



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.



Disponible en ligne sur

**ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

**EM|consulte**  
www.em-consulte.com



Biologie et Allergènes

## Biomarqueurs et tests fonctionnels dans l'hypersensibilité immédiate aux vaccins ARNm dirigés contre le SARS-CoV-2



### *Biomarkers and functional tests in immediate hypersensitivity to SARS-CoV-2 mRNA vaccines*

P. Nicaise-Roland<sup>a,\*</sup>, S. Mehlal<sup>b</sup>, C. Bouz<sup>c</sup>, S. Chollet-Martin<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Service d'immunologie biologique « Autoimmunité, Hypersensibilités et Biothérapies », hôpital Bichat, DMU BIOGEM, APHP, 75018 Paris, France

<sup>b</sup> Laboratoire Cerba, Cerba Healthcare, 7/11 rue de l'Équerre, 95310 Saint-Ouen l'Aumône, France

<sup>c</sup> Laboratoire Eurofins Biomnis, 17/19, avenue Tony-Garnier, BP 7322, 69357 Lyon cedex 07, France

#### INFO ARTICLE

##### Historique de l'article :

Reçu le 28 février 2022

Accepté le 3 mars 2022

Disponible sur Internet le 11 mars 2022

##### Mots clés :

Vaccin ARNm

Anticorps anti-PEG

C5a

C3a

TAB

SARS-CoV-2

#### RÉSUMÉ

Les phénomènes d'hypersensibilité aux vaccins à ARNm dirigés contre le SARS-CoV-2 sont très rares. Ils peuvent être liés à un mécanisme IgE-dépendant impliquant les PEG contenus dans les vaccins sous forme de liposomes. Une activation directe de la voie classique du complément (CARPA) a été également fortement suspectée. En complément des tests cutanés, des biomarqueurs ont été proposés, en particulier la recherche d'anticorps anti-PEG, le dosage des anaphylatoxines C5a et C3a ou du complexe soluble C5b-9. Les anticorps anti-PEG sont dosables par quelques méthodes non standardisées mais leur présence dans ces réactions n'a pas été confirmée. Il en est de même pour les protéines du complément. L'histamine et la tryptase ont rarement pu être dosées au moment de la réaction et leur augmentation est inconstante selon les études. Une tryptase basale un peu élevée chez certains patients suggère qu'une hyper-alpha-tryptasémie pourrait être impliquée. Le test d'activation des basophiles s'est imposé comme un examen pouvant être utile mais les résultats sont encore difficiles à interpréter en raison de la variabilité des allergènes utilisés : PEG, PEG sous forme de liposomes ou vaccin lui-même. L'absence de positivité des tests cutanés alors que les basophiles sont capables de s'activer en présence du même allergène *ex vivo* chez certains patients est en faveur, dans ce cas, d'un phénomène non IgE-dépendant. En conclusion, dans l'exploration des réactions immédiates aux vaccins à ARNm contre le SARS-CoV-2, l'importance de la place de marqueurs biologiques nécessite des études complémentaires afin de mieux identifier les acteurs et les mécanismes impliqués.

© 2022 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

#### ABSTRACT

Hypersensitivity to mRNA vaccines directed against SARS-CoV-2 are rare. They may be related to an IgE-dependent mechanism involving PEG contained in vaccines in the form of liposomes. Direct activation of the classical complement pathway (CARPA) has also been strongly suspected. In addition to skin tests, biomarkers have been proposed: anti-PEG antibodies, determination of anaphylatoxins C5a and C3a, or soluble complex C5b-9. Anti-PEG antibodies can be measured by non-standardized in house methods; their presence in post-vaccination reactions against SARS-CoV2 has not been confirmed by all the studies as well as for complement proteins. Mast cell mediators (histamine and tryptase) could rarely be assayed at the time of reaction and their increase is inconstant depending on studies. A slightly elevated baseline tryptase level in some patients suggests that hyper-alpha-tryptasemia might be involved. A basophil activation test (BAT) can be performed but the results are still preliminary depending on the allergens used: PEG, PEG in the form of liposomes or vaccine itself. The lack of positivity of skin tests in some

