

Diagnostic de l'hypersensibilité retardée : des mécanismes immunologiques aux tests de diagnostic *in vivo* et *in vitro*

Julien Serrier¹, Juliette Charpy², Maxime Cravat³, Brigitte Le Mauff^{1,4}, Anthony Leon⁵, Julien Goret^{2,*}, pour le réseau AllergoBioNet⁶

1 Laboratoire d'immunologie, CHU de Caen, avenue de la Côte-de-Nacre, CS 30001, 14033 Caen cedex, France.

2 Laboratoire d'immunologie et immunogénétique, hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, place Amélie-Raba-Léon, 33076 Bordeaux cedex, France.

3 Laboratoire d'immunologie, CHU de Nancy, rue du Morvan, 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France.

4 Normandie Université, UniCaen, esplanade de la Paix, 14000 Caen, France.

5 Laboratoire de biologie médicale, centre hospitalier Émile-Durkheim, 3 avenue Robert-Schuman, 88021 Épinal cedex, France.

6 AllergoBioNet – Réseau des biologistes de l'allergie des centres hospitaliers, www.allergobionet.fr

*Auteur correspondant : julien.goret.ext@chu-bordeaux.fr (J. Goret).

RÉSUMÉ

Les réactions d'hypersensibilité retardée (HSR) sont définies comme celles qui surviennent plus de six heures après une exposition aux allergènes et font intervenir l'immunité à médiation cellulaire. La peau est l'organe le plus souvent atteint dans les HSR aux produits naturels ou de synthèse ainsi qu'aux médicaments. La plupart des éruptions cutanées sont bénignes et spontanément résolutive, mais certaines sont graves, entraînant un risque élevé de morbidité et de mortalité. Elles doivent être reconnues tôt et gérées rapidement. La démarche diagnostique repose sur une anamnèse exhaustive, des tests *in vivo* tels que l'intradermoréaction retardée, le patch-test ou le test de provocation orale et des tests biologiques *in vitro* explorant l'activité de lymphocytes T spécifiques. Les performances de ces tests varient selon les manifestations cliniques. Les avancées concernant l'immunopathogénèse ont permis d'identifier des allèles HLA associés aux manifestations cliniques et ainsi de déterminer des facteurs de prédisposition. Cet article décrit les caractéristiques et la place actuelle de ces tests selon les phénotypes d'HSR.



© CULTURA/IMAGE SOURCE / BSIP

MOTS CLÉS

- allergie
- diagnostic
- HLA
- hypersensibilité retardée
- médicament

KEYWORDS

- allergy
- delayed hypersensitivity
- diagnosis
- drug
- HLA

ABSTRACT

Delayed hypersensitivity reactions: phenotypes, predisposing factors, diagnosis and management

Delayed hypersensitivity reactions (DHR) are defined as reactions that occur more than 6 hours after exposure to small reactive molecules or drugs. The skin is the most often affected organ. Potentially life-threatening severe cutaneous adverse reactions (SCAR) are associated with a high risk of morbidity and mortality. They should be recognized and managed early by clinicians. The diagnostic workup is based on a precise anamnesis, a history of past events, *in vivo* tests such as delayed intradermal testing, patch-test or oral challenge and *in vitro* biological tests exploring the specific lymphocyte activity. Advances in understanding the delayed T cell-mediated reactions lead to identification of predisposing of HLA alleles. We describe the performance of these tests regarding the HSR phenotypes.

Introduction

Les réactions d'hypersensibilité retardée (HSR) sont définies comme celles qui surviennent plus de six heures après une exposition aux allergènes. Ces derniers comprennent des antigènes issus d'agents pathogènes intracellulaires persistants (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*, etc.) ou d'agents non infectieux, comme les médicaments, les métaux ou de petites molécules naturelles ou de synthèse chimiquement réactives (silice, béryllium, parfums, cosmétiques, etc.). Les facteurs influençant le déclenchement des réactions d'HSR sont multiples et déterminent une sensibilité individuelle: on retrouve ainsi l'âge, le sexe, le statut immunitaire, les infections, les facteurs environnementaux, les conditions d'exposition (dose, fréquence), la voie d'exposition (orale, cutanée, respiratoire) et la nature de l'allergène.

Les manifestations cliniques des HSR sont multiples et incluent principalement des manifestations cutanées telle que des éruptions morbilliformes et urticariennes typiques ainsi que des réactions plus graves et potentiellement fatales. L'eczéma de contact (EC) touche 5 à 20 % de la population des pays industrialisés. Elle représente jusqu'à 20 % des maladies professionnelles et 4 000 molécules potentiellement allergisantes ont été recensées. Les réactions sévères concernent les réactions indésirables cutanées graves aux médicaments (SCARs pour *Severe Cutaneous Adverse Drug Reaction*): on retrouve le syndrome de Stevens-Johnson (SJS) ou de nécrose épidermique toxique (TEN pour *Toxic*

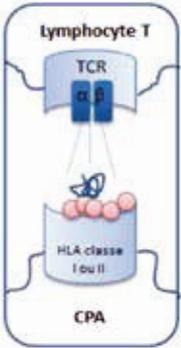
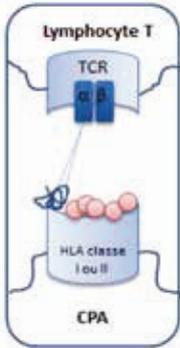
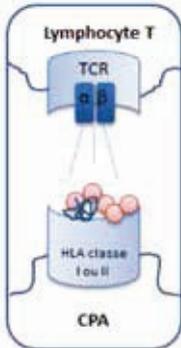
Epidermal Necrolysis), le syndrome de réaction au médicament avec éosinophilie et troubles systémiques (Dress) et des maladies d'atteinte d'organe unique (foie et rein). Ces manifestations sont rares avec une incidence de 0,35 à 9 par million de patients exposés [1].

