



HAL
open science

Intérêt des tests de diagnostic in vitro dans l'exploration des toxidermies aux produits de contraste iodés

Beila Brami

► To cite this version:

Beila Brami. Intérêt des tests de diagnostic in vitro dans l'exploration des toxidermies aux produits de contraste iodés. Sciences du Vivant [q-bio]. 2023. dumas-04074007

HAL Id: dumas-04074007

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04074007v1>

Submitted on 19 Apr 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Faculté des sciences
médicales et paramédicales
Aix-Marseille Université

**Intérêt des tests de diagnostic in vitro dans l'exploration des toxidermies aux
produits de contraste iodés**

T H E S E

Présentée et publiquement soutenue devant

LA FACULTÉ DES SCIENCES MEDICALES ET PARAMEDICALES

DE MARSEILLE

Le 30 Mars 2023

Par Madame Beila BRAMI

Née le 21 mai 1993 à Creteil (94)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. d' ALLERGOLOGIE

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur CHANEZ Pascal

Président

Monsieur le Docteur (MCU-PH) ROBERT Philippe

Directeur

Madame le Docteur (MCU-PH) MALISSEN Nausicaa

Assesseur

Madame le Docteur GOUITAA Marion

Assesseur

FACULTÉ DES SCIENCES MÉDICALES & PARAMÉDICALES

Doyen	:	Pr. Georges LEONETTI
Vice-Doyen aux affaires générales	:	Pr. Patrick DESSI
Vice-Doyen aux professions paramédicales	:	Pr. Philippe BERBIS
Conseiller	:	Pr. Patrick VILLANI

Asseseurs :

➤ aux études	:	Pr. Kathia CHAUMOITRE
➤ à la recherche	:	Pr. Jean-Louis MEGE
➤ à l'unité mixte de formation continue en santé	:	Pr. Justin MICHEL
➤ pour le secteur NORD	:	Pr. Stéphane BERDAH
➤ Groupements Hospitaliers de territoire	:	Pr. Jean-Noël ARGENSON
➤ aux masters	:	Pr. Pascal ADALIAN

Chargés de mission :

➤ sciences humaines et sociales	:	Pr. Pierre LE COZ
➤ relations internationales	:	Pr. Stéphane RANQUE
➤ DU/DIU	:	Pr. Véronique VITTON
➤ DPC, disciplines médicales & biologiques	:	Pr. Frédéric CASTINETTI
➤ DPC, disciplines chirurgicales	:	Dr. Thomas GRAILLON

ÉCOLE DE MEDECINE

Directeur	:	Pr. Jean-Michel VITON
------------------	---	------------------------------

Chargés de mission

▪ PACES – Post-PACES	:	Pr. Régis GUIEU
▪ DFGSM	:	Pr. Anne-Laure PELISSIER
▪ DFASM	:	Pr. Marc BARTHET
▪ Préparation aux ECN	:	Dr Aurélie DAUMAS
▪ DES spécialités	:	Pr. Pierre-Edouard FOURNIER
▪ DES stages hospitaliers	:	Pr. Benjamin BLONDEL
▪ DES MG	:	Pr. Christophe BARTOLI
▪ Démographie médicale	:	Dr. Noémie RESSEGUIER
▪ Etudiant	:	Elise DOMINJON

ÉCOLE DE DE MAIEUTIQUE

Directrice : **Madame Carole ZAKARIAN**

Chargés de mission

- 1^{er} cycle : Madame Estelle BOISSIER
- 2^{ème} cycle : Madame Cécile NINA

ÉCOLE DES SCIENCES DE LA RÉADAPTATION

Directeur : **Monsieur Philippe SAUVAGEON**

Chargés de mission

- Masso- kinésithérapie 1^{er} cycle : Madame Béatrice CAORS
- Masso-kinésithérapie 2^{ème} cycle : Madame Joannie HENRY
- Mutualisation des enseignements : Madame Géraldine DEPRES

ÉCOLE DES SCIENCES INFIRMIERES

Directeur : **Monsieur Sébastien COLSON**

Chargés de mission

- Chargée de mission : Madame Sandrine MAYEN RODRIGUES
- Chargé de mission : Monsieur Christophe ROMAN

PROFESSEURS HONORAIRES

MM	AGOSTINI Serge	MM	DELARQUE Alain
	ALBANESE Jacques		DEVIN Robert
	ALDIGHIERI René		DEVRED Philippe
	ALESSANDRINI Pierre		DJIANE Pierre
	ALLIEZ Bernard		DONNET Vincent
	AQUARON Robert		DUCASSOU Jacques
	ARGEME Maxime		DUFOUR Michel
	ASSADOURIAN Robert		DUMON Henri
	AUFFRAY Jean-Pierre		DURAND Jean-Marc
	AUTILLO-TOUATI Amapola		ENJALBERT Alain
	AZORIN Jean-Michel		FAUGERE Gérard
	BAILLE Yves		FAVRE Roger
	BARDOT Jacques		FIECHI Marius
	BARDOT André		FARNARIER Georges
	BERARD Pierre		FIGARELLA Jacques
	BERGOIN Maurice		FIGARELLA-BRANGER Dominique
	BERLAND Yvon		FONTES Michel
	BERNARD Dominique		FRANCES Yves
	BERNARD Jean-Louis		FRANCOIS Georges
	BERNARD Pierre-Marie		FUENTES Pierre
	BERTRAND Edmond		GABRIEL Bernard
	BISSET Jean-Pierre		GALINIER Louis
	BLANC Bernard		GALLAIS Hervé
	BLANC Jean-Louis		GAMERRE Marc
	BOLLINI Gérard		GARCIN Michel
	BONGRAND Pierre		GARNIER Jean-Marc
	BONNEAU Henri		GAUTHIER André
	BONNOIT Jean		GERARD Raymond
	BORY Michel		GEROLAMI-SANTANDREA André
	BOTTA Alain		GIUDICELLI Sébastien
	BOTTA-FRIDLUND Danièle		GOUDARD Alain
	BOUBLI Léon		GOUIN François
	BOURGEADE Augustin		GRILLO Jean-Marie
	BOUVENOT Gilles		GRIMAUD Jean-Charles
	BOUYALA Jean-Marie		GRISOLI François
	BREMOND Georges		GROULIER Pierre
	BRICOT René		GUYS Jean-Michel
	BRUNET Christian		HADIDA/SAYAG Jacqueline
	BUREAU Henri		HARLE Jean-Robert
	CAMBOULIVES Jean		HASSOUN Jacques
	CANNONI Maurice		HEIM Marc
	CARTOUZOU Guy		HOUEL Jean
	CAU Pierre		HUGUET Jean-François
	CHABOT Jean-Michel		JAQUET Philippe
	CHAMLIAN Albert		JAMMES Yves
	CHARPIN Denis		JOUVE Paulette
	CHARREL Michel		JUHAN Claude
	CHAUVEL Patrick		JUIN Pierre
	CHOUX Maurice		KAPHAN Gérard
	CIANFARANI François		KASBARIAN Michel
	CLAVERIE Jean-Michel		KLEISBAUER Jean-Pierre
	CLEMENT Robert		LACHARD Jean
	COMBALBERT André		LAFFARGUE Pierre
	CONTE-DEVOLX Bernard		LAUGIER René
	CORRIOL Jacques		LE TREUT Yves
	COULANGE Christian		LEGRE Régis
	CURVALE Georges		LEVY Samuel
	DALMAS Henri		LOUCHET Edmond
	DE MICO Philippe		LOUIS René
	DELPERO Jean-Robert		LUCIANI Jean-Marie
	DESSEIN Alain		MAGALON Guy

PROFESSEURS HONORAIRES

MM MAGNAN Jacques
MALLAN- MANCINI Josette
MALMEJAC Claude
MARANINCHI Dominique
MARTIN Claude
MATTEI Jean François
MERCIER Claude
MICHOTÉY Georges
MIRANDA François
MONFORT Gérard
MONGES André
MONGIN Maurice
MUNDLER Olivier
NAZARIAN Serge
NICOLI René
NOIRCLERC Michel
OLMER Michel
OREHEK Jean
PANUEL Michel
PAPY Jean-Jacques
PAULIN Raymond
PELOUX Yves
PENAUD Antony
PENE Pierre
PIANA Lucien
PICAUD Robert
PIGNOL Fernand
POGGI Louis
POITOUT Dominique
PONCET Michel
POUGET Jean
PRIVAT Yvan
QUILICHINI Francis
RANQUE Jacques
RANQUE Philippe
RAOULT Didier
RICHAUD Christian
RIDINGS Bernard
ROCHAT Hervé
ROHNER Jean-Jacques
ROUX Hubert
ROUX Michel
RUFO Marcel
SAHEL José
SALAMON Georges
SALDUCCI Jacques
SAMBUC Roland
SAN MARCO Jean-Louis
SANKALE Marc
SARACCO Jacques
SARLES Jacques
SARLES - PHILIP Nicole
SASTRE Bernard
SCHIANO Alain
SCOTTO Jean-Claude
SEBAHOUN Gérard
SEITZ Jean-François
SERMENT Gérard
SOULAYROL René
TAMALET Jacques
TARANGER-CHARPIN Colette
THIRION Xavier
THOMASSIN Jean-Marc
TRIGLIA Jean-Michel
UNAL Daniel
VAGUE Philippe
VAGUE/JUHAN Irène
VANUXEM Paul
VERVLOET Daniel
VIALETTES Bernard
WEILLER Pierre-Jean

EMERITAT

2008

M. le Professeur	LEVY Samuel	31/08/2011
Mme le Professeur	JUHAN-VAGUE Irène	31/08/2011
M. le Professeur	PONCET Michel	31/08/2011
M. le Professeur	KASBARIAN Michel	31/08/2011
M. le Professeur	ROBERTOUX Pierre	31/08/2011

2009

M. le Professeur	DJIANE Pierre	31/08/2011
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2012

2010

M. le Professeur	MAGNAN Jacques	31/12/2014
------------------	----------------	------------

2011

M. le Professeur	DI MARINO Vincent	31/08/2015
M. le Professeur	MARTIN Pierre	31/08/2015
M. le Professeur	METRAS Dominique	31/08/2015

2012

M. le Professeur	AUBANIAC Jean-Manuel	31/08/2015
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2015
M. le Professeur	CAMBOULIVES Jean	31/08/2015
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2015
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2015
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2015
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2015

2013

M. le Professeur	BRANCHEREAU Alain	31/08/2016
M. le Professeur	CARAYON Pierre	31/08/2016
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2016
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2016
M. le Professeur	HENRY Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	LE GUICHAOUA Marie-Roberte	31/08/2016
M. le Professeur	RUF0 Marcel	31/08/2016
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2016

2014

M. le Professeur	FUENTES Pierre	31/08/2017
M. le Professeur	GAMERRE Marc	31/08/2017
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2017
M. le Professeur	PERAGUT Jean-Claude	31/08/2017
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2017

2015

M. le Professeur	COULANGE Christian	31/08/2018
M. le Professeur	COURAND François	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2016
M. le Professeur	MATTEI Jean-François	31/08/2016
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2016
M. le Professeur	VERVLOET Daniel	31/08/2016

EMERITAT

2016

M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2017
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2019
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2017
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2017
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2019
M. le Professeur	JAMMES Yves	31/08/2019
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2017
M. le Professeur	POITOUT Dominique	31/08/2019
M. le Professeur	SEBAHOUN Gérard	31/08/2017
M. le Professeur	VIALETTE Bernard	31/08/2019

2017

M. le Professeur	ALESSANDRINI Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2018
M. le Professeur	CHAUVEL Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2018
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2018
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2018
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2018
M. le Professeur	SEBBAHOUN Gérard	31/08/2018

2018

M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2021
M. le Professeur	BOUVENOT Gilles	31/08/2019
M. le Professeur	COZZONE Pierre	31/08/2019
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2019
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2019
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2019
M. le Professeur	RIDINGS Bernard	31/08/2021

2019

M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	CAU Pierre	31/08/2020
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2020
M. le Professeur	DELMONT Jean	31/08/2020
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2020
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2020
M. le Professeur	MAGALON Guy	31/08/2020
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2020
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2020
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2020

2020

M. le Professeur	DELPERO Jean-Robert	31/08/2023
M. le Professeur	GRIMAUD Jean-Charles	31/08/2023
M. le Professeur	SAMBUC Roland	31/08/2023
M. le Professeur	SEITZ Jean-François	31/08/2023
M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2021
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2021
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2021
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2021

EMERITAT**2020**

M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2021
M. le Professeur	WEILLER Pierre-Jean	31/08/2021

2021

M. le Professeur	BOUBLI Léon	31/08/2024
M. le Professeur	LEGRE Régis	31/08/2024
M. le Professeur	RAOULT Didier	31/08/2024
M. le Professeur	DELPERO Jean-Robert	31/08/2023
M. le Professeur	GRIMAUD Jean-Charles	31/08/2023
M. le Professeur	SAMBUC Roland	31/08/2023
M. le Professeur	SEITZ Jean-François	31/08/2023
M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2022
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2022
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2022
M. le Professeur	FRANCES Yves	31/08/2022
M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2022
M. le Professeur	BRUNET Christian	31/08/2022
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2022
M. le Professeur	FAVRE Roger	31/08/2022
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2022
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2022
M. le Professeur	OLIVER Charles	31/08/2022

2020**2022**

Mme le Professeur	FIGARELLA-BRANGER Dominique	31/08/2025
M. le Professeur	HARLE Jean-Robert	31/08/2025
M. le Professeur	PANUEL Michel	31/08/2025
M. le Professeur	BOUBLI Léon	31/08/2024
M. le Professeur	LEGRE Régis	31/08/2024
M. le Professeur	RAOULT Didier	31/08/2024
M. le Professeur	DELPERO Jean-Robert	31/08/2023
M. le Professeur	GRIMAUD Jean-Charles	31/08/2023
M. le Professeur	SAMBUC Roland	31/08/2023
M. le Professeur	SEITZ Jean-François	31/08/2023
M. le Professeur	BERLAND Yvon	31/08/2023
M. le Professeur	CHARPIN Denis	31/08/2023
M. le Professeur	CLAVERIE Jean-Michel	31/08/2023
M. le Professeur	BONGRAND Pierre	31/08/2023
M. le Professeur	COZZONE Patrick	31/08/2023
M. le Professeur	FONTES Michel	31/08/2023
M. le Professeur	MARANINCHI Dominique	31/08/2023
M. le Professeur	NAZARIAN Serge	31/08/2023

DOCTEURS HONORIS CAUSA

1967

MM. les Professeurs DADI (Italie)
CID DOS SANTOS (Portugal)

1974

MM. les Professeurs MAC ILWAIN (Grande-Bretagne)
T.A. LAMBO (Suisse)

1975

MM. les Professeurs O. SWENSON (U.S.A.)
Lord J.WALTON of DETCHANT (Grande-Bretagne)

1976

MM. les Professeurs P. FRANCHIMONT (Belgique)
Z.J. BOWERS (U.S.A.)

1977

MM. les Professeurs C. GAJDUSEK-Prix Nobel (U.S.A.)
C.GIBBS (U.S.A.)
J. DACIE (Grande-Bretagne)

1978

M. le Président F. HOUPHOUET-BOIGNY (Côte d'Ivoire)

1980

MM. les Professeurs A. MARGULIS (U.S.A.)
R.D. ADAMS (U.S.A.)

1981

MM. les Professeurs H. RAPPAPORT (U.S.A.)
M. SCHOU (Danemark)
M. AMENT (U.S.A.)
Sir A. HUXLEY (Grande-Bretagne)
S. REFSUM (Norvège)

1982

M. le Professeur W.H. HENDREN (U.S.A.)

1985

MM. les Professeurs S. MASSRY (U.S.A.)
KLINSMANN (R.D.A.)

1986

MM. les Professeurs E. MIHICH (U.S.A.)
T. MUNSAT (U.S.A.)
LIANA BOLIS (Suisse)
L.P. ROWLAND (U.S.A.)

1987

M. le Professeur P.J. DYCK (U.S.A.)

1988

MM. les Professeurs R. BERGUER (U.S.A.)
W.K. ENGEL (U.S.A.)
V. ASKANAS (U.S.A.)
J. WEHSTER KIRKLIN (U.S.A.)
A. DAVIGNON (Canada)
A. BETTARELLO (Brésil)

1989

M. le Professeur P. MUSTACCHI (U.S.A.)

1990		DOCTEURS HONORIS CAUSA
MM. les Professeurs		J.G. MC LEOD (Australie) J. PORTER (U.S.A.)
1991		
MM. les Professeurs		J. Edward MC DADE (U.S.A.) W. BURGDORFER (U.S.A.)
1992		
MM. les Professeurs		H.G. SCHWARZACHER (Autriche) D. CARSON (U.S.A.) T. YAMAMURO (Japon)
1994		
MM. les Professeurs		G. KARPATI (Canada) W.J. KOLFF (U.S.A.)
1995		
MM. les Professeurs		D. WALKER (U.S.A.) M. MULLER (Suisse) V. BONOMINI (Italie)
1997		
MM. les Professeurs		C. DINARELLO (U.S.A.) D. STULBERG (U.S.A.) A. MEIKLE DAVISON (Grande-Bretagne) P.I. BRANEMARK (Suède)
1998		
MM. les Professeurs		O. JARDETSKY (U.S.A.)
1999		
MM. les Professeurs		J. BOTELLA LLUSIA (Espagne) D. COLLEN (Belgique) S. DIMAURO (U. S. A.)
2000		
MM. les Professeurs		D. SPIEGEL (U. S. A.) C. R. CONTI (U.S.A.)
2001		
MM. les Professeurs		P-B. BENNET (U. S. A.) G. HUGUES (Grande Bretagne) J-J. O'CONNOR (Grande Bretagne)
2002		
MM. les Professeurs		M. ABEDI (Canada) K. DAI (Chine)
2003		
M. le Professeur Sir		T. MARRIE (Canada) G.K. RADDI (Grande Bretagne)
2004		
M. le Professeur		M. DAKE (U.S.A.)
2005		
M. le Professeur		L. CAVALLI-SFORZA (U.S.A.)
2006		
M. le Professeur		A. R. CASTANEDA (U.S.A.)
2007		
M. le Professeur		S. KAUFMANN (Allemagne)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert
ALIMI Yves
AMABILE Philippe
AMBROSI Pierre Surnombre
ANDRE Nicolas
ARGENSON Jean-Noël
ASTOUL Philippe
ATTARIAN Shahram
AUDOUIN Bertrand
AUQUIER Pascal
AVIERINOS Jean-François
AZULAY Jean-Philippe
BAILLY Daniel Retraite au 2/11/2022
BARLIER-SETTI Anne
BARLOGIS Vincent
BARTHET Marc
BARTOLI Christophe
BARTOLI Jean-Michel
BARTOLI Michel
BARTOLOMEI Fabrice
BASTIDE Cyrille
BELIARD-LASSERRE Sophie
BENSOUSSAN Laurent
BERBIS Philippe
BERBIS Julie
BERDAH Stéphane
BEROUD Christophe
BERTRAND Baptiste
BERTUCCI François
BEYER-BERJOT Laura
BLAISE Didier
BLIN Olivier
BLONDEL Benjamin
BOISSIER Romain
BONIN/GUILLAUME Sylvie
BONELLO Laurent
BONNET Jean-Louis
BOUFI Mourad
BOYER Laurent
BREGEON Fabienne
BRETTELE Florence
BROUQUI Philippe
BRUDER Nicolas
BRUE Thierry
BRUNET Philippe
BURTEY Stéphane
CARCOPINO-TUSOLI Xavier
CASANOVA Dominique
CASTINETTI Frédéric
CECCALDI Mathieu
CERMOLACCE Michel
CHAGNAUD Christophe
CHAMBOST Hervé
CHAMPSAUR Pierre
CHANEZ Pascal
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle
CHARREL Rémi
CHAUMOITRE Kathia
CHIARONI Jacques
CHINOT Olivier
CHOSSEGROS Cyrille
COLLART Frédéric

COSTELLO Régis
COURBIERE Blandine
CRAVELLO Ludovic
CUISSET Thomas
DA FONSECA David
DAHAN-ALCARAZ Laetitia
DANIEL Laurent
DARMON Patrice
DAUMAS Aurélie
DAVID Thierry
D'ERCOLE Claude
D'JOURNO Xavier
DEHARO Jean-Claude
DELAPORTE Emmanuel
DENIS Danièle Surnombre
DEVILLIER Raynier
DISDIER Patrick
DODDOLI Christophe
DRANCOURT Michel
DUBUS Jean-Christophe
DUFFAUD Florence
DUFOUR Henry
DUSSOL Bertrand
EBBO Mikaël
EUSEBIO Alexandre
FABRE Alexandre
FAKHRY Nicolas
FAURE Alice
FELICIAN Olivier
FENOLLAR Florence
FLECHER Xavier
FOUILLOUX Virginie
FOURNIER Pierre-Edouard
FRANCESCHI Frédéric
FUENTES Stéphane
GABERT Jean
GABORIT Bénédicte
GAINNIER Marc
GARCIA Stéphane disponibilité
GARIBOLDI Vlad
GAUDART Jean
GAUDY-MARQUESTE Caroline
GENTILE Stéphanie
GERBEAUX Patrick
GEROLAMI/SANTANDREA René
GILBERT/ALESSI Marie-Christine
GIORGI Roch
GIOVANNI Antoine
GIRARD Nadine
GIRAUD/CHABROL Brigitte
GONCALVES Anthony
GONZALEZ Jean- Michel
GAILLON Thomas
GRANEL/REY Brigitte
GRANDVAL Philippe
GREILLIER Laurent
GROB Jean-Jacques Retraite au 1/10/2022
GUEDJ Eric
GUIEU Régis
GUIS Sandrine
GUYE Maxime
GUYOT Laurent

HABIB Gilbert
HARDWIGSEN Jean
HOUVENAEGHEL Gilles
HRAIECH Sami
JACQUIER Alexis
JOURDE-CHICHE Noémie
JOUVE Jean-Luc
KAPLANSKI Gilles
KARSENTY Gilles
KERBAUL François détachement
KRAHN Martin
LAFFORGUE Pierre
LAGIER Jean-Christophe
LAMBAUDIE Eric
LANCON Christophe
LA SCOLA Bernard
LAUNAY Franck
LAVIELLE Jean-Pierre
LE CORROLLER Thomas
LECHEVALLIER Eric
LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale
LEONE Marc
LEONETTI Georges
LEPIDI Hubert
LEVY Nicolas disponibilité
LOOSVELD Marie
MACE Loïc
MAGNAN Pierre-Edouard
MANCINI Julien
MEGE Jean-Louis
MERROT Thierry
METZLER/GUILLEMAIN Catherine
MEYER/DUTOUR Anne
MICCALEF/ROLL Joëlle
MICHEL Fabrice
MICHEL Gérard
MICHEL Justin
MICHELET Pierre disponibilité
MILH Mathieu
MILLION Matthieu
MOAL Valérie
MORANGE Pierre-Emmanuel
MOULIN Guy
MOUTARDIER Vincent
NAUDIN Jean
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier
NICOLLAS Richard
NGUYEN Karine
OLIVE Daniel
OLLIVIER Matthieu
OUAFIK L'Houcine
OVAERT-REGGIO Caroline
PADOVANI Laetitia
PAGANELLI Franck
PAPAZIAN Laurent
PAROLA Philippe
PELISSIER-ALICOT Anne-Laure
PELLETIER Jean
PERRIN Jeanne
PESENTI Sébastien
PETIT Philippe
PHAM Thao

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique	ROUDIER Jean	VALERO René
PIQUET Philippe	SALAS Sébastien	VAROQUAUX Arthur Damien
PIRRO Nicolas	SARLON-BARTOLI Gabrielle	VELLY Lionel
POINSO François	SCAVARDA Didier	VEY Norbert
RACCAH Denis	SCHLEINITZ Nicolas	VIDAL Vincent
RADULESCO Thomas	SEBAG Frédéric	VIENS Patrice
RANQUE Stéphane	SIELEZNEFF Igor	VILLANI Patrick
REGIS Jean	SIMON Nicolas	VITON Jean-Michel
REYNAUD/GAUBERT Martine	STEIN Andréas	VITTON Véronique
REYNAUD Rachel	SUISSA Laurent	<i>VIEHWEGER Heide Elke détachement</i>
RICHARD/LALLEMAND Marie-Alet	TAIEB David	VIVIER Eric
RICHERI Raphaëlle	THOMAS Pascal	XERRI Luc
ROCHE Pierre-Hugues	THUNY Franck	ZIELESKIEWICZ Laurent
ROCH Antoine	TOSELLO Barthélémy	
ROCHWERGER Richard	TREBUCHON-DA FONSECA Agnès	
ROLL Patrice	TROPIANO Patrick	
ROSSI Dominique	<i>TSIMARATOS Michel détachement</i>	
ROSSI Pascal	TURRINI Olivier	

