



UNIVERSITE DE LILLE  
**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**  
Année : 2018

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Évaluation de l'activation du polynucléaire éosinophile dans la peau au  
cours du DRESS syndrome**

Présentée et soutenue publiquement le 25 juin 2018 à 18h  
Au Pôle Formation, salle 3

**Par Frédéric DEZOTEUX**

---

**JURY**

**Président :**

**Monsieur le Professeur Laurent Mortier**

**Assesseurs :**

**Madame le Professeur Marie-Christine Copin**

**Monsieur le Docteur Guillaume Lefèvre**

**Directrice de Thèse :**

**Madame le Professeur Delphine Staumont-Sallé**

## **Avertissement**

**La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

## Liste des abréviations

DC	Dermocorticoïdes
DRESS	Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms
ECP	Eosinophilic cationic protein
HES	Hématoxyline éosine safran
HHV6	Human Herpes Virus 6
IL-5	Interleukine-5
MBP	Major basic protein
PAL	phosphatases alcalines
TGO/ASAT	aspartame aminotransférase
TGP/ALAT	alanine aminotransférase

<b>Résumé</b> .....	<b>1</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>2</b>
I. Généralités.....	2
II. Physiopathologie du DRESS.....	3
A. La théorie de l’hapténation et concept p-i.....	3
B. Interaction médicament-HLA.....	4
C. Réponses antivirales.....	4
D. Éosinophiles et DRESS.....	5
III. Présentation clinico-biologique du DRESS.....	8
A. Signes cliniques.....	8
B. Atteintes viscérales.....	9
C. Critères diagnostiques.....	12
IV. Tests allergologiques.....	15
V. Traitement.....	15
VI. Pronostic et complications à long terme.....	16
VII. Rationnel de l’étude.....	17
VIII. Objectifs de l’étude.....	18
<b>Matériel et méthodes</b> .....	<b>19</b>
I. Sélection des patients.....	19
A. Critères d’inclusion.....	20
B. Critères d’exclusion de l’analyse.....	21
II. Données cliniques et biologiques.....	21
III. Paramètres histopathologiques.....	22
A. Analyse morphologique sur HES.....	22
B. Technique de marquage immunohistochimique.....	23
C. Analyse des marquages immunohistochimiques.....	25
IV. Critères de jugement.....	29
V. Analyse statistique des données.....	29
<b>Résultats</b> .....	<b>30</b>
I. Caractéristiques des patients.....	30
II. Molécules impliquées.....	34
III. Données de prise en charge.....	37
IV. Analyse morphologique et évaluation de la sévérité.....	40
V. Évaluation du marquage immunohistochimique.....	43
A. Décompte manuel.....	43
B. Analyse semi-automatisée.....	53
VI. Comparaison des méthodes de quantification et de marquage.....	56
VII. Analyse de corrélation clinique, biologique et histologique.....	59
<b>Discussion</b> .....	<b>64</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>76</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>77</b>

## Résumé

**Contexte** : Le DRESS syndrome pour « Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms » est une toxidermie grave pouvant mettre en jeu le pronostic vital. Le degré d'implication de l'éosinophile dans les dégâts tissulaires n'est pas connu. L'objectif était d'analyser le niveau d'activation des éosinophiles cutanés, en étudiant leur nombre et leur niveau de dégranulation au cours du DRESS. **Méthode** : L'analyse a porté sur une série rétrospective monocentrique de 40 patients répartis dans 2 groupes de patients atteints de toxidermie et ayant bénéficié d'une biopsie cutanée au CHRU de Lille : 19 exanthèmes maculopapuleux (EMP) et 21 DRESS. Les éosinophiles et leurs granules ont été identifiés par marquage immunohistochimique des protéines cationiques de l'éosinophile (ECP, MBP) et les lymphocytes T par les marqueurs CD3 et CD8. La quantification a été réalisée selon 2 méthodes : 1) méthode manuelle sur 3 champs à l'objectif X20 et par un score de quantification adapté de la littérature ; 2) méthode semi-automatisée après acquisition numérique, méthode originale mise au point dans le cadre de ce travail. Les méthodes de quantifications ont ensuite été comparées entre elles et les résultats corrélés aux paramètres clinico-pathologiques. **Résultats** : L'infiltrat inflammatoire lymphocytaire était majoritairement T CD8+ et significativement plus sévère ( $p=0,01$ ) dans le groupe DRESS. Le nombre d'éosinophiles n'était pas significativement différent entre les groupes quels que soient la méthode de quantification et l'anticorps utilisés. Le nombre de sujets présentant une dégranulation des éosinophiles était significativement plus élevé dans le groupe DRESS ( $n=13/21$ , 61,9%,  $p=0,009$ ) et prédominant sur la MBP ( $p=0,036$ ), ce qui traduisait la présence d'éosinophiles tissulaires à l'état activé. Le nombre d'éosinophiles dans la peau (groupe DRESS) était d'autant plus élevé que le délai entre l'apparition des symptômes et l'hospitalisation ( $p=0,033$ ) ou la réalisation de la biopsie ( $p=0,004$ ) était long. De manière originale, nous avons montré que la méthode semi-automatisée, plus exhaustive et sensible, permettait de mettre en évidence deux fois plus de cellules que la méthode manuelle, suggérant une sous-évaluation en routine de l'infiltrat éosinophilique dans la peau des patients atteints de toxidermie. **Conclusion** : Nous avons montré la présence d'éosinophiles à l'état activé dans la peau au cours du DRESS comparativement à l'EMP. Ces résultats nous encouragent à poursuivre l'étude des mécanismes de recrutement des éosinophiles dans les tissus au cours du DRESS, afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique de ces patients.

## Introduction

### **I. Généralités**

Le syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse ou DRESS pour « Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms » est une toxidermie grave pouvant mettre en jeu le pronostic vital des patients. L'atteinte viscérale qui lui est associée conditionne le pronostic dont le taux de mortalité est proche de 10% (1). Le DRESS est un des nombreux termes utilisés pour décrire une réaction idiosyncrasique grave à un médicament. La particularité du DRESS est la longue période de latence après l'exposition au médicament incriminé pouvant aller jusqu'à 8 semaines (2). D'abord décrit dans le cadre des toxidermies secondaires aux anticonvulsivants dans les années 1940, la nomenclature n'a cessé d'évoluer (3) : « syndrome d'hypersensibilité » (SH), en anglais : Hypersensitivity Syndrome (HHS), « syndrome d'hypersensibilité aux anticonvulsivants » (SHA), en anglais : Anticonvulsant Hypersensitivity Syndrome (AHS), « syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse », en anglais : Drug-Induced Hypersensitivity Syndrome (DIHS), « syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse retardée multiviscérale », en anglais : Drug-Induced Delayed Multiorgan Hypersensitivity Syndrome (DIDMOHS) et « pseudolymphome médicamenteux ». Les anticonvulsivants aromatiques, particulièrement la phénytoïne, la carbamazépine, et le phénobarbital ainsi que les sulfonamides comme la dapsonne et la sulfasalazine sont les traitements les plus fréquemment responsables de DRESS (tableau 1). L'immunodépression est un facteur favorisant classique. L'incidence du DRESS n'est pas connue et les données épidémiologiques manquent, cependant on estime le risque de survenue de 1 pour 1000 à 1 pour 10000 en cas d'exposition médicamenteuse (4).

<b>Classe médicamenteuse</b>	<b>Molécules</b>
<b>Anticonvulsivant</b>	Carbamazépine, lamotrigine, phénobarbital, phénytoïne, acide valproïque, zonisamide.
<b>Antibiotiques</b>	Ampicilline, céfotaxime, dapsone, éthambutol, isoniazide, linézolide, métronidazole, minocycline, pyrazinamide, quinine, rifampicine, sulfasalazine, streptomycine, triméthoprim-sulfaméthoxazole et vancomycine.
<b>Antiviraux</b>	Abacavir, nevirapine, zalcitabine.
<b>Antidépresseurs</b>	Bupropion, fluoxétine.
<b>Antihypertenseurs</b>	Amlodipine, captopril.
<b>Biothérapies</b>	Efalizumab, imatinib
<b>Anti-inflammatoires non stéroïdiens</b>	Celecoxib, ibuprofen
<b>Autres</b>	Allopurinol, époétine alfa, mexiletine et ranitidine

Tableau 1 : Liste des principales molécules impliquées dans les DRESS d'après Husain et coll. 2013.

## **II. Physiopathologie du DRESS**

### **A. La théorie de l'hapténation et concept p-i**

Un haptène est une petite molécule dépourvue de caractère immunogène pouvant acquérir une immunogénicité en cas de couplage avec une protéine qui lui est complémentaire. Certaines molécules qualifiées de pro-haptène sont capables sous réserve d'une métabolisation enzymatique d'acquérir la forme d'haptène et induire une allergie médicamenteuse. Il a été démontré qu'un polymorphisme des gènes codant pour les enzymes de métabolisation pouvait être à l'origine de la formation d'haptènes (5). Cependant la majorité des petites molécules peuvent être reconnues et interagir directement avec le récepteur du lymphocyte T (TCR) via une fixation directe au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Ce phénomène est appelé « concept p-

i » pour « pharmacological interaction of drug with immune receptor » (6) et participe à l'activation de l'immunité adaptative à l'origine de la réponse cytotoxique observée au cours du DRESS.

## **B. Interaction médicament-HLA**

Les données de la littérature s'accordent sur l'importance de la prédisposition génétique au cours du DRESS. De nombreuses études rapportent un risque augmenté de DRESS selon la présence de variant HLA particuliers (7). Ainsi, il a été clairement montré que la présence d'un variant HLA-B\*55701 était associé au risque de DRESS sous Abacavir pour le traitement du syndrome d'immunodéficience acquise (8–10). La présence d'un variant HLA-B\*1502, plus fréquent en Asie du sud-est est associé à un risque augmenté de développer un DRESS à la Carbamazépine (11). De même le variant HLA-B\*5801 est associé au DRESS induit par l'Allopurinol (12,13).

## **C. Réponses antivirales**

L'originalité de la physiopathologie du DRESS repose dans la survenue de réactivations virales et plus particulièrement des virus de la famille des *human herpes viridae* incluant principalement : HHV6-7, EBV et CMV (14–18). Plusieurs arguments sont venus étayer l'implication des virus dans la pathogénèse du DRESS. Par exemple, Picard et coll., ont montré dans une étude portant sur 40 patients atteints de DRESS que 76 % des sujets présentaient une réactivation des virus du groupe herpès comme le virus Epstein-Barr (EBV), ou l'herpès virus 6 ou 7 (HHV-6, HHV-7), avec la présence de LT CD8+ cytotoxiques spécifiquement dirigés contre l'EBV dans le sang et les tissus atteints (foie, poumon et peau) et une corrélation du nombre de LT CD8+ à la sévérité de l'atteinte systémique. De plus, la molécule incriminée était capable d'induire une réactivation virale *in vitro* chez ces patients (19). La réactivation virale entraîne à une réponse antivirale T aboutissant à une inflammation systémique non contrôlée associée à une défaillance multi viscérale (18). Ce phénomène est probablement lié à l'expansion de lymphocytes T régulateurs chez les patients atteints de DRESS (20). La physiopathologie du DRESS peut ainsi être schématisée en figure 1.

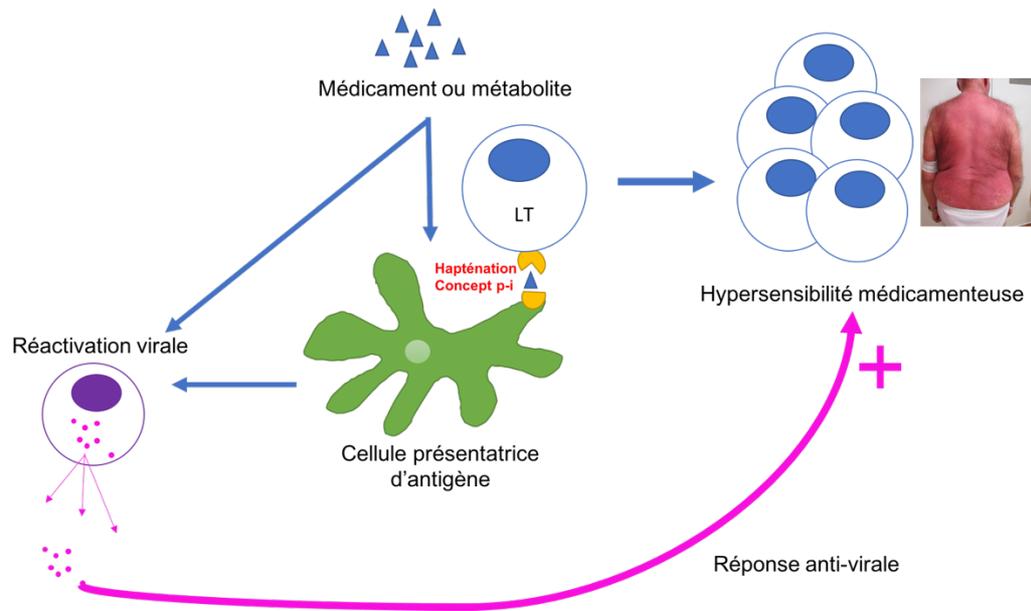


Figure 1 : Physiopathologie simplifiée du DRESS impliquant mécanisme d'hypersensibilité et réactivation virale.

## D. Éosinophiles et DRESS

Les toxidermies sont souvent associées à une éosinophilie et l'infiltration des tissus par les éosinophiles joue potentiellement un rôle dans la survenue de l'éruption cutanée même si les mécanismes précis ne sont pas connus. L'éosinophilie est présente chez environ 80% des patients atteints de DRESS (21).

Les éosinophiles peuvent infiltrer peau et organes au cours du DRESS alors qu'ils ne sont pas présents en conditions physiologiques. L'éosinophile provient, comme les autres granulocytes, de la moelle osseuse. Sa production, maturation et survie est principalement régulée par l'IL-5, produite par des lymphocytes T helper de type 2 (Th2) ou des ILC2 qui sécrètent des cytokines comme l'IL-4, IL-5 et IL-13 (22). Le taux d'éosinophiles circulants varie en fonction de leur production médullaire, de leur migration dans les tissus et du taux d'apoptose. La migration des éosinophiles dans les tissus est favorisée par les molécules d'adhésion, chimiokines (CCL-11 ou éotaxine-1, CCL24 ou éotaxine-2 et CCL26 ou éotaxine-3 selon les tissus et le contexte pathologique) et certaines cytokines de polarisation Th2 (IL-5 surtout, IL-4 et IL-13) (23). Les éosinophiles activés exercent une action toxique via la libération du contenu de leurs granules préformés sous l'influence de cytokine comme l'IL-3 (24). Parmi les substances prêtes à être libérées dans le milieu environnant figurent des protéines cationiques, comme l'« eosinophil peroxydase » (EPO, EPX), la « major

basic protein » (MBP), et l' « eosinophilic cationic protein » (ECP), ainsi que des cytokines et de nombreux médiateurs pro-inflammatoires (leucotriènes, prostaglandines, platelet-activating factor) (25). Les éosinophiles libèrent leurs contenus granulaires, y compris les protéines cationiques granulaires et d'autres médiateurs, par quatre mécanismes différents (figure 2) (26,27) :

- Dans l'exocytose classique, le contenu des granules est libéré par fusion de la membrane granulaire avec la bicouche lipidique de la membrane plasmique.
- Dans l'exocytose composée, principalement observée dans la défense contre les parasites, un certain nombre de granules fusionnent dans le cytoplasme puis les protéines cationiques sont ensuite libérées par un seul site de fusion au niveau de la membrane plasmique.
- Dans la dégranulation fragmentaire, principalement observée dans les réponses inflammatoires éosinophiles dans les tissus, les vésicules sécrétoires se forment au sein des granules qui disparaissent progressivement puis se vident dans le milieu extracellulaire de manière analogue à la libération de neurotransmetteurs des neurones. La sécrétion différentielle des protéines cationiques de la matrice (EPX, ECP) ou du noyau (MBP-1, MBP-2) du granule a été démontrée, laissant des granules sans noyau avec une matrice intacte ou noyaux intacts sans matrice dans la cellule.
- Dans la cytolysse, des granules entiers intacts sont déposés dans les tissus après la rupture de la membrane plasmique due à la nécrose des éosinophiles. Ces différents modes de dégranulation sont explorés en microscopie électronique (28).

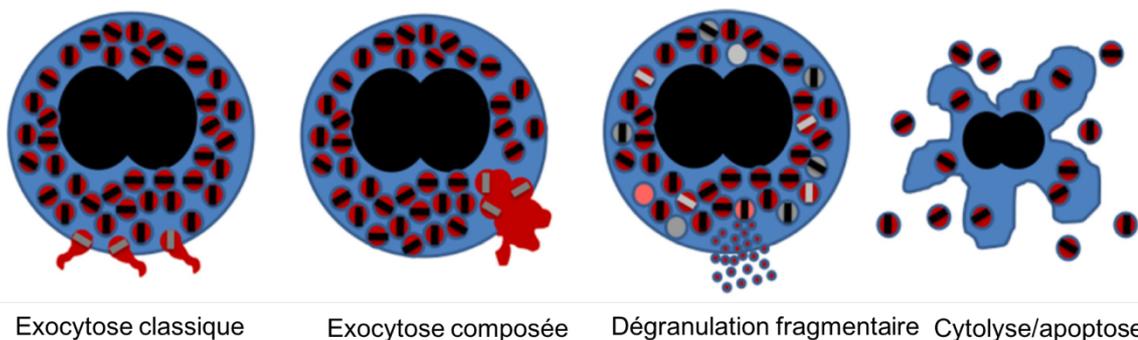


Figure 2 : Schématisation des différents modes de dégranulation de l'éosinophile (adapté d'après Acharaya et Ackerman, 2014) (27).

Une éosinophilie peut donc engendrer des dommages tissulaires quelle que soit l'origine de l'éosinophilie et le nombre d'éosinophiles circulants. Ainsi, la présence d'une grande éosinophilie sanguine, et même tissulaire, ne préjuge pas de son activité cytotoxique, en revanche, la présence de granules extracellulaires, identifiés par le marquage de protéines cationiques de l'éosinophile, est considérée comme un signe d'activation tissulaire de l'éosinophile (29,30) et dont le caractère pathogène dans la peau est démontré (31). L'éosinophile est une cellule essentiellement tissulaire et on estime qu'un éosinophile circulant correspond à 100 éosinophiles dans les tissus (1). Un infiltrat cutané éosinophilique est présent dans 20% à 71% des biopsies cutanées selon les séries de la littérature, mais son niveau d'activation et d'activité dans la peau n'est pas clairement établi actuellement (32–34).

Au cours du DRESS, l'activation et l'expansion des éosinophiles seraient induites par une réponse immunologique dirigée contre la réactivation virale et la molécule imputable. Les éosinophiles infiltrent les organes en réponse aux chimiokines notamment l'éotaxine-1 et le « thymus activation-regulated chemokine » (TARC), en synergie avec l'IL-5 ou l'IL-17E tel que schématisé en figure 3.

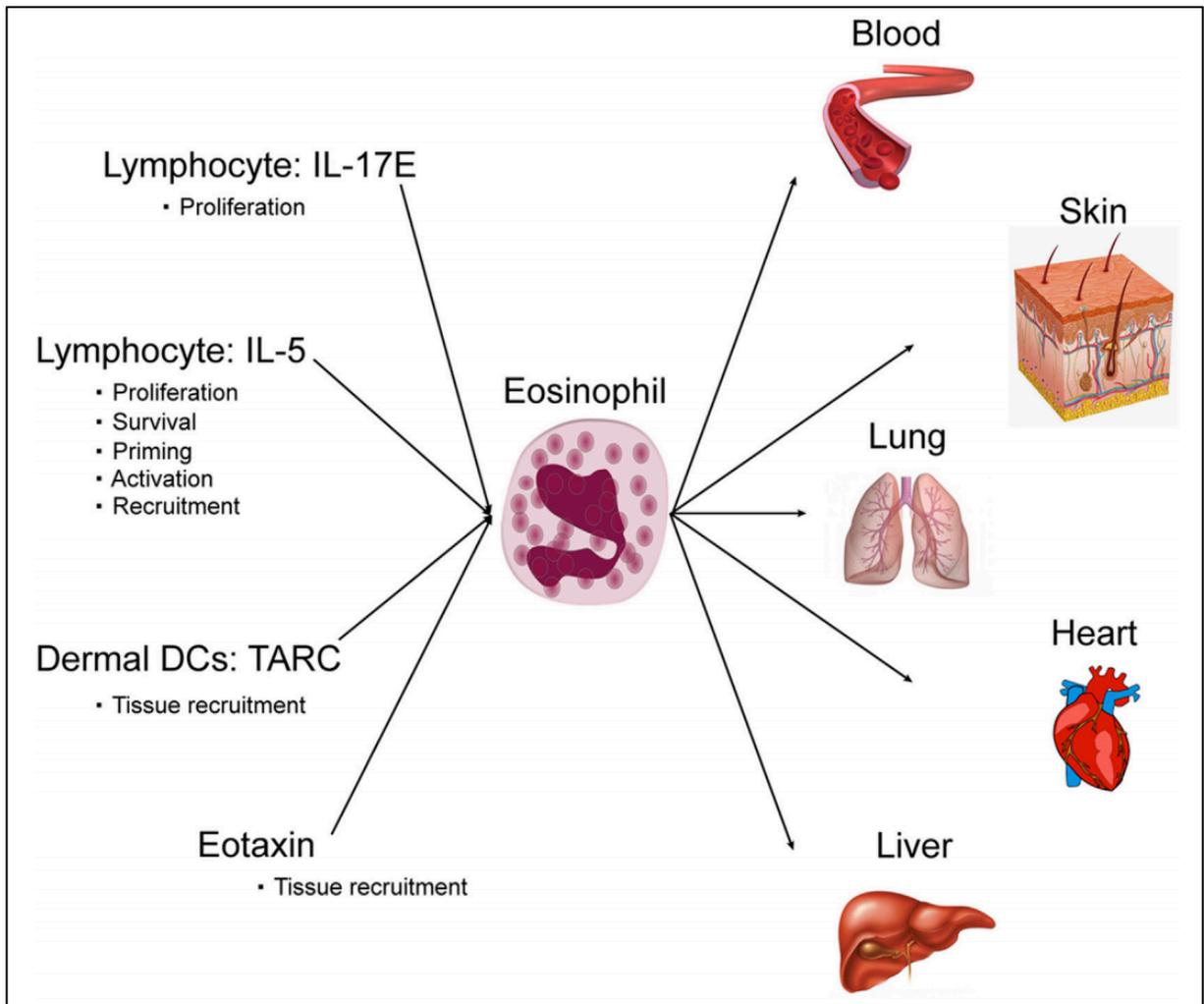


Figure 3 : D'après Musette et Janela, 2017 (18). Rôle de l'éosinophile au cours du DRESS.

### III. Présentation clinico-biologique du DRESS

#### A. Signes cliniques

L'éruption cutanée au cours du DRESS est souvent précédée de plusieurs jours par d'une fièvre entre 38°C et 40°C. L'éruption est souvent morbilliforme prenant l'aspect d'un érythème diffus cuivré, infiltré avec des intervalles de peau saine. Un prurit est fréquemment associé. Le DRESS peut volontiers se présenter sous la forme d'une érythrodermie lorsque l'éruption atteint plus de 90% de la surface corporelle pendant plus de six semaines. Classiquement, l'éruption touche initialement le visage, puis le haut du tronc et les extrémités prenant un aspect infiltré et induré, notamment au visage où il est volontiers associé à un œdème centro-facial prédominant en région

périorbitaire (figure 4). Dans les formes sévères de DRESS il n'est pas rare d'observer des lésions purpuriques ou des vésicules confluant en bulles faisant discuter des formes de chevauchement avec les syndromes de nécrolyse épidermique toxique (syndrome de Lyell et Steven-Johnson) (2). Une atteinte muqueuse est fréquemment associée sous la forme d'une chéilite, d'érosions, d'une pharyngite touchant environ 30% des patients (35).



Figure 4 : Présentation clinique du DRESS avec atteinte diffuse et œdème du visage. (Service de Dermatologie).

## **B. Atteintes viscérales**

La particularité du DRESS réside notamment dans les atteintes viscérales parfois multiples pouvant aboutir au décès du patient. Les atteintes systémiques les plus

fréquentes sont les adénopathies multiples centimétriques, l'atteinte hématologique et hépatique suivies par les atteintes rénales, pulmonaires et cardiaques. Plus rarement, des atteintes neurologiques, gastro-intestinales et endocrinologiques sont aussi possibles et peuvent survenir à distance de l'éruption (36). Certaines molécules prédisposent davantage à certaines atteintes viscérales (tableau 2).

Molécule	Atteinte d'organe spécifique
- Allopurinol	- Rein
- Ampicilline	- Cœur
- Carbamazépine	- Rein
- Dapsone	- Foie et rein
- Minocycline	- Foie, poumon et cœur
- Phénytoïne	- Foie

Tableau 2 : Molécules associées à des atteintes d'organe spécifiques (4).

L'atteinte hématologique se traduit souvent par la présence d'adénopathies classiquement présentes dans 75% des cas (37) et souvent supra-centimétriques pouvant mimer une pathologie lymphomateuse, d'autant que cette atteinte est volontiers généralisée. Sur le plan biologique, il existe souvent une hyperleucocytose marquée souvent précédée par une leucopénie et/ou une lymphopénie. Sur la biopsie cutanée, les lymphocytes peuvent présenter des atypies cyto-nucléaires posant parfois le problème du diagnostic différentiel avec des pathologies lymphoprolifératives (2). Une thrombopénie est fréquemment observée, de même qu'une anémie (38). Dans 80% des cas, une éosinophilie sanguine est présente et dans 30% des cas, elle dépasse les 2000 éléments/mm<sup>3</sup> (39). Le DRESS peut rarement se compliquer d'un syndrome d'activation macrophagique qui correspond à une stimulation inappropriée des cellules macrophagiques entraînant une phagocytose des éléments figurés du sang et la libération de cytokines. Le syndrome d'activation macrophagique associe des signes cliniques généraux et non spécifiques (fièvre, altération de l'état général, hépatosplénomégalie, adénopathies) et des éléments biologiques d'orientation comme une pancytopénie, une coagulopathie, une augmentation des LDH, de la ferritine et des triglycérides. Le diagnostic est confirmé par un examen cytologique et/ou histologique identifiant l'hémophagocytose. Le pronostic du syndrome

d'activation macrophagique est réservé avec 50% de mortalité (toute cause confondue) (40).

Le foie est l'organe interne le plus fréquemment touché à divers degrés. La Phénitoïne, la Minocycline et la Dapsone sont régulièrement impliquées (41). Une hépatomégalie peut être observée accompagnée ou non d'une hépatite caractérisée par une ascension marquée des transaminases et notamment les ALAT (Alanine aminotransférase) rencontrée dans 70% à 95% des cas (35,42). L'atteinte peut persister malgré l'arrêt de la molécule incriminée pouvant prendre plusieurs mois pour se résoudre. Dans des formes fulminantes, l'évolution peut se faire rapidement vers un insuffisance hépatocellulaire terminale et une nécrose hépatique massive à l'origine du décès du patient. Il s'agit de la première cause de mortalité dans le cadre du DRESS.

L'atteinte rénale n'est pas rare, elle survient dans 11 à 38% des patients (43,44). L'allopurinol est la molécule la plus fréquemment associée à l'atteinte rénale suivie par la Carbamazépine et la Dapsone (41). Cette atteinte est silencieuse et se manifeste précocement par l'apparition d'une hématurie et d'une protéinurie puis par une altération de la fonction rénale avec ascension de la créatinine plasmatique. Une néphrite interstitielle peut aboutir à une défaillance rénale terminale. Ang et coll., rapportent dans leur série, le recours à la dialyse chez deux patients sur quatre au cours du DRESS (35).

L'atteinte pulmonaire du DRESS peut survenir, le plus souvent associée à la prise de Minocycline (42). D'incidence variable, cette atteinte prend la forme d'un pneumopathie interstitielle diffuse brutale avec dyspnée et toux. Cette atteinte survient de façon variable selon les séries dans environ 38% des cas (44).

L'atteinte cardiaque est une atteinte rare et sévère du DRESS, une revue de 2012 recense 22 cas d'atteinte myocardique (45). L'Ampicilline et la Minocycline sont les molécules les plus fréquemment impliquées dans cette atteinte potentiellement fatale et pouvant survenir plusieurs mois après l'arrêt de la molécule responsable. Le tableau clinique s'accompagne de douleurs thoraciques, d'une tachycardie, une dyspnée puis d'une hypotension sur défaillance cardiaque. Les examens complémentaires identifient une cardiomégalie et un épanchement pleural tandis que l'électrocardiogramme révèle des modifications du segment ST et des ondes T.

L'atteinte neurologique est beaucoup plus rare et se présente sous la forme d'un tableau de méningite, d'encéphalite ou d'atteintes périphériques (radiculonévrites) se

développant 2 à 4 semaines après les premiers symptômes du DRESS et pourrait être dans certains cas liée à une réactivation virale HHV6 (46).

L'appareil digestif peut également être la cible de la réponse cytotoxique incontrôlée et va se manifester par une colite ou iléite (perforative) souvent associée au CMV (cytomégalovirus) ou une pancréatite (42,47).

Beaucoup plus rarement le DRESS est impliqué dans la survenue de maladies auto-immunes à distance touchant notamment la thyroïde (48) et le pancréas avec notamment la survenue de diabète de type 1 (49) justifiant leur dépistage dans les suites d'un DRESS.

### **C. Critères diagnostiques**

Le diagnostic du DRESS est complexe et constitue un challenge pour le clinicien car il peut survenir dans un contexte de polymédication complexe parfois en situation d'infection grave non contrôlée. Son diagnostic repose à la fois sur des critères cliniques et biologiques. Le clinicien doit en premier lieu éliminer toute autre cause aux symptômes observés : infection, cancer, maladies auto-immunes ou connectivites. Ainsi, l'approche diagnostique rétrospective du DRESS suit des critères diagnostics ont été proposés et différent selon les groupes de recherche sur le sujet (tableau 3) (2,36,50).

