



**HAL**  
open science

## Rôle des excipients dans les tests épicutanés médicamenteux pour le bilan des toxidermies

Philippe Nodet

► **To cite this version:**

Philippe Nodet. Rôle des excipients dans les tests épicutanés médicamenteux pour le bilan des toxidermies. Sciences pharmaceutiques. 2000. hal-01732659

**HAL Id: hal-01732659**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732659>**

Submitted on 14 Mar 2018

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

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



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

2000

---

FACULTE DE PHARMACIE

**MEMOIRE**  
**du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES**  
**de PHARMACIE HOSPITALIERE ET DES**  
**COLLECTIVITES**

Soutenu devant le Jury Interrégional

le 11 Février 2000

par Philippe NODET

Conformément aux dispositions de l'arrêté  
du 4 octobre 1988 tient lieu de :



THESE  
pour le DIPLOME D'ETAT  
de DOCTEUR en PHARMACIE

---

**ROLE DES EXCIPIENTS DANS**  
**LES TESTS EPICUTANES MEDICAMENTEUX POUR**  
**LE BILAN DES TOXIDERMIES**

---

Membres du jury

Président : Monsieur M. HOFFMAN, Professeur de Pharmacie Clinique

Juges : Madame V. NOIREZ, Docteur en Pharmacie, Praticien Hospitalier  
Mademoiselle A. BARBAUD, Docteur en Médecine, Praticien Hospitalier  
Monsieur B. GOURDIER, Maître de Conférence de Pharmacie Clinique,  
Pharmacien Chef de Service



2000

DB 19058

---

FACULTE DE PHARMACIE

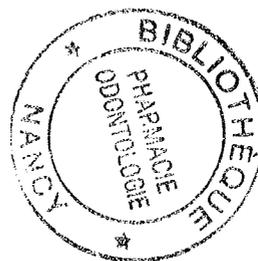
**MEMOIRE**  
**du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES**  
**de PHARMACIE HOSPITALIERE ET DES**  
**COLLECTIVITES**

Soutenu devant le Jury Interrégional

le 11 Février 2000

par Philippe NODET

Conformément aux dispositions de l'arrêté  
du 4 octobre 1988 tient lieu de :



THESE  
pour le DIPLOME D'ETAT  
de DOCTEUR en PHARMACIE

---

**ROLE DES EXCIPIENTS DANS**  
**LES TESTS EPICUTANES MEDICAMENTEUX POUR**  
**LE BILAN DES TOXIDERMIES**

---

Membres du jury

Président : Monsieur M. HOFFMAN, Professeur de Pharmacie Clinique

Juges : Madame V. NOIREZ, Docteur en Pharmacie, Praticien Hospitalier  
Mademoiselle A. BARBAUD, Docteur en Médecine, Praticien Hospitalier  
Monsieur B. GOURDIER, Maître de Conférence de Pharmacie Clinique,  
Pharmacien Chef de Service

BU PHARM. ODONTOL.



D 104 047904 2

**FACULTE DE PHARMACIE**  
**UNIVERSITE Henri Poincaré - NANCY I**

**Membres du personnel enseignant**

**Doyen** : C. FINANCE  
**Vice Doyen** : A. ROVEL

**PROFESSEURS HONORAIRES**

M. BERNANOSE André  
M<sup>le</sup> BESSON Suzanne  
M<sup>le</sup> GIRARD Thérèse  
M. MIRJOLET Marcel  
M. PIERFITTE Maurice

**PROFESSEUR EMERITE**

M. LOPPINET Vincent

**PROFESSEURS**

M.	ASTIER Alain	Pharmacie Clinique
M.	ATKINSON Jeffrey	Pharmacologie
M.	BAGREL Alain	Biochimie fondamentale et clinique, Biotechnologies
M <sup>le</sup>	BATT Anne Marie	Toxicologie
M.	BLOCK Jean Claude	Santé et Environnement
M.	BONALY Roger	Biochimie microbienne
Mme	CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie Cardiovasculaire
Mme	FINANCE Chantal	Microbiologie moléculaire
Mme	FRIANT-MICHEL Pascale	Biomathématiques, Biophysique et Audioprothèse
M <sup>le</sup>	GALTEAU Marie Madeleine	Biochimie
M.	HENRY Max	Biologie végétale
M.	HOFFMAN Maurice	Pharmacie clinique
M.	JACQUE Michel	Pharmacodynamie
M.	LABRUDE Pierre	Physiologie
M.	LALLOZ Lucien	Chimie organique
M.	MAINCENT Philippe	Pharmacie galénique
M.	MARSURA Alain	Chimie thérapeutique
M.	MARTIN Jean Armand	Chimie minérale et Minéralogie
M.	MORTIER François	Pharmacognosie
M.	NICOLAS Alain	Chimie analytique et Bromatologie
M.	REGNOUF DE VAINS Jean Bernard	Chimie Thérapeutique
Mme	SCHWARTZBROD Janine	Bactériologie - Parasitologie
M.	SCHWARTZBROD Louis	Virologie - Immunologie
M.	SIEST Gérard	Chimie Biologique
M.	SIMON Jean Michel	Droit et Economie de la Santé
M.	VIGNERON Claude	Hématologie

## MAITRES DE CONFERENCES

Mme ALBERT Monique	Bactériologie - Virologie
M. BONNEAUX François	Chimie Thérapeutique
M. CATAU Gérald	Pharmacodynamie
M. CHEVIN Jean Claude	Chimie minérale
M. CHILLON Jean Marc	Pharmacologie
M. COLLIN Jean François	Pôle européen
Mme COLLOMB Jocelyne	Parasitologie
M. COULON Joël	Biochimie
M. DECOLIN Dominique	Chimie analytique
M. DUCOURNEAU Joël	Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Mme FAIVRE-FIORINA Béatrice	GBM - Hématologie
M. FERRARI Luc	Biochimie
Mlle FONS Françoise	Biologie Végétale et Mycologie
Mme FUZELLIER Marie Claude	Pharmacognosie
M. GANTZER Christophe	Virologie
M. GHERMANI Nour-Eddine	Biophysique - Biomathématiques
M. GIBAUD Stéphane	Pharmacie Clinique
Mme HASENFRATZ-SAUDER Marie Paule	Biologie Végétale
Mlle HINZELIN Françoise	Biologie végétale et Pharmacognosie
M. HUMBERT Thierry	Interactions moléculaires
Mlle IMBS Marie Andrée	Bactériologie - Virologie et Parasitologie
M. JORAND Frédéric	Santé et Environnement
Mme KEDZIEREWICZ Francine	Pharmacie Galénique
Mme LARTAUD-IDJOUADIENE Isabelle	Pharmacologie
Mme LEININGER-MULLER Brigitte	Biochimie
M. LEROY Pierre	Chimie analytique
Mme LETOT Michèle	Bactériologie - Virologie et Parasitologie
Mme LIVERTOUX Marie Hélène	Toxicologie
Mme MARCHAL-HEUSSLER Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme MARCHAND-ARVIER Monique	Immunologie - Hématologie
M. MENU Patrick	Physiologie
M. MIGNOT Bernard	Physique
M. MONAL Jean Louis	Chimie Thérapeutique
M. NOTTER Dominique	Biologie cellulaire
Mme PAULUS Francine	Informatique
Mme PERDIAKIS Christine	Chimie organique
Mme PICHON Virginie	Biophysique
Mme POCHON Marie France	Chimie analytique
Mme ROVEL Anne	Immunologie - Hématologie
M. VISVIKIS Athanase	Toxicologie
Mme WELLMAN-ROUSSEAU Maria Monika	Biochimie
Mme ZINUTTI Colette	Pharmacie galénique

## ASSISTANTS

Mme BEAUD Mariette	Biologie Cellulaire
Mme BERTHE Marie-Catherine	Biochimie
M. DANGIEN Bernard	Botanique
Mme MOREAU Blandine	Pharmacognosie
Mme PAVIS Annie	Parasitologie
M. TROCKLE Gabriel	Pharmacodynamie

## PROFESSEUR ASSOCIE

Mme GRISON Geneviève	Pratiques officinales
----------------------	-----------------------

## PROFESSEUR AGREGE

M. COCHAUD Christophe	Anglais
-----------------------	---------

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,  
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES  
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES  
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

# SERMENT D'APOTHICAIRE



**Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :**

**D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**

**D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**

**De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.**

**Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.**



A notre président

Monsieur le Professeur M. HOFFMAN  
Professeur de Pharmacie Clinique  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nancy.

Vous nous avez fait l'honneur de présider notre jury.  
Veuillez trouver ici l'expression de notre vive gratitude et de nos  
respectueux sentiments.

A nos juges

Madame V. NOIREZ

Docteur en Pharmacie, Praticien Hospitalier

Vous nous avez inspiré le sujet de ce travail.

Nous vous témoignons toute notre reconnaissance pour vos conseils et votre disponibilité tout au long de ce travail.

Veillez recevoir l'expression de notre sincère gratitude.

Mademoiselle A. BARBAUD

Docteur en Médecine, Praticien Hospitalier

Vous nous avez honoré par votre présence en tant que juge.

Nous avons apprécié votre compétence et votre accueil au sein du service de Dermato-allergologie.

Veillez trouver ici l'expression de nos profonds et respectueux remerciements.

Monsieur B. GOURDIER

Maître de Conférence de Pharmacie Clinique

Vous nous avez fait l'honneur de juger ce travail.

Nous vous remercions sincèrement et vous exprimons toute notre considération.

A Isabelle, à Pierre, à Charlotte,

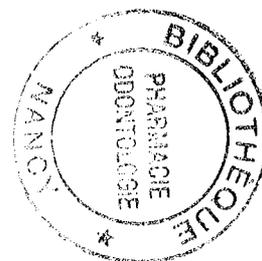
A mes parents, à mes soeurs,

A mes beaux-parents,

A toute ma famille,

A tous mes amis.

# SOMMAIRE



<b>SOMMAIRE</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>8</b>
<b>1. LA PEAU</b> .....	<b>11</b>
1.1. L'ÉPIDERME .....	12
1.1.1. Généralités.....	12
1.1.2. La couche cornée.....	13
1.2. LES CELLULES DE LANGERHANS.....	14
1.2.1. Rôle.....	14
1.2.2. L'hypersensibilité de contact.....	15
1.3. LES FOLLICULES PILO-SÉBACÉS.....	15
1.3.1. Le poil et le follicule pileux.....	15
1.3.2. Les glandes de la peau.....	16
1.3.2.1. Les glandes sébacées.....	16
1.3.2.2. Les glandes sudoripares.....	16
1.3.3. Facteurs naturels modifiant l'absorption cutanée.....	17
1.3.3.1. Le sébum.....	17
1.3.3.2. La sueur.....	17
1.3.4. Les voies de passage cutané.....	18
1.3.4.1. La voie transcellulaire et intercellulaire.....	18
1.3.4.2. La pénétration par les annexes.....	19
<b>2. RAPPELS SUR LES TOXIDERMIES</b> .....	<b>20</b>
2.1. DÉFINITION D'UNE TOXIDERMIE.....	20
2.1.1. L'allergie médicamenteuse : généralités.....	20
2.1.2. Toxidermie : définition et fréquence.....	21
2.2. CARACTÉRISTIQUES CLINIQUES DES TOXIDERMIES.....	22
2.2.1. Description des toxidermies d'origine immunologique.....	22
2.2.1.1. L'exanthème maculo-papuleux (EMP).....	22
2.2.1.2. L'urticaire.....	22
2.2.1.3. Le purpura.....	23
2.2.1.4. Les vascularites.....	23

2.2.1.5.	La maladie sérique.....	24
2.2.1.6.	L'érythème polymorphe et le syndrome de Stevens-Johnson.....	24
2.2.1.7.	La nécrolyse épidermique toxique ou syndrome de Lyell.....	25
2.2.1.8.	L'érythème pigmenté fixe.....	26
2.2.1.9.	L'eczéma de contact médicamenteux systémique.....	26
2.2.1.10.	La photosensibilité.....	27
2.2.1.11.	Erythrodermie et dermatite exfoliative.....	28
2.2.1.12.	Les éruptions lichénoïdes.....	28
2.2.2.	<i>Influence génétique</i> .....	34
2.3.	MÉCANISMES IMMUNITAIRES DES TOXIDERMIES.....	36
2.3.1.	<i>Réactions dues à des anticorps</i> .....	36
2.3.1.1.	Réaction de type I : hypersensibilité immédiate. IgE dépendante.....	36
2.3.1.2.	Réaction de type II : hypersensibilité par cytotoxicité dépendant d'anticorps.....	36
2.3.1.3.	Réaction de type III : hypersensibilité due à des complexes immuns.....	37
2.3.2.	<i>Réactions à médiation cellulaire</i> .....	37
2.3.3.	<i>Réactions auto-immunes</i> .....	39
<b>3.</b>	<b>DIAGNOSTIC D'UNE TOXIDERMIE</b> .....	<b>40</b>
3.1.	GÉNÉRALITÉS CONCERNANT LE DIAGNOSTIC D'UNE ALLERGIE MÉDICAMENTEUSE.....	40
3.1.1.	<i>L'interrogatoire</i> .....	40
3.1.2.	<i>Les critères d'imputabilité</i> .....	41
3.1.3.	<i>Le bilan biologique</i> .....	42
3.1.4.	<i>Le bilan histologique</i> .....	42
3.1.5.	<i>Les tests diagnostiques in vivo</i> .....	43
3.2.	INTÉRÊT DES TESTS ÉPICUTANÉS DANS LE DIAGNOSTIC D'UNE TOXIDERMIE.....	43
3.2.1.	<i>Rappels</i> .....	43
3.2.2.	<i>Revue de la littérature par rapport au bilan des toxidermies et des tests effectués</i> .....	45
3.2.2.1.	Rôle de la concentration.....	57
3.2.2.2.	Influence pour certaines molécules de l'excipient utilisé.....	57
3.2.2.3.	Influence du type de toxidermie.....	60
3.3.	RÉALISATION DES TESTS ÉPICUTANÉS.....	61
3.3.1.	<i>Technique</i> .....	62
3.3.1.1.	Matériel.....	62
3.3.1.2.	Concentration et véhicule.....	63
3.3.1.3.	Modalités de préparation.....	63
3.3.2.	<i>Lecture des tests</i> .....	64
3.3.3.	<i>Précautions à prendre</i> .....	64
3.3.3.1.	Risque de réactivation d'une réaction généralisée à partir d'un test cutané.....	64
3.3.3.2.	Effets secondaires potentiels (44).....	64

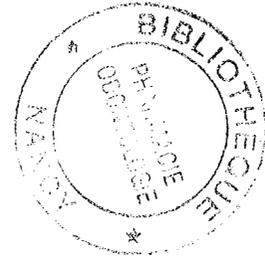
3.3.3.3. Surveillance.....	65
3.3.3.4. Tests de provocation orale (TPO).....	65
3.3.4. <i>Limites des tests épicutanés.</i> .....	65
3.3.4.1. Tests faussement positifs (44).....	65
3.3.4.2. Tests faussement négatifs (44).....	66
3.3.4.3. Cas témoins.....	66
3.3.4.4. Facteurs d'influence.....	66
<b>4. LA PENETRATION CUTANEE.....</b>	<b>67</b>
4.1. GÉNÉRALITÉS.....	67
4.1.1. <i>Rôle du stratum corneum</i> .....	67
4.1.2. <i>Biodisponibilité cutanée</i> .....	67
4.2. PRINCIPES PHYSIQUES DE LA PÉNÉTRATION CUTANÉE.....	68
4.3. MODÉLISATION DU PASSAGE CUTANÉ.....	69
4.3.1. <i>Généralités</i> .....	69
4.3.2. <i>Equations de vitesse de l'absorption cutanée</i> .....	69
4.3.2.1. La Loi de Fick.....	69
4.3.2.2. Estimation des coefficients de diffusion.....	71
4.3.3. <i>Estimation des paramètres de perméabilité d'une solution aqueuse</i> .....	72
4.3.4. <i>Conclusion</i> .....	73
4.4. MÉTHODES D'ÉTUDES DE LA PÉNÉTRATION CUTANÉE.....	74
4.4.1. <i>Méthodes d'études in vivo</i> .....	74
4.4.2. <i>Méthodes d'études in vitro</i> .....	75
4.4.2.1. Conditions d'application de la loi de Fick à la peau.....	76
4.4.2.2. Temps de latence.....	77
4.5. VOIES DE PASSAGE À TRAVERS LA PEAU.....	78
4.6. FACTEURS INFLUENÇANT LA PÉNÉTRATION CUTANÉE.....	79
4.6.1. <i>Facteurs liés à l'état du stratum corneum</i> .....	79
4.6.1.1. Influence de la structure du stratum corneum.....	79
4.6.1.1.1. Influence de la race.....	79
4.6.1.1.2. Variations selon la zone d'application.....	80
4.6.1.2. Effet réservoir.....	80
4.6.1.3. Hydratation cutanée.....	81
4.6.1.4. Age et sexe.....	83
4.6.1.5. Rôle de la circulation sanguine.....	84
4.6.1.6. Influence de la température.....	85
4.6.1.7. Surface d'application.....	86
4.6.2. <i>Viscosité de la préparation</i> .....	86
4.6.3. <i>Temps d'exposition</i> .....	88

4.6.4.	<i>Concentration en principe actif au point d'application</i> .....	88
4.6.5.	<i>Propriétés physico-chimiques des molécules</i> .....	89
4.6.5.1.	Taille de la molécule.....	89
4.6.5.2.	Etat d'ionisation des molécules et coefficient de partage octanol / eau.....	90
4.6.5.2.1.	Molécules non ionisées.....	90
4.6.5.2.2.	Molécules ionisables.....	90
4.6.5.3.	Solubilité de la molécule dans l'excipient.....	91
4.6.5.4.	pKa et influence du pH.....	91
4.6.6.	<i>Métabolisme cutané</i> .....	92
4.6.7.	<i>Influence des excipients</i> .....	93
4.6.8.	<i>Conclusion</i> .....	93
<b>5.</b>	<b>INFLUENCE DES EXCIPIENTS SUR LA PENETRATION CUTANEE</b> .....	<b>95</b>
5.1.	DÉFINITION D'UN EXCIPIENT.....	95
5.2.	CLASSIFICATION DES EXCIPIENTS.....	96
5.2.1.	<i>Classification selon leur complexité</i> .....	96
5.2.2.	<i>Classification selon leur famille chimique (36)</i> .....	97
5.2.2.1.	Les solvants alcooliques.....	97
5.2.2.2.	Les excipients hydratants.....	98
5.2.2.3.	Les excipients amphipathiques comme les surfactifs anioniques ou non ioniques.....	98
5.2.2.4.	Les solvants aprotiques.....	98
5.2.2.5.	L'azone ou laurocapram.....	98
5.2.2.6.	Les divers liquides apolaires lipophiles.....	98
5.2.2.7.	Les terpènes comme le L-menthol.....	98
5.2.2.8.	Les excipients hydratés comme les hydrogels composés de plusieurs excipients simples.....	98
5.2.2.9.	Les triglycérides.....	98
5.2.2.10.	Les esters d'alcane.....	99
5.2.2.11.	Les hydrocarbures comme la vaseline.....	99
5.2.2.12.	Les émulsions.....	99
5.3.	INTERACTION DES EXCIPIENTS AVEC LE STRATUM CORNEUM.....	99
5.3.1.	<i>Modification structurelle de la peau : action sur les lipides cutanés</i> .....	99
5.3.1.1.	Les solvants organiques.....	100
5.3.1.1.1.	L'alcool éthylique.....	100
5.3.1.1.2.	Le propylène-glycol.....	100
5.3.1.2.	Les excipients lipophiles.....	101
5.3.1.2.1.	L'acide oléique.....	101
5.3.1.2.2.	L'huile d'olive.....	101
5.3.1.3.	Les solvants aprotiques.....	102
5.3.1.3.1.	Le diméthylsulfoxyde.....	102
5.3.1.3.2.	Le diméthylformamide.....	102

5.3.1.4.	Les solvants polaires.....	103
5.3.1.4.1.	L'acétone.....	103
5.3.1.4.2.	L'acétate d'éthyle.....	103
5.3.1.5.	Les surfactants anioniques ou non ioniques.....	103
5.3.1.6.	Les promoteurs de pénétration cutanée.....	104
5.3.1.6.1.	L'azone.....	104
5.3.1.6.2.	Les terpènes.....	105
5.3.1.6.3.	Le myristate d'isopropyle.....	105
5.3.1.6.4.	L'acide laurique.....	106
5.3.1.6.5.	L'alcool laurique.....	106
5.3.2.	<i>Hyperhydratation locale</i> .....	106
5.3.2.1.	Les excipients hydratants.....	107
5.3.2.1.1.	L'eau.....	107
5.3.2.1.2.	La glycérine.....	107
5.3.2.2.	La vaseline.....	109
5.3.2.3.	Le diméthylsulfoxyde.....	110
5.3.2.4.	Les émulsions (excipients émulsionnés) ou excipients biphasiques.....	110
5.3.2.5.	Les glycérides.....	111
5.3.2.5.1.	L'huile d'olive.....	112
5.3.2.5.2.	La tricapryline (Panasate).....	112
5.3.2.6.	Les hydrogels.....	112
5.3.2.6.1.	Les gels de produits minéraux.....	112
5.3.2.6.2.	Les gels de polymères organiques.....	113
5.3.2.7.	Les huiles de silicones.....	114
5.3.3.	<i>Conclusion</i> .....	114
5.4.	CONDITIONS D'OBTENTION DES EXCIPIENTS.....	117
5.5.	CRITÈRES DE CHOIX DES EXCIPIENTS.....	118
5.5.1.	<i>Influence du véhicule sur la polarité de la molécule</i> .....	118
5.5.2.	<i>Excipients lipophiles</i> .....	120
5.5.2.1.	Les triglycérides.....	120
5.5.2.2.	Les autres véhicules lipophiles.....	122
5.5.3.	<i>Les excipients hydrophiles</i> .....	123
5.5.3.1.	Influence du propylène-glycol sur le minoxidil.....	123
5.5.3.2.	Influence de l'eau et de l'éthanol sur la pénétration du diclofénac base et sodique.....	124
5.5.3.3.	Influence des alcools sur la pénétration des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	125
5.5.3.4.	Influence des hydrogels sur la pénétration du cidofovir.....	126
5.5.3.5.	Influence des hydrogels sur la pénétration du nickel.....	127
5.5.4.	<i>Influence des promoteurs de pénétration cutanée</i> .....	128
5.5.5.	<i>Liste des excipients à retenir pour la réalisation de tests épicutanés</i> .....	131
5.6.	PROCÉDURE PRATIQUE D'AIDE AU CHOIX DE L'EXCIPIENT LE PLUS APPROPRIÉ : ARBRES DÉCISIONNELS.....	132

5.6.1.	<i>Propriétés physico-chimiques d'une molécule médicamenteuse.</i>	132
5.6.2.	<i>Les excipients potentiels.</i>	132
5.6.3.	<i>Arbres décisionnels.</i>	133
5.6.3.1.	Démarche générale.	133
5.6.3.2.	Exemple : molécule non ionisée hydrophile non soluble.	136
5.6.3.3.	Exemple : molécule sous forme soluble.	137
5.6.3.4.	Exemple : molécule non ionisée lipophile non soluble.	138
<b>6.</b>	<b>INFLUENCE DES EXCIPIENTS SUR LES RESULTATS DES TESTS EPICUTANES DANS LE BILAN DES TOXIDERMIES.</b>	<b>139</b>
6.1.	BUT DE L'ÉTUDE.	139
6.1.1.	<i>Historique.</i>	139
6.1.2.	<i>Objectifs de l'étude.</i>	140
6.2.	PRÉPARATION DES TESTS ÉPICUTANÉS.	140
6.2.1.	<i>Le circuit de prescription-dispensation.</i>	140
6.2.2.	<i>La préparation proprement dite.</i>	141
6.2.2.1.	Les matières premières.	141
6.2.2.2.	Les excipients.	141
6.2.2.3.	Le matériel.	142
6.2.2.4.	Le mode opératoire.	142
6.3.	MISE EN PLACE DES TESTS ÉPICUTANÉS ET LECTURE DES RÉSULTATS.	142
6.3.1.	<i>Mise en place.</i>	142
6.3.2.	<i>Lecture des résultats.</i>	143
6.4.	ANALYSE RÉTROSPECTIVE DES RÉSULTATS DES TESTS ÉPICUTANÉS MÉDICAMENTEUX.	143
6.4.1.	<i>Les supports d'information.</i>	143
6.4.2.	<i>La méthode d'analyse.</i>	144
6.4.3.	<i>Analyse des résultats.</i>	144
6.4.3.1.	Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.	144
6.4.3.2.	L'amoxicilline.	151
6.4.3.3.	Discussion des résultats.	157
6.4.4.	<i>Conclusion.</i>	163
<b>7.</b>	<b>DISCUSSION.</b>	<b>166</b>
7.1.	RÉFÉRENCES DES MOLÉCULES CHOISIES.	170
7.2.	ETUDE PROSPECTIVE.	173
7.2.1.	<i>Matériels.</i>	173
7.2.2.	<i>Méthode.</i>	174
	<b>CONCLUSION</b>	<b>176</b>

<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>178</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>193</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>195</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>196</b>



## INTRODUCTION.

L'allergie peut être définie comme une réaction immunitaire et normale de l'organisme contre un agent étranger appelé allergène. Elle s'exprime au niveau clinique de différentes manières ; le plus souvent respiratoires et cutanées, plus rarement alimentaires et oculaires. Les réactions cutanées allergiques dues aux médicaments prennent le nom de toxidermies. La réaction allergique peut être exagérée et devenir mortelle en cas de choc anaphylactique ou de syndrome de Lyell.

Le médicament est l'allergène dont la fréquence d'incrimination augmente de façon importante du fait de la progression de la consommation médicamenteuse.

Pour diagnostiquer une toxidermie, il existe différentes méthodes. Il en est une, simple à mettre en place, non invasive contrairement aux tests intra-épidermiques (prick-tests) et aux intradermo-réactions, ce sont les tests épicutanés (patch-tests). Différentes publications font état de diagnostic de toxidermies à l'aide de tests épicutanés, certains ouvrages reprennent et donnent des indications sur de nombreuses molécules ( De Groot (60), Fischer (45)).

Le critère d'imputabilité d'un médicament doit être connu mais il n'est pas suffisant pour incriminer de façon certaine cette molécule.

Les tests épicutanés sont positifs dans 28 à 40% des cas (12,13), mais il existe un risque d'avoir de faux positifs et de faux négatifs.

Parmi les médicaments responsables de toxidermies, deux classes pharmacologiques sont fréquemment incriminées : les antibiotiques et les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Les résultats des tests épicutanés réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier font état d'une mauvaise sensibilité des tests épicutanés avec les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Dans l'allergie de contact, des travaux ont montré que certains excipients pouvaient jouer un rôle dans le résultat des tests épicutanés par une augmentation de la pénétration cutanée. Aussi, nous avons voulu étudier l'impact de divers excipients sur la pénétration cutanée des anti-inflammatoires non stéroïdiens et de certains antibiotiques comme les bêta-lactamines en particulier l'amoxicilline.

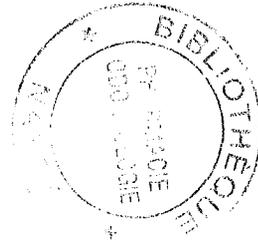
Afin de mieux comprendre la pénétration cutanée d'une molécule médicamenteuse à l'aide des excipients, différents points seront abordés :

- de brefs rappels immunologiques ainsi qu'une classification des différentes toxidermies,
- de brefs rappels sur l'histologie cutanée et son influence sur la pénétration cutanée,
- les différentes voies pouvant être empruntées par une molécule pour passer le stratum corneum,
- les moyens diagnostics pertinents à la disposition du médecin pour détecter une allergie médicamenteuse,
- une revue de la littérature sur les résultats des tests épicutanés réalisés par différentes équipes ; dans l'analyse des résultats, nous nous intéresserons surtout au rôle joué par les excipients,
- les différentes étapes de la pénétration cutanée et les facteurs la modifiant,
- la liste des différents facteurs facilement utilisables pour orienter le choix d'un excipient en fonction d'une molécule donnée,
- l'évocation des propriétés physico-chimiques des molécules médicamenteuses,
- une classification des différents excipients utilisables pour préparer les tests épicutanés, ceci en fonction de leurs propriétés physico-chimiques,
- une recherche bibliographique se rapportant au rôle joué par les excipients sur la pénétration cutanée des médicaments, *in vivo* ou *in vitro*.

Dans un deuxième temps, nous présenterons une étude rétrospective des résultats des tests épicutanés réalisés à l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier concernant les anti-inflammatoires non stéroïdiens et l'amoxicilline.

Ces différents points nous permettront d'éclairer l'interprétation des tests épicutanés vis-à-vis des résultats positifs ou négatifs. Nous tenterons d'établir une liste d'excipients, facilement disponibles, à utiliser en fonction du produit à tester, liste appliquée principalement aux bêta-lactamines (amoxicilline) et aux anti-inflammatoires non stéroïdiens, ceci en fonction de leurs

propriétés physico-chimiques afin d'améliorer la réactivité des tests épicutanés à ces molécules par le choix d'excipients adaptés.



## 1. LA PEAU.

La peau fait partie du revêtement externe du corps, également appelé système tégumentaire. C'est un organe à part entière, important, dont le poids est évalué à 4 kg (2 kg/m<sup>2</sup>) et d'une surface d'environ 20000 cm<sup>2</sup> (107). La peau sert d'interface protectrice entre l'air et le milieu intérieur (155). C'est une association complexe de plusieurs structures tissulaires, très hétérogènes :

- épithéliales,
- conjonctives,
- musculaires,
- vasculaires (1/3 du sang circulant dans l'organisme) et nerveuses (34).

Le système tégumentaire comprend aussi les annexes constituées par les phanères (ongles, poils) et les différents types de glandes. Nous ne décrivons ici que la structure de la peau (29).

Elle comprend successivement l'épiderme avec le stratum corneum, le derme et l'hypoderme (34).

Le derme est un tissu conjonctif ordonné parcouru par de nombreux vaisseaux sanguins et lymphatiques, et par des nerfs cérébro-spinaux et végétatifs. Il contient également des follicules pileux, des glandes sébacées, quelques cellules libres (histiocytes, mastocytes, granulocytes, lymphocytes et plasmocytes).

Selon les régions du corps, l'épaisseur du derme est variable. D'autres facteurs sont à prendre en compte comme l'âge, le sexe, l'état nutritionnel. A partir de 40 ans, l'épaisseur du derme diminue.

L'hypoderme est un tissu conjonctif lâche reliant la peau aux organes sous-jacents tout en leur permettant une certaine mobilité. Il est constitué par des cellules adipeuses formant le panicule adipeux divisé en loges et logettes (34).

Son épaisseur peut aller jusqu'à 3 cm.

L'hypoderme possède de multiples fonctions : protection contre les variations de température, réserve de graisse, amortisseur mécanique (29).

## **1.1. L'EPIDERME.**

### **1.1.1. Généralités.**

C'est un épithélium de revêtement pavimenteux, stratifié, kératinisé couvrant la totalité du corps humain et en renouvellement constant. C'est la couche la plus superficielle de la peau, sa fonction majeure est de protéger l'organisme contre les attaques du milieu extérieur.

Son épaisseur est variable selon les régions de l'organisme : de 0,04 mm au niveau des paupières jusqu'à 1,6 mm au niveau des plantes des pieds et des paumes des mains.

Ce n'est pas à première vue une lame à faces parallèles. L'interface dermo-épidermique suit une courbe grossièrement sinusoïdale avec des crêtes dermiques d'une part et des crêtes épidermiques d'autre part. La face superficielle, quant à elle, est plane et criblée de petits orifices correspondant aux ostiums pilaires et aux pores sudoraux.

La composition cellulaire de l'épiderme est hétérogène :

- les mélanocytes,
- les kératinocytes,
- les cellules de Langerhans,
- les cellules de Merckel.

L'examen histologique d'une coupe transversale d'épiderme décrit cinq couches cellulaires successives traduisant la transformation du kératinocyte basal en kératinocyte corné :

- la couche des cellules basales ou stratum germinatum,
- le corps muqueux de Malpighi ou stratum spinosum,
- la couche granuleuse ou stratum granulosum,
- la couche claire ou stratum lucidum (qui n'est pas toujours présente),
- la couche cornée ou stratum corneum.

Nous ne développerons que la couche cornée qui est le principal facteur limitant à la pénétration cutanée des molécules. La figure 1 représente schématiquement les différentes couches cutanées et notamment le stratum corneum.