PROFESSEUR DES UNIVERSITES

ADALIAN Pascal
AGHABABIAN Valérie
BELIN Pascal
CHABANNON Christian
CHABRIERE Eric
COLSON Sébastien
FERON François
LE COZ Pierre
LEVASSEUR Anthony
RANJEVA Jean-Philippe
SOBOL Hagay

PROFESSEUR CERTIFIE

FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne

PROFESSEUR DES UNIVERSITES ASSOCIE à MI-TEMPS

REVIS Joana

PROFESSEUR DES UNIVERSITES MEDECINE GENERALE

GENTILE Gaëtan

PROFESSEUR ASSOCIE DES UNIVERSITES à MI-TEMPS MEDECINE GENERALE

BARGIER Jacques
JANCZEWSKI Aurélie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES ASSOCIE à TEMPS PLEIN DES DISCIPLINES MEDICALES

BOUSSUGES Alain

PROFESSEUR DES UNIVERSITES ASSOCIE A MI-TEMPS DES DISCIPLINES MEDICALES

BOURVIS Nadège

Secrétariat Général - RH

MAJ 01.09.2022

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AHERFI Sarah	GASTALDI Marguerite	ROBERT Thomas
ANGELAKIS Emmanouil (<i>disponibilité</i>)	GAUDRY Marine	ROMANET Pauline
APPAY Romain	GELSI/BOYER Véronique	SABATIER Renaud
ATLAN Catherine (<i>disponibilité</i>)	GIUSIANO COURCAMBECK Sophie	SARI-MINODIER Irène
BEGE Thierry	GOURIET Frédérique	SAULTIER Paul
BENYAMINE Audrey	GUERIN Carole	SAVEANU Alexandru
BIRNBAUM David	GUENOUN MEYSSIGNAC Daphné	STELLMANN Jan-Patrick
BOBOT Mickael	GUIDON Catherine	SUCHON Pierre
BONINI Francesca	GUIVARCH Jokthan	TABOURET Emeline
BOUCRAUT Joseph	HABERT Paul	TOGA Isabelle
BOULAMERY Audrey	HAUTIER Aurélie	TOMASINI Pascale
BOULLU/CIOCCA Sandrine	IBRAHIM KOSTA Manal	TROUDE Lucas
BOUSSEN Salah Michel	JALOUX Charlotte	TROUSSE Delphine
BUFFAT Christophe	JARROT Pierre-André	TUCHTAN-TORRENTS Lucile
CAMILLERI Serge	KASPI-PEZZOLI Elise	VELY Frédéric
CARRON Romain	L'OLLIVIER Coralie	VENTON Geoffroy
CASSAGNE Carole	LABIT-BOUVIER Corinne	VION-DURY Jean
CHAUDET Hervé	LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina	ZATTARA/CANNONI Héléne
CHRETIEN Anne-Sophie	LAGARDE Stanislas	
COZE Carole	LAGIER Aude (<i>disponibilité</i>)	
CUNY Thomas	LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude	
DADOUN Frédéric (<i>disponibilité</i>)	LAMBERT Isabelle	
DALES Jean-Philippe	LENOIR Marien	
DARIEL Anne	LEVY/MOZZICONACCI Annie	
DEGEORGES/VITTE Joëlle (<i>disponibilité</i>)	MAAROUF Adil	
DEHARO Pierre	MACAGNO Nicolas	
DELLIAUX Stéphane	MALISSEN Nausicaa	
DELTEIL Clémence	MAUES DE PAULA André	
DESPLAT/JEGO Sophie	MEGE Diane	
DUBOURG Grégory	MORAND-HUGGET Aurélie	
DUONSEIL Pauline	MOTTOLA GHIGO Giovanna	
DUFOUR Jean-Charles	NINOVE Laetitia	
ELDIN Carole	NOUGAIREDE Antoine	
FOLETTI Jean- Marc	PAULMYER/LACROIX Odile	
FRANKEL Diane	RESSEGUIER Noémie	
FROMNOT Julien	ROBERT Philippe	

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

(mono-appartenants)

ABU ZAINEH Mohammad	DESNUES Benoît	POGGI Marjorie
BARBACARU/PERLES T. A.	MARANINCHI Marie	RUEL Jérôme
BERLAND Caroline	MERHEJ/CHAUVEAU Vicky	THOLLON Lionel
BOYER Sylvie	MEZOUAR Soraya	THIRION Sylvie
DEGIOANNI/SALLE Anna	MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte retraite au 1/10/2022	VERNA Emeline

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

CASANOVA Ludovic
JEGO SABLIER Maëva

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE à MI-TEMPS

BERNAL Alexis	ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle
FIERLING Thomas	THERY Didier
FORTE Jenny	
MITILIAN Eva	

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE à MI-TEMPS

BOURRIQUEN Maryline
LAZZAROTTO Sébastien
LUCAS Guillaume
MATHIEU Marion
MAYENS-RODRIGUES Sandrine
MELLINAS Marie
MORIN-GALFOUT Sara
ROMAN Christophe

TRINQUET Laure
VILLA Milène

CDI LRU TEMPS PLEIN ECOLE DES SCIENCES ET DE LA READAPTION

FORMATION ERGOTHERAPIE

BLANC Catheline
DESPRES Géraldine
GIRAUDIER Anaïs
PAVE Julien

FORMATION PODOLOGIE

GRIFFON Patricia
PETITJEAN Aurélie

FORMATION ORTHOPTIE

MONTICOLO Chloé

FORMATION MASSO-KINESITHERAPIE

AUTHIER Guillaume
CAORS Béatrice
CHAULLET Karine
ERCOLANO Bruno
HENRY Joannie
HOUDANT Benjamin
MIRAPEIX Sébastien
MULLER Philippe
ROSTAGNO Stéphan

CDD LRU TEMPS PLEIN ECOLE DES SCIENCES INFIRMIERES

CHAYS-AMANIA Audrey

CDD LRU TEMPS PLEIN ANGLAIS

GILSINN Amanda

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

SACHAU-CARCEL Géraldine

CDI LRU ECOLE DE MAÏEUTIQUE

CLADY Emilie
FREMONDIERE Pierre
MATTEO Caroline
MONLEAU Sophie
MUSSARD-HASSLER Pascale
RIQUET Sébastien
ZAKARIAN Carole

PROFESSEURS DES UNIVERSITES et MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS
PROFESSEURS ASSOCIES, MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES mono-appartenants

ANATOMIE 4201

CHAMPSAUR Pierre (PU-PH)
LE CORROLLER Thomas (PU-PH)
PIRRO Nicolas (PU-PH)

GUENOUN-MEYSSIGNAC Daphné (MCU-PH)
LAGIER Aude (MCU-PH) *disponibilité*

THOLLON Lionel (MCF) (60ème section)

ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES 4203

CHARAFE/JAUFFRET Emmanuelle (PU-PH)
DANIEL Laurent (PU-PH)
FIGARELLA/BRANGER Dominique (PU-PH)
GARCIA Stéphane (PU-PH)
XERRI Luc (PU-PH)

APPAY Romain (MCU-PH)
DALES Jean-Philippe (MCU-PH)
GIUSIANO COURCAMBECK Sophie (MCU PH)
LABIT/BOUVIER Corinne (MCU-PH)
MACAGNO Nicolas (MCU-PH)
MAUES DE PAULA André (MCU-PH)

**ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE ;
MEDECINE URGENCE 4801**

BRUDER Nicolas (PU-PH)
LEONE Marc (PU-PH)
MICHEL Fabrice (PU-PH)
VELLY Lionel (PU-PH)
ZIELESKIEWICZ Laurent (PU-PH)

BOUSSEN Salah Michel (MCU-PH)
GUIDON Catherine (MCU-PH)

ANGLAIS 11

FRAISSE-MANGIALOMINI Jeanne (PRCE)

**BIOLOGIE ET MEDECINE DU DEVELOPPEMENT
ET DE LA REPRODUCTION ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5405**

METZLER/GUILLEMAIN Catherine (PU-PH)
PERRIN Jeanne (PU-PH)

ANTHROPOLOGIE 20

ADALIAN Pascal (PR)
DEGIOANNI/SALLE Anna (MCF)
VERNA Emeline (MCF)

SACHAU-CARCEL Géraldine (ATER)

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE 4501

CHARREL Rémi (PU PH)
DRANCOURT Michel (PU-PH)
FENOLLAR Florence (PU-PH)
FOURNIER Pierre-Edouard (PU-PH)
NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier (PU-PH)
LA SCOLA Bernard (PU-PH)

AHERFI Sarah (MCU-PH)
ANGELAKIS Emmanouil (MCU-PH) *disponibilité*
DUBOURG Grégory (MCU-PH)
GOURIET Frédérique (MCU-PH)
NOUGAIREDE Antoine (MCU-PH)
NINOVE Laetitia (MCU-PH)

CHABRIERE Eric (PR) (64ème section)

LEVASSEUR Anthony (PR) (64ème section)
DESNUES Benoit (MCF) (65ème section)
MERHEJ/CHAUVEAU Vicky (MCF) (87ème section)

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE 4401

BARLIER/SETTI Anne (PU-PH)
GABERT Jean (PU-PH)
GUIEU Régis (PU-PH)
OUAFIK L'Houcine (PU-PH)

BUFFAT Christophe (MCU-PH)
FROMNOT Julien (MCU-PH)
MARLINGE Marion (MCU-PH)
MOTTOLA GHIGO Giovanna (MCU-PH)
ROMANET Pauline (MCU-PH)
SAVEANU Alexandru (MCU-PH)

BIOLOGIE CELLULAIRE 4403

ROLL Patrice (PU-PH)

FRANKEL Diane (MCU-PH)
GASTALDI Marguerite (MCU-PH)
KASPI-PEZZOLI Elise (MCU-PH)
LEVY-MOZZICONNACCI Annie (MCU-PH)

GUEDJ Eric (PU-PH)
 GUYE Maxime (PU-PH)
 TAIEB David (PU-PH)

BELIN Pascal (PR) (69ème section)
 RANJEVA Jean-Philippe (PR) (69ème section)

CAMMILLERI Serge (MCU-PH)
 VION-DURY Jean (MCU-PH)

BARBACARU/PERLES Téodora Adriana (MCF) (69ème section)

**BIostatistiques, Informatique Médicale
 ET Technologies de Communication 4604**

GAUDART Jean (PU-PH)
 GIORGI Roch (PU-PH)
 MANCINI Julien (PU-PH)

CHAUDET Hervé (MCU-PH)
 DUFOUR Jean-Charles (MCU-PH)

ABU ZAINEH Mohammad (MCF) (5ème section)
 BOYER Sylvie (MCF) (5ème section)

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE 5002

ARGENSON Jean-Noël (PU-PH)
 BLONDEL Benjamin (PU-PH)
 FLECHER Xavier (PU PH)
 OLLIVIER Matthieu (PU-PH)
 ROCHWERGER Richard (PU-PH)
 TROPIANO Patrick (PU-PH)

CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE 4702

BERTUCCI François (PU-PH)
 CHINOT Olivier (PU-PH)
 DUFFAUD Florence (PU-PH)
 GONCALVES Anthony (PU-PH)
 HOUVENAEGHEL Gilles (PU-PH)
 LAMBAUDIE Eric (PU-PH)
 PADOVANI Laetitia (PH-PH)
 SALAS Sébastien (PU-PH)
 VIENS Patrice (PU-PH)

SABATIER Renaud (MCU-PH)
 TABOURET Emeline (MCU-PH)

AVIERINOS Jean-François (PU-PH)
 BONELLO Laurent (PU PH)
 BONNET Jean-Louis (PU-PH)
 CUISSET Thomas (PU-PH)
 DEHARO Jean-Claude (PU-PH)
 FRANCESCHI Frédéric (PU-PH)
 HABIB Gilbert (PU-PH)
 PAGANELLI Franck (PU-PH)
 THUNY Franck (PU-PH)

DEHARO Pierre (MCU PH)

CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE 5202

BERDAH Stéphane (PU-PH)
 BEYER-BERJOT Laura (PU-PH)
 HARDWIGSEN Jean (PU-PH)
 MOUTARDIER Vincent (PU-PH)
 SEBAG Frédéric (PU-PH)
 SIELEZNEFF Igor (PU-PH)
 TURRINI Olivier (PU-PH)

BEGE Thierry (MCU-PH)
 BIRNBAUM David (MCU-PH)
 DUONSEIL Pauline (MCU-PH)
 GUERIN Carole (MCU PH)
 MEGE Diane (MCU-PH)

CHIRURGIE INFANTILE 5402

FAURE Alice (PU PH)
 JOUVE Jean-Luc (PU-PH)
 LAUNAY Franck (PU-PH)
 MERROT Thierry (PU-PH)
 PESENTI Sébastien (PU-PH)
 VIEHWEGER Heide Elke (PU-PH) *détachement*

DARIEL Anne (MCU-PH)

CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE 5503

CHOSSEGROS Cyrille (PU-PH)
 GUYOT Laurent (PU-PH)

FOLETTI Jean-Marc (MCU-PH)

CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE 5103

COLLART Frédéric (PU-PH)
D'JOURNO Xavier (PU-PH)
DODDOLI Christophe (PU-PH)
FOUILLOUX Virginie (PU-PH)
GARIBOLDI Vlad (PU-PH)
MACE Loïc (PU-PH)
THOMAS Pascal (PU-PH)

LENOIR Marien (MCU-PH)
TROUSSE Delphine (MCU-PH)

**CHIRURGIE PLASTIQUE,
RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE ; BRÛLOGIE 5004**

BERTRAND Baptiste (PU-PH)
CASANOVA Dominique (PU-PH)

HAUTIER Aurélie (MCU-PH)
JALOUX Charlotte (MCU PH)

CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE 5104

ALIMI Yves (PU-PH)
AMABILE Philippe (PU-PH)
BARTOLI Michel (PU-PH)
BOUFI Mourad (PU-PH)
MAGNAN Pierre-Edouard (PU-PH)
PIQUET Philippe (PU-PH)
SARLON-BARTOLI Gabrielle (PU PH)

GAUDRY Marine (MCU PH)

GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE ; ADDICTOLOGIE 5201

BARTHET Marc (PU-PH)
DAHAN-ALCARAZ Laetitia (PU-PH)
GEROLAMI-SANTANDREA René (PU-PH)
GONZALEZ Jean-Michel (PU-PH)
GRANDVAL Philippe (PU-PH)
VITTON Véronique (PU-PH)

HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE 4202

LEPIDI Hubert (PU-PH)

PAULMYER/LACROIX Odile (MCU-PH)

DERMATOLOGIE - VENEREOLOGIE 5003

BERBIS Philippe (PU-PH)
DELAPORTE Emmanuel (PU-PH)
GAUDY/MARQUESTE Caroline (PU-PH)
GROB Jean-Jacques (PU-PH) Retraite au 1/10/2022
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth (PU-PH)

MALISSEN Nausicaa (MCU-PH)

GENETIQUE 4704

BEROUD Christophe (PU-PH)
KRAHN Martin (PU-PH)
LEVY Nicolas (PU-PH) Disponibilité
NGYUEN Karine (PU-PH)

ZATTARA/CANNONI Hélène (MCU-PH)

GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE ; GYNECOLOGIE MEDICALE 5403

AGOSTINI Aubert (PU-PH)
BRETELLE Florence (PU-PH)
CARCOPINO-TUSOLI Xavier (PU-PH)
COURBIERE Blandine (PU-PH)
CRAVELLO Ludovic (PU-PH)
D'ERCOLE Claude (PU-PH)

**ENDOCRINOLOGIE ,DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES ;
GYNECOLOGIE MEDICALE 5404**

BRUE Thierry (PU-PH)
CASTINETTI Frédéric (PU-PH)

CUNY Thomas (MCU PH)

AUQUIER Pascal (PU-PH)
 BERBIS Julie (PU-PH)
 BOYER Laurent (PU-PH)
 GENTILE Stéphanie (PU-PH)

LAGOUANELLE/SIMEONI Marie-Claude (MCU-PH)
 RESSEGUIER Noémie (MCU-PH)

MINVIELLE/DEVICTOR Bénédicte (MCF) Retraite au 1/10/2022

IMMUNOLOGIE 4703

KAPLANSKI Gilles (PU-PH)
 MEGE Jean-Louis (PU-PH)
 OLIVE Daniel (PU-PH)
 VIVIER Eric (PU-PH)

FERON François (PR) (69ème section)

BOUCRAUT Joseph (MCU-PH)
 CHRETIEN Anne-Sophie (MCU PH)
 DEGEORGES/VITTE Joëlle (MCU-PH)
 DESPLAT/JEGO Sophie (MCU-PH)
 JARROT Pierre-André (MCU PH)
 ROBERT Philippe (MCU-PH)
 VELY Frédéric (MCU-PH)

MALADIES INFECTIEUSES ; MALADIES TROPICALES 4503

BROUQUI Philippe (PU-PH)
 LAGIER Jean-Christophe (PU-PH)
 MILLION Matthieu (PU-PH)
 PAROLA Philippe (PU-PH)
 STEIN Andréas (PU-PH)

ELDIN Carole (MCU-PH)

MEDECINE D'URGENCE 4805

GERBEAUX Patrick (PU PH)
KERBAUL François (PU-PH) détachement
MICHELET Pierre (PU-PH) Disponibilité

MEDECINE INTERNE ; GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT ; ADDICTOLOGIE 5301

BONIN/GUILLAUME Sylvie (PU-PH)
 DISDIER Patrick (PU-PH)
 EBBO Mikael (PU-PH)
 GRANEL/REY Brigitte (PU-PH)
 ROSSI Pascal (PU-PH)
 SCHLEINITZ Nicolas (PU-PH)

BENYAMINE Audrey (MCU-PH)

BLAISE Didier (PU-PH)
 COSTELLO Régis (PU-PH)
 CHIARONI Jacques (PU-PH)
 DEVILLIER Raynier (PU PH)
 GILBERT/ALESSI Marie-Christine (PU-PH)
 LOOSVELD Marie (PU-PH)
 MORANGE Pierre-Emmanuel (PU-PH)
 VEY Norbert (PU-PH)

GELSI/BOYER Véronique (MCU-PH)
 IBRAHIM KOSTA Manal (MCU PH)
 LAFAGE/POCHITALOFF-HUVALE Marina (MCU-PH)
 SUCHON Pierre (MCU-PH)
 VENTON (MCU-PH)

POGGI Marjorie (MCF) (64ème section)

MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE 4603

BARTOLI Christophe (PU-PH)
 LEONETTI Georges (PU-PH)
 PELISSIER-ALICOT Anne-Laure (PU-PH)
 PIERCECCHI-MARTI Marie-Dominique (PU-PH)

DELTEIL Clémence (MCU PH)
 TUCHTAN-TORRENTS Lucile (MCU-PH)

BERLAND Caroline (MCF) (1ère section)

MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION 4905

BENSOUSSAN Laurent (PU-PH)
 VITON Jean-Michel (PU-PH)

MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL 4602

LEHUCHER/MICHEL Marie-Pascale (PU-PH)

SARI/MINODIER Irène (MCU-PH)

MEDECINE GENERALE 5303

GENTILE Gaëtan (PR Méd. Gén. Temps plein)

BARGIER Jacques (PR associé Méd. Gén. À mi-temps)

JANCZEWSKI Aurélie (PR associé Méd. Gén. À mi-temps)

CASANOVA Ludovic (MCF Méd. Gén. Temps plein)

JEGO SABLIER Maëva (MCF Méd. Gén. Temps plein)

BERNAL Alexis (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

FIERLING Thomas (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

FORTE Jenny (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

MITILIAN Eva (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

ROUSSEAU-DURAND Raphaëlle (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps)

THERY Didier (MCF associé Méd. Gén. À mi-temps) (nomination au 1/10/2019)

NUTRITION 4404

BELIARD Sophie (PU-PH)

DARMON Patrice (PU-PH)

RACCAH Denis (PU-PH)

VALERO René (PU-PH)

ATLAN Catherine (MCU-PH) disponibilité

MARANINCHI Marie (MCF) (66ème section)

ONCOLOGIE 65 (BIOLOGIE CELLULAIRE)

CHABANNON Christian (PR) (66ème section)

SOBOL Hagay (PR) (65ème section)

MEZOUAR Soraya (65ème section)

OPHTALMOLOGIE 5502

DAVID Thierry (PU-PH)

*DENIS Danièle (PU-PH) Surnombre***OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE 5501**

DESSI Patrick (PU-PH)

FAKHRY Nicolas (PU-PH)

GIOVANNI Antoine (PU-PH)

LAVIEILLE Jean-Pierre (PU-PH)

MICHEL Justin (PU-PH)

NICOLLAS Richard (PU-PH)

RADULESCO Thomas (PU-PH)

NEPHROLOGIE 5203

BRUNET Philippe (PU-PH)

BURTEY Stéphanie (PU-PH)

DUSSOL Bertrand (PU-PH)

JOURDE CHICHE Noémie (PU PH)

MOAL Valérie (PU-PH)

BOBOT Mickael (MCU-PH)

ROBERT Thomas (MCU-PH)

NEUROCHIRURGIE 4902

DUFOUR Henry (PU-PH)

FUENTES Stéphane (PU-PH)

GRAILLON Thomas (PU PH)

REGIS Jean (PU-PH)

ROCHE Pierre-Hugues (PU-PH)

SCAVARDA Didier (PU-PH)

CARRON Romain (MCU PH)

TROUDE Lucas (MCU-PH)

NEUROLOGIE 4901

ATTARIAN Sharham (PU PH)

AUDOIN Bertrand (PU-PH)

AZULAY Jean-Philippe (PU-PH)

CECCALDI Mathieu (PU-PH)

EUSEBIO Alexandre (PU-PH)

FELICIAN Olivier (PU-PH)

PELLETIER Jean (PU-PH)

SUISSA Laurent (PU-PH)

MAAROUF Adil (MCU-PH)

PEDOPSYCHIATRIE; ADDICTOLOGIE 4904

DA FONSECA David (PU-PH)

POINSO François (PU-PH)

BOURVIS Nadège (PR associée)

GUIVARCH Jokthan (MCU-PH)

**PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE -
PHARMACOLOGIE CLINIQUE; ADDICTOLOGIE 4803**

BLIN Olivier (PU-PH)

MICALLEF/ROLL Joëlle (PU-PH)

SIMON Nicolas (PU-PH)

BOULAMERY Audrey (MCU-PH)

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE 4502

RANQUE Stéphane (PU-PH)

CASSAGNE Carole (MCU-PH)

L'OLLIVIER Coralie (MCU-PH)

TOGA Isabelle (MCU-PH)

PHILOSOPHIE 17

LE COZ Pierre (PR) (17ème section)

MATHIEU Marion (MAST)

PEDIATRIE 5401

ANDRE Nicolas (PU-PH)

BARLOGIS Vincent (PU-PH)

CHAMBOST Hervé (PU-PH)

DUBUS Jean-Christophe (PU-PH)

FABRE Alexandre (PU-PH)

GIRAUD/CHABROL Brigitte (PU-PH)

MICHEL Gérard (PU-PH)

MILH Mathieu (PU-PH)

OVAERT-REGGIO Caroline (PU-PH)

REYNAUD Rachel (PU-PH)

TOSELLO Barthélémy (PU-PH)

TSIMARATOS Michel (PU-PH)

COZE Carole (MCU-PH)

MORAND-HUGGET Aurélie (MCU-PH)

SAULTIER Paul (MCU-PH)

PHYSIOLOGIE 4402

BARTOLOMEI Fabrice (PU-PH)

BREGEON Fabienne (PU-PH)

GABORIT Bénédicte (PU-PH)

MEYER/DUTOUR Anne (PU-PH)

TREBUCHON/DA FONSECA Agnès (PU-PH)

BOUSSUGES Alain (PR associé à temps plein)

BONINI Francesca (MCU-PH)

BOULLU/CIOCCA Sandrine (MCU-PH)

DADOUN Frédéric (MCU-PH) (disponibilité)

DELLIAUX Stéphane (MCU-PH)

LAGARDE Stanislas (MCU-PH)

LAMBERT Isabelle (MCU-PH)

RUEL Jérôme (MCF) (69ème section)

THIRION Sylvie (MCF) (66ème section)

PSYCHIATRIE D'ADULTES ; ADDICTOLOGIE 4903*BAILLY Daniel (PU-PH) Retraite au 2/11/2022*

CERMOLACCE Michel (PU-PH)

LANCON Christophe (PU-PH)

NAUDIN Jean (PU-PH)

RICHIERI Raphaëlle (PU-PH)

