

ÉTAT ACTUEL DE LA SIGNIFICATION DU TEST-FENÊTRE DANS LES DIFFÉRENTS SYSTÈMES ALLERGÉNIQUES

Par

Th. DIKEAKOU et P. GERVAIS

(*Paris*)

PRINCIPES ET HISTORIQUE DU TEST-FENÊTRE

Le test-fenêtre (T.F.) est une méthode biologique développée par REBUCK et CROWLEY et appliquée à l'étude de l'inflammation.

Elle consiste en l'étude de l'exsudat cellulaire déposé sur une lamelle stérile appliquée sur une surface d'à peu près 4 mm de côté de la peau dont l'épiderme superficiel est enlevé au préalable par une légère abrasion.

L'étude cellulaire précise la nature, la morphologie, les altérations et l'évolution dans le temps des cellules inflammatoires, dans les conditions physiologiques et pathologiques.

Le T. F. est une méthode qui a donné, dans les mains des différents chercheurs, de nombreuses informations sur l'inflammation.

En allergie, le T. F. est considéré comme un moyen de révéler l'existence d'une réaction allergique et son type après l'application d'un antigène donné.

ZOLOVE et LÉVINE, tout récemment [23], ont prouvé qu'une éosinophilie sanguine n'existe chez les malades allergiques à la Pénicilline que lorsqu'il existe des anticorps sensibilisant la peau. Les IgG et IgM ne provoquent pas d'éosinophilie.

Différents chercheurs comme ARCHER [1, 2, 3], COLE [5], EIDINGER [8], FOWLER et LOWELL [9], FEINBERG A. R. et FEINBERG S. M. ont montré qu'une réaction allergique réaginique envers un antigène (Ag) fait apparaître une éosinophilie élevée par comparaison avec le T. F. témoin réalisé avec du sérum physiologique.

WOLF-JURGENSEN, d'autre part, a montré par ses travaux sur la dermite de contact et la réaction tuberculinique que, dans la réaction retardée, des polynucléaires basophiles apparaissent sur les lames [20, 21].

Des chercheurs ont essayé d'expliquer ces phénomènes et les travaux

d'ARCHER [2], COHEN [7] et collaborateurs, LITT [16] ont prouvé que l'éosinophilie est la conséquence de la présence d'un complexe antigène-anticorps, potentialisée par l'histamine ; l'éosinophilie a comme résultat l'élimination de ce complexe et participe ainsi à la reconstitution de l'intégrité tissulaire.

En ce qui concerne la réponse à polynucléaires basophiles, WOLF-JURGENSEN n'a pas précisé son rôle dans la réaction allergique ; il est possible que leur présence témoigne du fait que ces cellules ne sont pas détruites en l'absence d'anticorps réaginisants dont on admet qu'ils permettent la dégranulation des basophiles.

BUTS DE CETTE ÉTUDE

La question actuelle concernant le T.F. en allergologie est celle de sa spécificité et de sa valeur diagnostique.

Les points que nous avons voulu étudier sont :

- 1) La spécificité du T.F. dans les différents systèmes allergéniques.
- 2) L'importance de la dilution, de la nature chimique et de l'antigénicité de l'antigène employé.
- 3) L'heure la plus appropriée pour la lecture.
- 4) La signification de la vacuolisation des éosinophiles observée dans certaines préparations.

TECHNIQUE ET MATÉRIEL

PATIENTS.

Nous avons pratiqué 116 tests-fenêtre sur 86 malades adultes, des deux sexes, la plupart présentant des manifestations allergiques.

Ces patients avaient presque tous une réactivité cutanée polyvalente à l'exploration allergique classique par intradermo-réactions.

L'antigène employé pour le T.F. avait donné préalablement une intradermo-réaction positive sauf dans les cas d'allergie médicamenteuse où seules les données de l'interrogatoire avaient indiqué la substance à tester par le T.F.

TECHNIQUE.

Nous avons amélioré la méthode en employant un appareil de dermabrasion qui donne une abrasion lisse et de la même profondeur sur toute la surface.

L'exsudat obtenu est riche et homogène ; nous comptons au moins 300 cellules et dans certains cas, jusqu'à 1 000 cellules.

Les lamelles sont prélevées toutes les 2, 4, 6, 24 et 48 heures.