Bocquet et coll.	J-SCAR(a) (Shiohara et coll.)
<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Éruption cutanée médicamenteuse ;</b></li> <li>- <b>Anomalies hématologiques</b></li> <li><b>*Éosinophilie &gt;1500mm<sup>3</sup></b></li> <li><b>*lymphocytes atypiques</b></li> <li>- <b>Atteinte systémique</b></li> <li><b>*adénopathie ≥ 2cm</b></li> <li><b>*atteinte hépatique (≥2N)</b></li> <li><b>*néphrite interstitielle</b></li> <li><b>*pneumopathie interstitielle</b></li> <li><b>*myocardite</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- rash évoluant depuis &gt;3 semaines(*) ;</li> <li>- Symptômes se prolongeant après arrêt du traitement causal(*) ;</li> <li>- Fièvre&gt;38°C(*) ;</li> <li>- Anomalies hépatiques (ALAT&gt;100U/L) or autre atteinte d'organe (*)</li> <li>- Anomalies hépatiques (ALAT&gt;100U/L) ou autre atteinte viscérale (*)</li> <li>- Anomalies leucocytaires</li> <li>*leucocytose &gt;11000/mm<sup>3</sup></li> <li>*lymphocyte atypique (&gt;5%)</li> <li>- Adénopathies</li> <li>- Réactivation HHV6</li> </ul>
<p style="text-align: center;"><b>3 critères requis parmi les critères ci-dessus.</b></p>	<p><b>7 critères</b> : DRESS typique</p> <p>(*) <b>5 critères seuls</b> : DRESS atypique</p> <p>(a) Japanese Research committee on severe cutaneous adverse reaction</p>

Tableau 3 : Différents critères diagnostiques utilisés dans le DRESS.

Dans notre étude nous avons choisi d'utiliser les critères et le score développés par le groupe européen d'étude des toxidermies RegiSCAR pour European Registry of Severe Adverse Reaction study group (36) qui sont résumés dans le tableau 4 Ce score rétrospectif permet d'estimer la probabilité de DRESS pour chaque situation clinique :

- Cas certain : score >5
- Cas probable : score entre 4 et 5
- Cas possible : score entre 2 et 3
- Cas peu probable : score <2.

Score	-1	0	1	2	Min	Max
<b>Fièvre&gt;38°C</b>	Non/ ?	Oui			-1	0
<b>Adénopathies</b>		Non/ ?	Oui		0	1
<b>Éosinophilie</b>		Non/ ?				
<b>Éosinophiles</b>			700- 1499/mm <sup>3</sup>	>1500/mm <sup>3</sup>	0	2
<b>Éosinophiles si leucocytes&lt;4000/mm<sup>3</sup></b>			10-19,9%	≥20%	0	2
<b>Lymphocytes atypiques</b>		Non/ ?	Oui		0	1
<b>Rash &gt; 50% de surface corporelle</b>		Non/ ?	>50%		0	1
<b>Rash évocateur</b>	Non	?	Oui		-1	1
<b>Biopsie compatible</b>	Non	Oui/ ?			-1	0
<b>Atteinte viscérale</b> (foie, rein, poumon, cœur, muscle, pancréas, autre)		Non	1 organe	≥2 organes	0	2
<b>Résolution ≥15jours</b>	Non/ ?	Oui			-1	0
<b>Élimination des autres causes possibles :</b>						
<b>*anticorps antinucléaire</b>						
<b>*hémocultures positives</b>						
<b>*sérologies</b>						
<b>VHA/VHB/VHC positives</b>			1		0	1
<b>*chlamydia/mycoplasme</b>						
Si aucun des items n'est positif et ≥3 critères ci- dessus sont négatifs.						
<b>SCORE TOTAL</b>					<b>-4</b>	<b>9</b>

?: donnée inconnue ; VHA :virus de l'hépatite A ; VHB : virus de l'hépatite B ; VHC :virus de l'hépatite C.

Tableau 4 : Critères développés par le groupe d'étude RegiSCAR permettant d'évaluer la probabilité diagnostique de DRESS.

#### **IV. Tests allergologiques**

La valeur des tests allergologiques au cours du DRESS n'a pas été clairement établi. Le test épicutané (« patch test ») est une méthode de diagnostic essentielle en dermato-allergologie qui consiste à appliquer sur un tégument intact, divers allergènes de manière occlusive pour tenter de reproduire à l'aide d'un ou de plusieurs allergènes sur un territoire limité, une réaction cutanée proche de la toxidermie et par la même occasion essayer de cibler la responsabilité potentielle de ces allergènes dans la survenue antérieure chez le patient d'une toxidermie. La valeur des patch tests dépend de la classe médicamenteuse testée avec un taux élevé de tests positifs (entre 70 et 100%) pour des molécules comme la carbamazépine et globalement de 32 à 64% selon les molécules (51). La sensibilité du test va également varier selon le type de toxidermie pour une même molécule : Barbaud et coll, décrivent des tests positifs en cas de DRESS mais pas en cas de Syndrome de Steven-Johnson pour la Carbamazépine. Moins pertinents dans le cadre d'une allergie à l'allopurinol, les patchs tests sont en revanche d'avantage positifs pour les bétalactamines, le Trimetoprim-sulfaméthoxazole, les benzodiazépines et la Pristinamycine (52). Les intradermo-réactions (IDR) sont en revanche controversées dans le DRESS, certains estimant qu'il est préférable de ne pas les réaliser en cas de réactivation virale. Compte-tenu du risque vital évident, les tests de réintroduction médicamenteux ne sont pas réalisés dans le cadre du DRESS mais restent très utiles dans le cadre des EMP (exanthèmes maculopapuleux) sans signes de gravité en cas de patchs test et IDR négatifs.

#### **V. Traitement**

Le traitement du DRESS commence toujours par l'identification précoce et l'arrêt définitif de la ou les molécule(s) impliquée(s). L'enquête minutieuse doit porter sur tous les traitements reçus par le patient y compris l'automédication jusqu'à 8 semaines avant le début des symptômes. La méthode de Bégaud en matière d'enquête d'imputabilité médicamenteuse est obligatoire dans les centres régionaux de pharmacovigilance en France. Elle a été élaborée en 1978 par Dangoumo et coll. et actualisée en 1985 et 2015 par Bégaud et coll (53). Elle distingue l'imputabilité

intrinsèque et l'imputabilité extrinsèque. L'imputabilité intrinsèque établit la relation de cause à effet entre chaque médicament et la survenue d'un effet indésirable, sur 3 critères chronologiques et 4 critères sémiologiques (Annexe 1). Il existe des abaques permettant d'associer ces critères en un score d'imputabilité intrinsèque. En parallèle, l'imputabilité extrinsèque recherche les cas similaires dans la littérature. Elle repose sur des critères bibliographiques et permet d'identifier une molécule potentiellement responsable.

Le traitement le plus consensuel du DRESS avec atteintes viscérale est la corticothérapie orale (39) introduite à une dose de 1mg/kg/jour d'équivalent prednisolone. Une décroissance progressive sur 3 à 6 mois est nécessaire afin de prévenir les récurrences pouvant survenir précoces et tardives du DRESS et surtout de ses atteintes viscérales pouvant survenir à distance et sans réintroduction du traitement inducteur (54,55). En dehors des atteintes viscérales, une corticothérapie locale de classe très forte est le plus souvent suffisante (56). L'algorithme thérapeutique selon Husain et coll., est présenté en annexe 2.

Les immunoglobulines G polyvalentes (IgIV) ont été proposées avec des résultats contrastés suggérant plutôt une balance bénéfice/risque défavorable (57).

Les traitements antiviraux (Valganciclovir) représentent une option potentielle de traitement en cas de réactivation virale bien que le bénéfice de ce traitement n'ait pas été clairement démontré (58).

## **VI. Pronostic et complications à long terme**

La mortalité dans le cadre du DRESS peut atteindre 10% des cas notamment en cas d'atteinte hépatique sévère et nécrosante même si les mécanismes à l'origine de cette atteinte ne sont pas élucidés (52). A plus long terme, outre le risque de récurrence des atteintes viscérales, les patients sont exposés au risque d'auto-immunité avec la survenue de thyroïdites auto-immunes, de diabète de type 1, de maladies inflammatoires du tube digestif ou d'anémie hémolytique auto-immune parfois plusieurs mois voire années après la résolution du DRESS (59,60).

## VII. Rationnel de l'étude

L'aspect histologique du DRESS fait l'objet d'un petit nombre d'études dans la littérature. Il associe une dermatose spongiotique et une dermatite d'interface lichénoïde plus ou moins accompagnées d'un infiltrat lymphocytaire périvasculaire dense avec des hématies extravasées au sein d'un œdème dermique (34,61). La dermatite lichénoïde se définit par la présence de dyskératoses et d'une vacuolisation de la membrane basale épidermique. Ces aspects sont partagés avec les exanthèmes maculopapuleux et des formes de chevauchement entre DRESS et EMP sont possibles, dans lesquels la dermatose lichénoïde est plus frustre (62).

Ainsi, l'association d'une dermatose lichénoïde intense (vacuolisation basale majeure, dyskératose sévère) et d'une dermatose spongiforme seraient en faveur d'un DRESS.

De plus, une dyskératose sévère est associée à l'atteinte rénale dans le DRESS (32).

La biopsie cutanée est cependant non spécifique dans le DRESS. En outre, malgré l'acronyme DRESS soulignant l'importance de l'éosinophile pour le diagnostic, la présence d'éosinophiles dans la peau est inconstante, estimée entre 20% à 71% des patients selon les séries de la littérature (32–34). Les mécanismes de recrutement tissulaire et la pathogénicité des éosinophiles dans ces tissus au cours du DRESS restent non élucidés. Les éosinophiles pourraient jouer un rôle délétère dans les atteintes d'organes et constituer une potentielle cible thérapeutique en particulier chez des patients sévères présentant une contre-indication à la prise en charge classique par corticothérapie. Chez ces patients, le recours à un biomédicament ciblant l'éosinophile pourrait être un traitement de choix (63). Yawalkar et coll, ont mis en évidence chez un nombre restreint de patients atteints de DRESS une augmentation du nombre de cellules dans la peau exprimant l'IL-5 et l'éotaxine-1 (64). A notre connaissance, aucune autre étude n'a porté sur la caractérisation des éosinophiles circulants ou tissulaires dans le DRESS. L'intérêt de d'étudier spécifiquement les éosinophiles dans la peau réside dans 3 points : 1- fréquence de la présence des éosinophiles dans la peau au cours du DRESS ; 2- facilité d'accès aux biopsies cutanées par rapport aux autres organes, 3- possibilité de comparer ces patients à des patients contrôles (patients présentant une autre forme de toxidermie ou patients sains) ce qui n'est pas possible sur un plan pratique et éthique pour les atteintes d'autres organes profonds. Ces aspects justifient donc l'approche dermatologique dans l'étude de l'éosinophile et de ses mécanismes d'activation dans le DRESS.

### **VIII. Objectifs de l'étude**

Notre travail avait pour objectifs : 1) d'étudier le nombre et le niveau d'activation des éosinophiles dans la peau de patients atteints de DRESS, 2) de comparer ces résultats à ceux obtenus chez des patients atteints d'EMP sans éosinophilie ni atteinte viscérale et chez des sujets contrôles sains 3) de corrélérer ces paramètres à la sévérité du DRESS 4) de comparer deux méthodes de quantification du marquage immunohistochimique, dont une méthode semi-automatisée mise au point de manière originale au laboratoire dans le cadre de ce travail.

## Matériel et méthodes

Nous avons mené une étude rétrospective monocentrique descriptive portant sur 2 groupes de patients atteints de DRESS et d'EMP.

Le recueil et le stockage des données ont fait l'objet d'une déclaration auprès de la commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL) sous le libellé DEC18-386.

### *I. Sélection des patients*

Les patients étaient recrutés à partir de leur dossier anatomo-pathologique. Les patients étaient sélectionnés de façon consécutive sur une période allant du 1er janvier 2011 au 31 décembre 2017 sur la base de la réalisation d'une biopsie cutanée au CHRU de Lille. La sélection était réalisée grâce au code technique « OT3900 » codant pour le diagnostic de « toxidermie » renseigné par le pathologiste au moment du diagnostic dans le logiciel Diamic®. Le diagnostic de DRESS ou d'EMP était ensuite confirmé sur le plan clinique après consultation du dossier patient informatisé (logiciel Sillage®) et sur le plan biologique après consultation du logiciel Molis®. Le diagramme de flux en figure 5 résume le mode de sélection des patients.

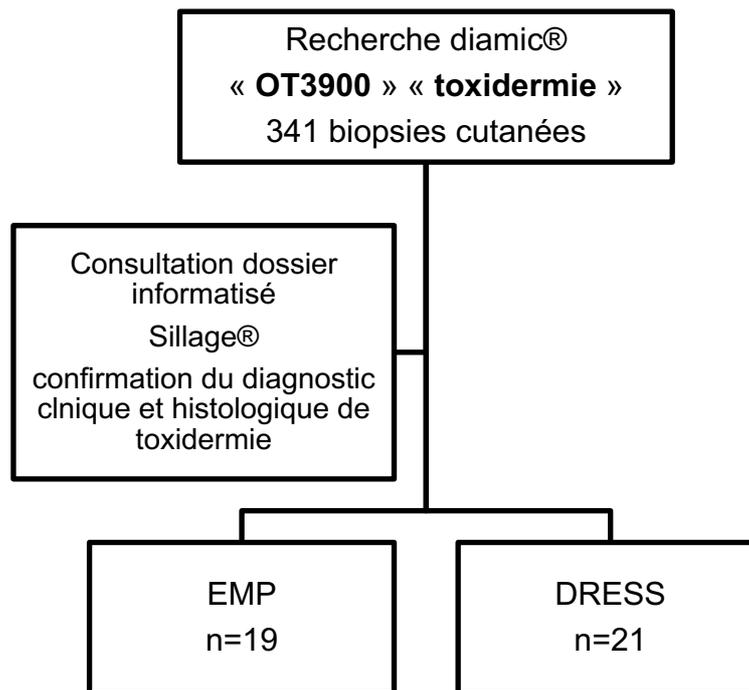


Figure 5 : Diagramme de flux résumant la sélection consécutive des patients. 341 biopsies étaient associées au diagnostic de toxidermie sans distinctions du type de toxidermie. La sélection des patients atteints de DRESS et d'EMP étaient sélectionnés ensuite après consultation de leur dossier patient informatisé.

### A. Critères d'inclusion

Nous avons choisi de comparer deux groupes de patients. Le nombre de patients était choisi de façon empirique : 19 EMP et 21 DRESS ont été sélectionnés selon les critères suivants :

➤ Groupe DRESS :

- Patient âgé de plus de 18 ans ayant un diagnostic de DRESS confirmé par un score RegiSCAR  $\geq 4$  (tableau 4)

➤ Groupe EMP

- Patient âgé de plus de 18 ans et présentant un exanthème survenant plus de 24 heures après le début d'un traitement médicamenteux.

- Sans éosinophilie > 500/mm<sup>3</sup>
- Ne présentant aucun des critères du score RegiSCAR pour le diagnostic de DRESS

## **B. Critères d'exclusion de l'analyse**

Nous avons exclu de l'étude :

- Les patients atteints d'EMP avec éosinophilie >500/mm<sup>3</sup> ;
- Les patients atteints d'autres formes de toxidermie : syndrome de Lyell ou Steven-Johnson, de pustulose exanthématique généralisée ou d'érythème pigmenté fixe ;
- Les patients pour lesquels la biopsie cutanée n'était pas compatible avec le diagnostic de toxidermie ;
- Les patients ayant une autre cause d'éosinophilie concomitante connue (hémopathie, parasitose, dermatite atopique) ;
- Les patients ne répondant pas au diagnostic certain, probable ou possible de DRESS (score RegiSCAR < 4).

## **II. Données cliniques et biologiques**

Les données analysées étaient :

- Caractéristiques démographiques (sexe, âge) ;
- Age au moment du diagnostic ;
- La présentation clinique avec la présence d'un exanthème, d'une atteinte muqueuse, d'un purpura, d'érosions ;
- La présence ou non d'un œdème facial et d'une infiltration des lésions ;
- La survenue de fièvre >38°C ;
- La présence d'adénopathies ;
- Les paramètres biologiques suivants : numération formule sanguine, hémoglobine, fonction rénale et hépatique, CRP, bilan de coagulation, CPK ;

- Réalisation de PCR virologique (HHV6, HHV7, EBV, CMV);
- Notion d'hémocultures positives, d'auto-immunité biologique (anticorps anti-nucléaire) ;
- Les atteintes d'organes du DRESS et la réalisation de biopsies d'autres organes au cours de la prise en charge ;
- Lieu de prise en charge du DRESS (service, séjour en réanimation) ;
- Évolution sous traitement : guérison, décès ;
- La ou les molécule(s) incriminé(es) et le motif de prescription ;
- Le délai entre la survenue des symptômes et la prise en charge hospitalière ;
- Le délai entre la prise médicamenteuse et le début de symptômes ;
- Le délai entre le début des symptômes et la biopsie cutanée ;
- La réalisation ou non de tests allergologiques et si oui, leur résultat ;
- Le traitement du DRESS (corticoïdes oraux, topiques, aucun) ;
- La durée d'hospitalisation spécifique au DRESS ;
- La durée des symptômes ;
- Le traitement associé notamment la prise de corticoïdes pour un autre motif que le DRESS ;

### ***III. Paramètres histopathologiques***

#### **A. Analyse morphologique sur HES**

Les prélèvements biopsiques colorés à l'hématoxyline-éosine-safran (HES) au moment du diagnostic ont fait l'objet d'une relecture conjointe avec un dermatopathologiste sénior (Dr Martin De Lassalle).

La présence des paramètres suivants étaient relevés :

- Dermatose spongiforme : défini par la présence d'un œdème inter-kératinocytaires, vésicules ou bulles épidermiques.
- Dermatite lichénoïde d'interface : dyskératoses, vacuolisation de la basale, nécroses kératinocytaires, décollement épidermique.
- Vascularite leucocytoclasique : nécrose fibrinoïde de la paroi vasculaire des petits vaisseaux du derme superficiel et moyen et infiltrat riche en polynucléaires neutrophiles pycnotiques.
- Purpura défini par une extravasation d'hématies dans le derme
- Infiltrat inflammatoire :

=> nature de l'infiltrat dont la présence de éosinophiles.

=> sévérité globale de l'infiltrat inflammatoire était estimée de façon semi-quantitative en fonction de la densité de cellules inflammatoires au sein du derme de 0 à 6 tel que réalisé dans l'étude de Gonçalo et coll, 2016 (65) :

- 0 : absence d'infiltrat
- 1 : discret infiltrat
- 2 : infiltrat léger à modéré
- 3 : infiltrat modéré
- 4 : infiltrat modéré à intense
- 5 : infiltrat intense
- 6 : infiltrat très intense.

## **B. Technique de marquage immunohistochimique**

Des coupes d'une épaisseur de 4µm ont été réalisées au microtome puis ont été étalées sur lames silanées (DakoFlex). L'automatisation de la technique permet d'assurer la reproductibilité de la technique (automate BenchMark Ultra, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA). Les échantillons ont été déparaffinés puis réhydratés. Le démasquage des antigènes a été réalisé à l'aide de techniques de démasquage antigénique soit par digestion enzymatique soit par chauffage des lames dans des tampons. Ces étapes permettent d'améliorer l'accessibilité de l'anticorps primaire au site antigénique en rompant les liaisons formées par le formol au sein des tissus. Le prétraitement par la chaleur à 100°C pendant 8 à 30 min a été réalisé dans un tampon de type Tris à un pH de 8,4 (Cell Conditioning solution 1, CC1, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA) ou à 91°C pendant 68 min dans un tampon de

type citrate à un pH de 6 (Cell Conditioning solution 2, CC2, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA). Le prétraitement enzymatique est réalisé par une protéase de type pronase (*Streptomyces griseus*, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) à la concentration de 75 mg/100 ml durant 8 minutes à 37°C pour le marquage MBP. Les anticorps primaires étaient mis en incubation pendant une durée de 32 minutes à 37°C. Le tableau 5 résume les références et dilutions des anticorps primaires. L'incubation avec l'anticorps secondaire a été de 8 minutes à une température stable de 37°C. Le complexe anticorps-antigène est soit révélé de façon indirecte par le kit UltraVIEW Universal DAB Detection pour les marquages CD3 et CD8 (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA) qui associe un anticorps anti-immunoglobuline à un multimère marqué par la peroxydase de raifort permettant d'amplifier la réaction ; soit révélé par le kit UltraVIEW Red (pour les marquages ECP et MBP) ou OptiVIEW Red (pour le marquage Eotaxine-1) (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA) qui associe un anticorps anti-immunoglobuline à un multimère marqué par la phosphatase alcaline. La réaction est visualisée soit par une couleur brune après ajout du substrat chromogène (eau oxygénée) réagissant avec la peroxydase de raifort ou par une couleur rouge après l'ajout de Fast-Red réagissant avec la phosphatase alcaline. Du tampon de rinçage (reaction buffer) a été utilisé entre chaque étape.

Une contre-coloration était effectuée par immersion dans l'hématoxyline puis dans une solution de bluing (solution aqueuse de carbonate de lithium tamponné) après rinçage. Les coupes de tissus étaient finalement rincées, déshydratées puis montées entre lame et lamelle.

Un témoin externe positif a été réalisé pour chaque anticorps afin s'assurer de la qualité du marquage. Des peaux contrôles normales issues de prélèvements cutanés sur réduction mammaire à visée esthétique étaient utilisées comme témoin externe négatif pour l'ensemble de marquages immunohistochimiques.

Nom Complet	Fabricant / Distributeur	Ref	Dilution	Hôte	Clone	Démasquage	Durée incubation	Kit révélation
<b>ECP - Anti-Ribonuclease 3</b>	Abcam	ab116017	1/200	Lapin	Poly	CC1 8min	32 min	UltraVIEW Red
<b>Eotaxine-1 CCL11</b>	Abcam	ab133604	1/75	Lapin	EPR5825	CC1 92 min	32 min	OptiVIEW Red
<b>MBP - Eosinophile</b>	Bio Rad	MCA5751	1/10	Souris	BMK-13	Pronase 8min	32 min	UltraVIEW Red
<b>CD3</b>	Leica	NCL-L-CD3-565	1/100	Souris	LN10	CC1 30min	32 min	UltraVIEW DAB
<b>CD8</b>	Dako	M7103	1/25	Souris	C8/144B	CC1 30min	32 min	UltraVIEW DAB

Tableau 5 : Liste des anticorps utilisés et détails des étapes techniques.

## C. Analyse des marquages immunohistochimiques

### - Analyse des marqueurs lymphocytaires T

L'analyse des lames marquées par les anticorps anti-CD8 et anti-CD3 a été réalisée par un premier examinateur (F. Dezoteux) puis les lames étaient relues conjointement avec un dermatopathologiste sénior (Dr E. Martin De Lassalle). La présence d'un marquage des cellules par les anticorps anti-CD8 et anti-CD3 a été étudiée dans le derme et l'épiderme, la densité de cellules positives pour ces anticorps a été quantifiée en pourcentage de cellules lymphoïdes marquées sur l'intégralité de chaque biopsie cutanée. Le marquage était considéré comme positif quand il existait un marquage cytoplasmique. Le pourcentage de cellules lymphoïdes CD4+ a été ensuite déduit en faisant un ratio du nombre de cellules CD3+ / CD8-.

### - Analyse des marquages anti-ECP, anti-MBP et anti-Eotaxine-1

#### o *Méthode n°1 : quantification manuelle*

Concernant les marquages immunohistochimiques anti-ECP, anti-MBP et anti-Eotaxine-1, nous avons utilisé un microscope Zeiss Axio Lab.A1 (Carl Zeiss Micro Imaging GmbH, 37081 Göttingen) couplé à un oculaire de 22 mm au grossissement X10 et un objectif au grossissement x20. La surface de champ était de 1,9mm<sup>2</sup>. Pour convertir le nombre de cellules marquées par champs en cellules marquées par mm<sup>2</sup>, un coefficient de 5,7 a été utilisé. Un compte des cellules marquées a été réalisé dans

trois champs au grossissement x20 afin d'être le plus représentatif de la zone d'intérêt pour chaque biopsie.

Nous avons adapté le score développé par Masterson et coll, (66) permettant de caractériser le dépôt de granules marquées par un anticorps anti-EPX et la proportion d'éosinophiles intactes au sein de l'infiltrat (annexe 3). Ce score, initialement développé dans l'œsophagite à éosinophiles (67), disponible en annexe 4, et secondairement transposé dans la maladie de Crohn pédiatrique, est corrélé à la sévérité histologique de la maladie et les scores de sévérité clinique. Ce score est composé de 4 items : 1) évaluation du niveau de dégranulation dans les tissus, 2) nombre d'éosinophiles au sein d'un champs en zone maximale d'infiltration éosinophilique, 3) nombre d'éosinophiles au sein de 5 champs consécutifs et 4) la surface de la biopsie concernée par l'infiltrat éosinophiles et/ou par la dégranulation. Chaque item est pondéré par un facteur dit « prioritaire » allant de 1 à 4 permettant d'obtenir un score maximal de 30 rendant compte de la sévérité de l'infiltrat éosinophilique en termes d'infiltrat cellulaire et de dégranulation. Nous avons transposé ce score au marquage des cellules et des granules extracellulaires par les anticorps anti-ECP et anti-MBP :

Item n°1 : La sévérité du niveau de dégranulation de l'éosinophile était estimée de 0 à 4 après localisation de la zone de dégranulation maximale au grossissement X4 puis estimée sur 5 champs consécutifs au grossissement X40 puis un facteur de pondération de 4 était appliqué :

- 0 : éosinophiles intactes, pas de dégranulation ;
- 1 : présence de granules dans une zone limitée à proximité d'éosinophiles intacts ;
- 2 : éosinophiles énucléés, granules libres isolés ;
- 3 : dégranulation extensive, granules libres isolés et diffus dans la matrice extracellulaire.

Item n°2 : Le nombre d'éosinophiles intactes était estimé de 1 à 3 sur un champ au grossissement X40 après localisation de la zone maximale au grossissement X4 puis un facteur de 2 était appliqué :

- 1 : nombre d'éosinophiles intactes entre 0 et 5

- 2 : nombre d'éosinophiles intacts entre 6 et 15
- 3 : nombre d'éosinophiles intacts > 15

Item n°3 : Le nombre d'éosinophiles intacts était ensuite estimé de 1 à 3 sur cinq champs consécutifs au grossissement X40 après localisation de la zone maximale au grossissement X4 puis un facteur de 3 était appliqué :

- 1 : nombre d'éosinophiles intacts entre 0 et 5
- 2 : nombre d'éosinophiles intacts entre 6 et 15
- 3 : nombre d'éosinophiles intacts > 15

Item n°4 : La surface atteinte sur chaque biopsie par l'infiltrat éosinophilique et/ou par la dégranulation était enfin estimée entre 0 et 3 au grossissement X4 :

- 0 : 0% de surface atteinte
- 1 : 1% à 33% de surface atteinte
- 2 : 34% à 66% de surface atteinte
- 3 : 67% à 100% de surface atteinte

Ces quatre items étaient ensuite additionnés après pondération de chaque paramètre par le facteur prioritaire correspondant pour un score final compris entre 5 et 30.

- Méthode n°2 : quantification semi-automatisée

Nous avons réalisé en collaboration avec la plateforme d'imagerie du CHRU de Lille une quantification automatisée du marquage anti-ECP et anti-MBP. Cette quantification a été réalisée en collaboration avec Mr Antonino Bongiovanni et Mme Meryem Tardivel de la plateforme d'imagerie tissulaire du CHRU de Lille (BICeL). L'acquisition des lames était réalisée à l'aide du scanner de lame Axio Scan.Z1 (Carl Zeiss Micro Imaging GmbH, 37081 Göttingen) à l'objectif X20/0,8. L'analyse des images était réalisée à l'aide du logiciel ImageJ (U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) dans lequel un programme de macro est enregistré permettant l'automatisation d'une série de commandes par le logiciel après avoir calibrer les mesures à réaliser. Le programme de macro est composé d'un enchaînement de commandes : dans un premier temps l'ensemble de la biopsie sur lame était délimité afin de mesurer la surface de la biopsie où la surface d'un pixel correspondait à  $0,44\mu\text{m}^2$ . Dans un second temps, les cellules et les granules marqués

sont identifiés selon le degré de coloration. Dans un troisième temps, les granules et les cellules marqués étaient séparés par leur taille. Un intervalle de 1 et  $8\mu\text{m}^2$  était défini pour les granules et  $>8\mu\text{m}^2$  pour les cellules. Les éléments ainsi identifiés étaient ensuite quantifiés automatiquement (figure 6). Les degrés de coloration et la tailles des objets servant à identifier nos cibles étaient définis empiriquement et manuellement sur les lames les plus représentatives de la série. Ce processus était ensuite appliqué automatiquement sur l'ensemble des lames scannées afin de garantir une reproductibilité dans la mesure réalisée à l'aveugle. Les résultats étaient exprimés en nombre de cellules ou de granules par unité de surface ( $\text{mm}^2$ ).

