

# TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE APPLIQUÉ AU DIAGNOSTIC DE L'HYPERSENSIBILITÉ MÉDICAMENTEUSE ET BACTÉRIENNE. INTERPRÉTATION ISOTOPIQUE ET MORPHOLOGIQUE

Par

A. SABBAAH et E. MENARD

Avec la collaboration technique de Madame J. PINEAU  
(Angers)

Le contact antigène-lymphocyte sensibilisé détermine une transformation blastique. Celle-ci est liée à une augmentation de la synthèse des acides nucléiques : l'acide désoxyribonucléique (ADN) et les acides ribonucléiques transfert (ARNt), messenger (ARNm) et ribosomal (ARNr), ces derniers étant à l'origine de l'hyperbasophilie du cytoplasme de la cellule blastique.

Jusqu'en avril 1971, nous avons réalisé 500 tests de transformation lymphoblastique (TTL) par la méthode morphologique, dans les indications suivantes :

- hypersensibilité médicamenteuse, bactérienne, alimentaire [1, 2, 4, 5, 7 et 9] ;
- affections faisant entrer en jeu des processus immunitaires : maladie de Hodgkin, lupus érythémateux disséminé, rectocolite hémorragique ;
- contrôle des vaccinations, des thérapeutiques immuno-dépressives [3, 6 et 8].

Le TTL s'est avéré un test sûr, précis et fidèle chaque fois qu'il a été appliqué à une étude immunitaire ; un seul cas de discordance a été relevé.

## TECHNIQUE

Un test de transformation lymphoblastique peut être interprété :

- soit par la méthode morphologique, en comparant le pourcentage de cellules blastiques dans les cultures sans antigène et celui des cultures avec antigène ;
- soit par la méthode isotopique, en mesurant l'augmentation de la synthèse de l'ADN, grâce à l'incorporation de thymidine tritiée ( $^3\text{H}$  TMH) dans les cultures de lymphocytes.

MÉTHODE MORPHOLOGIQUE [1, 2].

Après 4 jours de cultures on aspire le surnageant ; les cultures sont étalées sur une lame et colorées au may-grunwald-giemsa.

Puis, on procède à la lecture des lames : 1 000 cellules par lame qui seront classées en lymphocytes, cellules intermédiaires et cellules blastiques.

La quantité de plasma recueillie pour l'isolement des lymphocytes permet de pratiquer, en fin de cultures, 6 lames par malade, soit une culture de lymphocytes témoins et 5 antigènes à concentrations connues ou 1 ou 2 antigènes non encore expertisés.

Cette méthode présente deux inconvénients :

- le temps de lecture est long : en moyenne 3 heures pour un TTL ;
- l'interprétation est délicate en ce qui concerne les cellules intermédiaires qui risquent d'être classées parmi les cellules blastiques alors qu'elles sont encore insuffisamment transformées.

#### MÉTHODE ISOTOPIQUE [10].

La méthode isotopique permet de pallier à ces inconvénients.

La thymidine tritiée ( $^3\text{H}$  TMH) (1 microcurie/ml de cultures) est incorporée dans les cultures de lymphocytes, 4 heures avant la fin de celles-ci.

La  $^3\text{H}$  TMH, nucléoside de la thymine, traverse en même temps que les acides aminés la paroi cellulaire, puis la membrane nucléaire. Elle participe à la synthèse de l'ADN.

Certaines molécules de  $^3\text{H}$  TMH peuvent s'accrocher sur les parois du ribosome ; la thymidine froide (sol. à 1 mg/l = 0,1 ml/cultures) permet d'éliminer ces molécules « parasites ».

Après centrifugation à 2 000 tours/mn, les protéines sont précipitées par l'acide trichloracétique à 5 p.cent.

L'ADN récupéré dans le culot de centrifugation subit deux lavages à l'acide trichloracétique.

L'ADN est ensuite dissout dans de l'hydroxyde d'hiamine 10 fois.

Le contenu des tubes est transvasé dans des flacons de comptage.

Les tubes sont « rincés » avec 1 ml de mélange, à parties égales, d'alcool absolu et de méthanol.

On rajoute le mélange scintillant (toluène + 0,01 p.cent de diméthyl popop = p. bis [2 (4 méthyl — 5 phényl oxazoly)] benzène + 0,3 p.cent de PPO = 2,5 diphényloxazole).

Le comptage est effectué sur spectromètre à scintillation liquide (Nuclear Chicago — Unilux II).

## RÉSULTATS

### EXPRESSION DES RÉSULTATS

Les résultats sont exprimés par le rapport R de l'activité relative à l'antigène sur l'activité du témoin (cultures sans antigène).

# TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

Les activités sont exprimées en impulsions par minute (cpm) :

$$R = \frac{\text{cpm Ag}}{\text{cpm témoin}}$$

Les résultats nous sont transmis par le Laboratoire de Physique sous la forme suivante :

- 1) Le premier nombre correspond au numéro du flacon.
- 2) Le deuxième au temps de comptage.
- 3-4) Les troisième et quatrième au nombre d'impulsions émis sur les canaux A et B.
- 5) Le cinquième à la somme de ces impulsions.

|                 |         |   |
|-----------------|---------|---|
| P <sub>T</sub>  | 26      | 1 |
|                 | 40.00   | 2 |
|                 | 160.00  | 3 |
|                 | 145.92  | 4 |
|                 | 305.92  | 5 |
| P <sub>pn</sub> | 27      |   |
|                 | 40.00   |   |
|                 | 4152.54 |   |
|                 | 3700.46 |   |
|                 | 7853.00 |   |
| P <sub>p</sub>  | 28      |   |
|                 | 40.00   |   |
|                 | 3062.10 |   |
|                 | 2344.43 |   |
|                 | 5406.53 |   |
| P <sub>o</sub>  | 29      |   |
|                 | 20.51   |   |
|                 | 2052.91 |   |
|                 | 1930.60 |   |
|                 | 3983.51 |   |

Le TTL sera considéré comme positif lorsque le rapport sera au moins égal à 3.

$$R. \geq 3$$

## RÉSULTATS PROPREMENT DITS

101 TTL ont été réalisés à ce jour, par la méthode isotopique, et appliqués à :

- l'hypersensibilité médicamenteuse,
- l'hypersensibilité bactérienne,
- l'hypersensibilité aux piqûres d'hyménoptères,
- aux affections où l'on constate des modifications des réactions immunitaires cellulaires.

De nombreux allergènes ont ainsi été expertisés. Certains comme la pénicilline, l'aspirine, etc. ont déjà été « testés » par la méthode morphologique et leur concentration était connue ; d'autres, comme le Bayrena, la glafenine n'avaient jamais été étudiés, 2 à 3 concentrations médicamenteuses ont été nécessaires pour obtenir un résultat positif.

*Variations des cpm dans les cultures sans antigènes (témoins) :*

En méthode morphologique, la transformation blastique dans les cultures sans antigène varie entre 0 et 2 p. cent, lorsque le TTL est pratiqué loin de toute manifestation clinique.

En méthode isotopique, la désintégration isotopique des cultures sans antigène a varié entre 0 et 500 cpm dans 78 p. cent des cas (52 TTL sur 66 des 101 rapports dans cette étude).

|   |         |           |   |        |
|---|---------|-----------|---|--------|
| — | 0 à     | 100 cpm   | = | 7 cas  |
| — | 101 à   | 200 cpm   | = | 15 cas |
| — | 201 à   | 300 cpm   | = | 19 cas |
| — | 301 à   | 400 cpm   | = | 11 cas |
| — | 401 à   | 500 cpm   | = | 1 cas  |
| — | 601 à   | 700 cpm   | = | 4 cas  |
| — | 701 à   | 800 cpm   | = | 3 cas  |
| — | 801 à   | 900 cpm   | = | 3 cas  |
| — | 1 301 à | 1 400 cpm | = | 1 cas  |
| — | 2 501 à | 2 600 cpm | = | 1 cas  |
| — | 3 901 à | 4 000 cpm | = | 1 cas  |

## L'HYPERSENSIBILITÉ MÉDICAMENTEUSE.

*Les anti-infectieux.*

1) *Les antibiotiques :*

Chez les sujets ayant présenté des manifestations d'hypersensibilité aux antibiotiques, le TTL est positif :

- 4 fois à la Pénicilline G : les rapports ont varié entre 3,2 et 22.
- 1 fois à la céphaloridine (R = 3),  
streptomycine (R = 11),  
colimycine (R = 3,1),  
ampicilline (R = 10).

# TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

TABLEAU I

TTL, CHEZ SUJETS SENSIBILISÉS AUX ANTIBIOTIQUES :  
POSITIVITÉ D'UN OU DEUX ANTIBIOTIQUES

|                  | Cpm <sup>3</sup> H TMH. /RAPPORT   |                     |                                            |              |                                  |              |
|------------------|------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------|--------------|----------------------------------|--------------|
|                  | Auf...<br>Dermite<br>de<br>contact | Gro...<br>Urticaire | Ver...<br>Urticaire<br>Œdème de<br>Quincke | Col...       | Ner...<br>Œdème<br>de<br>Quincke | Coi...       |
| Sans antigène    | 920                                | 830                 | 109                                        | 185          | 66 444                           | 102          |
| Pénicilline G    | 3 250<br>/3,5                      | 2 700<br>/3,2       | 154<br>/1,5                                | 3 500<br>/18 | 9 927<br>/22                     | 1 684<br>/16 |
| Bipénicilline    | —                                  | —                   | —                                          | —            | 15 974<br>/230                   | —            |
| Céphaloridine    | 450<br>/< 1                        | 2 150<br>/2,6       | 300<br>/3                                  | —            | —                                | —            |
| Streptomycine    | 10 500<br>/11                      | 560<br>/< 1         | —                                          | —            | —                                | —            |
| Colimycine       | 1 380<br>/1,5                      | 2 620<br>/3,1       | —                                          | —            | —                                | —            |
| Benzathine P     | —                                  | —                   | 148<br>/1,4                                | —            | —                                | —            |
| Pénicilline G    | —                                  | —                   | —                                          | 236<br>/1,3  | —                                | —            |
| Rolitétracycline | —                                  | —                   | —                                          | 1 971<br>/10 | —                                | —            |
| Ampicilline      | —                                  | —                   | —                                          | —            | —                                | —            |

Il s'agit le plus souvent de malades ayant reçu plusieurs antibiotiques au moment de leur accident clinique. Le TTL permet de détecter le ou les antibiotiques responsables.