Dans cette revue de la littérature, nous abordons les mécanismes immunologiques impliqués dans les réactions d'HSR. Nous décrivons les manifestations cliniques, les facteurs de prédisposition et les tests diagnostiques *in vivo* et *in vitro* réalisables en décrivant leur positionnement, leurs performances et leurs limites.

Physiopathologie des HSR: les mécanismes immunologiques impliqués

On peut parler indifféremment d'immunité à médiation cellulaire, d'hypersensibilité de type IV ou d'HSR, dans la mesure où les manifestations pathologiques sont liées à des réponses immunitaires à médiation cellulaire. Les réactions d'HSR se déroulent selon deux phases. La première phase asymptomatique, dite de contact ou de sensibilisation, correspond à l'activation de lymphocytes T helper (LTh) et la production de cytokines et de lymphocytes mémoires (Tmem). L'activation des lymphocytes T repose sur trois principaux modèles [2-5], non exclusifs, décrits dans le **tableau 1** [4]. Lors d'un second contact avec l'allergène, celui-ci est reconnu par les lymphocytes Tmem générés qui s'activent. Ils sécrètent alors des cytokines qui vont permettre le

Tableau 1. Physiopathologie des hypersensibilités médiées par les lymphocytes T.

	Modèle haptène/prohaptène	Concept p-i Interaction pharmacologique	Modèle de répertoire du soi modifié
Mécanisme	Liaison covalente à un peptide du soi = néo-antigène	Liaison non covalente directement au HLA ou au TCR. Cette réaction peut survenir lors de la première exposition	Liaison non covalente au sein du sillon de liaison au peptide
Schéma			
Exemples	β -lactamines (liaison à l'albumine), AINS, sels de platine, anticorps monoclonaux, myorelaxants, métaux	β -lactamines, quinolones, AINS, produits de contraste, carbamazépine, allopurinol, abacavir	

D'après [2-5].

Tableau 1. Classification révisée de Gell and Coombs pour l'hypersensibilité de Type IV ou hypersensibilité retardée.

Types	Médiateurs cellulaires	Cytokines médiatrices	Phénotypes ou manifestations cliniques
Type IVa	1 ^{re} phase: Th1 2 ^{de} phase: macrophages	IFN γ TNF α IL-18	Eczéma de contact
Type IVb	1 ^{re} phase: Th2 2 ^{de} phase: éosinophiles, lymphocytes B, IgE, IgG4, mastocytes	IL-4 IL-5 IL-13	Exanthème maculopapuleux Dress
Type IVc	Lymphocytes T cytotoxique → destruction immédiate de la cellule	Granzyme B Perforine Fas Ligand Granulysine	Érythème multiforme SJS/TEN Érythème pigmenté fixe (FDE, <i>Fixed Drug Erythema</i>) Lésion hépatique d'origine médicamenteuse (DILI, <i>Drug-Induced Liver Injury</i>)
Type IVd	1 ^{re} phase: Th1/Th17 2 ^{de} phase: neutrophiles	GM-CSF IL-8 CXCL8	AGEP

Le mécanisme de la toxidermie flexurale ou syndrome babouale (*Sdrife, Symetrical Drug Prelated Intertriginous and Flexural Exantheme*) n'est pas connu.

recrutement des cellules effectrices: les lymphocytes T cytotoxiques (LTc), les macrophages, les polynucléaires neutrophiles (PNN) et les polynucléaires éosinophiles (**tableau 2**). Celles-ci infiltreront le site d'exposition à l'antigène et induisent une inflammation et des dommages tissulaires.

L'EC au nickel est un exemple d'hypersensibilité de type IVa basée sur le concept d'haptène où le nickel lié à une protéine de la peau forme un néo-antigène (métalloprotéine). Les cellules de Langerhans captent ce néo-antigène, le dégradent et présentent un complexe peptide-nickel/CMH (pCMH) aux lymphocytes Th1 naïfs au niveau des organes lymphoïdes secondaires. Ces derniers sont activés, se différencient en lymphocytes effecteurs et Tmem qui circulent et retournent dans la peau par chimiotactisme. En effet, la présence du néo-antigène stimule les cellules de la peau et les macrophages qui libèrent de nombreuses chemokines attirant les lymphocytes dans la zone touchée. Au moment où le patient est exposé à nouveau au nickel, les lymphocytes sécrètent alors de nombreuses cytokines dont l'IFN γ . Celui-ci active localement les macrophages et les kératinocytes qui prolifèrent entraînant une hyperplasie et un épaississement de la peau. Ces cellules produisent à leur tour des cytokines inflammatoires, augmentent l'expression des CMH et des récepteurs au TNF ainsi que la production de radicaux oxygénés responsables des dommages tissulaires. De plus, les LTc détruisent directement les cellules de la peau présentant des pCMH et perpétuent l'inflammation locale.

Le Dress, qui illustre l'hypersensibilité de type IVb, est associé à une activation de la voie Th2 induisant une forte production d'IL-4, d'IL-5 et d'IL-13 et le recrutement des éosinophiles. L'étude immunohistochimique de biopsies cutanées a également révélé la présence de perforine,

de granzyme B, de Fas ligand (FasL) et d'IFN γ [6]. La réactivation des virus du groupe herpès serait également impliquée dans la pathogenèse du Dress. Il a été démontré que les cellules T activées présentaient des spécificités dirigées contre les herpès virus humain 6 et 7, du virus Epstein-Barr, et du cytomégalovirus [7]. Ces observations pourraient être expliquées par la notion d'immunité hétérologue: les cellules T spécifiques du médicament seraient du fait de réactivité croisée des cellules Tmem spécifiques de ces virus capables d'infection persistante et de réactivations intermittentes.

L'hypersensibilité de type IVc correspond au concept p-i et a pour phénotype le SJS notamment. Ce type de réaction ne nécessite pas de phase de sensibilisation ni d'apprêtement antigénique et induit une réaction immédiate des LTc et des lymphocytes T *natural killer* [8]. Ces cellules provoquent l'apoptose directe des kératinocytes présentant l'antigène en produisant du granzyme et des peptides cytotoxiques en concentrations élevées [3].