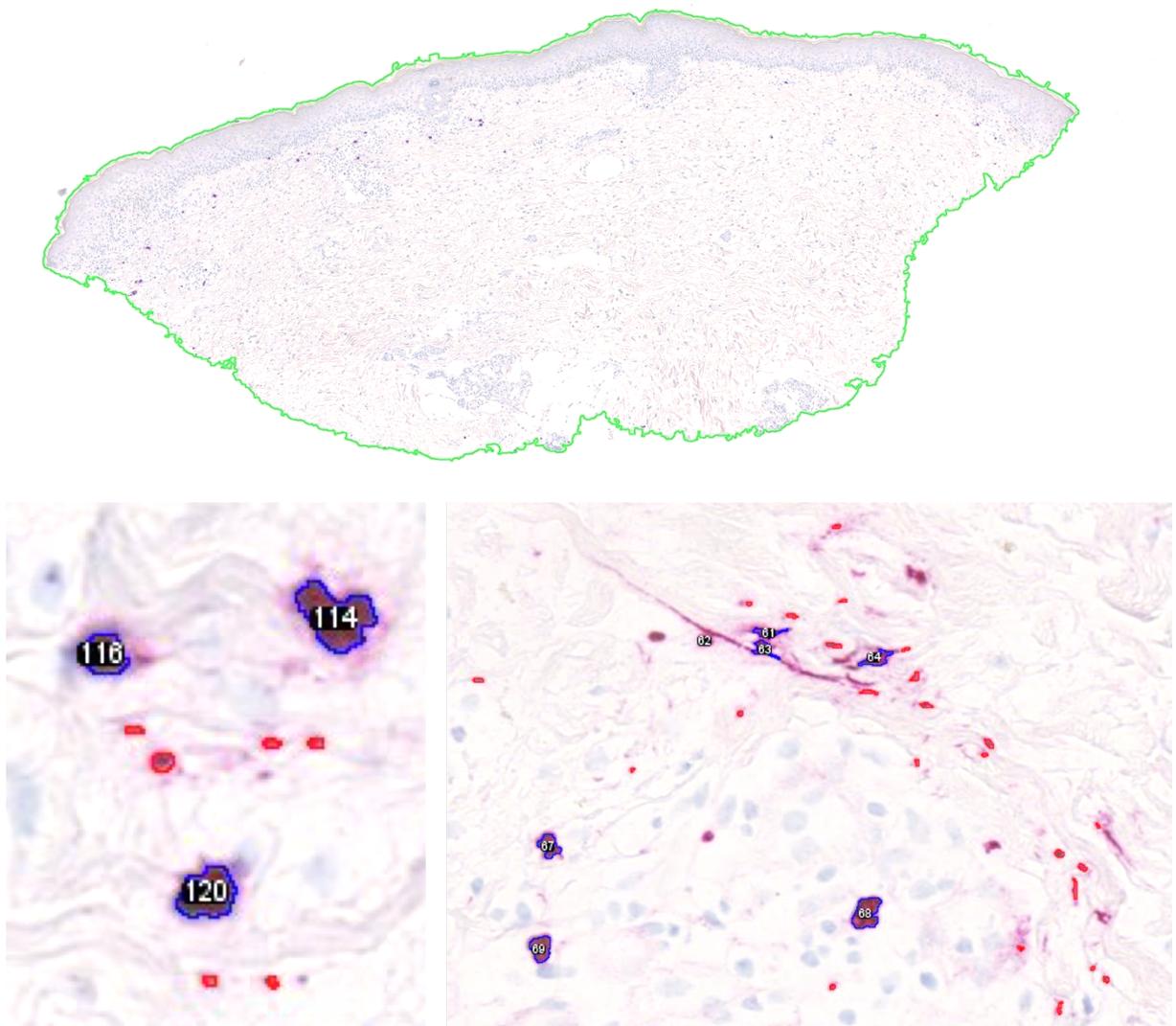


Figure 6 : Exemple de quantification semi-automatisée. En vert, le contour de la biopsie est délimité puis la surface est mesurée automatiquement. Les cellules

(délimitées en bleu) et les granules (délimitées en rouge) sont quantifiés sur l'ensemble de la coupe biopsique.

#### **IV. Critères de jugement**

Le critère de jugement principal correspond à la présence des éosinophiles et au niveau de dégranulation des éosinophiles et était évalué sur la base d'un marquage immunohistochimique anti-ECP et anti-MBP et était comparé entre les deux groupes de l'étude.

#### **V. Analyse statistique des données**

Les paramètres qualitatifs ont été décrits en termes de fréquence et de pourcentage. Les paramètres numériques gaussiens ont été décrits en termes de moyenne et de déviation standard et les paramètres numériques non gaussiens en termes de médiane et d'intervalle interquartiles. La normalité des paramètres numériques a été vérifiée graphiquement et testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk.

Les comparaisons de deux groupes de toxidermies ont été réalisées à l'aide d'un test du Chi 2 ou un test exact de Fisher pour les paramètres qualitatifs, à l'aide d'un test U de Wilcoxon-Mann-Whitney pour les paramètres continus non gaussiens.

Un test de corrélation de Spearman a été utilisé pour tester le lien entre les variables quantitatives. Les différences entre les résultats du score ECP et le score MBP ont été analysées dans chacun des groupes (DRESS et EMP) à l'aide d'un test de Wilcoxon apparié. La méthode graphique de Bland et Altman a été utilisé pour comparer les méthodes de quantification.

Les statistiques ont été réalisées avec l'aide de l'unité de méthodologie biostatistique du CHRU de Lille et du Dr Benjamin Lopez.

Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4). Les graphiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, USA) et GraphPad Prims V7.0 (GraphPad Software, La Jolla California USA).

## Résultats

### I. Caractéristiques des patients

Notre étude a porté sur 2 groupes de 21 patients atteints de DRESS et 19 patients atteints d'EMP dont le détail est présenté en annexes 5 et 6. On comptait 14 femmes (66,7%) et 7 hommes (33,3%) dans le groupe DRESS contre 10 femmes (52,6%) et 9 hommes (47,4%) dans le groupe EMP sans différence significative entre les 2 groupes ( $p=0,37$ ). L'âge médian au diagnostic était de 53 ans pour le groupe DRESS et 60 ans pour le groupe EMP, sans différence significative entre les 2 groupes ( $p=0,70$ ). Dans le groupe DRESS, le score RegiSCAR de Kardaun médian était de 6 avec un minimum de 4 et un maximum de 8. Dix patients atteignaient un score RegiSCAR de 4 à 5 (cas probables) et 11 atteignaient un score de 6 à 8 (cas définis) (tableau 6).

Sur le plan clinique, 100% des patients atteints de DRESS présentaient un exanthème de plus de 50% de la surface corporelle. L'œdème facial était la caractéristique la plus fréquemment identifiée dans le groupe DRESS avec 52,4% ( $n=11$ ) des cas. L'infiltration cutanée était présente chez 47,6% ( $n=10$ ) des patients (figure 7).

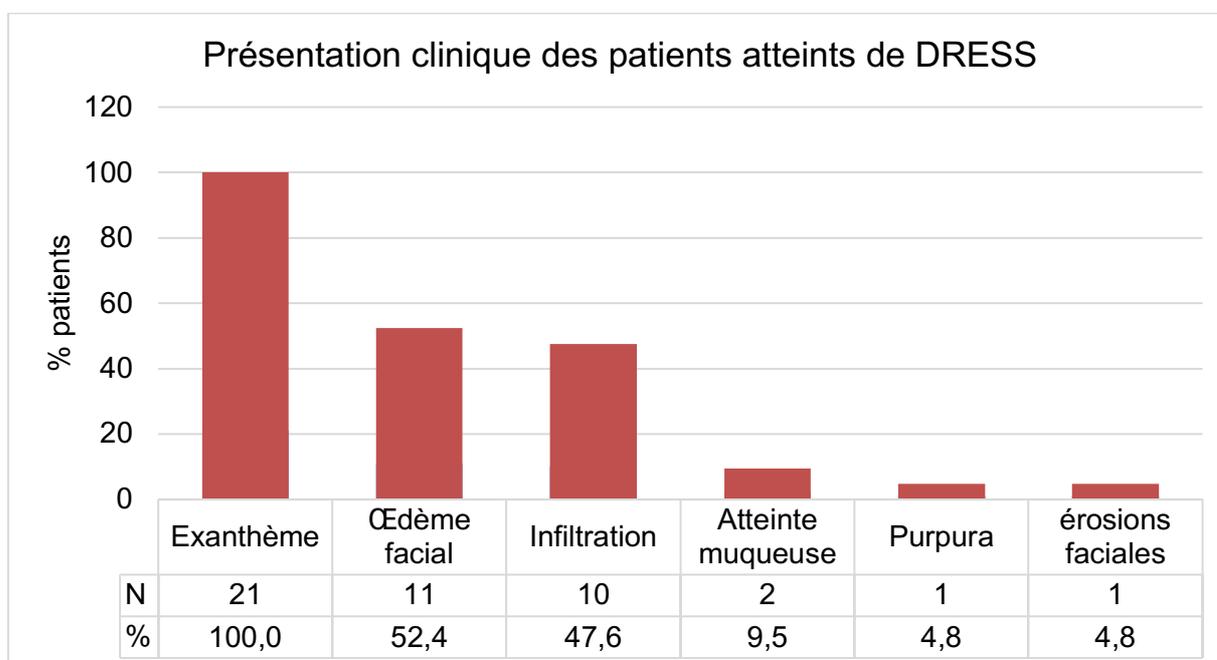


Figure 7 : Présentation clinique des patients atteints de DRESS. Seuls 9,5% ( $n=2$ ) des patients présentaient une atteinte muqueuse et 4,8% ( $n=1$ ) des patients présentaient un purpura et 4,8% ( $n=1$ ) une forme érosive et bulleuse.

	Fièvre >38,5°C	ADP	Éosinophilie (cell/mm3)		Manifestations cutanées				Atteinte d'organes					Durée >15j		Autre	SCORE
	0 :oui - 1:non/?	Oui :1	1pt	2pts	1pt	1pt	-1pt	-1pt	1pt	1pt	1pt	1pt	1pt	1pt	-1pt	1 pt si ≥ 3 items négatifs	
			700-1499	>1500	>50% surface corporelle	Éruption compatible	Atypique	Biopsie incompatible	Foie	Rein	Muscle, cœur	Pancréas	Autre	Oui	Non	Anticorps anti-nucléaires, hémocultures, sérologie VHA VHB VHC chlamydia, mycoplasme	
DRESS 1	-1	1		2	1	1								1		1	6
DRESS 2	0				1	1			1		1			1		1	7
DRESS 3	-1	1		2	1	1			1					1		1	7
DRESS 4	0				1	1			1	1				1		1	6
DRESS 5	0			2	1	1				1				1		1	7
DRESS 6	-1	1		2	1	1								1		1	6
DRESS 7	-1			2	1			-1		1				1		1	4
DRESS 8	-1			2	1	1								1		1	5
DRESS 9	0				1	1			1	1	1			1		1	8
DRESS 10	-1	1		2	1	1			1					1		1	7
DRESS 11	-1			2	1	1				1				1		1	6
DRESS 12	-1			2	1	1								1		1	5
DRESS 13	-1			2	1	1								1		1	5
DRESS 14	-1	1		2	1	1			1					1		1	7
DRESS 15	0				1	1			1	1	1				-1	1	5
DRESS 16	0			2	1	1			1	1				1		1	8
DRESS 17	-1	1		2	1				1						-1	1	4
DRESS 18	-1			2	1	1								1		1	5
DRESS 19	0			2	1	1									-1	1	4
DRESS 20	0			2	1	1									-1	1	4
DRESS 21	0	1			1	1			1						-1	1	4

Tableau 6 : Score RegiSCAR de Kardaun pour les patients du groupe DRESS

Sur le plan biologique (tableau 7), les patients du groupe DRESS présentaient une éosinophilie sanguine dans 100% de cas (n=21) avec un taux moyen à  $3760 \pm 3031$  éléments/mm<sup>3</sup>. Onze patients présentaient une atteinte hépatique (52%), six présentaient une atteinte rénale primitive au DRESS ou aggravait leur fonction rénale défaillante au cours du suivi (29%) tandis que trois patients présentaient une atteinte musculaire et/ou cardiaque (14%). Concernant l'atteinte hépatique on mettait en évidence une atteinte qui prédominait sur les TGO avec une valeur médiane 1,6 fois supérieure à la normale (minimum 0,6 – maximum 52,3) contre une valeur médiane 1,4 fois la normale (minimum 0,3 – maximum 31,5) pour les TGP. L'atteinte hépatique était caractérisée par une cytolyse et une cholestase sans élévation de la bilirubine totale et conjuguée. Les patients des deux groupes présentaient une augmentation de la CRP, de façon plus importante dans le groupe DRESS par rapport au groupe EMP.

La recherche d'une réactivation virale par PCR chez les patients atteints de DRESS avait été réalisée de façon systématique et a permis de mettre en évidence sept patients présentant une ou plusieurs réactivations virales parmi lesquels : trois réactivations à CMV, trois réactivations à HHV7 et deux réactivations à EBV. Chez un patient, il a pu être mis en évidence une réactivation virale simultanée des trois virus. L'atteinte hépatique chez ce patient était sévère avec une variation par rapport à la normale de 52,3 fois sur les TGO et 31,5 fois sur le TGP sans néanmoins d'insuffisance hépatocellulaire au cours du suivi.

	DRESS (n=21)					EMP (n=19)				
	Moyenne	Écart-type	Médiane	Minimum	Maximum	Moyenne	Écart-type	Médiane	Minimum	Maximum
<b>Leucocytes (/mm3)</b>	14350	7156	16020	800	25000	8874	5404	5966	3610	21870
<b>Éosinophiles (/mm3)</b>	3760	3031	3700	100	10300	233,3	178,2	200	0	600
<b>Neutrophiles (/mm3)</b>	7600	3778	7400	1200	15700	6561	5440	4250	4,4	19200
<b>Lymphocytes (/mm3)</b>	2290	1794	1800	400	6900	1267	618,3	1100	200	2600
<b>TGO (UI/L)</b>	224,7	424	48	17	1569	43,35	49,23	27	14	212
<b>Delta-TGO</b>	7,495	14,13	1,6	0,6	52,3	1,445	1,644	0,9	0,5	7,1
<b>TGP (UI/L)</b>	173	274	48	9	1103	44,65	62,07	29	12	272
<b>Delta-TGP</b>	4,948	7,825	1,4	0,3	31,5	1,272	1,781	0,8	0,3	7,8
<b>GGT (UL/L)</b>	213,1	368,9	100,5	13	1714	112,1	128,2	36	21	384
<b>Delta-GGT</b>	6,762	12,08	2,9	0	57,1	3,271	4,177	1,1	0	12,8
<b>PAL (UI/L)</b>	202	263,5	120	46	1270	111,2	72,21	86	44	357
<b>Delta-PAL</b>	1,938	2,533	1,2	0,4	12,2	1,067	0,6879	0,8269	0,4	3,4
<b>Bilirubine totale (g/l)</b>	5,571	4,611	4	2	18	5,375	3,423	5	1	13
<b>Delta-Bilirubine</b>	0,4762	0,3807	0,3	0,2	1,5	0,4604	0,2822	0,4083	0,1	1,1
<b>TP (%)</b>	77,94	18,79	82	31	100	75,4	28,96	82	31	100
<b>CRP (mg/l)</b>	96,33	75,76	74	10	282	49,17	43,94	34,5	3	138
<b>DFG (ml/min)</b>	86,34	51,39	82,25	7,6	193,1	85,86	42,73	70,2	22,9	146,2
<b>Créatinine (mg/l)</b>	13,57	15,59	9	4	75	9,889	3,563	8,5	6	18
<b>Urée (mg/l)</b>	0,561	0,3661	0,41	0,16	1,18	0,3678	0,2035	0,325	0,15	0,95

Tableau 7 : Détails des anomalies biologiques observées dans les deux groupes de patients de l'étude. L'atteinte hépatique est présentée en variation par rapport à la normale (valeur Delta).

## II. Molécules impliquées

Au sein du groupe DRESS, dans 71% (n=15) des cas, plusieurs molécules étaient potentiellement impliquées dans la survenue du DRESS alors que dans 29% (n=6) des cas, une seule molécule était imputable (figure 8). Au cours des EMP, seuls 58% (n=11) impliquaient plusieurs molécules dans la survenue de l'EMP.

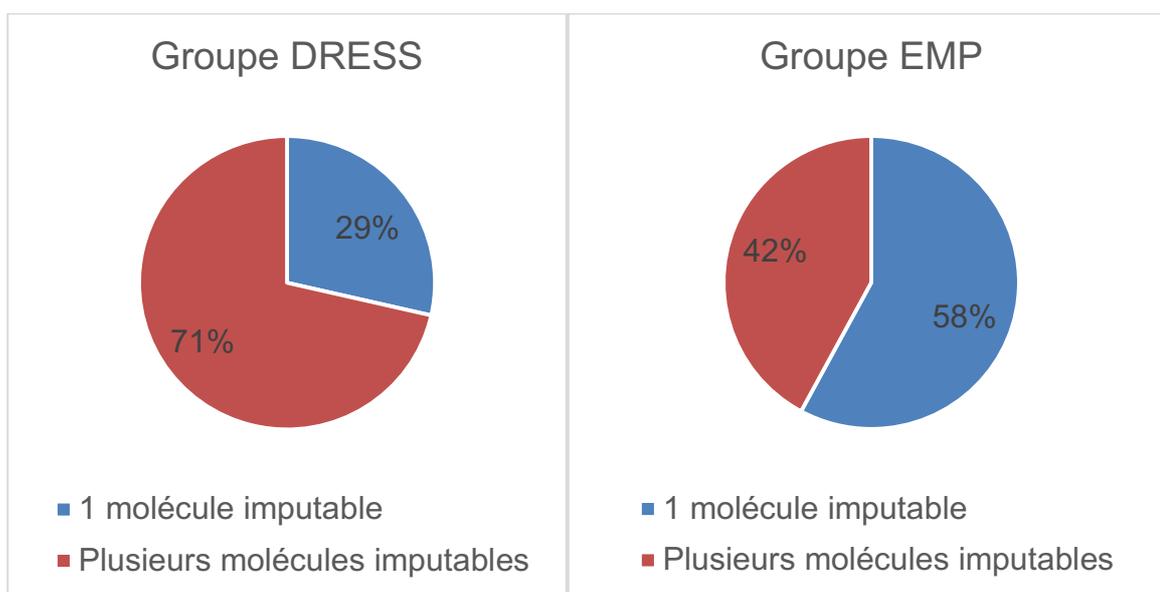


Figure 8 : Notion de polysensibilisation possible au cours du DRESS où dans 71% des cas on observe plusieurs molécules impliquées dans la survenue du DRESS.

Au sein du groupe DRESS (figures 9 et 10), dans 54% (n=15), un antibiotique était impliqué et il s'agissait dans 46% (n=6) d'une pénicilline contre 23% (n=3) pour la vancomycine. Dans 11% (n=3) des cas, la molécule était une thérapie ciblée anticancéreuse (inhibiteurs anti-BRAF/anti-MEK). Dans un cas, il s'agissait d'un inhibiteur de Janus Kinase utilisé dans le cadre d'un protocole de recherche du traitement d'un lupus érythémateux systémique.

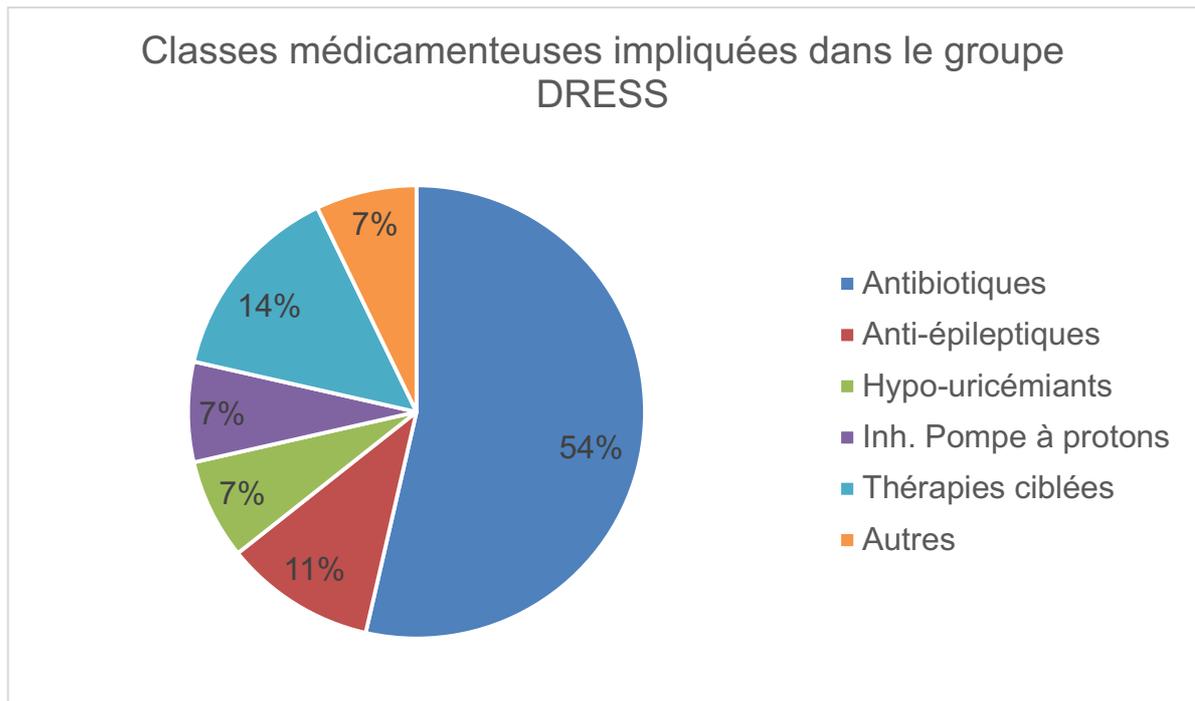


Figure 9 : Liste des classes médicamenteuses impliquées dans la survenue du DRESS.

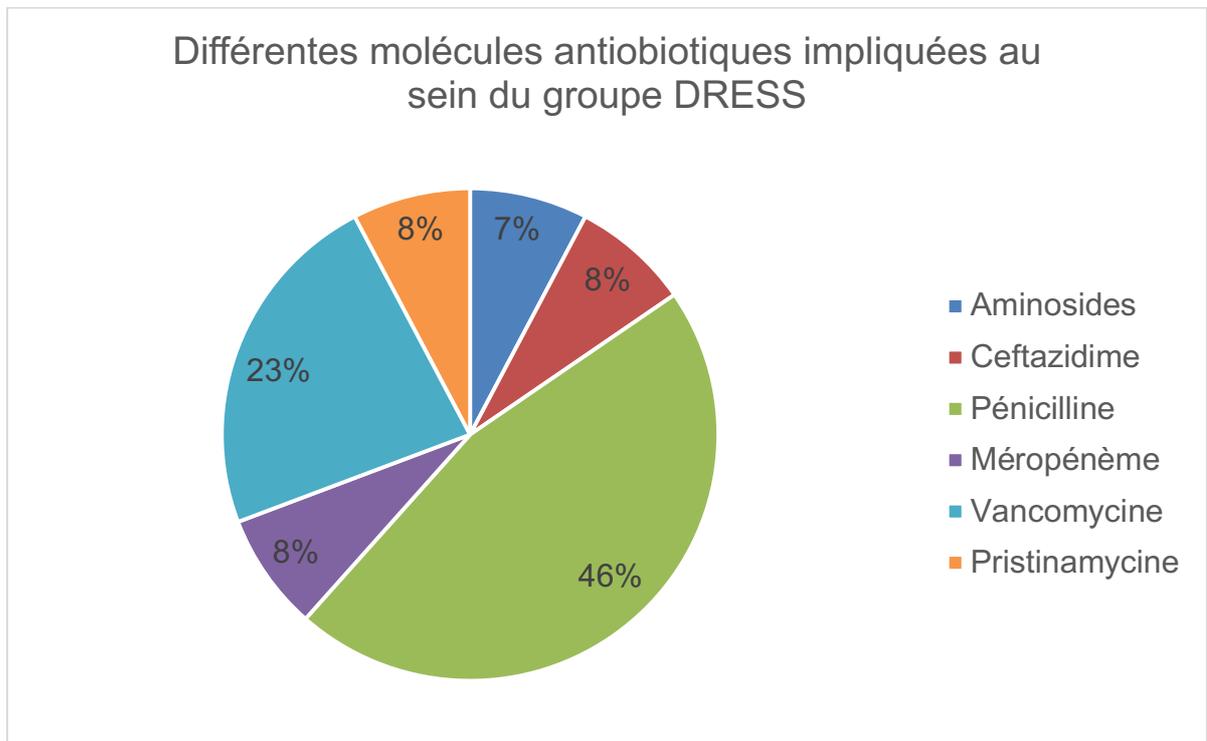


Figure 10 : Liste des différentes molécules antibiotiques impliquées au sein du groupe DRESS. Dans 46%, les pénicillines sont impliquées contre 23% pour la vancomycine.

Au sein du groupe EMP, dans 29% (n=6) des cas chacun, les anti-infectieux et les thérapies ciblées anticancéreuses étaient impliquées (figure 11). Parmi les molécules anti-infectieuses, il s'agissait dans quatre cas d'un antibiotique (Vancomycine, Tazocilline, Amoxicilline, Oracilline) ; dans un cas, d'un antimycotique (Fluconazole) et dans un cas d'un antiviral (Valaciclovir). Parmi les thérapies ciblées, il s'agissait du Sorafénib (anti-VEGF prescrit dans le cadre d'un carcinome hépatocellulaire) dans deux cas, et d'un inhibiteur anti-BRAF/anti-MEK qui était utilisé seul pour un patient (Vémurafénib) ou en association dans trois cas (Vémurafénib + Cobimétinib chez deux patients, Dabrafénib + Tramétinib chez un patient).

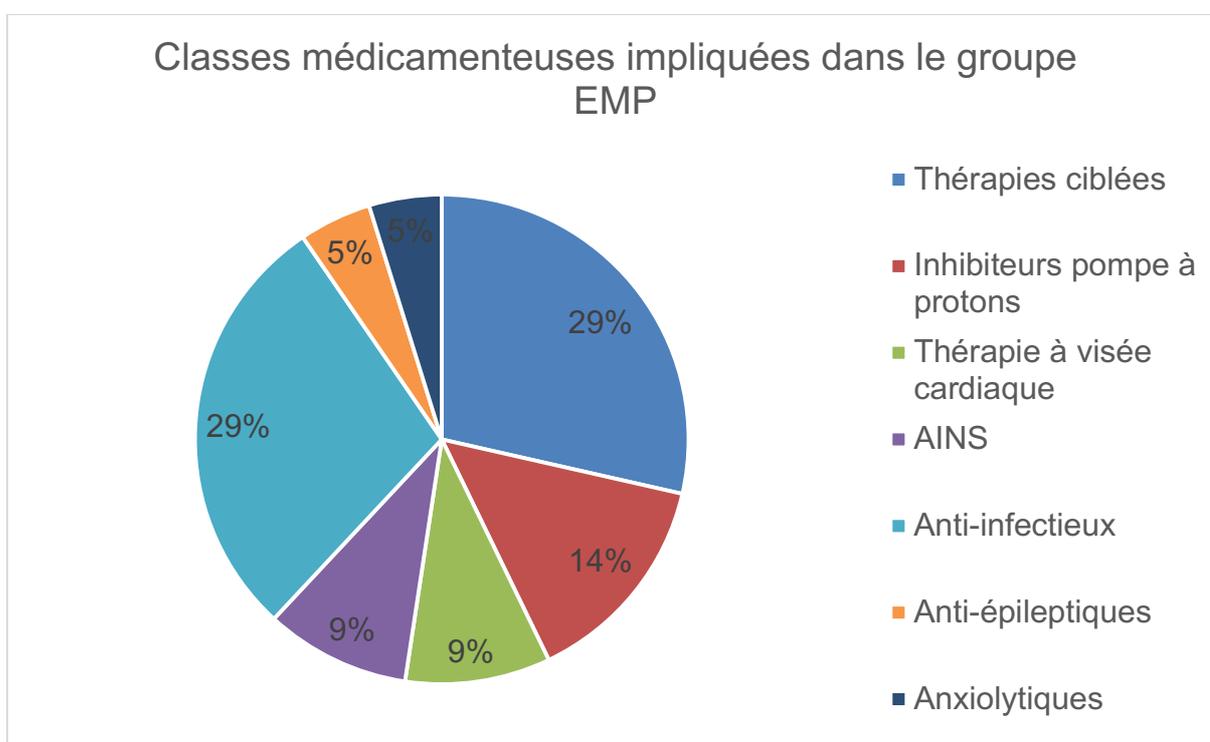


Figure 11 : Liste des classes médicamenteuses impliquées dans le groupe EMP.

Nous avons recherché si les patients avaient pu bénéficier d'une exploration allergologique dans les suites de leur DRESS. Quatre patients (19%) ont bénéficié de tests allergologiques par patch test dans les semaines suivant le DRESS. Parmi ces quatre patients, un patient a présenté un test positif pour la Tazocilline qui avait été prescrite dans le cadre d'un abcès hépatique pendant plusieurs semaines. En revanche, nous n'avons pas recensé d'exploration allergologique parmi les 19 EMP (soit, non réalisés ou soit, en attente de réalisation).

### III. Données de prise en charge

Le diagnostic de DRESS était posé dans 62% (n=13) des cas dans le service de dermatologie, contre 14% (n=3) des cas dans le service de médecine interne et 9% (n=2) des cas dans un service de chirurgie (figure 12).