PNEUMOLOGIE; ADDICTOLOGIE 5101

ASTOUL Philippe (PU-PH)

CHANEZ Pascal (PU-PH)

GREILLIER Laurent (PU PH)

REYNAUD/GAUBERT Martine (PU-PH)

TOMASINI Pascale (MCU-PH)

PSYCHOLOGIE - PSYCHOLOGIE CLINIQUE, PCYCHOLOGIE SOCIALE 16

AGHABABIAN Valérie (PR)

RHUMATOLOGIE 5001**RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE 4302**

BARTOLI Jean-Michel (PU-PH)

CHAGNAUD Christophe (PU-PH)

CHAUMOITRE Kathia (PU-PH)

GIRARD Nadine (PU-PH)

JACQUIER Alexis (PU-PH)

MOULIN Guy (PU-PH)

PETIT Philippe (PU-PH)

VAROQUAUX Arthur Damien (PU-PH)

VIDAL Vincent (PU-PH)

HABERT Paul (MCU PH)

STELLMANN Jan-Patrick (MCU-PH)

GUIS Sandrine (PU-PH)

LAFFORGUE Pierre (PU-PH)

PHAM Thao (PU-PH)

ROUDIER Jean (PU-PH)

THERAPEUTIQUE; MEDECINE D'URGENCE; ADDICTOLOGIE 4804*AMBROSI Pierre (PU-PH) Sumombre*

DAUMAS Aurélie (PU-PH)

VILLANI Patrick (PU-PH)

REANIMATION MEDICALE ; MEDECINE URGENCE 4802

GAINNIER Marc (PU-PH)
 HRAIECH Sami (PU-PH)
 PAPAZIAN Laurent (PU-PH)
 ROCH Antoine (PU-PH)

UROLOGIE 5204

BASTIDE Cyrille (PU-PH)
 BOISSIER Romain (PU-PH)
 KARSENTY Gilles (PU-PH)
 LECHEVALLIER Eric (PU-PH)
 ROSSI Dominique (PU-PH)

SCIENCES DE LA REEDUCATION ET READAPTATION 91

REVIS Joana (PAST)

AUTHIER Guillaume
 BLANC Catheline
 CAORS Béatrice
 CHAULLET Karine
 ERCOLANO Bruno
 GRIFFON Patricia
 GIRAUDIER Anaïs
 GRIFFON Patricia
 HENRY Joannie
 HOUDANT Benjamin
 MIRAPEIX Sébastien
 MONTICOLO Chloé
 MULLER Philippe
 PAVE Julien
 PETITJEAN Aurélie
 ROSTAGNO Stéphane

LAZZAROTTO Sébastien (MAST)
 TRINQUET Laure (MAST)

MAÏEUTIQUE 90

CLADY Emilie
 FREMONDIERE Pierre
 MATTEO Caroline
 MONLEAU Sophie
 MUSSARD-HASSLER Pascale
 REPELLIN David
 RIQUET Sébastien
 ZAKARIAN Carole

SCIENCES INFIRMIERES 92

COLSON Sébastien (PR)

BOURRIQUEN Maryline (MAST)
 LUCAS Guillaume (MAST)
 MAYEN-RODRIGUES Sandrine (MAST)
 MELLINAS Marie (MAST)
 ROMAN Christophe (MAST)
 VILLA Milène (MAST)

ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE ET ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE 56-01

CAMOIN Ariane (MCU-PH)
 GAUBERT Jacques (MCU-PH)

BLANCHET Isabelle (MCF ASS)

CHIRURGIE ORALE; PARODONTOLOGIE; BIOLOGIE ORALE 57-01

MONNET-CORTI Virginie (PU-PH)

CAMPANA Fabrice (MCU-PH)
 CATHERINE Jean-Hugues (MCU-PH)

ANTEZACK Angéline (MCU-PH)

PREVENTION, EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE, ODONTOLOGIE LEGALE 56-02

FOTI Bruno (PU-PH)
 LE GALL Michel (PU-PH)

LAN Romain (MCU-PH)

DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESES, FONCTION-DYSFONCTION, IMAGERIE, BIOMATERIAUX 58-01

TERRER Elodie (PU-PH)

ABOUDHARAM Gérard (MCU-PH)
 GIRAUD Thomas (MCU-PH)
 GIRAudeau Anne (MCU-PH)
 GUIVARC'H Maud (MCU-PH)
 JACQUOT Bruno (MCU-PH)
 LABORDE Gilles (MCU-PH)
 LAURENT Michel (MCU-PH)
 MAILLE Gérald (MCU-PH)

MENSE Chloé (MCU-PH)
 SILVESTRI Frédéric (MCU-PH)

BALLESTER Benoît (MCF ASS)
 CASAZZA Estelle (MCF ASS)

Remerciements :

Aux membres du jury :

Monsieur le Professeur Pascal CHANEZ :

Je vous remercie pour votre soutien constant et de me donner l'envie de viser toujours plus haut. Vous donnez le sentiment que tout est possible. Votre vision de la médecine est une source d'inspiration continue. Vous faites preuve d'un dévouement sans faille envers vos étudiants, je vous suis très reconnaissante.

Monsieur le Docteur Philippe ROBERT :

Avec qui ma passion pour la recherche s'est est devenu une évidence, tu es à l'origine de tout ce projet, ta gentillesse et ta tolérance sont impressionnantes. Je te remercie d'avoir influencé mon parcours et de m'avoir ouvert les yeux sur les possibilités qu'offre la recherche. C'est un réel plaisir de travailler avec toi.

Madame le Docteur Marion GOUITAA :

A une femme impressionnante, aux qualités humaines et aux compétences médicales toujours plus surprenantes. Tu es une source de savoir et d'inspiration. Merci de m'accorder ta confiance et ton respect. Il me tarde de travailler à tes côtés !

Madame le Docteur Nausicaa MALISSEN :

Un grand merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Ton parcours est impressionnant et est une source d'inspiration pour chacun. Merci pour la bienveillance dont tu fais preuve.

Au Dr Benoit STERLING :

Membre non officiel de mon jury, qui a activement participé à ce travail de thèse. J'admire tes capacités à penser à contre-courant, c'est pour moi une vraie source d'inspiration. J'admire tes connaissances et tes compétences. Merci pour tes réflexions constructives et pour tes bons conseils. Tu fais partie des personnes sur qui on peut compter.

A mon seul et mon unique depuis toujours...

Cette thèse te revient de droit, toi qui as tout partagé de ma vie et qui as sacrifié tant de choses pour moi...

Je te remercie de t'être battu à mes côtés tout au long de notre cursus et de continuer à le faire.

Je te remercie de vouloir mon bonheur, d'être gentil et bienveillant, d'être un père investi et un mari attentionné. Tu es si brillant et inspirant.

Avec toi je me sens entière, je suis incroyablement chanceuse de t'avoir.

Alors même si les mots ne suffisent pas je te les dis quand même...

A Naomi, mon aînée, ma fille chérie, que tu puisses toujours être heureuse et en bonne santé, je suis si fière et honorée d'être ta maman, je t'aime jusqu'à l'intégrale de l'infini.

A mon David Sander, mon petit pot de colle, tu nous émerveilles un peu plus chaque jour. Tu es un petit garçon plein d'humour et de surprises, que tu puisses toujours être en pleine forme et en bonne santé. Je t'aime très fort.

Et à ceux qui nous rejoindrons, on vous aime déjà !

A mes parents, qui m'ont élevé et chéri, merci m'avoir soutenu dans mes débuts et de m'avoir fait grandir dans la conviction que tout est réalisable quand on le veut.

A mes frères et sœurs à qui je souhaite tout le meilleurs et en particulier à mes sœurs Braha et Sarah qui n'ont jamais cessé de me soutenir.

A mes neveux, nièces, mes oncles tantes, cousins et cousines.

A mes beaux-parents qui m'ont activement soutenu pendant toutes mes études, je vous remercie pour vos encouragements et votre bienveillance.

A mes beaux-frères et belles sœurs témoins de toutes ces années, merci pour votre soutien et vos encouragements !

A mes neveux et nièces et en particulier Anaëlle et Haya.

A mes grands-parents qui regarde la partie de là-haut, j'espère vous rendre fière !

A mes plus proches amies, celles qu'on ne rencontre qu'une fois dans sa vie,
Cheina, qui a partagé toute mon enfance et mon adolescence,
Léa, ma binome pour l'éternité mon autre moitié,
Eve, une sœur que j'ai trouvée sur le champs de bataille, une envoyée des cieux, à nos années de combats, le pire est derrière nous (j'espère !),
Shyrel, une amie fidèle, une boussole pour ma vie de tous les jours, j'aime ta droiture et ton authenticité, une personne sur qui je peux compter,
Anaele et Emma mes sœurs d'adoption parisiennes, vous me manquez énormément.

A nos fidèles amis les Ceddaha, présent dans les moments durs comme heureux, on espère pouvoir vous revoir bientôt.

A la team Bichat-Larib, et en particulier à Jess et Yohan, Julia, Rebecca,

A tous ceux que j'ai pu croiser durant l'internat,

A Sandrine et Amandine notre trio de l'HDJ, et à notre petit village d'IDE bien trop drôles !

A Farid le best co-interne ta compagnie me manque beaucoup et le tea time avec Nathan !

Au dermato de la Timone, un de mes meilleurs stages,

A l'équipe de pneumo-allergo de choc, Céline, Faiza, Safa, Adrien, Eva. A Hélène et Audrey mes infs préférées de Nord,

Aux jeunes allergos marseillais, Anna, Constance, Aurore, Loic, Amira et ceux qui nous rejoindrons !

Aux super IDE de l'HDJ de pneumo-allergo,

A La super équipe du CIC, avec à sa tête le Dr Laurie Pahun,

A Émilie et Armelle mes infs préférées de la Timone,

A Camille et Patricia les super techs,

Au bios du BGP si sympathiques, Cléa, Yassinah, Maxime, Lucas, Maelle, Sarah, Xavier.

Au Dr Séverine Fernandez une super rencontre, un médecin et une femme géniale !

Merci au Bon D... et au Rabbi!

Table des matières :

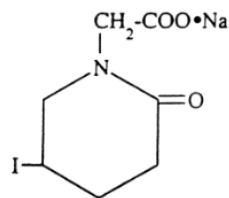
Partie I : Introduction	2
I- Histoire des produits de contraste iodés	3
II- Classification des PCI.....	5
III- Données épidémiologiques	8
IV- Pharmacocinétique des PCI.....	9
V- Effets indésirables des PCI.....	9
VI- Prise en charge des réactions retardées aux PCI.....	14
Partie II : Revue de la littérature.....	16
Partie III : Projet.....	34
I- Résumé du projet de recherche.....	36
II- Introduction et justification de la recherche.....	41
III- Données de littérature et prérequis	42
IV – Objectifs de la recherche	48
V– Plan expérimental	49
(a) Choix du plan expérimental et justification.....	49
(b) Mode de recrutement.....	49
(c) Justification du bénéfice/risque attendu.....	49
(d) Nombre de sujets nécessaires	50
(e) Critères d’inclusion.....	50
(f) Critères de non-inclusion.....	51
(g) Durée d’inclusion par personne	51
(h) Période d’inclusion.....	51
VI– Schéma et conduite de la recherche	52
(a) Suivi des patients (flow-chart)	52
1- Chronologie et contenu des visites	52
2- Actes, examens et prélèvements	53
3- Lieu de réalisation des examens, des prélèvements et des dosages.....	53
(b) Durée totale prévisionnelle de la recherche	54

VII- Critères d'évaluation : variables mesurées et méthodologie	54
VIII- Gestion des données et statistiques.....	56
1- Gestion des données.....	56
2- Analyses statistiques	56
IX- Gestion des événements indésirables graves (EIG)	57
X- Aspects légaux et éthiques	57
Partie IV : Partie expérimentale.....	58
I- Préparation des PBMC.....	59
II- Test ELISpot	61
III- Premières manipulations.....	66
Partie V : Conclusion.....	67
Références bibliographiques.....	69
Abréviations.....	74

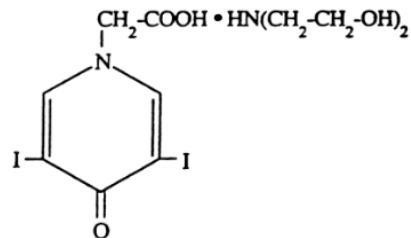
PARTIE I : Introduction

I- Histoire des produits de contraste iodés

Les produits de contrastes radiologiques sont apparus à la fin du 19^e siècle. L'objectif était d'augmenter le contraste radiologique des tissus. Les premiers agents de contraste utilisés sur cadavre étaient le Bismuth, le plomb et les sels de Baryum. Ces agents étant trop toxiques pour pouvoir être utilisés chez l'homme, il a fallu plusieurs années avant de mettre au point un agent de contraste aux propriétés physico-chimiques adaptées aux conditions humaines. C'est dans les années 1920 que Osborne et al.(1) ont observé que les patients traités pour une syphilis avec des produits contenant de l'iode, avaient des urines radio opaques. Les agents iodés ont été communément reconnus comme ayant un profil de sécurité assez acceptable pour être utilisé comme agent opacifiant. Leurs propriétés ont été retravaillées pour réduire la toxicité et c'est en 1923 que les travaux de Binz et Rath vont donner naissance aux agents de contraste de première génération, dérivés des iodopyridones : l'Uroselectan et le Diodrast.



Uroselectan



Diodrast

Dans les années 1930, les travaux du chimiste Wallingford (2) ont permis la synthèse du premier agent de contraste moderne avec un cycle à 6 carbones et contenant 3 atomes d'iodes augmentant ainsi le pouvoir contrastant. L'acétrizoate injecté en intraartériel provoquait cependant d'importantes douleurs en rapport avec la viscosité et le caractère ionique. Les propriétés de l'acétrizoate ont été retravaillées et au début des années 1960, le iothalamate a été commercialisé sous le nom de Gastrograffine.

Par la suite, les propriétés des agents de contrastes iodés ont été constamment modifiées afin d'améliorer leur profil de sécurité.(3)

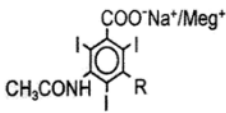
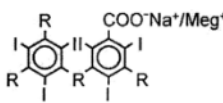

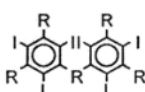
	1950s	3ème génération	Monomère ionique	Hyper osmolaire	Radioselectan (Diatrizoate) Telebrix (<u>loxithalamate</u>)
	1980s	5ème génération	Dimère ionique	Basse osmolalité	ioxaglate (Hexabrix)
	1980s	6ème génération	Monomère non ionique	Basse osmolalité	· lobitridol Xenetix · lomeprol lomeron · lohexol Omnipaque · · lopentol Ivæepaque · lopamidol Iopamiron · · Iopromide Ultravist · · Ioversol Optiray
	1990s	7ème génération	Dimère Non Ionique	Iso-osmolaire	Iodixanol Visipaque

Table 1 : Évolution des PCI depuis les années 1950

II- Classification des PCI

On distingue aujourd'hui deux types de PCI en fonction de leur osmolalité :

- Les PCI dits classiques ou PCI de haute osmolalité : ce sont des monomères (1 seul cycle benzénique) ioniques, c'est-à dire associés à un cation sodium ou à la méglumine (excipient pharmaceutique). En milieu aqueux, ces PCI se dissocient en deux particules, le cycle benzénique d'une part et, d'autre part, le cation, ce qui double leur osmolalité. Pour atteindre une opacification efficace, il faut environ 300 mg d'iode/mL, et une osmolalité d'environ 5 à 6 fois supérieure (1530 mosm/kg à 1860 mosm/kg) à celle du sang circulant (environ 300 mosm/kg)(4).

- Les PCI dits de nouvelle génération ou de basse osmolalité ont une osmolalité identique ou au plus 2 fois supérieure à celle du sang. Il peut s'agir de monomères non ioniques, ne nécessitant plus la présence du cation sodium, ou de dimères ioniques (2 cycles benzéniques reliés ensemble, chacun portant 3 atomes d'iode) ce qui double la

quantité d'iode par molécule par rapport aux PCI de haute osmolalité. Ces PCI entraînent moins d'effets indésirables liés à l'osmolalité par rapport aux PCI classiques.(5)

Trade names	Non-proprietary names and composition g/100 mL		Iodine concentration (mg/mL)	Viscosity at 37°C mPa.s	Osmolality at 37°C (mOsm/kg water)
Radioselectan™ 76%	Aminotrizoate sodium Aminotrizoate meglumin	10.00 66.00	146	1.4	710
Telebrix™ 35	Ioxitalamate sodium Ioxitalamate meglumin	9.66 65.09	350	7.5	2,130
30	Ioxitalamate meglumin	66.03	300	5.2	1,710
12	Ioxitalamate sodium	21.80	120	1.1	640

Table 2-A : Composition, concentration d'iode, viscosité et osmolalité des PCI de haute osmolalité

Trade names	Non-proprietary names and composition g/100 mL		Iodine concentration (mg/mL)	Viscosity at 37°C mPa.s	Osmolality at 37°C (mOsm/kg water)	
Iomeron™	150	Iomeprol	30.60	150	1.4	301
	200	Iomeprol	40.80	200	2.0	362
	250	Iomeprol	51.00	250	2.9	435
	300	Iomeprol	61.20	300	4.5	521
	350	Iomeprol	71.40	350	7.5	618
	400	Iomeprol	81.60	400	12.6	726
Iopamiron™	200	Iopamidol	40.83	200	2.2	413
	300	Iopamidol	61.24	300	4.7	616
	370	Iopamidol	75.52	350	9.4	796
Ivepaque™	150	Iopentol	32.90	150	1.7	310
	200	Iopentol	43.80	200	2.8	410
	250	Iopentol	54.80	250	3.9	520
	300	Iopentol	65.80	300	6.5	640
	350	Iopentol	76.80	350	12.0	810
Optiject™	240	Ioversol	50.90	240	3.0	500
Optitray™	300	Ioversol	63.60	300	5.5	645
	350	Ioversol	74.00	350	9.0	780
Omnipaque™	180	Iohexol	38.8	180	2.0	360
	240	Iohexol	51.8	240	3.3	510
	300	Iohexol	64.7	300	6.1	640
	350	Iohexol	75.5	350	10.6	780
Ultravist™	300	Iopromide	63.34	300	4.6	607
	370	Iopromide	76.90	370	9.5	774
Xenetix™	250	Iobridol	58.84	250	4.0	585
	300	Iobridol	65.81	300	6.0	695
	350	Iobridol	76.78	350	10.0	915

Table 2-B : Composition, concentration d'iode, viscosité et osmolalité des PCI de tri-iodé de basse osmolalité

Trade names	Non-proprietary names and composition g/100 mL		Iodine concentration (mg/mL)	Viscosity at 37°C mPa.s	Osmolality at 37°C (mOsm/kg water)	
Visipaque™	270	Iodixanol	55.0	270	5.8	290
	320	Iodixanol	65.2	320	11.4	290
Hexabrix™	200	Ioxaglate sodium	12.27	200	2.2	370
		Ioxaglate meglumine	24.54			
320		Ioxaglate sodium	19.65	320	7.5	600
		Ioxaglate meglumine	39.30			

Table 2-C : Composition, concentration d'iode, viscosité et osmolalité des PCI hexa-iodé de basse osmolalité

Table 2 : Caractéristiques des PCI (6)

III- Données épidémiologiques

Le nombre de PCI injectés à l'année est estimé à 75 millions par an dans le monde (7) et 2 millions par an en France. La réalisation d'examens tomodensitométriques augmente de 10% tous les ans. En 2019, environ 54,4 millions d'examens d'imagerie injectée avec PCI ont été réalisés aux États-Unis(8). L'utilisation de PCI représente un marché mondial de 4 milliards de dollars.

La prévalence des réactions mineures d'hypersensibilité au PCI s'élève jusqu'à 15 % pour les patients recevant des PCI de haute osmolalité et 3 % pour les patients recevant des PCI de basse osmolalité. Des effets indésirables graves ont été rapportés dans 0,04 % à 0,22 % des injections intraveineuses, tandis que les réactions aux PCI non ioniques sont moins fréquentes : 0 à 0,04 %. De plus, les réactions observées avec les PCI non ioniques sont généralement moins sévères que celles observées avec les PCI ioniques, 3,1 % contre 12,7 %. En comparaison, la fréquence des réactions retardées varie de 0,5 % à 23,0 % (6).

Les PCI de basse osmolalité sont les plus utilisés. Dans la base de données KAERS (Korea Adverse Event Reporting System) 43,623 cas d'évènements indésirables liés à l'utilisation de PCI ont été rapportés de janvier 2014 à décembre 2016. On notait une augmentation de la prévalence statistiquement significative chez les femmes (52%) et une prévalence augmentée chez les patients âgés entre 51 et 60 ans (31%). Il y avait 88,6% d'hypersensibilité immédiate (HSI) et 11,8% d'hypersensibilité retardée (HSR). La symptomatologie prédominante était l'urticaire (47%) dans les HSI et l'exanthème maculopapuleux (88%) dans les HSR. Le iopamidol et le ioversol étaient les PCI les plus injectés tandis que le iodixanol était le moins utilisé. La prévalence d'évènement indésirable grave était plus élevée pour le iomeprol (0,70%), et plus faible pour le loversol (0,23%).(9)

IV- Pharmacocinétique des PCI

Les PCI ont une pharmacocinétique très similaire à celle des « traceurs extracellulaires ». Après injection intraveineuse, les molécules se mélangent au volume plasmatique circulant et 70% de la dose injectée diffuse du plasma vers l'espace extracellulaire en 2 à 5 minutes. La diffusion inverse se produit également de l'espace extracellulaire au plasma. Un équilibre complet entre le plasma et l'espace interstitiel est atteint environ 2 heures après l'injection. Le degré d'internalisation de ces agents dans des cellules saines est très faible à la fois *in vivo* et *in vitro*. Les reins, le cerveau, le foie et quelques autres organes comme les glandes, retiennent donc de petites quantités de ces agents. À l'exception des agents de contraste biliaires, tous les composés présentent une liaison limitée aux protéines. La majorité des PCI ne sont pas métabolisés avant l'élimination.

Les reins sont la principale voie d'élimination des PCI du plasma vers les urines. Ils sont filtrés à travers les glomérules sans réabsorption tubulaire, à l'exception de l'iodamide qui subit une sécrétion tubulaire. En présence d'une fonction rénale normale, la demi-vie est d'environ 1 à 2 heures pour chacun des quatre groupes de PCI, et 75% de la dose administrée est excrétée dans les urines dans les 4 heures. La majeure partie de la dose injectée est récupérée intacte dans les urines dans les premières 24 heures. Chez les patients atteints d'insuffisance rénale, l'excrétion du PCI est prolongée et environ un tiers du PCI peut être éliminée par des voies extrarénales (systèmes gastro-intestinal et biliaire). Les PCI à faible osmolarité sont moins néphrotoxiques que les PCI à plus haute osmolarité chez un patient avec insuffisance rénale connue(6).

V- Effets indésirables des PCI

La classification des effets indésirables a fait l'objet de plusieurs publications ces trente dernières années. Les réactions aux PCI étaient autrefois considérées comme majoritairement non spécifiques, liées à la libération d'histamine, de sérotonine, de

bradykinine, de fibrinogène, et à l'activation du complément(10). Les dernières classifications utilisées par les sociétés savantes, notamment l'EAACI (European Academy of Allergy & Clinical Immunology) font la distinction entre les réactions non spécifiques dites réaction de type A et les réactions d'hypersensibilités dites réaction de type B. Les réactions de type B se distingues par les délais de réaction entre l'injection des PCI et le début des symptômes.

1- Réactions de type A :

Elles se caractérisent par des symptômes peu spécifiques à type de douleur au point d'injection, de sensation de chaleur, prurit généralisé, érythème, flush, nausées, vertiges, rhinorrhée, réaction au point d'injection.

2- Réaction de type B

On distingue les réactions d'hypersensibilité immédiate et les réactions d'hypersensibilité retardée. Elles surviennent chez 0,5 à 3% (11) des patients injectés. Les facteurs de risque identifiés diffèrent selon les différentes études. On retient comme principal facteur de risque, avoir un antécédent de réaction allergique aux PCI. Les autres facteurs de risque (sexe féminin, asthme, antécédent d'allergie médicamenteuse ou alimentaire, atopie) n'ont pas été formellement identifié.(12)

- *Réactions d'hypersensibilité immédiate :*

Elles se manifestent dans les six premières heures après l'injection de PCI et 70% des réactions immédiates se manifestent dans les cinq minutes après injection. Les symptômes sont ceux d'une réaction anaphylactique avec urticaire, angioœdème, diarrhées, vomissements, douleurs abdominales allant jusqu'aux stades sévères de l'anaphylaxie avec bronchospasme, défaillance cardio-circulatoire (hypotension, arrêt cardio-respiratoire...). Ces réactions sont dues aux IgE et l'exploration diagnostic se réalise par prick test et IDR (intradermoréaction) avec lecture à 20 minutes. Il n'y a pas de test biologique disponible pour l'exploration de l'hypersensibilité immédiate aux PCI.