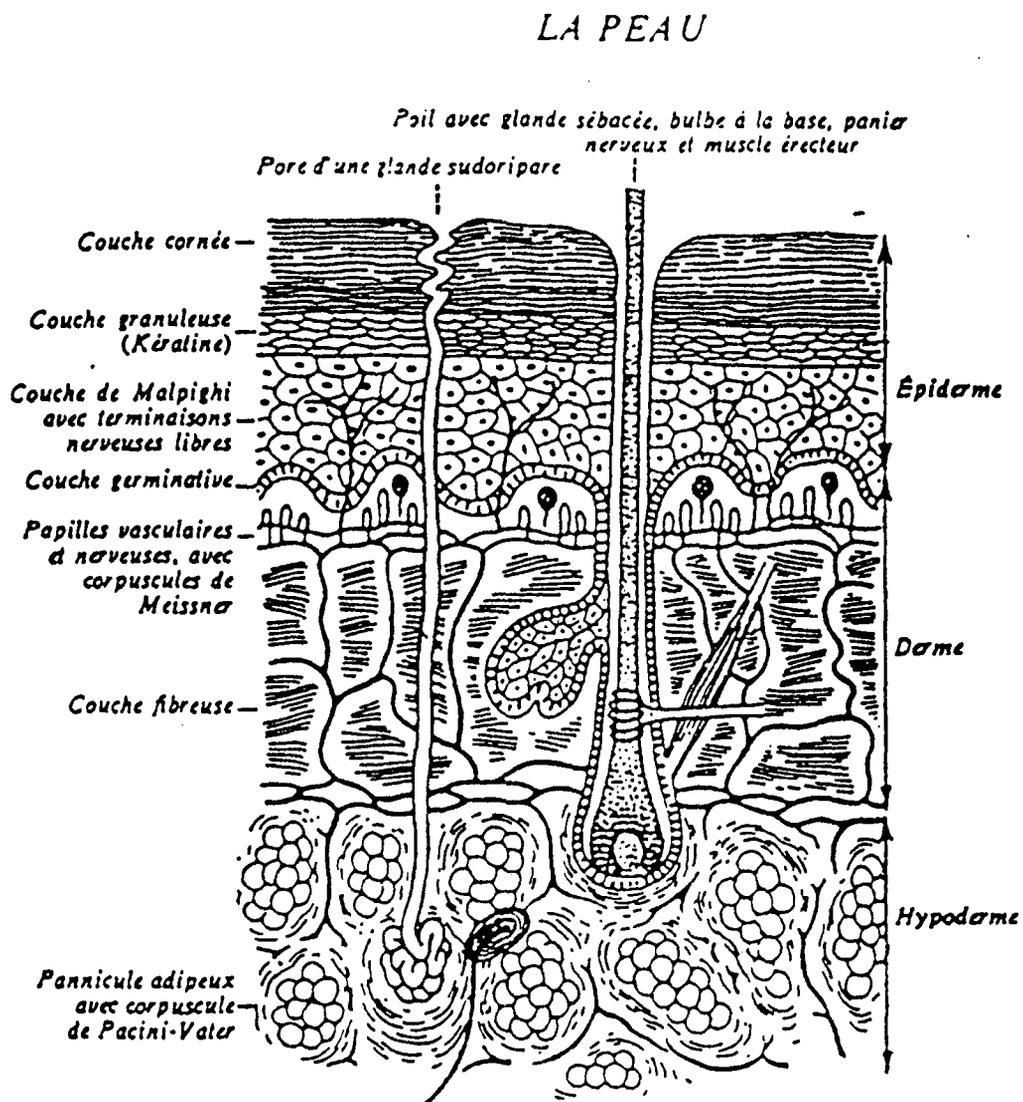


Figure 1 : Schéma de la peau d'après POIRIER J., RIBADEAU DUMAS J.L. (117).

### 1.1.2. La couche cornée.

C'est une superposition de cellules complètement kératinisées, anuclées, mortes, formant des lamelles très allongées (30µm). Le nombre de couches cellulaires est variable selon la région

de l'organisme (15 à 20 au niveau de l'abdomen et du dos, plusieurs centaines au niveau plantaire). Les couches les plus superficielles sont des lames cornées qui desquament constamment, remplacées au fur et à mesure lors du processus de kératinisation.

Ces cellules sont entourées d'une enveloppe réticulée et sont accolées les unes aux autres par un ciment lipidique (75,92).

Ce ciment se compose au niveau biochimique, selon les auteurs, de :

- 50 à 70% de protéines essentiellement intracellulaires (la kératine),
- 10 à 20% de lipides (constituant principalement le ciment intercellulaire) dépourvus de phospholipides, riches en céramides qui compactent les bicouches lipidiques entre elles, en stérols libres et en acides gras libres avec également des glycolipides, des esters de stérols, des triglycérides, du sulfate de cholestérol qui augmente la rigidité de l'ensemble,
- 23% de substances hydrosolubles,
- 7 à 15% d'eau qui confèrent à la peau ses propriétés de douceur et de souplesse (34).

Le ciment intercellulaire joue imparfaitement le rôle de barrière contre l'entrée de différentes substances à travers la peau (107,120,155), mais permet la thermorégulation de l'organisme (120). Une hydratation trop ou trop peu importante fragilise le stratum corneum et diminue ses fonctions de barrière (75,107). L'état du stratum corneum varie selon les individus ; nous développerons ce point ultérieurement.

## **1.2. LES CELLULES DE LANGERHANS.**

### **1.2.1. Rôle.**

Elles appartiennent aux cellules dendritiques de l'épiderme comme les mélanocytes. Ces cellules sont apparentées aux cellules interdigitées retrouvées dans les zones T-dépendantes des organes lymphoïdes. Elles possèdent comme les monocytes et les macrophages des récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines ainsi que pour la fraction C3b du complément. Elles occupent donc un rôle dans la réponse immunitaire de type cellulaire de la peau par captation, internalisation et présentation des antigènes aux lymphocytes T amplificateurs. Elles jouent un

rôle majeur dans l'induction de l'hypersensibilité de contact vis à vis d'antigènes appliqués sur la peau (125).

### **1.2.2. L'hypersensibilité de contact.**

C'est une réaction de type eczéma au niveau du lieu de contact entre un antigène et la peau. Les manifestations surviennent en général en 48 heures, parfois plus tardivement. Certaines molécules déclenchent une réaction immunitaire uniquement si elles sont liées à une protéine porteuse elle-même immunogène. Ce sont des haptènes. Un haptène seul ne peut induire aucune production d'anticorps.

Après avoir pénétré la peau et s'être lié à une protéine, l'haptène sera capté par les cellules présentatrices de l'antigène, les cellules de Langerhans. Lors de la phase de sensibilisation, le complexe cellule de Langerhans-haptène va migrer jusque dans la région paracorticale du ganglion lymphatique pour être présenté aux lymphocytes T. Il s'ensuit un œdème et un infiltrat dermique de cellules mononuclées. Il y a enfin formation de microvésicules (7, 124, 125).

## **1.3. LES FOLLICULES PILO-SEBACES.**

### **1.3.1. Le poil et le follicule pileux.**

De longueur variant de 1 mm à 1,5 cm et de diamètre compris entre 0,05 et 0,5 mm, les poils sont des filaments élastiques kératinisés qui se développent depuis l'épiderme. On les retrouve sur toute la surface du corps à l'exception de la plante des pieds et de la paume des mains, des orifices urogénitaux et anaux. Le poil est fixé dans la peau par sa racine et il est entouré par le follicule pileux.

Le follicule pileux est une enveloppe qui se compose :

- d'une gaine de tissu conjonctif externe appelé « sac fibreux du poil » dérivant du derme, composé de fibres de collagène en faisceaux à orientation longitudinale, de fibres conjonctives fines à orientation circulaire, de fibres de réticuline et de substance fondamentale,

- d'une gaine épithéliale située à l'intérieur de la précédente dérivant de l'épiderme et se divisant en :
  - ⇒ gaine épithéliale externe constituée par des cellules polyédriques semblables aux cellules de Malpighi de l'épiderme,
  - ⇒ gaine épithéliale interne kératinisée (59,92,118).

### **1.3.2. Les glandes de la peau.**

Elles se divisent en trois groupes :

- les glandes sébacées,
- les glandes sudoripares,
- les glandes mammaires que nous ne développerons pas (59,92,118).

#### 1.3.2.1. Les glandes sébacées.

Le plus souvent associées à un follicule pileux, ce sont des glandes localisées dans le derme sauf au niveau de la plante des pieds et de la paume des mains. De structure alvéolaire, leurs canaux excréteurs débouchent dans le collet d'un follicule ou directement à la surface de la peau. Elles synthétisent une grande quantité de lipides. Elles sont constituées d'alvéoles à épithélium stratifié reposant sur une lame basale constituée de cellules cubiques s'agrandissant en se rapprochant du centre de l'alvéole. En effet, elles sont déformées par les gouttelettes de graisse qu'elles contiennent. Elles se décomposent pour donner le sébum (59,92,118).

#### 1.3.2.2. Les glandes sudoripares.

Ce sont des glandes « tubuleuses » pelotonnées, non ramifiées, de type eccrine, se retrouvant sur toute la surface du corps à l'exception du lit de l'ongle, du bord des lèvres, du gland et de la caisse du tympan. La partie sécrétrice est située dans le derme ou l'hypoderme. Le canal excréteur est situé dans l'épiderme et débouche à la surface de la peau par un pore cutané.

Un épithélium cylindrique ou cubique entoure la partie sécrétrice et repose sur une lame basale différenciée.

Cet épithélium est constitué par trois types cellulaires différents :

- les cellules principales séreuses à cytoplasme vacuolaire contenant des gouttelettes de graisses, parfois des grains de pigments,
- les cellules muqueuses contenant des grains de sécrétions basophiles,
- les cellules myo-épithéliales fusiformes s'entourant autour des tubes sécréteurs et qui sont des cellules musculaires lisses évacuant les sécrétions (59,92,118).

### **1.3.3. Facteurs naturels modifiant l'absorption cutanée.**

#### 1.3.3.1. Le sébum.

Le sébum est une substance huileuse sécrétée par les glandes sébacées, contenant 92 à 100% de lipides répartis comme suit :

- Glycérides 43%,
- Acides gras libres 16%,
- Cires estérifiées 25%,
- Squalène 12%,
- Cholestérol 4%,
- Hydrocarbures saturés (traces).

Une hyperséborrhée est observée chez les personnes à peau très épaisse ; ceci signifie que la pénétration des molécules est plus difficile chez ces personnes en raison du film lipidique cutané et de l'épaisseur de la peau (145).

#### 1.3.3.2. La sueur.

La sueur est un composé acide sécrété par les glandes sudorales. Elle contient 99% d'eau ainsi que la plupart des constituants du plasma à des concentrations différentes :

- Urée,
- Ammoniaque,
- Acides lactiques et pyruviques,
- Acides aminés.

Ce sont les principaux composés du facteur d'hydratation naturelle ou « *Natural Moisturizing Factor* » du stratum corneum. Ils permettent de conserver à la peau une hydratation minimale quelque soit l'environnement extérieur (145) et de conserver au stratum corneum son effet barrière quant à la pénétration d'agents extérieurs.

### **1.3.4. Les voies de passage cutané.**

Pour pénétrer le revêtement cutané, un principe actif peut emprunter deux voies : l'une passant à travers les kératinocytes et les espaces intercellulaires, l'autre par les « annexes cutanées » (follicules pilo-sébacés, glandes sudoripares) (75,101).

#### 1.3.4.1. La voie transcellulaire et intercellulaire.

On a longtemps considéré que le passage transépidermique des molécules se faisait principalement au travers des kératinocytes et que la diffusion des molécules au niveau intercellulaire était négligeable sauf pour les molécules de faible taille fortement lipophiles.

Le stratum corneum est représenté le plus souvent comme un mur de briques. Ces dernières contiennent des protéines hydrophiles et sont réunies par le ciment intercellulaire lipidique. Une molécule empruntant la voie transcellulaire traversera alternativement les zones hydrophiles et lipophiles (101,107).

Les espaces intercellulaires sont composés de lipides provenant de l'étape finale de la différenciation épidermique (stérols libres ou estérifiés, acides gras libres, triglycérides, sphingolipides). Ils sont disposés en bicouches orientées délimitant des zones hydrophiles et lipophiles. Ils font varier la vitesse de pénétration des molécules hydrophiles, ceci de manière inversement proportionnelle au taux de lipides cutanés (101,147). Par augmentation de la fluidité des lipides cutanés, la pénétration s'accroît. Le mécanisme de pénétration par cette voie est encore mal connu ; on suppose que les molécules polaires se dirigent vers les régions hydrophiles des lipides cutanés et les molécules moins polaires vers les régions lipophiles (101,134).

Lors d'une perte hydrique, la perméabilité de la peau est d'autant plus grande que la taille des cornéocytes est faible (101).

#### 1.3.4.2. La pénétration par les annexes.

On entend par annexes les glandes sudoripares et les follicules pilo-sébacés qui représentent de 0,1 à 1% de la surface cutanée. La pénétration des molécules y est plus favorable. Elle est fonction du rapport entre la surface des annexes et la surface du stratum corneum d'une part, et de la capacité des molécules à y pénétrer d'autre part. Ces structures sont considérées comme des zones où l'effet barrière est moins significatif ; on appelle ces zones des « shunts ».

Les glandes sudoripares joueraient un rôle encore mal connu dans la résistance à la pénétration des molécules. Elles participent à la diffusion dans le stratum corneum de l'histamine, de l'adrénaline et de l'iode, et certainement à la diffusion des électrolytes, des molécules polaires, des formes ionisées de molécules ionisables (101). En effet, pour certaines molécules, la pénétration par les annexes est non négligeable. Ainsi, pour l'ibuprofène, 25% de la molécule va pénétrer le stratum corneum par cette voie car cette molécule se retrouve en partie ionisée (96). De même pour le méthotrexate, si le pH est supérieur à 6,5, cette voie représente plus de 50% du passage total (96).

Les follicules pilo-sébacés permettent également une diffusion plus rapide des molécules, principalement celles peu diffusibles à travers le stratum corneum. Maibach (101) a démontré que la pénétration des zones à forte pilosité (cuir chevelu, aisselles) était supérieure à celle des zones à faible pilosité (avant-bras, paumes).

Certaines molécules lipophiles s'accumulent dans les lipides cutanés et sébacés. Leur devenir est fonction de leur métabolisation épidermique (1,3,75,101).

Cependant, ces voies de pénétration n'auraient un rôle important que pour des molécules très peu solubles dans l'eau et dans les huiles (75).

La structure des différents éléments constituant l'appareil tégumentaire montre l'importance du rôle joué par le stratum corneum et sa fonction de barrière. C'est cette couche qui est le principal frein à la pénétration transcutanée des molécules médicamenteuses testées. Le ciment lipidique intercellulaire est lui aussi impliqué dans la pénétration cutanée.

## **2. RAPPELS SUR LES TOXIDERMIES.**

### **2.1. DEFINITION D'UNE TOXIDERMIE.**

#### **2.1.1. L'allergie médicamenteuse : généralités.**

Le mot allergie vient du grec « allos » qui signifie autre et « ergon » qui signifie action. Il traduit « une réaction inhabituelle de l'organisme à un stimulus généralement inoffensif ».

Une autre définition est possible : « une réaction médicamenteuse se définit comme une manifestation clinique indésirable consécutive à l'administration d'un produit particulier, comme les réactions par surdosage, les effets secondaires prévisibles et les manifestations inattendues ». Malgré tous les tests et expérimentations effectués, le risque d'apparition d'une réaction grave, de faible incidence, ne peut être écartée tant que le médicament n'a pas été prescrit à grande échelle (25).

Les réactions allergiques par hypersensibilité sont nécessairement secondaires à une sensibilisation immunologique antérieure à un médicament, à une réaction croisée avec une molécule chimiquement proche ou avec l'un des métabolites du médicament (haptène). Elles apparaissent cliniquement chez un nombre limité d'individus alors qu'elles se produisent avec un grand nombre de principes actifs.

Les macromolécules comme les protéines sont antigéniques à elles seules alors que la plupart des médicaments jouent le rôle d'haptène du fait de leur faible poids moléculaire (inférieur à 1000 Daltons). Les médicaments nécessitent une fixation préalable à une macromolécule transporteuse pour déclencher une réaction allergique (25).

Il faut bien entendu différencier l'intolérance à un médicament suite à un surdosage et une allergie vraie (7).

Les toxidermies correspondent aux manifestations cutanées d'une allergie médicamenteuse consécutive à une prise de médicaments, de mécanisme immunologique mal connu, de survenue le plus souvent imprévisible (7).

### **2.1.2. Toxidermie : définition et fréquence.**

« Les toxidermies sont des complications cutanéomuqueuses secondaires à l'administration par voie entérale, intravasculaire ou intramusculaire de médicaments. Il s'agit des plus fréquents des effets secondaires médicamenteux néfastes » (13).

En France, le recueil des informations, rendu obligatoire par le décret du 24 mai 1984, concernant les réactions médicamenteuses se fait par les centres régionaux de pharmacovigilance. Parmi les dix sept groupes d'effets toxiques indésirables, trois types de manifestations cliniques prédominent, parmi lesquelles les réactions cutanées allergiques (environ 30% des notifications au centre de pharmacovigilance) (58). Leur incidence est difficilement quantifiable avec précision, par erreur d'imputabilité ou par manque de notification.

Au centre de pharmacovigilance de Nancy, selon une étude réalisée sur 30 mois par Trechot et coll. (139), la fréquence des appels pour des accidents cutanés était de 32,7%, derrière les manifestations hépato-digestives 41,4 % dont 23% de cytolyses hépatiques.

Lavarenne et coll. (88), dans une étude portant sur les personnes âgées (65 à 89 ans), présentent des résultats similaires ; 20 % des effets indésirables sont d'expression cutanée quelle que soit la tranche d'âge, quel que soit le sexe.

Les éruptions les plus fréquentes sont : l'exanthème maculo-papuleux, l'urticaire et le prurit généralisé (88,101).

Les médicaments les plus souvent incriminés sont les antibiotiques (17,1%), les médicaments à visée cardio-vasculaire (24,8%), les anti-inflammatoires (11,3%) et les psychotropes (88,114).

Les réactions cutanées indésirables peuvent être immunologiques ou non. Elles ne sont pas doses-dépendantes, sont imprévisibles, s'expriment à doses thérapeutiques.

## **2.2. CARACTERISTIQUES CLINIQUES DES TOXIDERMIES.**

### **2.2.1. Description des toxidermies d'origine immunologique.**

#### 2.2.1.1. L'exanthème maculo-papuleux (EMP).

Les EMP sont les manifestations les plus couramment rencontrées.

Le tableau clinique est variable et présente :

- une fièvre discrète,
- un prurit,
- des lésions de type scarlatiniforme, rubéoliforme ou morbiliforme.

Ces lésions se présentent sous la forme d'une éruption profuse de petites papules, apparaissant d'abord sur le tronc puis aux extrémités ; le visage est respecté. Les paumes et les plantes peuvent être également touchées, l'éruption peut être généralisée. Parfois, des lésions de purpura et une stomatite érosive peuvent apparaître. Si le traitement est maintenu, une dermatite exfoliative peut survenir.

A l'arrêt de la prise médicamenteuse, les lésions s'estompent en deux semaines par une desquamation en laissant une hyperpigmentation inflammatoire (25).

#### 2.2.1.2. L'urticaire.

C'est la plus fréquente des réactions médicamenteuses après les EMP (25).

Il s'agit de plaques érythémateuses, papuleuses, œdémateuses, bien limitées, disséminées sur le tégument. Elle peut parfois se compliquer d'un choc anaphylactique ou d'une maladie sérique.

L'urticaire apparaît dans les minutes ou les heures suivant une prise médicamenteuse et disparaît en 24 heures. S'il y a réintroduction de la molécule incriminée, l'urticaire peut survenir en quelques minutes.

Certains médicaments peuvent induire une urticaire soit par :

- un mécanisme allergique,
- un mécanisme pharmacologique.

L'urticaire allergique induit des réactions de deux types :

- soit de type I médiée par les IgE,
- soit de type III avec formation d'un complexe antigène-anticorps avec fixation du complément entraînant la libération d'histamine par les anaphylatoxines.

D'autres médicaments agissent directement sur la libération de médiateurs mastocytaires ; par exemple l'inhibition de la cyclo-oxygénase provoque une importante dégranulation mastocytaire favorisant la biosynthèse des métabolites de l'acide arachidonique par la lipoxygénase, ce qui entraîne une vasodilatation et un œdème (25).

#### 2.2.1.3. Le purpura.

Il se définit comme une hémorragie intracutanée.

Il existe différents mécanismes impliqués dans l'apparition d'un purpura :

- thrombocytopénie allergique,
- destruction plaquettaire,
- précipitation sur les cellules endothéliales de C<sub>1</sub>C composés d'anticorps anti-médicament. Cette précipitation provoque une capillarite (vascularite) (25).

#### 2.2.1.4. Les vascularites.

Les vascularites cutanées nécrosantes d'origine iatrogène sont caractérisées par :

- un purpura des membres inférieurs, avec parfois des lésions urticariennes,
- des ulcérations,
- des bulles hémorragiques.

Elle sont parfois dues à des complexes immuns et peuvent évoluer jusqu'au décès en dépassant le stade cutané et viscéral (cœur, foie, reins) (25).

#### 2.2.1.5. La maladie sérique.

C'est une réaction de type III à complexes immuns, parfois irréversible, survenant 5 à 21 jours après une prise médicamenteuse.

On observe :

- de la fièvre,
- une urticaire,
- des douleurs et des tuméfactions articulaires (mains et pieds).

Dans ses formes plus sévères, on observe :

- des angioedèmes,
- des adénopathies et parfois une néphrite,
- une endocardite avec éosinophilie.

Des lésions cutanées peuvent être associées à une névrite (25).

#### 2.2.1.6. L'érythème polymorphe et le syndrome de Stevens-Johnson.

- L'érythème polymorphe :

Le plus souvent d'origine infectieuse, il provoque des lésions maculeuses, papuleuses ou urticariennes ou plus typiquement des lésions en cocarde, à centre parfois vésiculo-bulleux ou purpurique.

L'éruption se situe principalement aux extrémités distales, à la face dorsale des mains et des avant-bras, mais elle peut également se situer au niveau des paumes, du tronc, des muqueuses buccales et génitales. Parfois l'atteinte des muqueuses est la seule expression clinique.

Dans une étude prospective, Huff et coll. ont montré que seuls 10% des érythèmes polymorphes étaient d'origine médicamenteuse. Toutefois, la réintroduction du principe actif a souvent prouvé l'origine médicamenteuse (25).

- Le syndrome de Stevens-Johnson :

Il provoque cliniquement fièvre, malaises, myalgies, arthralgies, érythème polymorphe étendu sur le tronc, avec parfois une présence de bulles et d'érosions représentant moins de 10% de la surface corporelle et quelquefois une altération hépatique.

Il doit être distingué de la nécrolyse épidermique toxique dans laquelle les décollements cutanés représentent plus de 10% de la surface corporelle et s'accompagnent d'une atteinte oculaire et muqueuse (25).

2.2.1.7. La nécrolyse épidermique toxique ou syndrome de Lyell.

Le syndrome de Stevens-Johnson peut évoluer en nécrolyse épidermique toxique.

Dans un premier temps, on note :

- un syndrome grippal avec malaise, fièvre, rhinite et conjonctivite,
- parfois des problèmes mictionnels de courte durée.

Cette phase peut durer une à trois semaines puis survient l'atteinte cutanée.

La phase aiguë de la maladie décrit :

- une fièvre tenace,
- une atteinte des muqueuses,
- un décollement épidermique massif.

Cette phase dure huit à douze jours. Les lésions initiales, de type maculo-papuleux, urticarien ou érythème polymorphe avec sensation de cuisson, évoluent en un érythème confluent d'extension rapide initialement axillaire ou inguinal suivi de l'apparition de bulles et de décollements cutanés étendus. Le signe de Nikolsky peut être positif (décollement de peau apparemment saine après pression).

Il y a présence de bulles non rompues au niveau des paumes et des plantes avec parfois un décollement complet. Ce phénomène évolue par poussées successives d'environ trois jours et peut provoquer une atteinte de la totalité du corps dans 10% des cas. Toutes les muqueuses, plus rarement les muqueuses génitales, sont touchées trois jours avant l'atteinte cutanée.

Une urétrite, une stomatite et une mucosite sont souvent associées. La guérison par ré-épithélialisation survient en trois à quatre semaines.

De nombreuses complications peuvent survenir : cécité, alopecie cicatricielle, infection des plaies cutanées, naevi mélanocytaires, pneumonie, anémie, leucopénie, septicémie. La mortalité est de 20 à 30% des cas (25,98).

#### 2.2.1.8. L'érythème pigmenté fixe.

Il est caractérisé par la récurrence des lésions aux mêmes sites à chaque réintroduction médicamenteuse. Cliniquement, on observe :

- des plaques rondes ou ovales, bien délimitées, d'aspect œdémateux ou érythémateux, de teinte violacée ou brune, surmontées parfois par une vésicule ou une bulle,
- un prurit et une sensation de cuisson accompagnant les lésions peuvent apparaître après 30 minutes ou dans les huit heures suivant la prise médicamenteuse.

Initialement, l'éruption présente un aspect morbilliforme, scarlatiniforme, ou fait penser à un érythème polymorphe. Le nombre et la taille des lésions augmente avec les expositions. Elles se situent principalement sur les membres (mains, pieds), au niveau des organes génitaux, du périnée, plus rarement sur le tronc, au niveau des régions périorbitaires, péri-orales.

Une sensibilité croisée peut se rencontrer avec des molécules chimiquement proches (oxyphenbutazone et phénylbutazone). Des lésions peuvent réapparaître au même endroit avec des molécules sans lien de parenté (oxyphenbutazone et tétracyclines). Parfois une association médicamenteuse est responsable d'un érythème pigmenté fixe alors que chacun des médicaments pris séparément est sans effet.

Lorsque les lésions siègent au niveau de la muqueuse génitale masculine uniquement, les principaux responsables sont des antibiotiques (cotrimoxazole, ampicilline, tétracyclines) (25).

#### 2.2.1.9. L'eczéma de contact médicamenteux systémique.

C'est un type d'éruption qui se développe lors de l'administration systémique, chez des patients antérieurement sensibilisés à un principe actif, de la même molécule ou d'une molécule apparentée par contact externe. Mais la réciproque est vraie. Une éruption peut survenir après

l'application d'un topique chez un patient sensibilisé à la même molécule prise per os. Ce type de réaction est alors nommé eczéma de contact endogène.

Classiquement symétrique, la réaction débute au niveau du site initial de sensibilisation et se généralise si le traitement est poursuivi. Les tests épicutanés sont généralement positifs.

Le syndrome « babouin » est une forme particulière d'eczéma systémique avec un érythème diffus des régions génitales, parfois axillaires, fessières (25).

#### 2.2.1.10. La photosensibilité.

Elle comporte deux types de réactions :

- la phototoxicité dont nous ne parlerons pas ici,
- la photoallergie.

La photoallergie est une réaction médicamenteuse induite par la lumière et provoquant des éruptions au niveau des zones exposées.

Les réactions photoallergiques dues aux UVA nécessitent une période de latence indispensable à la sensibilisation. En présence de lumière lors de la réintroduction du médicament, les lésions apparaissent dans les 24 heures et s'étendent au delà des régions exposées.

Il peut y avoir des réactions croisées chez des patients photosensibles avec des molécules chimiquement proches.

Il existe différents mécanismes d'apparition de ces photoallergies ; une irradiation lumineuse peut modifier la molécule ou sa capacité à se fixer sur une protéine porteuse.

Une photoallergie traduit parfois une photodermatite de contact à un photoallergène topique. C'est un phénomène assez courant (9% des cas de photoallergie).

Une photoallergie peut apparaître à la suite d'une sensibilisation médicamenteuse par voie systémique. Selon une étude du « German, Austrian and Swiss photopatch test group », les molécules les plus fréquemment rencontrées dans les photoallergies sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les désinfectants, les écrans solaires, les phénothiazines.

Une photosensibilité induite peut persister chez certains patients, même après arrêt du traitement ; on parle alors de dermatite chronique à la lumière ; elle est due aux UVB. Un des constituants de la peau saine ne serait plus reconnu comme tel et impliquerait une réaction

immunitaire de type hypersensibilité retardée. D'autres études ont montré que les mécanismes immunologiques font intervenir des cellules T (25).

#### 2.2.1.11. Erythrodermie et dermatite exfoliative.

Cliniquement, on observe l'association :

- d'un érythème confluant disséminé (érythrodermie),
- d'une desquamation (dermatite exfoliative).

C'est une des manifestations cutanées les plus graves induite par les médicaments. Elle fait parfois suite à un exanthème, ou peut survenir lors de réactions à l'arsenic ou aux métaux lourds, sous forme d'un érythème et d'une exsudation des plis qui se généralisent soudainement. L'éruption se développe quelques semaines après le début du traitement.

Il peut survenir de nombreuses complications :

- une hypothermie ou hyperthermie le plus souvent,
- des pertes liquidiennes,
- des infections,
- une décompensation cardiaque,
- un ulcère de stress pouvant être responsable d'hémorragies,
- un syndrome de malabsorption et des thromboses veineuses (25).

#### 2.2.1.12. Les éruptions lichénoïdes.

Elles évoquent cliniquement et histologiquement un lichen plan idiopathique.

On observe une éruption papuleuse violacée volontiers extensive, de survenue tardive après le début du traitement, évoluant vers une dermatite exfoliative. A l'arrêt du traitement, les lésions régressent (25).

Les médicaments impliqués dans les différentes toxidermies sont présentés dans le tableau I avec précision de leur fréquence d'apparition.

TABLEAU I : Médicaments responsables de toxidermies (25). Liste non exhaustive.

Nature de la réaction	Type	Molécules impliquées	Fréquence
Réactions anaphylactoïdes	Non immunologique	amphétamines	
		codéine	
		polymyxine B	
		atropine	
		hydralazine	
		pentamidine	
		quinine	
		produits de contraste	
Réactions exanthématiques maculo-papuleuses	Immunologique	ampicilline	<5%
		amoxicilline	<5%
		sulfaméthoxazole + triméthoprime	<5%
		autres sulfamides	>5%
		phénytoïne	<5%
		carbamazépine	<5%
		sels d'or	<5%
		gentamicine	>5%
		pyrazolés	>5%
		céphalosporines	>5%
		barbituriques	>5%
		naproxène	<5%
		chlorpromazine	<5%
		isoniazide	rare
		atropine	rare
quinidine	rare		
méprobamate	rare		
Urticaire	Immunologique	pénicilline	>5%
		céphalosporines	>5%
		polymyxine	>5%
		inhibiteurs de l'enzyme de conversion	>5%
		anti-inflammatoires non stéroïdiens	>5%
		analgésiques opiacés	>5%

Nature de la réaction	Type	Molécules impliquées	Fréquence
Urticaire (suite)		hydralazine	+
		atropine	+
		quinine	+
		pentamidine	+
		produits de contraste	>5%
Anaphylaxie	Immunologique	pénicilline	+++
		produits de contraste	+++
		anti-inflammatoires non stéroïdiens	++
		anesthésiques locaux	+
		anesthésiques généraux	+
		mannitol	++
Purpura iatrogénique	Immunologique	héparines	+++
		méprobamate	rare
		carbamazépine	rare
		quinine	+
		quinidine	+
Erythrodermie et Dermatite exfoliative	Immunologique	sulfamides	+++
		antimalariques	+++
		pénicilline	+++
		acide para-aminosalicylique	
		allopurinol	
		ampicilline	
		barbituriques	
		captopril	
		carbamazépine	
		cefoxitime	
		chlorpromazine	
		cimétidine	
		diltiazem	
		isoniazide	++
		hydantoïne	
		lithium	
		nitrofurantoïne	
		phénylbutazone	+
		quinidine	

Nature de la réaction	Type	Molécules impliquées	Fréquence
Erythrodermie et Dermatite exfoliative (suite)		sels d'or	
		streptomycine	+
		sulfonylurée	
Maladie sérique	Immunologique	sérums hétérologues	++
		aspirine	++
		pénicilline	++
		streptomycine	+
		sulfamides	+
		immunoglobulines	+
Erythème polymorphe	Immunologique	sulfamides	<1%
		barbituriques	<1%
		dérivés pyrazolés	<1%
		rifampicine	<1%
		pénicilline	<1%
		hydantoïne et dérivés	<1%
		carbamazépine	<1%
		phénothiazine	<1%
		chlorpropamide	<1%
		diurétiques thiazidiques	<1%
		D-pénicillamine	<5%
		fenbrufène	<1%
		miansérine	<1%
		sulindac	<1%
		ceftazidine	<1%
		progestérone	<1%
		baume du pérou	<1%
		éconazole	<1%
		néomycine	<1%
		scopolamine	<1%
prométhazine	<1%		
Syndrome de Stevens- Johnson	Immunologique	sulfamides	+++
		pénicilline	+++
		tétracyclines	+++
		anti-inflammatoires non stéroïdiens	++

Nature de la réaction	Type	Molécules impliquées	Fréquence
Nécrolyse épidermique toxique	Immunologique	sulfamides	<1%
		pénicillines	<1%
		tétracyclines	<1%
		éthambutol	rare
		isoniazide	<1%
		streptomycine	<1%
		anti-inflammatoires non stéroïdiens	<1%
		antiépileptiques	<1%
		allopurinol	<1%
		chlorpromazine	<1%
		griséofulvine	rare
		sels d'or	<1%
		vaccins	<1%
Erythème pigmenté fixe	Immunologique	pénicillines	<1%
		érythromycine	<1%
		tétracyclines	<1%
		cotrimoxazole	<1%
		triméthoprime	<1%
		nystatine	<1%
		griséofulvine	<1%
		dapsone	<1%
		métronidazole	<1%
		quinine	<1%
		barbituriques	<1%
		opiacés	<1%
		benzodiazépines	<1%
		antiépileptiques	<1%
anti-inflammatoires non stéroïdiens	<1%		
hydalazine	<1%		
Eczéma de contact	Immunologique	ampicilline	+
		aspirine	+
		codéine	+
		phénobarbital	+
		nystatine	+
		hydroxyquinone	+

Nature de la réaction	Type	Molécules impliquées	Fréquence
Eczéma de contact (suite)		méthildopa	rare
		allopurinol	rare
		indométacine	rare
		sulfamides	rare
		sels d'or	rare
		quinine	rare
		chloramphénicol	rare
		clonidine	rare
		bléomycine	rare
Photosensibilité	Immunologique	antihistaminiques	++
		chlorpromazine	++
		anesthésiques locaux	++
		hydrocortisone	+
		acide para-aminosalicylique	+
		phénothiazines	+
		sulfamides	+
		griséofulvine	+
		quinine	+
		anti-inflammatoires non stéroïdiens	+
		désinfectants	+
		écrans solaires	+
		Vascularite	Immunologique
dérivés thiazidiques	++		
phénylbutazone	++		
sulfamides	++		
quinidine	++		
hydralazine	++		
furosémide	++		
propylthiouracile	++		
anti-inflammatoires non stéroïdiens	++		
cimétidine	++		
warfarine	++		
amiodarone	++		
produits de contraste	++		

Nature de la réaction	Type	Molécules impliquées	Fréquence
Vascularite (suite)		produits de désensibilisation	++
		vitamine B6	++
		vaccin BCG	++
		allopurinol	+
		acide aminosalicylique	+
		aspirine	+
		amphétamines	+
		captopril	+
		érythromycine	+
		fluoroquinolones	+
		griséofulvine	+
		méthotrexate	+
		streptomycine	+
		tétracyclines	+
warfarine	+		
Eruptions lichénoïdes	Immunologique	bêtabloquants	++
		diurétiques thiazidiques	++
		sels d'or	++
		captopril	++
		antimalariques	++
		quinidine	++
		pénicillines	++
		phénothiazines	+
		acide para-aminosalicylique	++
		chlorpropamide	++

### 2.2.2. Influence génétique.

Certains groupes du système HLA sont plus fréquemment rencontrés lors d'allergies médicamenteuses (102).