## Observations.

M<sup>me</sup> Auf..., infirmière, présente un eczéma des paupières et inter-digital, faisant suspecter une dermite de contact. Ces accidents surviennent après interruption de la profession pendant 15 ans et au bout de 18 mois de reprise.

Les produits manipulés le plus souvent ont été : streptomycine, Pénicilline G et Céporine. Les résultats du TTL confirment la clinique pour la streptomycine et la Pénicilline G.

Une injection de Bipénicilline déclenche chez Ner... un œdème de Quincke.

Un 1<sup>er</sup> TTL confirme la responsabilité de cet antigène (R = 230).

Un 2<sup>e</sup> TTL permet « d'accuser » la pénicilline (R = 22) et « d'innocenter » la procaine.

Chez les sujets présentant des manifestations d'hypersensibilité sans relation avec les antibiotiques : les rapports entre cpm Ag et témoin ont été inférieurs à 1 dans 12 cas et compris entre 1 et 1,7 dans 5 cas.

TABLEAU II

TTL CHEZ SUJETS-TÉMOINS N'AYANT PAS PRÉSENTÉ D'ACCIDENTS  
D'HYPERSENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES :

$$\text{Rapport } \frac{\text{Cpm Ag}}{\text{Cpm témoin}} \text{ inférieur à } 1$$

|                 | CPM <sup>3</sup> H TMH / RAPPORT |        |        |        |        |
|-----------------|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|
|                 | Hon...                           | Noe... | Bau... | Dab... | Tip... |
| Sans antigène   | 321                              | 671    | 118    | 289    | 527    |
| Pénicilline G   | 212                              | 277    | 107    | 210    | 238    |
|                 | < 1                              | < 1    | < 1    | < 1    | < 1    |
| Céphaloridine   | —                                | —      | —      | —      | 199    |
|                 |                                  |        |        |        | < 1    |
| Colimycine      | —                                | —      | —      | —      | 284    |
|                 |                                  |        |        |        | > 1    |
| Ampicilline     | —                                | —      | —      | 272    | —      |
|                 |                                  |        |        | < 1    |        |
| Oxytétracycline | 210                              | —      | —      | —      | —      |
|                 | < 1                              |        |        |        |        |

## 2) Les sulfamides :

### Observation.

Un TTL a été pratiqué pour Tra... M. Renée, admise en Clinique Médicale Infantile pour un syndrome de Lyell à la suite d'un traitement par sulfamide-retard : le Bayrena.

Trois concentrations médicamenteuses ont été utilisées.

— La dose de 5/1 000 mg a été infra-antigénique (R = 1).

— La dose de 5/100 mg a été suffisante pour déterminer la transformation blastique confirmant la responsabilité du médicament (R = 3,7).

— La dose de 5/10 mg entraîne une lyse partielle des lymphocytes (R = 1,8).

Ce TTL présente un double intérêt :

— en apportant, d'une part, la preuve de l'origine allergique (médicamenteuse dans ce cas) du syndrome de Lyell,

— et en montrant, d'autre part, l'importance de l'étude des concentrations antigéniques pour un antigène non encore expertisé.

### Les salicylés :

a) Pour apprécier la méthode isotopique il nous a semblé intéressant d'étudier les 4 premiers cas par les deux méthodes. Les résultats sont consignés dans les tableaux IV et V.

Les deux premiers sujets ont présenté des accidents d'hypersensibilité à l'aspirine.

# TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

TABLEAU III  
SYNDROME DE LYEIL  
ÉTUDE EN FONCTION DE LA  
CONCENTRATION ANTIGÉNIQUE :

5/1 000 mg = concentr. infra-antigénique  
5/ 100 mg = » optimale  
5/ 10 mg = » antigénique lysante

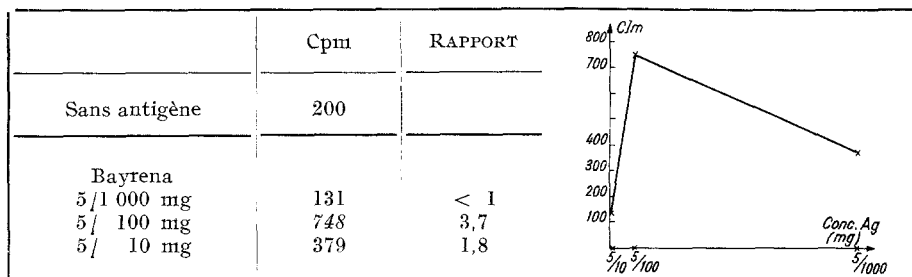


TABLEAU IV  
TTL CHEZ SUJETS AYANT PRÉSENTÉ DES ACCIDENTS D'HYPERSENSIBILITÉ A L'ASPIRINE :  
CONCORDANCE DES MÉTHODES MORPHOLOGIQUE ET ISOTOPIQUE

| NOM    | DIAGNOSTIC         |                        | MÉTHODE MORPHOLOGIQUE  | MÉTHODE ISOTOPIQUE |         |
|--------|--------------------|------------------------|------------------------|--------------------|---------|
|        |                    |                        | Pourcentage de blastes | Cpm                | RAPPORT |
| Ver... | Dermatose bulleuse | Sans antigène          | 0,1                    | 2 13               | 17      |
|        | Avec purpura       | Aspirine<br>50 µg/3 ml | 2,1                    | 4 229              |         |
| Amy... | Urticaire          | Sans antigène          | 1,2                    | 399                | 7       |
|        | Œdème de Quincke   | Aspirine<br>50 µg/3 ml | 2,9                    | 2 993              |         |

Pour Ver... ayant présenté une dermatose bulleuse avec purpura, les résultats du TTL par les deux méthodes sont parfaitement concordants : la transformation blastique dans les cultures avec l'aspirine a été 20 fois supérieure à celle des cultures sans antigène ; le rapport

$$R = \frac{\text{cpm aspirine}}{\text{cpm témoin}} = 17$$

Pour Amy..., la transformation blastique des cultures en présence d'aspirine n'a été que de deux fois et demie supérieure à celle des cultures sans antigène, alors que le nombre de cpm dans les cultures avec aspirine a été 7 fois supérieur à celui des cultures sans antigène.