##### Keywords:

mRNA vaccines

Anti-PEG antibodies

C5a

C3a

BAT

SARS-CoV-2

\* Auteur correspondant. Service d'immunologie biologique, Hôpital Bichat, 46, rue H.-Huchard, 75877 Paris cedex 18, France.  
Adresse e-mail : [pascal.nicaise@aphp.fr](mailto:pascal.nicaise@aphp.fr) (P. Nicaise-Roland).

patients even though basophils are able to be activated in the presence of the same allergen confirms the hypothesis in this case of a possible non-IgE-dependent phenomenon. In conclusion, concerning the exploration of immediate reactions to mRNA vaccines directed against SARS-CoV-2, the place of biological markers requires additional studies in order to better identify the actors and mechanisms involved.

© 2022 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## 1. Abréviations

|       |  |
|-------|--|
| CARPA | <i>complement activation-related pseudoallergy</i> |
| DMG   | <i>dimyristoyl glycerol</i>                        |
| PEG   | polyéthylène glycol                                |
| TAB   | test d'activation des basophiles                   |

## 2. Introduction

En décembre 2020, les premiers cas d'anaphylaxie après vaccination contre le SARS-CoV-2 avec le vaccin ARNm Pfizer BioNTech ont été rapportés. Ces phénomènes sont rares, estimés actuellement à 11,1 par millions de doses administrées, mais leur exploration est apparue nécessaire pour une prise en charge optimale des patients [1].

Les hypothèses concernant les mécanismes des réactions anaphylactiques induites par la vaccination ARNm contre le SARS-CoV-2 sont multiples, et correspondent probablement, au moins en partie, aux mécanismes classiques des anaphylaxies aux médicaments [2]. La première hypothèse est un phénomène IgE-dépendant lié à la présence de substance(s) allergisante(s) dans ces vaccins et la notion obligatoire d'exposition préalable et de sensibilisation. Cependant, les réactions cliniques pourraient être liées également à des phénomènes pseudo-allergiques impliquant l'activation du complément (*complement activation-related pseudo-allergy* ou CARPA) sans exposition préalable [3].

Dans le cas des vaccins ARNm, les allergènes suspectés sont les excipients c'est à dire les polyéthylène glycol (PEG). Les PEG de différents poids moléculaires ont déjà été décrits comme associés à des réactions d'hypersensibilité immédiate [4,5]. Les PEG contenus dans les vaccins à ARNm contre le SARS-Cov-2 sont, soit le PEG 2000 dans le vaccin Pfizer/BioNtech, soit le PEG 2000 DMG (*dimyristoyl glycerol*) dans le vaccin Moderna sous formes de liposomes [6]. L'activation des mastocytes conduisant à la libération de médiateurs responsables des symptômes se fait classiquement via les récepteurs aux fragments Fc des IgE mais aussi des IgG ; ce dernier mécanisme n'est pas prouvé encore pour ces vaccins. Une activation directe de la voie classique du complément par les IgM ou les IgG anti-PEG conduisant à la libération de complexes C5-b9 et d'anaphylatoxines C3a et C5a a été également suggérée entraînant une activation directe des mastocytes via leurs récepteurs aux protéines du complément, et indépendamment d'une activation IgE classique [1].

À ce jour, les travaux de la littérature montrent que les tests cutanés vis-à-vis des PEG de différents poids moléculaires et des vaccins sont peu souvent positifs lorsqu'on explore un patient à distance d'une réaction à un des vaccins à ARNm [7–9] rendant moins probable un mécanisme unique IgE-dépendant. En complément des tests cutanés, différents marqueurs biologiques et des tests fonctionnels ont pu être proposés pour explorer les mécanismes IgE- et non IgE-dépendants comme les anticorps anti-PEG, les protéines du complément, les dosages de médiateurs au moment de la réaction et le test d'activation des basophiles. D'autres mécanismes et biomarqueurs sont en cours d'exploration dans des projets de recherche.