Nous citerons pour exemples :

- l'association HLA DRw2/DRw3 chez les patients sensibilisés à la pénicillamine,
- la présence d'HLA B12 dans le syndrome de Lyell,
- la présence d'HLA B22 Cw1 dans l'érythème pigmenté fixe,
- la relation allopurinol et HLA A33 B17 / B58,
- la relation sels d'or et HLA Bw35,
- l'association HLA et le couple maladie / médicament : syndrome de Lyell et sulfamides : HLA A29 B12 DR7.

Les déficits enzymatiques sont impliqués dans l'apparition plus fréquente de réactions cutanées médicamenteuses. C'est le cas des acétyleurs lents qui ne produisent que très peu de métabolites N-acétylés non toxiques. Il en résulte soit une accumulation de médicament, soit la formation de métabolites toxiques par d'autres voies métaboliques majorant le risque de réaction.

Le déficit en glucose-6-phosphate-déshydrogénase induit des porphyries avec réactions cutanées.

Le déficit en époxyde-hydrolase pourrait expliquer des cas d'hypersensibilité aux anticonvulsivants.

Par contre, le terrain atopique ne semble pas jouer un rôle majeur dans la survenue de toxidermies (24).

Pour l'érythème polymorphe, le syndrome de Stevens-Johnson, la nécrolyse épidermique toxique et les réactions bulleuses, il existerait une prédisposition génétique en rapport avec le système HLA DR (16).

L'origine immunologique est certaine avec un terrain génétique favorisant (groupes HLA A29, B12, DR7) pour les sulfamides. C'est une réaction du greffon contre l'hôte, réaction médiée par les cellules T (lymphocytes T helpers/inducteurs) (25).

## 2.3. MECANISMES IMMUNITAIRES DES TOXIDERMIES.

Les mécanismes immunitaires des toxidermies relèvent pour la plupart de la classification de Gells et Coombs.

### 2.3.1. Réactions dues à des anticorps.

#### 2.3.1.1. Réaction de type I : hypersensibilité immédiate, IgE dépendante.

Un antigène présent dans l'organisme va être fixé par les IgE elles-mêmes fixées sur les mastocytes par leur fraction Fc. Il s'en suit une réaction soit immédiate, soit retardée (quelques heures à quelques jours (25)), on parle alors de réaction accélérée (quelques heures), de réaction IgE dépendante retardée (un jour ou plus), ou de réaction récurrente (plusieurs semaines). Il se produit une dégranulation cellulaire avec libération des médiateurs pharmacologiques de l'inflammation comme l'histamine, les prostaglandines, les leucotriènes, le facteur d'activation plaquettaire, des facteurs chimiotactiques pour les polynucléaires éosinophiles et neutrophiles. Le retard de la réaction est dû à la présence d'anticorps bloquants (125).

Ce phénomène de réaction IgE-dépendante a été montré avec :

- les pénicillines (chaînes latérales ou noyau benzyl-pénicilloyl),
- l'insuline,
- des protéines d'immuns sérums,
- la chymopapaïne.

L'expression cutanée de ce type de réaction est l'urticaire.

#### 2.3.1.2. Réaction de type II : hypersensibilité par cytotoxicité dépendant d'anticorps.

C'est un mécanisme de destruction cellulaire. Les antigènes présents à la surface de la cellule vont être complexés par les anticorps de type IgG ou IgM. Les cellules phagocytaires se fixent sur la partie C3b du complément ou sur la partie Fc des IgG, entraînant ainsi la lyse de la cellule. Cette destruction peut également se faire par activation de toute la cascade du complément. Les médicaments devenus antigéniques vont relever de ce mécanisme (11,25,125).

Ce type de réaction induit des pathologies hématologiques comme le purpura thrombocytopénique, avec retentissement cutané. Il s'observe par exemple avec la quinine et les cytostatiques.

### 2.3.1.3. Réaction de type III : hypersensibilité due à des complexes immuns.

Ce type de réaction se produit lorsque les taux d'antigènes et d'anticorps dans l'organisme sont élevés. Il y a formation de complexes antigènes-anticorps insolubles précipitant dans l'organisme. Ces complexes vont soit induire l'activation du complément avec libération de fragments C3a et C5a (anaphylatoxines) et l'attraction des polynucléaires libérant des enzymes, soit provoquer une agrégation plaquettaire avec formation de microthrombus et libérations d'amines vasoactives depuis les mastocytes et les basophiles. Histologiquement, il apparaît une vascularite leucocytoclasique. Cliniquement, se développent des réactions œdémateuses et érythémateuses, une urticaire, ou plus volontiers un purpura. Les vascularites, la maladie sérique appartiennent à ce type d'hypersensibilité (11,25,125).

Ce type de manifestation a été décrit avec la phenylbutazone, les dérivés thiazidiques et la pénicilline G.

### **2.3.2. Réactions à médiation cellulaire.**

Les réactions médicamenteuses cutanées relèvent de ce type de réaction immunologique. On cherche lors de la pose de tests épicutanés à provoquer une réaction d'hypersensibilité retardée de contact.

Il existe trois types d'hypersensibilité retardée :

- hypersensibilité retardée de contact,
- hypersensibilité retardée tuberculique,
- hypersensibilité retardée granulomateuse.

La réaction de type IV : hypersensibilité à médiation cellulaire retardée.

Elle se rencontre souvent dans les réactions allergiques à certaines bactéries, virus, champignons ou à des produits chimiques. Mantoux a décrit cette réaction par injection sous-cutanée de tuberculine chez un patient ayant contracté la tuberculose. Il s'en est suivi une réaction immunologique.

C'est une stimulation spécifique d'antigènes des lymphocytes T sensibilisés provoquant une réaction inflammatoire et des lésions tissulaires (induration, érythème) apparaissant dans les 12 heures suivant l'administration de l'antigène pour atteindre leur maximum en 48 heures et pouvant persister ultérieurement. Les lymphocytes T activés vont sécréter des lymphokines qui entraînent un afflux de macrophages, de polynucléaires, de lymphocytes (11,125).

Histologiquement, il y a une infiltration périvasculaire de cellules mononuclées avec une exsudation plus étendue de mono et polynucléaires. Ces derniers migrent hors de la lésion et laissent un infiltrat de cellules mononuclées (125).

L'érythème polymorphe, la nécrolyse épidermique toxique, les réactions lichénoïdes, certaines éruptions morbilliformes, le syndrome pseudo-lupique et l'eczéma sont des réactions d'hypersensibilité de type IV (25).

Le tableau II schématise les réactions immunologiques en cause selon le type de réaction cutanée toxique.

TABLEAU II : Mécanisme immunologique des toxidermies (59).

Mécanisme immunologique	Toxidermie
Type I	Urticaire (parfois)
Type III	Vascularite, Purpura Maladie sérique
Type IV	Exanthème maculo-papuleux Erythème pigmenté fixe Eruptions lichénoïdes Erythème polymorphe Syndrome de Lyell Syndrome de Stevens-Johnson Epidermolyse

### 2.3.3. Réactions auto-immunes.

Certains médicaments induisent des réactions auto-immunes à expression partiellement cutanée comme :

- le pemphigus ou la pemphigoïde bulleuse,
- le lupus érythémateux.

Le mécanisme est mal connu. On évoque :

- la formation d'auto-antigènes,
- l'induction d'une dysrégulation immunitaire (25).

### **3. DIAGNOSTIC D'UNE TOXIDERMIE.**

Le diagnostic de l'allergie médicamenteuse repose avant tout sur un interrogatoire précis et minutieux. La démarche suivante a été établie par le Dr Barbaud (12), dermatologue à l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.

#### **3.1. GENERALITES CONCERNANT LE DIAGNOSTIC D'UNE ALLERGIE MEDICAMENTEUSE.**

##### **3.1.1. L'interrogatoire.**

Il permet au médecin d'établir la probabilité d'une allergie médicamenteuse et d'envisager un bilan de toxidermie afin de confirmer le diagnostic ; il doit faire l'historique médicamenteux complet du patient afin d'éviter tout oubli.

Le médecin doit :

- réaliser le diagnostic dermatologique clinique (érythème polymorphe, vascularite, pustulose exanthématique), avec description des lésions cutanées, muqueuses, phanériennes,
- établir les antécédents médicaux, chirurgicaux, immuno-allergiques (terrain atopique), et familiaux du patient,
- établir la chronologie des prises médicamenteuses ; pour chaque médicament, il faut connaître les dates de début et de fin de traitement, la posologie, le nom commercial précis, la forme galénique et le dosage exact, ceci permettra d'obtenir la composition des médicaments (principes actifs et excipients),
- évaluer l'automédication des patients (le type d'antalgique utilisé en cas de douleurs, les fortifiants, les médicaments homéopathiques ou phytothérapeutiques, les pastilles à sucer), les prises de médicaments non signalées comme la prise d'oestrogénostatifs, les collyres, les anorexigènes, les vaccinations, les somnifères et autres tranquillisants, les sirops, les sprays pour pulvérisations nasales ou buccales, s'il y a eu des soins dentaires pratiqués pendant l'apparition des symptômes cliniques (anesthésiques locaux...),

- interroger le patient sur ses habitudes de vie quotidienne (travail, toilette, loisirs, bricolage, jardinage...) afin d'infirmier un autre type d'allergie ou des réactions croisées.

### **3.1.2. Les critères d'imputabilité.**

Devront être également évalués les critères d'imputabilité du ou des médicaments supposés responsables. C'est une démarche probabiliste qui repose, selon la Pharmacovigilance Française, sur la distinction entre imputabilité « intrinsèque » et imputabilité « extrinsèque ».

L'imputabilité « intrinsèque » reflète le lien de causalité entre l'accident observé et le ou les médicaments pris par le malade. Pour se faire, il faut quantifier deux types de critères :

- les critères chronologiques notés C0 à C3,
- les critères sémiologiques notés S1 à S3.

Les critères chronologiques analysent :

- le délai d'apparition des manifestations cliniques,
- l'évolution après arrêt du médicament,
- les récurrences en cas de réintroduction accidentelle du médicament (82,113).

Les critères sémiologiques posent les questions suivantes :

- la sémiologie est-elle évocatrice du rôle de ce médicament ?
- existe-t-il un facteur favorisant et bien validé ?
- existe-t-il une autre explication non médicamenteuse ?
- s'il existe un examen complémentaire spécifique et fiable en faveur du rôle causal du médicament, est-il positif, négatif (82) ?

Les critères chronologiques et sémiologiques sont variables d'une pathologie à l'autre (82,113).

L'imputabilité « extrinsèque » notée B0 à B3 (exclue, douteuse, plausible, vraisemblable) reflète la connaissance d'accidents similaires attribués au médicament incriminé dans la littérature et dans les dossiers de pharmacovigilance (82,113).

### **3.1.3. Le bilan biologique.**

Il est indispensable à la prise en charge d'une toxidermie et sera adapté à chaque type de toxidermie. Il comprend une numération formule sanguine, la mesure de la vitesse de sédimentation, le dosage des phosphatases alcalines, des transaminases, de la bilirubine, de l'urée et de la créatinine. Certaines sérologies virales doivent être recherchées ; en effet, les infections virales provoquent une perturbation transitoire du métabolisme des médicaments par une stimulation immunologique non spécifique. Il en résulte une hyperactivité des systèmes enzymatiques et une perturbation du métabolisme des médicaments.

Par exemple, dans une urticaire, il faut rechercher les virus des hépatites ; pour l'exanthème maculo-papuleux, le parvo-virus et l'Epstein Barr Virus ; pour le syndrome de Lyell ou l'érythème polymorphe, le cytomégalovirus. Certaines toxidermies sont associées au VIH ; il s'agit le plus souvent d'éruptions maculo-papuleuses, d'urticaire, de syndrome de Lyell ou de Stevens-Johnson (151).

Un examen cyto bactériologique des urines complétera ce bilan (12).

### **3.1.4. Le bilan histologique.**

L'histologie montre en microscopie optique, dans les toxidermies, une altération des kératinocytes des assises basales (satellite cell necrosis) et une vascularite leucocytoclasique. Un examen en immunofluorescence sera réalisé principalement en cas d'éruption bulleuse pour différencier une pemphigoïde bulleuse d'un pemphigus ou d'une dermatite herpétiforme (1).

Cependant, les modifications histologiques remarquées à la biopsie ne permettent pas d'affirmer l'origine médicamenteuse de l'anomalie cutanée (25).

### **3.1.5. Les tests diagnostiques *in vivo*.**

Ils se composent de :

- tests épicutanés (ou patch-tests),
- tests intra-épidermiques (ou prick-tests),
- intradermo-réactions (IDR ou tests intra-dermiques).

Nous nous attacherons plus loin au développement de l'intérêt et de la pratique des tests épicutanés. Les prick-tests et IDR ne sont pratiqués qu'en cas de négativité des précédents.

## **3.2. INTERET DES TESTS EPICUTANES DANS LE DIAGNOSTIC D'UNE TOXIDERMIE.**

### **3.2.1. Rappels.**

Les tests épicutanés ou patch-tests sont des tests d'exploration *in vivo* des réactions d'hypersensibilité de type IV (de type dermatite de contact). Ils possèdent un intérêt lorsque la clinique évoque ce type de réaction. La sensibilité des tests épicutanés varie de 28 à 40% (12,82).

Les toxidermies allergiques médicamenteuses qui traduisent une réaction d'hypersensibilité retardée susceptibles d'être investiguées par les tests épicutanés sont :

- les eczémas généralisés par réactivation systémique,
- les exanthèmes maculo-papuleux médicamenteux,
- les érythrodermies médicamenteuses,
- les pustuloses exanthématiques aiguës généralisées,
- les éruptions lichénoïdes médicamenteuses,
- l'érythème pigmenté fixe,
- les photo-allergies médicamenteuses,
- le syndrome de Lyell,
- l'érythème polymorphe (12,82,87).

Dans le cas d'exanthèmes maculo-papuleux avec ou sans purpura suite à une prise d'amoxicilline, Barbaud et coll. (13) ont montré la pertinence des tests épicutanés. Six patients testés sur dix ont eu des réactions positives. De même, cinq patients ont présenté un rash maculo-papuleux et quatre une érythrodermie suite à la prise de pristinamycine. Les tests épicutanés réalisés se sont tous révélés positifs sauf dans un cas d'érythrodermie. Enfin, il est possible de trouver des réactions positives lors des tests épicutanés dans le cas d'un eczéma généralisé suite à la prise de triamcinolone, d'énoxaparine ; un rash maculo-papuleux suite à la prise de pseudoéphédrine, de carbamazépine, de diltiazem (15) ; une érythrodermie suite à la prise de captopril, d'hydroxyzine (13).

Toutefois, il existe des réactions négatives aux tests épicutanés, même lorsque l'on est en présence d'un exanthème maculo-papuleux (cyamémazine, norfloxacine, érythromycine, isoniazide, acide pipémidique, co-trimoxazole), d'un eczéma généralisé (oestradiol, amoxicilline). Dans cette étude, les tests épicutanés ont été réalisés à 30% en principe actif avec comme excipient l'eau et / ou la vaseline. Les résultats ont été rapportés à un groupe de « témoins négatifs », les tests réalisés chez ces patients étant négatifs (18).

La sensibilité des résultats varie en fonction de la molécule responsable et de la séméiologie rencontrée. Les meilleurs résultats sont obtenus avec les synergistines, les bêta-lactamines, la carbamazépine, le tétrazépam et les héparines.

La physiopathologie des toxidermies n'est pas toujours connue. Aussi, la mise en œuvre systématique des tests épicutanés et des prick-tests est justifiée.

Cependant, toute réaction positive lors de tests épicutanés sera significative que si elle est pertinente par rapport à l'histoire clinique (87).

### 3.2.2. Revue de la littérature par rapport au bilan des toxidermies et des tests effectués.

Devant l'intérêt présumé des tests épicutanés dans le bilan diagnostique d'une toxidermie, nous avons voulu faire une revue de la littérature. Les résultats sont regroupés dans le tableau III (pages 45 à 56) (recherche MEDLINE 1992-1997).

TABLEAU III : Résultats de tests épicutanés de différentes molécules dans différents excipients.

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Aciclovir	30% vaseline	+		+	18
Aciclovir	30% eau	+		+	18
Aciclovir	pur	+		+	18
Acide pipémidique	30% vaseline	-		-	18
Acide pipémidique	30% eau	-		-	18
Acide pipémidique	pur	-		-	18
Acide tiaprofénique	5% vaseline	négatif			116
Amiodarone	pure	-		-	18
Amiodarone	30% eau	-		-	18
Amoxapine	10% vaseline	+			109
Amoxapine	1% vaseline	+			109
Amoxapine	0,1% vaseline	+			109
Amoxapine	0,01% vaseline	+			109
Amoxicilline	5% vaseline	30/33 positifs			126
Amoxicilline	5% eau	++		++	48
Amoxicilline	30% vaseline	6/17 positifs		7/17 positifs	18
Amoxicilline	30% eau	6/17 positifs		7/17 positifs	18
Amoxicilline	pure	6/17 positifs		7/17 positifs	18

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Ampicilline	5% vaseline	30/33 positifs			126
Ampicilline	5% eau	++		++	48
Ampicilline	5% vaseline	positif	positif		127
Articaïne	pure	-		-	18
Articaïne	30% eau	-		-	18
Béclométhasone dipropionate	1% éthanol	+		++	148
Béclométhasone dipropionate	1% éthanol	positif			21
Benzalkonium chlorure	0,1% eau	++		-	50
Benzylpenicilline	5000UI/g dans vaseline	3/33 positifs			126
Béthaméthasone dipropionate	1% éthanol	-		+	148
Béthaméthasone dipropionate	5% vaseline	positif			21
Béthaméthasone valérate	1% éthanol	-		+	148
Béthaméthasone valérate	5% vaseline	positif			21
Budésonide	1% vaseline	positif			21
Budésonide	1% éthanol	+		++	148
Budésonide	0,5% éthanol	+		++	148
Budésonide	0,1% éthanol	+		++	148
Budésonide	5% vaseline	+		++	148
Budésonide	1% vaseline	+ / -		++ / +++	49,14
Budésonide	0,5% vaseline	+		++	148
Budésonide	0,1% vaseline	+		++	148

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Captopril	10% eau		++		30
Captopril	30% eau	0		+	18
Captopril	30% vaseline	0		+	18
Captopril	pur	0		+	18
Captopril	10% eau	++			27
Carbamazépine	5% vaseline	++		++	125
Carbamazépine	1% vaseline	positif			135
Carbamazépine	éthanol 95°	négatif			130
Carbamazépine	3% eau			variables selon	4
Carbamazépine	10% eau			pathologie	4
Carbamazépine	3% vaseline			variables selon	4
Carbamazépine	10% vaseline	-	-	pathologie	4,130
Carbamazépine	3% éthanol 70°			variables selon	4
Carbamazépine	10% éthanol 70°			pathologie	4
Carbamazépine	pure	+++			27
Carbamazépine	1% acétone	+++			27
Carbamazépine	1% vaseline	+++			27
Carbamazépine	2% vaseline	+++			27
Carbamazépine	5% vaseline	+++			27
Carbamazépine	10% vaseline	+++			27
Carbamazépine	30% vaseline	-		-	18
Carbamazépine	30% eau	-		-	18
Carbamazépine	pure	-		-	18
Carbamazépine	30% vaseline	+		+	18
Carbamazépine	30% eau	+		+	18
Carbamazépine	pure	+		+	18
Cefamandole	20% vaseline	++ (3/18)			43
Cefapirine	30% vaseline	négatif (1 cas)		négatif (1 cas)	18
Cefapirine	30% eau	négatif (1 cas)		négatif (1 cas)	18
Cefapirine	pure	négatif (1 cas)		négatif (1 cas)	18
Cefazoline sodium	20% vaseline	++ (4/18)			43

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Cefmetazole sodium	20% vaseline	++ (2/18)			43
Cefodizime disodique	20% vaseline	++ (1/18)			43
Cefpodoxime	30% vaseline	négatif (1 cas)		négatif (1 cas)	18
Cefpodoxime	30% eau	négatif (1 cas)		négatif (1 cas)	18
Cefpodoxime	pur	négatif (1 cas)		négatif (1 cas)	18
Cefotaxime sodium	20% vaseline	++ (1/18)			43
Cefotetam disodique	20% vaseline	++ (4/18)			43
Cefotiam dihydrochloride	20% vaseline	++ (1/18)			43
Ceftazidine pentahydrate	20% vaseline	++ (1/18)			43
Ceftizoxime sodium	20% vaseline	++ (1/18)			43
Ceftriaxone sodium	20% vaseline	++ (1/18)			43
Cephalotine	5% eau	+++		+++	48
Cephalotine	0,5% eau	++		++	48
Cephalotine	20% vaseline	négatif			43
Chloramphénicol succinate	10% eau	++		++	141
Chloramphénicol succinate	20% eau	++		++	141
Chloramphénicol succinate	5% vaseline	positif			141
Chlorpromazine	0,1% vaseline	positif (2 +)			27
Chlorquinaldol	3% vaseline	positif			2
Chlorquinaldol	5% vaseline	positif			2
Clobazam	vaseline	positif à 36h			95

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Clobétasol butyrate	1 % éthanol	-		+	148
Clobétasol propionate	1 % éthanol	-		+	148
Clobétasol propionate	0,5% vaseline	positif			21
Cloxacilline	30% vaseline	négatif		positif	18
Cloxacilline	30% eau	négatif		positif	18
Cloxacilline	pure	négatif		positif	18
Codéine phosphate	0,1% eau	++		++++	122
Colchicine	30% vaseline	positif à 1 heure			106
Cotrimoxazole	pur	-		-	18
Cotrimoxazole	30% eau	-		-	18
Cyamemazine	30% eau	-		-	18
Cyamemazine	pure	-		-	18
Desoxymethasone	1 % éthanol	-		+	148
Desoxymethasone	1% vaseline	positif			21
Diclofénac	solution de 75 mg/ml	positif	positif		129
Diltiazem	1% vaseline	++		++	135
Diltiazem	1% eau	+ / ++		++ / ++	135
Diltiazem	30% eau	0		++	18
Diltiazem	30% vaseline	0		++	18
Diltiazem	pur	0		++	18
D-pénicillamine	1% eau		++		31
D-pénicillamine	2,5% eau		+++		31
D-pénicillamine	3% eau		+++		31

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Doxycycline	30% eau	-		-	18
Doxycycline	pure	-		-	18
Enoxolone	10% vaseline	++		+++	40
Enoxoparine	pure	- (2 cas)		- (2 cas)	18
Enoxoparine	30% eau	- (2 cas)		- (2 cas)	18
Enoxoparine	pure	+		+	18
Enoxoparine	30% eau	+		+	18
Erythromycine	30% eau	-		-	18
Erythromycine	30% vaseline	-		-	18
Erythromycine	pure	-		-	18
Famotidine	> 10 mg/ml eau	+++			108
Famotidine	10 mg/ml eau	+++ / ++			108
Famotidine	< 10 mg/ml eau	-			108
Fénoprofène	5% vaseline	positif			116
Fepradinol	2% éthanol	+		++	53
Fepradinol	1% éthanol	-		-	53
Fepradinol	0,1% éthanol	-		-	53
Fepradinol	2% vaseline	-		-	53
Fepradinol	1% vaseline	-		-	53
Fepradinol	0,1% vaseline	-		-	53
Fluocinolone acétonide	1% éthanol	-		+	148
Fluocinolone acétonide	1% vaseline	positif			21
Fluocinonide	1% éthanol	?+		++	148
Flurbiprofène	pur	++	++		128
Flurbiprofène	5% vaseline	positif			116

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Fluvoxamine	30% eau	-		-	18
Fluvoxamine	30% vaseline	-		-	18
Fluvoxamine	pure	-		-	18
Fusafungine	30% eau	+		+	18
Fusafungine	30% vaseline	+		+	18
Fusafungine	pure	+		+	18
Glibenclamide	30% eau	-		-	18
Glibenclamide	30% vaseline	-		-	18
Glibenclamide	pur	-		-	18
Héparine	30% eau	-		-	18
Héparine	pure	-		-	18
Hydrocortisone 17 Butyrate	1% éthanol	+		+	148
Hydrocortisone 17 Butyrate	0,5% éthanol	+		+	148
Hydrocortisone 17 Butyrate	0,1% éthanol	+		+	148
Hydrocortisone 17 Butyrate	5% vaseline	-		+	148
Hydrocortisone 17 Butyrate	1% vaseline	-		+	148
Hydrocortisone 17 Butyrate	0,5% vaseline	-		+	148
Hydrocortisone 17 Butyrate	0,1% vaseline	-		+	148
Hydrocortisone sodium succinate	1,5% éthanol	positif			21
Hydroquinidine	30% eau	-		-	18
Hydroquinidine	30% vaseline	-		-	18
Hydroquinidine	pure	-		-	18
Hydroxyzine	30% eau	+		+	18
Hydroxyzine	30% vaseline	+		+	18
Hydroxyzine	pure	+		+	18

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Ibuprofène	5% vaseline	positif			116
Indeloxazine hydrochloride	20% vaseline	++			83
Indeloxazine hydrochloride	10% vaseline	++			83
Indeloxazine hydrochloride	1% vaseline	+			83
Indeloxazine hydrochloride	0,1% vaseline	+			83
Iopamidol	50% vaseline		++		153
Isépamicine	10% eau	positif			70
Isoniazide	30% eau	-		-	18
Isoniazide	30% vaseline	-		-	18
Isoniazide	pur	-		-	18
Josamycine	30% eau	-		-	18
Josamycine	30% vaseline	-		-	18
Josamycine	pure	-		-	18
Kétoprofène	2,5 et 5% vaseline	positif			116
Lidocaïne	10% vaseline	-			80
Lidocaïne	20% vaseline	+			80
Mesna	50% vaseline	-	-		154
Mesna	0,1% vaseline	-	-		154
Methoxsalen	pur	-		-	18
Methoxsalen	eau	-		-	18
Methylprednisolone acétate	1% éthanol	?+		+	148
Métronidazole	2% vaseline			+++	74
Mitomycine	0,1% vaseline	++		4 +	37

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Mycostatine	30000UI/g propylène-glycol	++			27
Mycostatine	90000UI/g propylène-glycol	+++			27
Néomycine	5% eau	50% de réponses			66
Néomycine	5% vaseline	positives			66
Néomycine	20% eau	+++			66
Néomycine sulfate	20% vaseline	+++			27
Nicotine base	30% eau		++		39
Nicotine base	10% eau		++		39
Nicotine base	3% eau		++		39
Nicotine base	1% eau		-		39
Nicotine base	0,3% eau		-		39
Nicotine base	0,1% eau		-		39
Norfloxacine	10% vaseline	négatif			41
Norfloxacine	30% vaseline	-		-	18
Norfloxacine	30% eau	-		-	18
Norfloxacine	pure	-		-	18
Nystatine*	100000 UI /g vaseline				137
Nystatine*	100000 UI /l eau				137
Nystatine*	100000 UI /g paraffine liquide				137
Nystatine*	90000 UI/g peg 400				137
Nystatine*	30000 UI/g peg 400				137
Nystatine*	5 UI/ml 10% propylène-glycol				137
Nystatine*	1 à 100000 UI/g vaseline				137

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
17 bêta-Oestradiol	1% éthanol 96°		+		22
17 bêta-Oestradiol	2% éthanol 96°		+		22
17 bêta-Oestradiol	4% éthanol 96°		++		22
Oestradiol	pur	-		-	18
Oestradiol	30% eau	-		-	18
Oestradiol	30% vaseline	-		-	18
Oxyphenbutazone	5% vaseline	-	-		81
Oxyphenylbutazone	5% vaseline	++			27
Paracétamol pur	30% vaseline	++			71
Paracétamol sirop	30% vaseline	++			71
Paracétamol suppositoires	30% vaseline	+++			71
Paracétamol	pur	-		-	18
Paracétamol	30% vaseline	-		-	18
Paracétamol	30% eau	-		-	18
Pénicilline G	10000UI/g vaseline	++ (1/18)			43
Pénicilline G	30% eau	0		+	18
Pénicilline G	30% vaseline	0		+	18
Pénicilline G	pure	0		+	18
Phénylbutazone	2% vaseline	-			152
Phénylbutazone	2% vaseline	++	++		81
Phénylbutazone	1% vaseline	++			27
Phénylbutazone	5% vaseline	++			27
Phénylbutazone	10% vaseline	++			27
Phényléphrine	1% vaseline	+			99
Pholcodine	pure	-		-	18
Pholcodine	30% vaseline	-		-	18
Pholcodine	30% eau	-		-	18

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Phytoménadione (vit K1)	1% eau	-	-		61
Piperazine	1% eau	++			27
Piroxicam	1% vaseline	positif			51
Piroxicam	pur	-		-	18
Piroxicam	30% vaseline	-		-	18
Piroxicam	30% eau	-		-	18
Pravastatine	pure	positif	positif		23
Prednisolone	5% vaseline	positif			21
Pristinamycine	500mg/ml eau	positif			104
Pristinamycine	30% eau	6/9 positifs		8/9 positifs	18
Pristinamycine	30% vaseline	6/9 positifs		8/9 positifs	18
Pristinamycine	pure	6/9 positifs		8/9 positifs	18
Pseudoephedrine	pure	++		++	18
Pseudoephedrine	30% vaseline	++		++	18
Pseudoephedrine	30% eau	++		++	18
Pyrazinamide	10% éthanol	+++		+++	27,52
Pyrazinamide	1% éthanol	++		++	27,52
Pyrazinamide	10% eau	-		-	27,52
Pyrazinamide	1% eau	-		-	27,52
Simvastatine	pure	-		-	18
Simvastatine	30% vaseline	-		-	18
Simvastatine	30% eau	-		-	18
Spiramycine	30% eau	-		-	18
Spiramycine	30% vaseline	-		-	18
Spiramycine	pure	-		-	18

Molécule	Véhicule / Concentration	Résultat à 48 h	Résultat à 72 h	Résultat à 96 h	Référence
Spironolactone	eau à saturation	++	+++		32
Spironolactone	1% vaseline	+	++		32
Spironolactone	1% éthanol	++	++		32
Spironolactone	5% éthanol	+	++		32
Sulfaméthoxazole	10% vaseline (peau lésée)	+++		-	111
Sulfaméthoxazole	peau adjacente des lésions	++		-	111
Sulfaméthoxazole	peau saine	-		-	111
Sulfasalazine	10% vaseline	positif			79
Sulfasalazine	1% vaseline	négatif			79
Tétrazépam	1% eau	++		++	112
Tétrazépam	pur	++			27
Tétrazépam	1% eau	++			27
Tétrazépam	30% eau	-		-	18
Tétrazépam	30% vaseline	-		-	18
Tétrazépam	pur	-		-	18
Tétrazépam	30% eau	+		+	18
Tétrazépam	30% vaseline	+		+	18
Tétrazépam	pur	+		+	18
Triamcinolone acétonide	1% éthanol	-		variable	148
Triamcinolone acétonide	1% vaseline	positif			21
Triamcinolone	1% vaseline	++		++	18
Triamcinolone	pure	++		++	18
Virginiamycine	0,5% pommade	positif			104

\* Remarque : Pour la nystatine, les meilleurs résultats sont obtenus dans les PEG. Aucun résultat n'est disponible dans la référence 137.