- *Réactions d'hypersensibilité retardée :*

Les réactions d'hypersensibilité retardées aux PCI surviennent généralement plus de six heures après l'injection de PCI. Ce sont des réactions dues aux lymphocytes T. Les réactions décrites dans les PCI sont assez similaires à celles des toxidermies médicamenteuses avec toutefois un délai de survenue plus court.

Exanthème maculopapuleux :

L'exanthème maculopapuleux est la toxidermie la plus fréquente. Elle survient habituellement entre 4 et 14 jours après le début d'un nouveau médicament. Dans le cas des PCI elle survient souvent dans les 24h après l'injection du PCI. Les lésions primaires sont les macules érythémateuses et les papules infiltrées. Le tronc et les extrémités proximales sont le plus souvent impliqués avec une distribution symétrique. Cependant, les exanthèmes étendus peuvent se généraliser, devenir confluents et se transformer en érythrodermie. L'éruption est généralement prurigineuse avec parfois de la fièvre associée. Une élévation transitoire des éosinophiles est parfois observée. Les exanthèmes maculo-papuleux peuvent parfois correspondre aux stades précoces d'un DRESS syndrome ou d'une Nécrolyse épidermique toxique.

DRESS (Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms):

Le DRESS débute souvent par un tableau d'exanthème maculopapuleux qui évolue secondairement vers un DRESS syndrome caractérisé avec infiltration des lésions, purpura, œdème du visage, polyadénopathies, fièvre intense persistante, altération de l'état général, éruption prolongée au-delà de 15 jours. Au bilan biologique on retrouve une hyperéosinophilie ($> 700/\text{mm}^3$), des lymphocytes atypiques, une cytolyse hépatique ($> 2N$), une élévation de la créatininémie ($> 1,5N$) et parfois des réactivations virales (EBV, CMV,...).

Dans la littérature, une trentaine de cas ont été rapportés en lien avec les PCI et correspondant aux critères officiels de DRESS (13,14). La particularité des DRESS induits par les PCI est le délai de survenue court, en moyenne 4 jours, alors que classiquement les DRESS surviennent 3 à 8 semaines après le début d'un traitement encore en cours. Comme pour les PEAG, le DRESS peut survenir dès la première injection d'un PCI (13). Les polysensibilisations au cours des DRESS sont fréquentes, parfois même vis-à-vis de tous les PCI et parfois aussi pour d'autres classes

médicamenteuses, en particulier les bêtalactamines. Il faut donc une enquête allergologique méticuleuse et large(13,15).

Syndrome de Stevens-Johnson et syndrome de nécrolyse épidermique (ou syndrome de Lyell)

Il s'agit d'une éruption érythémateuse avec parfois des zones purpuriques, et des lésions en pseudo-cocardes. Des décollements bulleux témoignent d'une nécrose épidermique. Les bulles tendues peuvent se voir à la phase précoce, mais elles deviennent rapidement flasques et laissent l'épiderme à nu (aspect en "linge mouillé"). Le décollement pré-bulleux des lésions est le signe de Nikolsky. L'atteinte muqueuse est presque constante avec au moins deux sites atteints ; elle peut être isolée dans certains SJS. Le tableau cutané est toujours associé à une altération de l'état général (AEG) et à une fièvre élevée. Les atteintes systémiques associées sont fréquentes : pulmonaire, digestive, rénale. La distinction entre SJS, NET et chevauchement SJS/NET est liée au pourcentage de décollement, respectivement < 10 %, > 30 % et 10-30 %. Une dizaine de cas de SJS et NET aux PCI ont été rapportés, dont 3 avec décès(14). Le délai, allant de quelques heures à 3 jours est plus court que le délai habituel de 2 à 3 semaines avec les autres classes de médicaments.

Érythème pigmenté fixe (EPF) :

L'éruption est caractérisée par des macules et des plaques érythémateuses arrondies ou ovalaires, avec un renforcement central rouge violacé parfois bulleux, bien limité, pouvant laisser une séquelle pigmentaire évocatrice. La gravité de cette toxidermie réside dans l'évolution possible vers une forme bulleuse généralisée dont la gravité est proche de celle des SJS et NET. La définition retenue en est une atteinte cutanée supérieure à 10 % de la surface cutanée et au moins 3 sites atteints, non contigus. Les atteintes muqueuses sont fréquentes dans ces formes généralisées. Les EPF secondaires aux PCI surviennent le plus souvent dans les 24 heures après l'injection. Les récurrences d'EPF voire d'EPFBG aux PCI chez un même patient sont décrites avec une survenue de plus en plus précoce après l'injection, et un risque d'évolution vers une forme plus étendue.(16)

Symmetric drug-related intertriginous and flexural exanthema (SDRIFE) ou syndrome babouin:

Il s'agit d'une éruption de type érythème maculopapuleux, parfois fébrile, délimitée, souvent symétrique, localisé au niveau des plis de flexions, interfessiers, inguinaux et périgénitaux. Quatre cas publiés de syndrome babouin ont été signalés comme étant causés par un PCI. L'âge variait de 57 à 80 ans ; un homme et trois femmes. Le test de provocation au PCI s'est révélé positif pour l'ioméprol, l'iopamide et l'ioversol, démontrant une réactivité croisée avec les PCI non ioniques monomériques.

Pustulose Exanthématique Aigue Généralisée (PEAG)

Il s'agit d'une éruption fébrile, parfois prurigineuse, érythémateuse, diffuse avec renforcement sur le tronc et dans les grands plis, et la présence de multiples petites pustules (< 5 mm) non folliculaires plus ou moins coalescentes. Cette éruption est associée à une polymorphonucléose neutrophile > 7 000/mm³ [8]. L'analyse histologique montre des pustules spongiformes sous-cornées ou intraépidermiques parfois non détectables cliniquement. La desquamation tardive en lambeau est caractéristique et peut évoquer à tort une nécrolyse épidermique toxique.

Les PEAG induites par les PCI surviennent toujours très rapidement, 1 à 2 jours après l'injection. Des atteintes systémiques avec des chevauchements PEAG/DRESS ou PEAG/Lyell sont possibles. Une quarantaine de cas de PEAG aux PCI hospitalisées ont été publiés(13). Il a été relevé que les patients hospitalisés pour PEAG avaient eu des poussées similaires lors de précédentes injections de PCI, mais moins sévères. Les allergies croisées sont fréquentes au cours des PEAG aux PCI, avec des tests cutanés positifs à plusieurs PCI ainsi que des épisodes de PEAG à plusieurs PCI.

Vascularite leucocytoclastique:

Cinq cas de vascularite secondaire un PCI ont été rapportés dans la littérature. Les signes cutanés apparaissent généralement 8 à 48 heures après l'exposition et affectaient les extrémités. Les patients présentaient tous une éruption papulaire purpurique. Deux cas ont développé des zones bulleuses et hémorragiques, qui ont

évolué vers une ulcération. Les deux cas exposés à un PCI de haute osmolarité ont eu une vascularite nécrosante associée à de la fièvre(14).

VI- Prise en charge des réactions retardées aux PCI.

L'exploration des toxidermies retardées nécessite un délai minimal de 6 semaines après la guérison de la maladie. Il faut toutefois compter 6 mois pour l'exploration de DRESS syndromes. Les PCI sont connus pour avoir une importante réactivité croisée. Les PCI ont été classés en trois groupes selon la fréquence de leur réactivité croisée(17).

Groupe A	Groupe B	Groupe C
Ioxitalamate (TELEBRIX) Iopamidol (IOPAMIRON) Iomeprol (IOMERON) Ioversol (OPTIJECT/OPTIRAY) Iohexol (OMNIPAQUE) Iodixanol (VISIPAQUE)	Iobitridol (XENETIX) Ioxaglate (HEXABRIX)	Amidotrizoate (RADIOSELECTAN)

Monomère ionique hyperosmolaire

Monomère non ionique faible osmolarité

Dimère non ionique iso-osmolaire

Dimère ionique de faible osmolarité

Les tests cutanés doivent donc porter sur un large choix de PCI, idéalement sur tous ceux disponibles ou au minimum sur un de chaque groupe. On commence généralement par des patch test et s'ils sont négatifs on poursuit par des IDR à lecture retardée. Une goutte de chaque PCI pur est déposée dans les cupules des patchs qui sont collées sur le patient. La lecture se fera à 48h puis à 72 ou 96h. Les patchs tests peuvent être proposés également dans les toxidermies sévères. En cas d'EPF le patch test doit être posé sur la zone précédemment atteinte(18). L'IDR consiste en une

injection intradermique habituellement sur l'avant-bras de 0,02 mL de PCI avec le produit pur ou dilué à 1/10. La lecture du test a lieu entre 24 et 96 heures. Les IDR aux PCI augmentent la sensibilité des PT et ont été largement utilisées dans des PEAG et des DRESS sans risque(13). Elles ne sont pas validées pour les syndromes de SJS/Lyell et n'ont pas été jusqu'à présent étudiées dans les EPFBG.

Dans les exanthèmes maculo-papuleux, les tests de provocation peuvent être proposés avec un PCI testé négativement en test cutané. Le test de provocation, s'il est négatif, permet alors d'autoriser le PCI testé. Ces tests se font en milieu hospitalier dans des conditions de sécurité, chez des patients perfusés. Des tests de réintroductions pour les PEAG et DRESS sont réalisées par certaines équipes hospitalières expérimentées en fonction de la balance bénéfice/risque et toujours avec des molécules testées négatives. Elles n'ont pas été évaluées dans les EPFBG, SJS et NET(16).

Dans la partie suivante, nous discuterons, à travers une revue de la littérature, des différents mécanismes physiopathologiques impliqués dans les réactions retardées aux médicaments, et en particulier dans les toxidermies dues aux produits de contraste iodés. Nous décrirons les différents tests biologiques permettant d'explorer la réponse à un antigène spécifique par les lymphocytes T, notamment le test ELISpot. Nous développerons également l'intérêt du typage HLA dans les toxidermies médicamenteuses, en particulier dans celles induites par les PCI.

II Revue de la littérature

Tests de diagnostic in vitro dans les réactions d'hypersensibilité retardée aux produits de contraste iodés.

Introduction

Les réactions d'hypersensibilité retardée aux produits de contraste iodés représentent 2 à 5 % (19) des injections de PCI. La majorité de ces réactions sont non graves et se manifestent par des exanthèmes maculopapuleux, mais des réactions très sévères comme les DRESS syndromes (drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms) et les nécrolyses épidermiques toxiques peuvent engager le pronostic vital. La plupart de ces réactions surviennent dans des délais très courts (12-72h). Bien que les DRESS syndromes induits par les PCI surviennent plus précocement que les délais classique (4 jours en moyenne vs 3 à 8 semaines après le début d'un traitement) (16), on ne peut lever l'imputabilité d'un PCI lorsque celui-ci a été injecté dans les 8 semaines précédant la survenue d'un DRESS. Ce qui rend l'imputabilité du PCI d'autant plus difficile à affirmer. L'injection de produits de contraste est massivement utilisée pour l'imagerie diagnostic et les procédures interventionnels. On estime à 75 millions par an le nombre de PCI injecté dans le monde(7). La fréquente utilisation de ces produits, conjuguée au fait que les PCI sont souvent employés dans le cadre de pathologies graves comme les cancers ou les maladies cardiovasculaires, accroît la nécessité d'un diagnostic rapide et fiable.

Les investigations allergologiques des réactions retardées sont effectuées à l'aide de tests cutanés (prick-test, intradermoréaction et patch tests). La sensibilité cumulée de ces tests est de 30-40% (20) et en cas de négativité (pour les réactions légères à modérées), certaines équipes proposent un test de provocation (TP) avec réintroduction du PCI suspecté sous surveillance médicale. Lorsque le TP est proposé, en cas de tests cutanés négatifs, le test de provocation est positif dans 40 à 50%(21) des cas et provoque une réaction cutanée. À ce jour, il n'y a pas de tests in vitro disponibles en routine pour améliorer le diagnostic des réactions d'hypersensibilité retardée aux PCI. Les lymphocytes T sont des cellules clés dans les réactions d'hypersensibilité ; leur exploration pourrait être essentielle dans le diagnostic de l'hypersensibilité aux PCI. L'évaluation de la présence de lymphocytes T spécifiques d'un antigène donné, et en outre la quantification de la réponse spécifique à l'antigène, sont un objectif depuis longtemps recherché en immunologie clinique. La rareté des

lymphocytes T spécifiques combinée à la très faible différence entre eux et les autres lymphocytes T (c'est-à-dire la séquence de la partie variable du récepteur des cellules T) rendent ces mesures difficiles. La question du coût s'ajoute à la difficulté technique, car les systèmes de santé nécessitent des solutions rentables qui peuvent éviter l'utilisation de méthodes chronophages nécessitant du personnel hautement qualifié, tel que dans les laboratoires de recherche fondamentale.

Dans cette revue de la littérature, nous présentons les aspects moléculaires classiques de la reconnaissance antigénique lors de l'activation des lymphocytes T et B, ainsi que la structure et les propriétés fondamentales des PCI. Nous résumons brièvement les interactions connues entre les PCI et les protéines en général, ainsi qu'avec le système immunitaire. Enfin, nous décrivons brièvement les méthodes actuelles pour détecter les lymphocytes T spécifiques de l'antigène, en mettant l'accent sur les tests ELISpot et le typage HLA, qui semblent être des méthodes prometteuses.

Immunogénéicité des PCI

Reconnaissance de l'antigène par immunité adaptative

Les hypersensibilités sont des réactions immunitaires adaptatives causées par des composants moléculaires du non-soi, qui sont généralement inoffensifs mais qui déclenchent l'activation des leucocytes dont les fonctions effectrices sont responsables des signes cliniques. Les lymphocytes T jouent un rôle majeur dans la réponse immunitaire adaptative, leur rôle commençant dans un ganglion lymphatique. Lorsque le récepteur des cellules T (TCR) est lié à la surface d'une cellule, il donne un signal d'activation majeur à la cellule lorsqu'il se lie à son ligand sous forme d'un court peptide porté par une molécule HLA (Human Leukocyte Antigen) à la surface d'une cellule présentatrice de l'antigène. Étant donné qu'il y a une élimination efficace des lymphocytes T autoréactifs dans le thymus, ce signal implique que le peptide appartient à une entité du non-soi. Pour déclencher une activation complète, un second signal, appelé "danger", doit être fourni par la cellule présentatrice de l'antigène lors de la première rencontre d'un lymphocyte T naïf avec son ligand, sous forme de molécules B7 (CD80 ou CD86). Le danger signifie que le pathogène, les dommages cellulaires ou tissulaires ont été reconnus par la cellule présentatrice de l'antigène.

La nécessité d'associer des signaux du non-soi au signal danger pour déclencher l'activation des lymphocytes T éviterait une réponse adaptative contre le soi, mais aussi une réponse adaptative contre un non-soi inoffensif. L'hypersensibilité peut résulter d'une interprétation défectueuse de l'environnement moléculaire par le système immunitaire.

Les molécules TCR et HLA sont toutes deux des multimères de domaines d'immunoglobuline. Comme les anticorps, les TCR ont une séquence d'acides aminés construite par une combinaison aléatoire de plusieurs séquences, la variabilité étant augmentée par l'ajout et la suppression aléatoires de bases aux points de jonction des séquences. Les molécules HLA portent des peptides du soi et du non soi à la surface cellulaire liés de façon non covalente, la surface distale de la molécule formant une poche dans laquelle le peptide se loge. Les molécules HLA sont hautement polymorphes dans les populations humaines, avec de nombreuses variantes existant pour chaque type (I ou II). Chaque molécule HLA ne peut présenter qu'une fraction des peptides provenant de protéines antigéniques. Environ quatre interactions sont nécessaires pour former une liaison assez stable entre les résidus d'acides aminés des molécules HLA et les peptides. Cette restriction HLA dépend de la séquence d'acides aminés des HLA et explique l'intérêt de séquencer les molécules HLA d'un patient pour explorer la capacité à présenter certains antigènes aux lymphocytes T. Les peptides capables d'interagir de manière stable avec une molécule HLA donnée forment son répertoire.

L'interaction entre le récepteur des lymphocytes T (TCR) et la partie peptidique du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA) a lieu à l'interface lymphocyte T- cellule présentatrice de l'antigène et résulte uniquement d'interactions non-covalentes entre les résidus d'acides aminés du TCR du côté des lymphocytes T et la molécule HLA ainsi que le peptide antigénique du côté de la cellule présentatrice d'antigène. Cependant, même en l'absence de protéines antigéniques, une réponse immunitaire adaptative peut être déclenchée grâce aux anticorps. Ces derniers sont produits en utilisant les mêmes mécanismes de diversité que les TCR, mais se lient à leur antigène sous forme native. Dans la plupart des cas, les lymphocytes B ont besoin d'un signal provenant des lymphocytes T pour déclencher la production d'anticorps en réponse à la présentation de l'antigène. Les lymphocytes B présentent des peptides aux

lymphocytes T, provenant d'antigènes endocytés via des anticorps liés à leur surface. Les protéines sont clivées dans l'endosome pour former des peptides antigéniques courts, qui sont ensuite chargés sur les molécules HLA. Bien qu'une protéine antigénique soit nécessaire pour obtenir un peptide présentable au lymphocyte T, l'épitope réel auquel l'anticorps se lie peut être non protéique, comme un sucre, un lipide ou un médicament, tant que la protéine nécessaire est physiquement liée à cet épitope et donc endocytée simultanément par le lymphocyte B.

La réponse adaptative aux médicaments dépend fortement des mécanismes moléculaires de présentation de l'antigène. En cas d'hypersensibilité retardée, une activation des lymphocytes T peut entraîner une activité cytotoxique des lymphocytes T (dans le cas d'une spécificité restreinte HLA de classe I), la production d'anticorps IgG et l'activation des macrophages (dans le cas d'une spécificité restreinte de classe II). Un médicament déclenchant une hypersensibilité peut interagir directement avec le complexe TCR et HLA-peptide lors de la présentation de l'antigène. Il peut se lier de manière covalente ou non covalente aux protéines de l'hôte, ainsi qu'aux molécules TCR ou HLA. Dans certains cas, ce sont les métabolites du médicament plutôt que le médicament lui-même qui peuvent être le réactif réel.

Quatre types d'interactions ont été décrits : le médicament peut se lier au TCR dans une zone d'interaction avec la molécule HLA ou le peptide antigénique, une interaction avec le peptide dans une zone interagissant avec le TCR, une interaction avec le HLA dans une zone interagissant avec le TCR, et surtout une interaction avec le HLA dans la poche de liaison peptidique, qui peut modifier le répertoire peptidique de ces molécules HLA.

Le dernier modèle mentionné est particulièrement important car il peut déclencher une réponse immunitaire contre un grand nombre de peptides du soi. Toutefois, une réponse immunitaire aux PCI par l'intermédiaire des anticorps est possible sans qu'il n'y ait d'interactions avec les complexes TCR-HLA-peptide. Comme décrit ci-dessus, un lien physique entre un médicament et une protéine peut entraîner l'endocytose de ce complexe via un récepteur des cellules B liant le médicament, entraînant à son tour la présentation peptidique aux lymphocytes T. Les lymphocytes T activés spécifiques de ces peptides peuvent donc déclencher la production d'anticorps anti-médicament.

La réponse adaptative aux médicaments dépend largement des mécanismes moléculaires de présentation de l'antigène. L'hypersensibilité retardée implique

l'activation des lymphocytes T, qui peut entraîner une activité cytotoxique des lymphocytes T dans le cas d'une spécificité restreinte de classe I, ainsi que la production d'anticorps IgG et l'activation de macrophages dans le cas d'une spécificité restreinte de classe II. Un médicament qui provoque une hypersensibilité peut interagir directement avec le complexe TCR et HLA-peptide pendant la présentation de l'antigène. Le médicament peut se lier aux protéines de l'hôte de manière covalente ou non covalente, ainsi qu'aux molécules TCR ou HLA. Dans certains cas, les métabolites du médicament peuvent être le réactif réel plutôt que le médicament lui-même.

Chimie et métabolisme des produits de contraste media, interaction avec les protéines et le système immunitaire.

Les propriétés opacifiantes de l'iode ont été découvertes fortuitement lors de l'observation d'urines radio-opaques des patients traités pour la syphilis avec des médicaments contenant de l'iode. Ces agents sont de petites molécules conçues pour maximiser leur teneur en iode par rapport à leur osmolalité. Actuellement, tous les produits de contraste iodés sont basés sur des cycles de six carbones, chacun portant trois résidus d'iode. Les premiers produits de contraste iodés se présentaient sous la forme de sels d'un seul cycle de carbone, se dissociant en solution en un cycle cationique et un cycle anionique iodé. Cependant, l'osmolalité excessive est un problème fréquent des produits de contraste iodés. Les PCI de dernière génération sont soit formés de deux cycles de carbone couplés de manière covalente, soit hydrophiles sans être ioniques, ce qui permet de réduire l'osmolalité d'un facteur deux pour une teneur donnée en iode.

D'un point de vue pharmacocinétique, les produits de contraste iodés se comportent comme un traceur extracellulaire : la diffusion du plasma vers le milieu extracellulaire est rapide, avec un équilibre atteint au bout de 2 heures. Les PCI ne pénètrent que faiblement dans les cellules. Le rein, le cerveau, le foie et quelques autres organes comme les glandes, retiennent donc de faibles quantités de ces agents. Les PCI sont peu métabolisés ; ils sont excrétés dans l'urine avec une faible réabsorption tubulaire et une demi-vie plasmatique de 2 heures. Comprendre et objectiver les interactions PCI-protéines sont essentielles pour estimer leur capacité à lier les récepteurs

immunitaires. On dit que les PCI se lient peu aux protéines plasmatiques, à l'exception des marqueurs des canaux biliaires(22–24). Cependant, l'iopromide utilisé *in vitro* à des concentrations thérapeutiques peut spécifiquement inhiber la thrombine(25), suggérant une interaction avec l'enzyme. Cette interaction avec la thrombine semble être responsable des effets indésirables thrombotiques signalés lors de l'utilisation de PCI. L'acide iophénoïque, bien qu'il ne soit plus utilisé chez l'homme, peut se lier à l'albumine sérique par l'intermédiaire de groupes hydroxyles formant des liaisons hydrogènes(26). Avec un mécanisme immunologique directement impliqué, le diatrizoate de sodium est en compétition directe avec la méthionine-leucine-phénylalanine formylique (fMLF), un récepteur neutrophilique des peptides contenant un groupe formyle que l'on retrouve typiquement sur les bactéries(27).

Certaines interactions avec le système immunitaire ont été montrées. L'iodixanol agit directement sur les cellules dendritiques, induisant la prolifération des lymphocytes T et la production de cytokines(28). Les PCI peuvent interagir avec le TCR ou le HLA-peptide dans le milieu extracellulaire, comme les cellules présentatrices d'antigènes fixées (glutaraldéhyde) peuvent déclencher une réponse lymphocytaire T chez certains patients ; d'autres ont besoin de cellules présentatrices de l'antigène vivantes (non fixées) pour activer les lymphocytes T, suggérant qu'un signal intracellulaire est impliqué(29). Cela suggère que l'interaction médicament-HLA se produit avant ou pendant le chargement peptidique, dans le système vacuolaire cellulaire. Ceci est particulièrement intéressant en ce qui concerne l'hypothèse de du répertoire modifié : dans ce cas, le médicament modifie l'interaction entre les molécules HLA et les peptides et entraîne de nouveaux complexes peptide-HLA, susceptibles d'entraîner une sélection négative inefficace des lymphocytes T et donc une réponse immunitaire envers les protéines du soi.

En résumé, l'interaction directe PCI-protéine semble exister ; l'effet du PCI sur l'immunité a été démontré: l'interaction du PCI avec le système immunitaire pourrait donc être possible sous la forme de molécules natives formant des interactions directes avec les protéines du système de présentation de l'antigène.