La pustulose exanthématique aiguë généralisée ou l'*Acute Generalized Exanthematous Pustulosis* (Agep) est la manifestation clinique qui illustre l'hypersensibilité de type IVd. Au cours de la phase initiale, les vésicules sont composées principalement de cellules Th1 spécifiques du médicament et de kératinocytes. Les kératinocytes vont recruter activement les PNN par la production de chemokines telles que le CXCL8 et assurer leur survie et leur multiplication par la production de GM-CSF et d'IL-5. Les cellules Th17 peuvent également jouer un rôle dans l'Agep par la libération d'IL-17 et d'IL-22, qui ont un effet synergique sur la production de CXCL8 par les kératinocytes [9]. Des taux de granzyme élevés suggèrent également que cette dernière pourrait jouer un rôle dans l'Agep [10].



► Clinique et diagnostic différentiel des HSR

Atteintes cutanées

Eczéma de contact

Syndrome le plus bénin, il apparaît chez un individu sensibilisé 24 à 48 heures après un nouveau contact avec l'allergène. On observe des lésions très prurigineuses, sous forme de placards érythémato-papuleux, inflammés à contours irréguliers. Celles-ci évoluent en lésions suintantes après rupture des vésicules et s'accompagnent de lésions de grattage, puis vers une phase croûteuse ou une desquamation avant une guérison sans cicatrice.

Ce syndrome peut être confondu avec une dermatite d'irritation qui est généralement localisée au niveau de la peau qui a été en contact d'une substance irritante, d'apparition plus rapide et présentant des lésions à bord net. La dermatite atopique se distingue par une atteinte cyclique touchant les plis, la tête et le cou chez un patient atopique. Ces dernières peuvent néanmoins favoriser l'EC.

Toxidermies

On parle de toxidermie pour tout effet indésirable cutané lié à une prise médicamenteuse. Elles sont potentiellement graves pouvant mettre en jeu le pronostic vital. La plupart de ces pathologies sont syndromiques (**tableau 3**) [11-13].

Atteintes immuno-allergiques spécifiques d'organes

Les HSR peuvent atteindre d'autres organes de manière concomitante ou non (cas rares) aux toxidermies. Les atteintes décrites dans la littérature sont les suivantes : hématopoïétique, hépatique, rénale, pulmonaire, pancréatique, intestinale et myocardique. Le diagnostic est difficile en raison d'une physiopathologie qui reposerait sur la destruction de l'organe par des lymphocytes T activés. La présence de granulome peut être observée. Les macrophages stimulés par les cellules T n'arrivent pas à éliminer l'allergène causal (silicose, béryllium, etc.) et l'enferment alors dans une formation histologique composée de cellules multinucléées géantes. Dans ce processus, de nombreuses cytokines sont produites dont le TNF α , l'IL-2 et le GM-CSF. Le diagnostic repose sur la recherche de réaction lymphocytaire spécifique (cf. démarche diagnostique *in vitro*) et sur un faisceau d'arguments.

Détermination de l'imputabilité

Il est nécessaire devant toute suspicion d'HSR de réaliser un interrogatoire précis pour recueillir l'ensemble des données cliniques, chronologiques (délai d'apparition,

réapparition si nouvelle exposition et évolution à l'arrêt de l'exposition) et sémiologiques (clinique, facteurs favorisants et diagnostics différentiels). Il faut noter que l'atopie n'est pas un facteur de risque de toxidermie.

Il ne faut pas oublier qu'étiqueter à tort un patient comme étant allergique à un médicament peut avoir de lourdes conséquences sur les choix thérapeutiques et est plus délétère pour le patient qu'un bilan allergologique complet.

► Démarche diagnostique *in vivo*

La positivité des tests cutanés, patchs tests (PT) et/ou intradermoréactions (IDR), est un argument fort pour définir l'imputabilité du produit ou du médicament. À l'inverse, leur négativité n'exclut pas une HSR. La valeur diagnostique des tests cutanés dépend de la nature de la réaction cutanée et du type de molécule impliquée. Leur spécificité est excellente mais leur sensibilité est variable (**tableau 4**). Il est généralement admis d'effectuer les tests au moins quatre à six semaines après la réaction aiguë [14]. Quand c'est possible, il faut avoir arrêté les corticoïdes et les dermo-corticoïdes depuis au moins sept jours ou les traitements immunosuppresseurs un mois avant les tests.

Patch test

La méthode de réalisation des PT est indiquée dans les réactions cutanées allergiques aux médicaments et dans l'allergie de contact. Les recommandations européennes les placent avant les IDT [15]. Leur réalisation est relativement standardisée en Europe par l'utilisation d'allergènes en dispositifs commerciaux (batterie standard européenne pour l'EC) ou préparés à la demande par les pharmacies hospitalières. Les composés sont dissous dans de la vaseline ou de l'eau et appliqués soit sur un disque en papier filtre ou une bande dans la chambre du patch. La stabilité des préparations pour PT n'est pas décrite dans la littérature. Généralement, les patchs sont disposés sur la partie supérieure plate du dos, bien que cette région ait la plus faible densité en lymphocytes T résidents. La sensibilité relative du dos par rapport aux autres sites est inconnue [14,16]. Les tests sont laissés en place 48 heures puis retirés et repérés. Une première lecture est réalisée à 48 heures puis à 96 heures et à sept jours. Il n'existe pas de contrôle positif approprié. Les PT doivent être préparés avec le médicament dans sa forme commerciale, chaque médicament étant dilué à 30 % [14] ou 20 % [17]. L'étude de Brajon *et al.* a montré que la concentration en principe actif variait de 0,05 à 30 % dans les préparations à base de vaseline issues de comprimés broyés [18]. Des études complémentaires sont nécessaires pour maîtriser ces