L'analyse de ces données fait apparaître que les résultats des tests épicutanés sont inconstants. Plusieurs facteurs d'influence peuvent être mis en évidence. Il s'agit par exemple :

- du délai de lecture (réaction se positivant tardivement),
- de la concentration du principe actif,
- de la nature de l'excipient utilisé,
- de la toxidermie concernée.

#### 3.2.2.1. Rôle de la concentration.

Nous y reviendrons ultérieurement (chapitre 4.6.4.).

Nous pouvons déjà dire qu'une molécule très diluée dans un excipient peut donner une réaction négative alors que peu diluée, le test est positif ; c'est le cas avec la nicotine base (39).

#### 3.2.2.2. Influence pour certaines molécules de l'excipient utilisé.

Nous ne parlerons ici que des tests montrant des résultats différents selon l'excipient utilisé. C'est le cas avec :

- la carbamazépine,
- 17-butyrate d'hydrocortisone,
- le triamcinolone acétonide,
- le budésonide,
- le mesna,
- le pyrazinamide,
- l'oestradiol.

#### - La carbamazépine.

La carbamazépine a été testée dans des excipients variés tels que :

- la vaseline à 30%, 10%, 5%, 3%, 2% et 1%,
- l'éthanol à 95° et 70° (3% et 10%),
- l'eau à 30%, 10%, 3%,
- l'acétone à 1%,
- pure.

Les résultats des tests épicutanés montrent que les préparations réalisées dans l'acétone (3+) sont préférables à celles réalisées dans l'éthanol (+ ou - variable). Dans la vaseline, les résultats des tests sont variables, des réactions positives peuvent être observées (2 ou 3+).

Avec l'eau, les résultats sont variables selon les pathologies.

La carbamazépine est une molécule lipophile. Cette molécule est plus soluble dans l'acétone que dans l'éthanol, et elle est insoluble dans l'eau (100).

#### - Les corticoïdes.

En ce qui concerne les corticoïdes, les résultats sont globalement meilleurs dans la vaseline que dans l'éthanol. Ceci est vrai pour :

- le dipropionate et le valérate de betaméthasone (5% dans la vaseline / 1% éthanol),
- le propionate de clobétasol (0,5% vaseline / 1% éthanol),
- la désoxyméthasone (1% vaseline / 1% éthanol),
- l'acétonide de fluocinolone (1% vaseline / 1% éthanol).

Pour ces molécules, les tests épicutanés sont positifs dès la première lecture dans la vaseline (48h), ils sont positifs plus tard avec l'éthanol (96h) (21).

Pour le 17-butyrate d'hydrocortisone testé à 1%, 0,5% et 0,1% dans l'éthanol, les résultats sont positifs dès 48h alors que dans la vaseline aux mêmes concentrations, ils sont négatifs (148).

Pour le triamcinolone, les résultats montrent une nette positivité des tests lorsque ceux-ci sont effectués dans la vaseline (++). Dans l'éthanol, ils sont négatifs ou douteux, ceci quelque soit la forme de triamcinolone testée.

Pour la prednisolone, le fluocinonide, le butyrate de clobétasol, l'hémisuccinate d'hydrocortisone sodique, l'acétate de méthylprednisolone, les résultats ne sont donnés que dans l'un ou l'autre des excipients.

Pour le budésonide, les résultats sont variables selon les séries. Pour Wilkinson et Beck (148), le budésonide donne des résultats positifs dans l'éthanol alors que pour Gonzalo et coll.,

les résultats sont négatifs dans l'éthanol ceci dans les mêmes excipients (à la concentration de 1%) (55).

Pour les corticoïdes, se pose donc le problème de la solubilité dans l'éthanol. En effet, de nombreux corticoïdes sont peu ou insolubles dans l'éthanol ; c'est le cas par exemple de l'acétate d'hydrocortisone, de l'acétonide de fluocinolone qui donnent des résultats positifs dans l'éthanol (104). Coldman et coll. ont montré qu'une solution supersaturée, obtenue par évaporation d'un solvant volatile augmentait fortement la pénétration des molécules à condition qu'il n'y ait pas cristallisation (85). Ce peut être le cas ici avec l'éthanol.

Les résultats diffèrent selon les auteurs. Toutefois, dans de nombreux cas, l'éthanol donne de meilleurs résultats comme excipient pour tester les corticoïdes, mais il ne faut cependant pas écarter la vaseline.

#### - Le mesna.

Le mesna a été testé dans la vaseline à deux concentrations différentes (0,1% et 50%). Dans les deux cas, la réaction a été négative. Des IDR ont ensuite été réalisées ; des réactions positives ont été observées chez tous les patients. Les IDR positives concluent à une sensibilisation au mesna alors que les tests épicutanés étaient négatifs.

Nous sommes donc en présence d'une non pénétration cutanée du mesna lorsque l'excipient utilisé est la vaseline (154).

#### - Le pyrazinamide.

En ce qui concerne cette molécule, les résultats des tests épicutanés sont positifs dans l'éthanol à 10% et 1% (3+ et 2+) alors que dans l'eau à 10% et 1%, ils ne le sont pas.

Cette molécule est faiblement soluble dans l'eau (1 pour 67), un peu plus dans l'éthanol.

Une présolubilisation de cette molécule dans un solvant organique (éthanol) semble indispensable pour une bonne pénétration cutanée (27,52).

- L'oestradiol.

Cette molécule a été testée dans différents excipients :

- dans l'éthanol à 96° à 4%, 2% et 1%,
- dans l'eau à 30%,
- dans la vaseline à 30%,
- pure.

Cette molécule, lipophile, est insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol.

Les résultats des tests épicutanés montrent des réactions positives (+ et ++) lorsque l'oestradiol est dilué dans l'éthanol à 96°.

- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

Tous les anti-inflammatoires non stéroïdiens testés, à part l'acide tiaprofénique, ont donné des réactions positives aux tests épicutanés avec la vaseline comme excipient. Dans la plupart des cas il s'agissait d'allergies de contact.

L'intensité des réactions est variable (3+ pour le diclofénac, 2+ pour le fénoprofène). Aucun autre excipient n'a été utilisé pour tester ces molécules. Il semble que la vaseline soit un bon véhicule pour favoriser le passage transcutané de ces molécules lipophiles.

3.2.2.3. Influence du type de toxidermie.

Pour l'énoxaparine, trois patients furent testés. L'un présentait un eczéma localisé, deux un eczéma généralisé. Les tests effectués sont négatifs chez le patient présentant l'eczéma localisé et chez l'un des deux patients présentant un eczéma généralisé.

En ce qui concerne la carbamazépine, les résultats des tests épicutanés sont variables selon les pathologies. Dans le cas d'un rash maculo-papuleux, les résultats sont négatifs mais s'il y a en plus un purpura, les tests deviennent positifs (4,130).

Les résultats des tests sont positifs dans les cas :

- d'érythrodermies,
- de rash maculo-papuleux avec prurit.

Les résultats des tests sont négatifs dans le cas d'une dermatite exfoliative.

Dans le cas de l'amoxicilline, les résultats des tests épicutanés sont plus souvent positifs lorsqu'il y a un rash maculo-papuleux que lorsque c'est une urticaire.

Enfin, les tests avec du tétrazépam donnent des résultats positifs lors d'un rash maculo-papuleux, négatifs lors d'un prurit.

#### - Conclusion.

Le type de toxidermie influe sur le résultat des tests épicutanés.

On peut déduire de ces résultats qu'il existe trois facteurs influençant la sensibilité des tests épicutanés. Ces facteurs sont les suivants :

- la molécule doit être peu soluble dans l'excipient retenu et doit être en concentration proche de la saturation,
- le délai de lecture (réactions tardives),
- le type de toxidermie.

Nous pouvons également constater à partir de ces données que la pénétration cutanée de la carbamazépine, de l'oestradiol et du pyrazinamide (molécules lipophiles) est meilleure si ces molécules sont diluées dans un solvant hydrophile comme l'éthanol (27,52,152).

Les excipients semblent jouer un rôle non négligeable dans la réactivité des tests épicutanés. Aussi, l'objectif de notre travail est d'étudier l'impact des différents excipients sur la pénétration cutanée des molécules médicamenteuses. Nous pourrions ainsi déterminer selon des critères bien définis, quels sont, pour une molécule médicamenteuse donnée, les excipients pertinents à utiliser lors de la réalisation de tests épicutanés.

### **3.3. REALISATION DES TESTS EPICUTANES.**

Le test épicutané consiste à mettre en contact l'allergène avec la peau afin de provoquer une réaction allergique de type hypersensibilité cellulaire retardée (type IV).

### **3.3.1. Technique.**

La technique la plus utilisée est la technique dite de la chambre finlandaise ou « Finn Chamber de Pirilä ». La substance à tester est placée dans une cupule en aluminium soit directement dans le cas d'un solide, soit sur un petit tampon de cellulose dans le cas d'un liquide.

Les chambres ainsi préparées sont appliquées sur la peau, dans le dos principalement. La peau ne doit pas présenter de lésions, ne doit pas avoir subi de traitement préalable. Les tests seront maintenus par un sparadrap hypoallergénique et les zones de tests repérées par exemple par un marqueur de type Dermotrace® (Novatech, France) afin de permettre une lecture aisée des résultats.

#### 3.3.1.1. Matériel.

Les chambres sont en métal dont la composition est :

- aluminium 99,6%,
- fer 0,3%,
- silicium 0,13%,
- cuivre 0,01%.

Avec 11 mm de diamètre extérieur et 8 mm de diamètre intérieur, ces chambres possèdent un volume de 25  $\mu$ l. Elles sont disposées en deux rangées sur une bande de sparadrap hypoallergénique de 50 mm de largeur. Les cupules sont espacées l'une de l'autre de 20 mm. Un bourrelet périphérique autour de la rondelle assure l'étanchéité nécessaire.

Selon Pirilä et Fischer, pour les produits semi-solides, les chambres doivent être remplies légèrement plus que la moitié (12 à 15  $\mu$ l). Pour les liquides, Pirilä (44) conseille de saturer la rondelle de cellulose (capacité 17  $\mu$ l) alors que Fischer estime que 15  $\mu$ l sont suffisant. Ce dernier estime qu'au bout de 45 à 75 minutes, l'évaporation des liquides est complète (44).

Ce type de chambre assure :

- une étanchéité parfaite,
- une application directe du matériel de test,
- un grand nombre de tests avec une faible surface utilisée.

Par contre, des cas d'allergies au sparadrap sont possibles et la lecture est difficile (44). De même, des réactions allergiques aux cupules métalliques existent ; des chambres non allergisantes en polyéthylène (Haye's test Chamber<sup>®</sup>, Isotec, France) représentent une alternative.

#### 3.3.1.2. Concentration et véhicule.

La concentration en substance à tester est un facteur déterminant car influençant le résultat. Il faut une concentration suffisamment importante pour déclencher une réaction mais suffisamment faible pour ne pas provoquer de réactions graves. Pour faire une première évaluation de l'intérêt des tests, les concentrations ont été fixées à 30% dans l'eau et la vaseline ; c'est la plus haute concentration qui permet d'avoir une bonne distribution du médicament dans son véhicule et donc une homogénéisation de la préparation utilisée pour le test épicutané (13). Pour certains médicaments, d'autres véhicules, comme l'alcool et le propylène-glycol ont aussi été utilisés, dilués à 10% dans l'eau le plus souvent.

#### 3.3.1.3. Modalités de préparation.

Selon la forme galénique de départ de la substance (gélule, comprimé, poudre, pommade, gel, crème, solution buvable huileuse ou non, solution injectable huileuse ou non), les protocoles de préparations seront différents :

- à partir de la spécialité pharmaceutique :
  - un comprimé ou une gélule ; la gélule sera ouverte, le comprimé sera broyé finement, l'excipient usuellement utilisé est la vaseline ; on obtient alors une suspension homogène par trituration au mortier.
  - une solution ; l'excipient utilisé sera fonction des critères de solubilité des principes actifs et des excipients ; le choix reposera sur l'éthanol, l'eau, l'acétone, l'huile d'olive ; le médicament à tester sera dilué dans l'un de ces véhicules.
- à partir du produit chimique pur : la préparation sera réalisée dans le véhicule approprié en fonction des propriétés de solubilité de la molécule à tester selon les mêmes modalités que précédemment.

La réalisation des préparations est assurée soit par un préparateur en pharmacie, soit par un interne en pharmacie.

### **3.3.2. Lecture des tests.**

Réalisées par les infirmières du secteur de Dermato-allergologie, les lectures se font 20 minutes après la pose des tests, puis à 24, 48, 96 heures et si possible une semaine après.

La cotation des tests est celle adoptée par l'ICDRG (International Contact Dermatitis Research Group) en 1979 :

- ?+ : douteux, érythème léger,
- + : réaction faiblement positive, érythème, infiltration,
- ++ : réaction fortement positive avec érythème et papules,
- +++ : réaction positive violente, réaction bulleuse,
- - : réaction négative,
- IR : réaction d'irritation.

### **3.3.3. Précautions à prendre.**

#### 3.3.3.1. Risque de réactivation d'une réaction généralisée à partir d'un test cutané.

Le risque de réactivation d'une réaction généralisée à partir d'un test cutané est toujours envisagé. Ces réactions sont rares avec les tests épicutanés mais leur possibilité nécessite une prudence lors de leur réalisation (12). Un choc anaphylactique est toujours possible en cas de forte allergie à la pénicilline par exemple. Une trousse d'urgence est nécessaire lors de la réalisation de ce type de test (82).

#### 3.3.3.2. Effets secondaires potentiels (44).

Ils sont rares :

- réactions anaphylactiques et réactions urticariennes locales,
- sensibilisation par le test,
- persistance de tests positifs,
- achromies, pigmentations,
- réactivation de l'eczéma ou de la toxidermie.

#### 3.3.3.3. Surveillance.

A l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier dans le service de Dermato-allergologie, lors d'un bilan allergologique complet, les tests sont réalisés au sein même du service. Les patients sont hospitalisés s'il y a des IDR en fin de bilan. Sinon les patients sont suivis en ambulatoire avec lecture régulière des tests. Les patients sont surveillés afin de déceler et de traiter tout problème allergique lié aux tests.

#### 3.3.3.4. Tests de provocation orale (TPO).

Ces tests ne doivent en aucun cas être pratiqués car non éthiques. Ces tests de provocation orale ne sont pas adaptés à la plupart des toxidermies en raison d'une méconnaissance des mécanismes d'hypersensibilité retardée en cause (12). Enfin, ces tests peuvent provoquer une réaction plus grave que la réaction initiale (82,150).

### **3.3.4. Limites des tests épicutanés.**

Ils doivent être réalisés six à douze semaines après la disparition des lésions initiales sinon le risque de faux positifs ou négatifs est important.

#### 3.3.4.1. Tests faussement positifs (44).

- substance irritante,
- concentration trop élevée,
- véhicule irritant,
- patient allergique au matériel utilisé,
- zone de test eczématisée,
- lieu de test récent,
- période de wash-out insuffisante entre la disparition des lésions et les tests.

#### 3.3.4.2. Tests faussement négatifs (44).

- véhicule mal choisi,
- concentration trop faible,
- mauvaise lecture du test,
- patient sous corticoïdes ou antihistaminiques.

#### 3.3.4.3. Cas témoins.

Pour ne pas conclure sur des tests épicutanés faussement positifs, tous les résultats de ces tests cutanés doivent être rapportés à ceux obtenus chez des témoins négatifs. Il faut avoir au moins 20 cas témoins négatifs. Ces cas témoins ne doivent pas être pris au hasard car ces tests cutanés sont potentiellement sensibilisants. Ce sont des patients chez qui un bilan allergologique vis-à-vis d'une molécule donnée s'est révélé négatif (tests épicutanés, prick-tests, IDR). Par exemple, après une prise conjointe d'amoxicilline et de paracétamol, un patient a développé une réaction cutanée indésirable. Six semaines plus tard, après disparition des lésions, les tests ont montré une réaction positive à l'amoxicilline et une réaction négative au paracétamol. Le patient peut alors être inclus dans le groupe « témoin négatif » paracétamol. La constitution de ces groupes témoins est longue (12,14,18,150).

#### 3.3.4.4. Facteurs d'influence.

Nous avons évoqué au chapitre 1 certains facteurs influençant les tests épicutanés, relatifs à la physiologie de la peau :

- le stratum corneum,
- la quantité de sébum à la surface de la peau,
- le rôle de la sueur,
- l'hydratation cutanée,
- l'importance du système pilo-sébacé.

Ceux-ci viennent s'ajouter à ceux que nous avons évoqués précédemment :

- concentration et solubilité de la molécule,
- type de toxidermie,
- délai de lecture.

## **4. LA PENETRATION CUTANEE.**

### **4.1. GENERALITES.**

La pénétration cutanée est un phénomène biologique complexe. En admettant que la peau soit une simple membrane, la pénétration serait un phénomène simple, constant et facilement quantifiable. Or la peau présente une structure multicouche dynamique ; c'est un tissu vivant avec des caractéristiques d'absorption complexes capables de changer à tout moment. On ne peut donc l'assimiler à une membrane inerte ; elle est sous l'influence de nombreux facteurs que nous passerons en revue au cours de ce chapitre (145).

#### **4.1.1. Rôle du stratum corneum.**

La peau a pour fonction d'être une barrière entre le milieu extérieur et l'organisme. Elle doit limiter l'entrée des agents extérieurs et réguler la perte en eau. Elle est cependant perméable à de nombreuses molécules, et cette perméabilité dépend de multiples facteurs. La capacité des médicaments à passer la barrière cutanée est mise à profit en thérapeutique mais peut engendrer des effets secondaires gênants (72,77,96,101,120).

Parmi les différentes couches dont est constituée la peau, c'est le stratum corneum qui joue le rôle de barrière. Il s'oppose à la pénétration des molécules médicamenteuses. Toute modification de la structure du stratum corneum induit une modification de la pénétration cutanée. Le stratum corneum est un réservoir pour les médicaments ayant pénétré (77,101).

#### **4.1.2. Biodisponibilité cutanée.**

La biodisponibilité d'un médicament est la quantité de principe actif mis à la disposition de l'organisme ; elle est appréciée par la différence de concentration entre ce qui est appliqué sur la peau et ce qui a pénétré au niveau du site d'action. Au niveau cutané, « c'est la quantité de principe actif qui atteint une structure anatomique donnée du tissu cutané ou sous-cutané à partir

d'une préparation administrée à la surface de la peau ». Elle varie selon la forme galénique utilisée, les propriétés physico-chimiques des principes actifs, les excipients choisis (72,77).

Par cette voie, l'effet de premier passage hépatique n'existe pas. C'est pourquoi il apparaît sur le marché de nombreux systèmes transdermiques appelés également « patchs ». Il faut alors connaître le devenir du principe actif une fois mis en contact avec la peau. Il peut y avoir :

- rétention sur le stratum corneum,
- fixation spécifique ou non sur les protéines cutanées,
- métabolisme épidermique ou dermique,
- diffusion dans le ciment intercellulaire,
- clairance cutanée,
- accumulation dans les structures cutanées profondes,
- passage dans la circulation générale (77).

Nous allons décrire tout d'abord les différentes étapes du passage transcutané d'une molécule médicamenteuse.

## 4.2. PRINCIPES PHYSIQUES DE LA PENETRATION CUTANEE.

La pénétration cutanée se décompose en cinq étapes :

- la phase de **réabsorption** ; c'est la mise en contact du principe actif avec le stratum corneum,
- la phase de **séparation** du principe actif de l'excipient ; cette étape est régie par le rapport des solubilités de la molécule dans l'excipient et dans le stratum corneum ; ce rapport est appelé coefficient de partage véhicule /stratum corneum ; il est noté  $K_m$ ,
- la phase de **répartition** du principe actif dans le stratum corneum ; cette répartition se fait de manière progressive ; les couches les plus externes seront celles qui seront les plus concentrées en principe actif,

- la phase **d'absorption** ; les molécules vont passer dans le tissu vivant. Ceci est dû au gradient de concentration qui s'établit de part et d'autre du stratum corneum ; ce phénomène dépend du coefficient de perméabilité de la molécule selon l'excipient considéré ; il est noté  $K_p$ ,
- la phase de **passage systémique** (1,3).

### 4.3. MODELISATION DU PASSAGE CUTANE.

#### 4.3.1. Généralités.

Le passage cutané des molécules peut être quantifié et prévu par calcul à l'aide de modèles mathématiques. Le plus utilisé est celui de la loi de Fick (96). Il a été vérifié *in vivo* et *in vitro* à l'aide d'une membrane synthétique et d'un échantillon de peau en chambre de diffusion (1,96).

Ce phénomène de diffusion passive est la résultante de forces physico-chimiques issues d'une différence de concentration de part et d'autre de la membrane (1).

Il n'existe pas actuellement de preuve formelle d'un système de transport actif des molécules au travers de la peau, sauf peut-être pour les cellules de Langerhans impliquées dans la défense immunitaire de l'organisme (1).

#### 4.3.2. Equations de vitesse de l'absorption cutanée.

##### 4.3.2.1. La Loi de Fick.

Le passage transcutané d'une molécule médicamenteuse se fait par diffusion passive, par différence de concentration de part et d'autre de l'interface considérée ; c'est la loi de Fick :

$$J = D \frac{(C_1 - C_2)}{h}$$

J est le flux de principe actif ( $\text{g}/\text{cm}^2/\text{s}$ ),

$C_1$  est la concentration dans le stratum corneum à l'interface stratum corneum / milieu extérieur ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ),

$C_2$  est la concentration dans le stratum corneum à l'interface stratum corneum / épiderme ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ),

$h$  est l'épaisseur du stratum corneum (cm),

$D$  est le coefficient de diffusion de la molécule dans le stratum corneum ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ) (33,72,76,101,155).

Une fois l'équilibre atteint, on peut réaliser une approximation de la loi de Fick en considérant que la vitesse de résorption de la molécule par la circulation sanguine est très grande, la valeur de  $C_2$  étant nulle. En intégrant la surface d'application, on obtient la relation suivante :

$$Q = S \frac{KC_d}{h} t$$

$C_d$  est l'approximation de  $C_1 - C_2$  ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ),

$K$  est le coefficient de partage stratum corneum / système donneur,

$h$  est l'épaisseur du stratum corneum (cm),

$S$  est la surface d'application cutanée (cm),

$Q$  est la quantité de principe actif ayant diffusé,

$t$  est le temps (s) (1,33).

Dans ces équations, les facteurs qui permettent d'augmenter le flux d'absorption, donc la quantité de principe actif pénétrant dans l'organisme, sont le coefficient de partage excipient / stratum corneum et la concentration du système donneur. On ne peut pas augmenter la concentration indéfiniment, donc la seule solution pour augmenter le flux de pénétration est de choisir l'excipient qui permettra d'avoir le coefficient de partage excipient / stratum corneum le plus élevé. Ce coefficient doit être mesuré expérimentalement, on ne peut pas le calculer (1).

#### 4.3.2.2. Estimation des coefficients de diffusion.

Le chemin de diffusion d'une molécule, au travers du stratum corneum, a longtemps été estimé à l'épaisseur moyenne de celui-ci, c'est-à-dire 10 à 40  $\mu\text{m}$ . Actuellement, il est admis que la molécule passe par les espaces intercellulaires, ce qui représente un trajet d'environ 500  $\mu\text{m}$ .

Différentes études furent menées pour estimer la valeur du coefficient de diffusion. On peut dire que pour une longueur de trajet de diffusion de 500  $\mu\text{m}$ , les constantes de diffusion prennent des valeurs de  $10^{-9}$  à  $10^{-7}$   $\text{cm}^2/\text{s}$ .

Scheuplein (131) a défini des valeurs du coefficient de diffusion  $D$  plus précises en fonction des zones traversées par les molécules. Dans le stratum corneum,  $D$  est de  $10^{-9}$   $\text{cm}^2/\text{s}$ , il est de  $10^{-7}$   $\text{cm}^2/\text{s}$  dans les annexes, et de  $10^{-6}$   $\text{cm}^2/\text{s}$  dans l'épiderme et le derme, ceci pour des molécules non ionisées de poids moléculaire inférieur à 300 daltons (94).

Le coefficient de diffusion est inversement proportionnel à la taille ou au poids moléculaire de la molécule (101). Ceci est dû à l'encombrement stérique plus important pour les molécules d'un poids supérieur à 800 daltons (33).

Pour une solution aqueuse, la valeur du coefficient de diffusion peut être calculée par la relation suivante :

$$D = D^0 \cdot e^{-\beta M}$$

avec  $D^0 = 1,7 \cdot 10^{-8}$   $\text{cm}^2/\text{s}$  et  $\beta = 0,022$

$D^0$  est le coefficient de diffusion pour une molécule qui aurait un poids moléculaire nul,

$M$  est la masse moléculaire de la molécule (daltons) (33,101).

### 4.3.3. Estimation des paramètres de perméabilité d'une solution aqueuse.

Pour déterminer le coefficient de perméabilité des molécules en solution aqueuse, le modèle le plus proche de la réalité a été défini par Kasting et coll. (76). Ils prennent en compte les différentes voies de passage cutané et les interactions entre les tissus et la molécule qui diffuse. Ils tiennent compte de la limite de solubilité de la molécule dans le stratum corneum. Ils ont défini le flux maximal  $J_{max}$  de diffusion d'une molécule :

$$J_{max} = \{ D_{sc} / L_{sc} \} \cdot C_{sc}^{sat}$$

$J_{max}$  est le flux de diffusion,

$D_{sc}$  est le coefficient de diffusion,

$L_{sc}$  est le chemin de diffusion,

$C_{sc}^{sat}$  est la concentration à saturation du produit qui diffuse.

En intégrant la relation précédente reliant  $D_{sc}$  à la masse moléculaire de la molécule considérée, Kasting et coll. (76) ont proposé une relation entre le flux maximal de diffusion  $J_{max}$  et la masse moléculaire d'une molécule  $M$  :

$$\log \{ J_{max} / C_{sc}^{sat} \} = \log \{ D^0 / L_{sc} \} - [\beta MV] / 2,303 \quad (33,101)$$

$MV$  est le volume molaire de la molécule considérée,

$D^0$  est le coefficient de diffusion d'une molécule qui aurait un volume molaire nul,

$\beta$  est une constante.

La perméabilité de trente-cinq molécules dans des solutions saturées en propylène-glycol a été étudiée selon ce modèle avec une bonne corrélation. Il en a découlé la relation suivante :

$$\log\left\{J_{\max}/C_{sc}^{sat}\right\} = 1,13 - 0,008 MW$$

Flynn (42) a émis l'hypothèse que les composés polaires diffuseraient par un chemin polaire. Or, il n'existe aucune certitude quant à l'existence de cette voie. Potts et Guy (63) dans une réanalyse des résultats de Flynn ont infirmé cette hypothèse et défini une nouvelle équation concernant le coefficient de pénétration cutanée (63,101) :

$$\log\left[K_{p,sc}^w (cm/s)\right] = -6,36 (\pm 0,18) + 0,74 (\pm 0,07) \cdot \log K_{oct} - 0,0060 (\pm 0,0006) \cdot MW$$

avec  $-3 < \log K_{oct} < 6$  et  $18 < MW < 750$

avec r (coefficient de régression) = 0,82 et s (coefficient de variation) = 0,75

avec MW le poids moléculaire de la molécule,

$\log K_{oct}$  coefficient de partage octanol / eau de la molécule.

Cette équation repose sur le fait que la seule voie de diffusion au niveau cutané est une voie lipidique.

#### 4.3.4. Conclusion.

Les modèles mathématiques permettent de prévoir la quantité de principe actif qui pénétrera dans la peau à condition de connaître au moins le coefficient de partage excipient / stratum corneum et le coefficient de diffusion. Ces valeurs peuvent être mesurées, référencées ou mises à disposition par le laboratoire fabriquant la molécule à tester si les études ont été réalisées.

Sans ces valeurs, on ne peut estimer la pénétration cutanée que par le poids moléculaire de la molécule, le coefficient de partage alcool / eau et la constante de dissociation qui détermine si la molécule est ionisable ou non. Ces données peuvent cependant nous indiquer la capacité des

molécules à pénétrer le stratum corneum et nous orienter sur le choix des excipients. Nous l'envisagerons dans le chapitre suivant.

#### **4.4. METHODES D'ETUDES DE LA PENETRATION CUTANEE.**

Le passage transcutané d'une molécule se fait lentement, en raison de l'effet barrière du stratum corneum principalement.

Toutefois, la pénétration, l'absorption et la biodisponibilité d'une molécule peuvent être améliorées par des promoteurs de pénétration ou par différents moyens physiques. Nous y reviendrons ultérieurement.

La pénétration transcutanée des molécules peut être étudiée *in vivo* ou *in vitro*.

##### **4.4.1. Méthodes d'études *in vivo*.**

Le modèle utilisé peut être soit humain soit animal. Dans ce cas, il faut que les caractéristiques de pénétration soient similaires à celles de l'homme. Les animaux utilisables sont le cochon d'Inde, le singe Rhesus et le rat sans poils. Les tests devront être réalisés dans des régions non pileuses.

Il existe plusieurs méthodes pour quantifier expérimentalement la pénétration cutanée des molécules.

Ceci peut se faire soit par une méthode analytique de type chromatographie liquide haute performance, soit par une technique utilisant des radioéléments.

Les échantillons à partir desquels une analyse peut être réalisée sont les suivants :

- les excréta,
- le système veineux sous-jacent du site d'application,
- la peau,
- la circulation générale (96,133).

##### - Mesure dans les excréta :

On peut évaluer la quantité de principe actif ayant diffusé au niveau cutané par mesure de l'élimination de la molécule dans les urines, les fèces, l'air expiré. Le dosage dans les urines nécessitera une injection intra-péritonéale de cette même substance afin de connaître son

élimination maximale urinaire. Cette méthode possède toutefois des limites. L'évaluation est difficile pour les molécules solubles dans les graisses car le temps de relargage est très long (96,133).

- Mesure à partir des prélèvements sanguins :

On évalue les quantités de produits métabolisés et non métabolisés. Le phénomène d'hémodilution est primordial et l'on ne peut avoir une quantification au niveau du site d'application (96,133).

- Mesure sur une partie de peau entière :

Dans ce cas, les tissus ainsi que le système vasculaire local sont conservés. C'est un modèle très utilisé mais la préparation des échantillons de peau nécessite un traitement immunosuppresseur dont on ne connaît pas les retentissements sur le passage cutané (96,133).

- Mesure de la quantité résiduelle de principe actif :

On peut également mesurer la quantité de principe actif ayant diffusé en mesurant la différence de concentration au début et à la fin de l'expérience. La durée d'étude est courte. Mais cette méthode est imparfaite car les conditions d'équilibre (steady state) ne sont jamais atteintes (96,133).

- Mesure de la décroissance de la radioactivité :

Après application d'une préparation radiomarquée, on suit la diminution du signal qui est proportionnelle à la quantité de principe actif ayant pénétré (96,133).

#### **4.4.2. Méthodes d'études *in vitro*.**

- Mesure au niveau cutané :

Après application d'une préparation radiomarquée, on réalise un prélèvement du site après délamination à l'aide d'un ruban adhésif. Le prélèvement est ensuite congelé et découpé en fines lamelles et l'on dose dans chaque échantillon la radioactivité. Cette méthode permet de

quantifier le principe actif ayant pénétré le tissu cutané en tenant compte de différents critères comme le temps ou l'excipient choisi (96,133).

Par contre, le métabolisme cutané n'est que difficilement apprécié, et cette méthode n'est performante que si l'on s'en tient à la mesure de la quantité de principe actif ayant diffusé dans la zone biopsiée (96,133).

- Les cellules de diffusion :

Le modèle le plus connu est celui de la cellule de Franz.

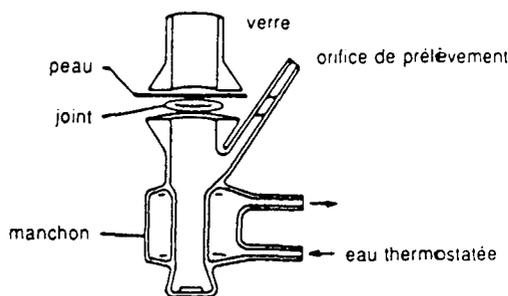


Figure 2 : Cellule de Franz (77).

Ce type de cellule permet d'étudier le passage de molécules à travers une membrane synthétique ou non, simulant la peau. Elle est composée d'un compartiment donneur où sera placé l'échantillon et un compartiment receveur où l'on dosera les quantités ayant diffusé. L'ensemble est thermostaté à 37°C. Dans ce type de système, il n'y a pas de renouvellement du liquide contenu dans le compartiment receveur (assuré *in vivo* par la circulation sanguine locale) (77).

4.4.2.1. Conditions d'application de la loi de Fick à la peau.

Maibach et Kubota (82) ont démontré que la peau pouvait être assimilée à une membrane simple et que la loi de Fick pouvait s'appliquer. En effet, ils ont comparé la valeur de  $K_p$  obtenue par la formule suivante :

$$Kp = ka \cdot lt = A_{\infty} / AUC_t$$

à celles obtenues expérimentalement à partir de six échantillons.