Formes d'hypersensibilités déclenchées par les PCI et observées en pratique clinique

Dans Torres et al, les biopsies cutanées réalisées après tests cutanés et test de provocation montraient un contingent de lymphocytes T en immunohistochimie(30). La

réponse lymphocytaire des différentes toxidermies médicamenteuses, a été étudiée(31) et il a été démontré que les pustuloses exanthématiques aiguës généralisées (PEAG), génèrent une réponse TH1 (LT CD4) alors que l'Érythème Pigmenté Fixe (EPF) et la Nécrolyse épidermique toxique (NET) mobilisent une réponse LT CD8. L'étude des sous-populations de lymphocytes a permis d'identifier la réponse cytokinique lors des différentes réactions cutanées. Ainsi, dans Pitcher et al, quatre types de réponse ont été décrits, divisant la réaction de type IV de la classification de Gell et Coombs en 4 sous parties (32) : Le type IVa se manifeste cliniquement par un eczéma de contact, avec sécrétion d'interféron γ , TNF α et IL18. Les médiateurs cellulaires impliqués sont ceux de la réponse TH1 et les macrophages. Le type IVb correspond à l'exanthème maculopapuleux et au DRESS syndrome avec la sécrétion d'IL4, IL5 et l'IL13. On distingue une première phase TH2 et une seconde phase avec recrutement des éosinophiles, des lymphocytes B, des IgE, des IgG4 et des mastocytes. Le type IVc est impliqué dans l'érythème polymorphe, le syndrome de Steven-Johnson/Nécrolyse épidermique toxique (SJS/TEN), l'érythème pigmenté fixe (FDE, Fixed Drug Erythema), et les lésions hépatiques d'origine médicamenteuse (DILI, Drug-Induced Liver Injury). La réponse LT cytotoxique recrute du Granzyme B, de la Perforine, du Fas Ligand et de la Granulysine. Elle induit une nécrose cellulaire immédiate. Dans le type IVd, on retrouve la pustulose exanthématique aiguë généralisée (PEAG), une toxidermie grave ayant pour principaux médiateurs cytokiniques du GM-CSF, de l'IL 8 et du CXCL8 (33). La première phase de la réponse immunitaire dans les PEAG est de type TH1/TH17 puis devient secondairement neutrophilique.

Tests in vitro des PCI

Face à ces différentes présentations cliniques, il serait utile d'explorer la réponse T spécifique impliquée dans les toxidermies causées par le PCI. Les tests de diagnostic in vitro sont la pierre angulaire de l'exploration des allergies médicamenteuses. Depuis plusieurs années, les chercheurs s'intéressent aux tests in vitro (Test d'Activation des Basophiles, Lymphocyte Transformation Test) pour leur caractère inoffensif et leur apport diagnostique potentiel. Les données de la littérature font état d'un intérêt croissant pour les tests in vitro de relargage cytokiniques des lymphocytes T (ELISpot) dans les réactions d'hypersensibilité retardées médicamenteuse, associés à la recherche d'allèles HLA spécifiques.

Test in vitro de l'activation spécifique des lymphocytes T

Le dosage spécifique des IgE par les différentes méthodes ELISA disponibles est par définition peu utile dans les réactions médicamenteuses retardées. Les tests d'activation des basophiles B, bien qu'ils soient utilisables dans les formes d'hypersensibilité immédiate aux PCI(34) sont également hors contexte car ils reposent sur la pré-sensibilisation des basophiles par des IgE circulantes spécifiques. Cependant, divers tests d'activation lymphocytaire sont couramment utilisés pour évaluer la capacité des lymphocytes d'un patient à répondre aux antigènes, le plus souvent pour chercher ou caractériser un déficit immunitaire. Ces tests pourraient être intéressant en allergologie.

Les tests de prolifération lymphocytaire reposent sur la détection de la prolifération des lymphocytes T comme marqueur d'activation. La prolifération est l'une des premières tâches d'un lymphocyte T activé ; Son but est de générer un nombre suffisant de clones pour intervenir dans l'agression en cours. Après la séparation et la collecte des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC), les tests de prolifération commencent par une étape de stimulation. Dans le cas de tests spécifiques de réponse au lymphocyte T, les PBMC sont incubés pendant 7 jours dans un milieu de culture en présence de l'antigène de leur choix. Les macrophages dérivés de monocytes endocytent l'antigène, procèdent à des modifications dans les endosomes et présentent des peptides antigéniques aux lymphocytes T présents dans les PBMC de l'échantillon sanguin. L'activation des lymphocytes T par les peptides antigéniques déclenche une réponse immunitaire et s'ensuit une prolifération. Une étape de lecture est ensuite effectuée. Une première méthode consiste à ajouter de la thymidine tritiée dans le milieu de culture pendant la prolifération en s'assurant que les cellules incorporent la thymidine marquée pendant la phase S. La lecture est réalisée par un comptage de la radioactivité des cellules après lavage, le signal augmentant avec la prolifération cellulaire. Bien qu'efficace et judicieuse, cette méthode présente un inconvénient pratique et financier en raison de l'utilisation de radioactivité. Une méthode plus récente consiste à marquer le cytoplasme des PBMC avec un marqueur fluorescent tel que le CFSE (Carboxyfluorescein succinimidyl ester). Les cellules sont incubées avec cet ester de fluorescéine lipophile : il diffuse à travers la membrane

plasmique, puis les estérases du cytoplasme clivent le marqueur, le rendant hydrophile et incapable de quitter le cytoplasme. Les cellules sont lavées, cultivées avec l'antigène de choix dans le milieu de culture standard tel que décrit ci-dessus. La lecture est effectuée en cytométrie de flux en quantifiant l'intensité de l'émission de fluorescéine; En cas de prolifération, la quantité de marqueur par cellule est divisée par deux à chaque mitose. Les tests de prolifération sont suffisamment sensibles pour détecter les lymphocytes T mémoire spécifiques aux pathogènes humains courants tels que *Candida albicans* ou aux antigènes de vaccination, tels que l'anatoxine tétanique. Pourtant, une prolifération non spécifique peut parfois ne pas être exclue. En outre, la culture cellulaire longue introduit un risque important de mort cellulaire. La mort cellulaire peut induire un bruit de fond considérable au point de nuire à l'analyse des résultats. D'après notre expérience, la nature bruyante des essais de prolifération les rend essentiellement qualitatifs. La culture cellulaire induit également de longs délais avant les résultats, un point mineur dans la pratique de l'allergologie, mais cela pourrait être important dans le cas d'une hypersensibilité médicamenteuse lorsque le remplacement du médicament est difficile. La charge de travail et le niveau de compétence nécessaire à la réalisation en routine des tests de prolifération sont des paramètres à considérer.

La cytométrie de flux permet de mesurer des marqueurs d'activation sur les lymphocytes T. La phosphorylation de STAT-5 est une étape précoce de l'activation des lymphocytes T après l'engagement TCR. Il existe des anticorps spécifiques à la forme phosphorylée, qui peuvent se lier au STAT-5 cytoplasmique en utilisant des conditions d'immunomarquage imprégnant la membrane. Les marqueurs membranaires de l'activation des lymphocytes T tels que CD69 ou CD25 sont également bien connus, mais certains sous-types de lymphocytes peuvent exprimer de tels marqueurs constitutivement, ce qui complique l'analyse. Une étape de stimulation est effectuée dans des conditions similaires aux tests de prolifération, mais pour une durée beaucoup plus courte ce qui peut rendre le test plus fiable. La lecture se fait par cytométrie de flux avec les protocoles de coloration classiques permettant le marquage intracellulaire. La charge de travail est inférieure à celle des essais de prolifération ; Les niveaux de compétence nécessaires sont proches. La principale difficulté dans l'utilisation de l'identification directe de l'activation des lymphocytes T par cytométrie en flux réside très probablement dans la sensibilité plus faible de la méthode. Les essais de prolifération amplifient intrinsèquement le signal ; les petites

populations de lymphocytes T activés sont difficiles à détecter. Cette méthode est donc plus adaptée à la quantification de l'activation large des lymphocytes T en réponse à des mitogènes ou à de grandes stimulations.

La détection de la production de cytokines est couramment utilisée comme marqueur pour détecter l'activation spécifique des lymphocytes T. Il existe deux façons principales de détecter la production de cytokines induite par l'activation : les cytokines sont soit produites massivement dans le milieu puis dosées à partir d'un surnageant de culture, soit les cellules sont cultivées directement sur la surface du détecteur (c'est-à-dire une surface recouverte d'anti-cytokines) comme dans le test ELISpot. Le dosage du relargage massif de cytokines peut être effectué à partir de PBMC isolés du sang des patients puis stimulés dans des milieux de culture avec l'antigène de choix. Les macrophages dérivés de monocytes endocytent l'antigène et présentent des peptides dérivés de l'antigène aux lymphocytes T. Après activation, les lymphocytes T produisent les cytokines visant à façonner la réponse immunitaire, telles que TH17, TH1 et TH2. L'interféron- γ est une cytokine TH1 typique ; sa sécrétion peut être utilisée comme marqueur de l'activation des lymphocytes T. La lecture est obtenue en dosant la cytokine de choix, généralement par ELISA. La charge de travail comprend la séparation cellulaire, la culture et le test ELISA et est donc élevée ; Du personnel qualifié est donc nécessaire. Des méthodes commerciales ont été développées dans le but de faciliter la méthode. Quantiferon, développé par Quiagen, a plus d'une décennie d'utilisation de routine pour la détection de lymphocytes T pathogènes spécifiques de *Mycobacterium* chez les patients. Les échantillons de sang sont drainés dans des tubes à vide spécifiques, y compris les protéines antigéniques. L'étape de stimulation se fait directement dans le sang total, éliminant l'étape de la séparation cellulaire et l'étape de culture. Le plasma est ensuite recueilli par centrifugation puis l'interféron- γ est dosé par ELISA. Le gain par rapport à la charge de travail est important et le test est le seul test cellulaire fonctionnel effectué dans des volumes comparables aux tests de laboratoire d'immunologie clinique de routine tels que la détection d'auto-anticorps ou le phénotypage cellulaire par cytométrie de flux. Cependant, les méthodes de dosage de cytokines souffrent de plusieurs inconvénients courants. La première est la dilution de la cytokine dosée dans un milieu de culture ou dans du plasma après sa production par des cellules stimulées qui diminue la sensibilité. Deuxièmement, les résultats sont principalement qualitatifs, car la quantité de cytokine dosée est difficile à relier au nombre de cellules activées.

ELISpots

L'ELISpot (Enzyme-linked Immunospot) est un test élaboré dans les années 1980 à partir de la technique ELISA. Cette technique a pour objectif de détecter la présence de cytokines et de quantifier la réponse lymphocytaire. L'ELISpot est utilisée dans la recherche pour les vaccins, les cancers, les maladies auto-immunes et en allergologie. Dans le domaine de l'allergologie, l'ELISpot a été testé pour l'exploration des réactions d'hypersensibilité retardée dépendantes des lymphocytes T. Le test est réalisé à partir de PBMC de patients. Les PBMC sont déposées sur une plaque à 96 puits recouverte d'anticorps anti-interféron γ (ou IL4, IL5, Granzyme B..) et mis en culture avec le médicament suspect. En cas de réponse des lymphocytes du patient au contact du médicament, les lymphocytes sécrètent de l'interféron γ (ou autre cytokines testées). L'interféron γ est alors capté par les anticorps anti-interféron γ . Après des lavages successifs, la liaison anticorps anti-interféron γ /antigène (interféron γ) est révélée par un anticorps de détection biotinylé couplé à une enzyme conjuguée à la streptavidine, puis une réaction colorimétrique produit un spot. Chaque spot correspond à une cellule sécrétrice (LT).

L'ELISpot a été testé dans les toxidermies médicamenteuses avec plusieurs molécules. Le seuil de positivité du test était fixé différemment d'une étude à l'autre en fonction du médicament testé et du type de réaction explorée.

Dans Esser et al(35), un test ELISpot était réalisé chez des sujets ayant eu une réaction d'hypersensibilité retardée à l'abacavir. Le seuil de détection de l'ELISpot abacavir était de 25 SFC (spot forming cell) / million PBMC. Dans l'étude de Rozière et al, l'ELISpot était réalisé chez des patients ayant eu un exanthème maculo-papuleux à l'amoxicilline. Le nombre de SFC détecté variait en fonction de la concentration de bêtalactamines utilisée pour le test, pour un patient donné. Le seuil de positivité était de 30 interféron- γ SFC/million de PBMC pour une concentration de 1 mg/mL d'amoxicilline(36). l'ELISpot était fait sur plusieurs classes médicamenteuses. Le seuil de positivité était fixé selon la formule suivante $100 \times (\text{interféron- } \gamma \text{ avec le médicament} - \text{interféron- } \gamma \text{ avec le milieu isolé}) / (\text{interféron- } \gamma \text{ avec le milieu isolé})$. Un test était considéré comme positif pour des valeurs au-dessus de 130% avec un seuil intermédiaire à 120-129%(37).

Concernant la sensibilité de l'ELISpot, on notait des différences selon les études et le seuil de positivité fixé. Dans Trubiano et al, l'étude portait sur plusieurs types de réaction retardées (DRESS/NET/AGEP) et plusieurs classes médicamenteuses différentes. La sensibilité a été calculée à 52% (10/19 patients) pour un seuil fixé à 50 SFU/million PBMC. Cependant, la technique étant dépendante du type de réactions, de la concentration du médicament, du temps écoulé depuis la réaction, il est difficile d'interpréter la sensibilité globale de l'ELISpot dans cette étude(38). En revanche, dans l'étude de Rozière et al, la population de l'étude était plus homogène avec un seul type d'expression clinique, l'exanthème maculopapuleux, et une seule molécule testée, l'amoxicilline. La sensibilité d'ELISpot était de 90% (20/22 patients) pour un seuil de positivité de 50 SFC / million PBMC. Chaque patient avait un patch test positif à l'amoxicilline(36). L'ELISpot semble être une technique intéressante pour explorer la réponse lymphocytaire au cours des réactions d'hypersensibilité retardées dépendantes des lymphocytes T. Le choix des cytokines en fonction de la clinique présentée, le choix de la concentration de la substance testée ainsi que le temps écoulé depuis la réaction, sont des variables à considérer lors de la réalisation de l'ELISpot.

Bien que l'ELISpot ait été testé pour de nombreux médicaments (antibiotiques, allopurinol, phénytoïne, carbamazépine, inhibiteur de la pompe à protons...)(39) à ce jour, aucune étude n'a exploré la sensibilité de l'ELISpot dans les toxidermie aux produits de contraste iodés. Des tests de prolifération lymphocytaire ont été réalisés pour les produits de contraste iodés et retrouvent des résultats hétérogènes avec une sensibilité variant de 13 à 75%(12). Comme mentionné plus haut, ces cultures sont longues et dépendent de nombreuses variables telles que le temps écoulé depuis la réaction, le médicament testé et le type de mécanisme immunologique impliqué dans la réaction. De plus, lorsqu'un test est positif, l'hypothèse d'une prolifération lymphocytaire non spécifique ne peut être exclue(31). Dans l'étude de Rozière et al, un test de prolifération lymphocytaire et un test ELISpot a été réalisé chez chaque patient ayant développé une toxidermie de type EMP à l'amoxicilline. Les résultats des tests réalisés sur les 22 patients ont trouvé une sensibilité et une spécificité plus élevée pour l'ELISpot (Se : 91% ; Sp :95%) que pour le LTT (Se :68% ; Sp : 85%))(36).

La supériorité d'ELISpot sur LTT s'explique également par la possibilité de choisir le type de cytokines en fonction du type de réaction. Par exemple, dans l'étude de Klaewsongkram et al, des tests ELISpot à l'interféron γ , à l'IL 22, et au Granzyme B

ont été réalisés et comparés au sein de trois sous-groupes de patients, SJS/Lyell, DRESS et PEAG. Les résultats concernant le groupe SJS/Lyell, montrent que la sensibilité de l'ELISpot combiné à l'interféron γ /granzyme B (Se : 62,5%) est supérieure à la sensibilité de l'ELISpot interféron γ seul (Se: 50%)¹. Pour l'AGEP, la sensibilité de l'ELISpot à l'interféron γ /Granzyme B/IL-22 (88,9%) est supérieur à la sensibilité de l'Elispot IL-22/interféron γ (77,8%) elle-même supérieure à la sensibilité de l'ELISpot interféron γ /Granzyme B (55,6%), avec une sensibilité de 33% pour ELISpot interféron γ seul. La combinaison de plusieurs cytokines permet ainsi d'augmenter la sensibilité du test de 55,9% pour les PEAG(39).

Intérêt pour le typage HLA

Comme nous l'avons vu plus haut, le complexe HLA a un rôle central dans les réactions retardées médicamenteuses. Le rôle du complexe HLA est d'autant plus pertinent lorsque les réactions retardées se font sans sensibilisation préalable. De nombreuses études ont permis d'identifier une corrélation forte entre la présence de déterminants HLA et le risque de survenue de réaction retardée pour un médicament donné. L'exemple le plus parlant reste celui de l'Abacavir, traitement anti-VIH, dont la présence des allèles HLA-B*57:01, HLA-DR7 et HLA-DQ3 était associée à la survenue d'une hypersensibilité retardée dans 100% des cas (VPP=100%) et l'absence d'association entre ces allèles avaient une VPN de 97 La prévalence de l'allèle HLA-B*57:01 a été estimée à 5,6% dans une cohorte de patients VIH issus de 15 pays européen et d'Australie. Dans l'étude PREDICT-1, le dépistage de HLA B*57 :01 chez les patients VIH, a permis de réduire le taux d'hypersensibilité retardée à l'Abacavir de 7,8% à 3,4% (p= 0,001)(41). Par ailleurs dans Esser et al, il a été démontré que les patients VIH et HLA B*57:01 négatifs avec suspicion d'hypersensibilité retardée à l'Abacavir possédaient des allèles HLA-B de réactivité croisée avec l'HLA B*57 :01 [HLA-B*15(62), B*35 et B*51].

La pertinence d'un allèle HLA pour un médicament donné dépend de sa fréquence dans la population générale. Certains marqueurs HLA ont leur pertinence seulement pour un type de toxidermie donné et dans un groupe ethnique donné.

On peut notamment citer l'exemple de la carbamazépine, avec la présence de l'allèle HLA-B*15:02, fortement associée à la NET (SJS/Lyell) dans la population chinoise(42) tandis que HLA -A * 31: 01 est fortement associé aux EMP/DRESS dans les

populations européennes et chinoises (43). En ce qui concerne l'allopurinol, l'allèle HLA-B*58:01 est fortement associé à la toxidermie de type DRESS ou SJS/Lyell dans les populations chinoises, européennes, thaïlandaises, coréennes et japonaises(44). Il existe également l'allèle HLA-B*13:01 associé à la survenue de toxidermie de type DRESS syndrome ou de syndrome de SJS/Lyell induite par la dapsonne dans les populations asiatiques(45). Kovinse et al, ont signalé une forte association entre l'allèle HLA-A * 32: 01 et les syndromes DRESS induit par la vancomycine dans les populations européennes(46).

Certaines autorités sanitaires telles que la FDA (US Food and Drug Administration) ont émis des recommandations sur la recherche de déterminants HLA spécifiques avant de prescrire des molécules comme l'abacavir ou la carbamazépine. Des recommandations ont également été faites en Thaïlande sur la recherche de la présence de de déterminants HLA avant la prescription d'abacavir, de carbamazépine, de dapsonne et d'allopurinol (HLA-B*57:01, HLA-A*31:01, HLA-B*13:01 HLA-B*58:01 respectivement)(47). Ces allèles peuvent donc être utilisés à titre préventif avant de prescrire un traitement décrit comme étant pourvoyeur de toxidermie et dont l'allèle a été identifié dans la population ethnique correspondant au patient. La recherche d'un allèle HLA peut également s'inscrire dans une démarche diagnostique, pour renforcer l'imputabilité d'un médicament, notamment dans les toxidermies sévères où le test de provocation ne peut être proposé. Pour les produits de contraste iodés, la recherche d'allèle HLA associée à la survenue de toxidermie aux PCI pourrait s'avérer fort intéressante au vu de la faible sensibilité des tests cutanées dans les réactions retardées dépendantes des lymphocytes T.

À ce jour, il n'existe qu'une seule étude effectuée dans la population coréenne, portant sur la recherche de déterminants HLA spécifiques chez les patients présentant une réaction d'hypersensibilité retardée aux produits de contraste iodés. L'étude incluait 61 patients, 51 avec des réactions d'hypersensibilité immédiate, 7 avec des réactions hypersensibilité retardée, 2 avec des réactions d'hypersensibilité immédiate et retardée et 1 avec une hypersensibilité mixte (immédiate suivie de retardée). L'allèle HLA-B*58 :01 montrait une association faible dans les réactions d'hypersensibilité immédiate aux PCI dans la population coréenne. La fréquence de cet allèle est de 6,77% dans la population coréenne. Bien que l'allèle HLA*B :58 :01 ait été décrite comme facteur protecteur dans les réactions d'hypersensibilité induites par la

carbamazépine et comme facteur de risque dans les toxidermies sévères à l'allopurinol, les auteurs expliquent que l'aspect ambivalent de certains allèles HLA est compréhensible. En effet, d'un point de vue physiopathologique, c'est la conformation finale de l'HLA, du peptide du soi, du médicament et du TCR qui enclenchera ou non une réaction immunitaire, ces réactions sont donc susceptibles de varier d'un médicament à l'autre (48).

En somme, la recherche d'allèles HLA dans les différents groupes ethniques est une approche intéressante pour la prévention et le diagnostic des toxidermies médicamenteuses. Elle serait particulièrement pertinente dans les réactions retardées causées par les PCI, en regard des mécanismes physiopathologiques décrits plus haut, surtout lorsque les réactions surviennent sans sensibilisation préalable (modèle p-i).

Discussion

L'hypersensibilité médicamenteuse est une condition médicale fréquente, avec un impact majeur concernant l'éviction de l'allergène ou son remplacement qui peut être particulièrement difficile quand il s'agit de maladie grave. Les médicaments sont des allergènes difficiles à manipuler: tout d'abord, ils sont métabolisés et l'allergène réel peut être un métabolite, différant d'un patient à l'autre et difficile à extraire pour les tests de diagnostic *in vitro*. Deuxièmement, de nombreux médicaments se comportent comme des haptènes : dans ce cas, l'allergène réel sera également extrêmement difficile à reproduire pour le diagnostic *in vitro*. On sait que le dosage IgE spécifiques de médicaments est peu sensible, et le nombre de médicaments pour lesquels les tests de routine sont disponibles est faible.

Malgré l'utilité et l'efficacité des tests cutanés, la sensibilité de ces tests reste sous optimale. Il existe un besoin important de tests *in vitro* pour le diagnostic d'hypersensibilité médicamenteuse, à la fois pour l'hypersensibilité immédiate et retardée. La charge de travail et les coûts de la pratique hospitalière imposent également d'éviter les tests fonctionnels qui peuvent être parfaitement adaptés aux laboratoires de recherche, mais qui peuvent nécessiter beaucoup de main-d'œuvre trop spécialisée pour être mis en œuvre dans la pratique hospitalière courante. Nous nous concentrons ici sur l'hypersensibilité retardée, où les lymphocytes T spécifiques des allergènes sont les cellules clés, dont la détection pourrait permettre le diagnostic ; nous avons examiné plusieurs méthodes permettant la détection de lymphocytes T

spécifiques de l'antigène.

Les PCI sont une cause fréquente d'hypersensibilité immédiate et retardée ; Les alternatives disponibles sont des variantes avec le même type de cycles iodés à 6 carbones et sont souvent sources de réactivité croisée. De plus, le contexte médical lors de leur utilisation implique souvent des pathologies graves ou avec un pronostic vital ou fonctionnel engagé, la population de patients étant probablement assez fragile en moyenne. Les données actuelles sur l'interaction des PCI avec le système immunitaire sont rares. Cependant, une interaction directe avec les protéines a été démontrée (en particulier la thrombine), suggérant que ces petites molécules pourraient interagir avec certaines variantes de récepteurs des lymphocytes avec des domaines très variables tels que le TCR ou les anticorps. Une capacité directe à déclencher l'activation des lymphocytes T a également été démontrée. Enfin, l'existence de d'allèles HLA spécifiques dont la présence augmente le risque de développer une réaction, suggère également une altération possible de certaines interactions peptidiques complexes entre TCR et HLA pouvant aboutir à l'activation des lymphocytes T au développement des symptômes. Il n'existe actuellement aucun outil de diagnostic de routine *in vitro* pour l'hypersensibilité retardée au PCI. Supposer que l'activation des lymphocytes T causée par les PCI puisse être responsable des symptômes, suggère que les tests de détection des lymphocytes T spécifiques des PCI pourraient être un outil diagnostique. Compte tenu des différents tests spécifiques de lymphocytes T existants, il semble que les tests de prolifération pourraient fonctionner, mais pourraient manquer de fiabilité et de quantification, tout en nécessitant une charge de travail importante. La détection des cytokines peut se faire par dosage de masse après stimulation ou par ELISpot : cette dernière option est apparemment plus quantitative, pour une charge de travail très similaire (en l'absence de systèmes dédiés de tubes à vide similaires au Quantiferon), et a également montré sa capacité à détecter l'hypersensibilité aux médicaments. Les ELISpots, en tant qu'ELISA, existent sous la forme de kits commerciaux pour un certain nombre de cytokines ou de protéines ; Une partie de la mise en place d'un nouveau test médicamenteux est donc déjà faite et fiable.