Les antigènes employés sont les graminées, la poussière de maison, la candidine, les moisissures atmosphériques et divers médicaments. Ces antigènes sont de nature chimique et d'antigénicité différentes formant 3 grands groupes d'après ces qualités :

Groupe I : Antigènes purement protidiques et de grande antigénicité : graminées.

Groupe II : Antigènes protéiques complexes : pour une grande partie polysaccharidique, pour une petite partie protidique :

- a) Poussière.
- b) Candidine.
- c) Moisissure.
- d) Divers.

Groupe III : Antigènes hapténiques : Médicaments.

INTERPRÉTATION.

Un test-fenêtre est considéré comme positif si l'éosinophilie est supérieure de 3 p. cent à celle du témoin compte tenu qu'une éosinophilie sanguine jusqu'à 3 p. cent est considérée comme normale.

L'éosinophilie sanguine a été le plus souvent déterminée. Pourtant, ce contrôle ne nous paraît pas indispensable car, si le grattage est bien effectué, il n'arrive pas de sang à la surface des téguments.

RÉSULTATS

L'éosinophilie en fonction de l'antigène et du test cutané.

Groupe I :

Graminées :

Ce groupe contenait 10 malades souffrant d'asthme ou/et de rhinite avec une intradermo-réaction positive aux pollens de graminées. Tous ces malades ont présenté une éosinophilie tissulaire au T. F. allant de 4 à 40 p. cent.

Comme témoins du groupe nous avons considéré une malade qui avait une intradermo-réaction douteuse et qui avait 2 p. cent d'éosinophilie au T. F. (c'est-à-dire un T. F. douteux) et une malade qui avait eu une désensibilisation d'après la méthode de quadrillage 48 h avant le test et qui a présenté 0 p. cent d'éosinophilie au T. F.

La deuxième malade peut être considérée comme la démonstration de l'existence d'une période réfractaire après une réaction de type immédiat. Les concentrations employées ont été 10 à 100 fois supérieures à celle qui avait donné une intradermo-réaction positive.

Groupe II :

a) *Poussière de maison :*

26 tests-fenêtres ont été pratiqués chez 22 malades ; 11 T. F. chez 10 malades ont montré une éosinophilie tissulaire qui allait de 6 à 42 p. cent. Les dilutions employées pour le T. F. ont été de 1/50, 1/500, 1/5 000.

Une malade avec intradermo-réaction positive à 1/5 000 avait donné un T. F. négatif et a été considérée comme le témoin de ce groupe.

Les 11 T. F. avec éosinophilie se répartissent de la façon suivante ; parmi les malades :

- 4 T. F. sur 6 malades avec une I. D. positive à $1/5\ 000\ 000$,
- 3 T. F. sur 7 malades avec une I. D. positive à $1/500\ 000$,
- 4 T. F. sur 8 malades avec une I. D. positive à $1/50\ 000$.

b) *Candidine* :

18 T. F. ont été réalisés chez 11 malades.

8 T. F. sur 5 malades ont montré une éosinophilie tissulaire entre 4 et 13 p. cent. Les dilutions employées ont été $1/100$, $1/1\ 000$, $1/10\ 000$. Les T. F. avec éosinophilie se répartissent de la façon suivante parmi les malades :

- 2 T. F. positifs sur 2 malades avec I. D. positive à $1/100\ 000$,
- 1 T. F. positif sur 5 malades avec I. D. positive à $1/10\ 000$,
- 2 T. F. positifs sur 4 malades avec I. D. positive à $1/1\ 000$.

Malheureusement une échelle n'a pas été faite chez les malades avec I. D. réaction positive à $1/10\ 000$ ou $1/1\ 000$ pour connaître le degré de la sensibilité du malade.

c) *Moisissures* :

Sur 14 malades, 29 T. F. ont été effectués et seuls 3 malades ont présenté 4 T. F. avec éosinophilie tissulaire de 3 à 50 p. cent. Trois malades parmi ceux qui n'ont pas montré d'éosinophilie étaient sous corticothérapie.

Les dilutions employées ont été de $1/100$ pour les I. D. réactions sur tous les malades et de $1/10$, $1/100$, $1/1\ 000$ pour les T. F. réalisés avec les mélanges de moisissures des groupes 1, 2, 3 ou 4 de l'Institut Pasteur en fonction du mélange responsable d'une I. D. réaction positive.

Groupe III :

Médicaments :

Sur 23 malades, 26 T. F. ont été effectués et seuls les 7 T. F. ont présenté une éosinophilie de 4 à 33 p. cent. Les concentrations employées ont été celles de la solution injectable du médicament testé.