Dans cette équation,  $K_p$  représente le coefficient de perméabilité,

$k_d$  représente le coefficient de diffusion,

$l_d$  représente l'épaisseur de la membrane,

$A_{c\infty}$  représente la quantité de substance par unité de surface entrée dans la cellule réceptrice,

$AUC_{cv}$  est l'aire sous la courbe du principe actif dans la cellule donneuse.

Dans cette étude,  $l_d$  a été fixé à 0,1 cm et  $k_d$  à  $0,1h^{-1}$ , ce qui donne une valeur de  $K_p$  égale à 0,01 cm/h.

Les auteurs ont utilisé comme membrane un fragment de peau et une cellule de diffusion (cellule de Franz). La solution étudiée dans les six échantillons était concentrée à 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Pour déterminer les valeurs de  $K_p$ , ils ont dosé la concentration de la solution contenue dans la cellule donneuse et celle contenue dans la cellule réceptrice. Le rapport est celui de l'équation ci-dessus. L'erreur maximale obtenue par rapport à la théorie sur la valeur de  $K_p$  est de -4%. La conclusion de cette étude est que la peau peut être assimilée à une membrane « idéale » et que la loi de Fick s'applique à elle (86). Dans le cas de la pénétration cutanée, on réalise une approximation de la loi de Fick (96).

#### 4.4.2.2. Temps de latence.

L'étude de la pénétration d'une molécule au travers de la peau montre que l'on en retrouve trace dans la circulation sanguine qu'après un temps de latence. L'apparition de la molécule croît de manière exponentielle, puis de manière linéaire ; l'état d'équilibre est alors atteint (1,34,96).

La figure 3 montre que le temps de latence peut être déterminé par extrapolation sur l'axe des temps de la partie linéaire de la courbe (1,34).

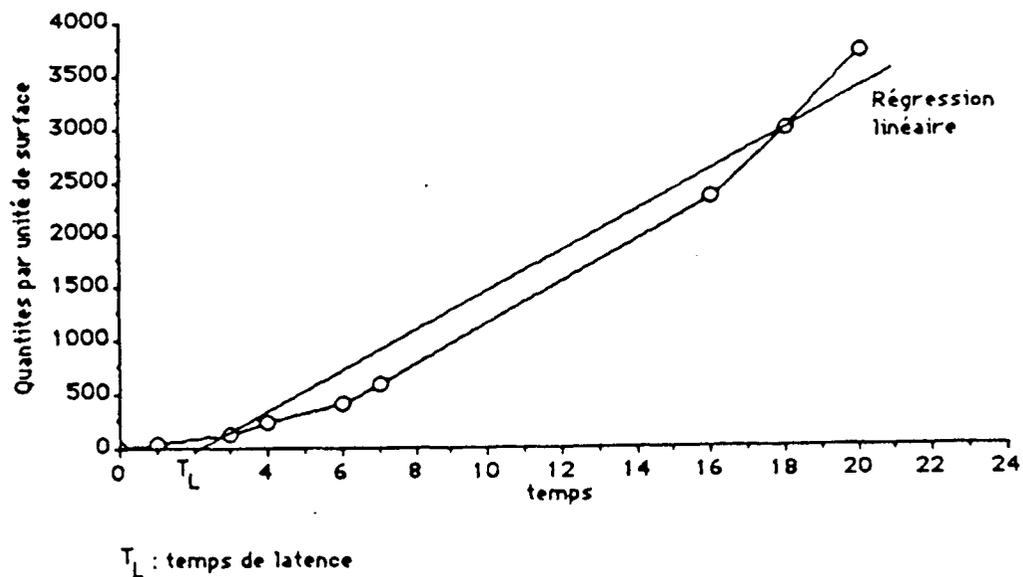


Figure 3 : Profil type de la pénétration cutanée d'une molécule (134).

Le temps de latence  $T_L$  (secondes) est calculé par la relation suivante :

$$T_L = \frac{D}{6h^2} \quad (33,96)$$

$D$  est le coefficient de diffusion ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ),

$h$  est l'épaisseur cutanée (cm).

La pénétration cutanée est donc un phénomène de diffusion passive, répondant à la loi de Fick.

#### 4.5. VOIES DE PASSAGE A TRAVERS LA PEAU.

Elles ont été évoquées au paragraphe 1.3.4.

Une molécule empruntant la voie transcellulaire traversera alternativement des zones lipophiles et hydrophiles, une molécule empruntant la voie annexielle passera par les glandes sudoripares et les follicules pilo-sébacés.

## 4.6. FACTEURS INFLUENÇANT LA PENETRATION CUTANEE.

La libération d'un principe actif depuis une forme galénique, placée sur la peau, dépend de deux catégories de facteurs :

- des facteurs structurels,
- des facteurs physico-chimiques propres à la molécule et à l'excipient (77,96,101).

Nous allons passer en revue nombre de ces facteurs.

### 4.6.1. Facteurs liés à l'état du stratum corneum.

#### 4.6.1.1. Influence de la structure du stratum corneum.

Le stratum corneum est la première barrière rencontrée par une molécule en contact avec la peau. Sa structure influence la pénétration cutanée des principes actifs. Le stratum corneum est riche en lipides, en canaux pilaires. Il est plus ou moins épais physiologiquement ou en cas de pathologie. La taille des cornéocytes joue un rôle dans l'effet barrière du stratum corneum. Selon les régions du corps, l'absorption cutanée sera plus ou moins importante (1,101).

La présence de lésions implique une augmentation du passage transcutané des molécules (10,155). En effet, Izumoto et al (74) ont démontré qu'une peau décapée mécaniquement était beaucoup plus perméable aux molécules. La quantité de principe actif pénétrant le stratum corneum pouvait être augmentée de 80,9% pour le salicylamide, de 47,8% pour l'indométacine, de 81,5% pour l'ibuprofène. Par contre, pour la bétaméthasone, l'augmentation est faible (14,6%).

#### *4.6.1.1.1. Influence de la race.*

Il existe des différences de perméabilité cutanée entre les différentes races. Les réponses à un stimulus sont variables. En effet, Wedig et Maibach (142) ont montré *in vivo* que la pénétration de la dipyrithione était plus faible chez les noirs que chez les blancs. Weigan et Gaylor (143) ont rapporté que la résistance à l'arrachement cutané était plus importante chez les noirs que chez les blancs. Enfin, Williams (149) a suggéré que l'absorption de nitroglycérine

après application cutanée était plus faible chez les noirs que chez les blancs et les asiatiques (145).

#### *4.6.1.1.2. Variations selon la zone d'application.*

Le tableau IV montre que la pénétration cutanée d'une molécule est variable selon la zone d'application.

TABLEAU IV : Variations du flux de pénétration d'hydrocortisone chez l'homme selon la zone d'application par comparaison avec la pénétration mesurée au niveau de l'avant-bras et du ventre (valeur de référence : 1) (96,107).

Région du corps	Variations du flux de pénétration par rapport à l'avant-bras
Scrotum	42
Angle de la mâchoire	13,0
Front	6.0
Pli axillaire	3,6
Cuir chevelu	3,5
Dos	1,7
Paumes	0,83
Poignets (face latérale)	0,42
Plantes	0,14
Avant-bras	1

#### *4.6.1.2. Effet réservoir.*

Les médicaments peuvent s'accumuler dans le stratum corneum. Selon leur affinité pour celui-ci, ils seront éliminés :

- soit par desquamation des cellules superficielles du stratum corneum lorsque l'affinité du médicament pour celui-ci est importante ; c'est le cas de certains colorants et dérivés iodés,

- soit par libération progressive du médicament depuis la face profonde du stratum corneum vers l'épiderme vivant ; c'est le cas des dermocorticoïdes, de l'acide salicylique, de l'hexachlorophène, de l'acide fusidique ; l'élimination est très lente (jusqu'à trois semaines).

Toutefois, ce phénomène est peu important car :

- le volume du réservoir est peu important (épaisseur de 10 µm),
- le renouvellement des cellules épidermiques diminue cet effet,
- l'affinité des médicaments pour le stratum corneum varie selon le degré d'hydratation de celui-ci (62,96).

#### 4.6.1.3. Hydratation cutanée.

La peau contient de 5 à 15% d'eau à l'état physiologique et jusqu'à 300 à 400% lors d'une occlusion. Cette variation de la teneur en eau provoque une forte augmentation de la perméabilité cutanée par modification des propriétés physico-chimiques de la peau. En effet, l'occlusion ou l'hyperhydratation cutanée induisent une augmentation de l'élasticité et de la perméabilité du stratum corneum. La surface cutanée va elle-même augmenter (+37%) par l'apparition de plis. Il y a augmentation de la surface de pénétration (77,101,105).

Un pansement occlusif évite l'évaporation d'un principe actif volatil et augmente le temps de contact de la molécule avec la peau (1,3,96,101).

Un pansement occlusif entraîne :

- une élévation de la température (32 à 37°C),
- une augmentation de la surface des kératinocytes (+ 30 à 40%),
- une augmentation du coefficient de partage stratum corneum / véhicule ( $K_m$ ),
- une augmentation de la circulation sanguine locale,
- une augmentation de la fluidité des couches lipophiles intercellulaires.

L'hydratation du stratum corneum augmente la pénétration des molécules moyennement lipophiles (ex : méthoxypsoralène, oestradiol, progestérone, testostérone) ; par contre, elle n'a

aucun retentissement pour les molécules très lipophiles (ex : triméthylpsoralène), très hydrophiles ou amphiphiles (ex : caféine).

La pénétration de trois corticoïdes fut étudiée en fonction du degré d'humidité du stratum corneum. Les résultats sont regroupés dans le tableau V.

TABLEAU V : Influence de l'humidité du stratum corneum sur la pénétration cutanée (107).

Corticoïde	Pourcentage de corticoïde pénétrant en 20 heures (T=33°)	
	50% humidité	100% humidité
14C Triamcinolone acétonide	0,21	2,05
14C Fluocinolone acétonide	0,16	1,76
14C Hydrocortisone	0,12	1,41

Le fait de doubler le taux d'humidité entraîne une pénétration de principe actif dix fois supérieure (1).

#### 4.6.1.4. Age et sexe.

Peu d'études ont été consacrées à l'influence du sexe et de l'âge dans la survenue des toxidermies. Cependant, il semblerait que les femmes soient deux fois plus touchées que les hommes (25).

L'allergie médicamenteuse serait moins fréquente chez l'enfant que chez l'adulte du fait d'une moindre exposition aux médicaments.

Le risque augmente avec l'âge et la polymédication (25).

Lors du vieillissement cutané, on assiste à des modifications structurales de la peau :

- sécheresse cutanée,
- teneur lipidique plus faible,
- perte de fonctionnalité des glandes sébacées,
- diminution de l'épaisseur cutanée par un renouvellement du stratum corneum très ralenti ; le médicament stagne au niveau externe et dans le stratum corneum (1,78,101,155).

Cependant, ces modifications n'auraient que peu d'influence sur la perméabilité cutanée (101). Bronaugh (26) n'a pas noté de différence significative pour la pénétration d'une molécule chez des personnes âgées de 30 à 70 ans.

Kathleen et coll. rapportent les résultats de deux études (78) :

- la pénétration de testostérone est meilleure chez les jeunes adultes (19 à 30 ans) que chez les personnes âgées de 71 à 82 ans,
- la pénétration de la caféine, de l'acide acétylsalicylique, de l'acide benzoïque et de l'hydrocortisone est meilleure chez les jeunes adultes,
- la pénétration de l'oestradiol ne montre pas de différence significative.

L'influence de l'âge est une notion controversée sauf chez les enfants car l'effet barrière du stratum corneum est beaucoup moins important que chez l'adulte, d'où une perméabilité accrue. A l'inverse, chez la personne âgée, la pénétration est faible. Pourtant le stratum corneum est moins épais et son renouvellement est lent (1,3,75,144).

#### 4.6.1.5. Rôle de la circulation sanguine.

Une moindre vascularisation locale diminue la pénétration des molécules par un effet d'accumulation au niveau du derme profond. C'est le cas avec certains stéroïdes (oestradiol, progestérone, dexaméthasone) et certains anti-inflammatoires non stéroïdiens (indométacine, acide flufénamique, salicylés, kétoprofène, diclofénac) (145).

Auclair et coll. (10) ont ligaturé une zone corporelle chez un rat, diminuant la vascularisation de cette zone. A cet endroit, ils ont étudié le passage transcutané de trois molécules : la progestérone, l'urée et la caféine. Ils ont appliqué sur une zone non ligaturée, diamétralement opposée à la précédente, les mêmes principes actifs. Ils ont ensuite réalisé des biopsies autour des zones de tests afin de voir la quantité de chaque molécule s'y trouvant. La quantité de principe actif contenue dans l'épiderme et le derme profond est plus importante pour la zone ligaturée dans le cas de la progestérone (molécule lipophile) et de la caféine (molécule amphiphile). Il y a stockage moléculaire au niveau épidermique et dermique. Pour l'urée par contre, molécule hydrophile, la quantité de principe actif dans la zone saine est plus importante car elle pénètre plus facilement la barrière cutanée (10).

Un flux sanguin important au niveau de la zone de contact permet une meilleure résorption et donc une meilleure absorption (1,77,155).

#### 4.6.1.6. Influence de la température.

La quantité de principe actif pénétrant dépend de la température du stratum corneum. Le tableau VI présente le taux de pénétration des trois corticoïdes précités en fonction de la température du stratum corneum.

TABLEAU VI : Influence de la température sur la pénétration cutanée (107).

Corticoïde	Pourcentage pénétrant en vingt heures	
	Humidité relative 88%	
	10°C	37°C
14C Triamcinolone acétonide	0,08	0,35
14C Fluocinolone acétonide	0,12	0,41
14C Hydrocortisone	0,16	0,38

Toute élévation de la température corporelle est favorable à une augmentation de la pénétration cutanée des molécules.

Il existe quatre états de transition de la structure du stratum corneum, définis chacun par une température :

- T1 à 40°C ; fusion des lipides du sébum, déplacement des chaînes de cholestérol,
- T2 à 70°C ; fusion des chaînes lipidiques des bicouches,
- T3 à 85°C ; rupture de l'association des têtes polaires des acides gras des chaînes lipidiques et du cholestérol,
- T4 à 100°C ; dénaturation de la kératine endocornéocytaire (36).

Plus la température augmente, plus l'effet barrière du stratum corneum se réduit. Or on ne peut atteindre les températures caractérisant les états de transition T2, T3, T4 pour augmenter la pénétration des molécules. Il faudra donc réussir à modifier ces états de transition par d'autres moyens tels par exemple le choix d'excipients appropriés qui altèrent ces différents états de transition.

#### 4.6.1.7. Surface d'application.

La surface d'application joue un rôle important. En effet, plus elle est étendue, plus la quantité de principe actif pouvant passer le stratum corneum est grande. Le flux de minoxidil passant la barrière cutanée augmente lorsque le volume de préparation appliqué sur la peau augmente, ceci quelque soit le solvant et quelque soient les conditions d'études (*in vivo* ou *in vitro*) (138).

#### 4.6.2. Viscosité de la préparation.

Zuber, Chemtob et Chaumeil (156) ont étudié la libération du difluprednate aux concentrations de 0,025% et 0,05% dans cinq excipients différents.

Le tableau VII présente la composition des différentes formes galéniques testées à 0,025%. Pour les préparations à 0,05%, la composition reste semblable hormis la concentration.

TABLEAU VII : Constituants des différentes formes de difluprednate (156).

Forme galénique	Gel		Crème		Pommade grasse		Émulsion H/E
Caractère de la forme	Anhydre hydrodispersible					Emulsionnée avec H <sub>2</sub> O	
Disponibilité du difluprednate	Soluble			En dispersion			
Constituants principaux	Isopropanol (solvant)	20 p. 100	Monostéarate de glycérol	13 p. 100	Huile vaseline Vascline	5 p. 100	Excipient du B.P.C. (1965)
	Triéthanol-amine	0,15 p. 100	Carbopol	1,3 p. 100	QSP	100	
	Propylène glycol	QSP	Propylène glycol (solvant)	QSP	100		
	gélifié par carbopol	1,5 p. 100					

B.P.C. : British Pharmaceutical Codex.

Ils ont ensuite mesuré la viscosité des différentes préparations. Ces mesures sont regroupées dans le tableau VIII.

TABLEAU VIII : Viscosité apparente des préparations étudiées en Pascal/seconde (156).

Préparations				
Viscosités en Pa.s.	Gel	Crème anhydre	Pommade	Émulsion
$\eta_A$	1,06	6,4	4,24	0,83
$\eta_B$	0,18	0,53	0,36	0,13

$\eta_A$  = viscosité à bas gradient de vitesse.  $D = 6,29 \text{ sec}^{-1}$   
 $\eta_B$  = viscosité à haut gradient de vitesse.  $D = 73,3 \text{ sec}^{-1}$

Il ont enfin mesuré les quantités de difluprednate libérées par chaque préparation à la concentration de 0,05%. Les résultats sont regroupés dans le tableau IX.

TABLEAU IX : Quantités de difluprednate libérées à partir des préparations à 0,05% (156).

Temps (min)	$\sqrt{t}$	Gel		Crème		Pommade grasse		Solution alcoolique	
		M	$\sigma$	M	$\sigma$	M	$\sigma$	M	$\sigma$
30	5,48	8,13	1,30	7,69	0,45	5,13	0,96	5,13	0,77
60	7,75	9,97	1,55	8,55	0,68	6,43	0,92	5,79	0,78
120	10,95	11,78	1,60	10,51	0,94	8,66	0,58	7,29	1,19
180	13,42	12,73	1,38	12,31	0,91	9,76	0,69	8,13	1,46

Les résultats montrent que les formes de faible viscosité (le gel et l'émulsion) permettent un bon passage transcutané du difluprednate.

Dans les formes gel et crème, le difluprednate est solubilisé dans du propylène-glycol. En ce qui concerne la pommade et l'émulsion, le principe actif n'est pas solubilisé mais dispersé sous forme de particules de petite taille au sein de l'excipient ; ceci est un obstacle à la diffusion du principe actif, mais ce type de formulation galénique permet une action plus soutenue.

La différence de pénétration relevée entre les deux formulations gel et crème anhydre n'est pas significative. Lorsque la concentration double, la quantité de principe actif libéré augmente, plus fortement pour la crème anhydre que pour le gel. Pour les autres excipients, la libération est également augmentée. La solution alcoolique est la forme qui favorise le moins la libération du difluprednate.

In vivo comme in vitro, le gel est la forme galénique qui permet le meilleur passage cutané du difluprednate quelque soit la concentration.

Ces résultats prouvent que la viscosité des préparations (tableau VIII) influence la pénétration cutanée des molécules médicamenteuses. Plus la viscosité d'une préparation est faible, meilleure sera la pénétration. Cependant, toute augmentation de la concentration en principe actif tend à réduire l'importance de ce facteur (156).

#### **4.6.3. Temps d'exposition.**

Plus l'exposition au médicament est longue, plus le produit a de chance de pénétrer.

Cependant, lors de la réalisation des tests épicutanés, il est limité à 48 heures. Ce n'est pas un facteur sur lequel nous pourrions influencer.

#### **4.6.4. Concentration en principe actif au point d'application.**

Selon la loi de Fick, pour une molécule médicamenteuse, toute élévation de la concentration provoque une augmentation de sa pénétration cutanée. Cette loi est vérifiée jusqu'à certaines concentrations. Ensuite, la saturation est un facteur limitant.

Par exemple, il a été démontré avec la trinitrine, que pour des concentrations inférieures à 1 mg/cm<sup>2</sup>, les quantités de principe actif absorbées étaient de 0,004 µg, 0,04 µg et 0,4µg pour des préparations dont les concentrations étaient respectivement de 0,01 , 0,1 et 1 mg/cm<sup>2</sup>. Par contre, pour une concentration de 10 mg/cm<sup>2</sup>, la quantité ayant pénétré n'était que de 0,8 µg. Pour les préparations fortement concentrées, il n'y a plus de règle de linéarité stricte de la loi de Fick ; en effet, il existe des interactions entre le médicament et la peau d'où une moins bonne absorption.

Toutefois, la pénétration est nettement meilleure pour une concentration proche de la saturation (94,101).

Si le véhicule choisi solubilise bien le principe actif et que la concentration est faible, l'excipient retient le principe actif, il y a une très faible pénétration cutanée du produit. Par contre, si la quantité dissoute est proche de la concentration à saturation, la pénétration cutanée du principe actif est plus favorable (101). La pénétration d'une molécule faiblement soluble mais complètement dissoute est meilleure que l'inverse ; il faudra éviter toute préparation liquide où la molécule est en suspension (dissolution incomplète).

De la concentration en principe actif dépend l'activité thermodynamique de la molécule dans l'excipient.

Cette activité thermodynamique peut être définie comme le produit de la concentration du médicament dans un véhicule donné par le coefficient de partage stratum corneum / excipient :  $K_m \times C_v$  (107). L'activité thermodynamique est définie pour chaque excipient.

Pour les solutions très concentrées, l'activité thermodynamique est la même quelque soit l'excipient utilisé. En effet, pour une solution saturée, l'activité thermodynamique atteint sa valeur maximale c'est à dire 1. A forte concentration, ce paramètre limite l'influence que peut avoir un excipient sur la pénétration de la molécule. Il faut donc des solutions suffisamment concentrées pour favoriser la pénétration mais qui n'annulent pas le rôle de l'excipient (101).

La concentration favorable est celle proche de la saturation.

#### **4.6.5. Propriétés physico-chimiques des molécules.**

##### 4.6.5.1. Taille de la molécule.

La taille de la molécule possède une incidence sur sa capacité à franchir la barrière cutanée. En effet si celle-ci possède un poids moléculaire trop élevé, elle ne peut pas pénétrer le stratum corneum. Le poids moléculaire limite est de 100000 Daltons (immunoglobuline M). Pour des poids moléculaires élevés, la pénétration est faible (albumine 65000 Daltons). Il est admis que la taille des molécules ne doit jamais dépasser 800 daltons, afin d'avoir une pénétration satisfaisante (101,155). C'est le cas de la plupart des molécules médicamenteuses.

#### 4.6.5.2. Etat d'ionisation des molécules et coefficient de partage octanol / eau.

##### *4.6.5.2.1. Molécules non ionisées.*

Les molécules lipophiles ou apolaires se solubilisent dans les corps gras et certains solvants organiques. Les molécules hydrophiles ou polaires se solubilisent dans l'eau, dans les solvants aqueux et certains solvants organiques. Les molécules amphiphiles sont considérées comme intermédiaires entre les deux précédentes.

Ces dernières sont celles qui possèdent la plus grande facilité à traverser la barrière cutanée. Ceci est dû à la composition mixte du stratum corneum. Cela se traduit par un coefficient de partage octanol / eau pour les molécules qui doit être compris entre -1 et +3,5, mieux entre 1 et 2. En dehors de ces valeurs, les molécules pénètrent faiblement (1,77,101,107,155).

Selon Scheuplein (132), pour une molécule polaire, la voie de pénétration la plus probable était celle des kératinocytes. Cette théorie n'est plus vraie. Actuellement, c'est celle d'Elias (38) qui prime ; la pénétration de ces molécules se ferait par les régions polaires des zones lipidiques (134).

Des molécules polaires comme certains acides, alcools, certaines bases faibles traversent facilement le stratum corneum alors que des molécules apolaires comme certains antibiotiques et stéroïdes ne le traversent pas (123).

##### *4.6.5.2.2. Molécules ionisables.*

Une molécule ionisée pénètre facilement dans le stratum corneum par :

- la voie annexielle principalement (follicules pilo-sébacés),
- les pores cutanés ; Siddiqui a montré, *in vitro*, qu'il existe un passage d'ions à travers les pores cutanés (134).

La quantité de molécules ionisables (salicylate sodique par exemple) pénétrant par la voie annexielle est faible. Ces molécules sont beaucoup moins liposolubles que leurs formes non ionisées et elles ne peuvent pas emprunter la voie transcellulaire (1,77).

Par contre, certains médicaments comme les rétinoïdes sont beaucoup trop lipophiles sous leur forme non ionisée. Seule une ionisation de ces molécules permet une bonne pénétration (77).

Aujourd'hui une autre voie de passage transcutané des molécules ionisées est envisagée. En effet, Siddiqui (134) a montré que les molécules ionisées pouvaient pénétrer la peau au même titre que les non ionisées. Les molécules ionisées se combinent avec des ions de charge opposée se trouvant dans l'excipient pour former une paire d'ion, cette paire devient plus lipophile et peut emprunter la voie intercellulaire (134,147).

#### 4.6.5.3. Solubilité de la molécule dans l'excipient.

La solubilité d'une molécule dans un excipient dépend de sa granulométrie et de sa forme (poudre, cristaux...). Plus la granulométrie d'une molécule est faible, meilleure est sa solubilité (75).

Pour pénétrer dans le stratum corneum, une molécule doit avoir une solubilité satisfaisante dans l'eau et les lipides (155).

*In vitro*, Kondo et coll. (84) ont montré que l'absorption d'un principe actif était d'autant plus grande que sa solubilité dans l'excipient était faible (101). Les principes de diffusion montrent que l'affinité de la molécule pour l'excipient choisi doit être la plus faible possible, d'où une instabilité maximale dans la préparation (101).

Cependant, une molécule faiblement soluble dans un excipient donné, mais qui y sera complètement dissoute pénétrera plus vite que si cette même molécule est mise en suspension dans une émulsion fortement concentrée (134).

#### 4.6.5.4. pKa et influence du pH.

Un pH très acide ou très basique endommage fortement le stratum corneum et diminue sa fonction barrière. Mais ces pH extrêmes ne peuvent être utilisés lors de tests épicutanés car ils induisent une irritation cutanée (96). Pour une solution aqueuse, le pH doit être compris entre 5 et 9 (147).

Le pH influence le degré d'ionisation des molécules ; il faut donc tenir compte aussi de leurs constantes de dissociations (pKa) (134,147). Lors de la mise en solution d'une molécule, si le pH de cette solution est supérieur à la constante de dissociation de la molécule qu'elle contient, cette dernière sera sous forme dissociée ; il faudra alors présenter le principe actif sous forme d'émulsion par exemple.

Le pH acide de la peau joue un rôle important pour les molécules facilement ionisables (1,77). En effet, il facilite la ionisation des molécules et renforce l'effet barrière de la peau (1).

Pour les molécules dont la constante de dissociation est neutre (6-8), et qui ont un coefficient de partage élevé octanol / eau, l'épiderme représente une barrière pour leur passage au sein du stratum corneum (1).

#### **4.6.6. Métabolisme cutané.**

Au niveau cutané, la fonction enzymatique est similaire qualitativement à celle du foie et se situe dans l'épiderme et le derme. Cependant, l'activité cutanée est beaucoup plus faible que l'activité hépatique (2 à 6 % des valeurs hépatiques), mais il convient de ne pas la négliger (effet de premier passage). On observe des réactions de fonctionnalisation (phase I) et de conjugaisons (phase II). L'activité estérasiq ue de la peau joue un rôle soit de dégradation des molécules estérifiées, soit d'activation de « pro-drogues ». D'autres types de réactions enzymatiques s'y produisent : hydrolyse, oxydation, réduction, déalkylation, époxydation, hydroxylation (77,96,101,155). Enfin, la flore bactérienne peut modifier le métabolisme d'un médicament (155).

Toutes ces activités peuvent provoquer :

- une modification de la molécule à tester et parfois influencer les résultats des tests épicutanés,
- une réaction positive du test si un métabolite est responsable de l'allergie et non la molécule native.

Cette activité métabolique joue un rôle important ; en effet, si on applique un inhibiteur enzymatique comme le cyanure de potassium, la pénétration cutanée de l'alpha-benzopyrène ou de la testostérone, qui nécessite un épiderme viable, va fortement diminuer (101).

#### **4.6.7. Influence des excipients.**

L'utilisation d'excipients jouant le rôle de promoteurs d'absorption cutanée sera envisagée en détail au cours du chapitre suivant.

#### **4.6.8. Conclusion.**

De nombreux facteurs influencent la pénétration cutanée, certains de manière prépondérante :

- l'occlusion permet une hyperhydratation locale et une augmentation de la fluidité des lipides cutanés,
- le coefficient de partage octanol / eau,
- le pH d'une solution et le pKa d'une molécule sont liés entre eux ; le pH d'une solution ne doit pas induire la dissociation de la molécule,
- la concentration en principe actif doit être proche de la saturation,
- le caractère ionique ou non de la molécule.

Après cette analyse des différents facteurs d'influence de la pénétration cutanée d'une substance, nous retiendrons plusieurs observations quant à la réalisation des tests épicutanés et à la possibilité d'augmenter la pénétration des molécules ; par exemple :

- action de certains solvants organiques sur l'organisation du stratum corneum,
- obtention d'une concentration proche de la saturation dans l'excipient retenu en évitant la formation d'une suspension,
- pour une solution, obtention d'un pH compris entre 5 et 9 en évitant la dissociation des molécules (cette fourchette de pH est compatible avec la réalisation des tests épicutanés),
- utilisation de préparations peu visqueuses.

Le tableau X quantifie l'influence de quelques facteurs de l'absorption cutanée.

TABLEAU X : Principaux facteurs de l'absorption percutanée et leur importance relative (96).

---

Hydratation du stratum corneum	10 fois
Elévation thermique	2 fois
Vasodilatation	1,5 fois
Occlusion (vasodilatation + chaleur + hydratation)	10 à 100 fois

---

Nous allons maintenant nous intéresser aux excipients que l'on peut utiliser pour la réalisation des tests épicutanés et à l'influence que peut avoir un excipient judicieusement choisi sur la réactivité de ces tests.

## **5. INFLUENCE DES EXCIPIENTS SUR LA PENETRATION CUTANEE.**

Selon Maibach « *il n'y a probablement pas de concentration ni de véhicule parfaits. Chaque malade et chaque test épicutané nécessitent une lecture par un médecin expérimenté afin que l'interprétation clinique soit la meilleure* ».

### **5.1. DEFINITION D'UN EXCIPIENT.**

Les véhicules ou excipients « sont des matières premières destinées à entrer dans la composition des préparations pharmaceutiques à un titre différent de celui des principes actifs ».

A l'origine, les excipients étaient considérés comme neutres ; or il n'en est rien puisque nous allons voir qu'ils peuvent exercer une action non négligeable sur la pénétration cutanée des principes actifs.

Il existe un grand nombre d'excipients utilisés en pharmacie, et leurs rôles sont multiples. Les trois grandes fonctions des excipients sont de faciliter l'administration d'une substance active (aromatisants, solvants), d'assurer la conservation ainsi que la stabilité de la préparation (conservateurs), d'améliorer l'efficacité du principe actif (excipients pour pommade facilitant le pénétration d'une molécule médicamenteuse).

Nous n'étudierons ici que ces derniers.

Leur origine est naturelle, synthétique ou hémisynthétique avec des garanties de pureté. Ils sont tous définis par des caractères physico-chimiques (69). De nombreux excipients sont inscrits à la Pharmacopée Française ou Européenne.

La première influence que possède un excipient sur la pénétration cutanée d'une molécule est sa capacité à libérer cette molécule pour permettre son passage transcutané (69).

La formulation galénique possède donc une importance fondamentale dans la bonne pénétration cutanée d'une molécule médicamenteuse.

Il faut que :

- la molécule soit peu soluble dans l'excipient choisi (le coefficient de partage sera positif pour un excipient hydrophile et négatif pour un excipient lipophile),
- la solution soit proche de la saturation (1).

Les excipients doivent :

- être pharmacologiquement inertes,
- avoir une action réversible,
- être de bons solvants pour les molécules testées,
- permettre la libération de ces molécules.

Ils ne doivent pas :

- induire de réaction toxique (par exemple : ammoniums quaternaires très irritants),
- modifier durablement la structure du stratum corneum (par exemple : azone + propylène-glycol) (105).

## **5.2. CLASSIFICATION DES EXCIPIENTS.**

Différentes classifications sont possibles pour les excipients, selon leur complexité ou leur famille chimique (20,36). La première classification repartit les excipients en excipients simples (lipophiles, hydrophiles, amphiphiles) et en excipients complexes (20).

### **5.2.1. Classification selon leur complexité.**

#### Les excipients simples.

Trois sous-groupes se différencient :

- les excipients lipophiles :
  - les hydrocarbures avec la vaseline,
  - les triglycérides avec l'huile d'olive,
  - les esters d'acides gras avec le myristate d'isopropyle.
- les excipients hydrophiles :

- l'eau,
- le polyéthylène-glycol,
- l'acétone,
- l'éthanol,
- le propylène-glycol.
- les excipients amphiphiles :
  - les mono et diglycérides avec la monooléine,
  - les dérivés de la lanoline.

Les excipients complexes.

Leur nombre est important.

Citons pour exemple :

- les alcools gras : l'alcool cétostéarylique,
- les esters de glycérol, de propylène-glycol.

Cette classification exclut les propriétés physico-chimiques des molécules. Aussi pouvons-nous décrire la classification suivante, basée sur l'appartenance d'un excipient à une famille chimique.

### **5.2.2. Classification selon leur famille chimique (36).**

5.2.2.1. Les solvants alcooliques.

- l'éthanol,
- le propylène-glycol,
- les polyéthylène-glycols de poids moléculaires différents :
  - faible poids moléculaire : liquides,
  - fort poids moléculaire : solides.