En conclusion, il semble que l'objectif de faire un test de diagnostic d'hypersensibilité basé sur l'ELISpot soit médicalement pertinent et techniquement réalisable. Nous espérons que de tels tests seront mis en place, et nous pensons qu'ils aideront à améliorer la prise en charge des patients, notamment présentant avec des lourdes

comorbidités pour lesquels les PCI peuvent être d'une nécessité absolue.

PARTIE III : PROJET

La partie suivante est une présentation de projet de recherche clinique au sein de l'assistance publique des hôpitaux de Marseille, en lien direct avec les tests de diagnostics proposés dans la partie précédente.

DELEGATION DE LA RECHERCHE CLINIQUE ET DE L'INNOVATION DE MARSEILLE

Promotion simple AP-HM 2020

Titre du projet de recherche : Diagnostic in vitro dans les réactions d'hypersensibilité retardées aux PCI : Mise en place d'un test Elispot combiné à un typage HLA.

ACRONYME: IVADIM (In Vitro Assay in Delayed reaction with Iodinated Media)

Porteur du projet : Philippe ROBERT, MCU-PH
Laboratoire immunologie, Biogénopôle, Timone
AMU UM61 / CNRS UMR 7333 / INSERM U1067
Courriel : philippe.robert@ap-hm.fr

PÔLE D'ACTIVITÉ ou SERVICE : Clinique des Bronches-Allergologie - Pr CHANEZ
APHM Hôpital Nord

Investigateur de la recherche APHM :

Dr Philippe ROBERT, MCU-PH, laboratoire immunologie, Biogénopôle, Timone
AMU UM61 / CNRS UMR 7333 / INSERM U1067
Courriel : philippe.robert@ap-hm.fr

Investigateur de la recherche EFS :

Dr Christophe PICARD, (médecin)
Etablissement Français du Sang- Alpes Méditerranée
Courriel : Christophe.PICARD@efs.sante.fr

Investigateur coordinateur :

Pr Pascal CHANEZ, PU-PH,
Clinique des Bronches, de l'Allergie et du Sommeil
Inserm U1067, CNRS UMR 7333,
Courriel : pascal.chanez@univ-amu.fr

Méthodologiste-statisticien :

Pr Roch GIORGI, PU-PH
Médecin de Santé Publique, spécialisé en Biostatistique
Directeur de l'UMR 1252 SESSTIM.

RÉSUMÉ DU PROJET

<p>Justification</p> <p>Contexte</p>	<p>Les réactions d'hypersensibilité retardées aux produits de contraste iodés (PCI) représentent en moyenne 2-5 %(19) des injections de PCI. La majorité de ces réactions sont non graves et se manifestent par des exanthèmes maculo-papuleux mais des réactions très sévères comme les DRESS syndromes (drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms), les nécrolyses épidermiques toxiques peuvent engager le pronostic vital. La plupart de ces réactions surviennent dans des délais très courts (12-72h). Bien que les DRESS syndromes induits par les PCI surviennent habituellement dans un délai plus court (4 jours en moyenne) que le délai classique (3 à 8 semaines après le début d'un traitement(16)), on ne peut lever l'imputabilité d'un PCI injecté dans les 8 semaines précédant la survenue d'un DRESS, rendant le diagnostic difficile à affirmer.</p> <p><u>Problématique :</u></p> <p>Les explorations allergologiques des réactions retardées sont réalisées à l'aide de tests cutanés (prick test, IntraDermoRéaction et Patch Test). La sensibilité cumulée de ces tests est de 30-40%(20) et en cas de négativité (pour des réactions légères à modérées), certaines équipes proposent un test de provocation (Gold standard) avec réintroduction sous surveillance, du PCI suspecté. Lorsqu'il est proposé, dans le cas de tests cutanés négatifs, le test de provocation se positive dans 40 à 50 %(21) des cas et provoque alors une réaction cutanée.</p>
--	--

	<p>A ce jour il n'existe aucuns tests in vitro réalisable en routine pour améliorer le diagnostic des réactions d'hypersensibilité retardées induites par les PCI.</p> <p>Des test de prolifération lymphocytaire ont été utilisé à titre expérimental dans certaines études (19) et retrouvent des résultats hétérogènes avec une sensibilité variant de 13 et 75%.</p> <p>Les données de littératures rapportent un intérêt croissant pour les tests in vitro de relargage cytokinique (ELISpot) dans les réactions d'hypersensibilité retardée médicamenteuses couplée à la recherche de déterminant HLA associé pour un médicament donné.</p> <p>A ce jour, le test ELISpot et le typage HLA dans les réactions d'hypersensibilité retardée aux PCI n'a encore jamais été étudié.</p> <p>Nous émettons l'hypothèse que les patients ayant fait une toxidermie aux PCI avec tests cutanés positifs ou test de provocation positif ont un test ELISpot positif au PCI imputable.</p>
<p>Objectifs</p>	<p>L'objectif principal de cette étude est de montrer que les patients avec une hypersensibilité retardée aux PCI ont un test diagnostic positif aux PCI.</p> <p>Les objectifs secondaires sont de comparer les génotypes HLA du groupe patient et du groupe contrôle ainsi que d'une population de référence du sud-est. Et de comparer les résultats des test ELSIpot avec ceux obtenus par le test fonctionnel de quantification et d'activation des leucocytes, breveté par Philippe Robert et Olivier Theodoly du laboratoire adhésion et Inflammation. Les résultats seront analysés en sous-</p>

	groupe en fonction du PCI imputé, de la présence de sensibilisation croisée, de l'âge, du sexe, et du nombre de PCI reçu avant la réaction.
Type de la recherche	Il s'agit d'une étude expérimentale diagnostique monocentrique prospective, en ouvert, avec groupe contrôle.
Critères d'inclusion	Être âgé de 18 ans ou plus, Toxidermie imputable à un PCI survenue dans les 2 ans. Début des symptômes plus de 6H après l'exposition à un PCI avec critères cliniques de toxidermie. Pas d'autres molécules imputables. Signature du consentement de recherche et du HLA
Critères de non-inclusion	Anaphylaxie aux PCI. Refus consentements à la recherche ou au typage HLA. Sujet < 18 ans ou sous tutelle. Grossesse Présence d'un diagnostic différentiel.
Mode de recrutement	Patients : consultation de dermatologie ou d'allergologie pour exploration d'une hypersensibilité retardée à un produit de contraste iodé. Contrôles : patients hospitalisés au sein de l'AP-HM qui ont déjà reçu dans les 24 derniers mois une injection de PCI et qui n'ont pas réagi. Les patients ayant reçu une injection de PCI dans un délai inférieur à 2 mois seront rappelés à 2 mois de l'injection pour vérifier de l'absence de survenue de réaction retardée.
Centre	Tout service AP-HM et en particulier : APHM clinique des Bronches hôpital Nord APHM service de dermatologie- Hôpital Nord

	APHM service de dermatologie- Hôpital Timone
Critères de jugement	<p>CJP : Avoir un test ELISpot positif chez au moins 85% des patients avec tests cutanés ou test de provocation positif au PCI suspect.</p> <p>CJS : -Présence significative d'un ou plusieurs déterminant HLA dans le groupe malade en comparaison avec le groupe contrôle et la population de référence.</p> <p>-Présence d'une activation des lymphocytes T spécifiques sur la surface brevetée, lors de la présentation de l'antigène par les monocytes après mise en solution des PBMC avec les PCI.</p>
Taille de l'étude	NSN : 153 personnes: 50 cas, 103 contrôles.
Durée de la recherche	36 mois, période d'inclusion 30 mois
Bénéfice/risque attendu	<p>Identification de PCI imputable à l'aide de test positif, et l'identification de la présence d'un groupement HLA prédominant dans la population de patient. Mise en place d'outil diagnostic fiable. Diminution des risques attendus lors de la réalisation de test cutané ou de test de provocation.</p> <p>Le risque attendu comporte la survenue d'ecchymoses, douleurs au point de ponction.</p>
Analyse statistique des données	<p>Description des variables adaptée seront leur nature quantitative ou qualitative.</p> <p>Méthode de la courbe ROC, avec estimation de son aire sous la courbe, pour évaluer les performances diagnostiques du test ELISpot et identifier la valeur seuil</p>

optimale en termes de sensibilité et de spécificité, et estimation de leurs intervalles de confiance à 95 % respectifs.

Comparaisons des génotypes HLA du groupe de patients ayant une hypersensibilité retardée aux PCI à ceux du groupe contrôle par le test du chi-deux, ou par le test de Fisher selon les conditions de validités.

II - Introduction et justification de la recherche :

Les réactions d'hypersensibilité retardées aux PCI représentent en moyenne 2-5 %(19) des injections de PCI. La majorité de ces réactions sont non graves et se manifestent par des exanthèmes maculo-papuleux mais des réactions très sévères comme les DRESS syndromes (drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms), les nécrolyse épidermique toxiques peuvent engager le pronostic vital. La plupart de ces réactions surviennent dans des délais très courts (12-72h). Bien que les DRESS syndromes induits par les PCI surviennent habituellement dans un délai plus court (4 jours en moyenne), que le délai classique (3 à 8 semaines après le début d'un traitement)(16), on ne peut lever l'imputabilité d'un PCI injecté dans les 8 semaines précédant la survenue d'un DRESS, rendant le diagnostic d'imputabilité difficile à affirmer.

Problématique :

Les explorations allergologiques des réactions retardées sont réalisées à l'aide de tests cutanés (prick test, IntraDermoRéaction et Patch Test). La sensibilité cumulée de ces tests est de 30-40%(20) et en cas de négativité (pour des réactions légères à modérées), certaines équipes proposent un test de provocation (Gold standard) avec réintroduction sous surveillance, du PCI suspecté. Lorsque le TP est proposé, dans le cas de tests cutanés négatifs, le test de provocation se positive dans 40 à 50 %(21) des cas et provoque alors une réaction cutanée.

A ce jour il n'existe aucuns tests in vitro réalisable en routine pour améliorer le diagnostic des réactions d'hypersensibilité retardées imputable aux PCI.

Des test de prolifération lymphocytaire ont été utilisé à titre expérimental dans certaines études (19) et retrouvent des résultats hétérogènes avec une sensibilité variant de 13 et 75%.

Les données de littératures rapportent un intérêt croissant pour les tests in vitro de relargage d'interféron γ (ELISpot) dans les réactions d'hypersensibilité retardée médicamenteuses couplée à la recherche d'allèles HLA spécifique pour un médicament donné.

A ce jour, le test ELISpot et le typage HLA dans les réactions d'hypersensibilité retardée au PCI n'a encore jamais été étudié.

III - Données de la littérature et prérequis

La physiopathologie des réactions retardées est mal connue. La clinique de ces réactions retardées est hétérogène et présente des manifestations cutanées diverses. Plusieurs hypothèses physiopathologiques existent et peuvent expliquer les mécanismes de l'hypersensibilité retardée. Ces hypothèses ne sont pas exclusives les unes des autres et peuvent interagir de façon complémentaire. Le modèle haptène est décrit pour une réaction immunitaire déclenché par l'interaction d'un médicament avec un complexe protéique. Cette théorie a été revue sous le concept pro-haptène où la réaction immunitaire est induite lorsque des métabolites de médicaments se lient à des protéines et forment un néo-antigène. Les cellules présentatrice de l'antigène interagissent avec les lymphocytes T par les TCR ou le HLA induisant une réponse humorale comme l'anaphylaxie ou cellulaire dans les réactions retardées médiées par les lymphocytes T. Dans le modèle du répertoire du soi altéré, le médicament va se lier de façon non covalente dans la poche de liaison peptidique du HLA, et modifier la sélection du peptide du soi et donc provoquer l'interaction avec le TCR enclenchant une réponse immunitaire. Dans le concept p-i, le médicament (ou son métabolite) se lie de façon non covalente au TCR ou au HLA et active une réponse lymphocytaire T. Cette dernière hypothèse, permet de comprendre pourquoi certains médicaments, comme les PCI par exemple, induisent une réaction d'hypersensibilité au premier contact sans sensibilisation préalable.(22–24)

Dans Torres et al,(30) les biopsies cutanées réalisées après tests cutanés et test de provocation montraient un contingent de lymphocytes T en immunohistochimie. La réponse lymphocytaire des différentes toxidermies médicamenteuses a été étudiée(31) et il a été mis en évidence que les pustuloses exanthématiques aiguës généralisées (PEAG) généraient une réponse TH1 (LT CD4) alors que l'Érythème Pigmenté Fixe (EPF) et la Nécrolyse épidermique toxique (NET) mobilisaient une réponse LT CD8. L'étude des sous-populations de lymphocytes a permis d'identifier la réponse cytokinique lors des différentes réactions cutanées. Ainsi, dans Pitcher et al, quatre types de réponses ont été décrites, divisant la réaction de type IV de la

classification de Gell et coombs en 4 sous types(32) : Le type IVa se manifeste cliniquement par un eczema de contact, avec sécrétion d'interféron γ , TNFa et IL18. Les médiateurs cellulaires impliqués sont le TH1 et les macrophages. Le type IVb correspond à l'exanthème maculopapuleux et au DRESS syndrome avec la sécrétion d'IL4, d'IL5 et d'IL13. On distingue une première phase TH2 et une seconde phase avec recrutement des éosinophiles, lymphocytes B, IgE, IgG4, mastocytes. Le type IVc est impliqué dans l'érythème polymorphe, le syndrome de Steven-Johnson/Nécrolyse épidermique toxique (SJS/TEN), l'érythème pigmenté fixe (FDE, Fixed Drug Erythema), et les lésions hépatiques d'origine médicamenteuse (DILI, Drug-Induced Liver Injury). La réponse LT cytotoxique du type IVc recrute Granzyme B, Perforine, Fas Ligand et Granulysine et induit une nécrose cellulaire immédiate(33). Dans le type IVd, la PEAG (pustulose exanthématique aiguë généralisée) va recruter une première phase TH1/TH17 et une deuxième phase neutrophilique. Les médiateurs du type IV sont le GM-CSF, l'IL-8 et le CXCL8.

Face à ces diverses présentations cliniques, il serait tout à fait envisageable d'explorer la réponse T spécifique impliquée lors des différentes toxidermies.

Les tests allergologiques in vitro sont la pierre angulaire de l'exploration des allergies médicamenteuses. Depuis plusieurs années, les chercheurs se sont intéressés aux tests in vitro (Test d'Activation des Basophiles, Lymphocyte Transformation Test) pour leur caractère inoffensif et leur potentiel apport diagnostique.

Les données de littérature rapportent un intérêt croissant pour les tests in vitro de relargage cytokinique par les lymphocytes T (ELISpot) dans les réactions d'hypersensibilité retardée médicamenteuses couplée à la recherche d'allèles HLA spécifiques.

L'ELISpot (Enzyme-linked Immunospot) est un test élaboré dans les années 1980 à partir de la technique ELISA. Cette technique a pour objectif de détecter la présence de cytokines et de quantifier la réponse lymphocytaire. L'ELISpot est utilisé dans la recherche pour les vaccins, cancers, maladie auto-immune et en allergologie. L'ELISpot est réalisé à partir de PBMC (peripheral blood mononuclear cell) de patients (ayant eu une toxidermie). Les PBMCs sont déposés sur une plaque PDVF à 96 puits recouverte d'anticorps anti-interféron γ (ou IL4, IL5, Granzyme B..) et mis en culture avec le médicament suspect. En cas de réponse des lymphocytes du patient au

contact du médicament, les lymphocytes sécrètent de l'interféron γ (ou autre cytokines testées). L'interféron γ est alors capté par les anticorps anti-interféron γ . Après des lavages successifs, la liaison anticorps anti-interféron γ /antigène (interféron γ) est révélée par un anticorps anti-immunoglobuline biotinylé couplé à une enzyme conjuguée à la streptavidine, puis une réaction colorimétrique produit un spot. Chaque spot correspond à une cellule sécrétrice (LT).

L'ELISpot a été testé dans les toxidermies médicamenteuses avec plusieurs molécules. Le seuil de positivité du test était fixé différemment d'une étude à l'autre en fonction du médicament testé et du type de réaction explorée. Dans Esser et al(35), un test ELISpot était réalisé chez des sujets ayant eu une réaction d'hypersensibilité retardée à l'abacavir. Le seuil de détection de l'ELISpot abacavir était de 25 SFC (spot forming cell)/ million PBMC. Dans l'étude de Rozière et al, l'ELISpot était réalisé chez des patients ayant eu un Exanthème Maculo-Papuleux à l'amoxicilline. Le nombre de SFC détecté variait en fonction de la concentration de bêtalactamines utilisée pour le test, pour un patient donné. Le seuil de positivité était de 30 interféron- γ SFC/million de PBMC pour une concentration de 1 mg/mL d'amoxicilline(36). Dans Goldberg et al, l'ELISpot était fait sur plusieurs classes médicamenteuses. Le seuil de positivité était fixé selon la formule suivante : $100 \times (\text{interféron- } \gamma \text{ avec le médicament} - \text{interféron- } \gamma \text{ avec le milieu isolé}) / \text{interféron- } \gamma \text{ avec le milieu isolé}$. Un test était considéré comme positif pour des valeurs au-dessus de 130% avec un seuil intermédiaire à 120-129%(37).

Concernant la sensibilité de l'ELISpot, on notait des différences selon les études et le seuil de positivité fixé. Dans Trubiano et al, l'étude portait sur plusieurs types de réaction retardées (DRESS/NET/AGEP) et de médicaments différents. La sensibilité a été calculée à 52% (10/19 patients) pour un seuil fixé à 50 SFU/million PBMC. Cependant, la technique étant dépendante du type de réaction, de la concentration du médicament, du temps écoulé depuis la réaction, il est difficile d'interpréter la sensibilité globale de l'ELISpot dans cette étude(38). En revanche dans Rozière et al, l'étude était plus homogène avec un seul type d'expression clinique, l'exanthème maculo-papuleux, et une seule molécule testée, l'amoxicilline. La sensibilité de l'ELISpot était de 90% (20/22 patients) pour un seuil de positivité fixé à 50 SFC/million de PBMC. Tous les patients avaient un patch test positif à l'amoxicilline(36). L'ELISpot

apparaît comme une technique intéressante pour explorer la réponse lymphocytaire lors des réactions d'hypersensibilité retardée médiée par les lymphocytes T. Le choix des cytokines en fonction de la clinique présentée, le choix de la concentration de la substance testée ainsi que le temps écoulé depuis la réaction, sont des variables à considérer lors de la réalisation de l'ELISpot.

Bien que l'ELISpot ait été testé pour de nombreux médicaments (antibiotiques, allopurinol, phénytoïne, carbamazépine, inhibiteur de la pompe à protons...)(39) aucune étude n'a à ce jour exploré la sensibilité de l'ELISpot dans les toxidermies aux produits de contraste iodés. Des tests de prolifération lymphocytaire ont été réalisés pour les produits de contraste iodés et retrouvent des résultats hétérogènes avec une sensibilité variant de 13 à 75%(12). Les tests de prolifération lymphocytaire sont également réalisés à partir de PBMC de patients qui sont mis en culture avec le médicament à tester. La culture dure en général 6 jours et nécessite l'incorporation de thymidine tritiée. La réponse positive se traduit par une prolifération lymphocytaire au contact du médicament. Ces cultures sont longues et soumises à de nombreuses variables comme le temps écoulé depuis la réaction, les médicaments testés et le type de réaction. De plus, lorsqu'un test est positif, l'hypothèse d'une prolifération lymphocytaire non spécifique ne peut être exclue(31). Dans l'étude de Rozière et al, un test de prolifération lymphocytaire et un test ELISpot a été réalisé chez chaque patient avec EMP à l'amoxicilline. Les résultats des tests réalisés sur les 22 patients ont trouvé une sensibilité et spécificité plus élevée pour l'ELISpot (Se : 91% ; Sp : 95%) que pour le LTT (Se : 68% ; Sp : 85%)(36).

La supériorité de l'ELISpot par rapport au LTT s'explique également par la possibilité de choisir le type de cytokines en fonction du type de réaction. Par exemple, dans l'étude de Klaewsongkram, des tests ELISpot à l'interféron γ , l'IL 22, Granzyme B ont été réalisés et comparés au sein de trois sous-groupes de patients, SJS/Lyell, DRESS et PEAG. Les résultats concernant le SJS/Lyell, montrent que la sensibilité de l'ELISpot combiné interféron γ /granzyme B (Se : 62,5%) est supérieure à la sensibilité de l'ELISpot interféron γ seul (Se : 50%)(39). Pour l'AGEP, la sensibilité de l'ELISpot à l'interféron γ /Granzyme B /IL-22 (88,9%) est supérieure à la sensibilité de l'ELISpot IL-22/Interféron γ (77,8%) elle-même supérieure à la sensibilité de l'ELISpot interféron γ /Granzyme B (55,6%), avec une sensibilité de 33% pour l'ELISpot interféron γ seul. La

combinaison de plusieurs cytokines permet ainsi d'augmenter la sensibilité du test de 55,9% pour les AGEP.

Comme nous l'avons vu plus haut, le complexe HLA joue un rôle central dans les réactions retardées médicamenteuses LT médiée. Le rôle du complexe HLA est d'autant plus significatif lorsque les réactions retardées se font sans sensibilisation préalable. De nombreuses études ont permis d'identifier une corrélation forte entre la présence d'allèles HLA et le risque de survenue de réaction retardée pour un médicament donné. L'exemple le plus parlant reste celui de l'Abacavir, traitement anti-VIH, dont la présence des allèles HLA-B*57 :01, HLA-DR7 et HLA-DQ3 était associée à la survenue d'une hypersensibilité retardée dans 100% des cas (VPP=100%) et l'absence d'association entre ces allèles avait une VPN de 97%(40). La prévalence de l'allèle HLA-B*57 :01 a été estimée à 5,6% dans une cohorte de patients VIH issus de 15 pays européen et d'Australie. Dans l'étude PREDICT-1, le dépistage de HLA B*57 :01 chez les patients VIH, a permis de réduire le taux d'hypersensibilité retardée à l'Abacavir de 7,8% à 3,4% (p= 0,001)(41). Par ailleurs dans Esser et al, il a été démontré que les patients VIH et HLA B*57 :01 négatifs avec suspicion d'hypersensibilité retardée à l'Abacavir possédaient des allèles HLA-B de réactivité croisée avec l'HLA B*57 :01 [HLA-B*15(62), B*35 et B*51](35).

La pertinence d'un allèle HLA pour un médicament donné dépend de sa fréquence dans la population générale. Certains marqueurs HLA ont leur pertinence seulement pour un type de toxidermie donné et dans un groupe ethnique donné.

On peut notamment citer l'exemple de la carbamazépine, avec la présence de l'allèle HLA-B*15 :02, fortement associée à la NET (SJS/Lyell) dans la population chinoise(42) alors que le HLA-A*31 :01 est fortement associée aux EMP/DRESS dans les populations européennes et chinoises(43). Concernant l'allopurinol, l'allèle HLA-B*58 :01 est fortement associée aux toxidermies DRESS ou SJS/Lyell dans les populations chinoises, européennes, thaïlandaises, coréennes et japonaises(44). On peut citer également l'allèle HLA-B*13 :01 associée à la survenue d'un DRESS ou SJS/Lyell induite par la Dapsone dans les populations asiatiques(45). Kovinse et al, ont rapporté une forte association entre l'allèle HLA-A*32 :01 et les DRESS induit par la vancomycine dans les populations européennes(46). Certaines autorités de santé comme la FDA (US Food and Drug Administration) ont émis des recommandations sur la recherche d'allèles HLA avant la prescription d'abacavir ou de carbamazépine. Des

recommandations ont été faite en Thaïlande sur la recherche d'allèles HLA avant la prescription d'Abacavir, de Carbamazépine, de Dapsone et d'Allopurinol (HLA-B*57 :01, HLA-A*31 :01, HLA-B*13 :01 HLA-B*58 :01 respectivement)(47). Ces allèles peuvent donc être utilisées à titre préventif avant prescription d'un traitement décrit dans la littérature comme pourvoyeur de toxidermie et dont l'allèle a été identifié dans le groupe ethnique correspondant au patient. Le recherche d'allèle HLA peut aussi s'inscrire dans une démarche diagnostic, pour renforcer l'imputabilité d'un médicament, d'autant plus dans les toxidermies sévères où le test de provocation ne peut être proposé. Concernant les produits de contraste iodés, la recherche d'allèle HLA associée à la survenue de toxidermie aux PCI pourrait s'avérer fort intéressante au vu de la faible sensibilité des tests cutanées dans les réactions retardées LT médiées. A ce jour, on retrouve qu'une seule étude ayant menée dans la population coréenne, une recherche d'allèle HLA chez des patients avec hypersensibilité retardée aux produits de contrastes iodés. L'étude incluait 61 patients, 51 avec des réactions d'hypersensibilité immédiate, 7 avec hypersensibilité retardée, 2 avec hypersensibilité immédiate et retardée et 1 avec hypersensibilité mixte (immédiate suivie de retardée). L'allèle HLA-B*58 :01 montrait une association faible dans les réactions d'HS immédiate aux PCI dans la population coréenne. La fréquence de cet allèle est de 6,77% dans la population coréenne. Bien que l'allèle HLA-B*58 :01 ait été décrite comme facteur protecteur dans les réactions d'HS induites par la Carbamazépine et comme facteur de risque dans les toxidermies sévères à l'Allopurinol, les auteurs expliquent que l'aspect ambivalent de certains allèles HLA est compréhensible. En effet, d'un point de vue physiopathologique, c'est la conformation finale de l'HLA, du peptide du soi, du médicament et du TCR qui enclenchera ou non une réaction immunitaire, ces réactions sont donc susceptibles de varier d'un médicament à l'autre(48).