TABLEAU V

TTL CHEZ SUJETS AYANT PRÉSENTÉ DES ACCIDENTS D'HYPERSENSIBILITÉ A L'ALGO-NÉVRITON :  
NÉGATIVITÉ DU TTL A L'ASPIRINE CONTRÔLÉE PAR LES DEUX MÉTHODES

| NOM    | DIAGNOSTIC       |                          | MÉTHODE MORPHOLOGIQUE  | MÉTHODE ISOTOPIQUE |         |
|--------|------------------|--------------------------|------------------------|--------------------|---------|
|        |                  |                          | Pourcentage de blastes | Cpm                | RAPPORT |
| Scu... | Urticaire        | Sans antigène            | 0,6                    | 81                 | # 1,2   |
|        | Œdème de Quincke | Aspirine<br>50 µg / 3 ml | 1                      | 104                |         |
| Coi... | Céphalées        | Sans antigène            | 0,5                    | 103                | # 1,3   |
|        | Œdème de Quincke | Aspirine<br>50 µg / 3 ml | 0,2                    | 67                 |         |

TABLEAU VI

TTL CHEZ SUJETS AYANT PRÉSENTÉ DES ACCIDENTS D'HYPERSENSIBILITÉ A L'ALGO-NÉVRITON :  
POSITIVITÉ DU TTL A L'ALGO-NÉVRITON  
ET VIT. B1 POUR SCU..., A L'ALGO-NÉVRITON POUR COI...

| NOM    | DIAGNOSTIC       | MÉTHODE ISOTOPIQUE cpm |              |         |          |         | TEST D'INGESTION   |
|--------|------------------|------------------------|--------------|---------|----------|---------|--------------------|
|        |                  | Sans antigène          | Algo-névrion | Névrion | Aspirine | Vit. B1 |                    |
| Scu... | Urticaire        | 850                    | 5 800        | 571     | 615      | 2 742   | Aspirine = négatif |
|        | Œdème de Quincke |                        | R = 7        | R < 1   | R < 1    | R 3+    |                    |
| Coi... | Céphalées        | 720                    | 30 320       | 630     |          | 600     | Aspirine = négatif |
|        | Œdème de Quincke |                        | R = 42+      | R < 1   |          | R < 1   | Névrion = négatif  |

TABLEAU VII

TTL CHEZ SUJETS SENSIBILISÉS AUX SALICYLÉS :  
POSITIVITÉ DU TTL A L'ASPIRINE POUR UN RAPPORT VARIANT ENTRE 3 ET 17  
INTÉRÊT DE L'ÉTUDE DE LA CONCENTRATION ANTIGÉNIQUE

|                     | cpm <sup>3</sup> H TMH. /RAPPORT |           |                   |                                  |                        |                                  |
|---------------------|----------------------------------|-----------|-------------------|----------------------------------|------------------------|----------------------------------|
|                     | Har...                           | Gui...    | Ver...            | Amy...                           | Thi...                 | Cou...                           |
|                     | Urticaire<br>Œdème<br>de Quincke | Urticaire | D.B.<br>+ purpura | Urticaire<br>Œdème<br>de Quincke | Éruption<br>scarlatine | Urticaire<br>Œdème<br>de Quincke |
| Sans antigène       | 42                               | 70        | 243               | 399                              | 256                    | 36                               |
| Aspirine            | 225<br>/5                        | 208<br>/3 | 4 229<br>/17      | 2 993<br>/7                      | —                      | 76                               |
| Phénacétine         | —                                | —         | —                 | —                                | 4 671<br>/18           | —                                |
| Glafénine<br>200 µg | —                                | —         | —                 | —                                | —                      | 158<br>/4,5                      |
| 20 µg               | —                                | —         | —                 | —                                | —                      | 672<br>/18                       |

Les deux autres malades ont présenté des accidents d'hypersensibilité à l'Algo-Nevriton (aspirine + Nevriton). N'ayant pas assez de plasma et désirant contrôler la méthode morphologique par la méthode isotopique, nous avons pensé que les accidents relevaient de l'aspirine.

Dans ces deux cas encore, la méthode morphologique a été concordante avec la méthode isotopique : la transformation blastique dans les cultures de lymphocytes avec et sans antigène a été inférieure ou égale à 1 et correspondante aux nombre de cpm.