Tableau 3. Phénotypes

Phénotype	Manifestations cutanées	Autres signes cliniques	Délai d'apparition
Exanthème maculo-papuleux	Éruption érythémateuse maculopapuleuse polymorphe (scarlatiniforme voire rubilliforme) Atteinte du tronc avec extension symétrique vers les membres	Sub-fébrile (< 38,5 °C) Prurit parfois intense	Éruption du 9 ^e jour (4-14 jours) 2-3 jours après réintroduction
Sdrife	Érythème maculopapuleux, délimité, souvent symétrique, localisé au niveau des plis de flexions, interfessiers, inguinaux et périgénitaux	Fièvre inconstante	5 à 10 jours après initiation du traitement Quelques heures à quelques jours après réintroduction
Agep	Érythème, rouge vif, œdémateux, diffus en nappe (scarlatiniforme) d'éruption brutale. Associé à l'apparition rapide (heures) de nombreuses petites pustules stériles non folliculaires, blanches Localisation majoritaire dans les grands plis.	Fièvre Prurit +/- altération de l'état général	1 à 5 jours (jusqu'à 3 semaines)
Dress 3 des 4 critères obligatoires signalés en gras Syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse	Exanthème maculeux inflammatoire, diffus avec prurit, polymorphe et variable Enanthème possible	Œdème facial Fièvre > 38 °C Lymph-adénopathies Atteinte d'un organe: hépatite (+++) pneumopathie interstitielles, néphropathies interstitielles, myocardite	2 à 6 semaines
FDE	Lésion(s) maculeuse(s), rouge-brune(s), +/- bulleuse(s) Récidive de la ou des lésions au même endroit après réexposition	+/- syndrome pseudo-grippal	Quelques jours à quelques semaines Quelques heures après ré-introduction
SJS (< 10 % de la surface corporelle) TEN (> 30 % de la surface corporelle) Syndrome transitoire (10-30 %)	Macules érythémateuses étendues et diffuses Puis érosion et bulles multifocales avec décollement cutané en lambeaux à la moindre pression (syndrome de Nikolski en doigt de gant) due à nécrose de l'épiderme Mise à nu du derme sur une grande surface corporelle Érosion des muqueuses : oculaire, orale, génitale, anale, urinaire, trachéale, bronchique...	Fièvre AEG Brûlures oculaires Atteintes respiratoires	4 à 28 jours

D'après [10-12].

Tableau 4. Utilisation des patch-tests (PT), des intradermo-réactions (IDT)

Phénotypes	IDT	Patch-test	TP
Exanthème maculo-papuleux	Potentiellement utile TP direct serait indiqué dans en cas de faible imputabilité du médicament Sensibilité: 6 à 36 %	Utile Positif dans 10 à 40 % des cas	Après tests cutanés retardés négatifs dans situations peu probables VPN : 90 %
Eczéma de contact	Potentiellement utile	Utile	Après tests cutanés retardés négatifs VPN non décrite
Sdrife	Potentiellement utile	Utile Positif dans 52 à 82 % des cas	Après tests cutanés retardés négatifs VPN non décrite
FDE	Pas de données	Utile si application au niveau des zones précédemment lésées Jusqu'à 41 % de positivité	À dose totale quand le patch test est négatif VPN non décrite

D'après [18].



cliniques des toxidermies.

Anomalies biologiques	Molécules associées	Diagnostic différentiel	Évolution
Hyperéosinophilie	Antibiotiques (β-lactamines, sulfamides) Allopurinol Antiépileptiques Antituberculeux	Éruption bactériennes ou virales (scarlatine, rubéole...)	Bénigne Disparition en 1 semaine
	Pénicillines A	Infections streptococciques, ou virale (Parvovirus B19)	
Hyperleucocytose avec : neutrophilie importante +/- éosinophilie	Antibiotiques (pénicillines A, pristinamicine, fluoroquinolones, macrolides) Hydroxychloroquin Diltiazem	Psoriasis pustuleux généralisé Infection cutanée	Régression spontanée en quelques jours Desquamation Mortalité < 5 %
Anomalie hématologique : Éruption eosinophilie > 1 G/L lymphocytes activés lymphocytoses lymphopénie thrombopénie	Anticonvulsivants (Carbamazepine, phénobarbital, lamotrigine) Allopurinol, Antibiotiques (β-lactamines, fluoroquinolones, sulfamides, minocycline) Abacavir Nevirapine	Éruptions virales (réactivation HHV6/7/8, CMV ou EBV) Érythrodermies Dermites de contact Lymphomes T épidermotropes Syndrome hyperéosino-philiques	Lente sur plusieurs semaines Mortalité jusqu'à 10 %
	Paracétamol AINS Tétracycliques Sulfonamides Barbituriques	Maladies bulleuses auto-immunes	Disparition des lésions inflammatoires en quelques jours avec une hyperpigmentation résiduelle
Troubles hydro-électrolytiques Insuffisances rénales Cytolyse hépatique Atteinte hématologique	Sulfamides Carbamazépine phénobarbitale, Phénitoïne Névrapine AINS (oxicams) Allopurinol	épidermolyse staphylococcique (absence d'érosion des muqueuses) Maladies bulleuses auto-immunes	Mortalité élevée (10 à 50 % en fonction de la gravité d'atteinte cutanée) Atteintes respiratoires = mauvais pronostiques Complications infectieuses Séquelles cutanées fréquentes Risque de cécité

et du test de provocation (TP) pour l'exploration des réactions retardées.

Phénotypes	IDT	Patch test	TP
Agep	Potentiellement utile	Utile La sensibilité dépend du médicament testé : 58 à 64 %	Contre-indiqué : risque de réaction systémique
Dress	Sensibilité : 64 à 100 % Sécurité actuellement inconnue	Utile Positif dans 32 à 80 % des cas selon le médicament testé	Contre-indiqué : risque de réaction systémique
SJS/TEN	Considérée comme contre-indiquée bien que réactions graves rares	Faible sensibilité : 9 à 24 %	Contre-indiqué : risque de réaction systémique
Dili	Faible sensibilité s'il n'y a pas d'atteinte cutanée associée	Faible sensibilité s'il n'y a pas d'atteinte cutanée associée	Contre-indiqué : risque de réaction systémique

concentrations finales. Des protocoles de réalisation régulière des PT sont proposés pour le SJS/TEN et le Dress [19].