Cet article propose de faire le point sur les connaissances actuelles concernant la place de ces marqueurs dont la plupart ne sont pas réalisés dans le cadre du soin courant.

## 3. Les anticorps anti-PEG

Les quelques études réalisées sur l'intérêt des anti-PEG d'isotype IgE mais aussi IgG et IgM font appel à des techniques dites « maison » [10]. Un réactif commercial en ELISA a été développé récemment et a fait l'objet d'une étude chez 20 patients connus pour avoir eu des réactions cliniques avec des médicaments contenant du PEG. Dans ce travail, 4 sur ces 20 patients ont des IgE anti-PEG 2000, et tous ont des tests cutanés positifs au PEG [11]. Sur le plan technique, il est important de noter dans le développement de ce type de test ELISA pour les anticorps anti-PEG, l'interférence possible de la sérum albumine bovine et du tween 20, classiquement utilisés en ELISA ; il semblerait préférable d'utiliser du lait écrémé comme agent bloquant et un détergent alternatif [12]. Des méthodes en cytométrie en flux ont également été décrites avec des PEG [13]. Ainsi Zhou et al. [10] retrouvent des IgE et des IgG anti-PEG chez les patients ayant eu une réaction anaphylactique à des produits pour préparation de coloscopie contenant du PEG 3350. Il semble que certains de ces anticorps préexistent, car la fréquence des anti-PEG de nature IgG chez 2000 sujets sains est de 5 à 9 % et celle des IgM de 3 à 6 %, ce qui pourrait expliquer les manifestations observées dès la première administration connue.

Les résultats des études récentes sur la fréquence des anti-PEG lors de réactions postvaccination, sont contradictoires. Cela peut être dû en partie à une absence de standardisation des méthodes de dosage [14]. Certains auteurs n'ont détecté ni IgE ni IgG anti-PEG dans les réactions après vaccination [8,15], d'autres ont retrouvé des IgE et IgM mais leur population contrôle était faible. Une des questions est de savoir s'il ne serait pas préférable de développer des techniques pour rechercher les anticorps dirigés contre le PEG sous forme de nanoparticules, ou même contre le vaccin lui-même [16].

## 4. Les protéines issues de l'activation du complément

Dans l'hypothèse d'un mécanisme de type CARPA, différents paramètres de l'activation du complément peuvent être dosés au moment de la réaction : les anaphylatoxines C3a et C5a et la fraction soluble du complexe d'attaque membranaire C5b-9. En effet, des travaux expérimentaux montrent une augmentation du C5b-9 soluble corrélée à la présence d'IgM anti-PEG chez le cochon, après stimulation par des liposomes PEGylés [17]. Si l'étude de Lim et al. [18] sur 3 patients retrouve une augmentation de C3a juste après la réaction clinique, persistant 48 heures après la réaction et même au-delà d'un mois pour un patient, cette augmentation n'est pas confirmée dans une étude plus récente chez 5 patients prélevés au moment de la réaction clinique [19]. Ces résultats préliminaires ne permettent donc pas de conclure sur l'intérêt de ces marqueurs car trop peu de patients ont été étudiés à ce jour. Il est en effet difficile d'obtenir un prélèvement sanguin au moment de la réaction clinique, juste après l'injection du vaccin.