ROLE DE L'ANTIGÈNE

Ainsi sur 86 malades, 116 T. F. ont été effectués dont 45 ont montré une éosinophilie tissulaire élevée (4-50 p. cent) envers un antigène, par rapport au test-témoin réalisé avec du sérum physiologique.

Dans certains cas, cette éosinophilie a été accompagnée d'une présence de polynucléaires basophiles.

Ces T. F. avec éosinophilie se répartissent différemment dans les trois grands groupes formés d'après la nature chimique et l'antigénicité de la substance étudiée comme en témoigne le tableau I.

SIGNIFICATION DU TEST-FENÊTRE

TABLEAU I
FRÉQUENCE DES TESTS-FENÊTRE POSITIFS SELON L'ALLERGÈNE

<i>Groupe I</i> : Graminées	— 10 T.F. positifs sur 10 T.F. effectués (100 %)
<i>Groupe II</i> : Poussière	— 11 T.F. » sur 26 T.F. » (44 %)
Candidine	— 8 T.F. » sur 18 T.F. » (44,7 %)
Moisissure	— 4 T.F. » sur 29 T.F. » (13,7 %)
Divers Ag.	— 5 T.F. » sur 5 T.F. » (100 %)
<i>Groupe III</i> : Médicaments	— 7 T.F. » sur 26 T.F. » (29,2 %)

ROLE DE LA CONCENTRATION

La concentration employée pour les différents antigènes doit être importante pour que l'éosinophilie tissulaire apparaisse. Nous avons employé, quand il était possible, 2 à 3 dilutions du même Ag sur le même malade et nous avons pu constater que les dilutions convenables sont pour la poussière de 1/50 ou 1/500, pour la candidine de 1/1 000 ou 1/10 000 et pour les moisissures : de 1/100.

En ce qui concerne les graminées, la concentration doit être 100 fois plus élevée que celle du seuil en intradermo-réaction. Pour les médicaments, il nous paraît logique de tester à la dilution thérapeutique des composés injectables.

CORRÉLATION AVEC LA CLINIQUE ET LES TESTS

Les manifestations cliniques des malades qui ont présenté une éosinophilie tissulaire sont du type immédiat : asthme, rhinite, urticaire, œdème de Quincke, toux spasmodique, c'est-à-dire caractérisées par la présence d'anticorps réaginique circulants, même dans le groupe des médicaments.

Il apparaît que la fréquence de l'apparition de l'éosinophilie tissulaire dépend de la sensibilité du malade et par conséquent du titre d'anticorps réaginique ; ce fait met en question la spécificité des intradermo-réactions positives pour les antigènes non polliniques fortement concentrés.

Pour établir une hypothèse de travail on peut remarquer que les T.F. sont toujours positifs de façon parallèle aux réactions cutanées classiques dans l'allergie aux pollens avec manifestations cliniques et sont par contre souvent dissociés dans l'allergie aux poussières, à la candidine et aux moisissures. On sait en fait que dans ces cas, les tests positifs aux dilutions concentrées n'ont pas de valeur constante, ce qui correspond à la négativité dans ces cas des T.F.

ÉVOLUTION HORAIRE

L'étude statistique a montré que les médians de l'éosinophilie tissulaire sont de l'ordre de 8 à 13 p. cent ; la proportion des éosinophilies ne présente pas un profil spécifique par rapport à l'heure ; cependant, c'est généralement à la 6^e heure qu'elle présente son niveau le plus élevé.

LA VACUOLISATION DES ÉOSINOPHILES

LITT [15] a montré par la méthode d'immunofluorescence que la phagocytose du complexe antigène-anticorps par l'éosinophile se présente comme une vacuolisation du cytoplasme.

La vacuolisation des éosinophiles sanguins a été étudiée aussi par CONNELL [6] chez des malades allergiques. Dans ces cas, la vacuolisation se présente dans 40 p. cent des cas si l'on compte 2 vacuoles par éosinophile.

Nous avons étudié ce phénomène dans le test-fenêtre.

L'étude statistique nous a montré que la vacuolisation des éosinophiles était un phénomène spécifique qui se présente dans les T. F. avec éosinophilie tissulaire dans 83 p. cent des cas tandis que cette vacuolisation n'existe dans les T. F. contrôles qu'avec une fréquence inférieure à 0,05 p. cent. Cette vacuolisation présente un profil caractéristique avec un pic à la 4^e heure où 42,5 p. cent des éosinophiles ont 3 vacuoles au moins par cellule.