5.2.2.2. Les excipients hydratants.

- l'eau,
- la glycérine.

5.2.2.3. Les excipients amphipathiques comme les surfactifs anioniques ou non ioniques.

- les polyoxyéthylène-glycols,
- l'alcool cétostéarylique.

5.2.2.4. Les solvants aprotiques.

- le diméthylformamide (DMF),
- le diméthylsulfoxyde (DMSO).

5.2.2.5. L'azone ou laurocapram.

5.2.2.6. Les divers liquides apolaires lipophiles.

- l'alcool laurique,
- l'acide oléique,
- les huiles de silicone,
- le myristate d'isopropyle.

5.2.2.7. Les terpènes comme le L-menthol.

5.2.2.8. Les excipients hydratés comme les hydrogels composés de plusieurs excipients simples.

5.2.2.9. Les triglycérides.

- l'huile d'olive,
- la tricapriline,

5.2.2.10. Les esters d'alcane.

- l'acétone,
- l'acétate d'éthyle.

5.2.2.11. Les hydrocarbures comme la vaseline.

5.2.2.12. Les émulsions.

### **5.3. INTERACTION DES EXCIPIENTS AVEC LE STRATUM CORNEUM.**

Le stratum corneum exerce son effet de barrière vis-à-vis de la pénétration de substances à travers la peau.

Un excipient peut posséder la propriété de modifier le stratum corneum. La fonction de barrière de ce dernier s'altère. C'est le cas du diméthylsulfoxyde, de l'acétone, des surfactants anioniques, de l'éthanol et de bien d'autres excipients que nous détaillerons par la suite.

Nous avons à notre disposition d'autres moyens de réduire l'effet barrière du stratum corneum tels que la température, l'hydratation (75).

#### **5.3.1. Modification structurelle de la peau : action sur les lipides cutanés.**

La modification structurelle de la peau peut être obtenue :

- par une modification de la concentration de chaque constituant lipidique du stratum corneum par extraction des lipides cutanés ; cette modification induit une diminution de la cohésion cornéocytaire ; on observe une diminution de la résistance de la couche cornée à la pénétration cutanée des principes actifs ; c'est par exemple le mode d'action des solvants organiques,

- en remplaçant, par simple application, des lipides de la couche externe par des produits dont l'action leur est opposée ; par exemple, lorsque l'on applique sur la peau de l'huile de tournesol (riche en acide linoléique) il y a une diminution de la perte transépidermique d'eau chez les animaux déficients en acides gras essentiels ; on obtient alors un phénomène d'hyperhydratation,
- par coagulation des protéines ; il s'en suit une désorganisation du stratum corneum ; c'est par exemple le mode d'action de l'éthanol ; au niveau du stratum corneum, l'acétate d'éthyle et l'acétone causent beaucoup plus de dommages que l'éthanol (77).

D'autres solvants lipophiles comme le chloroforme ou le diéthyléther sont encore plus toxiques que les solvants polaires (éthanol, acétone, acétate d'éthyle) (36).

#### 5.3.1.1. Les solvants organiques.

Ils agissent au niveau du stratum corneum en désorganisant le réseau de kératine et en solubilisant les lipides cutanés.

##### *5.3.1.1.1. L'alcool éthylique.*

L'alcool sans qualificatif est, selon la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), un mélange d'éthanol et d'eau. Il comprend entre 94,7% et 96,6% V/V d'éthanol. C'est un liquide incolore, volatile, d'odeur caractéristique, miscible à de nombreux solvants. Il peut être utilisé seul ou associé à d'autres solvants soit pour faciliter la solubilisation de certaines molécules soit pour favoriser le passage transcutané de principes actifs.

L'éthanol ne permet pas d'augmenter la pénétration des molécules sous forme de sels (65,69,115).

##### *5.3.1.1.2. Le propylène-glycol.*



Inscrit à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), il se présente sous la forme d'un liquide visqueux, incolore, inodore, un peu plus dense que l'eau, hygroscopique, miscible à l'eau,

l'alcool, et le chloroforme. Il est soluble dans l'éther. Il ne dissout pas les huiles, mais il sert de solvant pour de nombreuses molécules médicamenteuses insolubles dans l'eau (65,69,115).

On retrouve le propylène-glycol dans des préparations dermatologiques, injectables ou orales. Cependant, il existe un risque de dermatite de contact lors de l'application locale d'une forme pharmaceutique le contenant. Angelini et Meneghini (6) ont montré que dans une série de 400 patients, 1,5% des sujets présentant un eczéma de contact étaient sensibilisés au propylène-glycol.

### 5.3.1.2. Les excipients lipophiles.

#### *5.3.1.2.1. L'acide oléique.*

Il est obtenu par hydrolyse de graisses ou d'huiles.

C'est un liquide huileux, clair jaunâtre ou brunâtre d'odeur caractéristique de saindoux.

L'acide oléique est insoluble dans l'eau, miscible dans l'éthanol, le chloroforme, l'éther et les huiles volatiles ou non. C'est un agent solubilisant ou émulsifiant (100).

Il agit sur les états T1, T2, T3 et s'insère entre les chaînes lipidiques (partie polaire des bicouches lipidiques) qu'il va ainsi fluidifier.

#### *5.3.1.2.2. L'huile d'olive.*

Appartenant aux glycérides naturels et inscrite à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), l'huile d'olive est extraite des drupes mures de l'olivier cultivé (*Olea europea*).

⌘ Ici, l'acide gras est l'acide oléique, insaturé :  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$ .

L'huile d'olive se présente sous forme liquide, jaune, visqueuse, insoluble dans l'eau et l'alcool, soluble dans de nombreux solvants organiques non miscibles à l'eau comme le chloroforme (69,115).

Son pouvoir de pénétration est faible mais supérieur tout de même à celui de la vaseline. Sa miscibilité au sébum permet de désorganiser les lipides cutanés et d'augmenter le passage transcutané des molécules.

### 5.3.1.3. Les solvants aprotiques.

#### *5.3.1.3.1. Le diméthylsulfoxyde.*

Le diméthylsulfoxyde (DMSO) est un liquide incolore, inodore, hygroscopique. Il peut aussi se présenter sous forme de cristaux. Il est inscrit à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd).

Il est miscible à l'eau, à l'éthanol et à l'éther.

Au niveau cutané, son action modifie la structure de la kératine, ce qui permet un passage transcellulaire de nombreuses molécules comme les AINS (77).

Ce meilleur passage transcutané est du à :

- son pouvoir solvant vis-à-vis des graisses (augmentation de leur fluidité), des acides gras libres, des stérols, des glucides ; cette action augmente la porosité des muqueuses et du stratum corneum,
- la production de chaleur lors de sa dissolution dans l'eau (une augmentation de température au niveau tissulaire augmente le pouvoir solvant du diméthylsulfoxyde vis-à-vis des lipides),
- sa dimension moléculaire réduite,
- sa capacité à chélater des ions métalliques constitutifs de membranes cellulaires, ce qui modifie leurs structures et augmente la perméabilité.

Le diméthylsulfoxyde augmente la pénétration des molécules lipophiles.

#### *5.3.1.3.2. Le diméthylformamide.*

Liquide incolore, non inscrit à la Pharmacopée Française, il est considéré comme un solvant très irritant. Il est plutôt utilisé comme solvant industriel (100).

#### 5.3.1.4. Les solvants polaires.

Ils agissent par désorganisation du stratum corneum, par solubilisation des lipides cutanés.

##### *5.3.1.4.1. L'acétone.*

C'est un liquide incolore, inscrit à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), d'odeur caractéristique, volatile et inflammable miscible à de nombreuses huiles volatiles, à l'éthanol, à l'eau, au chloroforme et à l'éther (115).

##### *5.3.1.4.2. L'acétate d'éthyle.*

Inscrit à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), c'est un liquide incolore, volatile, inflammable, rafraîchissant. Il est soluble dans l'eau, miscible dans l'éthanol, l'acétone, l'éther, les huiles, le chlorure de méthylène (100).

Devant l'éventuelle toxicité des esters d'alcanes, des tests épicutanés ont été réalisés pour déceler s'il existait un risque de sensibilisation. Friend (45) a rapporté une observation d'Opdyke dans laquelle il a montré qu'un patch à 10% d'acétate d'éthyle dans la vaseline chez l'homme pendant 24 heures n'induisait pas d'irritation, ni de sensibilisation.

Le potentiel sensibilisant du mélange éthanol / acétate d'éthyle et / ou de l'acétate d'éthyle seul a été testé par Maibach et Friend. Les tests épicutanés réalisés avec ces produits n'ont induit ni toxicité cumulative sur 21 jours, ni irritation (45).

#### 5.3.1.5. Les surfactants anioniques ou non ioniques.

Il s'agit de substances telles que les polyoxyéthylène-glycols, l'alcool cétostéarylique.

Inscrits à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), les polyoxyéthylène-glycols (PEG) sont obtenus par condensation de molécules d'oxyde d'éthylène et d'eau. Plus la condensation est importante, plus la viscosité augmente. Les PEG de faible poids moléculaire (PM<600) sont liquides, ceux de poids intermédiaire (600-1000) sont pâteux. Pour des poids moléculaires élevés (PM>1000), ils sont solides. Ils sont solubles dans l'eau, l'acétone, l'éthanol mais insolubles dans l'éther, les graisses, les huiles végétales (115).

Les surfactants anioniques ou non ioniques possèdent un faible pouvoir irritant et toxique. Ils favorisent la pénétration cutanée des molécules par augmentation de la fluidité, solubilisation et destruction des lipides membranaires. Ils possèdent également une action sur les protéines membranaires qu'ils solubilisent (69).

Inscrit à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), l'alcool céstéarylique est un mélange solide de deux alcools aliphatiques, l'alcool stéarylique et l'alcool cétylique. Il appartient aux glycérides ; il possède une action occlusive et de désorganisation du stratum corneum.

Il se présente sous la forme d'une masse cireuse, de granules ou de paillettes blanches ou légèrement jaunâtres. Il est insoluble dans l'eau, soluble à froid dans l'éther, soluble dans l'alcool. Il est miscible avec les huiles végétales, la paraffine liquide, la vaseline (69).

#### 5.3.1.6. Les promoteurs de pénétration cutanée.

##### *5.3.1.6.1. L'azone.*

L'azone ou laurocapram est une molécule spécifiquement étudiée pour augmenter le passage transcutané de différentes molécules médicamenteuses, qu'elles soient lipophiles ou hydrophiles. Son action a été étudiée avec les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

C'est une molécule fortement lipophile, son coefficient de partage log oct/eau = 6,21.

C'est un liquide clair, incolore, insoluble dans l'eau (100).

L'azone est compatible avec de nombreux solvants organiques, les émulsions, les gels, les solutions comprenant des molécules hydrosolubles.

Cette molécule est composée d'une zone lipophile (une longue chaîne alkyle) et d'une zone plus polaire (le groupe lactame). Ces deux zones vont interagir respectivement avec les chaînes alkyles et les zones polaires des lipides membranaires au niveau des états T1, T2, T3 comme nous les avons définis dans le paragraphe 4.6.1.7. des chaînes lipidiques (partie polaire des bicouches lipidiques).

Une concentration de 1 à 10% en azone est suffisante pour produire l'effet recherché, même si la préparation est faiblement concentrée en molécule active (64).

Le mélange azone et propylène-glycol provoque une transformation irréversible de la structure cutanée par formation de micelles inverses (36).

Ce produit est commercialisé aux Etats-Unis. Il n'entre dans aucune composition de médicament commercialisé en France.

Des études (tests épicutanés) ont montré que l'azone, aux concentrations utilisées (1 à 5%), ne provoque pas d'irritation et n'induit pas d'allergie de contact (64).

#### 5.3.1.6.2. *Les terpènes.*

Les terpènes sont des huiles végétales connues depuis les Grecs anciens. Les terpènes sont définis par le nombre d'unités isoprènes qu'ils contiennent ( $C_5H_8$ ). On définit alors les monoterpènes à deux unités isoprènes, les sesquiterpènes à trois unités isoprènes, les diterpènes à quatre unités isoprènes. Ils peuvent également être définis en fonction du nombre de cycles qu'ils contiennent (0,1 ou 2).

Ces molécules agissent en perturbant la haute organisation structurale des lipides membranaires, augmentant la diffusion intercellulaire. Elles interagissent également avec les protéines intracellulaires en augmentant la pénétration intracornéocytaire. Elles augmentent l'affinité des molécules pour les tissus ; c'est un phénomène mal connu. Les terpènes ayant cet effet promoteur de pénétration sont cycliques.

Parmi ces substances, on retrouve le menthol, le d-limonène, le 1,8-cinéole, le delta-3 carène (19).

Leur intérêt dans les tests épicutanés est limité car ils sont potentiellement toxiques, irritants pour la peau comme le delta-3 carène et risquent d'induire de faux positifs. Ce sont des allergènes testés dans des batteries en allergologie (19).

#### 5.3.1.6.3. *Le myristate d'isopropyle.*

Ester de l'acide myristique et de l'alcool isopropylique, liquide apolaire lipophile, il est inscrit à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd). Il est décrit comme un liquide incolore, inodore, huileux, non volatile et de saveur douceâtre. Miscible avec l'éthanol, l'éther, les alcools gras, les huiles, la paraffine, il ne l'est pas avec l'eau. Il est insoluble dans le glycérol, le propylène-glycol. Il est soluble à froid dans l'éthanol (100,115). Il favorise par son action le passage transcutané d'anti-inflammatoires (l'indométacine par exemple) (110).

#### 5.3.1.6.4. *L'acide laurique.*

Il se présente sous la forme d'une poudre blanche, cristalline.

Insoluble dans l'eau, il l'est dans l'éthanol, l'éther, le benzène (103).

#### 5.3.1.6.5. *L'alcool laurique.*

Il est obtenu à partir de la réduction d'esters de l'acide laurique.

Il est insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol et l'éther (103).

### **5.3.2. Hyperhydratation locale.**

L'état d'hydratation cutanée est primordial pour la pénétration des molécules. Il est dépendant du gradient de concentration en eau entre la surface cutanée et le derme.

L'hyperhydratation locale provoque l'insertion de molécules d'eau dans la triple hélice de kératine, qui va se retrouver hydratée (liaisons entre les groupements hydroxyles (OH), carboxyles (COOH), amines (NH<sub>3</sub>) et les molécules d'eau). Cette hyperhydratation peut être obtenue :

- par occlusion,
- par apport d'eau au niveau cutané.

Les molécules d'eau peuvent également s'insérer entre les têtes polaires des bicouches lipidiques ; elles provoquent les mêmes désordres cutanés que les états T2 et T3 décrits au chapitre 4.6.1.7. Cette insertion de molécules d'eau se fait par création de ponts hydrogènes ou de liaisons ioniques entre les chaînes lipidiques. On observe alors une diminution de résistance du stratum corneum à la pénétration des molécules par voie intra et extra-cellulaire suite à une désorganisation des lipides (36,134).

Une hyperhydratation n'induit pas forcément une augmentation de la pénétration cutanée de toutes les molécules. Certains composés voient leur pénétration diminuer ; en effet, l'hydratation de la kératine entraîne une augmentation de la polarité de la barrière lipidique, d'où un frein à la pénétration des solutés lipophiles. Une hydratation ne provoque pas d'augmentation

de la pénétration de molécules telles que la progestérone ou la testostérone qui sont apolaires (64).

Le propylène-glycol, les sulfoxydes, le diméthylformamide sont capables d'induire une hyperhydratation (36).

Il existe d'autres moyens d'obtenir une hydratation cutanée satisfaisante :

- pansements plastiques,
- topiques gras huileux,
- pansements hydrocolloïdes semi-perméables.

#### 5.3.2.1. Les excipients hydratants.

Nous retiendrons deux types d'excipients hydratants :

- l'eau,
- la glycérine.

##### *5.3.2.1.1. L'eau.*

L'eau est l'excipient le plus utilisé en galénique.

Parmi les quatre types d'eau inscrits à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), l'eau utilisée pour la préparation des tests épicutanés est de l'eau purifiée.

C'est une eau déminéralisée, incolore, inodore, sans saveur et insipide.

Elle est miscible à de nombreux solvants organiques tels l'éthanol, l'éther, le propylène-glycol, le diméthylsulfoxyde. Elle est également miscible à certains corps gras comme la lanoline mais pas à la vaseline (69).

##### *5.3.2.1.2. La glycérine.*

Appelée également glycérol, la glycérine est inscrite à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd). C'est un liquide sirupeux, onctueux au toucher, sensiblement incolore, limpide, très hygroscopique, miscible à l'eau, l'alcool, peu soluble dans l'acétone, pratiquement insoluble dans l'éther, les huiles grasses et les huiles essentielles (69,115).

Elle possède un pouvoir solvant très étendu combinant ceux de l'éthanol et de l'eau.

Considérée comme humectant ou émollient, la glycérine permet de conserver aux couches cutanées superficielles un bon état d'hydratation (69).

### 5.3.2.2. La vaseline.

Elle est obtenue à partir de la fraction lourde du pétrole et elle est inscrite à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd).

La vaseline officinale possède une consistance onctueuse et pâteuse, résultat d'une dispersion d'hydrocarbures liquides et solides.

Elle est de couleur blanchâtre, translucide en couche mince, insipide et sans odeur. Elle est insoluble dans l'eau, dans la glycérine, peu soluble dans les alcools tels que le méthanol ou l'éthanol, faiblement soluble dans l'acétone, soluble dans les solvants organiques comme l'éther, le chloroforme, l'éther de pétrole. Son principal intérêt est sa grande inertie chimique (65,69).

C'est une substance apolaire, compatible avec de nombreux composés. Son action pénétrante est très faible car elle ne se mélange pas aux exsudations aqueuses de la peau. Elle va favoriser la pénétration des molécules au niveau cutané par son pouvoir occlusif important.

Dans la vaseline seront présentées des molécules plus hydrophiles que lipophiles ; en effet les molécules hydrophiles sont insolubles dans cet excipient.

Romano et coll. ont étudié les réactions médicamenteuses dues à certaines bêta-lactamines chez 195 sujets. Ils ont séparé leurs patients en deux groupes, ceux présentant une hypersensibilité immédiate et ceux présentant une hypersensibilité retardée. Pour ces derniers, la recherche diagnostique s'est faite à l'aide de tests épicutanés à base de benzylpénicilline, d'aminopénicilline et d'amoxicilline dans la vaseline. Sur 60 patients présentant des rashes maculo-papuleux (hypersensibilité retardée), 33 patients ont présenté des tests épicutanés positifs à 48 et 72 heures pour chacune des molécules testées, dont 30 avec des patchs positifs à l'aminopénicilline et l'amoxicilline. 27 patients sur 60 ont montré des résultats négatifs, qui ont été confirmés pour 16 d'entre eux ultérieurement. Pour cette série, il n'y a pas eu de tests dans d'autres solvants. La pénétration des molécules est due au pouvoir occlusif de la vaseline (137).

### 5.3.2.3. Le diméthylsulfoxyde.

Le diméthylsulfoxyde (DMSO) permet un meilleur passage transcutané grâce à son hygroscopicité. Le passage du DMSO au niveau cutané provoque un appel d'eau au niveau tissulaire, d'où une action d'hydratation.

### 5.3.2.4. Les émulsions (excipients émulsionnés) ou excipients biphasiques.

Une émulsion est constituée :

- d'une phase huileuse,
- d'une phase aqueuse,
- d'un émulsionnant.

Ces excipients possèdent la propriété d'être à la fois hydrophiles et lipophiles.

La phase huileuse se compose :

- de glycérides,
- de cires,
- d'hydrocarbures,
- d'acides gras,
- d'alcools gras,
- de surfactifs lipophiles.

La phase aqueuse comprend de l'eau avec éventuellement :

- du propylène-glycol,
- de la glycérine,
- des polyéthylène-glycols (20,69).

L'émulsionnant est un tensioactif qui sera choisi de façon à réaliser l'émulsion la plus stable possible. Il en existe un grand nombre.

Nous citerons par exemple :

- l'éther laurylique de polyoxyéthylène-glycol,
- le monolaurate de sorbitane polyhydroxyéthyléné,
- le monoléate de sorbitane polyoxyéthyléné.

Il existe deux types d'émulsions :

- les émulsions H/E (huile dans eau) à phase continue hydrophile,
- les émulsions E/H (eau dans huile) à phase continue lipophile.

La pénétration des molécules médicamenteuses dépend de la composition qualitative et quantitative de la phase lipidique. Si l'émulsion contient plus de 20% de phase dispersée lipophile, c'est une action de surface de type occlusion qui sera réalisée (20).

**Les émulsions H/E** possèdent une lipophilie élevée. Elles entraînent un dégraissage de la surface cutanée. Le film lipidique superficiel est émulsionné avec l'excipient d'où une évaporation de l'eau contenue dans les cornéocytes et un dessèchement de la kératine qui se casse. Il y a moins de 20% de phase dispersée lipophile dans ce type d'émulsion.

**Les émulsions E/H** sont émoullientes et protectrices. Ce sont les sécrétions aqueuses qu'elles émulsionnent et non pas le film lipidique. Il n'y a donc pas de délipidation ni de déshydratation superficielle. La pénétration plus lente qu'avec une émulsion H/E, favorise un temps de contact accru entre la peau et la molécule médicamenteuse d'autant que la préparation devient plus visqueuse au fil du temps.

Par exemple, Kalz et Scott en 1956 ont montré qu'une émulsion E/H apporte une efficacité maximale lors d'une corticothérapie locale avec peu d'effets secondaires (8).

#### 5.3.2.5. Les glycérides.

Inscrits à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), ils sont classés en trois groupes :

- les glycérides polyglycosylés insaturés,
- les glycérides polyglycosylés saturés,
- les glycérides naturels.

#### *5.3.2.5.1. L'huile d'olive.*

Active sur les lipides cutanés, l'huile d'olive possède également une capacité occlusive qui accroît l'hydratation de la peau pour favoriser le passage cutané des molécules médicamenteuses (69).

#### *5.3.2.5.2. La tricapriline (Panasate).*

Appartenant au troisième groupe des glycérides, elle possède les propriétés des triglycérides à chaîne moyenne du type beurre de cacao. C'est une huile végétale, visqueuse.

On la retrouve inscrite à la Pharmacopée Anglaise (100).

#### *5.3.2.6. Les hydrogels.*

Appelés également excipients hydratés, ce sont des gels aqueux dans lesquels il est possible d'incorporer des principes actifs. Ils sont composés d'eau, de propylène-glycol et d'un agent gélifiant.

On distingue deux groupes d'hydrogels :

- les gels de produits minéraux : bentonite, silice,
- les gels de polymères organiques : alginates, gélose, pectine, méthylcellulose, carboxyméthylcellulose, empois d'amidon (69).

Ce sont des préparations très visqueuses facilitant le passage transcutané des molécules par une action occlusive et une action sur les lipides cutanés grâce au propylène-glycol (28,69).

#### *5.3.2.6.1. Les gels de produits minéraux.*

- La bentonite :

Inscrite à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), c'est une argile naturelle contenant une forte proportion de silicate d'aluminium (montmorillonite) dans lequel certains atomes d'aluminium et de silicium peuvent être remplacés par des atomes de fer ou de magnésium.

C'est une poudre blanche, parfois beige qui gonfle en présence d'eau en formant une masse (69,115).

- Les silices :

Il existe trois types de silices inscrites à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd) :

- les silices naturelles de type Kieselguhr,
- les silices précipitées,
- les silices pyrogénées.

Ce sont des poudres légères et blanches parfois floconneuses, insolubles dans l'eau et les solvants organiques, insolubles dans les acides, mais solubles à chaud dans les lessives alcalines (69,115).

#### 5.3.2.6.2. Les gels de polymères organiques.

- La cellulose et dérivés :

Comme les amidons, la cellulose est un glucosane végétal obtenu à partir du bois. A la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), elle figure sous le terme de cellulose excipient. C'est une fine poudre blanche, granuleuse, insoluble dans l'eau mais qui s'y disperse pour donner des mélanges très visqueux (69,115).

- L'alginate de sodium :

Inscrit à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd), il se présente sous forme de poudre ou de granules (69,115).

- Les amidons :

Utilisés dans les hydrogels sous forme d'empois d'amidon ou glycérolés d'amidon de blé, ils sont inscrits à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd). Ce sont de fines poudres blanches, insipides et inodores, insolubles à froid dans l'eau mais solubles à chaud dans l'eau (80°C minimum) (69,115).

- La gélose ou Agar-Agar :

La monographie de la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd) la décrit comme de petits rubans minces chiffonnés, blanchâtres et translucides, sous forme de poudre grossière ou de granulés. Elle gonfle légèrement dans l'eau froide mais se dissout lentement dans l'eau bouillante (69,115).

- Les pectines :

Issues de pommes, elles ne sont pas inscrites à la Pharmacopée Française.

Les hydrogels solubilisant mieux les sels que la vaseline, un excipient de type hydrogel sera préféré pour les sels (47).

#### 5.3.2.7. Les huiles de silicones.

Ce sont des polysiloxanes méthyliques ou diméthylpolysiloxanes. Ces produits se présentent sous la forme d'huiles de différentes viscosités exprimées en centistokes. Leur viscosité varie entre 20 et 1000 centistokes.

Insolubles dans l'eau, l'acétone, l'éthanol, l'alcool méthylique, elles sont solubles dans l'éther, le xylène. Elles sont utilisées soit comme excipient gras, soit sous forme d'émulsion du type H/E (69). Leur action est occlusive.

#### **5.3.3. Conclusion.**

La figure 4 et le tableau XI résument le mode d'action des excipients les plus facilement utilisables et quelques molécules cibles sur lesquels ils vont agir.

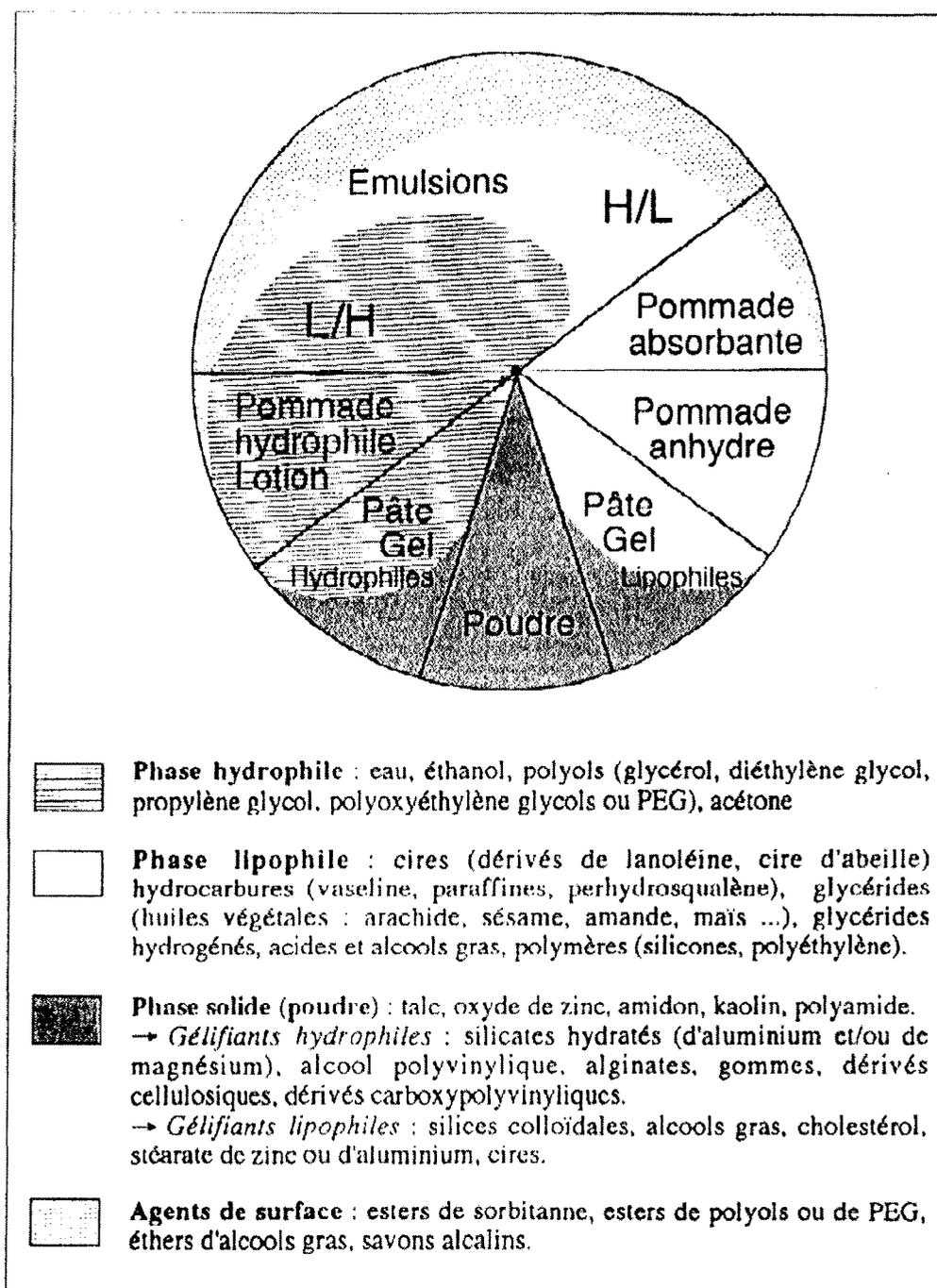


Figure 4 : Propriétés des excipients (102).

TABLEAU XI : Propriétés de quelques excipients parmi les plus courants.

Nature de l'excipient	Propriétés	Impact sur la pénétration	Molécules ciblées	Référence
Eau	Substance très polaire	Hydratation	Aspirine Acide fusidique Molécules ionisées Caféine	121
Glycérine	Substance polaire Possède les propriétés de l'eau et de l'éthanol	Hydratation	Molécules ionisées Molécules hydrophiles	69
Vaseline	Substance apolaire Grande inertie chimique	Pouvoir occlusif Hydratation indirecte	Molécules hydrophiles Molécules ionisées	69,121 47
Glycérides				
Huile d'olive	Miscibilité au sébum	Pouvoir occlusif	Molécules hydrophiles	69
Alcool cétylique	Désorganisation des lipides cutanés	Hydratation indirecte		
Tricapryline		Pouvoir occlusif Hydratation indirecte	Molécules hydrophiles et lipophiles	89,91
Mélanges triglycérides et éthanol				
TG > polaire	Composé plutôt apolaire	Viscosité de surface Contact prolongé Occlusion	Molécules hydrophiles	20
TG < polaire	Composé plutôt polaire	Dégraissage de la surface cutanée Hydratation	Molécules lipophiles AINS	20
Ethanol Propylène-glycol DMSO Acétone Acétate d'éthyle	Miscibles à de nombreux solvants	Désorganisation du stratum corneum par action sur la kératine Solubilisation des lipides cutanés	Molécules lipophiles Corticoïdes 5-fluoro-uracile Ostrogènes AINS	46
Hydrogels	Excipient polaire	Désorganisation du stratum corneum par l'action du propylène-glycol	Molécules lipophiles Molécules ionisées	47
Azone	Molécule très lipophile	Désorganisation des lipides cutanés	Molécules lipophiles Molécules hydrophiles	64

#### **5.4. CONDITIONS D'OBTENTION DES EXCIPIENTS.**

Les excipients utilisés pour des tests épicutanés doivent avoir comme les molécules à tester, une qualité parfaite. Ils doivent répondre aux caractéristiques décrites dans les monographies de référence.

L'approvisionnement s'effectue soit directement auprès de firmes pharmaceutiques lorsqu'il s'agit de produits entrant dans la composition d'un médicament, soit auprès de laboratoires fournisseurs de produits chimiques. Nous nous adressons aux établissements ayant le statut de laboratoires pharmaceutiques. Si ce n'est pas le cas, nous devons être en mesure de vérifier la qualité du produit. Nous rencontrons de plus en plus de difficultés d'approvisionnement en principes actifs et excipients répondant aux critères de la Pharmacopée Française.

La Coopérative Pharmaceutique Française dispose des excipients suivants :

- l'éthanol,
- la vaseline,
- l'huile d'olive,
- le propylène-glycol,
- les polyéthylène-glycols,
- l'acétone,
- le diméthylsulfoxyde,
- la carboxyméthylcellulose,
- l'amidon de blé.

Le laboratoire Laserson SA chimie fine dispose de :

- l'alcool laurique,
- l'acide oléique,
- le myristate d'isopropyle,
- le menthol.

Les hydrogels :

- EFFAGEL<sup>®</sup> (La ROCHE POSAY) (gel auquel il est possible d'adjoindre de l'éthanol),
- PANOXYBASE<sup>®</sup> (STIEFEL).

## **5.5. CRITERES DE CHOIX DES EXCIPIENTS.**

Nous avons vu que les principaux critères de choix d'un excipient lors d'un patch-test devaient reposer sur la valeur du coefficient de partage octanol / eau de la molécule à tester, de la polarité de l'excipient, de la valeur du pKa de la molécule pour une solution. De nombreuses études se rapportent à la possibilité d'augmenter la pénétration des molécules médicamenteuses.