## 5. Les médiateurs mastocytaires

Pour évaluer une éventuelle dégranulation mastocytaire en faveur d'une réaction anaphylactique induite par les vaccins ARNm, les dosages de l'histamine et de la tryptase peuvent être informatifs. Malheureusement très peu d'études rapportent la mesure de la tryptase au moment de la réaction. La plupart porte sur très peu de patients et ne montre pas d'augmentation de l'un de ces paramètres [5,14,18,20]. Seule l'étude de Warren et al. [8] rapporte une augmentation de la tryptasémie (entre 14 et 25  $\mu\text{g/l}$  pour une tryptase basale entre 2 et 6  $\mu\text{g/L}$ ) chez 8 patients chez qui elle a pu être dosée au moment de la réaction. Une seule étude a étudié l'histamine chez 5 patients et a montré son augmentation chez un des patients dans les 30 mn suivant la réaction postvaccinale alors que la tryptase n'est pas modifiée. [19].

Le dosage de la tryptase de base pourrait être également intéressant. Quelques études ont montré chez certains patients une concentration subnormale : médiane de 8,5 à 12,8  $\mu\text{g/l}$  c'est-à-dire au-dessus des 95th percentiles décrits dans la population générale [21,22]. Ceci pourrait être en faveur d'une hyper-alpha-tryptasémie à explorer dans ces réactions [23].

## 6. Le test d'activation des basophiles

Le test d'activation des basophiles (TAB) a été proposé rapidement, dès janvier 2021, pour explorer l'hypersensibilité immédiate aux vaccins à ARNm. Différents auteurs se sont intéressés à ce test pour essayer de déterminer sa place dans la prise en charge des patients ayant réagi à des médicaments contenant du PEG avant la première dose [24], ou en cas de réaction lors de la première dose pour orienter la prise en charge avant la deuxième dose [21].

Différents allergènes peuvent être utilisés pour réaliser le TAB notamment le PEG 2000 et le PEG 2000 DMG qui ont été récemment commercialisés pour ce test. Le PEG contenu dans les vaccins est sous forme de nanoparticules conjuguées à des lipides, certains auteurs ont donc réalisé le TAB en présence du vaccin et/ou de PEG sous forme de nanoparticules lipidiques se rapprochant de la forme réellement immunogène [8,24]. Cependant l'activation des basophiles en présence du vaccin seul peut être observée chez 50 % des patients ayant eu le Covid sans réaction lors de l'injection [21]. Il semble donc important d'interpréter les résultats des différentes études sur l'activation des basophiles avec précaution selon qu'il a été réalisé en présence du vaccin, des PEG seuls ou sous forme conjugués aux lipides, ainsi qu'en fonction d'un éventuel Covid antérieur.

La plupart des études publiées ont porté de plus sur très peu de patients. Trjoelnokov et al. [24] ont réalisé des TAB avec des nanoparticules de PEG 2000 chez 3 patients connus pour une allergie au PEG montrant une activation des basophiles. Duque et al. [25], sur 3 patients aussi, n'observent aucune activation des basophiles en présence de PEG 2000 ou de PEG 2000 DMG. Labella et al. [21] sur 16 patients obtiennent un TAB positif au PEG 2000 et au vaccin chez 35 % d'entre eux. Warren et al. [8] rapportent, de façon intéressante un TAB positif chez 90 % des 11 patients testés en présence de PEG 2000 DMG sous forme de nanoparticules et de vaccin. La fréquence de patients dont l'activation des basophiles est significative est donc très variable et pourrait dépendre des patients (déjà connus pour une réaction à des médicaments contenant du PEG ou pas par exemple) et des stimulants utilisés, les vaccins et les nanoparticules de PEG semblant donner des fréquences de positivité plus élevées. La plupart des auteurs s'accordent cependant pour conclure qu'en cas de réaction anaphylactique après injection de vaccin à ARNm, le TAB est plus fréquemment positif que les tests cutanés au PEG ou au vaccin confirmant un mécanisme d'activation qui ne serait pas forcément IgE dépendant [8,15,24]. Ces différentes études ne

permettent cependant pas encore de conclure sur l'apport du TAB dans la prise en charge des patients, en l'absence d'étude sur un plus grand nombre de patients bien caractérisés, avec des stimulants adaptés et standardisés.