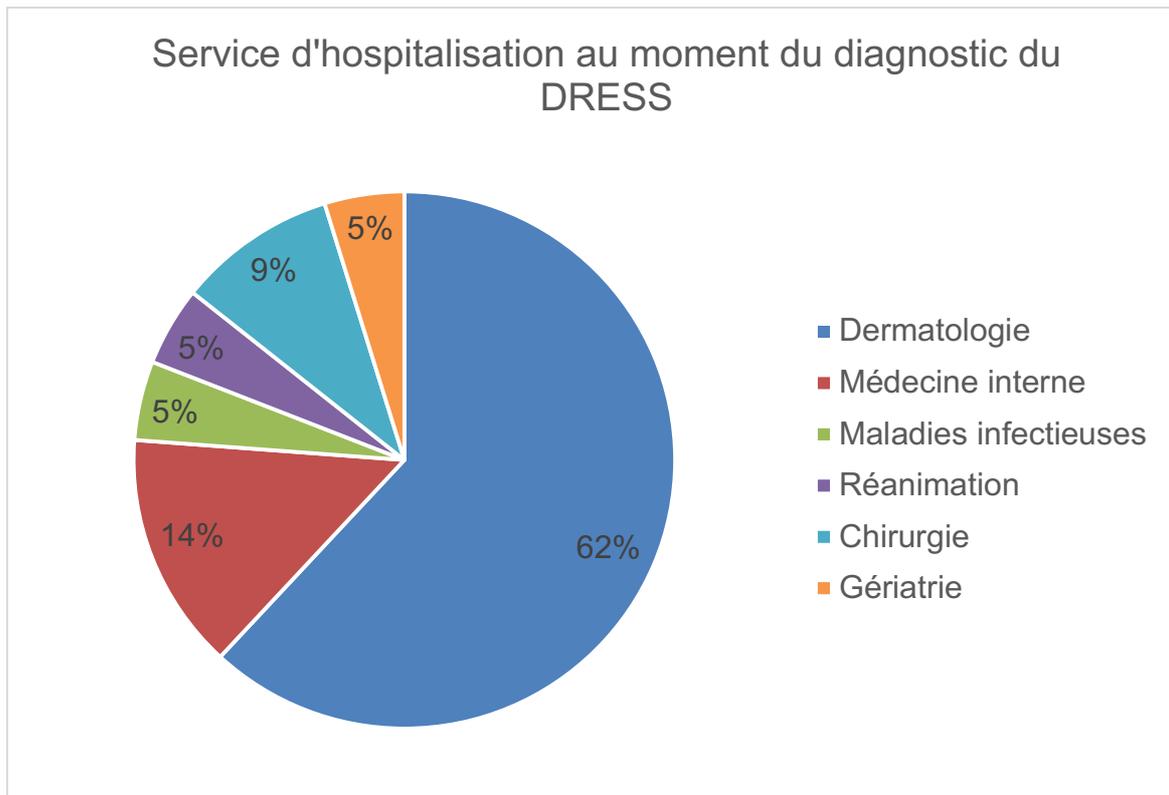


Figure 12 : Lieux de prise en charge des patients atteints de DRESS au moment du diagnostic.

Au sein du groupe EMP, dans 80% (n=15), les malades étaient pris en charge en dermatologie, et dans 5% (n=1) chacun, les malades étaient pris en charge en gériatrie, en unité de maladie infectieuse, en gynécologie ou en gastro-entérologie (figure 13).

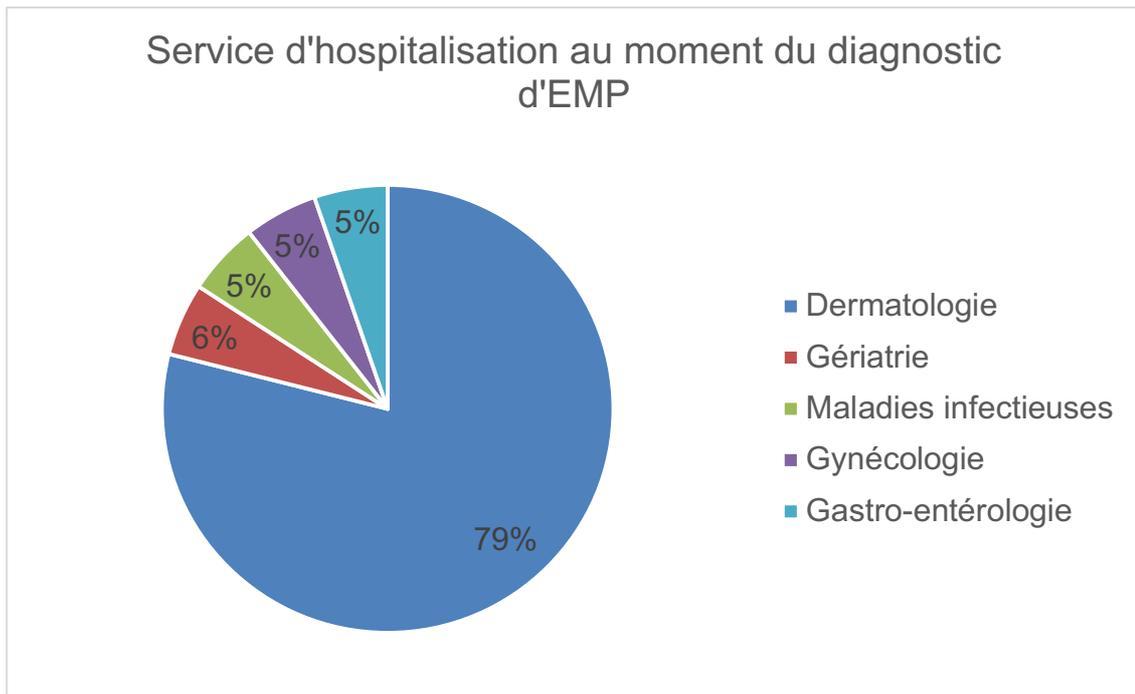


Figure 13 : Lieux de prise en charge des patients atteints d'EMP au moment du diagnostic.

Le délai médian de survenue des symptômes après la prise médicamenteuse était de 16 jours dans le groupe DRESS et de 10 jours dans le groupe EMP et était de façon attendue significativement différente statistiquement ( $p=0,007$ ). Le délai médian d'hospitalisation après l'apparition des symptômes était de 12 jours dans le groupe DRESS et de 4,5 jours dans le groupe EMP mais ne différait pas de façon significative entre les deux groupes. Le délai médian entre le début des symptômes et la réalisation de la biopsie cutanée était de 7 jours dans le groupe DRESS contre 5 jours dans le groupe EMP et n'était pas significativement différent entre les deux groupes. La durée d'hospitalisation médiane spécifique au DRESS était de 13 jours dans le groupe DRESS contre 4 jours dans le groupe EMP et était significativement différente entre les deux groupes ( $p<0,01$ ) (tableau 8).

	DRESS (n=21)	EMP (n=19)	p value	Test
Genre n(%)			0,37	Chi-deux
Femme	14 (66,7)	10 (52,6)		
Homme	7 (33,3)	9 (47,4)		
Âge médian au diagnostic	53 (40-70)	60 (32-74)	0,7	Wilcoxon
Délai médian symptômes-hospitalisation (jours)	12 (4-30)	4,5 (3-8,5)	0,13	Wilcoxon
Délai médian symptômes-biopsie (jours)	7 (4-19)	5 (3-10)	0,57	Wilcoxon
<b>Délai médian d'apparition des symptômes (jours)</b>	16 (11-30)	10 (7-15)	<b><u>0,007</u></b>	Wilcoxon
<b>Durée médiane hospitalisation spécifique (jours)</b>	13 (10-21)	4 (3-6)	<b><u>&lt;0,01</u></b>	Wilcoxon
Durée médiane de traitement (jours)	60 (25,5-127,5)	7 (7-30)	N/A	N/A

Tableau 8 : Caractéristiques démographiques de la population d'étude et délais de prise en charge. Les résultats sont exprimés en médiane et espaces interquartiles. Les données temporelles sont exprimées en jours.

Concernant la conduite à tenir thérapeutique, les patients atteints de DRESS et d'EMP, après arrêt systématique de la (ou des) molécule(s) imputable(s), bénéficiaient soit d'une corticothérapie topique, soit d'une corticothérapie orale, soit aucun des 2. Dans le groupe DRESS, une corticothérapie orale était nécessaire pour 48% (n=10) des patients en raison de la sévérité de leur atteinte viscérale et 43% (n=9) des patients étaient traités uniquement par voie topique (figure 14). Dans le groupe EMP, 63% (n=12) des patients n'ont bénéficié d'aucun traitement contre 37% (n=7) pour lesquels un traitement topique dermocorticoïde était prescrit.

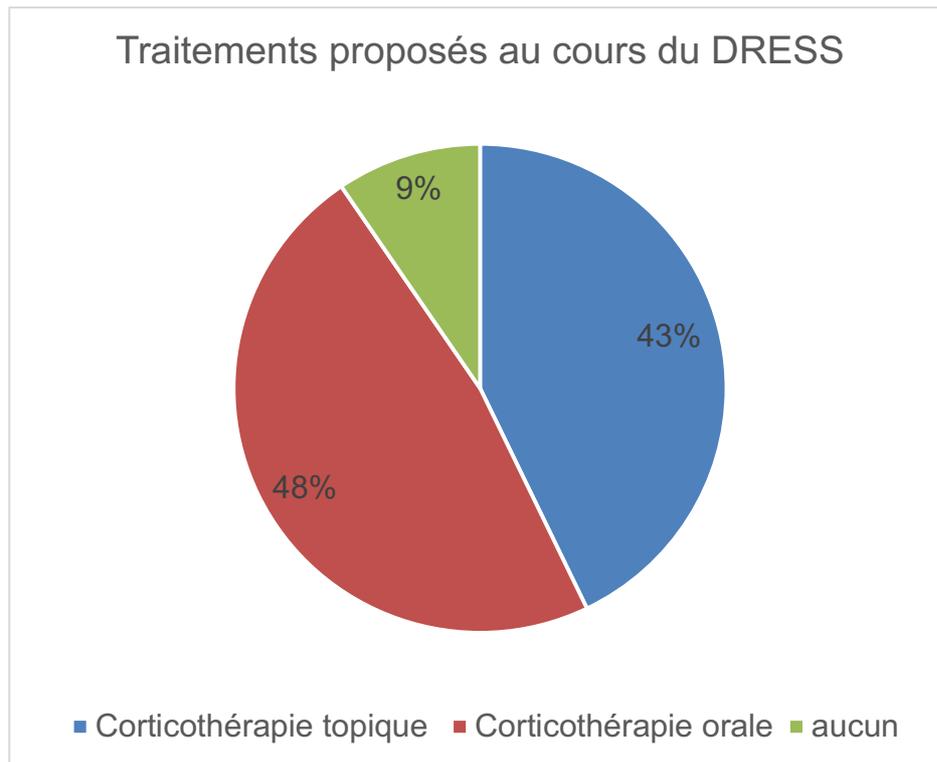


Figure 14 : Différents traitements proposés aux patients atteints de DRESS. Deux patients (9%) n'ont bénéficié d'aucun traitement (hormis arrêt de la molécule imputable) ni topique ni orale par corticoïdes.

Dans le groupe DRESS, 19% (n=4) des malades ont nécessité une prise en charge réanimatoire en unité de soins intensifs mais aucun décès imputable au DRESS n'a été constaté. Dans 43% (n=9), les malades étaient hospitalisés au préalable pour un autre motif que le DRESS, le plus souvent en contexte infectieux sévère ou post-opératoire avec complications (endocardite, fistule, spondylodiscite, pancréatite aiguë avec coulées de nécrose surinfectées).

#### **IV. Analyse morphologique et évaluation de la sévérité**

L'analyse des lames colorées par l'hématoxyline-éosine-safran a mis en évidence un infiltrat inflammatoire présent dans le derme superficiel (figure 15).

Il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes concernant le paramètres analysés (tableau 9). L'infiltrat éosinophilique était observé dans 38% (n=8) des cas contre 37% (n=7) dans le groupe EMP. Un purpura était observé dans 52% (n=11) des cas de DRESS. Dans 14% (n=3) des cas de DRESS, on observait

une atteinte vésiculeuse et/ou bulleuse au sein de l'épiderme. Le signe le plus fréquemment identifié était la spongiose (œdème interkératinocytaire) présent dans 95% (n=20) des cas de DRESS et 100% des cas d'EMP.

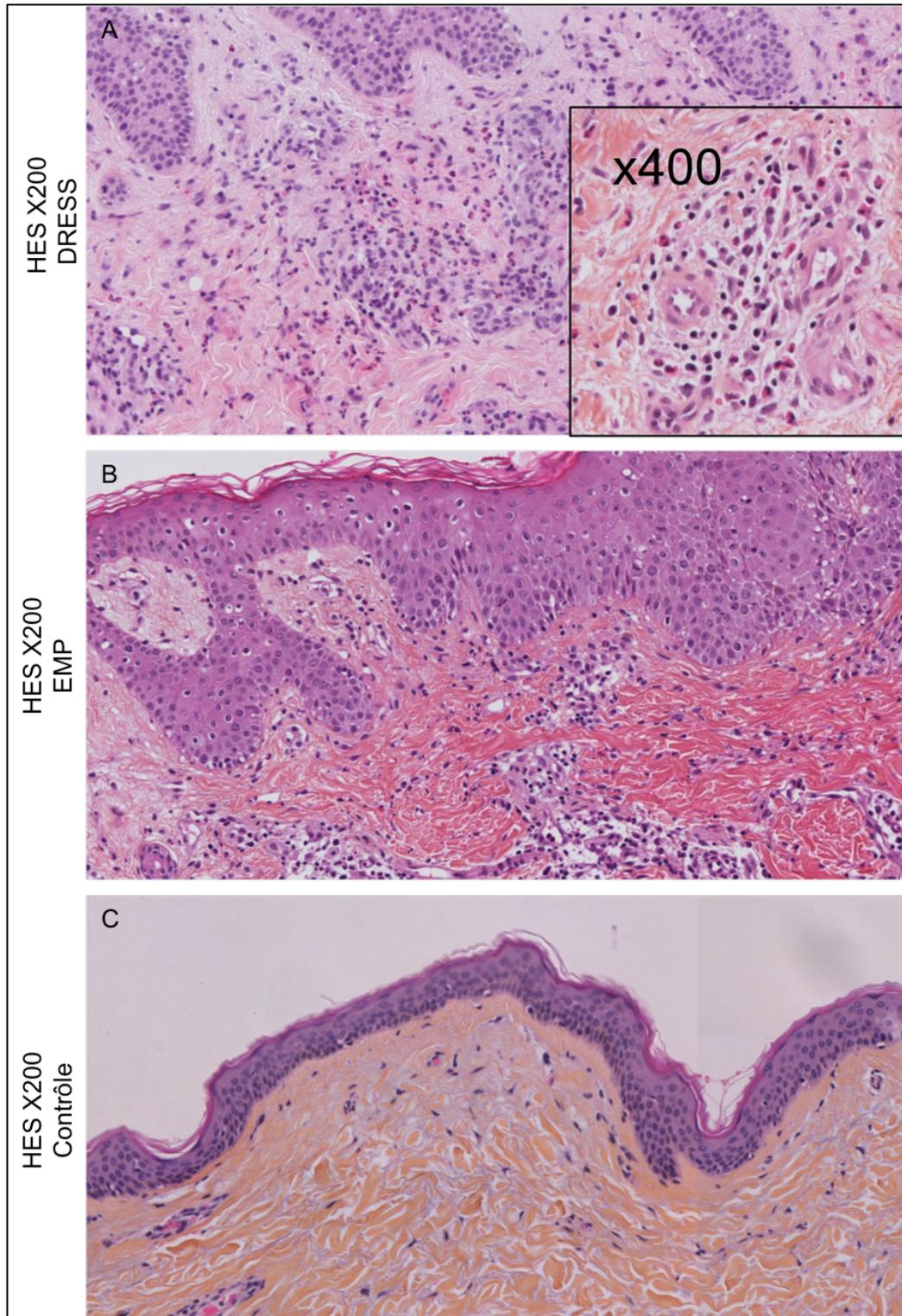


Figure 15 : Analyse histologique standard des lames après coloration à l'HES. (A) Présence d'un infiltrat dense dans le derme superficiel avec de nombreux éosinophiles

dans 38% des cas de DRESS. Grossissement X200. (B) l'infiltrat est présent également dans le cas des EMP dans 37% des cas. Grossissement X200. (C) peau contrôle montrant l'absence d'infiltrat inflammatoire au sein du derme. Grossissement X100.

	<b>DRESS (n=21)</b>	<b>EMP (n=19)</b>	<b>p value</b>
	n (%)	n (%)	
<b>Spongiose</b>	20 (95)	19 (100)	N/A
<b>Dermite d'interface</b>	18 (90)	17 (89)	N/A
<b>Nécroses kératinocytaires</b>	19 (90)	13 (68)	0,12
<b>Dyskératose</b>	9 (43)	10 (53)	0,54
<b>Purpura</b>	11 (52)	6 (32)	0,18
<b>Atteinte des annexes</b>	3 (14)	1 (5)	N/A
<b>Infiltrat éosinophilique</b>	8 (38)	7 (37)	0,93
<b>Vasculite</b>	1 (5)	1 (5)	N/A
<b>Bulles/vésicules</b>	3 (14)	0 (0)	N/A

Tableau 9 : Analyse histologique standard. Présentation histologique et comparaison entre les deux groupes. Les valeurs sont exprimées en effectifs et pourcentages. N/A : non applicable en raison du faible effectif à comparer.

Afin d'évaluer la sévérité de l'infiltrat, nous avons réalisé une mesure semi-quantitative afin de pouvoir comparer les deux groupes. Nous avons mis en évidence de façon significative ( $p=0,01$ ) une sévérité globale plus importante dans le groupe DRESS avec un score médian à 5 contre 3 dans le groupe EMP. L'infiltrat était quantifié d'intense à très intense dans le groupe DRESS dans 60% ( $n=12$ ) des cas contre 21% ( $n=4$ ) dans le groupe EMP (tableau 10).

	<b>DRESS (n=21)</b>	<b>EMP (n=19)</b>	<b>P value</b>
	N (%)	N (%)	
Absence	0 (0)	0 (0)	
Discret	1 (5)	1 (5)	
Léger à modéré	1 (5)	1 (5)	
<b>Sévérité infiltrat</b>			
Modéré	3 (15)	4 (21)	
Modéré à intense	3 (15)	4 (21)	
Intense	10 (50)	4 (21)	
Très intense	2 (10)	0 (0)	
<b>Score médian (Q1-Q3)</b>	<b>5 (3,5-5)</b>	<b>3 (2-4)</b>	<b><u>0,01</u></b>

Tableau 10 : Évaluation de la sévérité globale de l'infiltrat inflammatoire au sein de l'épiderme et du derme. Mise en évidence d'une sévérité plus grande dans le groupe DRESS ( $p=0,01$ ). Les valeurs sont exprimées en effectifs et pourcentage pour chaque item et en médiane et espaces interquartiles (Q1-Q3) pour le score total.

## V. *Évaluation du marquage immunohistochimique*

### A. Méthode n°1 : quantification manuelle

#### - Marquage des éosinophiles

L'analyse qualitative du marquage immunohistochimique anti-ECP et anti-MBP a mis en évidence la présence d'éosinophiles au sein du derme des patients du groupe DRESS mais également des patients du groupe EMP (figure 16). Le nombre de patients présentant un infiltrat éosinophilique était significativement plus important en immunohistochimie par rapport à l'analyse HES standard d'un facteur 2,25 (groupe DRESS,  $p=0,002$ ) et 2,57 (groupe EMP,  $p=0,001$ ) pour le marquage anti-ECP et d'un facteur 2,12 (groupe DRESS,  $p=0,02$ ) et 1,86 (groupe EMP, non significatif,  $p=0,11$ )

pour le marquage anti-MBP (figure 17). Chez deux patients (9%) du groupe DRESS, il n'était pas mis en évidence d'éosinophiles sur les trois méthodes de détection.

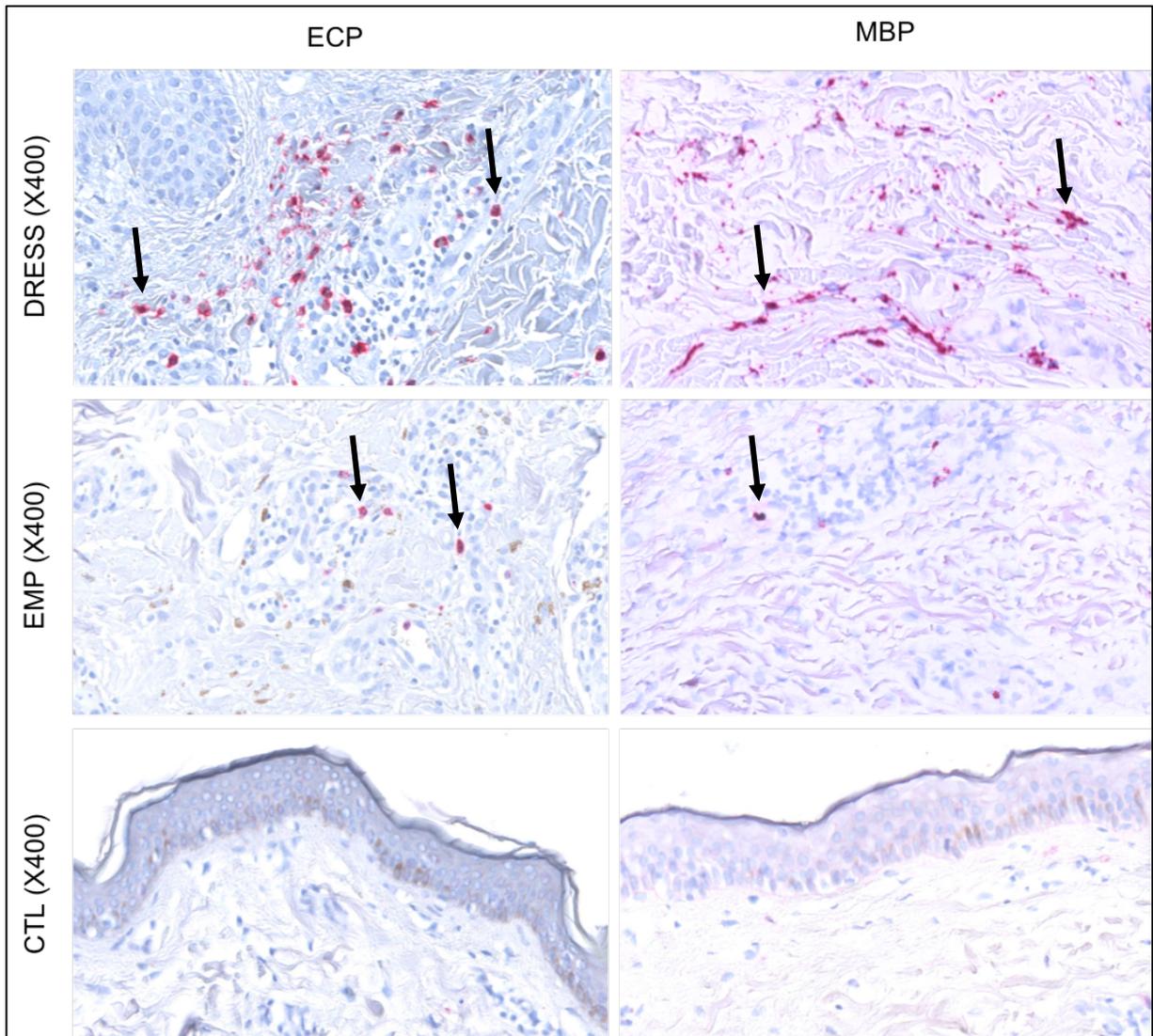
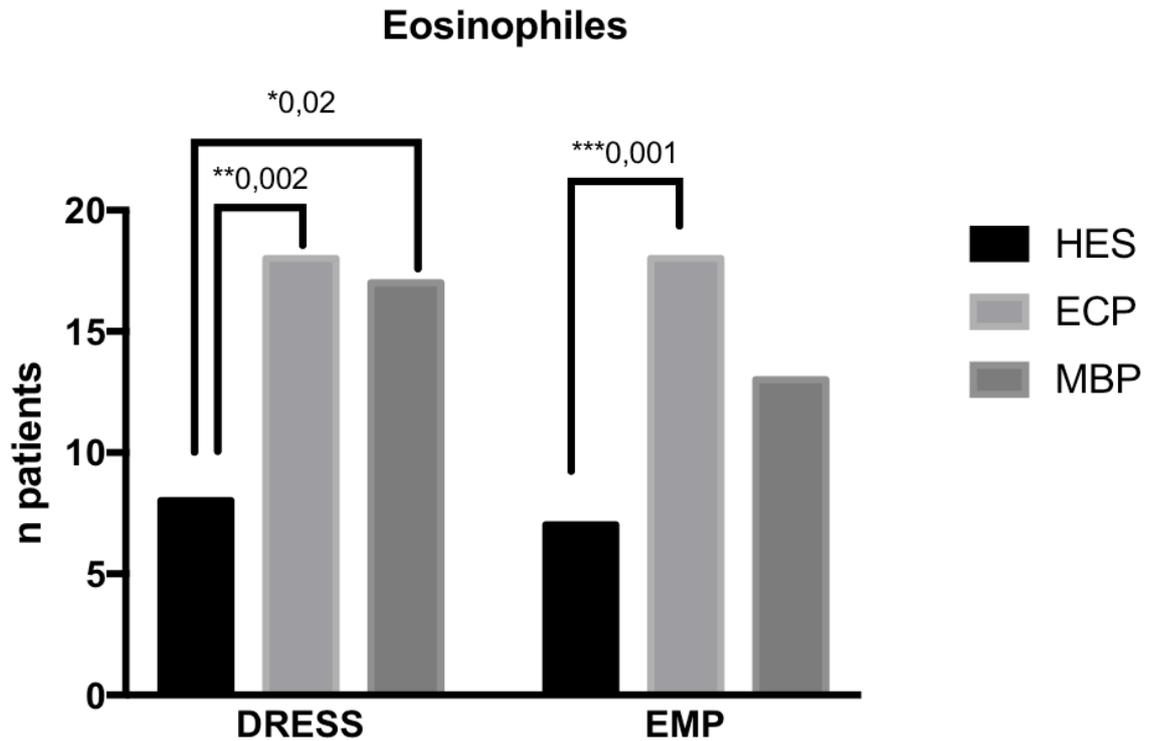


Figure 16 : Marquage immunohistochimique anti-ECP et anti-MBP montrant un marquage intracellulaire intense des éosinophiles (flèches noires) au sein du dermes des patients atteints de DRESS et d'EMP. Absence d'éosinophiles chez les patients témoins.



n(%)	DRESS (n=21)	EMP (n=19)
<b>HES</b>	8 (38)	7 (37)
<b>ECP</b>	18 (86)	18 (95)
<b>MBP</b>	17 (81)	13 (68)

Figure 17 : Éosinophiles présents dans la peau mis en évidence par la coloration HES, le marquage anti-ECP et anti-MBP. Résultats exprimés en effectifs (%) de patients.

L'analyse quantitative du marquage anti-ECP n'a pas mis en évidence de différence significative du nombre de cellules marquées par l'anticorps anti-ECP ( $p=0,96$ ) avec un nombre médian de cellules marquées de 2,1 cellules/mm<sup>2</sup> dans le groupe DRESS (minimum 0 – maximum 39,6) contre un nombre médian de cellules marquées de 2,6 cellules/mm<sup>2</sup> marquées dans le groupe EMP (minimum 0 – maximum 7,6). Concernant le marquage anti-MBP, il n'a pas non plus été mis en évidence de différence significative dans la quantification des cellules marquées par l'anticorps anti-MBP avec un nombre médian de cellules marquées de 1,8 cellules/mm<sup>2</sup> dans le groupe DRESS (minimum 0 – maximum 37,4) contre 1,1 cellules/mm<sup>2</sup> dans le groupe EMP (minimum 0 – maximum 11,4) (figure 18).

On note donc une tendance d'augmentation du nombre médian de cellules marquées dans le groupe DRESS pour le marquage anti-ECP et anti-MBP. Néanmoins cette différence n'apparaît pas significative ( $p=0,96$  et  $p=0,16$ ).