Pour chaque type de molécule, nous verrons l'influence d'excipients tels que :

- les triglycérides seuls ou émulsionnés avec l'éthanol (tricapryline),
- les différents excipients lipophiles (huile d'olive),
- les excipients hydrophiles :
  - l'eau,
  - l'éthanol,
  - le propylène-glycol,
  - les hydrogels (EFFAGEL<sup>®</sup>, PANOXYBASE<sup>®</sup>),
- les promoteurs de pénétration cutanée (éthanol, azone).

### **5.5.1. Influence du véhicule sur la polarité de la molécule.**

Certains auteurs se sont intéressés à la pénétration cutanée, *in vitro* au travers d'un fragment de peau humaine de molécules de polarités différentes. Trois molécules ont été retenues comme modèle :

- le fluazifop-butyl (lipophile),
- le diméthylphtalate (intermédiaire),
- le fomesafen sous forme de sel sodique (hydrophile).

Elles furent diluées à 10 mg/ml dans trois excipients :

- le propylène-glycol,
- l'octanol,
- l'éthyldécanoate.

Les résultats des flux de pénétration, au travers d'une membrane humaine, des différentes molécules dans les trois solvants sont regroupés dans le tableau XII.

TABLEAU XII : Flux de pénétration du fluazifop-butyl, du diméthylphtalate et du fomesafen dans le propylène-glycol, l'octanol et l'éthyldécanoate (68).

Molécules	Propylène-glycol	Octanol	Ethyldécanoate
Fluazifop-butyl	0,39	0,099	0,064
Diméthylphtalate	2,5	1,4	2,5
Fomesafen sodium	0,021	0,57	21

Ce tableau montre que le flux de pénétration du fluazifop-butyl est maximal lorsqu'il est dilué dans le propylène glycol. Pour le fosemafen, c'est dans l'éthyldécanoate que le flux est le plus important. Pour le diméthylphtalate, les résultats sont comparables dans le propylène glycol et l'éthyldécanoate.

Le fluazifop-butyl et le diméthylphtalate sont très solubles dans l'octanol et l'éthyldécanoate (solvants peu polaires). Par contre, le fosemafen sodique très hydrophile est très soluble dans un véhicule polaire comme le propylène-glycol alors qu'il est peu soluble dans les deux autres.

Dans une autre étude (90), les auteurs ont suivi *in vivo* la diffusion de trois molécules au travers d'une membrane de peau de souris intacte:

- le tefagur (TEG) (hydrophile),
- l'alclofenac (ALC) (plutôt intermédiaire),
- l'ibuprofène (IBU) (lipophile).

Ces molécules sont diluées dans deux solvants (la dilution est inconnue) :

- l'un lipophile composé d'éthanol (40%) / tricapyryline (60%) noté I,
- l'autre hydrophile de composition inverse éthanol (60%) / tricapyryline (40%) noté II.

Le pourcentage d'ibuprofène ayant pénétré à 12 h est maximal pour l'excipient II (82,1%) contre 23,3% pour l'excipient I. Pour le tefagur, les résultats indiquent un flux maximal pour l'excipient I (68,2%) contre 7,4% pour l'excipient II. Pour l'alclofenac, la pénétration est meilleure dans l'excipient II (82,9%) contre 59,9% dans l'excipient I.

La différence de pénétration de l'alclofenac entre les deux excipients est moins marquée que pour l'ibuprofène et le tefagur ; la polarité intermédiaire de la molécule explique cela.

La pénétration de l'ibuprofène est la meilleure lorsqu'elle est présentée dans un véhicule hydrophile. Celle du tefagur est supérieure dans un véhicule lipophile (90).

La pénétration d'une molécule est meilleure lorsqu'elle est présentée dans un véhicule de polarité inverse (68,90).

## **5.5.2. Excipients lipophiles.**

### 5.5.2.1. Les triglycérides.

Goto et coll.(56) ont étudié, *in vitro* au travers d'une partie de peau sans poils de souris, l'influence de différents excipients sur la pénétration du kétoprofène seul. Cette molécule a été diluée à 3% dans différents excipients :

- la tricapyryline,
- la trioléine,
- la monooléine,
- la monocapyryline,
- le mélange éthanol 40% / tricapyryline 60%,
- le mélange méthanol 40% / tricapyryline 60%.

Les résultats sont regroupés dans le tableau XIII.

TABLEAU XIII : Flux de pénétration du kétoprofène selon différents excipients (56).

Excipient	Flux de pénétration du kétoprofène ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ )
Tricapryline	54,9
Trioléine	30,9
Monooléine	104,3
Monocapryline	57,3
Ethanol 40% / Tricapryline 60%	313,9
Méthanol 40% / Tricapryline 60%	300,9

Parmi tous ces excipients, les meilleurs flux de pénétration du kétoprofène sont obtenus avec un mélange éthanol ou méthanol à 40% et tricapyryline à 60% ; le méthanol ne peut être utilisé lors des tests épicutanés en raison de sa toxicité.

Les auteurs ont ensuite comparé simultanément l'influence de solvants à base d'éthanol et de tricapyryline, *in vitro* au travers d'une partie de peau sans poils de souris, sur la pénétration d'anti-inflammatoires non stéroïdiens dont la polarité va en croissant :

- l'acide salicylique (hydrophile),
- l'acide salicylique,
- l'alclofénac (intermédiaire),
- le kétoprofène (lipophile),
- l'ibuprofène (lipophile).

Ils ont montré que l'utilisation du solvant éthanol / tricapyryline augmente fortement la pénétration de l'acide salicylique, de l'acide salicylique, moyennement celle de l'alclofénac, plus faiblement celles du kétoprofène et de l'ibuprofène, par rapport à leurs pénétrations dans des solvants simples.

Le meilleur mélange a été déterminé pour un rapport éthanol (40%) / tricapyryline (60%) ; c'est un excipient plutôt lipophile.

L'augmentation de pénétration est inversement proportionnelle à la lipophilie des molécules testées.

Ce même mélange éthanol (40%) / tricapryline (60%) a été testé dans les mêmes conditions avec des anesthésiques locaux, des anticancéreux, des bases xanthiques (caféine, théophylline). Pour cette dernière, au bout de 28h, environ 80% de la théophylline déposée dans la préparation a pénétré le stratum corneum.

Ce type de solvant présente un intérêt surtout pour les molécules hydrophiles (89, 91), et à un degré moindre pour les molécules lipophiles (kétoprofène, ibuprofène) (56,140). Ceci s'explique par le caractère lipophile commun au solvant et aux molécules elles-mêmes (54,91).

#### 5.5.2.2. Les autres véhicules lipophiles.

Leopold et coll.(93) ont étudié l'influence de véhicules lipophiles sur la pénétration cutanée du nicotinate-méthyle éthyle (molécule hydrophile choisie comme modèle), molécule qui pénètre facilement la barrière cutanée et qui fut appliquée sous forme de solution sur les avant-bras de volontaires humains. Ils ont utilisé différents excipients :

- la diméticone 100 (diluée à 32 mg/100ml),
- une huile minérale (diluée à 42,3 mg/100ml),
- le myristate d'isopropyle (dilué à 170,1 mg/100ml),
- des triglycérides d'acides caprique et caprylique (dilués à 269 mg/100ml) avec ou sans 5% de phospholipides.

Des dilutions furent réalisées afin d'obtenir la même activité thermodynamique dans chaque excipient.

Par rapport à la diméticone (prise comme référence), les véhicules favorisant la pénétration du nicotinate-méthyle éthyle sont le myristate d'isopropyle (2 fois la valeur de la diméticone), l'huile minérale (1,5 fois la valeur de la diméticone), le dibutyl adipate (2,25 fois la valeur de la diméticone) et les triglycérides d'acides caprique et caprylique avec 5% de phospholipides (2,5 fois la valeur de la diméticone).

Les phospholipides et le myristate d'isopropyle provoquent la formation de micelles inverses, à partir des lipides membranaires, d'où une forte réduction de l'effet barrière du stratum corneum.

L'huile minérale est le véhicule qui possède le plus faible effet promoteur ; son action est principalement occlusive (93).

Les excipients lipophiles possèdent un effet promoteur de pénétration cutanée par leur action au niveau de la structure lamellaire des lipides du stratum corneum qu'ils fluidifient, dissolvent ou extraient.

Ils peuvent être utiles pour la réalisation de tests épicutanés. De plus, certains d'entre eux peuvent être obtenus assez facilement comme le myristate d'isopropyle.

### **5.5.3. Les excipients hydrophiles.**

#### *5.5.3.1. Influence du propylène-glycol sur le minoxidil.*

Shahnaz Tata et coll.(138) ont étudié sur 24h la quantité de minoxidil ayant pénétré la peau de souris sans poils. La molécule fut diluée à 2% dans un mélange variable d'éthanol, de propylène glycol. Parmi les résultats obtenus, la pénétration du minoxidil était maximale pour un rapport éthanol (90%) / propylène-glycol (10%) (cf. tableau III). La présence de propylène-glycol est importante pour la solubilisation du minoxidil (119) et pour son rôle sur la structure du stratum corneum.

Pour une molécule lipophile comme le minoxidil, l'utilisation d'excipients hydrophiles (éthanol, propylène-glycol) permet un bon passage transcutané. Il y a également une action directe de ces excipients sur le stratum corneum dont l'action est diminuée. Une forte concentration d'éthanol (90%) induit un effet positif sur le passage transcutané des molécules. L'éthanol sera utilisé tel quel ou très faiblement dilué.

5.5.3.2. Influence de l'eau et de l'éthanol sur la pénétration du diclofénac base et sodique.

Maitani (97) a étudié, *in vitro*, la différence de pénétration du diclofénac au travers d'une membrane de silicone entre sa forme sodique (hydrophile) et sa forme base (lipophile), dans un véhicule alcoolique (20% en éthanol) et une solution aqueuse. Il a également étudié l'impact sur le passage transcutané du diclofénac sodique ou non d'un prétraitement de la peau par de l'éthanol

Les résultats de l'étude sont rapportés dans le tableau XIV.

TABLEAU XIV : Flux de pénétration du diclofénac sodique et non sodique (97).

	Ethanol (%)	Prétraitement	Flux en $\mu\text{g/s/cm}^2$
Diclofénac base	0	Non	3,81 +/- 0,45
		Oui	3,22 +/- 0,18
	20	Non	17,13 +/- 0,78
		Oui	12,32 +/- 0,28
Diclofénac sodique	0	Non	9,42 +/- 2,39
		Oui	4,64 +/- 0,49
	20	Non	3,14 +/- 0,13
		Oui	5,80 +/- 0,88

Nous pouvons constater que le flux de diclofénac base est maximal lorsque le véhicule contient 20% d'éthanol. Pour la forme sodique, le flux est maximal pour la solution aqueuse sans éthanol.

La molécule sous forme sodique, très hydrophile, pénètre par les annexes ou éventuellement par la voie intercellulaire par combinaison avec d'autres ions.

Lorsque l'on ajoute 20% d'éthanol à la solution aqueuse, la polarité du solvant diminue. Les résultats de cette étude sont en faveur de l'hypothèse suivante : pour une molécule lipophile,

la pénétration cutanée nécessite une présolubilisation dans l'alcool. Le fait de baisser la polarité du solvant par ajout d'alcool n'est pas un frein au passage cutané car globalement, le véhicule reste très polaire.

Cette étude fait apparaître que pour la forme sodique, seul un solvant très polaire donne une bonne pénétration (97).

#### 5.5.3.3. Influence des alcools sur la pénétration des anti-inflammatoires non stéroïdiens.

L'action des alcools sur la pénétration des anti-inflammatoires non stéroïdiens est importante. Goto et coll.(56) ont étudié l'impact de différents excipients sur la pénétration du kétoprofène au travers d'un fragment de peau de souris sans poils. Le kétoprofène fut dilué à 3% (M/M). Nous retiendrons les résultats obtenus avec :

- l'éthanol,
- le propylène-glycol,
- le méthanol,
- le mélange éthanol (40%) / tricapyline (60%).

Les mesures sont effectuées après 24 heures d'étude.

Le méthanol induit le flux de kétoprofène le plus élevé (244,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ). Mais en raison de sa grande toxicité ophtalmique, il ne peut être utilisé chez l'homme.

Pour l'éthanol, le flux est important (134,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ) ; il est supérieur à celui obtenu avec les glycérides.

Les véhicules hydrophiles comme le propylène-glycol n'offrent pas un grand intérêt, le flux étant assez faible (10,9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ).

On peut noter que le flux de kétoprofène dans l'éthanol pur est moitié moindre que celui du mélange binaire éthanol / tricapyline. De plus, l'association de deux excipients est intéressante : elle réduit le risque d'irritation cutanée due à l'éthanol, et augmente le flux de pénétration de la molécule considérée (56). Ceci concorde avec les résultats déjà obtenus précédemment.

#### 5.5.3.4. Influence des hydrogels sur la pénétration du cidofovir.

Le cidofovir est un agent antiviral, hydrophile, dont la pénétration a été étudiée, *in vitro* au travers de peau de souris, à différentes concentrations (1%, 3%, 5%) dans différents solvants dont nous ne retiendrons ici que :

- l'eau,
- le propylène-glycol,
- le natrosol, hydrogel de type hydroxy-éthylcellulose (20%).

Les résultats sont recueillis après huit heures de diffusion et sont regroupés dans le tableau XV.

TABLEAU XV: Flux de pénétration du cidofovir en  $\mu\text{g}/\text{h}/\text{cm}^2$  (9).

Excipient	Concentration en cidofovir %	Flux en cidofovir ( $\mu\text{g}/\text{h}/\text{cm}^2$ )
Natrosol	5	1,94 +/- 0,39
Natrosol	1	0,52 +/- 0,11
Eau	3	0,83 +/- 0,15
Eau	1	0,23 +/- 0,07
Propylène glycol (30%)	1	0,34 +/- 0,04
Propylène glycol (10%)	1	0,25 +/- 0,03

Dans l'eau, les flux de cidofovir sont les plus élevés pour une solution à 3% (0,83  $\mu\text{g}/\text{h}/\text{cm}^2$ ) ; pour des solutions aqueuses moins concentrées, les flux sont inférieurs (0,23  $\mu\text{g}/\text{h}/\text{cm}^2$  pour une solution à 1% en cidofovir). Ceci rappelle que la concentration du produit est un paramètre important pour la pénétration cutanée. Il ne semble pas y avoir ionisation de la molécule sous l'action du pH du compartiment receveur.

Lorsque le propylène-glycol est le solvant, quelle que soit la concentration en cidofovir, les flux sont inférieurs à ceux obtenus dans l'eau seule (0,34  $\mu\text{g}/\text{h}/\text{cm}^2$ ).

Dans un gel de type hydroxy-éthylcellulose (20%), une concentration en cidofovir de 5% donne des flux supérieurs à ceux obtenus dans l'eau (1,94 µg/h/cm<sup>2</sup>) (9).

La solubilisation du cidofovir au sein des hydrogels est importante. Nous avons vu que ce type d'excipient solubilisait bien les molécules plutôt hydrophiles et améliorait leur passage transcutané. C'est le cas ici ; pour une préparation assez concentrée en principe actif, la pénétration est excellente.

Le véhicule le plus performant est l'hydrogel de type hydroxy-éthylcellulose (20%). Ceci montre qu'il existe pour les molécules hydrophiles une alternative à un excipient lipophile : un hydrogel (9).

#### 5.5.3.5. Influence des hydrogels sur la pénétration du nickel.

L'influence des hydrogels sur la pénétration cutanée a été étudiée pour le nickel (57). Ceci avait pour but de savoir si l'on pouvait substituer pour les tests épicutanés le sulfate de nickel à 5% dans la vaseline par le chlorure de nickel dans un hydrogel. Une étude a donc été réalisée sur une population de 430 patients allergiques au nickel ou fortement suspects de sensibilisation à ce métal. Différentes dilutions du chlorure de nickel (0,01%, 0,1%, 0,5%, 1%, 2%) furent réalisées dans un hydrogel aqueux (Methocel E-4M, composition non trouvée) et furent appliquées sur la peau des patients à l'aide de chambres de tests épicutanés. Au bout de 48 heures, à la concentration de 2% en chlorure de nickel dans l'hydrogel, les résultats étaient meilleurs que pour le sulfate de nickel à 5% dans la vaseline (chez les mêmes patients) et le risque de faux négatifs était moindre. Le nickel sous forme chlorure passe mieux la barrière cutanée que sous forme sulfate, et il pénètre mieux la couche cornée dans un hydrogel que dans la vaseline à la même concentration.

Pour les molécules sous forme ionisées, l'hydrogel est un véhicule de choix par rapport à la vaseline (47).

#### 5.5.4. Influence des promoteurs de pénétration cutanée.

Un promoteur peut être défini en quatre points. Il doit :

- accroître l'activité thermodynamique de la molécule à tester au sein de l'excipient,
- favoriser le passage de la molécule dans la peau,
- augmenter la fluidité des lipides du stratum corneum,
- désorganiser les lipides intercellulaires (90).

Une étude d'Ogiso (110) se rapporte à la pénétration d'une solution d'indométacine diluée à 0,8% poids / volume dans de l'éthanol à 55%, au travers de fragments de peau abdominale de rats sans poils prétraitée ou non par des promoteurs de pénétration cutanée.

Nous retiendrons ici :

- l'éthanol (témoin),
- l'azone,
- le diméthylsulfoxyde (DMSO),
- le myristate d'isopropyle,
- l'octanol.

Le tableau XVI regroupe les mesures du flux d'indométacine avec ou sans l'influence de ces cinq promoteurs.

TABLEAU XVI : Flux d'indométacine en fonction de cinq promoteurs de pénétration cutanée (110).

Excipient (concentration)	Flux en $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$
Ethanol (55%) (témoin)	5,97
Azone (2%)	31,94
DMSO (5%)	6,2
Myristate d'isopropyle (5%)	60,29
Octanol (20%)	22,76

Le myristate d'isopropyle et l'azone apparaissent comme de bons promoteurs de pénétration cutanée pour l'indométacine, surtout le myristate d'isopropyle à la concentration de 5% pour lequel nous avons un flux de pénétration de l'indométacine de 60,29  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$  (témoin dans l'éthanol : 5,97  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ).

Dans l'octanol à 20%, l'indométacine doit sa bonne diffusion à une activité thermodynamique élevée. Le flux obtenu est de 22,76  $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ .

Le diméthylsulfoxyde ne semble pas présenter d'intérêt (110).

Une autre étude décrite précédemment (90) a montré l'influence de promoteurs de pénétration cutanée tels que l'acide laurique, l'acide oléique et l'alcool laurique sur l'alclofénac, le tefagur et l'ibuprofène. Les promoteurs ont été intégrés directement à la préparation. Nous ne savons pas dans quelles proportions ils furent utilisés. Cette étude a été réalisée *in vitro* avec un fragment de peau sans poils de souris. Parmi ces trois promoteurs de pénétration cutanée, les résultats ont montré que c'est l'acide laurique qui augmente le plus la pénétration des trois molécules retenues.

Les auteurs ont ensuite étudié *in vivo*, au travers d'un fragment de peau abdominale de souris, l'influence de l'acide laurique sur la pénétration des trois molécules (alclofénac, tefagur et ibuprofène). L'acide laurique fut combiné directement à la préparation, dans une proportion non précisée. Les résultats obtenus confirment ceux obtenus *in vitro*.

Toutefois ces résultats sont à modérer. Lee et coll. (89) ont étudié *in vivo* l'action de l'acide laurique sur la pénétration de la théophylline diluée à 0,2%, 0,5% et 1% dans un gel contenant de l'éthanol (40%), du Panasate 800 (60%) et de l'éthylcellulose (3%, 5%, 7%, 10%). La pénétration est plus rapide pendant les six premières heures lorsque la peau subit un prétraitement par de l'acide laurique. Par contre, les résultats à 24 heures sont identiques ; la théophylline contenue dans différents gels (à des concentrations différentes d'éthylcellulose) pénètre de manière comparable avec ou sans prétraitement par de l'acide laurique (89).

Enfin, certains auteurs ont étudié l'influence de trois promoteurs de pénétration sur les flux de deux molécules, le diclofénac base et sodique, en solution alcoolique à 20% :

- le L-menthol,
- l'acide oléique,
- la lauricidine.

Seul le L-menthol augmente, et de manière peu significative, le flux de diclofénac base (19,64  $\mu\text{g/s/cm}^2$  sans prétraitement et 22,61  $\mu\text{g/s/cm}^2$  avec prétraitement). Ce promoteur modifie la structure de la couche lipidique.

Par contre, pour la forme sodique, le flux de pénétration est augmenté, surtout avec l'acide oléique (11,94  $\mu\text{g/s/cm}^2$ ). Il modifie la structure lipidique du stratum corneum.

Quelque soit la forme de diclofénac utilisée, il est préférable, en raison du risque de faux positifs, de la disperser dans un véhicule exempt de promoteurs de pénétration cutanée, les flux étant assez voisins de ceux obtenus avec un promoteur (97).

Les lectures les plus précoces des tests épicutanés se font au bout de 24 heures. Aussi, l'intérêt du prétraitement de la peau avant une pose de test semble limité d'autant plus que certains promoteurs comme les ammoniums quaternaires, les terpènes sont des produits fortement irritants. Le promoteur « idéal » pourrait être l'azone qui accroît le passage transcutané des molécules lipophiles et hydrophiles. Cependant, ce produit n'est présent dans aucune formulation française.

### **5.5.5. Liste des excipients à retenir pour la réalisation de tests épicutanés.**

En tenant compte des différents paramètres évoqués ci-dessus, ainsi que de leurs qualités chimiques, de leurs propriétés regroupées dans le tableau XI et de leurs possibilités d'approvisionnement, les excipients suivants peuvent être retenus :

- l'huile d'olive,
- l'acétone,
- l'éthanol (le plus concentré possible),
- la vaseline,
- l'eau,
- le diméthylsulfoxyde,
- le propylène-glycol
- des hydrogels et des gels hydroalcooliques,
- des mélanges éthanol / triglycérides,
- l'acétate d'éthyle.

## **5.6. PROCEDURE PRATIQUE D'AIDE AU CHOIX DE L'EXCIPIENT LE PLUS APPROPRIE : ARBRES DECISIONNELS.**

Le choix d'un excipient passe par une démarche systématique de recherche des propriétés physico-chimiques d'une molécule afin d'utiliser l'excipient théoriquement le plus approprié.

### **5.6.1. Propriétés physico-chimiques d'une molécule médicamenteuse.**

Ces données sont accessibles dans de nombreux ouvrages comme :

- le Martindale (100),
- l'Index Merck (103),
- les dossiers médicaments fournis par l'industrie pharmaceutique ou le service de documentation pharmaceutique du laboratoire fabricant.

Il faudra dans ces ouvrages :

- trouver le coefficient de partage octanol / eau qui définira la polarité de la molécule médicamenteuse,
- choisir un excipient de polarité inverse à celle de la molécule à tester,
- trouver sa constante de dissociation qui nous indiquera si la molécule est facilement ionisable,
- rechercher la solubilité de cette molécule dans différents excipients.

### **5.6.2. Les excipients potentiels.**

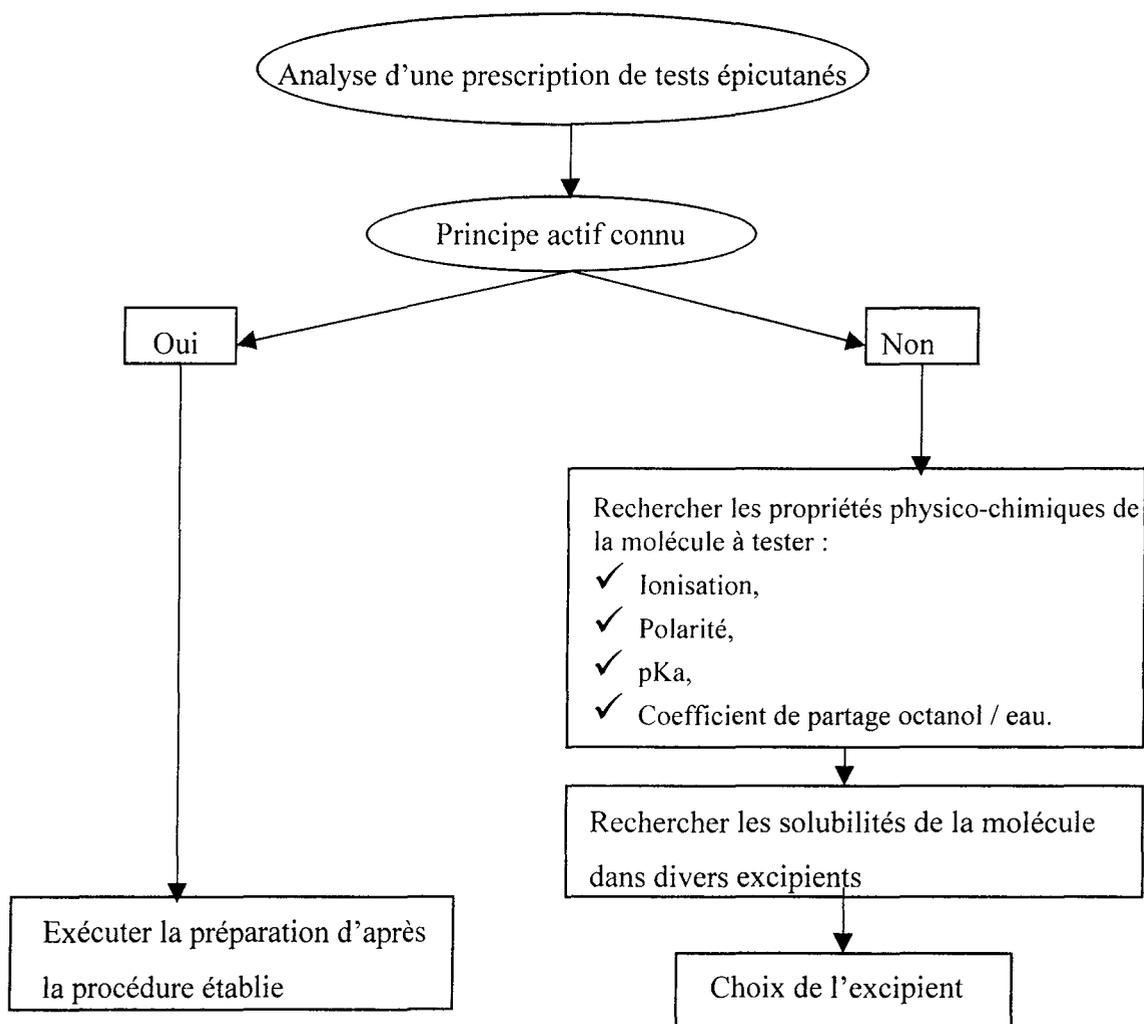
Le ou les excipients retenus devront :

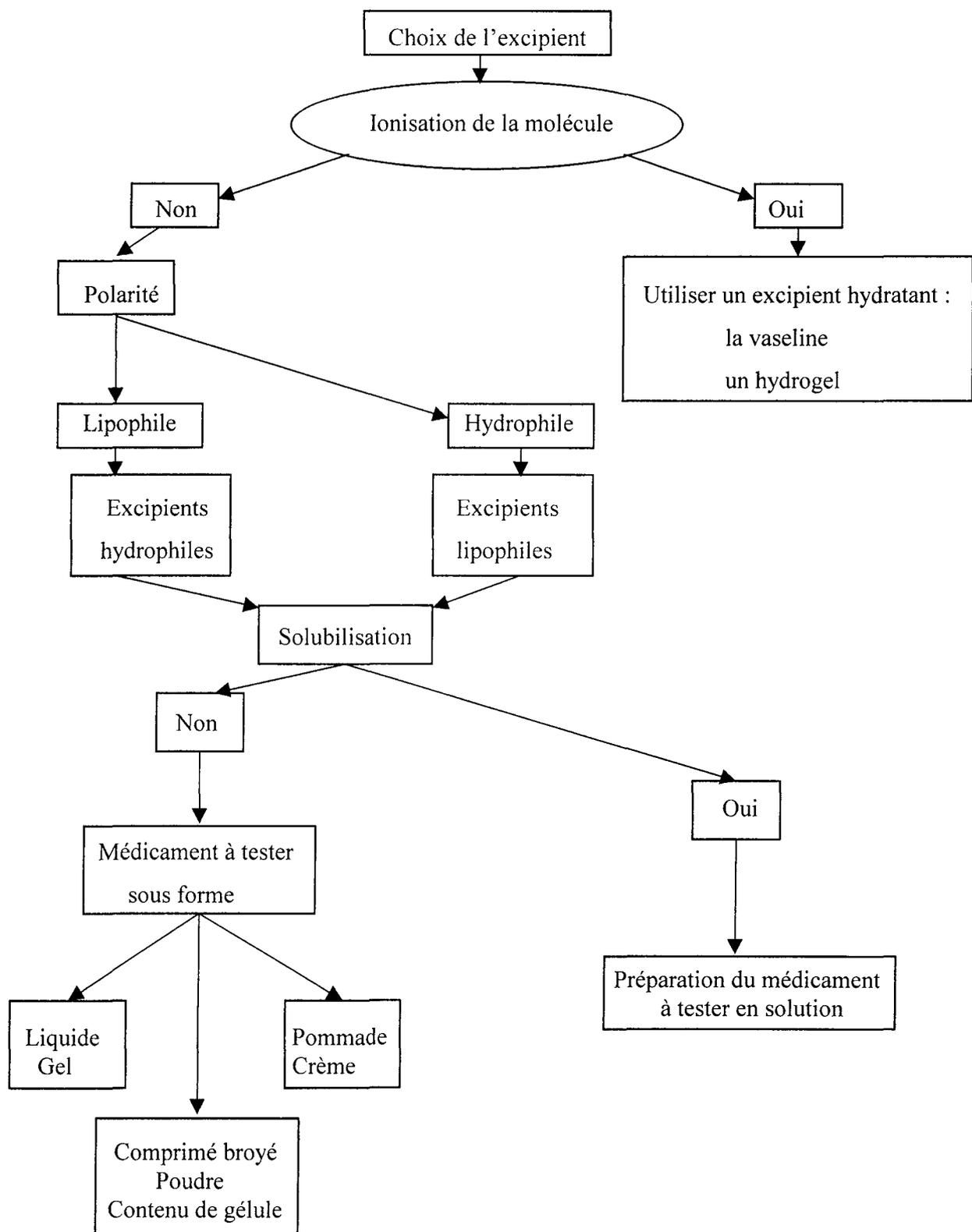
- avoir un bon pouvoir solvant,
- être conformes à la Pharmacopée Française (X<sup>ème</sup> éd),
- être d'une parfaite innocuité,
- être facilement disponibles,
- être compatibles avec les propriétés physico-chimiques de la molécule à tester.

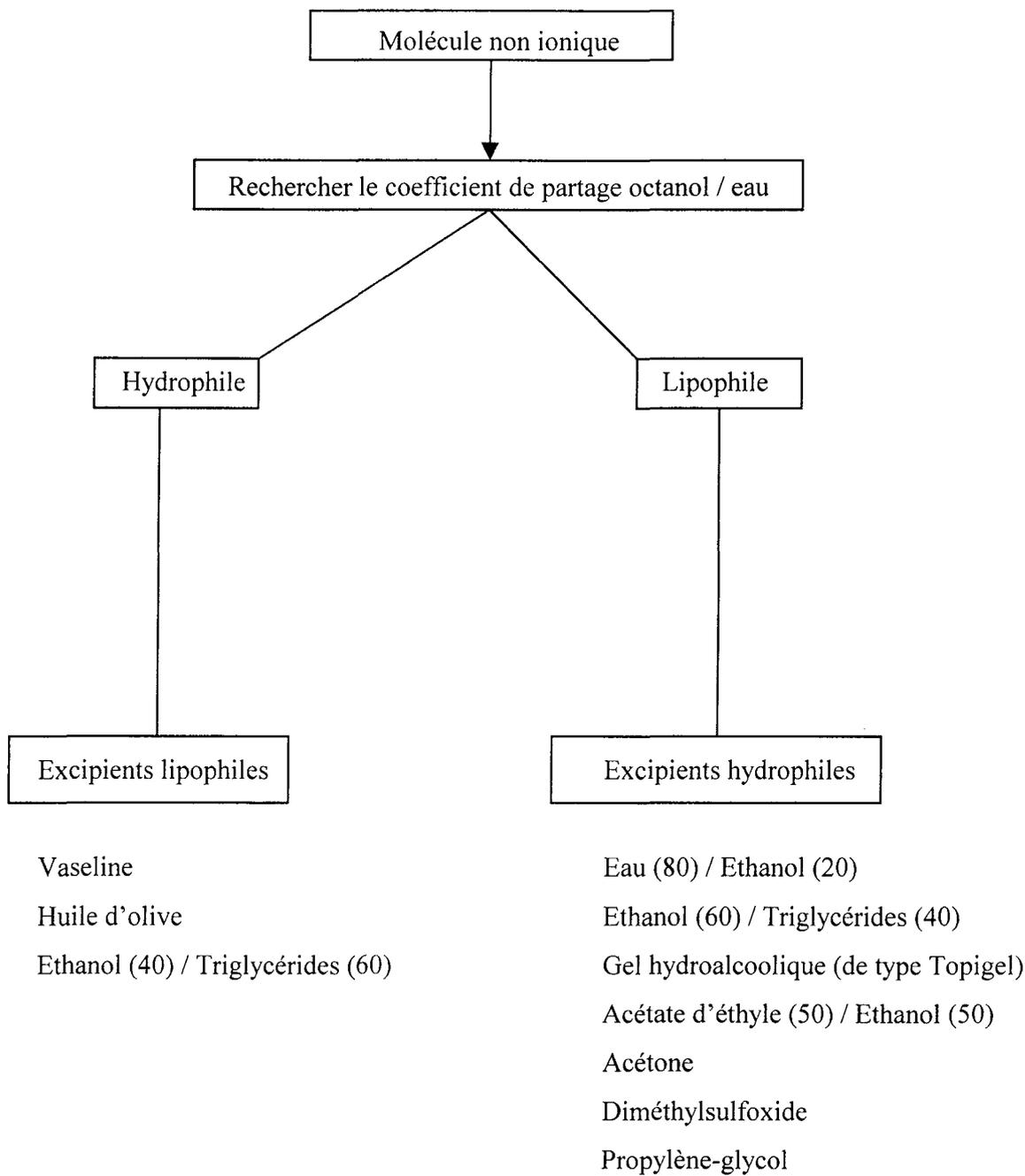
### 5.6.3. Arbres décisionnels.