## 7. Conclusion

En conclusion, plusieurs marqueurs biologiques ou tests fonctionnels ont été proposés pour l'exploration des réactions immédiates aux vaccins à ARNm dirigés contre le SARS-CoV-2. Ces réactions sont rares, mais doivent être explorées et comprises. Certains biomarqueurs ne semblent pas être modifiés au cours des réactions observées. Pour d'autres, les études actuellement publiées ne permettent pas de conclure définitivement sur leur intérêt compte tenu du nombre faible de patients étudiés, de résultats contradictoires liés à des problèmes de standardisation des méthodes de détection ou au choix des allergènes utilisés. Des études sont en cours qui devraient apporter de meilleures conclusions rapidement. De plus, d'autres hypothèses mécanistiques sont aussi en réflexion, avec d'autres biomarqueurs à l'étude.

## Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

## Remerciements

Nous remercions tous les membres du Groupe de Travail en Biologie de l'Allergie de la SFA : Pol André Apoil, Habib Chabane, Fahima Fernani, Stéphanie François, Julien Goret, Caroline Klingebiel, Sébastien Lefevre, Delphine Mariotte, Patricia Mathieu, Moïse Michel, et Edouard Sève qui ont apporté leur soutien, leurs corrections et leurs commentaires lors de la rédaction de cet article.

## Références

- [1] Barbaud A, Garvey LH, Arcolaci A, Brockow K, Mori F, Mayorga C, Bonadonna P. Allergies and COVID-19 vaccines: an ENDA/EACI Position paper. *Allergy* 2022, <http://dx.doi.org/10.1111/all.15241>.
- [2] Bruhns P, Chollet-Martin S. Mechanisms of human drug-induced anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147:1133–42.
- [3] Risma KA, Edwards KM, Hummel DS, et al. Potential mechanisms of anaphylaxis to COVID-19 mRNA vaccines. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147:2075–82.
- [4] Stone CA, Liu Y, Relling MV, Krantz MS, Pratt AL, Abreo A, Hemler JA, et al. Immediate hypersensitivity to polyethylene glycols and polysorbates: more common than we have recognized. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019;7:1533–40.
- [5] Sellaturay P, Nasser S, Islam S, Gurugama P, Ewan PW. Polyethylene glycol (PEG) is a cause of anaphylaxis to the Pfizer/BioNTech mRNA COVID-19 vaccine. *Clin Exp Allergy* 2021;51:861–3.
- [6] Shi D, Beasock D, Fessler A, Szebeni J, Ljubimova JY, Afonin KA, Dobrovolskaia. To PEGylate or not to PEGylate: immunological properties of nanomedicine's most popular component, polyethylene glycol and its alternatives. *Adv Drug Deliv Rev* 2022;180:114079, <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2021.114079>.
- [7] Wolfson AR, Robinson LB, Li L, McMahon AE, Cogan AS, Fu X, et al. First dose mRNA COVID-19 vaccine allergic reactions: limited role for excipient skin testing. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021;9:3308–20.
- [8] Warren CM, Snow TT, Lee AS, Shah MM, Heider A, Blomkalns A, Betts B, et al. Assessment of allergic and anaphylactic reactions to mRNA COVID-19 vaccines with confirmatory testing in a US Regional Health System. *JAMA Netw Open* 2021, <http://dx.doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.25524>.
- [9] Greenhawt M, Shaker M, Golden DBK. PEG/Polysorbate skin testing has no utility in the assessment of suspected allergic reactions to SARS-CoV-2 Vaccines. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021;9:3321–2.
- [10] Zhou ZH, Stone CA, Jakubovic B, Phillips EJ, Sussman G, Park J, Hoang U, et al. Anti-PEG IgE in anaphylaxis associated with polyethylene glycol. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021;9:1731–3.
- [11] Mortz CG, Kjaer HF, Rasmussen TH, Rasmussen HM, Garvey LH, Bindslev-Jensen C. Allergy to polyethylene glycol and polysorbates in a patient cohort: diagnostic work-up and decision points for vaccination during the COVID-19 pandemic. *Clin Transl Allergy* 2022;12(1), <http://dx.doi.org/10.1002/ct2.12111>, e12111.
- [12] Chen BM, Su YC, Chang CJ, Burnouf PA, Chuang KH, Chen CH, Cheng TL, et al. Measurement of pre-existing IgG and IgM antibodies against polyethylene glycol in healthy individuals. *Anal. Chem* 2016;88:10661–6.