Intradermoréaction retardée

L'IDR retardée présente un intérêt lorsque des formes solubles et stériles des médicaments sont disponibles. Elle est plus sensible que le PT pour l'exanthème maculopapuleux et le Dress (**tableau 4**) et présente un risque minime, en particulier si six mois ou plus se sont écoulés depuis la réaction initiale [20,21]. L'IDR est réalisée par injection de la préparation à tester (0,02 à 0,05 mL) dans le derme au niveau de la surface palmaire de l'avant-bras. Un contrôle négatif correspondant à du sérum physiologique est recommandé. En l'absence de contrôle positif approprié, celui-ci n'est pas réalisé [22, 23]. Les critères de positivité des résultats et la concentration du médicament ont une influence sur la sensibilité et la spécificité de l'IDR. Il est recommandé de lire la réaction à quinze minutes pour éliminer une réaction immédiate à des produits histamino-libérateurs. Une IDR retardée est considérée positive par l'apparition entre 24 et 48 heures d'un érythème et d'une infiltration dépassant de 5 mm la ligne de base tracée au moment de l'application [24]. Aujourd'hui, les concentrations utilisées sont celles définies pour les *prick tests* dans l'exploration des réactions immédiates [24]. Des études supplémentaires sont donc nécessaires; d'autant que l'activation des lymphocytes T est dose-dépendante et nécessite donc l'application de différentes dilutions.

Test de provocation

Le test de provocation (TP) est toujours considéré comme la référence pour l'exploration des hypersensibilités aux médicaments. Il peut être combiné aux tests cutanés. Il n'existe pas de consensus pour sélectionner les patients qui seraient les candidats appropriés pour bénéficier d'un TP d'emblée ou après une IDR ou un PT négatif; il est toutefois admis d'éviter les TP en cas de résultat positif à l'IDR ou au PT. Le TP est donc réservé aux patients considérés à faible risque. En cas d'antécédents clairs d'exanthème bénin, l'administration d'une dose unique est considérée comme sans danger et présente un taux d'événements indésirables de 6,9 % [25]. Dans les manifestations graves, le risque de réaction systémique est accru. Un test unique peut être négatif. Cependant, une épreuve prolongée avec évaluation à cinq-sept jours (contre trois jours) augmente la

sensibilité du test. La valeur prédictive négative (VPN) du TP est rassurante (> 90 %), notamment pour les antibiotiques [26-28]. En général, s'il existe un autre médicament efficace, les médicaments de structure apparentée ne doivent pas être réintroduits. Cependant, pour certaines pathologies, comme le VIH et la tuberculose, le rapport bénéfice-risque oriente vers la remise en cause séquentielle des médicaments potentiellement impliqués.

► Démarche diagnostique *in vitro* ou *ex vivo*

Les tests biologiques peuvent être un apport pour l'identification de l'agent responsable en complément des tests réalisés *in vivo* et présentent l'avantage de leur innocuité. Mais, au regard des mécanismes impliqués, on peut supposer que leur efficacité puisse être variable selon les formes cliniques: dans le contexte de réponse cellulaire spécifique qui est le support de ces allergies, ils visent tous à mettre en évidence une réponse lymphocytaire Tmem.

Test de prolifération lymphocytaire

Le test de prolifération lymphocytaire (TPL) ou test de transformation lymphoblastique (TTL) est la méthode la plus fréquemment utilisée pour étudier la réponse spécifique des lymphocytes T vis-à-vis d'allergènes (principalement médicaments et métaux). Les lymphocytes Tmem présensibilisés du patient vont être activés *in vitro* [29].

À partir de sang hépariné, on isole les cellules mononucléées par centrifugation sur un gradient de densité puis elles sont mises en culture trois à sept jours en présence de l'allergène. La répllication de l'ADN ou la division cellulaire sont mesurées: la réponse sera comparée à celle mesurée sans stimulation et validée par un contrôle positif avec un mitogène. Le marqueur le plus souvent utilisé est la thymidine tritiée (radioactive) qui s'incorpore à l'ADN en synthèse et on mesure le nombre de coups par minute (cpm). Le résultat est exprimé en index de stimulation (SI: cpm de la prolifération avec l'allergène/cpm de prolifération sans allergène) et est considéré comme positif si supérieur 2. Des traceurs alternatifs non radio-actifs, comme le bromodéoxyuridine ou le 5-éthynyl-2'déoxyuridine [30], mesurés par cytométrie en flux (CMF), peuvent aussi être utilisés. La division cellulaire peut être évaluée par un marqueur intracytoplasmique fluorescent avant stimulation, comme

La valeur diagnostique des tests cutanés dépend de la nature de la réaction et de la molécule impliquée

le carboxyfluorescein succinimidyl ester dont la distribution dans chaque cellule-fille est quantifiée par CMF. Il est également possible de mesurer l'expression de marqueurs d'activation lymphocytaire membranaires (CD69) [31] ou de marqueurs nucléaires de division cellulaire (Ki67) [32].

La sensibilité des TPL réalisés avec la thymidine tritiée est très variable et peut aller de 22 à 75 % et la spécificité de 63 à 100 %, pour les β -lactamines, les anticonvulsivants et les anesthésiques locaux [33]. La sensibilité est supérieure (58-89 %) pour les patients ayant présenté des réactions allergiques d'intensité faible ou modérée comparativement à celle observée pour des réactions plus sévères (25-75 %) [33]. La sensibilité est aussi dépendante de la nature de l'allergène et du délai par rapport à la symptomatologie clinique : il serait ainsi préférable de réaliser le test entre deux semaines et trois mois après la réaction dans le cadre s'un syndrome de SJS/TEN et plus tardivement pour un Dress.