Un deuxième TTL a été effectué, par méthode isotopique seulement, pour chacune de ces deux malades. La responsabilité de l'Algo-Nevriton

cpm Algo-Nevriton  
( $R = \frac{\text{cpm}}{\text{cpm témoin}} = 7$ ) a pu être ainsi établie : la sensibilisation à ce

médicament était liée à la Vitamine B<sub>1</sub> ( $R = 3^+$ ) pour M<sup>me</sup> Scu... et à l'association d'aspirine et Nevriton pour M<sup>lle</sup> Coi... ( $R = 42$ ).

Ces résultats sont confirmés par les tests d'ingestion : aucune manifestation clinique n'a été notée dans les heures et jours qui ont suivi.

b) Chez les autres sujets ayant présenté des accidents d'hypersensibilité :

— à l'aspirine : les rapports ont varié entre 3 et 17 ;

— à la phénacétine : un seul TTL positif avec rapport = 18 ;  
 — à la glafénine : le TTL a été positif à la concentration médicamenteuse de 20  $\mu$ g ( $R = 18$ ).

c) Chez sujets témoins n'ayant pas présenté d'accidents aux salicylés, deux antigènes ont été expertisés : aspirine et Pyramidon : les rapports  $\frac{\text{cpm Ag}}{\text{cpm témoin}}$  sont restés inférieurs à 1,3.

TABLEAU VIII  
 TTL CHEZ TÉMOINS N'AYANT PAS PRÉSENTÉ  
 DES ACCIDENTS D'HYPERSENSIBILITÉ AUX SALICYLÉS :  
 RAPPORT INFÉRIEUR A 1,7

|        | Cpm $^3\text{H}$ TMH |          |           |
|--------|----------------------|----------|-----------|
|        | Sans antigène        | Aspirine | Pyramidon |
| Dub... | 215                  | 261      | 181       |
| Ign... | 136                  | 90       | 197       |
| Lai... | 237                  | 231      | —         |
| Coi... | 102                  | 122      | —         |
| Rou... | 80                   | 98       | —         |
| Sau... | 285                  | 148      | —         |
| Men... | 601                  | 805      | —         |
| Cha... | 847                  | 1 033    | 197       |
| Wia... | 690                  | 790      | —         |

#### HYPERSENSIBILITÉ BACTÉRIENNE.

a) 7 sujets ont présenté des accidents relevant d'une hypersensibilité streptococcique. Leurs cultures de lymphocytes ont été mises en présence de protéine M.

Le TTL a confirmé le diagnostic clinique dans 6 cas : les rapports  $\frac{\text{cpm prot. M}}{\text{cpm témoin}}$  ont varié entre 3 et 32, concordant avec la positivité des intradermo-réactions au streptocoque hémolytique A.

M<sup>me</sup> Bra... présente un syndrome œdémateux généralisé par hypersensibilité au streptocoque hémolytique A. Le diagnostic a été basé sur les éléments suivants :

- positivité de l'IDR au streptocoque A à 20 000 germes/ml ;
- réaction syndromique reproductible ;
- deux bilans rénaux normaux.

Le rapport  $\frac{\text{cpm P. M}}{\text{cpm témoin}} = 17$  est très élevé. Il n'était plus que de 0,7

## TEST DE TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

lorsqu'aux cultures de lymphocytes en présence de protéine M on a rajouté 250 µg de TAO.

Le TAO a donc entraîné une inhibition de la transformation blastique des cultures de lymphocytes en présence de protéine M.

Des résultats identiques à celui-ci nous permettent de penser que le TAO est un antibiotique doué d'une activité immunodépressive.

Pour la 7<sup>e</sup> malade, le résultat du TTL est discordant :

M<sup>me</sup> Les... présente une iridocyclite avec arthrite streptococcique.

L'IDR au streptocoque A à 20 000 germes/ml est fortement positive.

La désensibilisation entraîne des réactions syndromiques jusqu'à une dose de 10 germes/ml.

Les multiples injections ont-elle déterminé une tolérance immunitaire ? Ce qui expliquerait la négativité du TTL.

b) Deux autres TTL à la protéine M ont été réalisés chez :

Sau..., âgé de 2 ans 1/2, non testé au streptocoque A en raison de son jeune âge, présente un purpura. Une origine infectieuse avait été soulevée. Elle a été infirmée par le TTL.

Cou..., le rapport  $\frac{\text{cpm prot. M}}{\text{cpm témoin}} <$  est concordant avec la négativité de

l'IDR au streptocoque A.

TABLEAU IX  
ŒDÈME DE QUINCKE PAR HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE  
AU STREPTOCOQUE HÉMOLYTIQUE A :  
IMMUNODÉPRESSION DU TAO

| NOM    | DIAGNOSTIC          |                       | Cpm   | RAPPORT |
|--------|---------------------|-----------------------|-------|---------|
| Bra... | Œdème<br>de Quincke | Sans antigène         | 200   | 17      |
|        |                     | Protéine M<br>(18 µg) | 3 400 |         |
|        |                     | Protéine M<br>+ TAO   | 120   | 0,7     |

## HYPERSENSIBILITÉ AUX HYMÉNOPTÈRES.

Le TTL a permis de démontrer l'origine allergique des accidents liés aux piqûres d'hyménoptères et de détecter avec précision le ou les antigènes responsables.

Les trois sujets expertisés ont présenté un accident anaphylactique gravissime après piqûres d'hyménoptères. Il n'avait pas été possible de faire préciser à l'interrogatoire l'insecte responsable.