En somme, la recherche d'allèle HLA dans les différents groupes ethniques est une approche intéressante pour le diagnostic et la prévention de toxidermie médicamenteuse. Elle serait particulièrement pertinente dans les réaction retardé LT médiée induite par les PCI au vu des mécanismes physiopathologiques supposés dans ce groupe pharmacologique (modèle p-i dans les réactions sans sensibilisation préalable).

IV – Objectifs de la recherche :

Nous émettons l'hypothèse que les patients ayant présenté une réaction d'hypersensibilité retardée aux PCI, ont un test ELISpot positif au PCI imputable.

L'objectif principal de cette étude est de montrer que les patients avec une hypersensibilité retardée aux PCI ont un test diagnostique positif au PCI. La sensibilité attendue est d'au moins égale à 85%, la spécificité attendue est d'au moins égale à 95%.

Les objectifs secondaires sont de comparer les génotypes HLA du groupe patient et du groupe contrôle ainsi que d'un groupe de référence (population du sud-est) préalablement publié(49) et d'identifier la présence d'un allèle spécifique dans le groupe patient.

Une comparaison des test ELISpot sera également faite avec le test fonctionnel d'activation lymphocytaire. Le groupe d'Olivier Théodoly et Philippe Robert au Laboratoire Adhésion et Inflammation a breveté un type de test fonctionnel original de quantification de l'activation des leucocytes, qui vise à être un test fonctionnel demandant un minimum de main-d'œuvre et de ce fait utilisable à grande échelle à l'hôpital.. Ce test est composé d'une lamelle de verre sur laquelle sont imprimés des centaines de micro-motifs d'anticorps composés de plusieurs zones distinctes. Ici, dans chaque motif une première zone vise à capturer un monocyte du prélèvement sanguin par un anticorps CD14. Plusieurs zones immédiatement alentour portent CD69. Le principe du test est de déposer les PBMC du patient sur la lamelle, avec l'antigène d'intérêt en solution. Les monocytes vont être capturés par les zones CD14, endocyter l'antigène et le présenter aux lymphocytes T sur leurs molécules HLA. Si des lymphocytes t spécifiques sont présents, ceux-ci vont s'activer au contact des monocytes et exprimer CD69. Leur membrane sera alors capturée par les zones portant l'anticorps CD69. Le contact étroit des membranes plasmiques avec la surface de verre provoqué par l'adhésion par les anticorps crée un contraste interférentiel observable en microscopie optique en réflexion : la détection de l'activation cellulaire de nécessite aucun marquage. Un prototype où les lymphocytes T sont activés par

des zones portant les anticorps CD3 et CD28 fonctionne ; un prototype où les lymphocytes T doivent être activés spécifiquement par l'antigène présenté par les monocytes est en test. Cet essai secondaire permettra de tester une application médicale en conditions réelles.

La réactivité croisée entre les différents PCI sera testée dans le groupe patient, conformément aux tests cutanés préalablement réalisés.

Les résultats seront analysés en sous-groupe en fonction du type de toxidermie, du PCI imputé, présence de sensibilisation croisée, de l'âge, du sexe, et du nombre de PCI reçu avant la réaction, en fonction du temps écoulé entre la réaction et le test.

V- Plan expérimental :

(a) Choix du plan expérimental et justification

Il s'agit d'une étude expérimentale diagnostique, monocentrique, prospective, en ouvert, avec groupe contrôle.

(b) Mode de recrutement

Les patients seront recrutés au sein des hôpitaux de l'AP-HM, à l'occasion de la consultation de dermatologie ou d'allergologie pour exploration d'une hypersensibilité retardée à un produit de contraste iodé.

Les principaux centres recruteurs seront les services :

APHM clinique des Bronches Hôpital Nord

APHM service de dermatologie- Hôpital Nord

APHM service de dermatologie- Hôpital Timone

(c) Justification du bénéfice/risque attendu

Le risque attendu comporte la survenue d'ecchymoses, douleurs au point de ponction.

Le bénéfice attendu est la mise en place d'une aide diagnostic fiable. Cela permettrait au praticien de sélectionner les PCI à réintroduire chez le patient en choisissant des PCI dont le test ELISpot est négatif. Cela permettrait à terme d'éviter les journées d'hospitalisation de jour pour réalisation de test de provocation. L'identification de la présence d'un groupement HLA prédominant dans la population de patients permettrait également d'apporter un support diagnostic supplémentaire et pourrait devenir à terme un outil de dépistage. La mise en place de ces outils permettrait également la réduction du risque lié aux tests de provocation (recrudescence des symptômes lors de test de provocation positif).

Le risque attendu comporte la survenue d'ecchymoses, douleurs au point de ponction. Le bénéfice attendu étant bien plus important que le risque possible.

(d) nombre de sujets nécessaire

En considérant que la sensibilité estimée du test est de 0,85, avec un intervalle de confiance à 95 % de demi-largeur de 0,10, en situation bilatérale, il faut inclure au moins 49 patients ayant une hypersensibilité retardée aux PCI (cas) dans l'étude. Afin d'augmenter la taille de l'échantillon contrôle HLA, nous incluons pour cette étude 2 témoins (groupe contrôle) pour 1 cas, en considérons témoins un patient qui n'a pas eu de réaction retardée au bout de 2 mois. Ainsi, le nombre de sujets à inclure est de 50 cas et 103 contrôles (incidence de 0,5-3% des réactions retardées, prévision de 3 personnes du groupe contrôle pouvant développer une réaction).

(e) Critères d'inclusions :

Être âgé de 18 ans ou plus,

Toxidermie imputable à un PCI survenue dans les 2 ans.

Début des symptômes plus de 6H après l'exposition à un PCI avec critères cliniques de toxidermie.

Pas d'autres molécules imputables.

Signature du consentement de recherche et du HLA

(f) Critère de non-inclusion :

Anaphylaxie aux PCI.

Refus consentements à la recherche ou au typage HLA.

Sujet < 18 ans ou sous tutelle.

Grossesse

Présence d'un diagnostic différentiel.

(g) Durée d'inclusion par personne :

La durée d'inclusion par personne est de 2 mois (Délais maximal de survenue d'une toxidermie après exposition à un PCI dans le groupe contrôle.)

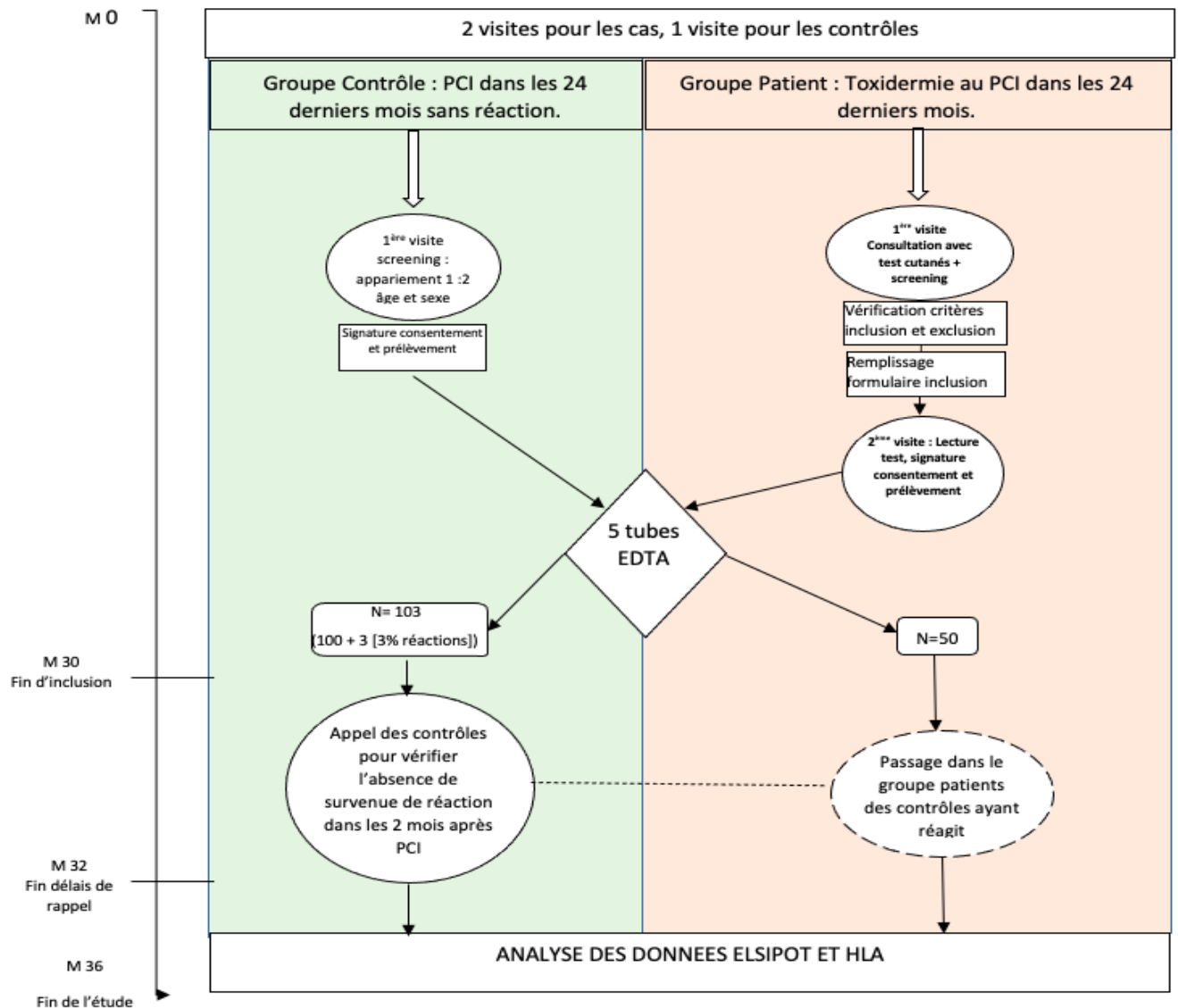
(h) Période d'inclusion :

La période d'inclusion des patients et contrôles est de 32 mois, soit 30 mois d'inclusion et 2 mois de suivi des derniers patients inclus avec injection de PCI inférieure à deux mois.

VI – Schéma et conduite de la recherche :

(a) suivi des patients (flow-chart) :

Flow-chart :



1- Chronologie et contenu des visites

L'étude comportera une première visite pour le groupe malade avec consultation médicale (interrogatoire médical avec remplissage d'un formulaire d'information par le praticien: nom, prénom, date de naissance, principaux antécédents, traitements au

long cours, date de début de la réaction, type de réaction, durée de la réaction, présence de signes systémiques, perturbation du bilan sanguin (si réalisé), nécessité d'hospitalisation, traitements imputables), informations et signature de consentement, puis prélèvement sanguin lors de la lecture retardée des tests lors d'une seconde visite. Le moment de la lecture retardée pourra être ajusté au délai d'apparition de la toxidermie. Chaque cas sera apparié par type de PCI et par sexe à une personne du groupe contrôle.

2- Actes, examens et prélèvements

Le prélèvement consiste en 5 tubes de sang EDTA soit un total de 20 mL (compatible avec Loi Jardé Catégorie 2 : volume maximal pour adulte 30-70kg : 24-56 mL).

Chaque prélèvement sera précédé de la signature d'un consentement à l'utilisation de produits biologiques à des fins de recherche, ainsi qu'un consentement pour la réalisation d'examens des caractéristiques génétiques d'une personne.

3- Lieu de réalisation des examens, des prélèvements et des dosages

Le prélèvement pourra se faire au centre de prélèvement de l'hôpital Nord (Pôle thorax RDC pavillon étoile) ou au centre de prélèvement du Biogénopole (Timone). Les informations personnelles du patient, le médecin prescripteur, service, laboratoire destinataire et les renseignements cliniques (type de toxidermie, nom du PCI, temps écoulé depuis le début des symptômes) seront saisies sur un bon spécifiquement édité pour l'étude. Le prélèvement pourra également se faire par les IDE des services de consultation ou d'hospitalisation conventionnel. Des kits contenant les tubes de prélèvements et le bon spécialisé seront mis à disposition des différents centres de recrutements.

Le groupe contrôle sera constitué d'échantillons prélevés chez des patients hospitalisés volontaires (dans les centres de recrutement cités ci-dessus) qui ont déjà reçu dans les 12 derniers mois une injection de PCI et n'ont pas réagi.

Les tubes devront être acheminés dans les 24h au laboratoire d'immunologie (Biogénopole Timone) et à l'EFS Baille.

Quatre tubes EDTA seront préparés pour extraction de PBMC en séparant les éléments du sang par solution de Ficoll. Ces PBMC seront mis en culture dans des kits ELISpot (U-cyTech) avec les différents PCI à tester, à différentes concentrations. Plusieurs types de réponses cytokiniques seront étudiées (interféron γ , IL 4, IL 5...) afin de maximaliser la sensibilité du test. La lecture des tests se fera après 24-72h d'incubation. Le résultat du test sera visualisé à l'aide d'un microscope optique. La lecture du résultat au microscope optique se fera par le décompte de spots colorés.

Un tube EDTA sera reçu par le laboratoire HLA (149, Bd baille, Marseille) de l'EFS PACC. Après enregistrement de la demande et extraction de l'ADN par l'automate Chemagic®, le typage des 11 loci HLA sera réalisé par la solution NG-MIX (Etablissement Français du Sang) et interprétés par le logiciel TSV2 (Thermofisher). Les typages HLA seront de niveaux basse et haute résolution (ex : A*02 et A*02 :01)

(b) Durée totale prévisionnelle de la recherche

La durée totale prévisionnelle de la recherche est de 36 mois :

-32 mois de période d'inclusion dont 30 mois d'inclusion de patients et 2 mois de suivi des derniers contrôles inclus avec injection de PCI inférieure à deux mois.

-4 mois de vérification de la qualité des données, analyse, rédaction, ...

VII- Critère d'évaluation, variable mesurée

Le critère de jugement principal porte sur la positivité du test ELISpot. Le test ELISpot doit être positif dans au moins 85 % des cas lorsque les patients ont un test cutané positif ou un test de provocation positif au PCI suspect.

Deux situations cliniques possibles :

-Toxidermie avec nom du PCI connu : Le PCI suspect est testé ainsi que d'autres PCI afin de trouver une alternative en cas de test cutané positif au PCI suspect.

-Toxidermie sans informations sur le PCI utilisé : batterie PCI en test cutané :

1) Test cutané positif au PCI suspect (M+) : Éviction stricte du PCI suspect et proposition test de provocation PCI alternatif (de classe différente) avec test cutané négatif :

a) Test de provocation PCI alternatif négatif : Autorisation de réintroduction

b) Test de provocation PCI alternatif positif : TP 2e PCI alternatif

2) Test cutané négatif au PCI suspect : proposition test de provocation PCI suspect

a) Test de provocation PCI suspect négatif : réintroduction tous PCI (M-)

b) Test de provocation PCI suspect positif (M+) : Éviction PCI suspect et test de provocation PCI alternatif.

		ELISpot +	ELISpot -
M+	TC et TP positif au PCI suspect	VP	FN
	TC négatif et TP PCI suspect positif	VP	FN
M-	TC et TP négatif PCI suspect	FP	VN

Des tests ELISpot seront également réalisés sur les PCI alternatifs testés mais l'analyse des données sera faite en sous-groupe.

Concernant les critères de jugement secondaires, la variable mesurée pour le critère de jugement secondaire "typage HLA" sera la présence d'un ou plusieurs déterminant HLA dans le groupe malade en comparaison avec le groupe contrôle et une population de référence du sud-est de la France déjà publiés. Le test du chi² (χ^2) ou le test de Fisher sera utilisé pour analyser les données catégorielles entre les groupes. Un risque $p < 0,05$ sera considérée comme statistiquement significative. La valeur p corrigée pour les comparaisons multiples entre les allèles HLA sera calculée en appliquant la correction de Yates(49).

Concernant le test fonctionnel d'activation lymphocytaire sur surface micro-imprimée, la variable mesurée pour le critère de jugement secondaire sera la présence d'une activation lymphocytaire ou non au contact des PBMC des patients mise en solution avec un ou plusieurs PCI.

VIII – Gestion des données et statistiques :

1. Gestion des données :

Toutes les données recueillies dans le cadre de cette étude seront intégrées dans les cahiers d'observation. Un monitoring sera réalisé sur l'ensemble des cahiers d'observation.

L'analyse statistique ne sera effectuée qu'après vérification de la saisie et de la cohérence des données. Les données seront archivées par le promoteur.

2. Analyses statistiques :

Les variables quantitatives seront décrites à l'aide des paramètres suivants : valeur minimale, valeur maximale, médiane, moyenne et écart-type.

Les variables qualitatives seront décrites à l'aide des paramètres suivants : effectif et pourcentage.

La performance du test ELISpot pour identifier les patients ayant une hypersensibilité retardée aux PCI (cas) sera étudiée par la méthode non paramétrique de la courbe ROC (Receiver Operating Characteristic) avec estimation de son aire sous la courbe (AUC). Cette approche permettra de déterminer la valeur seuil optimale du test ELISpot en termes de sensibilité et de spécificité et d'estimer leurs intervalles de confiance à 95 % respectifs.

Les comparaisons des génotypes HLA du groupe de patients ayant une hypersensibilité retardée aux PCI à ceux du groupe contrôle seront effectuées par le test du chi-deux, ou par le test de Fisher selon les conditions de validités.

L'analyse statistique sera effectuée en situation bilatérale et les tests statistiques seront considérés comme statistiquement significatif pour $p \leq 0,05$.

IX Gestion des événements indésirables graves (EIG)

Aucun événement indésirable grave est attendu pour cette étude.

X – Aspects légaux et éthiques

La recherche sera conduite dans le respect de la réglementation française en vigueur, notamment les dispositions relatives aux recherches impliquant la personne humaine : la loi n° 2012-300 du 5 mars 2012 relative aux recherches impliquant la personne humaine et ses décrets d'application, les lois de Bioéthique (si applicable), la loi N°78-17 du 6 janvier 1978 modifiée relative à l'Informatique, aux fichiers et aux Libertés, la déclaration d'Helsinki, et les Bonnes Pratiques Cliniques.

Cette recherche est également conforme au Règlement relatif à la protection des personnes physiques à l'égard du traitement des données à caractère personnel et à la libre circulation de ces données, et abrogeant la directive 95/46/CE (règlement général sur la protection des données ou RGPD).

Ce protocole sera soumis à l'avis d'un CPP (Comité de Protection des Personnes) comme prévu par la loi Jardé pour les Recherches Impliquant la Personne Humaine de catégorie 2A, c'est à dire portant sur une recherche interventionnelle avec risque et contrainte minime.

Une veille réglementaire sera réalisée par le promoteur.

Le participant sera informé de la nature des informations traitées, de leur finalité, de l'identité des personnes physiques et morales destinataires de ces données. Il conservera un droit d'accès et de rectification de ces données par l'intermédiaire d'un médecin de son choix, ainsi que d'un droit d'opposition. [B5] Les résultats globaux de l'étude peuvent être communiqués aux sujets et leurs représentants à leur demande, directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de leur choix.

PARTIE IV- Partie expérimentale :

I- Préparation des PBMC :

Le matériel biologique nécessaire à la réalisation des tests ELISpot se prépare à partir d'échantillon de sang total de patients sur tube EDTA. Les PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells) doivent être extraites dans les 24h suivant le prélèvement afin d'obtenir un maximum de cellules mononuclées viables.

Matériel utilisé :

- Milieu de séparation des lymphocytes (Eurobio®) : composé de Diatrizoate et de Ficoll® 400 (copolymère hydrophile de saccharose et d'épichlorhydrine)
- Centrifugeuse (Rotina 420, HettichLab®)
- Hotte de culture cellulaire (HERA safe, THERMO SCIENTIFIC®)
- Incubateur à CO2 (HERA cell 150i THERMO SCIENTIFIC®)
- Milieu de culture RPMI
- SVF: Sérum de Veau Fœtal
- Glutamate
- Mélange pénicilline/streptomycine
- PBS
- Bleu tryptan
- Petit matériel de laboratoire : micropipette manuelle et électrique, tubes à centrifuger 50 et 15 ml, tube coniques type Eppendorf®...

Divers protocoles existent concernant l'extraction des PBMC. Le protocole suivant est celui utilisé dans le laboratoire de recherche AMU UM61 / CNRS UMR 7333 / INSERM U1067.

En condition stérile sous hotte :

1. Diluer le sang à 50 % avec du PBS dans des tubes à centrifuger de 15mL et pipetter plusieurs fois pour homogénéiser la solution.
2. Ajouter délicatement et progressivement à l'aide d'une pipette électrique le milieu de séparation des lymphocytes. Si la manœuvre est bien réalisée, le milieu de séparation reste au-dessus de la fraction de sang dilué, sans se mélanger.

3. Centrifugation à 1800 RPM, accélération : valeur à 5, sans freinage pendant 30 minutes

Après centrifugation le tube va comporter plusieurs phases avec à la partie supérieure du tube le plasma, puis un disque blanchâtre comportant les cellules mononucléées, puis le milieu de séparation, et enfin le culot sanguin avec le reste des cellules (hématies, granulocytes...)

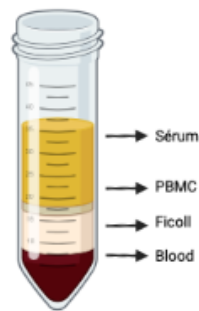


Figure IV-1 : PBMC après centrifugation

4. A l'aide d'une pipette Pasteur stérile jetable, prélever le disque blanc contenant les cellules mononucléées et déposer dans un tube à centrifuger de 50 ml. Cette étape est délicate et conditionne le nombre de cellules prélevées. Le plasma peut également être prélevé et conservé dans une sérothèque.
5. Dans le tube contenant les cellules mononucléées, on verse du milieu RPMI jusqu'à obtenir un volume de 40 mL. Le tube est ensuite centrifugé à 2100 RPM pendant 20 minutes, accélération 9 et freinage 9.
6. Une deuxième centrifugation de 6 minutes avec les mêmes paramètres est immédiatement réalisée. Le milieu précédant est jeté, les cellules sont remises en suspension avec 1 mL de RPMI et le tube est de nouveau complété avec du RPMI jusqu'à 40 mL.
7. Le milieu est de nouveau jeté et les cellules sont remises en suspension avec 1 mL de RPMI.
8. Afin de compter les cellules, 10 μ L de PBMC sont prélevés et mélangés avec 10 μ L de Bleu Tryptan (Eurobio®). Le mélange est déposé sur une lame à 10

cellules avec grilles de comptage pour microscope. Ainsi la quantité de cellules est estimée à partir du nombre moyen de cellules comptées par petit carré : Une lame contient 10 cellules individuelles (pour 10 comptage différents). Chaque cellule contient une partie quadrillée de 3x3mm divisée en 9 carrés contenant chacun 9 petits carrés. Chaque petit carré contient un volume de 0,01 μ L. La partie quadrillée est observée au microscope et les cellules sont décomptées dans un petit carré. Donc si, par exemple, on décompte 50 cellules par petit carré, on estime le nombre de de PBMC à 5 millions par mL.