Une méthode dérivée du TPL, Melisa[®] memory lymphocyte immunostimulation assay [34], principalement utilisée pour évaluer les réponses aux métaux, est réalisée dans des conditions de déplétion partielle en monocytes. Ses faibles sensibilité et spécificité comparativement au TPL qui ont été confirmées vis-à-vis du nickel et du mercure [35] ne lui confèrent donc aucune supériorité.

Évaluation de l'activation fonctionnelle

L'ELISpot (*enzyme-linked immunospot*) [36] est une technique qui permet de déterminer le nombre de lymphocytes T effecteurs produisant une cytokine en réponse à la stimulation par un antigène. Les cellules mononucléées du patient sont cultivées dans des puits recouverts d'anticorps anti-cytokines (le plus souvent anti-IL4 et anti-IFN γ). Après une incubation de 18 à 24 heures en présence ou non d'un allergène, les cellules sont éliminées et un second anticorps spécifique de la cytokine, couplé à une enzyme est ajouté. Le nombre de taches (spots) révélées par le substrat chromogène est alors compté. Le résultat est exprimé en nombre de cellules formant des spots par million de cellules. Ce test est très sensible et permet de détecter 25 cellules sécrétrices/10⁶ cellules mononucléées et la sensibilité de l'Elispot-IFN γ semble supérieure à celle du TPL pour les syndromes de SJS/TEN (35 % contre 71 %, respectivement) [33]. L'activation lymphocytaire peut aussi être évaluée en mesurant les cytokines produites (IL-2, IL5, IL-13, IFN γ) ou des marqueurs de cytotoxicité (granzyme B, granulyse) par Elisa ou CMF. La combinaison de ces différentes techniques pourrait augmenter considérablement la sensibilité de la technique (> 80 %) [37].

Limites et perspectives

À l'heure actuelle, les tests *in vitro* de diagnostic de l'HSR sont chers, chronophages, donnent peu de résultats positifs et sont réalisés dans des laboratoires spécialisés. Ils nécessitent des formulations qui permettent leur usage en culture, et n'évaluent pas une sensibilisation vis-à-vis des métabolites des produits suspectés. En France, très peu de laboratoires réalisent ces tests, et les techniques « chaudes » laissent place de plus en plus à la CMF moins contraignante. Si un TP n'est pas toujours possible pour la confirmation de la responsabilité du produit, les tests *in vitro* sont aussi sensibles que les tests cutanés et ont une bonne spécificité. Il serait souhaitable de les y associer pour améliorer la sensibilité globale. La standardisation des méthodes, un programme d'évaluation externe de qualité, le développement de techniques plus sensibles et leurs éventuelles combinaisons pourraient permettre d'améliorer la sensibilité. Celle-ci devrait alors être évaluée dans des études plus larges. Il faut rappeler que dans le contexte du diagnostic de pathologies d'exposition professionnelle, comme la béryllose pulmonaire chronique, le TPL est un outil diagnostique incontesté.

► Prédire les réponses des cellules T : typage HLA

De nombreuses études ont démontré l'association d'allèles HLA aux réactions graves à médiation cellulaire T à certains médicaments (**tableau 5**). L'association entre SJS/TEN et HLA-B*57:01 a conduit à la mise en œuvre du test de dépistage en routine avant le traitement par l'abacavir. Ce test a une valeur prédictive positive de 55 % et une VPN de 100 %, exigée pour l'innocuité des médicaments. Le principal obstacle au dépistage HLA systématique pour de nombreux médicaments tient au fait que l'association d'un HLA est nécessaire mais n'est pas prédictive du développement de l'HSR. Il faudrait donc tester un nombre extrêmement élevé de patients afin de prévenir un cas d'HSR. Par exemple, dans le cas de l'hépatite à la flucloxacilline et HLA-B*57:01, près de 14 000 dépistages seraient nécessaires pour prévenir un cas d'hépatite. La mise en œuvre du dépistage de l'HSR à l'abacavir dans la pratique clinique a été couronnée de succès, car :

- peu de patients sont testés pour prévenir un cas ;
- les traitements anti-VIH sont prescrits par un nombre de spécialistes restreints ;
- la VPN est excellente ;
- l'accès au dépistage dans les laboratoires est facile.

Tableau 5. Association d'allèles HLA aux médicaments dans les manifestations d'hypersensibilité retardée.

Molécule	Manifestation clinique	Allèle HLA	Populations étudiées	OR	VPN	VPP	NNT	Remarques
Abacavir	Rash, fièvre, malaise, troubles gastro-intestinaux	B*57:01	Caucasienne, africaine, afro-américaine	690	100 % (patch test)	55 %	13	En routine pour le VIH dans le monde
Allopurinol	SJS/TEN Dress	B*58:01	Caucasienne, chinoise	> 800	100 % (population chinoise)	3 %	250	Dépistage sélectif
Efavirenz	Rash	DRB1*01	Française	-	-	-	-	-
Nevirapine	Dress	B*14/Cw8 Cw8 Cw4 DRB1*15 B*3505 B*3501 B*15/DRB1*15	Italienne, japonaise, chinoise (Han), asiatique, australienne	-	-	-	-	-
	Rash	B*35:05 Cw4	Thailandaise, africaine, asiatique, européenne	-	97 %	16 %	-	-
	Hépatite	DRB1*01 :01 DRB1*01 :02	Européenne, australienne, sud-africaine	-	96 %	18 %	-	-
Flucoxacillin	Hépatite	B*57:01 DRB1*0107- DQB1*0103	Européenne	-	> 99 %	< 1 %	13819	Pas utilisé
Amoxicilline et aminopénicillines	Hépatite	HLA*02 :01 DQB1*0602 DRB*15 :01- BQB1*06 :02	Européenne	-	-	-	-	
	Rash	A*2 DR*52	Italienne	-	-	-	-	
Sulfaméthoxazole	SJS/TEN	B*38	Européenne	-	-	-	-	
Sulfamides	SJS/TEN	A*29 B*12 DR7	Européenne	-	-	-	-	
Isoniazide	Dili	NAT2, CYP2E1*5 et *1B	Européenne	-	-	-	-	
Carbamazépime	SJS/TEN	B*15:02	Caucasienne, chinoise	> 1 000	100 % (population chinoise)	3 %	100	En routine en Asie du Sud-Est
	Dress	A*31:01	Européenne, chinoise, japonaise	9,5	> 99 %	< 1 %	5000	
Dapson	Dress, Rash, hépatite	B*13:01	Australienne, chinoise, japonaise	81	> 99 %	< 1 %	13819	Programme en cours dans les pays d'endémie de lèpre (Chine, Asie du Sud-Est)