	DRESS (n=21)	EMP (n=19)	p value
<b>ECP</b> (cell/mm <sup>2</sup> )	6,6 ± 10,1	2,9 ± 2,2	
	<b>2,1 (1,2-6,6)</b>	<b>2,6 (1,6-4,2)</b>	<b>0,96</b>
	<b>0-39,6</b>	<b>0-7,6</b>	
<b>MBP</b> (cell/mm <sup>2</sup> )	5,1 ± 8,6	1,9 ± 2,8	
	<b>1,8 (1,1-3,5)</b>	<b>1,1 (0-2,5)</b>	<b>0,16</b>
	<b>0-37,4</b>	<b>0-11,4</b>	

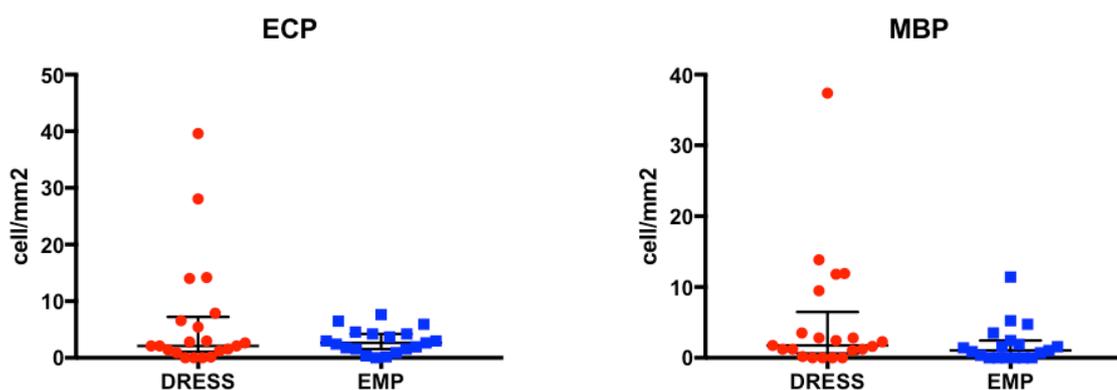


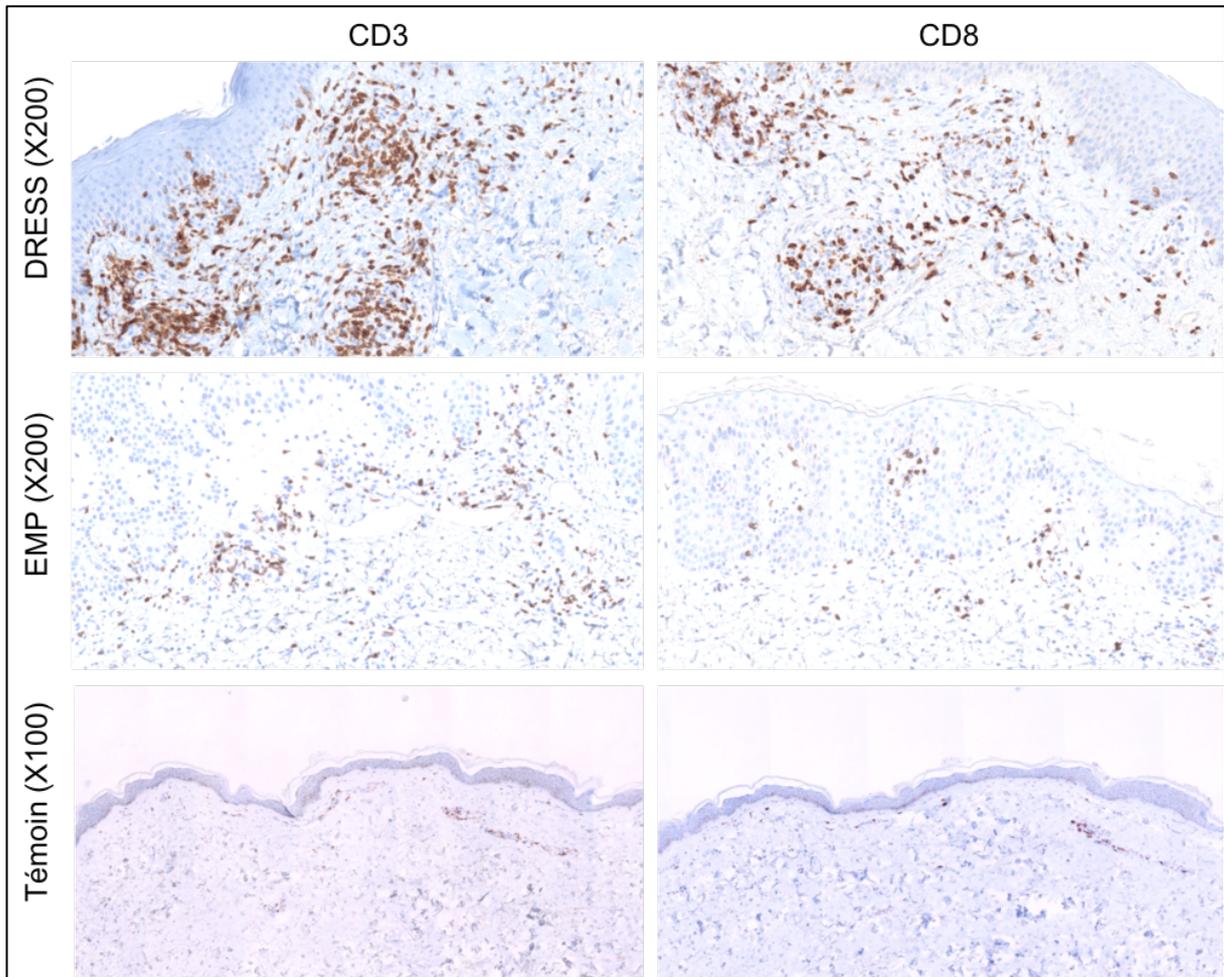
Figure 18 : Quantification manuelle du marquage anti-ECP et anti-MBP exprimé en cellules/mm<sup>2</sup>. La comparaison des médianes était réalisée par un test de Wilcoxon apparié ne montrant pas de différence significative.

En revanche, l'analyse du marquage anti-éotaxine-1 n'a pas mis en évidence de cellules marquées au sein de l'infiltrat inflammatoire dermique à la fois dans le groupe DRESS et le groupe EMP et il n'a pas donc pas été possible de le quantifier.

#### - Marquage des cellules lymphocytaires T

Nous avons mis en évidence un infiltrat lymphocytaire dense au sein du derme superficiel chez les patients atteints de DRESS et d'EMP. Cet infiltrat était confirmé et marqué en immunohistochimie par les anticorps anti-CD3 et anti-CD8 (figure 19). Nous avons mis en évidence un infiltrat T CD8+ prédominant mais il n'existait pas de

différence significative entre les groupes ( $p=0,076$ ). L'infiltrat T CD8+ semblait plus intense au sein du groupe DRESS sans différence significative.



	DRESS (n=21)	EMP (n=19)	P value
<b>CD4</b>	30 (10-40)	40 (30-50)	0,076
<b>CD8</b>	70 (60-90)	60 (50-70)	0,076

Figure 19 : Quantification du marquage CD8 et CD3. Les valeurs sont exprimées en pourcentages médians de cellules marquées par l'anticorps anti-CD8 et espaces interquartiles. La population CD4+ en pourcentage est estimée par un ratio CD3/CD8 permettant d'estimer les lymphocytes CD4+ comme étant les cellules CD3+/CD8-.

- Marquage des granules extracellulaires

Afin d'évaluer le niveau d'activation des éosinophiles présents dans la peau, nous avons recherché la présence de granules marquées par les anticorps anti-ECP et anti-MBP (figure 20). Nous avons mis en évidence la présence de granules accrue dans les biopsies cutanées des patients atteints de DRESS à la fois par le marquage anti-ECP (n=11, 52,4%) et MBP (n=13, 61,9%) de façon significative ( $p=0,041$  et  $p=0,009$ ) (figure 21). Ces granules sont mis en évidence à proximité des éosinophiles et n'ont pas été identifiés de façon isolée en l'absence d'éosinophiles dans la coupe biopsique.

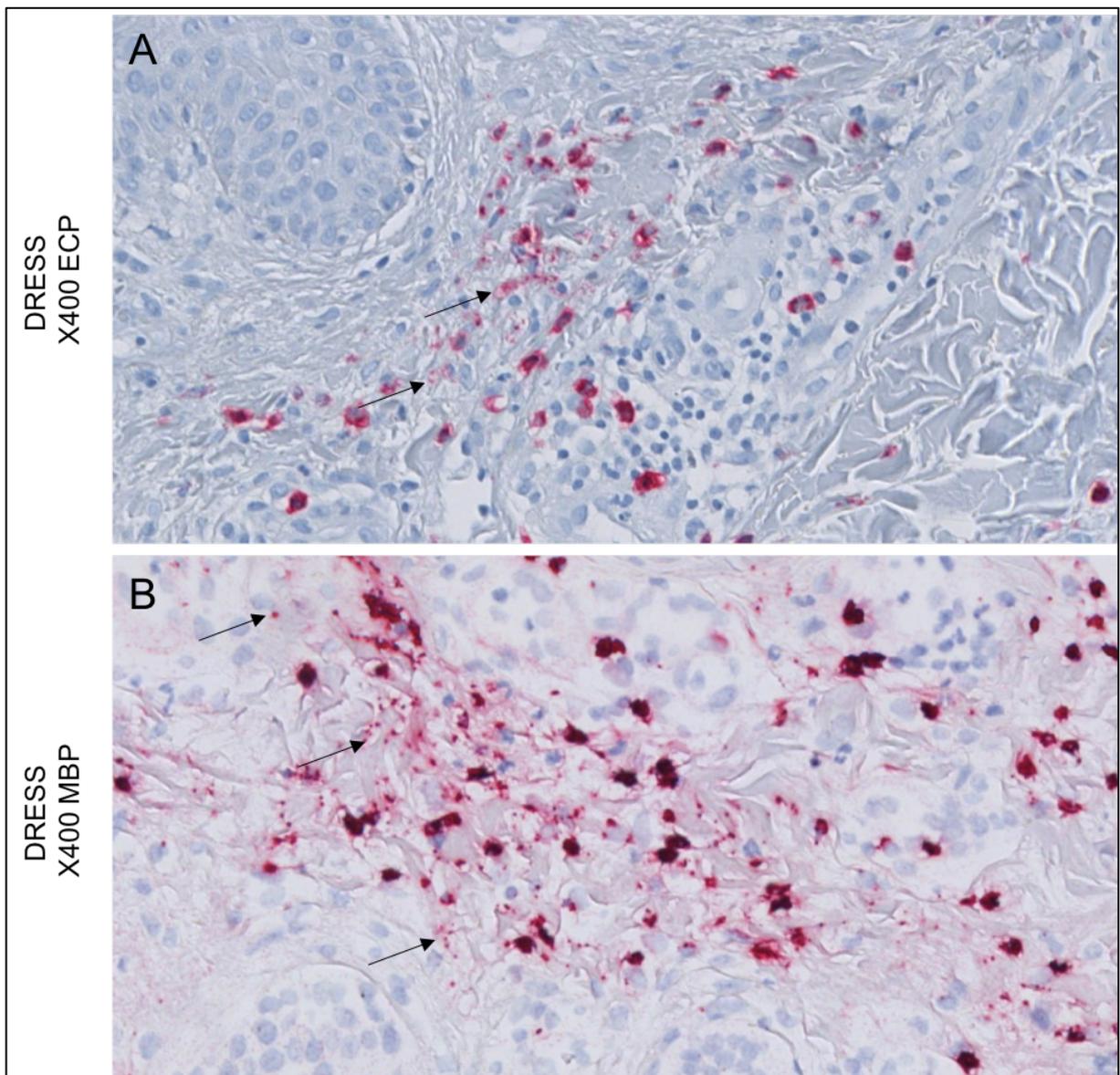
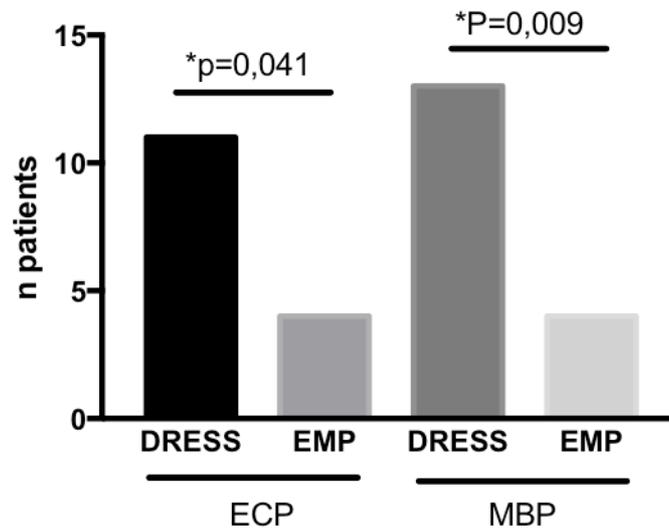


Figure 20 : Mise en évidence d'un marquage des protéines cationiques de l'éosinophile dans les biopsies cutanées au sein de la matrice extracellulaire dermique

(flèches) à l'aide des anticorps anti-ECP (A) et anti-MBP (B) chez des patients atteints de DRESS. Grossissement X400.



	DRESS (n=21)	EMP (n=19)	p value
	n(%)	n(%)	
<b>Granules ECP</b>	11 (52,4%)	4 (21,1%)	<b>0,041*</b>
<b>Granules MBP</b>	13 (61,9)	4 (21,1%)	<b>0,009*</b>

Figure 21 : Analyse semi-quantitative du marquage des protéines cationiques de l'éosinophile dans les biopsies cutanées. Les valeurs sont exprimées en effectif (%).

Parmi les patients atteints de DRESS, nous avons identifié un patient présentant des diarrhées profuses au cours de sa prise en charge qui a fait l'objet d'une biopsie colique. Il s'agit du seul patient de la série pour lequel nous disposons d'une biopsie autre que cutanée. Il s'agissait d'un patient de 25 ans au moment du diagnostic qui présentait un DRESS avec atteinte hépatique et rénale imputable à la Capsosungine, la Vancomycine et au Méropénème dans le cadre d'un sepsis sévère sur coulée de nécrose pancréatique surinfectée secondaire à une pancréatite aiguë alcoolique. Nous avons réalisé les marquages immunohistochimiques anti-ECP et anti-MBP selon les mêmes modalités que pour les biopsies cutanées. Nous observons la présence accrue de éosinophiles mais également la présence de granules au sein de la matrice extracellulaire des prélèvements biopsiques coliques (figure 22).

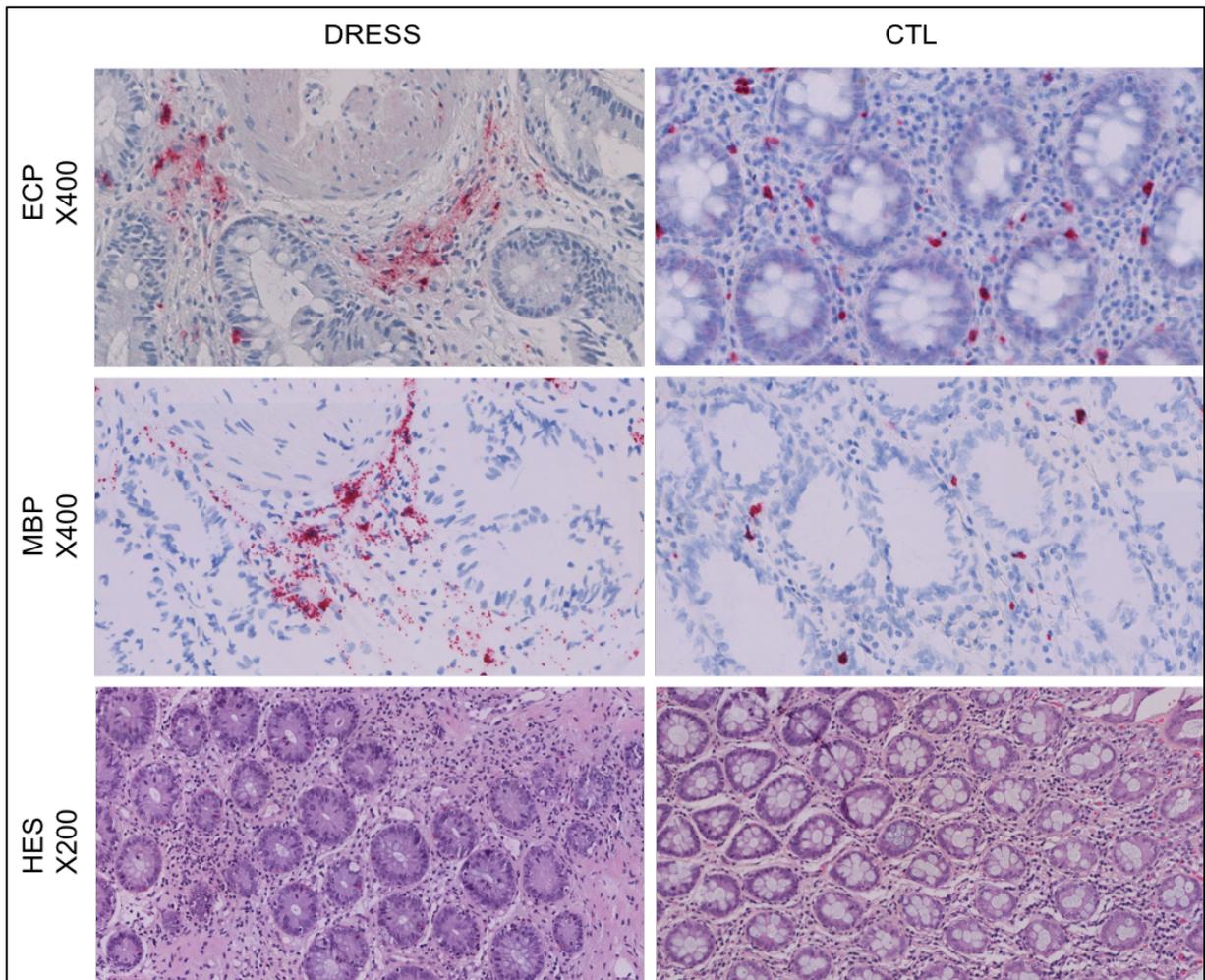


Figure 22 : Marquage immunohistochimique anti-ECP et anti-MBP sur biopsies coliques réalisées dans le cadre d'un DRESS avec atteinte hépatique et rénale dans un contexte de diarrhées. Présence de granules au sein de la matrice extracellulaire colique en comparaison au marquage sur tissu colique sain. Grossissement X400 et X200.

- Score de quantification

Afin de mieux décrire et quantifier à la fois la présence de cellules marquées et également la présence de granules marqués au sein du tissu, nous avons adapté un score de quantification dont le détail des items est renseigné dans le tableau 11. Concernant le niveau de dégranulation, dans le groupe DRESS, 52,4% (n=11) des patients présentaient un niveau de dégranulation au moins égal à 1 correspondant à une dégranulation limitée aux zones à proximité d'éosinophiles. Dans ce même groupe, 14% (n=3) des cas présentaient une dégranulation étendue à extensive. Dans le groupe EMP, seuls 21,1% (n=4) des cas présentaient une dégranulation limitée et

aucun ne présentait de dégranulation étendue ou extensive. Concernant le nombre d'éosinophiles intacts dans le groupe DRESS, 28,6% (n=6) des patients présentaient plus de 15 éosinophiles intacts sur un champs dans la zone d'infiltrat maximale alors que la majorité des patients du groupe EMP (57,9%, n=11) présentaient moins de 5 éosinophiles sur un champs de la zone d'infiltrat maximale. Concernant la surface atteinte par l'infiltrat éosinophilique sur l'ensemble de la biopsie évaluée de façon semi-quantitative, elle atteignait plus de deux tiers dans 23,8% (n=5) des cas dans le groupe DRESS correspondant à l'épaisseur du derme tandis que dans le groupe EMP la surface concernée par l'infiltrat d'éosinophiles ne dépassait pas le tiers de la biopsie chez l'ensemble de patients, se limitant au derme superficiel. Le score médian réalisé sur le marquage anti-ECP était plus élevé de façon significative ( $p=0,036$ ) à 13/30 dans le groupe DRESS contre 9/30 dans le groupe EMP. De même, le score médian réalisé sur le marquage anti-MBP était plus élevé de façon significative ( $p=0,046$ ) à 13/30 dans le groupe DRESS contre 6/30 dans le groupe EMP. La comparaison du score réalisé sur le marquage anti-ECP et celui réalisé sur le marquage anti-MBP ne mettait pas en évidence de différence significative entre les marquages que ce soit dans le groupe DRESS ( $p=0,88$ ) ou EMP ( $p=0,15$ ) (figure 23).

		<b>DRESS (n=21)</b>		<b>EMP (n=19)</b>	<b>P value</b>	
		N(%)		N(%)		
<b>ECP</b>	Niveau de dégranulation	0	10 (47,6)	15 (78,9)		
		1	8 (38,1)	4 (21,1)		
		2	2 (9,5)	0 (0)		
		3	1 (4,8)	0 (0)		
	Éosinophiles intacts (X400)	0	2 (9,5)	4 (21,1)		
		1	8 (38,1)	11 (57,9)		
		2	5 (23,8)	4 (21,1)		
		3	6 (28,6)	0 (0)		
	Éosinophiles intacts (5 champs X400)	0	2 (9,5)	4 (4,21)		
		1	5 (23,8)	4 (4,21)		
		2	5 (23,8)	8 (42,1)		
		3	9 (42,9)	3 (15,8)		
	Surface	0	2 (9,5)	4 (21,1)		
		1	14 (66,7)	15 (78,9)		
		2	4 (19)	0 (0)		
		3	1 (4,8)	0 (0)		
	<b>Score total médian (Q1-Q3)</b>		<b>13 (6-19)</b>	<b>9 (6-12)</b>	<b><u>0,036</u></b>	
	Minimum-maximum		0-30	0-18		
	<b>MBP</b>	Niveau de dégranulation	0	8 (38,1)	15 (78,9)	
			1	9 (42,9)	2 (10,5)	
2			2 (9,5)	2 (10,5)		
3			2 (9,5)	0 (0)		
Éosinophiles intacts (X400)		0	4 (19)	8 (42,1)		
		1	10 (47,6)	9 (47,4)		
		2	1 (4,8)	2 (10,5)		
		3	6 (28,6)	0 (0)		
Éosinophiles intacts (5 champs X400)		0	4 (19)	8 (42,1)		
		1	6 (28,6)	4 (21,1)		
		2	5 (23,8)	4 (21,1)		
		3	6 (28,6)	3 (15,8)		
Surface		0	4 (19)	8 (42,1)		
		1	13 (61,9)	11 (57,9)		
		2	3 (14,3)	0 (0)		
		3	1 (4,8)	0 (0)		
<b>Score total médian (Q1-Q3)</b>		<b>13 (6-16)</b>	<b>6 (0-13)</b>	<b><u>0,046</u></b>		
Minimum-maximum		0-30	0-22			

Tableau 11 : Analyse du score de quantification appliqué au DRESS et aux marquages anti-ECP et anti-MBP. Les résultats semi-quantitatifs sont exprimés en effectifs (%) et

les scores totaux en moyenne, écart type et médiane, espace interquartile. La comparaison des deux groupes était réalisée à l'aide d'un test de Wilcoxon.

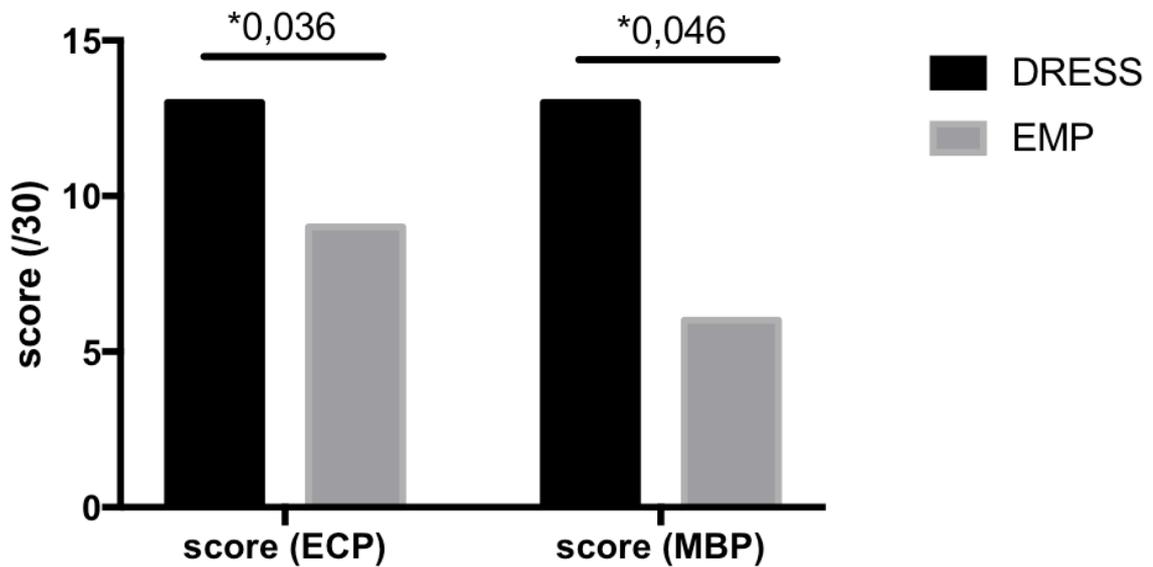


Figure 23 : Comparaison des scores de quantification médians entre les groupes. Absence de différence significative entre les marquages anti-ECP et anti-MBP.

## B. Analyse semi-automatisée

Nous avons quantifié de manière semi-automatisée les cellules et les granules extracellulaires marqués par les anticorps anti-ECP et anti-MBP (tableau 12, figure 24). Nous n'avons pas observé de différence significative entre les groupes DRESS et EMP concernant le nombre de cellules marquées par les anticorps anti-ECP ( $p=0,093$ ) et anti-MBP ( $p=0,054$ ). Aucune différence n'était mise en évidence entre les deux groupes avec le marquage anti-ECP ( $p=0,75$ ). En revanche, le nombre médian de granules marqués par l'anticorps anti-MBP par  $\text{mm}^2$  était significativement plus élevé dans le groupe DRESS par rapport au groupe EMP avec  $123,64$  granules/ $\text{mm}^2$  contre  $43,92/\text{mm}^2$  ( $p=0,036$ ).

	<b>ECP</b>						<b>MBP</b>					
	<b>DRESS</b>			<b>EMP</b>			<b>DRESS</b>			<b>EMP</b>		
	Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max	Med	Min	Max
<b>Cellules</b>	55	0	1314	37	0	227	39	0	3066	17	0	450
<b>Granules</b>	86	4	4160	146	9	955	681	4	5844	441	19	1364
<b>Surface</b>	5,73	0,68	16,83	6,75	2,43	15,04	6,99	0,5	21,12	8,89	0,55	25,61
<b>Cell/mm<sup>2</sup></b>	<b>11,25</b>	<b>0</b>	<b>78,07</b>	<b>6,01</b>	<b>0</b>	<b>21,72</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>213,21</b>	<b>2,04</b>	<b>0</b>	<b>127,48</b>
<b>Granules/mm<sup>2</sup></b>	<b>20,1</b>	<b>1,88</b>	<b>319,75</b>	<b>17,27</b>	<b>0,82</b>	<b>80,73</b>	<b>123,63</b>	<b>2,91</b>	<b>592,1</b>	<b>34,71</b>	<b>8,06</b>	<b>155,81</b>
<b>Ratio g/c</b>	<b>1,93</b>	<b>0,22</b>	<b>83,2</b>	<b>4,43</b>	<b>0,45</b>	<b>23,5</b>	<b>7,25</b>	<b>0,06</b>	<b>1193</b>	<b>9,66</b>	<b>1,22</b>	<b>233,33</b>

Tableau 12 : Analyse quantitative semi-automatisée du marquage anti-ECP et anti-MBP. Les résultats sont exprimés en médiane (med) et valeurs minimales et maximales. Le ratio correspond au nombre de granules marqués sur le nombre de cellules pour chaque prélèvement analysé.

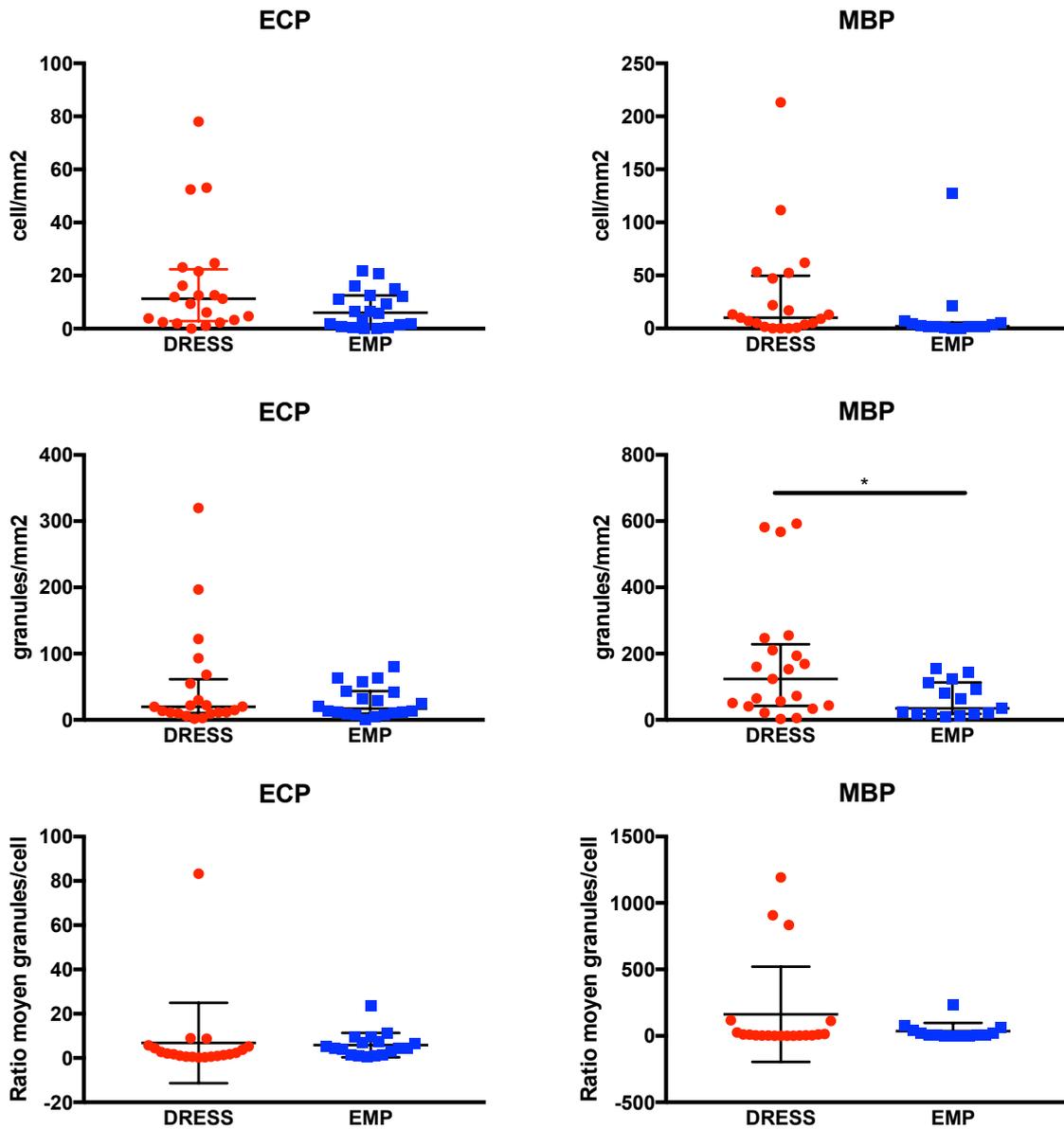


Figure 24 : Analyse quantitative semi-automatisé des marquages anti-ECP et anti-MBP. Différence significative ( $p=0,036$ ) entre le groupe DRESS et le groupe EMP pour le nombre de granules marqués par l'anticorps anti-MBP. Les résultats sont représentés graphiquement par leur médiane et espace interquartile.

## VI. Comparaison des méthodes de quantification et de marquage

### - Comparaison des méthodes

Afin de comparer nos deux méthodes de quantifications, nous avons comparé le nombre de cellules/mm<sup>2</sup> quantifiées par les deux méthodes de quantification. Nous avons observé une différence significative entre le nombre de cellules quantifiées par la méthode manuelle et la méthode semi-automatisée ( $p < 0,0001$ ). Nous avons ensuite analysé le lien de corrélation entre la quantification des cellules par la méthode manuelle et par la méthode semi-automatisée (figure 25). Nous avons observé un lien de corrélation positif et significatif entre la quantification des cellules par la méthode manuelle et la quantification par la méthode semi-automatisée sur les deux marquages ( $r = 0,84$ ,  $p < 0,0001$  pour le marquage anti-ECP et  $r = 0,55$ ,  $p = 0,01$  pour le marquage anti-MBP).