TABLEAU X

TTL A LA PROTÉINE M CHEZ SUJETS SENSIBILISÉS AU STREPTOCOQUE A ET TÉMOINS  
POSITIVITÉ DU TTL A LA PROTÉINE M POUR UN RAPPORT VARIANT ENTRE 3 ET 32

| NOM    | DIAGNOSTIC              | cpm <sup>3</sup> H TMH. /RAPPORT |                     |                           |
|--------|-------------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------------|
|        |                         | Sans antigène                    | Protéine M<br>18 µg | IDR Strepto A<br>Germs/ml |
| Pit... | Rhumatisme              | 158                              | 5 147<br>/32        | 200 000 +                 |
| Gau... | Iridocyclite            | 380                              | 25 644<br>/7        | 20 M +++                  |
| Thi... | Purpura rhumatoïde      | 3 991                            | 33 416<br>/8        | 20 000 +                  |
| Ack... | Collagénose ??          | 312                              | 1 490<br>/4,9       | 20 000 +++                |
| Bra... | Oedème                  | 200                              | 3 400<br>/17        | 20 000 +++                |
| Poi... | Purpura rhumatoïde      | 688                              | 2 060<br>/3         | 20 000 +++                |
| Les... | Arthrite + iridocyclite | 2 530                            | 4 437<br>/1,7       | 20 000 +++                |
| Sau... | Purpura infectieux      | 285                              | 179<br>/< 1         | Non fait                  |
| Cou... | Témoin                  | 362                              | 316<br>/< 1         | 20 000 —                  |

TABLEAU XI

TTL CHEZ SUJETS AYANT PRÉSENTÉ DES ACCIDENTS ANAPHYLACTIQUES  
AUX PIQURES D'HYMÉNOPTÈRES : POSITIVITÉ DU TTL SPÉCIFIQUE DE L'INSECTE PIQUEUR

|                                    | cpm <sup>3</sup> H TMH. /RAPPORT |               |              |
|------------------------------------|----------------------------------|---------------|--------------|
|                                    | Cha...                           | Oge...        | Que...       |
| Sans antigène                      | 220                              | 785           | 298          |
| Extraits totaux de guêpes          | 2 957<br>/13                     | 487<br>/< 1   | 3 375<br>/11 |
| Extraits totaux d'abeilles         | —                                | 4 056<br>/5,1 | 335<br>/1,1  |
| Extraits totaux guêpes et abeilles | —                                | 4 294<br>/5,4 | 2 066<br>/7  |
| Pollens graminées 1 /1 000         | —                                | 560<br>/< 1   | —            |

Grâce aux TTL pratiqués en présence d'extraits totaux de guêpes — abeilles, guêpes + abeilles et pollens de graminées, on peut affirmer la responsabilité des guêpes chez Cha... et Que... ( $R = 13$  et  $11$ ), des abeilles chez Oge... ( $R = 5,1$ ).

Les pollens de graminées n'ont pu être expertisés qu'une fois. Leur responsabilité a été évoquée à l'origine des accidents liés aux piqûres d'hyménoptères. Cette hypothèse n'a pas été confirmée.

#### AFFECTIONS S'ACCOMPAGNANT D'UNE PERTURBATION DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE.

Dans ces affections, le TTL peut donner des renseignements utiles concernant l'immunité cellulaire que l'on peut apprécier en mettant les cultures de lymphocytes des sujets en présence de tuberculine 6 U et de phytohémagglutinine à plusieurs concentrations : 0,1 - 0,2 - 0,4 mg.

Lorsque l'immunité cellulaire est normale, nous avons constaté que le rapport

|                 |                                         |             |
|-----------------|-----------------------------------------|-------------|
| tuberculine cpm |                                         | cpm PHA 0,4 |
|                 | varie entre 4,5 et 32 et que le rapport |             |
| cpm témoin      |                                         | cpm témoin  |

variait entre 67 et 445.

Bou... Fabienne, âgée de 12 mois, présente une tumeur médiastinale. Son origine thymique est évoquée.

Le TTL est en faveur de cette hypothèse.

On constate l'absence d'immunité cellulaire à la tuberculine (immunité peut-être pas encore acquise par l'enfant), mais surtout l'absence de réactivité lymphocytaire à la PHA.

Ces résultats sont identiques à ceux observés dans la lymphophtisie.

Ack... avait été adressé dans le service pour syndrome infectieux récidivant.

Le bilan avait montré une ID réaction au streptocoque A fortement positive, une protéinurie, un test d'Addis perturbé, et la sérologie a révélé des réactions dissociées :

- réaction de Kline fortement positive ;
- immunofluorescence, réactions d'hémolyse (Kolmer), test de Nelson = négatifs.

On s'oriente vers une collagénose.

La recherche des cellules de Hargraves et d'anticorps anti-nucléaires par immunofluorescence est négative.

Le TTL révèle :

- une sensibilisation à la protéine M ;
- une immunité cellulaire à la tuberculine normale, ainsi qu'une réactivité lymphocytaire à la PHA ;
- la présence d'anticorps anti-ADN.

ADN  
(cpm  $\frac{\text{témoin}}{\text{témoin}} = 49$ ). Il s'agit probablement d'anticorps de faible affinité, non détectables par l'immunofluorescence.