CONCLUSIONS

Les conclusions suivantes peuvent être tirées de notre étude :

- 1) Une éosinophilie tissulaire ne s'associe pas toujours à une intradermo-réaction positive.
- 2) Une éosinophilie tissulaire apparaît dans les cas comportant des manifestations cliniques où existent des anticorps réagins.
- 3) Les intradermo-réactions qui ne sont pas accompagnées d'une éosinophilie tissulaire peuvent être l'expression d'une histamino-libération non spécifique ou d'une libération de bradykinine qui peut provoquer un oedème mais pas d'éosinophilie.

L'apparition d'éosinophilie tissulaire au T. F. dépend aussi de la concentration de l'antigène employé. L'éosinophilie apparaît si un complexe antigène-anticorps stable est formé, bien que LITT accepte qu'un antigène simple puisse être phagocyté par les éosinophiles.

5) Bien que dans un T. F., la vacuolisation des éosinophiles soit l'expression spécifique de la présence d'un complexe Ag + Ac, l'éosinophilie simple ne perd pas sa valeur de signification en relation avec des manifestations cliniques qui peuvent être, dans ces cas, allergiques ou para-allergiques ; les troubles para-allergiques pouvant être dus à une libération non immunologique d'histamine ou de tout autre intermédiaire chimique susceptible d'avoir un effet d'attraction pour les polynucléaires éosinophiles.

6) En ce qui concerne les intradermo-réactions positives associées à des T. F. négatifs, nous devons être réservés au sujet de leur spécificité ; on sait en effet, qu'une réaction cutanée positive après 10 minutes n'est pas nécessairement la conséquence de la formation d'un complexe Ag + Ac : la libération de divers intermédiaires chimiques peut la provoquer.

Il apparaît que le T. F. peut être employé pour déceler l'existence des anticorps sensibilisants de la peau et pour distinguer une intradermo-réaction spécifique d'une intradermo-réaction faussement positive, c'est-à-dire non immunologique.

La constatation d'un T. F. positif, surtout s'il existe une vacuolisation des éosinophiles, est un argument important en faveur du rôle pathogène de l'antigène étudié et par conséquent d'une désensibilisation spécifique réalisée avec cet allergène.

[Travail du Service d'allergie de la Fondation A. de Rothschild, 29, rue Manin, Paris-19].*

RÉSUMÉ

Les auteurs exposent les résultats des explorations allergiques réalisées à l'aide du test de la fenêtre dermique de REBuck.

Ce test donne une réponse éosinophilique avec les allergènes responsables d'affections de type réaginique.

Les réponses sont constamment positives en cas d'allergie de type pollinique.

La réponse est souvent dissociée d'avec les tests cutanés pour les poussières de maison, pour les moisissures atmosphériques et pour la candidine.

Dans ces cas, la réponse éosinophilique ne se produit au test-fenêtre que lorsqu'il existe une réponse cutanée aux allergènes fortement dilués ; une réponse positive au test-fenêtre paraît avoir une signification plus grande que les tests cutanés en faveur du rôle pathogène de l'allergène étudié.

Pour les allergènes médicamenteux de faible poids moléculaire, il est rare d'observer une réponse éosinophilique et le test-fenêtre, dans ce domaine, ne peut être actuellement considéré comme satisfaisant.

L'examen des éosinophiles dans le test-fenêtre permet de montrer que dans les cas où la réponse éosinophilique correspond à une réaction allergique vraie, on retrouve, dans une forte proportion, des cellules éosinophiles, des vacuoles caractéristiques.

SUMMARY

THE PRESENT STATE OF SIGNIFICANCE OF THE WINDOW TEST IN VARIOUS ALLERGIC SYSTEMS

The authors present the results of allergic investigations carried out with the help of Rebuck's dermic window test.

This test gives an eosinophilic response with allergens responsible for disorders of the reaginic variety.

The response is often dissociated from that of the skin tests for house dust, atmospheric moulds and candidine.

In these cases, eosinophilic response is only produced in the window test where there is a skin reaction to very dilute allergens ; a positive reaction to the window test appears to have greater significance than skin tests in favour of the pathogenetic role of the allergen under study.