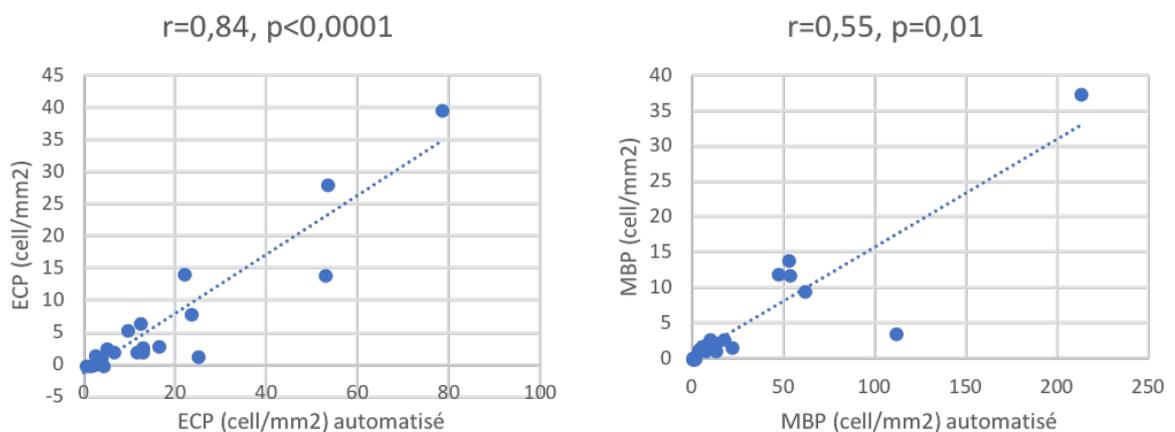


Figure 25 : Étude de corrélation entre la quantification manuelle et semi-automatisée des cellules.

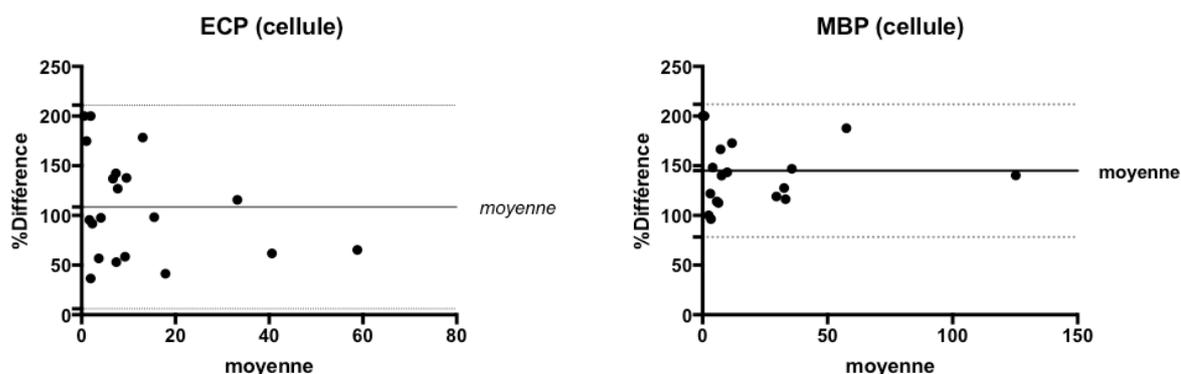
Le biais entre les deux méthodes de quantification était ensuite étudié par la méthode de Bland et Altman (étude des différences), pour chaque type de marquage (figure 26). Brièvement, les différences entre les mesures obtenues avec les deux méthodes étaient représentées ( $y =$ ) en fonction de la moyenne des deux mesures ( $x =$ ), pour chaque patient, et un second graphique similaire était construit en représentant la

différence entre les deux méthodes, exprimée en pourcentage de la moyenne des mesures ( $y=$ ), par rapport à la moyenne des mesures ( $x=$ ).

En l'absence de normalité de la distribution des différences entre chaque méthode de quantification, associée à une dispersion croissante par rapport à la moyenne des mesures (*données non montrées*), il était décidé d'estimer le biais moyen inter-méthodes à l'aide du pourcentage des différences.

L'étude du pourcentage des différences a permis de mettre en évidence un biais moyen de +108% lors de la quantification des cellules marquées par anti-ECP avec la méthode semi-automatisée, par rapport à la méthode manuelle. Le biais moyen lors de la quantification des cellules marquées par anti-MBP était estimé à +145%. Les graphes de différences, biais moyens, écart-types et limites d'agrément (biais moyen  $\pm 2$  DS) sont présentés en figure 26.

Au terme de cette analyse, il est donc possible de conclure que la méthode semi-automatisée est capable de détecter plus de 2 fois plus de cellules marquées par l'anticorps anti-ECP et plus de 2 fois et demi plus de cellules marquées par l'anticorps anti-MBP.



	ECP (cellules)	MBP (cellules)
<b>Biais</b>	108,5	145
<b>Écart-type du biais</b>	52,3	34,09
<b>Limites d'agrément (95%)</b>	6-211	78,17-211,8

Figure 26 : Méthode graphique de Bland-Altman pour la comparaison des techniques de quantification des cellules après marquage anti-ECP et anti-MBP.

- Comparaison de l'expression des anticorps anti-ECP et anti-MBP

Il n'existait pas de différence significative entre l'expression des anticorps anti-ECP et anti-MBP à la fois pour la quantification manuelle et la quantification semi-automatisée (respectivement  $p=0,35$  et  $p=0,14$ ). De plus, selon la méthode 1 (quantification manuelle) le nombre de cellules marquées par l'anticorps anti-ECP était corrélée positivement et statistiquement au nombre de cellules marquées par l'anticorps anti-MBP ( $r=0,56$ ,  $p=0,008$ ). Il en était de même pour la méthode 2 (quantification semi-automatisée) ( $r=0,59$ ,  $p=0,005$ ) (figure 27). Ces données montrent que l'expression de l'ECP et la MBP ne sont pas différentes et que les deux méthodes permettent de quantifier les cellules de façon proche, bien que des différences puissent être observées à l'échelle individuelle.

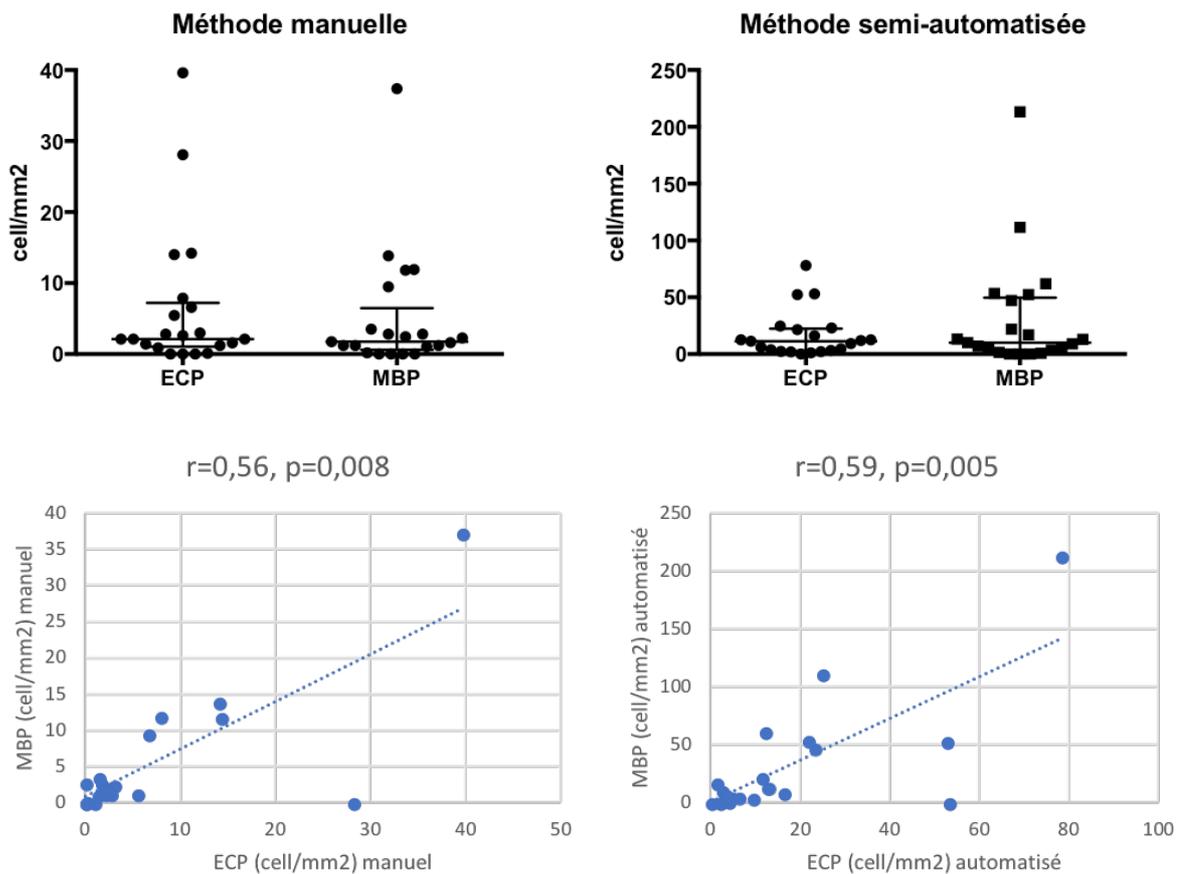


Figure 27 : Comparaison et corrélation entre les marquages anti-ECP et anti-MBP pour chaque méthode de quantification. Absence de différence significative.

Néanmoins, il existait une différence significative entre le marquage anti-ECP et le marquage anti-MBP concernant la quantification automatisée des granules ( $p < 0,0002$ ) en faveur du marquage anti-MBP (figure 28).

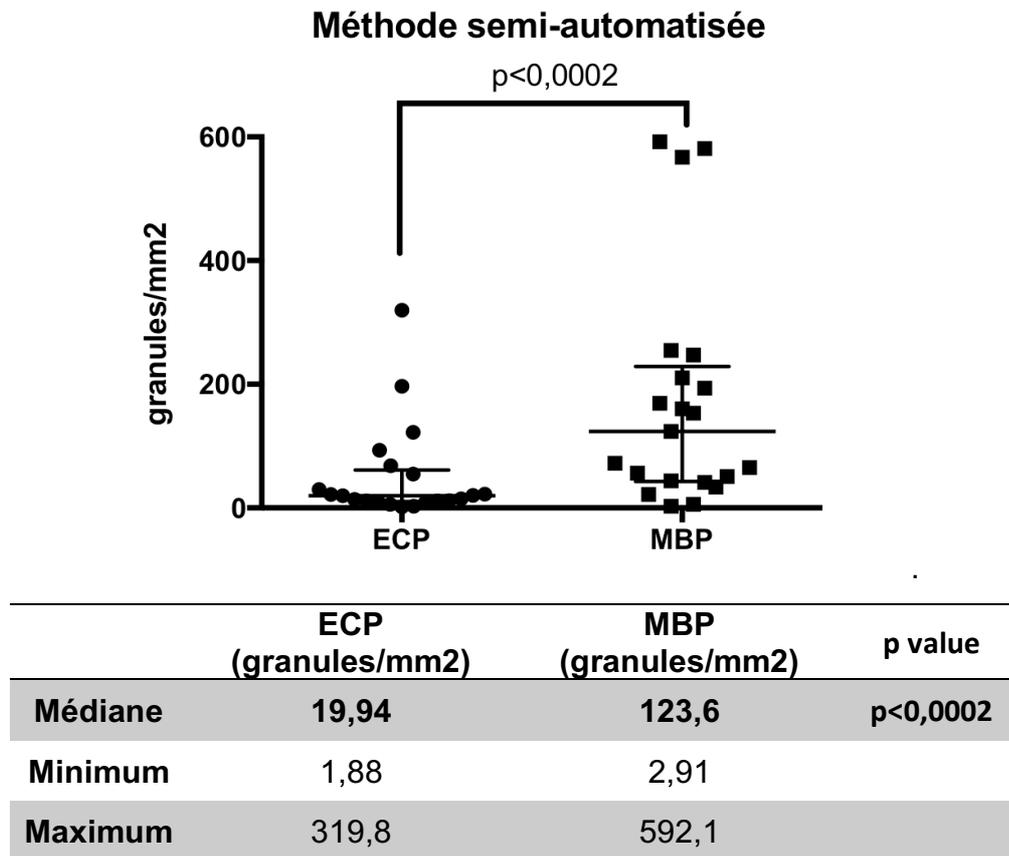


Figure 28 : Comparaison des marquages anti-ECP et anti-MBP au cours de la quantification des granules par la méthode semi-automatisée.

## VII. Analyse de corrélation clinique, biologique et histologique

### - Méthode 1 : Quantification manuelle

Nous avons analysé les corrélations pouvant exister entre la quantification manuelle des marquages avec les paramètres biologiques et les délais de prise en charge (figure 29).

Le nombre de cellules exprimant l'ECP était corrélé positivement à la variation du taux de phosphatase alcaline ( $r=0,35$ ,  $p=0,03$ ), à l'augmentation de la CRP ( $r=0,33$ ,  $p=0,04$ ) ainsi qu'au délai entre la survenue des symptômes et la réalisation de la biopsie. Le

nombre de cellules exprimant la MBP était corrélé positivement de façon significative à l'éosinophilie sanguine ( $r=0,38$ ,  $p=0,017$ ), au délai entre le début de symptômes et l'hospitalisation ( $r=0,38$ ,  $p=0,03$ ) ainsi qu'au délai entre la survenue des symptômes et la réalisation de la biopsie ( $r=0,44$ ,  $p=0,005$ ). Le niveau de dégranulation marqué par l'anticorps anti-ECP était corrélé de façon positive et significative à la durée d'hospitalisation ( $r=0,36$ ,  $p=0,04$ ). En revanche il n'a pas été mis en évidence de lien de corrélation entre le niveau de dégranulation marqué par l'anticorps anti-MBP et les paramètres étudiés.

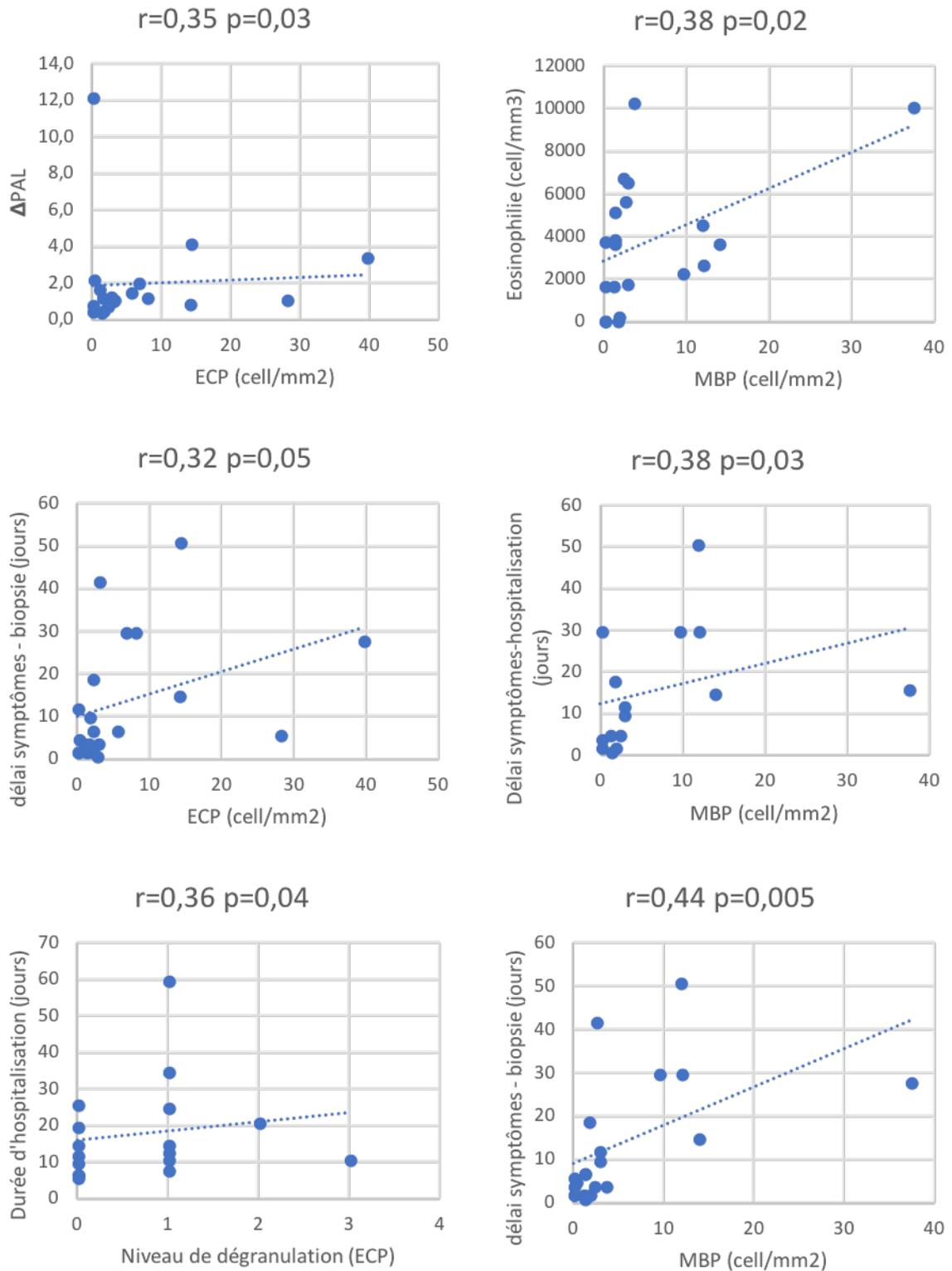


Figure 29 : Étude de corrélation entre la quantification manuelle des cellules marquées par les anticorps anti-ECP et MBP et les paramètres clinico-biologiques.

- Méthode 2 : Quantification semi-automatisée

L'analyse de corrélation réalisée sur la quantification semi-automatisée du nombre de granules a mis en évidence que le nombre de granules marqués par l'anticorps anti-MBP était corrélé positivement à l'éosinophilie sanguine ( $r=0,45$ ,  $p=0,05$ ). Le nombre de cellules marquées par l'anticorps anti-MBP était corrélé positivement à la fois avec le délai entre la survenue des symptômes et l'hospitalisation ( $r=0,61$ ,  $p=0,01$ ) mais également avec le délai entre la survenue des symptômes et la réalisation de la biopsie cutanée ( $r=0,63$ ,  $p=0,002$ ), ce qui était également le cas pour le nombre de cellules marquées par l'anticorps anti-ECP ( $r=0,48$ ,  $p=0,03$ ) (figure 30). Il n'était en revanche pas observé de corrélation entre les nombre de cellules marquées et les paramètres étudiés. De même, nous n'avons pas mis en évidence de corrélations entre les paramètres clinico-biologiques et la quantification du nombre de granules.

Par ailleurs, l'analyse de corrélation réalisée entre la quantification des cellules et la quantification des granules avec la méthode de quantification semi-automatisée n'a pas permis de mettre en évidence de lien entre le nombre de cellules et le nombre de granules marqués à la fois sur le marquage anti-ECP ( $p=0,262$ ) et anti-MBP ( $p=0,08$ ).

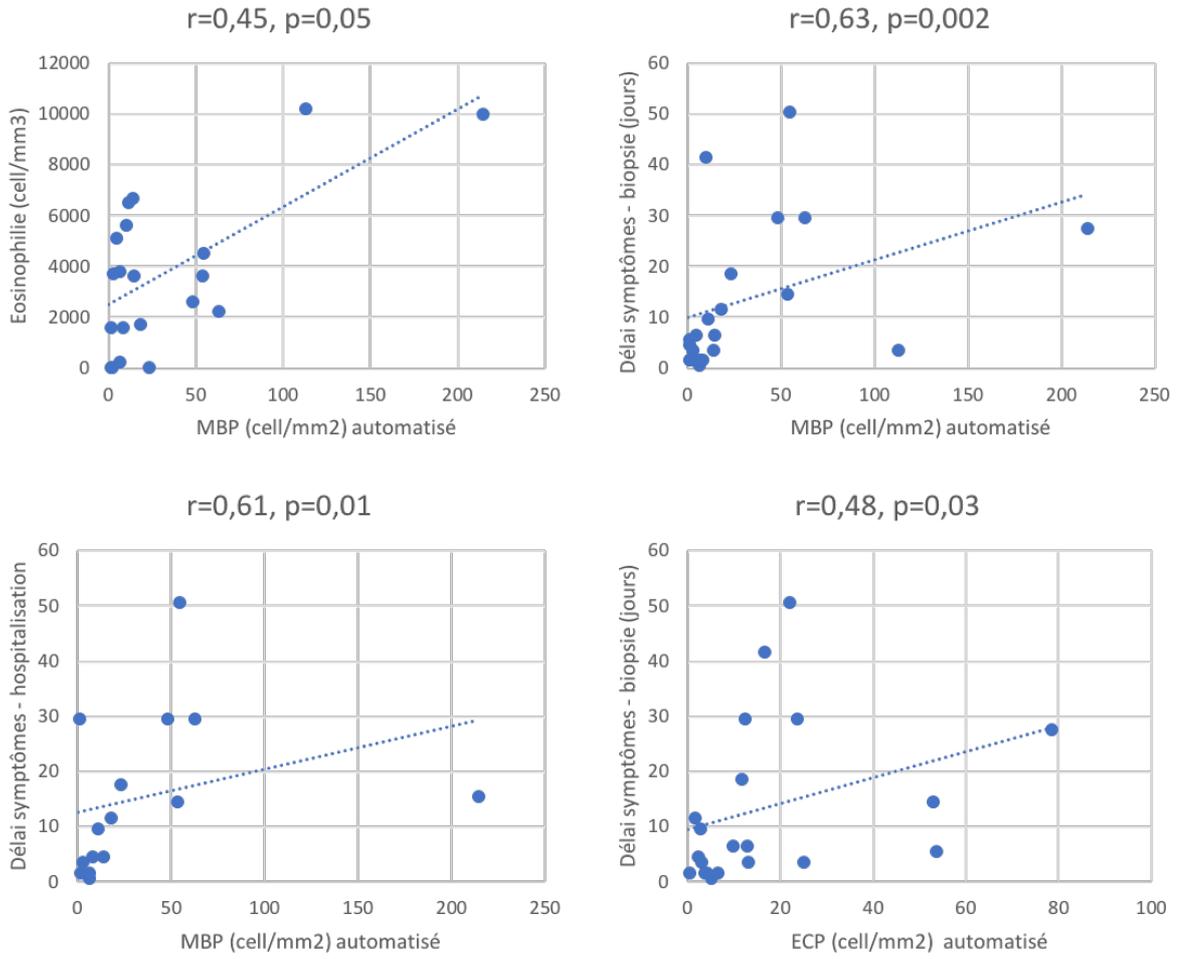


Figure 30 : Étude de corrélation réalisée sur la quantification semi-automatisée

## DISCUSSION

- **L'infiltrat inflammatoire est plus sévère au cours du DRESS mais le nombre d'éosinophiles présents ne permet pas de discriminer DRESS et EMP**

Notre étude confirme le caractère peu spécifique mais plus sévère de l'infiltrat inflammatoire au cours du DRESS observé dans trois études récentes. La première rapportait que les nécroses kératinocytaires, la spongiose épidermique et la dermite d'interface étaient plus importantes en cas de DRESS (32). La deuxième étude a révélé une densité plus élevée de l'infiltrat inflammatoire ainsi que d'avantage de nécroses kératinocytaires au cours du DRESS (34). La troisième a montré la spongiose épidermique, la présence d'éosinophiles, de neutrophiles et de lymphocytes dans le derme étaient d'avantage retrouvés au cours du DRESS (68). Dans notre étude, l'aspect était d'avantage aspécifique sans différences significatives sur ces paramètres étudiés. De plus, seuls 38% (n=8/21) des patients du groupe DRESS présentaient un infiltrat éosinophilique sur l'analyse de la coloration HES contre 84% (n=38/45) dans l'étude de Skowron et coll (68). Nous confirmons la grande variabilité de présence des éosinophiles au cours du DRESS observée dans la littérature. Néanmoins, dans l'ensemble de ces séries le niveau de dégranulation des éosinophiles n'était pas étudié. Ceci justifie notre approche originale à la fois d'analyser le nombre absolu d'éosinophiles et leur niveau d'activation au sein de biopsies cutanées réalisées chez des patients atteints de DRESS et de les comparer à un groupe de patients atteints d'EMP.

Le marquage immunohistochimique des protéines cationiques (anti-ECP et anti-MBP) a bien confirmé la présence d'éosinophiles dans le derme superficiel au sein de biopsies cutanées de DRESS et d'EMP. Cependant, le nombre d'éosinophiles n'était pas différent dans les deux groupes à la fois avec le marquage anti-ECP (p=0,96) et le marquage anti-MBP (p=0,16). Ces résultats sont conformes aux données de la littérature où la présence d'éosinophiles est observée dans différentes formes de toxi-dermie et n'est pas nécessairement spécifique du DRESS (32). Pinto-Gouveia et coll ont même suggéré l'existence d'un continuum clinique et histologique entre EMP

et DRESS (62). Aussi il n'est pas surprenant dans notre étude d'observer des éosinophiles dans les biopsies des patients du groupe EMP. La présence d'un infiltrat éosinophilique est en effet possible au cours des EMP mais sa signification sur le plan pathogénique n'est pas connue (69).

Chi et coll observaient une éosinophilie circulante et une infiltration cutanée par les éosinophiles chez la plupart des patients atteint de DRESS. Cependant, ils ne mettaient pas en évidence de corrélation entre la sévérité clinique, biologique et histologique. En effet, des patients pouvaient présenter une éosinophilie circulante sans infiltrat tissulaire éosinophilique, et inversement. Les auteurs ont ainsi suggéré que le nombre absolu d'éosinophiles dans le sang et les tissus étaient des critères importants, mais pas suffisants pour retenir le diagnostic de DRESS. Notre étude vient conforter cette idée, car tous les patients recrutés avaient un score RegiSCAR élevé, permettant de retenir le diagnostic de DRESS même en l'absence d'éosinophiles tissulaires et ces données justifient d'autant plus notre démarche d'explorer le niveau d'activation des éosinophiles tissulaires lorsqu'ils sont présents au cours du DRESS.

- **Présence d'un niveau de dégranulation des éosinophiles plus élevé au cours du DRESS**

Notre étude va cependant plus loin, en mettant en évidence la présence de dépôts de protéines cationiques dans la peau de la moitié des patients atteints de DRESS (52,4%, n=11/21) comparativement aux patients atteints d'EMP (21,1%, n=4/19). Le niveau d'expression cutané d'ECP et de MBP était significativement plus élevé dans le groupe DRESS en comparaison au groupe EMP à la fois sur le marquage anti-ECP (p=0,041) et sur le marquage anti-MBP (p=0,009). Or la présence de protéines cationiques dans les tissus est un marqueur de l'activation des éosinophiles à ce niveau (29). Nous suggérons donc que la présence de granules marqués par l'anticorps anti-ECP ou anti-MBP dans la peau de patients atteints de DRESS pourrait être un bon marqueur de l'activation des éosinophiles dans la peau et un argument en faveur de l'implication de ces cellules dans la pathogénèse des lésions cutanées observées au cours du DRESS, et peut-être même un facteur pronostic des potentiels dégâts causés par les éosinophiles dans d'autres organes.

Nos résultats suggèrent cependant l'hétérogénéité du niveau de dégranulation des éosinophiles dans la peau des patients atteints de DRESS. En effet, pour quatre

patients, les éosinophiles étaient présents dans la peau mais les marquages ne mettaient pas en évidence de signes de dégranulation. Les mécanismes de dégranulation de l'éosinophile dans le cadre des toxidermies et a fortiori au cours du DRESS ne sont pas connus. Ces mécanismes (exocytose classique, composée, fragmentaire, ou par apoptose) ne peuvent être explorés que par microscopie électronique (70), ce qui n'a pas été réalisé dans ce travail.

Dans la littérature, il est admis que le niveau de dégranulation des éosinophiles est un paramètre majeur à prendre en considération dans la démarche diagnostique de toute pathologie impliquant l'éosinophile. Par exemple, Erjefält et coll ont comparé le niveau de dégranulation des éosinophiles dans différentes pathologies caractérisées par un infiltrat tissulaire d'éosinophiles : maladies inflammatoires intestinales, polypose nasosinusienne, asthme. Ils ont observé que malgré la présence d'éosinophiles dans les tissus à nombre équivalent, comme dans notre étude, le niveau de dégranulation pouvait grandement varier d'une pathologie à l'autre. Cette différence portait à la fois sur le niveau de dégranulation mais également sur le mécanisme de dégranulation où l'intensité de la dégranulation fragmentaire pouvait considérablement varier (71).

Dans une autre étude, Wang et coll se sont intéressés à l'intérêt diagnostique du nombre absolu d'éosinophiles par rapport à leur niveau de dégranulation comptés sur biopsies duodénales après coloration standard (HES) pour le diagnostic de dyspepsie fonctionnelle (72). A partir de l'analyse de 141 malades et 39 sujets contrôles, les auteurs ont suggéré que la quantification semi-quantitative seule du niveau de dégranulation permettait de mieux identifier les patients souffrant de dyspepsie fonctionnelle avec une bonne sensibilité et spécificité.

De même, dans une étude de Chang-Keun et coll, il a été montré que le niveau de dégranulation dans les expectorations était mieux corrélé au diagnostic d'asthme en contexte de toux chronique (73). Cette étude tend à renforcer l'idée que le niveau de dégranulation observé dans notre étude permettrait d'aider plus spécifiquement au diagnostic de DRESS comparativement à d'autres formes de toxidermie.