- [13] Fang JL, Frederick A, Beland FA, Tang Y, Roffler SR. Flow cytometry analysis of anti-polyethylene glycol antibodies in human plasma. *Toxicol Rep* 2021;8:148–54.
- [14] Schellekens H, Hennink WE, Brinks V. The immunogenicity of polyethylene glycol: facts and fiction. *Pharm Res* 2013;30:1729–34.
- [15] Jiang SY, Smith EM, Vo V, Akdis C, Nadeau KC. Non-immunoglobulin E-mediated allergy associated with Pfizer-BioNTech coronavirus disease 2019 vaccine excipient polyethylene Glycol. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2021;127(6):694–6.
- [16] Kelso JM. Misdiagnosis of systemic allergic reactions to mRNA COVID-19 vaccines. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2021;127(1):133–4.
- [17] Kozma GT, Mészáros T, Vashegyi I, Fülöp T, Örfi E, Dézsi L, Rosivall L, et al. Pseudo-anaphylaxis to polyethylene Glycol (PEG)-coated liposomes: roles of anti-PEG IgM and complement activation in a porcine model of human infusion reactions. *ACS Nano* 2019;13:9315–24.
- [18] Lim XR, Leung BP, Ng CYL, Tan JW, Chan GYL, Loh CM, Tan GLX, et al. Pseudo-anaphylactic reactions to Pfizer BNT162b2 vaccine: report of 3 cases of anaphylaxis post Pfizer BNT162b2 vaccination. *Vaccines* 2021;31:97–104.
- [19] De Chaisemartin L, Diep A, Gonnin C, Soria A, Barbaud A, Nicaise-Roland P. Immune parameters during anaphylaxis to mRNA COVID-19 vaccines: not the usual suspects? *Ann Allergy Asthma Immunol* 2022;128:338–9.
- [20] Restivo V, Candore G, Barrale M, Caravello E, Graziano G, Onida R, Raineri M, et al. Allergy to Polyethylenglicole of Anti-SARS CoV2 vaccine recipient: a case report of young adult recipient and the management of future exposure to SARS-CoV2. *Vaccines* 2021;9:412.
- [21] Labella M, Céspedes JA, Doña I, Shamji MH, Agach I, Mayorga C, et al. The value of the basophil activation test in the evaluation of patients reporting allergic reactions to the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine allergy; 2021, <http://dx.doi.org/10.1111/all.15148>.
- [22] Pitlick MM, Sitek AN, Kinane SA, Joshi AY, Park MA. Polyethylene glycol and polysorbate skin testing in the evaluation of coronavirus disease 2019 vaccine reactions: early report. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2021;126:735–8.
- [23] Spoerl D, Docquier M, Coattrevec Y, Seebach JD. Patients with elevated basal tryptase serum levels should be tested for hereditary alpha-tryptasemia. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2021, <http://dx.doi.org/10.23822/EurAnnACI.1764-1489.220>.
- [24] Troelnikov A, Perkins G, Yuson C, Ahamdie A, Balouch S, Hurtado PR, Hissaria P. Basophil reactivity to BNT162b2 is mediated by PEGylated lipid nanoparticles in PEG allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2021;148:91–5.
- [25] Duque JSR, Leung D, Au EYL, Lau YL. Second dose of COVID-19 vaccination in immediate reactions to the first BNT162b2. *Pediatr Allergy Immunol* 2022;33:e13683.