An eosinophilic reaction is rarely obtained for medicamentous allergens of small molecular weight and the window test cannot at present be considered satisfactory in this sphere.

An examination of the eosinophiles in the window test demonstrates that in cases where the eosinophilic reaction corresponds to a true allergic reaction, characteristic vacuoles are found in a high proportion of the eosinophilic cells.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ARCHER R. K. — On the function of eosinophils in the Ag + Ab reaction. *Brit. J. Haemat.*, 1965, 11, 123.
- [2] ARCHER G. T., HIRSCH J. G. — Motion picture studies on degranulation of horse eosinophils during phagocytosis. *J. exp. Med.*, 1963, 118, 287.
- [3] ARCHER R. K. — Studies with eosinophilic leucocytes isolated from the blood of horse. *Brit. J. Haemat.*, 1960, 6, 229.
- [4] BULLOCK J. D., BODENBERG M. T., KONTRAS S. B., MILLER G. E. — Skin window as a diagnostic tool in pediatric allergy. *Ann. Allergy*, 1968, 26, 177.
- [5] COLE M. B., ROBERTS F. E. — Inflammatory response to histamine in atopic and non atopic individuals. *J. Allergy*, 1966, 38, 26.
- [6] CONNELL J. T. — Morphological changes in eosinophils in allergic disease. *J. Allergy*, 1968, 41, 1.
- [7] COHEN S. G., SAPP T. M. — Experimental eosinophilia VIII. Cellular response to altered globulins within cutaneous tissue. *J. Allergy*, 1965, 36, 415.
- [8] EIDINGER D., WILKINSON R., ROSE R. — A study of cellular response in immune reactions utilizing the skin window technique. *J. Allergy*, 1964, 35, 77.
- [9] FOWLER J. W., LOWELL F. C. — The accumulation of eosinophils as an allergic response to allergen applied to the denuded skin surface. *J. Allergy*, 1965, 36, 415.
- [10] FEINBERG A. R., FEINBERG S. M. — Leucocytes and hypersensitivity Reactions. Eosinophil responses in skin window to Ragweed extract, histamine and compound 48/80 in atopic and non atopic individuals. *J. Allergy*, 1967, 40, 73.
- [11] KOSTAGE S. T., RIZZO A. P., COHEN S. G. — Experimental eosinophilia XI. Cell responses to particles of delineated size. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 1967, 125, 413.
- [12] KLINE S. B., COHEN M. B., RUDOLPH J. A. — Histologic changes in allergic and non allergic wheals. *J. Allergy*, 1932, 3, 531.
- [13] KNOTT F. A., PEARSON R. S. B. — Eosinophilia in allergic conditions. *Guy's Hosp. Rep.*, 1934, 84, 230.
- [14] KOVACKS A. — Antihistaminic effect of eosinophilic leucocytes. *Experientia (Basel)*, 1950, 6, 349.
- [15] LITT M. — Studies in experimental eosinophilia VI. Uptake of immune complexes by eosinophils. *J. cell. Biol.*, 1964, 23, 355.
- [16] LITT M. — Eosinophils and Ag + Ab reactions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1964, 116, 964.
- [17] MASSIE F. S., WEINTRAUB G., RICHMOND V. A. — Skin window test in drug or insect-sensitive individuals. *J. Allergy*, 1969, 43, 174.
- [18] REBUCK J. W., GROWLEY J. H. — Techniques in the study of leucocytic functions I.I.A method of studying leucocytic functions in vivo. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1955, 59, 757.
- [19] WOLF-JURGENSEN P., SCHWARTZ M. — Normal lymphocyte transfer in man. Basophilic leucocytes in delayed skin reactions. *Lancet*, 1964, 2, 388.
- [20] WOLF-JURGENSEN P. — Basophilic leucocytes in experimental tuberculin reactions studied by the skin-window technique. *Acta allerg. (Kbh.)*, 1965, 20, 38.
- [21] WOLF-JURGENSEN P. — Basophilic leucocytes in delayed hypersensitivity. *Danish Med. Bull.*, 1967, 14, 9, 249.
- [22] WULFF H. R. — Leucocyte migration in « skin window's » in man. Morphological and histochemical studies. *Dan. med. Bull.*, 1967, 14, 9, 254.
- [23] ZOLOV D. M., LÉVINE B. B. — Correlation of blood eosinophilia with antibody classes. *Int. Arch. Allergy*, 1969, 35, 179.