Peterson et coll ont montré que les patients présentant des signes cliniques et endoscopiques d'œsophagite à éosinophiles, avec pourtant un faible nombre d'éosinophiles au niveau œsophagien, présentaient des dépôts de protéines cationiques. Ces dépôts étaient similaires aux ceux observés chez les malades souffrant d'œsophagite à éosinophiles diagnostiquée sur la base des critères diagnostiques en vigueur. Ceci plaide en faveur de l'importance de prise en compte de

la dégranulation des éosinophiles pour le diagnostic d'une pathologie éosinophilique (74). Par ailleurs, Mueller et coll ont montré que la densité d'infiltration et de dégranulation des éosinophiles dans des biopsies de patients atteints d'œsophagite à éosinophiles était sous-estimée en coloration standard HES. Dans leur expérience, l'immunohistochimie détectait jusqu'à deux fois plus d'éosinophiles et pouvait donc être particulièrement utile pour le diagnostic d'œsophagite éosinophilique débutante (75). Dans notre étude, de façon similaire, la technique immunohistochimique permettait d'identifier d'avantage d'éosinophiles par rapport à l'analyse histologique standard HES montrant ainsi une plus grande sensibilité de détection des éosinophiles par technique immunohistochimique et pouvant justifier ainsi son utilisation par les pathologistes pour le diagnostic de DRESS et des dermatoses éosinophiliques au sens large.

Afin de combiner à la fois l'analyse du nombre absolu d'éosinophiles, et la présence de granules dans la peau, nous avons adapté un score de quantification du marquage immunohistochimique à partir des travaux de Prothéro et Masterson (66,67). Nous avons observé un score significativement plus élevé chez les patients atteints de DRESS quel que soit l'anticorps utilisé. Cependant il n'a pas été possible de mettre en évidence une différence dans l'intensité de niveau de dégranulation (item n°1) entre les groupes avec cette méthode. Ce score permet de combiner à la fois la quantification des granules extracellulaires et des éosinophiles et s'avère ainsi très utile dans les situations où il est possible d'observer des granules sans cellule et inversement. En effet, comme nous l'avons mentionné, les mécanismes de dégranulation sont variables selon les situations et l'absence de cellule n'est pas systématiquement associée à l'absence de granules notamment en cas de dégranulation préférentielle par apoptose (27). L'intérêt de ce score repose également sur sa reproductibilité quel que soit l'anticorps utilisé, en effet, il n'y avait pas de différence significative entre les scores réalisés sur le marquage anti-ECP et le marquage anti-MBP avec cette méthode. En outre, ce score a été adapté à partir d'un autre marquage ciblant l'EPX et confirme donc son intérêt potentiel dans la caractérisation des infiltrats éosinophiliques (cellules et granules extracellulaires) pour l'exploration des maladies éosinophiliques. Ce score permet également de prendre en compte la surface concernée par l'infiltrat et la dégranulation des éosinophiles. Ce critère est prépondérant dans son utilisation princeps au cours de l'œsophagite à

éosinophiles. Néanmoins, dans notre étude, nous avons privilégié le niveau de dégranulation en pondérant par cet item par le facteur prioritaire le plus haut contrairement à ce qui avait été fait dans l'étude d'origine.

- **La quantification semi-automatisée détecte davantage de cellules et permet une analyse quantitative des dépôts extracellulaires de protéines cationiques**

Notre approche de quantification originale a été possible grâce au marquage immunohistochimique permettant d'isoler les cellules et les granules marqués grâce au degré d'intensité colorimétrique, ce qui n'aurait pas été possible sur la coloration HES standard. Cette approche méthodologique a permis de confirmer la présence de façon significativement plus élevée de granules marqués par l'anticorps anti-MBP au sein des biopsies cutanées de patients atteints de DRESS. A l'inverse le nombre de granules marqués par l'anticorps anti-ECP n'était pas statistiquement différent entre les deux groupes ce qui était discordant avec l'observation semi-quantitative manuelle. Nous ne pouvons exclure une limite de la technique de marquage mais ceci peut s'expliquer en partie par la spécificité des marquages utilisés (76). En effet l'EPX et la MBP-2 sont les seules protéines cationiques uniquement exprimées par les éosinophiles et non par d'autres cellules (27). Les autres protéines cationiques sont exprimées de manière variable en quantités inférieures de 10 à 100 fois moins importantes par d'autres leucocytes, tissus et cellules du sang, y compris les basophiles (MBP-1) (77) et les neutrophiles (ECP) (78). De plus, l'anticorps anti-MBP utilisé au cours de notre étude ne permet pas de distinguer ces différents sous-types protéiques. Aussi il serait intéressant de pouvoir comparer nos marquages réalisés à un marquage plus spécifique utilisé dans la littérature (anti-EPX) afin notamment de pouvoir distinguer si l'ECP et la MBP constituent des cibles pertinentes dans l'étude de l'éosinophile au cours du DRESS, d'autant plus que la production et le stockage de l'ECP et l'EPX partagent probablement des mécanismes régulateurs communs, qui aboutissent à une production opposée des deux protéines (79).

Nous avons mis en évidence une différence significative entre le nombre de cellules quantifié par la méthode manuelle par rapport à la quantification semi-automatisée à la fois sur le marquage anti-ECP et anti-MBP. Comme le montre l'analyse graphique de Bland-Altman, la méthode semi-automatisée de quantification est capable de

détecter davantage de cellules que la méthode manuelle de quantification. Ceci peut s'expliquer soit par la marge d'erreur de la méthode ; soit par le fait que notre analyse manuelle ne serait pas complètement représentative de la totalité de la biopsie et que la nouvelle méthode de quantification permet de rattraper les cellules présentes dans les zones d'infiltration plus faible mais étendues sur toute la surface de la coupe biopsique.

En revanche, concernant la quantification semi-automatisée des granules, il a été mis en évidence une différence significative entre la quantification du marquage anti-ECP et anti-MBP où seul le marquage anti-MBP permet de détecter de façon significative plus de granules. Nous pouvons expliquer cette différence soit par le fait qu'il existerait une dégranulation différentielle des protéines cationiques de l'éosinophile au cours du DRESS, soit par le fait que les marquages sont réalisés sur des niveaux de coupe différents et qu'ils ne mesurent pas exactement le même niveau de l'infiltrat et surtout de dégranulation d'autant plus que les granules sont de petite taille et leur répartition peut varier rapidement à l'échelle d'une biopsie. L'intérêt d'un double marquage pourrait se discuter afin de différencier une éventuelle dégranulation sélective entre MBP et ECP. Dans la littérature, des cas de sécrétion différentielle entre ECP, MBP et EPX ont été décrits notamment dans le cadre de patients atteints de mucoviscidose en contexte atopique où il a été montré à la fois dans le sérum et les expectorations une expression accrue de la MBP mais pas de l'ECP et l'EPX (80). Sur le plan mécanistique, Melo et coll évoquent la possibilité d'une dégranulation différentielle à travers la dégranulation fragmentaire qui met en jeu un système complexe de vésicules permettant une sécrétion régulée des protéines stockées dans les granules (81–84).

- **La sévérité du DRESS est corrélée au nombre de cellules marquées**

Notre étude de corrélation a permis de montrer que le nombre de cellules exprimant l'ECP était positivement corrélé à la variation de paramètres biologiques de sévérité tels que la variation des phosphatases alcalines et de la CRP. Néanmoins, le taux de la CRP pouvait parfois être en lien avec le contexte infectieux fréquemment rencontré dans le contexte de DRESS. Il est intéressant de noter que le marquage anti-ECP était positivement corrélé, à la durée d'hospitalisation et au délai de réalisation de la biopsie suggérant une augmentation progressive du niveau de dégranulation des

éosinophiles. L'observation d'un niveau de dégranulation élevé pourrait être associé au niveau de gravité de la maladie en lien avec une durée d'hospitalisation spécifique plus longue. Cependant pour certains patients, il était difficile d'estimer la durée spécifique d'hospitalisation en lien directe avec l'évolution et la prise en charge du DRESS dans la mesure où ce syndrome survient souvent de manière fortuite au cours de la prise en charge de situations médicales variées et parfois graves (réanimation, post-opératoire, etc...). Cependant dans notre étude, la majorité des patients étaient pris en charge dans le service de Dermatologie donc la durée de leur hospitalisation étaient directement en lien avec la prise en charge de cette pathologie.

De manière surprenante mais similaire à ce qui a pu être observé au cours de la quantification des cellules, les corrélations réalisées sur les deux marquages immunohistochimiques n'étaient pas superposables. Le niveau de marquage des cellules par l'anticorps anti-MBP était corrélé positivement à l'éosinophilie circulante et au délai d'apparition des symptômes après la prise médicamenteuse, ce qui n'était pas le cas pour le marquage anti-ECP en partie en raison de variabilités individuelles. Ces données suggèrent néanmoins qu'une exposition longue à un médicament inducteur de DRESS pourrait être associée à une infiltration éosinophilique plus importante. En parallèle, le marquage anti-MBP était de façon similaire au marquage anti-ECP corrélé positivement au délai de réalisation de la biopsie par rapport à la survenue des symptômes. Il n'y a pas de données dans la littérature à notre connaissance sur le délai de survenue de la dégranulation des éosinophiles au cours d'un infiltrat éosinophilique quelconque et donc au cours du DRESS. Cette donnée illustre l'importance d'un arrêt précoce de la molécule inductrice dans la mesure où cette durée d'exposition serait associée à un niveau de dégranulation plus élevé et donc potentiellement à des dommages tissulaires multiples plus sévères.

Nos données sont concordantes avec les données de la littérature faisant état d'une corrélation entre la sévérité et l'importance de l'éosinophilie au cours des toxidermies (85). Ainsi, il est intéressant d'observer que le nombre de cellules exprimant la MBP était corrélé positivement à l'éosinophilie sanguine.

Notre étude apporte de nouveaux éléments pronostiques à travers une approche centrée sur l'éosinophile dans les tissus et son profil d'activation. Néanmoins, les taux de corrélation de notre étude, bien que significatifs, restent faibles et méritent d'être confirmés sur des effectifs plus grands.

Concernant l'étude de corrélation réalisée sur la quantification semi-automatisée, les résultats obtenus sur la quantification manuelle. En effet, il existe une corrélation significativement positive entre le délai d'hospitalisation et le délai de réalisation de la biopsie suggérant la présence d'une infiltration de plus en plus importante par les éosinophiles au cours du temps. Cette donnée suggère également que la présence à la fois des éosinophiles et leurs granules va varier selon le moment où est faite la biopsie cutanée. Il est notamment possible que des prélèvements biopsiques faits tardivement du fait d'un retard au diagnostic puissent être différents morphologiquement des prélèvements réalisés plus précocement pour lesquels les éosinophiles seraient moins présents ou à un état moins activé dans le tissu.

Notre analyse de corrélation est également à pondérer par le fait que certains patients avec atteinte sévère d'organe n'étaient pas atteints d'une forme cutanée sévère en effet, la sévérité de l'atteinte d'organe et la sévérité clinique des manifestations cutanées ne sont pas nécessairement corrélées (86).

#### - **Infiltrat lymphocytaire T CD8+ prédominant au cours du DRESS**

Notre étude confirme les données de la littérature concernant l'implication d'un infiltrat cutané lymphocytaire T CD8+ au cours du DRESS (19,34). Dans une étude anatomo-clinique de Ortonne et coll portant sur 24 DRESS, il a été mis en évidence un infiltrat T CD8+ de plus de 50% de l'infiltrat lymphocytaire chez 82% (n=18) des sujets atteints de DRESS (34). Nous n'avons en revanche pas observé dans notre série de profils d'infiltrat à prédominance « éosinophilique » versus « lymphocytaire » au cours du DRESS. En effet, l'infiltrat lymphocytaire était constamment présent et était parfois accompagné d'un infiltrat éosinophilique plus ou moins dense selon les cas.

Dans notre série, nous avons observé dans le cas d'une patiente une proportion de lymphocytes T CD4+ à hauteur de 60% en quantification semi-quantitative et 40% d'infiltrat lymphocytaire T CD8+. A l'inverse du DRESS, de tels cas ont été décrits au cours des EMP où contrairement aux témoins, la peau des patients présentant un EMP était principalement infiltrée par les lymphocytes T CD4+ et présentait une expression augmentée de la perforine et de la granzyme B. Un double marquage avait révélé que le mécanisme cytotoxique de la perforine et de la granzyme B était partagé à la fois par les cellules CD4+ et CD8+ (64). Chez notre patiente, il était intéressant d'observer que l'infiltrat d'éosinophiles était important avec 39,6 cellules/mm<sup>2</sup> exprimant l'ECP et

37,3 cellules/mm<sup>2</sup> exprimant la MBP. Il s'agissait de l'infiltrat éosinophilique le plus marqué du groupe DRESS de notre série. Elle présentait par ailleurs une éosinophilie sanguine importante estimée à 10100 éléments/mm<sup>3</sup> et une atteinte hépatique modérée à 4,3 fois la normale sur les TGO, 4,5 fois la normale sur les TGP, 3,5 fois la normale sur les PAL et 10,3 fois la normale sur les GGT. L'importance de l'infiltrat éosinophilique combiné à la présence d'un infiltrat majoritaire fait de lymphocytes T CD4+ suggèrent davantage la présence d'une polarisation Th2 prédominante avec l'implication d'interleukines impliquées dans le recrutement et la survie de ces éosinophiles au niveau cutané. A l'inverse on peut penser que les patients atteints DRESS mais présentant une éosinophilie à un taux faible et/ou une infiltration éosinophilique faible ou absente pourraient présenter un profil de polarisation lymphocytaire T différent et présenterait un profil d'avantage lymphocytaire Th1 moins impliqué dans la survie et le recrutement des éosinophiles dans les tissus. Bien que la littérature regorge d'études suggérant que les éosinophiles soient liés à une réponse lymphocytaire T principalement polarisée Th2, il a été démontré que ces cellules pouvaient exprimer la plupart des cytokines qui caractérisent les réponses polarisées de type Th1. Plus précisément, il a été démontré notamment que les éosinophiles expriment l'IL-12 et l'IFN $\gamma$  (87). Les éosinophiles expriment également plusieurs récepteurs de type Toll-like-receptor (TLR-7 et -9) qui participent à la réponse immunitaire innée conduisant à une réponse adaptative polarisée de type Th1 (88,89). En outre, l'expression par les éosinophiles du récepteur de l'IL-12 implique que les éosinophiles infiltrant les tissus soient capables de reconnaître et de répondre à un microenvironnement immunitaire polarisé de type Th1. Toutes ces données suggèrent que la participation des éosinophiles selon le contexte pathologique peut varier en fonction de l'équilibre en présence entre les réponses immunitaires Th1-Th2 pour un tissu donné. Une étude du profil de polarisation T au cours du DRESS pourrait permettre d'identifier ces différents profils et de mieux comprendre l'hétérogénéité observée de l'infiltrat cutané des éosinophiles.

Par ailleurs, nous avons observé le cas d'un patient atteint de DRESS ayant présenté une atteinte colique et dont l'analyse histologique et immunohistochimique a mis en évidence la présence au sein de biopsies coliques d'un infiltrat éosinophilique mais également de granules au sein du chorion. Seules trois équipes rapportent cette complication qui serait plus fréquemment associée au cours de DRESS aux antiépileptiques (90–92). Cette observation suggère que même si les profils semblent

hétérogènes dans notre étude, il n'est pas exclu que les mécanismes de cytotoxicité de l'éosinophile dans les tissus soient similaires. Cette donnée justifie d'autant plus notre approche cutanée dans la compréhension des mécanismes impliquant l'éosinophile au cours du DRESS dans la mesure où le recours aux biopsies d'organes au cours du DRESS est injustifié et l'accès à des biopsies de tissu sain chez des sujets contrôles n'est pas éthiquement acceptable.

#### - **Limites de l'étude**

Les limites de notre étude reposent sur le caractère rétrospectif et consécutif de l'inclusion des patients qui induit de fait un biais de recrutement dans la sélection des malades. En effet, nous avons peu de cas de DRESS sévères, soit diagnostiqués au décours d'un séjour en réanimation, soit ayant nécessité une prise en charge en réanimation consécutive au DRESS. De même, l'absence de décès constatés dans notre série montre l'absence des cas les plus sévères de DRESS avec atteinte d'organe mortelle. Ceci peut également et en partie s'expliquer par le fait que les critères d'inclusion et diagnostiques rétrospectifs de RegiSCAR n'ont pas pu être appliqués à toutes les suspicions de DRESS du fait du manque de renseignements à la consultation du dossier ne permettant pas d'obtenir le score minimal à l'inclusion. Nous avons également exclu les malades pris en charge pour un motif oncohématologique afin de ne pas induire un biais dans l'analyse des éosinophiles. En outre, l'aspect histologique n'étant pas spécifique, il n'est pas impossible que d'authentiques DRESS n'aient pas pu être inclus dans l'étude. En effet, nous avons en effet préféré ne sélectionner que les cas de DRESS pour lesquels l'aspect histologique était évocateur de toxidermie. Notre objectif était d'augmenter la probabilité d'observer une différence entre nos groupes sur les paramètres étudiés alors qu'un aspect histologique compatible n'est pas obligatoire pour le diagnostic de DRESS et qu'il peut être posé même en cas d'aspect histologique non compatible (36). Peu de cas étaient concernés par une réactivation virale et aucun cas n'était associé à la survenue d'une réactivation HHV6 alors que de nombreuses études ont rapporté que les cas de DRESS s'accompagnaient jusqu'à 60 % de la réactivation d'un ou plusieurs virus du groupe herpès et notamment HHV6 (14,16). Le rôle de ces virus et leur lien avec l'éosinophilie sanguine et tissulaire n'est pas élucidé et n'est sans doute pas négligeable mais peut surtout représenter un biais pour lequel à ce jour il n'est pas

possible de s'affranchir. Dans notre série, il a notamment été observé un cas de trois réactivations virales simultanées avec la présence d'une grande sévérité de l'atteinte hépatique ayant nécessité une corticothérapie orale prolongée mais en revanche, il n'avait pas été observé d'infiltrat éosinophilique sévère ou de niveau de dégranulation élevé soulignant le fait que la sévérité clinique peut être corrélée à l'importance de la réactivation virale comme le suggèrent certains auteurs (93,94).

Les limites reposent également sur le faible effectif imposé par la faible incidence des DRESS. De plus, les EMP ne sont pas systématiquement prélevés et l'aspect histologique est très souvent également non spécifique ne permettant pas de distinguer par exemple une éruption d'origine virale d'une toxidermie débutante. Ces paramètres rendent l'inclusion de sujets contrôles parfois délicate d'autant que le plus souvent seuls les tests allergologiques permettent de faire la part des choses. Par ailleurs, les patients étaient inclus quel que soit les traitements concomitants prescrits au moment de la biopsie ainsi dans le cas d'une patiente du groupe DRESS, on notait la prescription de corticoïdes oraux dans le cadre d'un lupus érythémateux systémique ayant pu perturber et fausser l'ensemble des marquages réalisés chez cette patiente qui ne présentait pas d'infiltration éosinophilique ni de granules au niveau cutané.

A l'inverse, notre série comporte des patients ayant présenté un DRESS ou un EMP dans un contexte oncologique (hors hématologique). Le profil de ces trois patients était hétérogène avec trois profils d'éosinophilie et de dégranulation différents et opposés. Nous ne pouvons pas exclure une participation du cancer dans l'hétérogénéité des résultats chez ces patients dans la mesure où il est possible d'observer une éosinophilie tissulaire et sanguine en contexte oncologique (95).

## - Perspectives

L'intérêt majeur de notre étude repose sur la mise au point d'outils nouveaux à la fois dans le marquage et la quantification des éosinophiles et leurs granules au cours du DRESS. La mise au point de ces outils pourrait permettre à terme d'étendre le spectre d'utilisation de ces méthodes de quantification dans un premier temps à d'autres marquages immunohistochimiques des éosinophiles et de leurs granules au cours du DRESS. Puis, dans un second temps élargir le champ d'action de ces méthodes à d'autres pathologies impliquant les éosinophiles dans la peau dans le cadre du CEREO (Centre de Référence National des Syndromes Hyperéosinophiliques).

L'avantage principal de notre nouvelle technique de quantification semi-automatisée est de pouvoir évaluer de façon exhaustive le prélèvement biopsique sur toute sa surface et ne pas se limiter à une zone d'infiltration maximale. Cette technique de quantification permet également la reproductibilité des mesures à la fois entre chaque patient, sur différents tissus mais également entre différents marquages immunohistochimiques des dépôts de protéines cationiques éosinophiles dans les tissus. A notre connaissance, il n'existe pas dans la littérature une méthode de quantification similaire des éosinophiles au cours du DRESS.

Nous avons mis en évidence un niveau de dégranulation plus élevé mais cependant le mécanisme précis de dégranulation et le mécanisme de recrutement des éosinophiles ne sont pas connus. Dans notre étude, l'éotaxine-1, connue pour être impliquée dans les mécanismes de chimiotactisme de l'éosinophile dans les tissus, ne semblait pas impliquée dans le mécanisme de recrutement des éosinophiles au cours du DRESS et de l'EMP. Cette donnée est contradictoire avec les travaux de Yawalkar et coll, qui avaient suggéré l'implication de l'IL-5 et de l'éotaxine-1 dans le processus de recrutement dans la peau des éosinophiles au cours des toxidermies avec éosinophilie. Cependant cette étude est réalisée sur un faible nombre de malades (n=9) comporte un biais sur le fait qu'aucune distinction n'est faite entre EMP et DRESS (96). Aussi, des co-marquages en immunofluorescence sur tissu frais permettraient d'explorer les mécanismes impliqués dans le recrutement des éosinophiles avec notamment l'études des éotaxines-1, -2 et -3 mais également l'IL-5 ou l'IL-3.

## CONCLUSION

Notre étude a permis de confirmer la présence d'éosinophiles dans la peau des patients atteints de DRESS et d'EMP et a démontré l'existence d'un niveau de dégranulation des éosinophiles cutanés significativement plus élevé au cours du DRESS. Il est donc fondamental de considérer non pas seulement le nombre absolu d'éosinophiles mais aussi et surtout le niveau d'activation des éosinophiles pour faire le diagnostic du DRESS et évaluer son pronostic. La mise au point au laboratoire d'une méthode originale d'analyse semi-automatisée du nombre d'éosinophiles et de leur niveau de dégranulation constitue un outil très utile pour l'étude du DRESS et des autres pathologies éosinophiliques. L'hétérogénéité des profils d'activation des éosinophiles cutanés rencontrée dans notre travail justifie de poursuivre l'étude des mécanismes de recrutement tissulaire et d'activation des éosinophiles dans le DRESS.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Descamps V, Ranger-Rogez S. DRESS syndrome. *Jt Bone Spine Rev Rhum.* 2014;81(1):15–21.
2. Bocquet H, Bagot M, Roujeau JC. Drug-induced pseudolymphoma and drug hypersensitivity syndrome (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms: DRESS). *Semin Cutan Med Surg.* 1996;15(4):250–7.
3. Choudhary S, McLeod M, Torchia D, Romanelli P. Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms (DRESS) Syndrome. *J Clin Aesthetic Dermatol.* 2013;6(6):31–7.
4. Husain Z, Reddy BY, Schwartz RA. DRESS syndrome: Part I. Clinical perspectives. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(5):693.e1-14.
5. Camous X, Calbo S, Picard D, Musette P. Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms: an update on pathogenesis. *Curr Opin Immunol.* 2012;24(6):730–5.
6. Pichler WJ. Pharmacological interaction of drugs with antigen-specific immune receptors: the p-i concept. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2002;2(4):301–5.
7. Redwood AJ, Pavlos RK, White KD, Phillips EJ. HLAs: Key regulators of T-cell-mediated drug hypersensitivity. *HLA.* 2018;91(1):3–16.
8. 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.* 2002;359(9308):727–32.
9. Illing PT, Vivian JP, Dudek NL, Kostenko L, Chen Z, Bharadwaj M, et al. Immune self-reactivity triggered by drug-modified HLA-peptide repertoire. *Nature.* 2012;486(7404):554–8.
10. Illing PT, Vivian JP, Purcell AW, Rossjohn J, McCluskey J. Human leukocyte antigen-associated drug hypersensitivity. *Curr Opin Immunol.* 2013;25(1):81–9.
11. Chen P, Lin J-J, Lu C-S, Ong C-T, Hsieh PF, Yang C-C, et al. Carbamazepine-induced toxic effects and HLA-B\*1502 screening in Taiwan. *N Engl J Med.* 2011;364(12):1126–33.
12. Yang C-Y, Chen C-H, Deng S-T, Huang C-S, Lin Y-J, Chen Y-J, et al. Allopurinol Use and Risk of Fatal Hypersensitivity Reactions: A Nationwide Population-Based Study in Taiwan. *JAMA Intern Med.* 2015;175(9):1550–7.

13. Hung S-I, Chung W-H, Liou L-B, Chu C-C, Lin M, Huang H-P, 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*. 2005;102(11):4134–9.
14. Descamps V, Valance A, Edlinger C, Fillet AM, Grossin M, Lebrun-Vignes B, et al. Association of human herpesvirus 6 infection with drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms. *Arch Dermatol*. 2001;137(3):301–4.
15. Seishima M, Yamanaka S, Fujisawa T, Tohyama M, Hashimoto K. Reactivation of human herpesvirus (HHV) family members other than HHV-6 in drug-induced hypersensitivity syndrome. *Br J Dermatol*. 2006;155(2):344–9.
16. Kano Y, Inaoka M, Shiohara T. Association between anticonvulsant hypersensitivity syndrome and human herpesvirus 6 reactivation and hypogammaglobulinemia. *Arch Dermatol*. 2004;140(2):183–8.
17. Asano Y, Kagawa H, Kano Y, Shiohara T. Cytomegalovirus disease during severe drug eruptions: report of 2 cases and retrospective study of 18 patients with drug-induced hypersensitivity syndrome. *Arch Dermatol*. 2009;145(9):1030–6.
18. Musette P, Janela B. New Insights into Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms Pathophysiology. *Front Med*. 2017;4:179.
19. Picard D, Janela B, Descamps V, D’Incan M, Courville P, Jacquot S, et al. Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS): a multiorgan antiviral T cell response. *Sci Transl Med*. 2010 ;2(46):46-62.
20. Takahashi R, Kano Y, Yamazaki Y, Kimishima M, Mizukawa Y, Shiohara T. Defective regulatory T cells in patients with severe drug eruptions: timing of the dysfunction is associated with the pathological phenotype and outcome. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2009;182(12):8071–9.
21. Cacoub P, Musette P, Descamps V, Meyer O, Speirs C, Finzi L, et al. The DRESS syndrome: a literature review. *Am J Med*. 2011;124(7):588–97.
22. Marichal T, Mesnil C, Bureau F. Homeostatic Eosinophils: Characteristics and Functions. *Front Med*. 2017;4:101.
23. O’Sullivan JA, Bochner BS. Eosinophils and eosinophil-associated diseases: An update. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;141(2):505–17.
24. Esnault S, Johansson MW, Kelly EA, Koenderman L, Mosher DF, Jarjour NN. IL-3 up-regulates and activates human eosinophil CD32 and  $\alpha$ M $\beta$ 2 integrin causing degranulation. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2017;47(4):488–98.
25. McBrien CN, Menzies-Gow A. The Biology of Eosinophils and Their Role in Asthma. *Front Med*. 2017;4:93.
26. Weller PF, Spencer LA. Functions of tissue-resident eosinophils. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(12):746–60.
27. Acharya KR, Ackerman SJ. Eosinophil granule proteins: form and function. *J Biol Chem*. 2014;289(25):17406–15.

28. Saffari H, Hoffman LH, Peterson KA, Fang JC, Leiferman KM, Pease LF, et al. Electron microscopy elucidates eosinophil degranulation patterns in patients with eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(6):1728-34.
29. Valent P, Gleich GJ, Reiter A, Roufosse F, Weller PF, Hellmann A, et al. Pathogenesis and classification of eosinophil disorders: a review of recent developments in the field. *Expert Rev Hematol.* 2012;5(2):157-76.
30. Gleich GJ. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;105(4):651-63.
31. Plager DA, Davis MDP, Andrews AG, Coenen MJ, George TJ, Gleich GJ, et al. Eosinophil Ribonucleases and Their Cutaneous Lesion-Forming Activity. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2009;183(6):4013-20.
32. Chi M-H, Hui RC-Y, Yang C-H, Lin J-Y, Lin Y-T, Ho H-C, et al. Histopathological analysis and clinical correlation of drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS). *Br J Dermatol.* 2014;170(4):866-73.
33. Walsh S, Diaz-Cano S, Higgins E, Morris-Jones R, Bashir S, Bernal W, et al. Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms: is cutaneous phenotype a prognostic marker for outcome? A review of clinicopathological features of 27 cases. *Br J Dermatol.* 2013;168(2):391-401.
34. Ortonne N, Valeyrie-Allanore L, Bastuji-Garin S, Wechsler J, de Feraudy S, Duong T-A, et al. Histopathology of drug rash with eosinophilia and systemic symptoms syndrome: a morphological and phenotypical study. *Br J Dermatol.* 2015;173(1):50-8.
35. Ang C-C, Wang Y-S, Yoosuff E-LM, Tay Y-K. Retrospective analysis of drug-induced hypersensitivity syndrome: a study of 27 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2010;63(2):219-27.
36. Kardaun SH, Sekula P, Valeyrie-Allanore L, Liss Y, Chu CY, Creamer D, et al. Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS): an original multisystem adverse drug reaction. Results from the prospective RegiSCAR study. *Br J Dermatol.* 2013;169(5):1071-80.
37. Gentile I, Talamo M, Borgia G. Is the drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS) due to human herpesvirus 6 infection or to allergy-mediated viral reactivation? Report of a case and literature review. *BMC Infect Dis.* 2010;6:10:49.
38. Mockenhaupt M. Severe drug-induced skin reactions: clinical pattern, diagnostics and therapy. *J Dtsch Dermatol Ges J Ger Soc Dermatol JDDG.* 2009;7(2):142-60
39. Chiou C-C, Yang L-C, Hung S-I, Chang Y-C, Kuo T-T, Ho H-C, et al. Clinicopathological features and prognosis of drug rash with eosinophilia and systemic symptoms: a study of 30 cases in Taiwan. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* 2008;22(9):1044-9.
40. Karras A, Hermine O. [Hemophagocytic syndrome]. *Rev Med Interne.* 2002;23(9):768-78.

