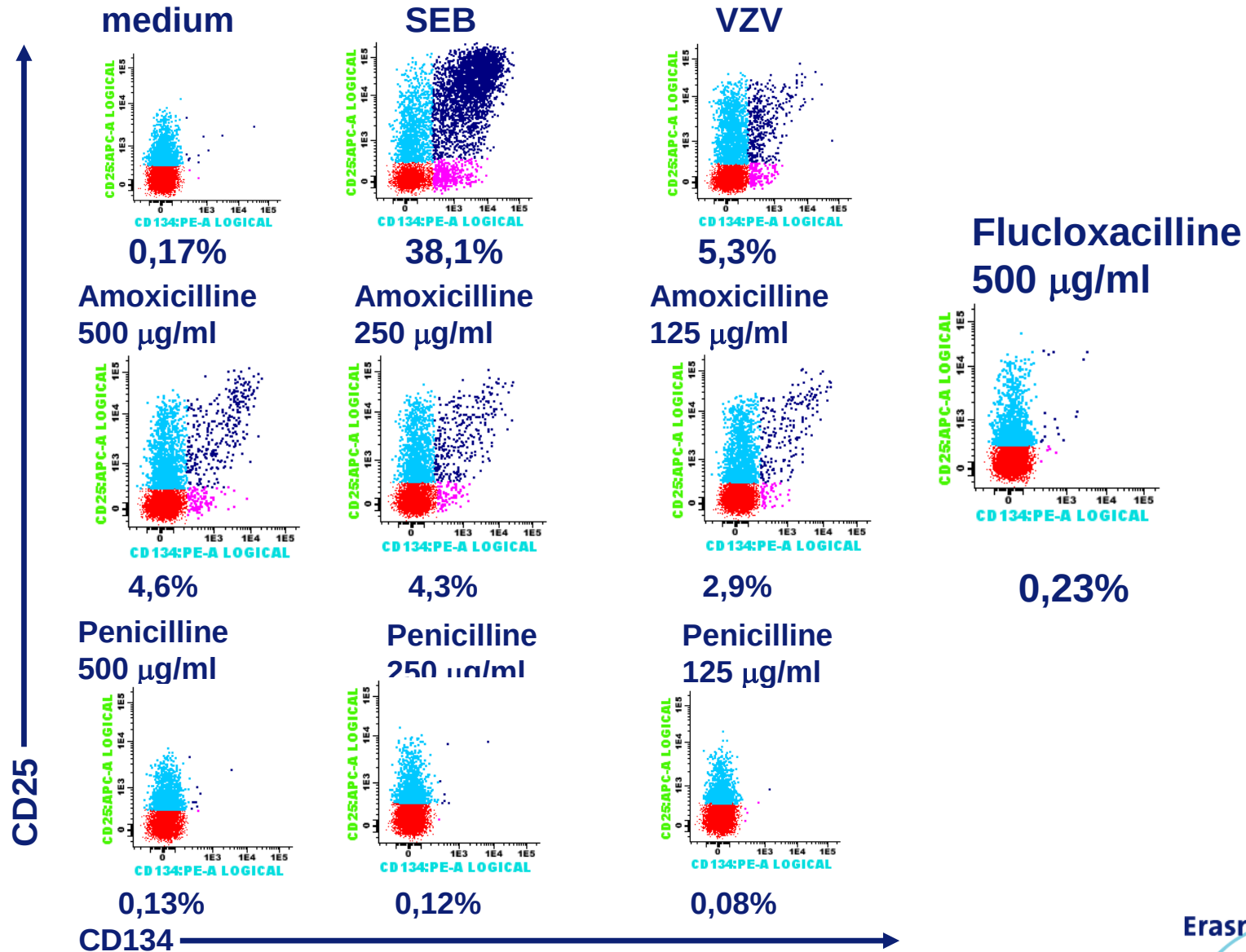


Casus 3: Samenvatting

51-jarige vrouw VG:

- Als kind acuut reuma gehad. Langdurige penicilline onderhoud gehad, gedurende 5 jaar. In 1995 voor het eerst bevallen, na een infectie post-partum, heeft ze toen penicilline gekregen, kreeg toen jeuk, zwellingen en koorts.
- 2019: Nadat haar man een kuur amoxicilline heeft gehad. Is zij in contact gekomen met transpiratie van haar man. Twaalf tot 18 uur later bemerkte ze roodheid op de benen en jeuk. Die plekken hebben twee weken aangehouden. Ze ging kriebelen en daarna werden de bulten groter. Na het geven van een zoen met haar man kreeg ze branderige lippen.
- Intracutane testen penicilline PPL/MDM en amoxicilline allen negatief na directe aflezing.
- Late aflezing: confluerende afwijking ter plaatse van de intracutane huidtest met amoxicilline en uitbreiding naar het gehele lichaam.
 - MDM: negatief
 - PPL: negatief
 - Amoxicilline: positief ++/+++
- Conclusie: Late reactie op amoxicilline intracutane test : ernstige type 4 dd DRESS /TEN

Ag-specifieke CD4+ T cell respons



Patient 3

Erasmus MC

Erasmus

Conclusie

- Diagnostiek van geneesmiddelenallergie is complex.
- In nog experimentele opstelling van de OX40 test kon bij drie patiënten amoxicilline gesensitiseerde CD4+ T cellen worden aangetoond.
- De resultaten kwamen overeen met de resultaten van de intracutane testen.
- In een gemodificeerde lymfocyten proliferatie test (LPT) was het ook mogelijk om zowel CD4+ als CD8+ amoxicilline specifieke T-cel responsen aan te tonen (casus 1).

Meerwaarde

- Met de OX40 test kon bij de 3 patiënten de klinische presentatie in vitro worden bevestigd.

Toekomstige studies

- Meerdere patiënten met T-cel gemedieerde overgevoeligheidsreacties testen om specificiteit en sensitiviteit van de testen vast te stellen.
- Vaststellen hoelang na reactie op medicatieblootstelling nog met de OX40 test een positieve respons aantoonbaar is.
- Vaststellen of met deze testen mogelijke allergische reacties van verwante geneesmiddelen al dan niet kunnen worden uitgesloten.