NNT : nombre de patients à tester pour une manifestation clinique (*number needed to treat*); OR: Odd ratio; VPN: valeur prédictive négative; VPP : valeur prédictive positive. D'après [18].



► Prise en charge immédiate et traitement

Pour tous les patients, l'identification de l'allergène et son retrait rapide sont les premiers impératifs. Pour le syndrome de SJS/TEN, un arrêt précoce du médicament responsable est associé à un meilleur pronostic. Les stratégies de prise en charge des manifestations cutanées graves des HSR sont principalement symptomatiques, visant à éviter la morbidité à court terme et la mortalité et les séquelles graves à long terme. Le risque de morbidité est augmenté pour les molécules qui ont des demi-vies longues. Les patients présentant un détachement de l'épiderme, une érythrodermie, une atteinte des muqueuses sont exposés à augmentation de la perte de liquide et de protéines, une hypovolémie, une insuffisance rénale, une dérégulation thermique et un risque infectieux nécessitent une prise en charge dans des unités spécialisées [19]. Parallèlement aux soins locaux, les approches thérapeutiques pour les patients atteints de SJS/TEN sont toujours en discussion. Les données actuelles sont issues de petites séries et de cas rapportés dans la littérature. La rareté des SCARs rend difficile la réalisation d'essais randomisés de grande échelle comparant les stratégies de traitement. Les approches par l'utilisation de traitements immunosuppresseurs ou immunomodulateurs (corticostéroïdes, cyclophosphamide, inhibiteurs de la calcineurine, anti-TNF, immunoglobulines intraveineuses ou plasmaphérèse) ont eu des résultats controversés.

► Conclusion

Les HSR sont des pathologies complexes. Les avancées concernant l'immunopathogénèse vont conduire à la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques et diagnostiques. La détermination de l'imputabilité est délicate et nécessite une approche exhaustive et multidisciplinaire. Malgré leurs performances variables, les tests *in vivo* et *in vitro* disponibles actuellement constituent des aides importantes au diagnostic. Des approches

combinées seront probablement nécessaires. Celles-ci restent à évaluer avec rigueur et à grande échelle dans de larges études. ■■

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en relation avec cet article.

Remerciements

Nous remercions Erwan Dumontet (service d'immunologie, thérapie cellulaire et hématopoïèse, pôle biologie, CHU Pontchaillou, Rennes, France) et Benjamin Savoye (service d'allergologie, CHU de Caen, France) pour leur relecture et leurs conseils.

Points à retenir

- L'HSR repose sur l'activation de lymphocytes T mais les manifestations cliniques dépendent des cellules effectrices impliquées (LTc, macrophages, PNN, polynucléaires éosinophiles...) et des cytokines produites.
- L'activation des lymphocytes T dépend de l'interaction des allergènes avec le HLA selon le modèle haptène/prohaptène, le modèle d'interaction pharmacologique (concept p-i) et le modèle de répertoire du soi modifié.
- Des allèles HLA sont associés aux manifestations cliniques pour certains médicaments et déterminent des facteurs de prédisposition.
- Les tests *in vivo* sont pertinents pour certains phénotypes, notamment s'ils sont réalisés à distance des manifestations cliniques et en l'absence de risque systémique. Une standardisation de méthodes est actuellement souhaitée.
- Les tests *in vitro*, comme le TPL, sont aussi sensibles que les tests cutanés. La standardisation des méthodes, le développement de programme d'évaluation externe de qualité, le développement de techniques de plus en plus sensibles et leurs éventuelles combinaisons pourraient permettre d'améliorer la sensibilité.
- L'association tests cutanés et des tests *in vitro* pourrait augmenter la sensibilité globale.

Références

[1] Gomes ER, Marques ML, Regateiro F. Epidemiology and risk factors for severe delayed drug hypersensitivity reactions. *Current pharmaceutical design* 2019.

[2] Pichler WJ: Pharmacological interaction of drugs with antigen-specific immune receptors: the p-i concept. *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2002, 2(4):301-5.

[3] Redwood AJ, Pavlos RK, White KD, Phillips EJ. HLAs: Key regulators of T-cell-mediated drug hypersensitivity. *Hla* 2018, 91(1):3-16.

[4] Schrijvers R, Gilissen L, Chiriac AM, Demoly P. Pathogenesis and diagnosis of delayed-type drug hypersensitivity reactions, from bedside to bench and back. *Clinical and translational allergy* 2015, 5:31.

[5] White KD, Chung WH, Hung SI et al. Evolving models of the immunopathogenesis of T cell-mediated drug allergy: the role of host, pathogens, and drug response. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2015,136(2):219-34; quiz 235.

[6] Hansel K, Bellini V, Bianchi L et al. Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms from ceftriaxone confirmed by positive patch test: an immunohistochemical study. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2017;5(3):808-10.

[7] Picard D, Janela B, Descamps V et al. Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS): a multiorgan antiviral T cell response. *Science translational medicine*. 2010;2(46):46ra62.