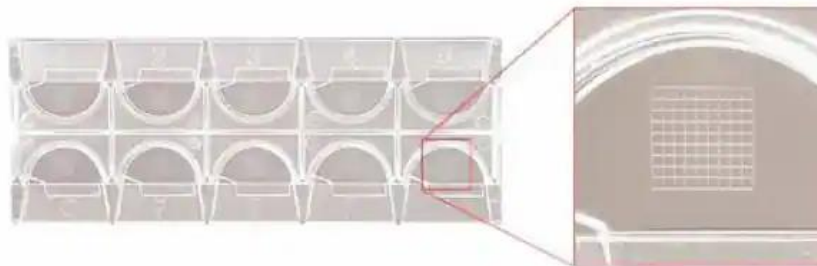


Figure IV-2 : Lame quadrillée de comptage

9. La dernière étape est celle de la congélation. Une dernière centrifugation est réalisée comme décrit dans l'étape 6.
10. Le milieu est jeté et les cellules sont remises en suspension avec 1 mL de SVF auquel on ajoute 1 mL de SVF mélangé avec 20% de DMSO.
11. Les cellules sont réparties dans plusieurs cryotubes par volume de 1 mL.

II- Test ELISpot

Description du matériel :

Le kit ELISpot interféron γ a été acquis auprès de la compagnie U-cytech®.

Composition du kit :

- Deux plaques de 96 puits avec membranes PDVF, transparents.
- Coating antibody: anticorps anti interféron γ humains.

- anticorps de detection anti interféron- γ humain biotinylés
- Streptavidine
- Solution de blockage
- APC (Allophycocyanin)
- Tween-20
- Dilution Buffer R
- manuel détaillé.

Le PVDF (fluorure de polyvinylidène ou difluorure de polyvinylidène) est un fluoropolymère thermoplastique spécialisé qui est hautement inerte. Le PVDF est obtenu par la polymérisation de difluorure de vinylidène.

Les premiers essais ont été réalisés par unité de rangée, en divisant la plaque en 12 rangées de 8 puits. Lorsque qu'on travaillait sur une rangée, le reste des rangées était protégé par du ruban adhésif. Le coating a donc été fait par rangées. La solution de coating a été reconstituée et aliquotée en 24 aliquots et congelée à -18°C .

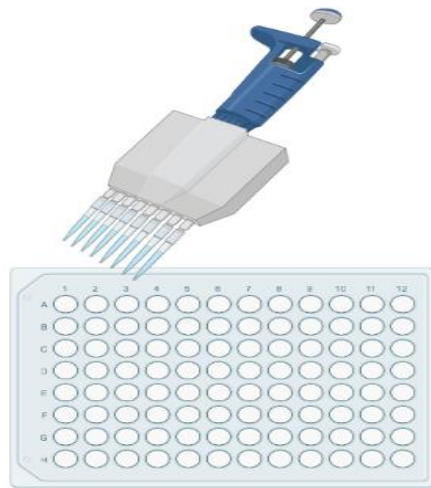


Figure IV-3 : Plaque PDVF 96 puits et pipette 8 canaux essentiel pour gagner du temps lors de l'étape du coating.

Description des étapes :

En conditions stériles :

- 1) Coating

Le coating des plaques est une étape déterminante pour la suite de la manipulation. Elle nécessite rapidité et minutie. En effet, il faut tout d'abord humidifier chaque puit avec 25 μL d'éthanol à 70% en faisant bien attention à ne pas dépasser 1 minute avant d'aspirer l'alcool et de rincer avec du PBS (phosphate-buffered saline). Cette étape se termine avec le dépôt dans chaque puits de 50 μL d'anticorps interféron- γ . Il est important de recouvrir les puits de façon hermétique afin d'éviter l'évaporation du liquide et l'assèchement des puits. En cas d'assèchement des puits, il est possible de réaliser de nouveau l'étape du *coating*. On laissera la plaque incuber toute une nuit à 4°C.



Figure IV-4: *coating* avec anticorps anti-interféron γ .

2) Blocking buffer

Après incubation les puits sont rincés avec du PBS. La solution de blocage est ajoutée afin de saturer le *coating* et de ne laisser aucun espace en contact avec le PDVF, auquel cas les anticorps de révélation pourraient adhérer de manière non spécifique et fausser la technique.

3) Mise en culture

Au bout d'une heure, la solution de stockage est retirée en renversant fermement la plaque. Les cellules sont incubées avec le stimuli et mises dans un incubateur à 37°C, 5% de CO₂, 100% d'humidité. Au bout de 24 à 72h, les puits sont vidés et rincés avec du PBS.

Lorsque l'antigène est une petite molécule, il est incubé directement avec les cellules. Si l'antigène est un complexe protéique, il est recommandé de faire une préincubation

avec les cellules pendant 24 à 72h avant de les mettre en culture dans les puits avec ce même antigène.

Les cellules sont des PBMC de témoins sains préparés à partir d'une solution de Ficoll. La quantité de cellule est adapté en fonction de l'antigène . Elle ne doit pas dépassée 3×10^5 cellules par puits.

Les stimuli choisis pour réaliser un témoin positif dépendent du type d'anticorps testés (données disponibles sur ucytech.com). Pour l'interféron- γ , la PMA-ionomycine (Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) & ionomycine (50 ng/ml & 1 μ g/ml)), la Phytohaemagglutinin (PHA) (10-30 ng/ml) ou la toxine tétanique sont censément efficaces.

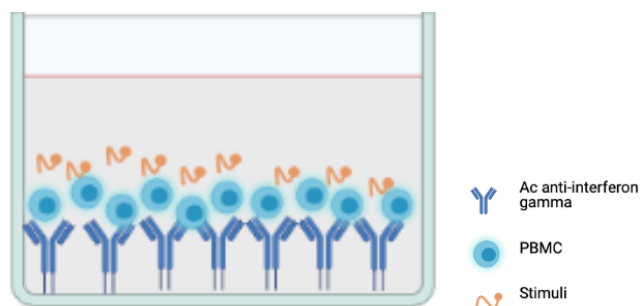


Figure IV-5 : Mise en culture PBMC et stimuli dans les puits tapissés d'anticorps anti-interféron γ

Hors conditions stériles :

4) Révélation :

Après avoir rincé les puits 5 fois avec du tampon de lavage (solution tampon composée de PBS et de Tween 20) l'anticorps de détection biotinylé est ajouté dans chaque puit.

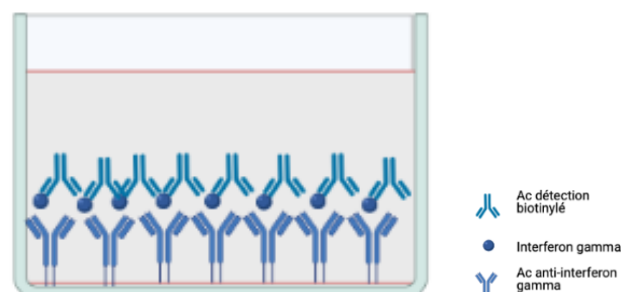


Figure IV-6 : Après rinçage des cellules, révélation réaction par anticorps de détection biotinylé.

Au bout de 2H d'incubation à température ambiante, les puits sont rincés de nouveau 5 fois avec du tampon de lavage, des deux côtés de la plaque (La partie inférieure de la plaque comporte un couvercle de drainage amovible, retiré lorsque le dos de la plaque est rincé).

La streptavidine- peroxidase est ajoutée dans chaque puits à raison de 100 μ L par puits et incubée une heure à température ambiante à l'abri de la lumière.

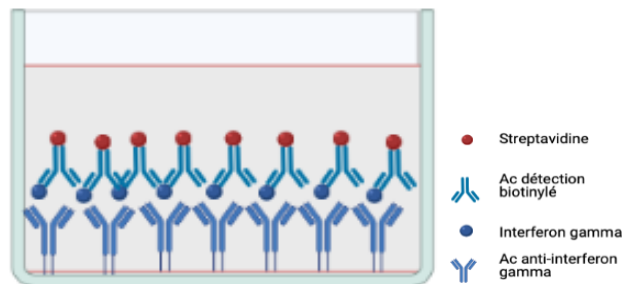


Figure IV-7 : Ajout de la streptavidine- peroxidase qui se lie à la biotine

Les puits sont de nouveau rincés et la solution de coloration AEC est ajoutée dans chaque puits et incubé 30 minutes à l'abri de la lumière.

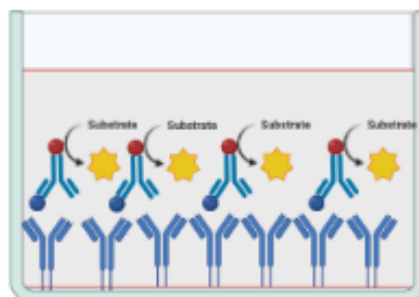


Figure IV-8 : Réaction colorimétrique avec ajout du colorant transformé par la peroxidase.

La réaction est stoppée et les points colorés sont comptés à l'aide d'un microscope à lumière réfléchi.

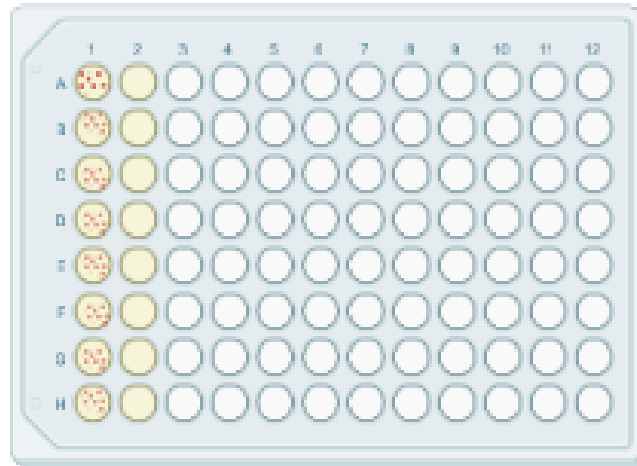


Figure IV-9 : Test ELISpot positif

III - Premières manipulations :

Les premiers essais ont été réalisés afin d'identifier un témoin positif convenable. Nous avons testé la PMA-ionomycine. Le nombre de spots produit était très important ce qui est encourageant pour de premiers essais. Nous avons choisis de poursuivre les tests avec un mélange d'antigène (EBV, CMV, HSV...) acquis auprès du laboratoire U-cytech®, afin d'obtenir des témoins positifs proche des résultats obtenus en cas d'activation lymphocytaire spécifique.

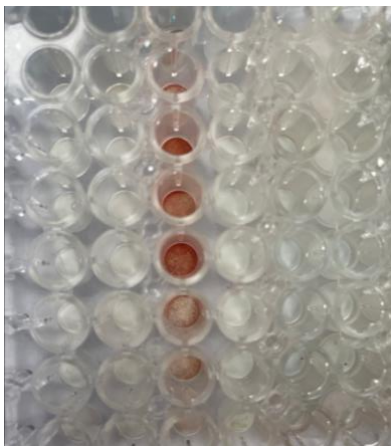


Figure IV-10 : Stimulation des PBMC avec PMA-ionomycine

PARTIE V : Conclusion

Cette revue de la littérature permet d'asseoir le bien-fondé de la mise en place de test diagnostic in vitro pour les hypersensibilités retardées aux produits de contraste iodés. L'utilisation des produits de contraste iodés est au cœur de l'imagerie diagnostic et des procédures interventionnelles et est en constante augmentation. La mise en place de tests ELISpot associés à la recherche d'allèle HLA permettrait de garantir une meilleure sensibilité que les tests cutanés et d'améliorer le profil de sécurité des tests de provocation en présélectionnant le PCI pour lequel le test ELISpot est revenu négatif. Il serait tout à fait envisageable de sursoir, à terme, au test de provocation en se fiant uniquement aux tests cutanés et aux tests in vitro. L'ELISpot pourrait avoir une place d'autant plus importante pour les toxidermies graves aux PCI pour lesquels il est souvent trop risqué de réaliser des tests cutanés et des tests de provocation de peur de réactiver la toxidermie.

En somme, le test ELISpot aux produits de contraste iodés permettrait d'améliorer la prise en charge des patients, réduire la consommation des soins médicaux en économisant des journées d'hôpital de jour et de réduire le délai de prise en charge des explorations allergologiques. A plus long terme, ce premier essai permettrait en cas de succès de développer d'autres ELISpot pour aider au diagnostic d'autres hypersensibilités retardées, qui souffrent actuellement d'un manque crucial de moyen de diagnostic biologique.

La suite logique serait le développement de techniques de diagnostic in vitro automatisée afin de répondre à une demande plus large.

Références bibliographique :

1. Osborne ED. ROENTGENOGRAPHY OF URINARY TRACT DURING EXCRETION OF SODIUM IODID. JAMA J Am Med Assoc. 10 févr 1923;80(6):368.
2. Wallingford VH. The development of organic iodine compounds as x-ray contrast media. J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc. déc 1953;42(12):721-8.
3. Chang JB. Textbook of Angiology. New York, NY: Springer New York; 2000.
4. Lieberman PL, Seigle RL. Reactions to radiocontrast material. Anaphylactoid events in radiology. Clin Rev Allergy Immunol. 1999;17(4):469-96.
5. Bush, W. Bush, W. H. (1998). Risk factors, prophylaxis and therapy of X-ray contrast media reactions. Advances in X-Ray Contrast: Collected Papers, 97-106. Collected Papers. 1998;
6. Gueant-Rodriguez RM, Romano A, Barbaud A, Brockow K, Gueant JL. Hypersensitivity Reactions to Iodinated Contrast Media. Curr Pharm Des. 1 sept 2006;12(26):3359-72.
7. Christiansen C. X-ray contrast media--an overview. Toxicology. 15 avr 2005;209(2):185-7.
8. Davenport MS, Chu P, Szczykutowicz TP, Smith-Bindman R. Comparison of Strategies to Conserve Iodinated Intravascular Contrast Media for Computed Tomography During a Shortage. JAMA. 2 août 2022;328(5):476.
9. An J, Jung H, Kwon OY, Kang Y, Lee JH, Won HK, et al. Differences in Adverse Reactions Among Iodinated Contrast Media: Analysis of the KAERS Database. J Allergy Clin Immunol Pract. sept 2019;7(7):2205-11.
10. Morcos SK. Review article: Acute serious and fatal reactions to contrast media: our current understanding. Br J Radiol. août 2005;78(932):686-93.
11. Brockow K, Christiansen C, Kanny G, Clément O, Barbaud A, Bircher A, et al. Management of hypersensitivity reactions to iodinated contrast media. Allergy. févr 2005;60(2):150-8.
12. Torres MJ, Trautmann A, Böhm I, Scherer K, Barbaud A, Bavbek S, et al. Practice parameters for diagnosing and managing iodinated contrast media hypersensitivity. Allergy. mai 2021;76(5):1325-39.
13. Soria A, Amsler E, Bernier C, Milpied B, Tétart F, Morice C, et al. DRESS and AGEP Reactions to Iodinated Contrast Media: A French Case Series. J Allergy Clin

Immunol Pract. août 2021;9(8):3041-50.

14. Tasker F, Fleming H, McNeill G, Creamer D, Walsh S. Contrast media and cutaneous reactions. Part 2: Delayed hypersensitivity reactions to iodinated contrast media. *Clin Exp Dermatol.* déc 2019;44(8):844-60.
15. Barbaud A, Collet E, Milpied B, Assier H, Staumont D, Avenel-Audran M, 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. *Br J Dermatol.* mars 2013;168(3):555-62.
16. AMSLER H., ASSIER, E. Toxidermies sévères aux produits de contraste iodés. *Réal Thérapeutiques En Derm-Vénérologie – N° 304* Octobre 2021 – Cah 1.
17. Lerondeau B, Trechot P, Waton J, Poreaux C, Luc A, Schmutz JL, et al. Analysis of cross-reactivity among radiocontrast media in 97 hypersensitivity reactions. *J Allergy Clin Immunol.* févr 2016;137(2):633-635.e4.
18. Yamauchi R, Morita A, Tsuji T. Fixed drug eruption caused by iopamidol, a contrast medium. *J Dermatol.* avr 1997;24(4):243-5.
19. 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.* janv 2005;115(1):179-85.
20. Yoon SH, Lee SY, Kang HR, Kim JY, Hahn S, Park CM, et al. Skin tests in patients with hypersensitivity reaction to iodinated contrast media: a meta-analysis. *Allergy.* juin 2015;70(6):625-37.
21. 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.* juin 2004;50(6):359-66.
22. Schrijvers R, Gilissen L, Chiriac AM, Demoly P. Pathogenesis and diagnosis of delayed-type drug hypersensitivity reactions, from bedside to bench and back. *Clin Transl Allergy.* 2015;5:31.
23. Kloypan C, Koomdee N, Satapornpong P, Tempark T, Biswas M, Sukasem C. A Comprehensive Review of HLA and Severe Cutaneous Adverse Drug Reactions: Implication for Clinical Pharmacogenomics and Precision Medicine. *Pharm Basel Switz.* 25 oct 2021;14(11):1077.
24. Ostrov DA, Grant BJ, Pompeu YA, Sidney J, Harndahl M, Southwood S, et al. Drug hypersensitivity caused by alteration of the MHC-presented self-peptide repertoire. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 19 juin 2012;109(25):9959-64.

25. Graf LL, Young DA, Kressin DC, Marlar RA, Jacob GB, Hinderling PH. Inhibition of Thrombin by Iopromide In Vitro: Ther Drug Monit. avr 2001;23(2):93-9.
26. Ryan AJ, Chung CW, Curry S. Crystallographic analysis reveals the structural basis of the high-affinity binding of ioprenoxil acid to human serum albumin. BMC Struct Biol. 18 avr 2011;11:18.
27. Levesque L, C.-Gaudreault R, Marceau F. Comparison of two classes of non-peptide drugs as antagonists of neutrophil receptors for f-Met-Leu-Phe. Biochem Pharmacol. févr 1992;43(3):553-60.
28. Antunez C, Barbaud A, Gomez E, Audonnet S, Lopez S, Guéant-Rodriguez RM, et al. Recognition of iodixanol by dendritic cells increases the cellular response in delayed allergic reactions to contrast media. Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol. mai 2011;41(5):657-64.
29. Keller M, Lerch M, Britschgi M, Tâche V, Gerber BO, Lüthi M, et al. Processing-dependent and -independent pathways for recognition of iodinated contrast media by specific human T cells. Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol. févr 2010;40(2):257-68.
30. Torres MJ, Gomez F, Doña I, Rosado A, Mayorga C, Garcia I, et al. Diagnostic evaluation of patients with nonimmediate cutaneous hypersensitivity reactions to iodinated contrast media. Allergy. juill 2012;67(7):929-35.
31. Mayorga C, Sanz ML, Gamboa P, Garcia-Aviles MC, Fernandez J, Torres MJ, et al. In vitro methods for diagnosing nonimmediate hypersensitivity reactions to drugs. J Investig Allergol Clin Immunol. 2013;23(4):213-25; quiz preceding 225.
32. Pichler WJ. Delayed drug hypersensitivity reactions. Ann Intern Med. 21 oct 2003;139(8):683-93.
33. Julien Serrier¹, Juliette Charpy², Maxime Cravat³, Brigitte Le Mauff^{1,4}, Anthony Leon⁵, Julien Goret^{2,*}, pour le réseau AllergoBioNet⁶. Diagnostic de l'hypersensibilité retardée : des mécanismes immunologiques aux tests de diagnostic in vivo et in vitro. Rev Francoph Lab. avr 2020;
34. Pinnobphun P, Buranapraditkun S, Kampitak T, Hirankarn N, Klaewsongkram J. The diagnostic value of basophil activation test in patients with an immediate hypersensitivity reaction to radiocontrast media. Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol. mai 2011;106(5):387-93.
35. Esser S, Jablonka R, M. Heinemann F, Reuter S, Jaeger H, von Krosigk A, et al. Detection of Abacavir Hypersensitivity by ELISpot Method. Inflamm Allergy-Drug

Targets. 1 avr 2012;11(3):227-34.

36. Rozieres A, Hennino A, Rodet K, Gutowski MC, Gunera-Saad N, Berard F, et al. Detection and quantification of drug-specific T cells in penicillin allergy. *Allergy*. avr 2009;64(4):534-42.

37. Goldberg I, Hanson M, Chodick G, Shirazi I, Brenner S. In vitro release of interferon-gamma from peripheral blood lymphocytes in cutaneous adverse drug reactions. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:687532.

38. Trubiano JA, Strautins K, Redwood AJ, Pavlos R, Konvinse KC, Aung AK, et al. The Combined Utility of Ex Vivo IFN- γ Release Enzyme-Linked ImmunoSpot Assay and In Vivo Skin Testing in Patients with Antibiotic-Associated Severe Cutaneous Adverse Reactions. *J Allergy Clin Immunol Pract*. août 2018;6(4):1287-1296.e1.

39. Klaewsongkram J, Buranapraditkun S, Thantiworasit P, Rerknimitr P, Tuchinda P, Chularojanamontri L, et al. The Role of In Vitro Detection of Drug-Specific Mediator-Releasing Cells to Diagnose Different Phenotypes of Severe Cutaneous Adverse Reactions. *Allergy Asthma Immunol Res*. nov 2021;13(6):896-907.

40. Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C, et al. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet Lond Engl*. 2 mars 2002;359(9308):727-32.

41. Mallal S, Phillips E, Carosi G, Molina JM, Workman C, Tomazic J, et al. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med*. 7 févr 2008;358(6):568-79.

42. Chung WH, Hung SI, Hong HS, Hsieh MS, Yang LC, Ho HC, et al. A marker for Stevens–Johnson syndrome. *Nature*. avr 2004;428(6982):486-486.

43. Genin E, Chen DP, Hung SI, Sekula P, Schumacher M, Chang PY, et al. HLA-A*31:01 and different types of carbamazepine-induced severe cutaneous adverse reactions: an international study and meta-analysis. *Pharmacogenomics J*. juin 2014;14(3):281-8.

44. Hung SI, Chung WH, Liou LB, Chu CC, Lin M, Huang HP, et al. HLA-B*5801 allele as a genetic marker for severe cutaneous adverse reactions caused by allopurinol. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15 mars 2005;102(11):4134-9.

45. Tangamornsuksan W, Lohitnavy M. Association Between HLA-B*1301 and Dapsone-Induced Cutaneous Adverse Drug Reactions: A Systematic Review and

Meta-analysis. *JAMA Dermatol.* 1 avr 2018;154(4):441-6.

46. Konvinse KC, Trubiano JA, Pavlos R, James I, Shaffer CM, Bejan CA, et al. HLA-A*32:01 is strongly associated with vancomycin-induced drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms. *J Allergy Clin Immunol.* juill 2019;144(1):183-92.

47. Jantararoungtong T, Tempark T, Koomdee N, Medhasi S, Sukasem C. Genotyping HLA alleles to predict the development of Severe cutaneous adverse drug reactions (SCARs): state-of-the-art. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* sept 2021;17(9):1049-64.

48. Kim EY, Choi SJ, Ghim JL, Kim MY, Seol JE, Oh M, et al. Associations between HLA-A, -B, and -C alleles and iodinated contrast media-induced hypersensitivity in Koreans. *Transl Clin Pharmacol.* juin 2021;29(2):107-16.

49. Massy E, Pedini P, Pollet E, Martin M, Roudier J, Picard C, et al. Association study between HLA-A, -B, -C, -DRB1 alleles and Psoriatic arthritis in southern France. *Hum Immunol.* juin 2022;83(6):515-20.

Abréviations :

AUC : Area under curve

CJP : Critère de jugement principal

CJS : Critère de jugement secondaire

CMV : Cytomégalovirus

CFSE : Carboxyfluorescein succinimidyl ester

DRESS : Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms

EBV : Epstein Barr Virus

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ELISPOT: Enzyme-linked Immunospot

EPF/FDE : Erythème pigmenté fixe/ Fixed drug erythema

EPFBG : Érythème pigmenté bulleux généralisé

FDA : US Food and Drug Administration

FN : Faux négatif

FP : Faux positif

HLA : Human leucocyte antigen

HS : Hypersensibilité

HSI : Hypersensibilité immédiate

HSR : Hypersensibilité retardée

ICM : iodinate contrast media

IDR : Intradermo reaction

LT : lymphocyte T

NET/TEN : Nécrolyse épidermique toxique/Toxic epidermal Necrolysis

NSN : Nombre de sujet nécessaire

PBMC : Peripheral blood mononuclear cell

PEAG : Pustulose exanthématique aiguë généralisée.

PT : patch test

ROC : Receiver Operating Characteristic

RPM: Rotation per minutes

RPMI : Roswell Park Memorial Institute medium

SDRIFE : Symmetrical drug-related intertriginous and flexural exanthema

SFC : Spot forming cell

SJS : Stevens johnson

TC : Test cutané

TCR : T Cell Receptor

TP : Test de provocation

VN : Vrai négatif

VP : Vrai positif

VPN : Valeur Prédictive Négative