Le TTL représente une méthode plus sensible dans toutes ces affections où le diagnostic semble difficile à établir par les techniques sérologiques habituelles. Ce fut également le cas de :

M. Bou... Jacques présentant une leucémie lymphoïde chronique associée à une maladie de Hodgkin.

TABLEAU XII

ÉTUDE PAR LE TTL DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE A LA TUBERCULINE ET A LA PHA : ÉTUDE DES VARIATIONS DES RAPPORTS DES CULTURES DE LYMPHOCYTES EN PRÉSENCE DE PHA ET DE TUBERCULINE DANS DIVERSES AFFECTIONS FAISANT ENTRER EN JEU DES PROCESSUS IMMUNITAIRES.

|                           | Pea...          | Bou...      | Med...        | Gau...        | Pet...                  | Cha...         | Ack...                  | Dur...                |
|---------------------------|-----------------|-------------|---------------|---------------|-------------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|
|                           | Pemphigus       | T. Thymique | SEP           | Iridocyclite  | Lymphocytose médullaire | Mélanosarcome  | Collagénose             | Déf. Immunit. humoral |
| Sans antigène Tuberculine | 231             | 1 350       | 387           | 380           | 118                     | 122            | 312                     | 137                   |
| 6 U                       | 7 467<br>/32    | 819<br>/< 1 | 220<br>/< 1   | 3 569<br>/9,4 | 140<br>/1,1             | 989<br>/8      | 2 907<br>/9,2           | 615<br>/4,5           |
| PHA                       |                 |             |               |               |                         |                |                         |                       |
| 0,1                       | 415<br>/1,7     | —           | 3 669<br>/9,5 | —             | 1 032<br>/9             | —              | A.D.N.<br>15 337<br>/49 | —                     |
| 0,2                       | 35 551<br>/154  | —           | 29 082<br>/75 | 13 812<br>/36 | 13 320<br>/112          | 3 697<br>/30   | 30 370<br>/97           | 10 739<br>/78         |
| 0,4                       | 102 784<br>/445 | 9 432<br>/7 | 33 542<br>/87 | 25 583<br>/67 | 21 920<br>/185          | 35 054<br>/287 | 79 615<br>/255          | 17 864<br>/130        |

TABLEAU XIII

BOU... JACQUES, LEUCÉMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE ASSOCIÉE A UNE MALADIE DE HODGKIN : EFFONDREMENT DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE A LA TUBERCULINE ET A LA PHA

| NOMBRE<br>DE JOURS<br>DE CULTURES | cpm <sup>3</sup> H TMH. /RAPPORT |                |                |                 |
|-----------------------------------|----------------------------------|----------------|----------------|-----------------|
|                                   | Sans antigène                    | PHA            |                | Tuberculine 6 U |
|                                   |                                  | 0,2            | 0,4            |                 |
| 4 <sup>e</sup> jour               | 233                              | 2 640<br>/≠ 10 | 9 019<br>/≠ 39 | 126<br>/< 1     |
| 6 <sup>e</sup> jour               | 223                              | 420<br>/< 2    | 493<br>/> 2    | 264<br>/≠ 1     |
| 8 <sup>e</sup> jour               | 361                              | 148<br>/< 1    | 317<br>/< 1    | 129<br>/< 1     |

Les cultures de lymphocytes mises en présence de PHA et tuberculine sont étudiées aux 4<sup>e</sup>, 6<sup>e</sup> et 8<sup>e</sup> jours.

Dès le 4<sup>e</sup> jour, on constate l'absence d'immunité cellulaire à la tuberculine et une faible réactivité lymphocytaire à la PHA.

Aux 6<sup>e</sup> et 8<sup>e</sup> jours, la réactivité lymphocytaire à la tuberculine est toujours nulle ; elle s'effondre pour la PHA.

## DISCUSSIONS

Elles concernent :

1) Le bruit de fond (fluorescence émise par les constituants du milieu sans la thymidine tritiée), vérifié plusieurs fois, était faible : 10,5 à 20 cpm.

2) Les résultats des cultures sans antigène exprimés en impulsions par minute (cpm) ; les variations observées sont fonction :

— d'une part de la solution de thymidine tritiée qui devrait être d'1 microcurie par ml, or le département des isotopes (CEA) fournit une solution plus ou moins concentrée,

— d'autre part, du Quenching (absorption de photons émis par les constituants du milieu) qui doit être identique pour tous les flacons contenant les cultures sans antigène.

3) Les résultats des cultures de lymphocytes en présence d'antigènes sensibilisants : comme nous l'avons remarqué dans certaines observations, les rapports ont parfois été élevés (17, 42, etc.) ; ces constatations confirment ce que nous avons déjà observé dans la méthode morphologique, à savoir un pourcentage de blastes très élevé dans les cultures de lymphocytes en présence d'un antigène sensibilisant [5].

## CONCLUSIONS

L'incorporation de thymidine tritiée dans les cultures de lymphocytes permet une interprétation plus précise et plus rapide du TTL. Les résultats expriment une croissance cellulaire.

101 TTL ont fait l'objet de cette étude. Les résultats sont exprimés sous forme d'un rapport :

$$R = \frac{\text{cpm Ag}}{\text{cpm témoin}}$$

Cette méthode isotopique a été appliquée à :

— l'hypersensibilité médicamenteuse : le TTL permet de détecter le ou les antigènes responsables ;

— l'hypersensibilité bactérienne : un cas de discordance chez une malade sensibilisée au streptocoque A et dont le TTL à la protéine M était négatif ;

— l'hypersensibilité aux hyménoptères ; là encore le TTL permet de déceler l'antigène responsable ;

— aux affections avec perturbations de l'immunité cellulaire : les lymphocytes de ces sujets ont été « testés » à la tuberculine et à la PHA. Nous avons pu ainsi constater l'effondrement de l'immunité cellulaire chez un sujet atteint d'une maladie de Hodgkin associée à une leucémie lymphoïde chronique, et, démontrer la présence d'anticorps anti-ADN chez une malade suspecte d'une collagénose.