- [8] Bellon T, Blanca M. The innate immune system in delayed cutaneous allergic reactions to medications. *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2011;11(4):292-8.
- [9] Kakeda M, Schlapbach C, Danelon G et al. Innate immune cells express IL-17A/F in acute generalized exanthematous pustulosis and generalized pustular psoriasis. *Archives of dermatological research*. 2014; 306(10):933-8.
- [10] Feldmeyer L, Heidemeyer K, Yawalkar N. Acute generalized exanthematous pustulosis: pathogenesis, genetic background, clinical variants and therapy. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(8).
- [11] Amsler E, Soria A. Hypersensitivity reactions to beta-lactam antibiotics. *La Revue de medecine interne*. 2017;38(11):737-48.
- [12] Brandt O, Bircher AJ. Delayed-type hypersensitivity to oral and parenteral drugs. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology: JDDG*. 2017;15(11):1111-32.
- [13] Maniu CM, Buss G, Feldmeyer L et al. Severe delayed drug hypersensitivity reactions. *Revue medicale suisse*. 2013;9(382):803-4, 806-11.
- [14] Barbaud A, Goncalo M, Bruynzeel D, Bircher A. Guidelines for performing skin tests with drugs in the investigation of cutaneous adverse drug reactions. *Contact dermatitis*. 2001;45(6):321-8.
- [15] Torres MJ, Romano A, Celik G et al. Approach to the diagnosis of drug hypersensitivity reactions: similarities and differences between Europe and North America. *Clinical and translational allergy*. 2017;7:7.
- [16] Phillips EJ, Sullivan JR, Knowles SR, Shear NH. Utility of patch testing in patients with hypersensitivity syndromes associated with abacavir. *AIDS*. 2002;16(16):2223-5.
- [17] Brockow K, Romano A, Blanca M et al. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy*. 2002;57(1):45-51.
- [18] Brajon D, Menetre S, Waton J et al. Non-irritant concentrations and amounts of active ingredient in drug patch tests. *Contact dermatitis*. 2014;71(3):170-5.
- [19] Duong TA, Valeyrie-Allanore L, Wolkenstein P, Chosidow O. Severe cutaneous adverse reactions to drugs. *Lancet*. 2017;390(10106):1996-2011.
- [20] Barbaud A, Collet E, Milpied B et al. A multicentre study to determine the value and safety of drug patch tests for the three main classes of severe cutaneous adverse drug reactions. *The British journal of dermatology*. 2013;168(3):555-62.
- [21] Trubiano JA, Douglas AP, Goh M et al. The safety of antibiotic skin testing in severe T-cell-mediated hypersensitivity of immunocompetent and immunocompromised hosts. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2019;7(4):1341-3 e1341.
- [22] Empedrad R, Darter AL, Earl HS, Gruchalla RS. Nonirritating intradermal skin test concentrations for commonly prescribed antibiotics. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2003;112(3):629-30.
- [23] Phillips EJ, Bigliardi P, Bircher AJ et al. Controversies in drug allergy: testing for delayed reactions. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2019;143(1):66-73.
- [24] Brockow K, Garvey LH, Aberer W et al. Skin test concentrations for systemically administered drugs -- an ENDA/EAACI Drug Allergy Interest Group position paper. *Allergy*. 2013;68(6):702-12.
- [25] Blumenthal KG, Shenoy ES, Varughese CA et al. Impact of a clinical guideline for prescribing antibiotics to inpatients reporting penicillin or cephalosporin allergy. *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2015;115(4):294-300 e292.
- [26] Demoly P, Romano A, Botelho C et al. Determining the negative predictive value of provocation tests with beta-lactams. *Allergy*. 2010;65(3):327-32.
- [27] Tonson la Tour A, Michelet M, Eigenmann PA, Caubet JC. Natural history of benign non-immediate allergy to beta-lactams in children: a prospective study in retreated patients after a positive and a negative provocation test. *The journal of allergy and clinical immunology In practice*. 2018;6(4):1321-6.
- [28] Waton J, Pouget-Jasson C, Loos-Ayav C et al. Drug re-challenges in cutaneous adverse drug reactions: information and effectiveness in the long-term management of patients. *Allergy*. 2011;66(7):941-7.
- [29] Milovanova TN. Comparative analysis between CFSE flow cytometric and tritiated thymidine incorporation tests for beryllium sensitivity. *Cytometry Part B, Clinical cytometry*. 2007;72(4):265-75.
- [30] Poujol F, Monneret G, Friggeri A et al. Flow cytometric evaluation of lymphocyte transformation test based on 5-ethynyl-2'-deoxyuridine incorporation as a clinical alternative to tritiated thymidine uptake measurement. *Journal of immunological methods*. 2014;415:71-9.
- [31] Beeler A, Zaccaria L, Kawabata T et al. CD69 upregulation on T cells as an in vitro marker for delayed-type drug hypersensitivity. *Allergy*. 2008;63(2):181-8.
- [32] Soares A, Govender L, Hughes J et al. Novel application of Ki67 to quantify antigen-specific in vitro lymphoproliferation. *Journal of immunological methods*. 2010;362(1-2):43-50.
- [33] Mayorga C, Dona I, Perez-Inestrosa E et al. The value of in vitro tests to diminish drug challenges. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(6).
- [34] Stejskal VD, Cederbrant K, Lindvall A, Forsbeck M. Melisa-an in vitro tool for the study of metal allergy. *Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA*. 1994;8(5): 991-1000.
- [35] Vadala M, Laurino C, Palmieri B. The memory lymphocyte immunostimulation assay in immune system disorders: is useful or useless? *Journal of laboratory physicians*. 2017;9(4):223-6.
- [36] Czerkinsky CC, Nilsson LA, Nygren H et al. A solid-phase enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assay for enumeration of specific antibody-secreting cells. *Journal of immunological methods*. 1983;65(1-2):109-21.
- [37] Mayorga C, Celik G, Rouzairi P et al. In vitro tests for drug hypersensitivity reactions: an ENDA/EAACI Drug Allergy Interest Group position paper. *Allergy*. 2016;71(8):1103-34.