41. Kano Y, Shiohara T. The variable clinical picture of drug-induced hypersensitivity syndrome/drug rash with eosinophilia and systemic symptoms in relation to the eliciting drug. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2009;29(3):481–501.
42. Kano Y, Ishida T, Hirahara K, Shiohara T. Visceral involvements and long-term sequelae in drug-induced hypersensitivity syndrome. *Med Clin North Am.* 2010;94(4):743–59.
43. Roujeau JC, Stern RS. Severe adverse cutaneous reactions to drugs. *N Engl J Med.* 1994;331(19):1272–85.
44. Funck-Brentano E, Duong T-A, Bouvresse S, Bagot M, Wolkenstein P, Roujeau J-C, et al. Therapeutic management of DRESS: a retrospective study of 38 cases. *J Am Acad Dermatol.* 2015;72(2):246–52.
45. Bourgeois GP, Cafardi JA, Groysman V, Hughey LC. A review of DRESS-associated myocarditis. *J Am Acad Dermatol.* 2012;66(6):229-36.
46. Gorniak RJT, Young GS, Wiese DE, Marty FM, Schwartz RB. MR imaging of human herpesvirus-6-associated encephalitis in 4 patients with anterograde amnesia after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2006;27(4):887–91.
47. Sano S, Ueno H, Yamagami K, Yakushiji Y, Isaka Y, Kawasaki I, et al. Isolated ileal perforation due to cytomegalovirus reactivation during management of terbinafine hypersensitivity. *World J Gastroenterol.* 2010;16(26):3339–42.
48. Tas S, Simonart T. Drug rash with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS syndrome). *Acta Clin Belg.* 1999;54(4):197–200.
49. Chiou C-C, Chung W-H, Hung S-I, Yang L-C, Hong H-S. Fulminant type 1 diabetes mellitus caused by drug hypersensitivity syndrome with human herpesvirus 6 infection. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54:S14-17.
50. Shiohara T, Iijima M, Ikezawa Z, Hashimoto K. The diagnosis of a DRESS syndrome has been sufficiently established on the basis of typical clinical features and viral reactivations. *Br J Dermatol.* 2007;156(5):1083–4.
51. 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.* 2013;168(3):555–62.
52. Kuruvilla M, Khan DA. Eosinophilic Drug Allergy. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2016;50(2):228–39.
53. Miremont-Salamé G, Théophile H, Haramburu F, Bégaud B. Causality assessment in pharmacovigilance: The French method and its successive updates. *Thérapie.* 2016;71(2):179–86.

54. Ghislain P-D, Roujeau J-C. Treatment of severe drug reactions: Stevens-Johnson syndrome, toxic epidermal necrolysis and hypersensitivity syndrome. *Dermatol Online J*. 2002;8(1):5.
55. Picard D, Vellar M, Janela B, Roussel A, Joly P, Musette P. Recurrence of drug-induced reactions in DRESS patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2015;29(4):801–4.
56. Husain Z, Reddy BY, Schwartz RA. DRESS syndrome: Part II. Management and therapeutics. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(5):709.
57. Joly P, Janela B, Tetart F, Rogez S, Picard D, D’Incan M, et al. Poor benefit/risk balance of intravenous immunoglobulins in DRESS. *Arch Dermatol*. 2012;148(4):543–4.
58. Moling O, Tappeiner L, Piccin A, Pagani E, Rossi P, Rimenti G, et al. Treatment of DIHS/DRESS syndrome with combined N-acetylcysteine, prednisone and valganciclovir—a hypothesis. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2012;18(7):57-62.
59. Ushigome Y, Kano Y, Ishida T, Hirahara K, Shiohara T. Short- and long-term outcomes of 34 patients with drug-induced hypersensitivity syndrome in a single institution. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(5):721–8.
60. Chen Y-C, Chang C-Y, Cho Y-T, Chiu H-C, Chu C-Y. Long-term sequelae of drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms: a retrospective cohort study from Taiwan. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(3):459–65.
61. Ortonne N. [Histopathology of cutaneous drug reactions]. *Ann Pathol*. 2018;38(1):7–19.
62. Pinto Gouveia M, Gameiro A, Coutinho I, Pereira N, Cardoso JC, Gonçalo M. Overlap between maculopapular exanthema and drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms among cutaneous adverse drug reactions in a dermatology ward. *Br J Dermatol*. 2016;175(6):1274–83.
63. Ange N, Alley S, Fernando SL, Coyle L, Yun J. Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms (DRESS) syndrome successfully treated with mepolizumab. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017.
64. Yawalkar N, Egli F, Hari Y, Nievergelt H, Braathen LR, Pichler WJ. Infiltration of cytotoxic T cells in drug-induced cutaneous eruptions. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2000;30(6):847–55.
65. Gonçalo MM, Cardoso JC, Gouveia MP, Coutinho I, Gameiro AR, Brites MM, et al. Histopathology of the Exanthema in DRESS Is Not Specific but May Indicate Severity of Systemic Involvement. *Am J Dermatopathol*. 2016;38(6):423–33.
66. Masterson JC, Capocelli KE, Hosford L, Biette K, McNamee EN, de Zoeten EF, et al. Eosinophils and IL-33 Perpetuate Chronic Inflammation and Fibrosis in a Pediatric Population with Stricturing Crohn’s Ileitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2015;21(10):2429–40.

67. Protheroe C, Woodruff SA, de Petris G, Mukkada V, Ochkur SI, Janarthanan S, et al. A novel histologic scoring system to evaluate mucosal biopsies from patients with eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* 2009;7(7):749-55.
68. Skowron F, Bensaid B, Balme B, Depaepe L, Kanitakis J, Nosbaum A, et al. Comparative histological analysis of drug-induced maculopapular exanthema and DRESS. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* 2016;30(12):2085–90.
69. Naim M, Weyers W, Metze D. Histopathologic features of exanthematous drug eruptions of the macular and papular type. *Am J Dermatopathol.* 2011;33(7):695–704.
70. Saffari H, Hoffman LH, Peterson KA, Fang JC, Leiferman KM, Pease LF, et al. Electron microscopy elucidates eosinophil degranulation patterns in patients with eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(6):1728-34.
71. Erjefalt J, Greiff L, Andersson M, Adelroth E, Jeffery P, Persson C. Degranulation patterns of eosinophil granulocytes as determinants of eosinophil driven disease. *Thorax.* 2001;56(5):341–4.
72. Wang X, Li X, Ge W, Huang J, Li G, Cong Y, et al. Quantitative evaluation of duodenal eosinophils and mast cells in adult patients with functional dyspepsia. *Ann Diagn Pathol.* 2015;19(2):50–6.
73. Kim C-K, Callaway Z, Kim DW, Kita H. Eosinophil degranulation is more important than eosinophilia in identifying asthma in chronic cough. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma.* 2011;48(10):994–1000.
74. Peterson KA, Cobell WJ, Clayton FC, Krishnamurthy C, Ying J, Pease LF, et al. Extracellular Eosinophil Granule Protein Deposition in Ringed Esophagus with Sparse Eosinophils. *Dig Dis Sci.* 2015;60(9):2646–53.
75. Mueller S, Aigner T, Neureiter D, Stolte M. Eosinophil infiltration and degranulation in oesophageal mucosa from adult patients with eosinophilic oesophagitis: a retrospective and comparative study on pathological biopsy. *J Clin Pathol.* 2006;59(11):1175–80.
76. Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, Phipps S, Foster PS, Lacy P, et al. Eosinophils: biological properties and role in health and disease. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* 2008;38(5):709–50.
77. Ackerman SJ, Kephart GM, Habermann TM, Greipp PR, Gleich GJ. Localization of eosinophil granule major basic protein in human basophils. *J Exp Med.* 1983;158(3):946–61.
78. Sur S, Glitz DG, Kita H, Kujawa SM, Peterson EA, Weiler DA, et al. Localization of eosinophil-derived neurotoxin and eosinophil cationic protein in neutrophilic leukocytes. *J Leukoc Biol.* 1998;63(6):715–22.
79. Jönsson U-B, Blom K, Stålenheim G, Håkansson LD, Venge P. The production of the eosinophil proteins ECP and EPX/EDN are regulated in a reciprocal manner. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand.* 2014;122(4):283–91.

80. Koller DY, Halmerbauer G, Müller J, Frischer T, Schierl M. Major basic protein, but not eosinophil cationic protein or eosinophil protein X, is related to atopy in cystic fibrosis. *Allergy*. 1999;54(10):1094–9.
81. Melo RCN, Weller PF. Vesicular trafficking of immune mediators in human eosinophils revealed by immunoelectron microscopy. *Exp Cell Res*. 2016;347(2):385–90.
82. Melo RCN, Spencer LA, Dvorak AM, Weller PF. Mechanisms of eosinophil secretion: large vesiculotubular carriers mediate transport and release of granule-derived cytokines and other proteins. *J Leukoc Biol*. 2008;83(2):229–36.
83. Melo RCN, Weller PF. Piecemeal degranulation in human eosinophils: a distinct secretion mechanism underlying inflammatory responses. *Histol Histopathol*. 2010;25(10):1341–54.
84. Melo RCN, Spencer LA, Perez SAC, Neves JS, Bafford SP, Morgan ES, et al. Vesicle-mediated secretion of human eosinophil granule-derived major basic protein. *Lab Invest J Tech Methods Pathol*. 2009;89(7):769–81.
85. Yang J, Yang X, Li M. Peripheral blood eosinophil counts predict the prognosis of drug eruptions. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013;23(4):248–55.
86. Moundib H, Hali F, Benchikhi H, Widad FZ, Nani S. DRESS Syndrome : phénotype cutané et atteinte viscérale (34 cas). *Ann Dermatol Vénérologie*. 2014;14:S494.
87. Lamkhioued B, Gounni AS, Aldebert D, Delaporte E, Prin L, Capron A, et al. Synthesis of type 1 (IFN gamma) and type 2 (IL-4, IL-5, and IL-10) cytokines by human eosinophils. *Ann N Y Acad Sci*. 1996;796:203–8.
88. Månsson A, Cardell L-O. Role of atopic status in Toll-like receptor (TLR)7- and TLR9-mediated activation of human eosinophils. *J Leukoc Biol*. 2009;85(4):719–27.
89. Nagase H, Okugawa S, Ota Y, Yamaguchi M, Tomizawa H, Matsushima K, et al. Expression and function of Toll-like receptors in eosinophils: activation by Toll-like receptor 7 ligand. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2003;171(8):3977–82.
90. Fervenza FC, Kanakiriya S, Kunau RT, Gibney R, Lager DJ. Acute granulomatous interstitial nephritis and colitis in anticonvulsant hypersensitivity syndrome associated with lamotrigine treatment. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2000;36(5):1034–40.
91. Eland IA, Dofferhoff AS, Vink R, Zondervan PE, Stricker BH. Colitis may be part of the antiepileptic drug hypersensitivity syndrome. *Epilepsia*. 1999;40(12):1780–3.
92. Atkinson RJ, Dennis G, Cross SS, McAlindon ME, Sharrack B, Sanders DS. Eosinophilic colitis complicating anti-epileptic hypersensitivity syndrome: an indication for colonoscopy? *Gastrointest Endosc*. 2004 Dec;60(6):1034–6.
93. Neuman MG, McKinney KK, Nanau RM, Kong V, Malkiewicz I, Mazulli T, et al. Drug-induced severe adverse reaction enhanced by human herpes virus-6 reactivation. *Transl Res J Lab Clin Med*. 2013;161(5):430–40.

94. Roujeau J-C, Dupin N. Virus Reactivation in Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms (Dress) Results from a Strong Drug-Specific Immune Response. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017;5(3):811–2.
95. Varricchi G, Galdiero MR, Loffredo S, Lucarini V, Marone G, Mattei F, et al. Eosinophils: The unsung heroes in cancer? *Oncoimmunology.* 2018;7(2).
96. Yawalkar N, Pichler WJ. Immunohistology of drug-induced exanthema: clues to pathogenesis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2001;1(4):299–303.

## Annexes

### Annexe 1 : Score d'imputabilité selon la méthode de Bégaud.

		Explication pharmacodynamique ou facteur favorisant			Autres situations		
		L+	L0	L-	L+	L0	L-
<b>Diagnostics différentiels</b>	<b>Non</b>	S3	S3	S1	S3	S2	S1
	<b>Oui</b>	S3	S2	S1	S3	S1	S1

L+ : test de laboratoire positif, L0 : test de laboratoire non fait, L- : test de laboratoire négatif ; S3 : sémiologie vraisemblable, S2 : sémiologie plausible, S1 : sémiologie douteuse

		Sémiologie		
		S1	S2	S3
<b>Chronologie</b>	<b>C0</b>	I0	I0	I0
	<b>C1</b>	I1	I1	I2
	<b>C2</b>	I1	I2	I3
	<b>C3</b>	I3	I3	I4

I4 : imputabilité très vraisemblable, I3 : imputabilité vraisemblable, I2 : imputabilité plausible, I1 : imputabilité douteuse, I0 : imputabilité incompatible

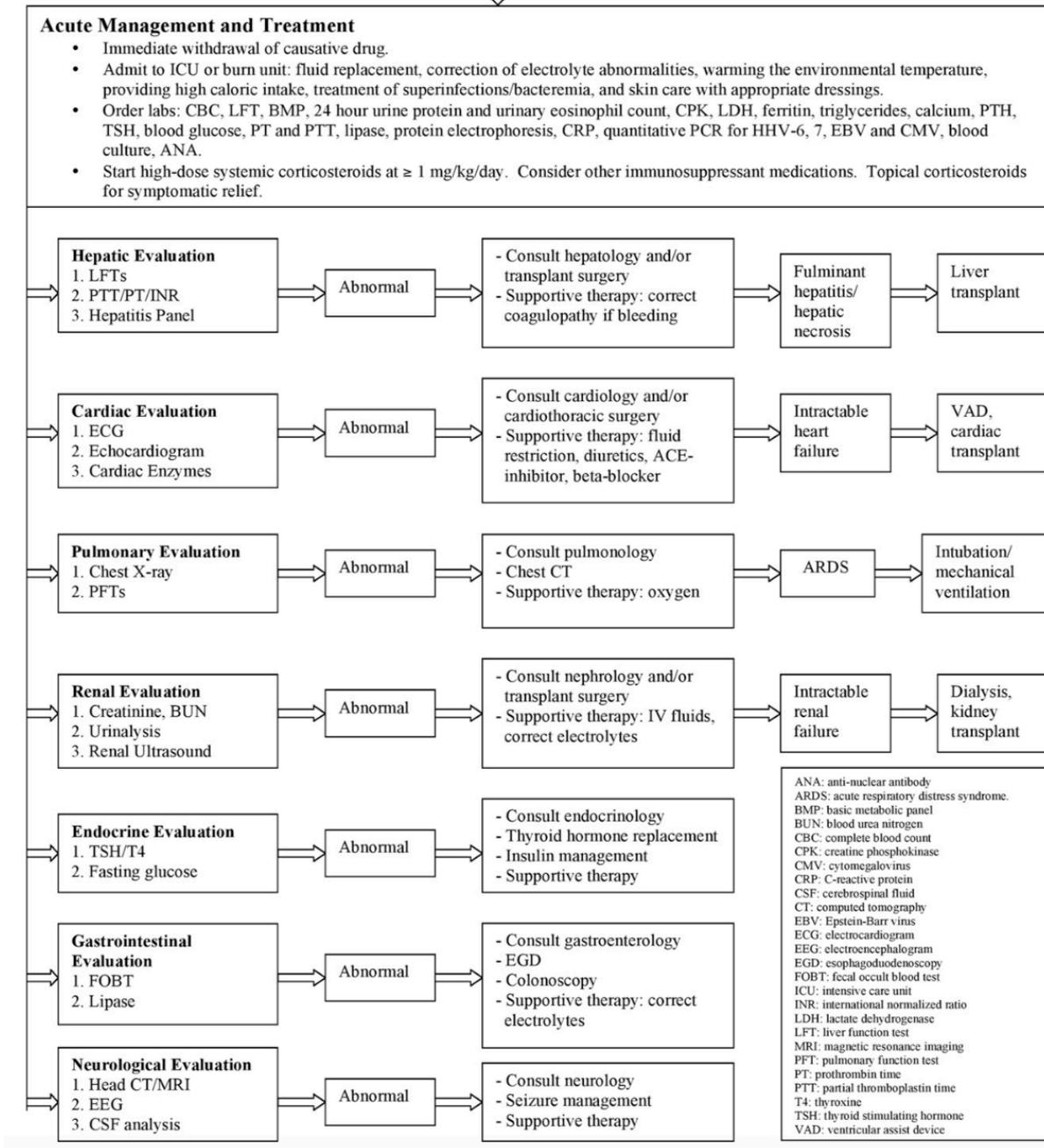
<b>Critères bibliographiques</b>	
B3 : effet notoire / décrit	Référencé dans les ouvrages de référence : dictionnaire des médicaments, Vidal, Martindale, Meyler's Side Effects of Drugs.
B2 : effet non notoire dans les documents usuels	Publié à une ou deux reprises avec une sémiologie différente ou un médicament voisin
B1 : effet non décrit	Non décrit dans la littérature
B0 : effet non décrit	Non décrit après recherche exhaustive dans la littérature

<b>Imputabilité chronologique</b>	<b>Imputabilité sémiologique</b>	<b>Imputabilité intrinsèque (d'après C et S)</b>	<b>Imputabilité bibliographique (extrinsèque)</b>
C0 : Incompatible		I0 : Incompatible	B0 : non décrit (recherche exhaustive)
C1 : Douteuse	S1 : Douteuse	I1 : Douteuse	B1 : non décrit
C2 : Plausible	S2 : Plausible	I2 : Plausible	B2 : non notoire
C3 : Vraisemblable	S3 : Vraisemblable	I3 : Vraisemblable	B3 : notoire
		I4 : Très vraisemblable	

C : Chronologique, S : Sémiologique

<b>Critères chronologiques</b>								
Délai de survenue de l'effet indésirable par rapport à la prise médicamenteuse	Très suggestif ( <i>choc anaphylactique</i> )							
	Incompatible ( <i>délai insuffisant, effet avant la prise de médicament</i> )							
	Compatible ( <i>tous les autres cas</i> )							
Evolution de l'effet indésirable à l'arrêt du médicament ( <i>dechallenge</i> )	Suggestive ( <i>régression à l'arrêt</i> )							
	Non concluante ( <i>régression retardée, favorisée par un traitement, recul insuffisant, évolution inconnue, médicament poursuivi, lésions irréversibles ou décès</i> )							
	Non suggestive ( <i>absence de régression d'un événement réversible, régression malgré la poursuite du médicament</i> )							
Nouvelle administration du médicament ( <i>rechallenge</i> )	Positive ( <i>récidive de l'événement à la réintroduction</i> )							
	Non faite							
	Négative ( <i>absence de récurrence de l'événement à la réintroduction</i> )							
	Délai de survenue	Très suggestif			Compatible			Incompatible
	Rechallenge	R+	R0	R-	R+	R0	R-	
Evolution	Suggestive	C3	C3	C1	C3	C2	C1	C0
	Non concluante	C3	C2	C1	C3	C1	C1	C0
	Non suggestive	C1	C1	C1	C1	C1	C0	C0
R+ : rechallenge positif, R0 : rechallenge non fait, R- : rechallenge négatif ; C3 : chronologie vraisemblable, C2 : chronologie plausible, C1 : chronologie douteuse, C0 : chronologie incompatible								
<b>Critères sémiologiques</b>								
Explication pharmacodynamique (mécanisme d'action)				Evocateur du rôle du médicament ou facteur favorisant				
Facteurs favorisants				Autre situation				
Diagnostics différentiels possibles				Non				
				Oui				
Examens complémentaires de laboratoire prouvant la cause médicamenteuse				Positif				
				Non fait				
				Négatif				

**Annexe 2 : algorithme thérapeutique proposé par Husain et coll. 2013.**



**Annexe 3 : score de quantification du marquage anti-EPX au cours de la maladie de Crohn pédiatrique (Masterson et coll. 2015) :**

Supplemental Table 1: Eosinophil peroxidase (EPX) immunohistochemical score for ileitis.

EPX-mAb Staining Parameter	Numerical Score			Priority Factor	Eyepiece used to obtain score
<b>Degranulation</b>	Level of degranulation in a 40X FOV			1	<b>40X</b> Use 4X to locate each of the 5 FOV, then move to 40X for scoring. Randomized.
	0 (intact eos – no degranulation)	1 (eos degranulating – limited to areas surrounding otherwise intact cells)	2 (enucleated eos i.e. cytoplasmic fragments &/or free granules &/or extracellular matrix granules)		
<b>Eosinophil Infiltrate: Maximum Single Focus</b>	Number of intact eosinophils – Peak value in a single 40X HPF			2	<b>40X</b> Use 4X to locate peak/max focus, then move to 40X for scoring.
	1 (<50)	2 (50 - 75)	3 (>=75)		
<b>Eosinophil Infiltrate: Average of 5 Random Foci</b>	Number of intact eosinophils – Peak value in average of five (5) 40X HPFs			3	<b>40X</b> Use 4X to locate each of the 5 FOV, then move to 40X for scoring. Randomized.
	1 (<10)	2 (10 - 35)	3 (>=35)		
<b>Patchiness</b>	Percent area showing eosinophil infiltration &/or degranulation			4	<b>4X</b>
	1 (0 – 33%)	2 (33 – 66%)	3 (66 – 100%)		



## Annexe 5 : Détails des caractéristiques des patients du groupe DRESS.

	Sexe	Age	Score RegiSCAR	Molécule responsable	Délais prise médicamenteuse - symptômes	Délais symptômes-hospitalisation	Délais symptômes-biopsie	Séjour en réanimation	Traitement	Durée de traitement	Durée hospitalisation	Atteintes d'organe
DRESS 1	F	89	6	Allopurinol, Esoméprazole	30	30	30	Non	CTC	120	12	
DRESS 2	F	49	7	Inhibiteur JAK1	14	30	2	Oui	CTC	135	10	Foie, cœur
DRESS 3	M	70	7	Céftazidime	10	30	30	Non	CTC	180	60	Foie
DRESS 4	M	42	6	Vancomycine	11		5	Oui	CTC	70		Foie, rein
DRESS 5	F	40	7	Amikacine	10		6	Oui	CTC	240		Rein
DRESS 6	F	62	6	Tazocilline	37	5	4	Non	CTC	195	15	
DRESS 7	F	53	4	Amoxicilline/acide clavulanique	8	16	28	Non	DC	90	11	Rein
DRESS 8	F	70	5	Vancomycine	30		42	Non	DC	90	25	
DRESS 9	F	43	8	Vémurafénib	8	2	2	Non	CTC	60	26	Foie, cœur, rein
DRESS 10	M	19	7	Tegretol	30	4	4	Non	CTC	270	20	Foie
DRESS 11	F	84	6	Tegretol	49	10	10	Non	DC	15	7	
DRESS 12	F	86	5	Allopurinol	30	15	15	Non	DC	21	21	
DRESS 13	M	68	5	Tazocilline	42	1	1	Non	DC	12	11	
DRESS 14	F	42	7	Dabrafénib, Tramétinib	21	51	51	Non	CTC	30	15	Foie
DRESS 15	F	68	5	Vémurafénib, Cobimétinib	16	18	19	Non	CTC	60	13	Foie, cœur, rein
DRESS 16	M	25	8	Méronem, Caspofungine, Vancomycine	21		7	Oui	CTC	45	35	Foie, rein
DRESS 17	F	79	4	Amoxicilline/acide clavulanique	12	12	12	Non	DC	30	7	Foie
DRESS 18	M	23	5	Amoxicilline	1	5	2	Non	DC	30	6	
DRESS 19	F	75	4	Fluindione, Méronem, Esoméprazole	13		4	Non	Aucun	0		
DRESS 20	M	34	4	Tazocilline, Fluconazole, Esoméprazole	30		7	Non	Aucun	0		
DRESS 21	F	39	4	Pyostacine, Hélicidine, Métopimazine, Lévétiracétam	12	2	2	Non	DC		8	Foie

**Annexe 6 : Détails des caractéristiques des patients du groupe EMP.**

	Sexe	Age	Molécule	Délais symptômes- hospitalisation	Délais symptômes- biopsie	Séjour en réanimation	Délais prise traitement - symptômes	Traitement	Durée hospitalisation
<b>EMP 1</b>	M	77	Esoméprazole	8	8	0	21	Aucun	2
<b>EMP 2</b>	M	83	Clopidogrel	90	90	0	7	Aucun	20
<b>EMP 3</b>	F	61	Célécoxib	4	4	0	7	Aucun	3
<b>EMP 4</b>	M	43	Amoxicilline	4	4	0	9	Aucun	8
<b>EMP 5</b>	F	60	Tazocilline, Vancomycine		3	0	16	Aucun	
<b>EMP 6</b>	F	68	Vémurafénib, Cobimétinib	8	8	0	8	Aucun	4
<b>EMP 7</b>	F	75	Vémurafénib, Cobimétinib	3	3	0	6	Aucun	11
<b>EMP 8</b>	F	30	Acide ursodésoxycholique, Esoméprazole	3	4	0	15	Aucun	4
<b>EMP 9</b>	M	53	Sorafénib	9	9	0	9	DC	2
<b>EMP 10</b>	M	74	Dabrafénib, Tramétinib	17	17		15	Aucun	2
<b>EMP 11</b>	M	68	Rapeprazol		21	0	21	DC	0
<b>EMP 12</b>	M	32	Vémurafénib	10	10	0	10	DC	10
<b>EMP 13</b>	F	40	Vancomycine		7	0	13	DC	
<b>EMP 14</b>	F	19	Etifoxine	2	2		7	Aucun	4
<b>EMP 15</b>	F	26	Adiazine, Pyriméthamine	5	5	0	16	Aucun	4
<b>EMP 16</b>	M	30	Oracilline, Valaciclovir	3	3	0	10	Aucun	6
<b>EMP 17</b>	F	34	Sorafénib	4	4	0	6	DC	3
<b>EMP 18</b>	F	66	Fluconazole, amiodarone, Colchicine	1	1	0	10	DC	4
<b>EMP 19</b>	M	76	Tegretol	5	12	0	7	DC	5

**AUTEUR : Nom : DEZOTEUX**

**Prénom : Frédéric**

**Date de Soutenance : 25 juin 2018**

**Titre de la Thèse : Évaluation de l'activation du polynucléaire éosinophile dans la peau au cours du DRESS syndrome.**

**Thèse - Médecine - Lille 2018**

**Cadre de classement : Dermatologie et Vénérologie**

**DES + spécialité : Dermatologie et Vénérologie**

**Mots-clés : DRESS syndrome, éosinophile, granules, protéines cationiques**

**Contexte** : Le DRESS syndrome pour « Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms » est une toxidermie grave pouvant mettre en jeu le pronostic vital. Le degré d'implication de l'éosinophile dans les dégâts tissulaires n'est pas connu. L'objectif était d'analyser le niveau d'activation des éosinophiles cutanés, en étudiant leur nombre et leur niveau de dégranulation au cours du DRESS. **Méthode** : L'analyse a porté sur une série rétrospective monocentrique de 40 patients répartis dans 2 groupes de patients atteints de toxidermie et ayant bénéficié d'une biopsie cutanée au CHRU de Lille : 19 exanthèmes maculopapuleux (EMP) et 21 DRESS. Les éosinophiles et leurs granules ont été identifiés par marquage immunohistochimique des protéines cationiques de l'éosinophile (ECP, MBP) et les lymphocytes T par les marqueurs CD3 et CD8. La quantification a été réalisée selon 2 méthodes : 1) méthode manuelle sur 3 champs à l'objectif X20 et par un score de quantification adapté de la littérature ; 2) méthode semi-automatisée après acquisition numérique, méthode originale mise au point dans le cadre de ce travail. Les méthodes de quantifications ont ensuite été comparées entre elles et les résultats corrélés aux paramètres clinico-pathologiques.

**Résultats** : L'infiltrat inflammatoire lymphocytaire était majoritairement T CD8+ et significativement plus sévère ( $p=0,01$ ) dans le groupe DRESS. Le nombre d'éosinophiles n'était pas significativement différent entre les groupes quels que soient la méthode de quantification et l'anticorps utilisés. Le nombre de sujets présentant une dégranulation des éosinophiles était significativement plus élevé dans le groupe DRESS ( $n=13/21$ , 61,9%,  $p=0,009$ ) et prédominant sur la MBP ( $p=0,036$ ), ce qui traduisait la présence d'éosinophiles tissulaires à l'état activé. Le nombre d'éosinophiles dans la peau (groupe DRESS) était d'autant plus élevé que le délai entre l'apparition des symptômes et l'hospitalisation ( $p=0,033$ ) ou la réalisation de la biopsie ( $p=0,004$ ) était long. De manière originale, nous avons montré que la méthode semi-automatisée, plus exhaustive et sensible, permettait de mettre en évidence deux fois plus de cellules que la méthode manuelle, suggérant une sous-évaluation en routine de l'infiltrat éosinophilique dans la peau des patients atteints de toxidermie. **Conclusion** : Nous avons montré la présence d'éosinophiles à l'état activé dans la peau au cours du DRESS comparativement à l'EMP. Ces résultats nous encouragent à poursuivre l'étude des mécanismes de recrutement des éosinophiles dans les tissus au cours du DRESS, afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique de ces patients.

**Composition du Jury :**

**Président : Professeur Laurent Mortier**

**Assesseurs :**

**Professeur Marie-Christine Copin**

**Professeur Delphine Staumont-Sallé**

**Docteur Guillaume Lefèvre**