[Service d'Allergologie (Pr E. MÉNARD),  
C.H.U., 49-Angers].

## RÉSUMÉ

La méthode isotopique permet l'interprétation plus précise du Test de Transformation Lymphoblastique (TTL).

Les résultats expriment une croissance cellulaire, sous forme du rapport R du nombre d'impulsions par minute de l'antigène à celui des impulsions des cultures sans antigène (témoin).

101 TTL ont été interprétés par cette méthode.

Dans l'hypersensibilité médicamenteuse, le TTL permet de détecter le ou les antigènes responsables.

Dans l'hypersensibilité au streptocoque hémolytique, on a relevé une concordance dans 7 cas sur 8 entre les tests cutanés et le TTL, à la protéine.

Dans l'hypersensibilité aux hyménoptères, lorsque l'interrogatoire est insuffisant à révéler l'insecte piqueur, le TTL a permis de déceler l'antigène responsable.

Enfin, dans les affections qui s'accompagnent d'une perturbation de l'immunité cellulaire : on note un effondrement de la réponse des lymphocytes en présence de phytohématagglutinine (PHA) et de Tuberculine. Ce fut le cas d'un malade atteint de maladie de Hodgkin associée à une leucémie lymphoïde chronique.

Le TTL, a encore permis de démontrer la présence d'anticorps anti-nucléaires chez une malade suspecte de collagénose.

## SUMMARY

### BLAST TRANSFORMATION TEST APPLIED TO THE DIAGNOSIS OF HYPERSENSITIVITY TO DRUG AND BACTERIAL AGENTS AN ISOTOPIC AND MORPHOLOGICAL INTERPRETATION

The blast transformation test can be interpreted more accurately using the isotope method.

Results are expressing cellular growth as the relation R of the number of per minute impulses of the antigen to the number of impulses of cultures free of antigen (control).

One hundred and one blast transformation test have been interpreted with this method.

In hypersensitivity to drugs, the responsible antigen or antigens can be detected with the blast transformation test.

In hypersensitivity to *Streptococcus haemolyticus*, skin tests and the blast transformation test to protein M correlated in 7 out of 8 cases.

In hypersensitivity to Hymenoptera, the responsible antigen could be detected with the blast transformation test whenever patient's interview failed to reveal the causative insect.

Finally, in diseases presenting with modified cell immunity, a spectacular fall in the response of lymphocytes to phytohaemagglutinin and tuberculin was noted. Such was the case in a patient with Hodgkin's disease associated with chronic lymphocytic leukemia.

Also, the presence of nuclear antibodies could be demonstrated with the blast transformation test in a female patient with suspected collagenosis.

BIBLIOGRAPHIE

1. SABBAAH A., MÉNARD E. — Allergie médicamenteuse et test de transformation lymphoblastique. *Arch. méd. Angers*, 1968, 69, 61-76.
2. SABBAAH A., MÉNARD E. — Allergie médicamenteuse : apport récent du test de transformation lymphoblastique dans son diagnostic. *Ouest méd.*, 1968, 10, 831-841.
3. SABBAAH A. — Vaccinations chez les allergiques et test de transformation lymphoblastique. Mémoire du C.E.S. d'Hygiène d'Action Sanitaire et Sociale, 24-25-9-1968.
4. SABBAAH A., MÉNARD E. — Diagnostic de l'allergie médicamenteuse. *Concours méd.*, 1968, 90, 8543-8549.
5. SABBAAH A., MÉNARD E. — Allergie aux hormones génitales et test de transformation lymphoblastique. *Rev. franç. Gynec.*, 1969, 64, 17-20.
6. SABBAAH A., MÉNARD E. — Détection des accidents d'hypersensibilité et contrôle de la vaccination anti-poliomyélitique buccale par test de transformation lymphoblastique. *Immex*, 1969, p. 347-353.
7. SABBAAH A., MÉNARD E., KNOEPFLER P. J. — Diagnostic et prophylaxie des accidents. aux produits iodés de contraste. *Soc. Méd., Angers*, 5 mars 1969.
8. SABBAAH A., MÉNARD E., BRIAND M., DUGUET F., LEROUX M. F. — Immunodépresseurs et test de transformation lymphoblastique. *VIII<sup>e</sup> Journées Provinciales de la Société d'Allergie*, Nancy 9, 10 et 11-5-1969.
9. SABBAAH A., MÉNARD E., KNOEPFLER P. J. — Dépistage de l'hypersensibilité éventuelle aux produits iodés de contraste et mesures prophylactiques. *Ann. Radiol.*, 1969, 12, 875-888.
10. SABBAAH A., MÉNARD E., PAGET L. — Cultures de lymphocytes avec incorporation de thymidine tritiée appliquées au diagnostic de l'hypersensibilité médicamenteuse et bactérienne. *Arch. méd. Ouest*, 1971, 3, 481-486.