A la lumière de toutes ces informations, nous avons systématisé notre démarche à la Pharmacie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier sous la forme d'arbres décisionnels et constitué un fichier de référence des excipients adaptés aux molécules testées.

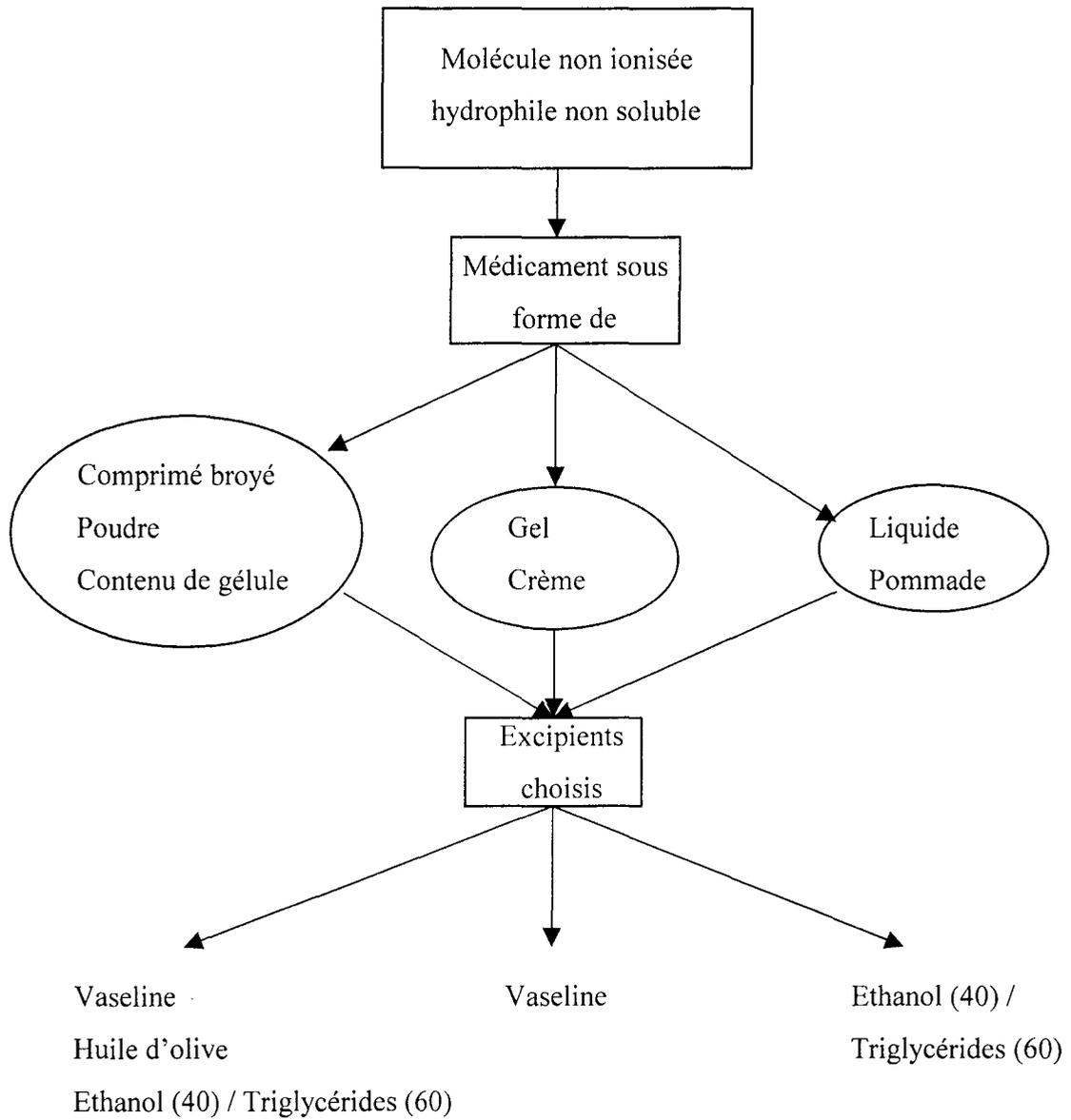
#### 5.6.3.1. Démarche générale.



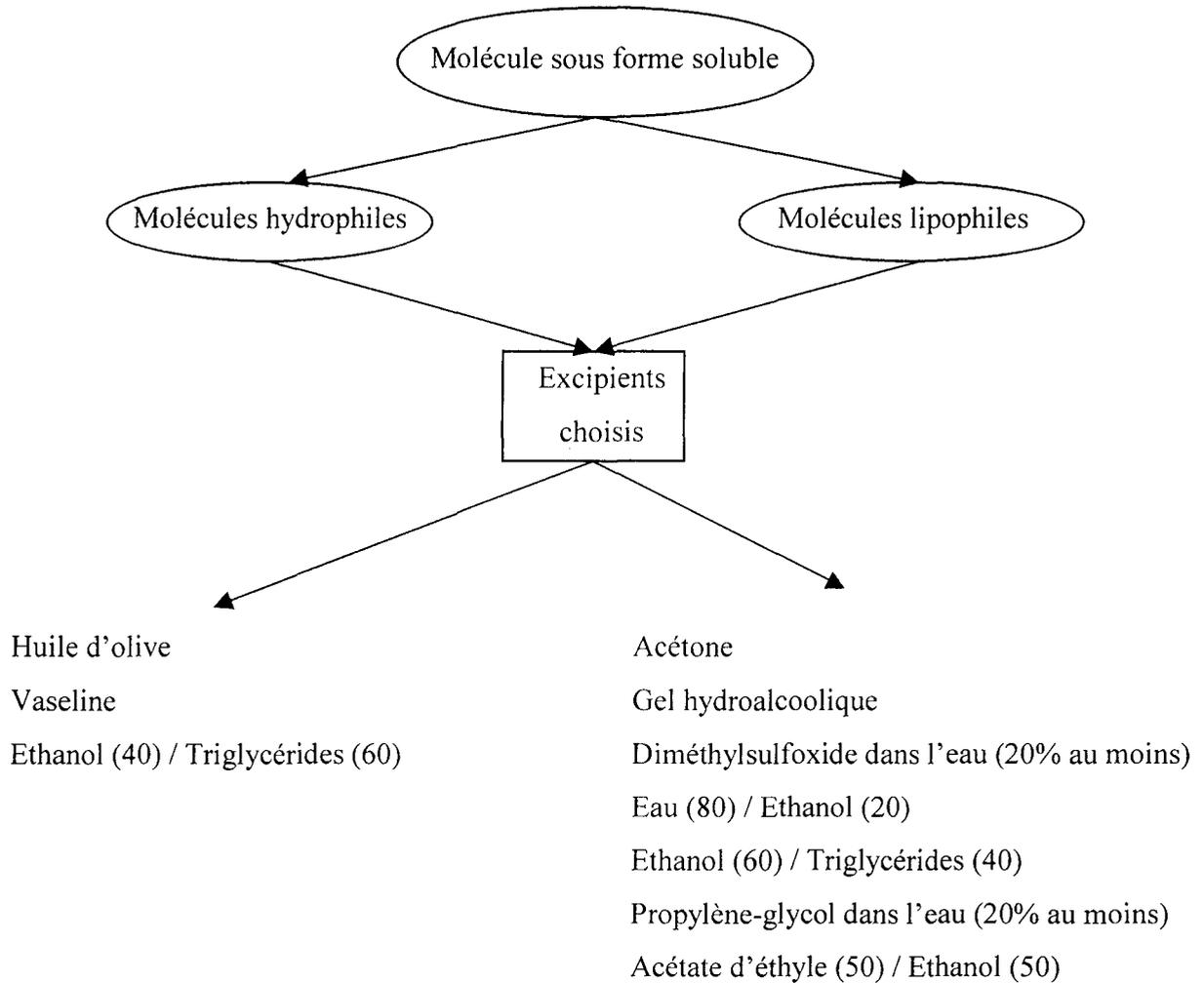




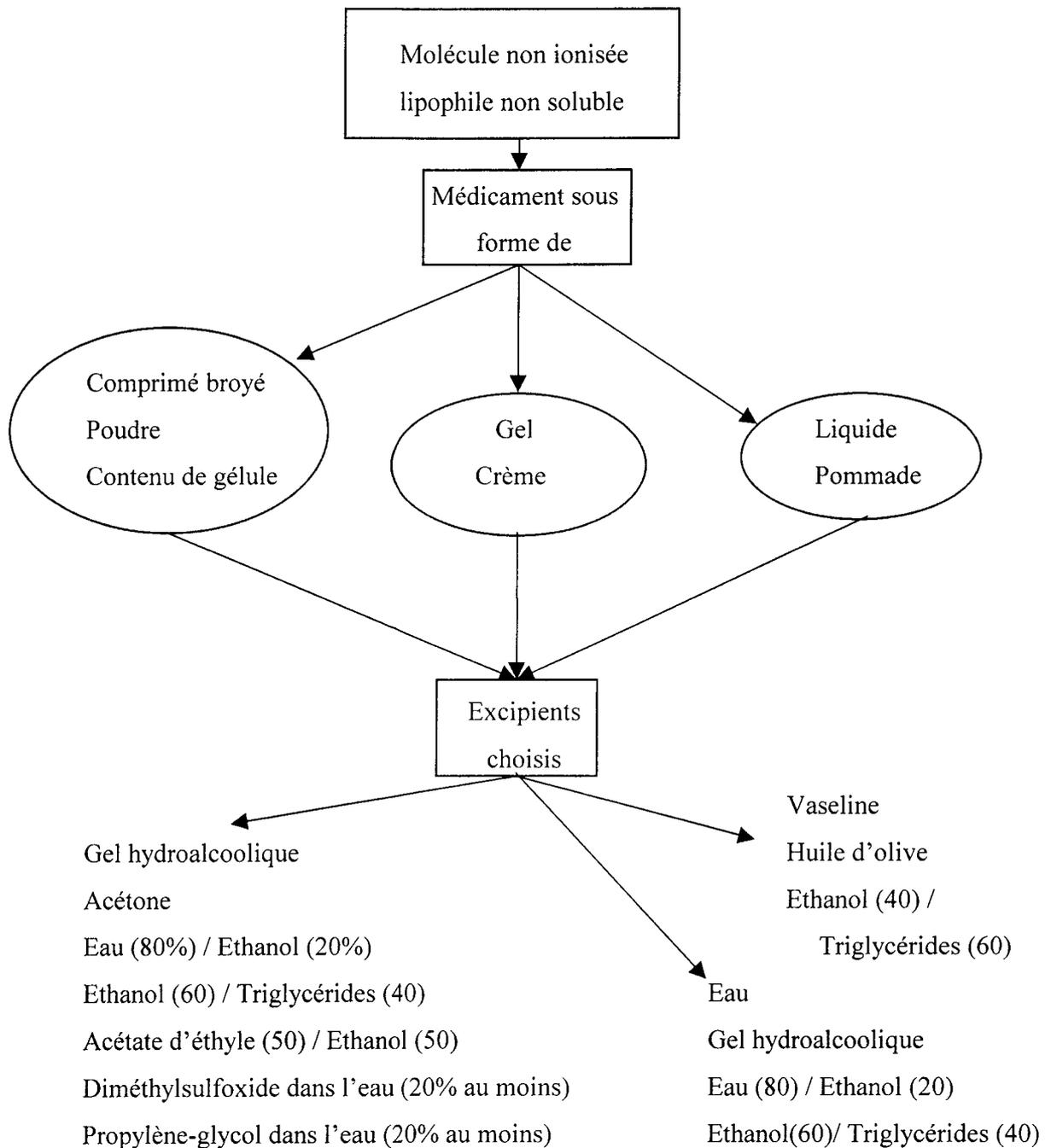
5.6.3.2.Exemple : molécule non ionisée hydrophile non soluble.



5.6.3.3. Exemple : molécule sous forme soluble.



5.6.3.4. Exemple : molécule non ionisée lipophile non soluble



Nous allons maintenant étudier l'influence des excipients sur le résultat des tests épicutanés réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.

## **6. INFLUENCE DES EXCIPIENTS SUR LES RESULTATS DES TESTS EPICUTANES DANS LE BILAN DES TOXIDERMIES.**

Nous avons vu que les tests épicutanés étaient pertinents dans 40% des cas et qu'ils permettaient de mettre en évidence la molécule responsable d'une toxidermie.

Cependant, des résultats négatifs de tests épicutanés n'excluent pas la responsabilité d'un médicament dans une réaction secondaire à expression cutanée. Plusieurs causes sont possibles :

- une concentration trop faible de la substance étudiée,
- une molécule mère non responsable d'une réaction cutanée au profit d'un de ses métabolites,
- un délai de lecture insuffisant,
- le rôle possible de l'excipient sur la variation de pénétration cutanée.

Le résultat d'un test épicutané peut être différent selon l'excipient choisit ; ceci implique une pénétration cutanée plus ou moins bonne. Aussi a-t-il été envisagé à l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier de Nancy de chercher à mettre en forme les substances destinées aux tests épicutanés sous différentes formulations faisant appel à divers excipients.

### **6.1. BUT DE L'ETUDE.**

#### **6.1.1. Historique.**

La préparation des tests épicutanés qu'ils soient médicamenteux ou non, à la Pharmacie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier représente une part importante de l'activité des préparations magistrales.

Face à des molécules aux propriétés physico-chimiques très différentes et face aux contraintes de bonnes pratiques officinales, une démarche reproductible de mise en œuvre de ces préparations s'imposait. Aussi, pour chaque molécule, sont pris en compte les propriétés physico-chimiques, le poids moléculaire, la solubilité, le pH, la concentration et le coefficient de partage

octanol / eau. Nos ouvrages de référence sont : le Martindale (100), le De Groot (80), le Fischer (42) et l'Index Merck (103).

Les excipients les plus couramment utilisés étaient jusqu'alors la vaseline, l'eau et parfois l'alcool à 95°.

Ces différentes recherches ont conduit à la constitution d'un fichier des dilutions et des excipients utilisés pour chaque molécule. L'influence possible des excipients sur la pénétration cutanée et sur la réactivité des tests épicutanés peut nous faire envisager d'autres excipients incluant le propylène-glycol, l'éthanol, ce qui fût fait à partir d'Août 1996. Le propylène-glycol, l'éthanol sont utilisés dilués afin d'éviter tout risque d'irritation bien que dans la littérature, l'éthanol est presque toujours utilisé pur.

### **6.1.2. Objectifs de l'étude.**

Il est question :

- d'effectuer une analyse rétrospective des résultats des tests épicutanés réalisés dans le secteur de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier de Nancy à partir des documents remplis par les infirmières de ce service,
- de compléter la batterie de tests habituellement réalisés par des préparations dans divers excipients.

Nous avons retenu pour notre étude deux classes pharmacologiques :

- les bêta-lactamines dont l'amoxicilline,
- les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

## **6.2. PREPARATION DES TESTS EPICUTANES.**

### **6.2.1. Le circuit de prescription-dispensation.**

Lorsque le médecin dermatologue transmet une demande de préparations pour tests épicutanés à la pharmacie, celle-ci est analysée par le pharmacien responsable ou l'interne en pharmacie selon la procédure décrite au chapitre 5.7.

Après validation, les étiquettes des préparations sont éditées et transmises au préparateur ou à l'interne en pharmacie pour réalisation.

Il y a nécessité de réagir rapidement car le patient attend. La stabilité des préparations n'étant pas connue, les préparations sont réalisées extemporanément. Ceci implique la constitution d'un fichier de référence de ces préparations avec les références bibliographiques correspondant à la recherche initiale.

## **6.2.2. La préparation proprement dite.**

### 6.2.2.1. Les matières premières.

Le dermato-allergologue choisit les différentes dilutions du ou des médicaments ou produits à tester. Il peut également tester le produit pur. Pour la bonne réalisation de la préparation, s'il s'agit de dilution de comprimés, ceux-ci devront au préalable être débarrassés de l'enrobage ou pelliculage. Le comprimé nu sera écrasé au mortier afin d'obtenir une poudre la plus fine possible pour une préparation la plus homogène possible. Lorsque la préparation est réalisée à partir de poudre pour préparation injectable, de gélules ou de produit pur, cette étape n'existe pas.

Les produits purs proviennent :

- de laboratoires commercialisant des produits chimiques ; ces laboratoires doivent fournir des matières premières conformes à la Pharmacopée Française (ex : LASERSON, COOPER)
- de laboratoires pharmaceutiques (ex : CIBA-GEIGY),
- de spécialités injectables ou non.

### 6.2.2.2. Les excipients.

Ces préparations peuvent être :

- des liquides ou des solutions : l'excipient sera alors de l'eau, de l'acétone, de l'éthanol dilué ou non dans de l'eau, du propylène-glycol dilué dans de l'eau, de l'huile d'olive,
- des pommades : l'excipient choisi sera alors la vaseline.

#### 6.2.2.3. Le matériel.

Pour réaliser ces préparations, la pharmacie dispose :

- de mortiers pour la réalisation des pommades ou pour la trituration des poudres et comprimés,
- d'agitateurs pour la réalisation des solutions,
- de balances électroniques pour les pesées ; pour les faibles pesées, une balance électronique de précision est disponible.

Le conditionnement des préparations se fait pour :

- les solutions et les poudres en flacons de verre,
- les pommades en seringues plastiques.

#### 6.2.2.4. Le mode opératoire.

Une fiche de protocole est établie par forme galénique : solution, pommade, comprimé, gélule. La faisabilité de la préparation aura été au préalable vérifiée (cf. 6.2.1.).

### **6.3. MISE EN PLACE DES TESTS EPICUTANES ET LECTURE DES RESULTATS.**

#### **6.3.1. Mise en place.**

Une fois la préparation réalisée et conditionnée, la pose des tests se fait au sein du service de Dermato-allergologie par les infirmières.

Les cupules étant identifiées au préalable, les préparations liquides sont disposées sur un morceau de papier buvard dans la cupule, les poudres pures sont disposées sur un peu de vaseline pour l'adhérence, les pommades sont disposées telles quelles dans les cupules.

Le tout est fixé sur le dos des patients à l'aide d'un sparadrap hypoallergénique (Scampor).

### **6.3.2. Lecture des résultats.**

Le repérage des sites se fait à l'aide de marqueurs sur le dos du patient lors de la lecture à 48 heures.

La lecture se fera à 20 minutes, à 48 heures et à 96 heures et si possible une semaine après la pose.

Elle est effectuée par les infirmières et le médecin. L'interprétation des résultats se fait selon les normes adoptées par l'ICDRG (International Contact Dermatitis Research Group) en 1979 (cf. 3.2.2.). Lors d'une positivité des réactions, un cliché sera pris.

Les résultats sont retranscrits dans le dossier du malade et dans un cahier regroupant tous les résultats des tests effectués au sein du service de Dermato-allergologie.

Nous n'avons pas repris les critères d'imputabilité des médicaments, ceci afin de ne pas alourdir l'interprétation.

## **6.4. ANALYSE RETROSPECTIVE DES RESULTATS DES TESTS EPICUTANES MEDICAMENTEUX.**

### **6.4.1. Les supports d'information.**

Ce sont :

- ✓ les fiches d'enregistrement de résultats remplies de façon régulière par l'externe en pharmacie affecté dans le service de Dermato-allergologie (cf. annexe 1). La fiche d'enregistrement est le support principal d'analyse des résultats des tests épicutanés.

Elle se divise en cinq parties :

- le nom du patient, la molécule testée, la date,
  - les résultats des tests épicutanés,
  - les résultats des prick-tests,
  - les résultats des intradermo-réactions,
  - les résultats détaillés des tests épicutanés.
- ✓ les cahiers de résultats des tests allergologiques remplis par les infirmières.

#### **6.4.2. La méthode d'analyse.**

Chaque excipient, chaque médicament testé (pur, fraction de comprimé, spécialité injectable, sirop ou toute autre forme galénique), pour un même patient sera rapporté sur ces fiches.

C'est à partir de ces fiches que les groupes témoins négatifs sont constitués (cf. 3.3.4.3.), et ce pour chaque molécule.

Nous nous sommes intéressés aux résultats des tests épicutanés réalisés avec des AINS et de l'amoxicilline depuis 1995 jusqu'en septembre 1997.

#### **6.4.3. Analyse des résultats.**

Ils sont regroupés dans les tableaux suivants.

##### 6.4.3.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

Les molécules suivantes ont été explorées :

- le kétoprofène,
- l'indométacine,
- le piroxicam,
- le naproxène,
- l'étodolac,
- le diclofénac,
- l'acide tiaprofénique,
- l'acide niflumique.

TABLEAU XVII : Résultats des tests épicutanés au kétoprofène réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier (p145-146).

Patient	Produit testé	Concentration véhicule	Lecture				
			20 min.	48h	72 h	96 h	144 h
ANT...C...	PROFENID inj	pur		-		-	
BAR...M...	Kétoprofène	50% vaseline		-		-	
BAR...M...	Kétoprofène	10% vaseline		-		-	
BAR...M...	Kétoprofène	1% vaseline		-		-	
BAR...M...	Kétoprofène	0,5% vaseline		-		-	
BAR...S...	PROFENID inj	pur				-	
BAR...S...	PROFENID inj	30% eau				-	
BAR...S...	PROFENID inj	10% eau				-	
BAR...S...	PROFENID inj	1% eau				-	
BER...	PROFENID inj	pur		-		-	
BES...	PROFENID inj	pur	-	-		-	
BRU...	Kétoprofène	pur	-	-	-	-	
BRU...	Kétoprofène	30% eau	-	-	-	-	
BRU...	Kétoprofène	30% vaseline	-	-	-	-	
BRU...	Kétoprofène	30% alcool à 10% eau	-	-	-	-	
CEZ...	BI-PROFENID	pur	-	-		-	
GAM...	PROFENID inj	pur		-		-	
GAM...	PROFENID cp	pur			-		
GRE...	PROFENID inj	pur		-	-		
KOH...	PROFENID inj	50% eau	-		-	-	
KOH...	PROFENID inj	10% eau	-		-	-	
LAI...	PROFENID inj	pur		-		-	
LAI...	PROFENID gel	pur		-		-	
MEL...	PROFENID inj	pur			+/-	+	
MEL...	PROFENID cp	pur			+/-	+	
RIC...	Kétoprofène	5% vaseline			-	-	
ROB...	PROFENID inj	pur		-			
ROB...	PROFENID inj	pur			-		

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture		
		véhicule	20 min.	48h	72 h	96 h	144 h
SER...	PROFENID inj	pur		+		2+	
SIM...	PROFENID inj	pur		-		-	
SIM...	PROFENID inj	10% eau		-		-	
SIM...	PROFENID inj	1% eau		-		-	
SIM...	PROFENID inj	pur		-		-	
VIL...	PROFENID inj	pur		douteux		-	

TABLEAU XVIII : Résultats des tests épicutanés au diclofénac réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier (p146-147).

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture		
		véhicule	20 min.	48h	72 h	96 h	144 h
BES...	VOLTARENE	pur	-	-		-	
BRO...	VOLTARENE inj	pur		-		-	
BRO...	VOLTARENE cp	pur		-		-	
DAN...	VOLTARENE gel	pur		-			
GAM...	VOLTARENE inj	pur		-		-	
GAM...	VOLTARENE cp	pur		-		-	
KOH...	VOLTARENE inj	pur	-	-		-	-
KOH...	VOLTARENE inj	10% eau	-	-		-	-
KOH...	VOLTARENE inj	50% eau	-	-		-	-
LEN...	VOLTARENE	pur		-		-	
LIN...	VOLTARENE suppo	pur		-		-	
MAB...	VOLTARENE inj	pur		-		douteux	
MAB...	VOLTARENE inj	10% eau		-		-	
MAB...	VOLTARENE inj	1% eau		-		-	
MEL...	VOLTARENE inj	pur		+			
MEL...	XENID gel	pur		-			
PER...	VOLTARENE	pur		-		-	
ROB...	Diclofénac	pur				-	
TOU...	VOLTARENE	pur		-		-	

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture			
		véhicule	20 min.	48h	72 h	96 h	144 h	
VIL...	VOLTARENE 25 mg	pur		-				
VIL...	VOLTARENE 25 mg	50% vaseline		-				
VIL...	VOLTARENE 50 mg	pur		-				
VIL...	VOLTARENE 50 mg	50% vaseline		-				
VIL...	VOLTARENE LP	pur		-				
VIL...	VOLTARENE LP	50% vaseline		-				
VIL...	VOLTARENE gel	pur		-				

TABLEAU XIX : Résultats des tests épicutanés à l'étodolac réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture			
		véhicule	20 min.	48h	72 h	96 h	144 h	
BER...	LODINE	pur		-		-		
KAY...	LODINE	pur		-		-		
HOU...	LODINE cp	30% eau			-		-	
	LODINE cp	30% vaseline			-		-	

TABLEAU XX : Résultats des tests épicutanés au naproxène réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture			
		véhicule	20 min.	48h	72 h	96 h	144 h	
MAB...	APRANAX 550 mg	50% eau		-		-		
MAB...	APRANAX 550 mg	50% vaseline		-		-		
NIC...	APRANAX 550 mg	pur			-			

TABLEAU XXI : Résultats des tests épicutanés au piroxicam réalisés dans le service de  
Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier (p148-149)

Patient	Produit testé	Concentration véhicule	Lecture				
			20 min	24 h	48h	72 h	96 h
ANT...	FELDENE cp 20 mg	20% vaseline	-	-			
ANT...	FELDENE cp 20 mg	pur		-		-	
ANT...	FELDENE inj	pur	-	douteux			
BER...	FELDENE cp 20 mg	pur			-		-
BER...	FELDENE inj	pur			-		-
BRU...	FELDENE inj	pur		-	-	-	-
CHA...	FELDENE cp 20 mg	pur		-		-	
COU...	FELDENE inj	pur		-		-	
GAI...	FELDENE cp	pur				-	
JAG...	FELDENE inj	pur		-		-	
KOH...	FELDENE inj	50% eau	-		-	-	-
KOH...	FELDENE inj	10% eau	-		-	-	-
MAI...	FELDENE	pur			-		-
MAI...	FELDENE	30% eau			-		-
MAI...	FELDENE	30% vaseline			-		-
MAJ...	FELDENE inj	pur		-		-	
MAJ...	FELDENE cp 20 mg	pur		-		-	
MAJ...	FELDENE inj	pur		-		-	
MOR...	FELDENE inj	pur			-		-
MOR...	FELDENE inj	30% eau			-		-
PAL...	FELDENE cp 20 mg	pur		-	-		
PAV...	FELDENE inj	pur		+		-	
PAV...	FELDENE cp 20 mg	pur		-		-	
PIC...	FELDENE cp	pur			-		-
PIC...	FELDENE cp	30% eau			-		-
PIC...	FELDENE cp	30% vaseline			-		-
PIC...	FELDENE inj	30% eau			-		-
PIC...	FELDENE inj	30% vaseline			-		-

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture		
		véhicule	20 min	24 h	48h	72 h	96 h
RON...	FELDENE inj	pur			-		douteux
RON...	FELDENE cp	pur			-		-
TIE...	FELDENE inj	pur		-		-	
TOU...	FELDENE inj	pur		-		-	
VIN...	FELDENE inj	pur			-		-

TABLEAU XXII : Résultats des tests épicutanés à l'indométacine réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture		
		véhicule	20 min	24 h	48h	72 h	96 h
ANT...	INDOCID	pur		-	-		
AUD...	INDOCID	pur		-	-		
BES...	INDOCID	pur	-	-		-	
BOT...	CHRONO-INDOCID	pur		-			-
GAM...	INDOCID	pur		-		-	
JOR...	INDOCID	pur		-		-	
KOH...	INDOCID gélule	pur	-	-		-	-
KOH...	INDOCID gélule	50% vaseline	-	-		-	-
KOH...	Indométacine inj	30% eau			-		
KOH...	Indométacine inj	30% acétone			-		
KOH...	Indométacine inj	30% vaseline			-		
KOH...	Indométacine inj	30% alcool à 10% eau			-		
KOH...	Indométacine inj	30% propylène glycol à 10% eau			-		
KOH...	Indométacine inj	30% DMSO à 10% eau			-		
KOH...	Indométacine inj	30% huile d'olive			-		
KOH...	Indométacine inj	pur			-		
PEI...	INDOCID	pur		-		-	
SIM...	INDOCID	pur		-		-	
VIN...	INDOCID	pur		-		-	

TABLEAU XXIII : Résultats des tests épicutanés à l'acide tiaprofénique réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture		
		véhicule	20 min	24 h	48h	72 h	96 h
DAN...	SURGAM cp	pur		-			
DAN...	SURGAM cp	50% eau		-			
FRE...	SURGAM cp	vaseline		-		-	
INF...	SURGAM cp	30% eau			-		-
INF...	SURGAM cp	30% vaseline			-		-
INF...	SURGAM cp	30% alcool à 10% eau			-		-
KOH...	SURGAM cp	pur	-				-
MAR...	SURGAM cp	pur	-	-		-	
MAR...	SURGAM cp	50% eau	-	-		-	

TABLEAU XXIV : Résultats des tests épicutanés à l'acide niflumique réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture		
		véhicule	20 min	24 h	48h	72 h	96 h
BEA...	NIFLURIL gel	pur			-		-
BLU...	NIFLURIL gel	pur			-		-
BLU...	NIFLURIL gel	30% eau			-		-
BLU...	NIFLURIL gel	30% vaseline			-		-
CHA...	NIFLURIL gélule	pur			-		-
GIL...	NIFLURIL suppo	pur			-		-
SIM...	NIFLURIL gélule	pur		-		-	

6.4.3.2. L'amoxicilline.

TABLEAU XXV : Résultats des tests épicutanés à l'amoxicilline réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier (p151-156).

Patient	Produit testé	Concentration véhicule	Lecture				
			20 min.	48h	72 h	96 h	144 h
ALB...	Amoxicilline	pure		-		-	
ALB...	Amoxicilline	50% vaseline		-		-	
ALB...	Amoxicilline	50% eau		-		-	
ALI...	CLAMOXYL gel	pure		+		+	
ALI...	Amoxicilline	pure		+		+	
ALI...	Amoxicilline	30% vaseline		+		+	
ALI...	Amoxicilline	30% eau		-		-	
ASS...	Amoxicilline	pure		-		-	
ASS...	Amoxicilline	50% eau		-		-	
AUB...	CLAMOXYL inj	pure		-		-	
BAR...	Amoxicilline	pure		-		-	
BAR...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-	
BAR...	Amoxicilline	30% eau		-		-	
BAR...	AMOPHAR	pure		-		-	
BAR...	AMOPHAR	30% vaseline		-		-	
BAR...	AMOPHAR	30% eau		-		-	
CAS...AL...	Amoxicilline	pure		-		-	
CAS...AL...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-	
CAS...AL...	Amoxicilline	30% eau		-		-	
CAS...AN...	Amoxicilline	pure		-		-	
CAS...AN...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-	
CAS...AN...	Amoxicilline	30% eau		-		-	
CAS..JO...	Amoxicilline	pure		-		-	
CAS..JO...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-	
CAS..JO...	Amoxicilline	30% eau		-		-	
CHI...	HICONCIL	pure		-		-	
CHI...	Amoxicilline	10% vaseline		-		-	

Patient	Produit testé	Concentration véhicule	Lecture				
			20 min.	48h	72 h	96 h	144 h
CHO...	Amoxicilline	50% vaseline		-		-	
CHO...	Amoxicilline	pure		-		-	
CHR...	Amoxicilline NS	pure		-		-	
CHR...	Amoxicilline NS	30% vaseline		-		-	
CHR...	Amoxicilline NS	30% eau		-		-	
CHR...	CLAMOXYL gel	pure		-		-	
CHR...	CLAMOXYL gel	30% vaseline		-		-	
CHR...	CLAMOXYL gel	30% eau		-		-	
CON...	Amoxicilline NS	pure		-		-	
CON...	Amoxicilline NS	30% vaseline		-		-	
CON...	Amoxicilline NS	30% eau		-		-	
CRE...	CLAMOXYL inj	30% vaseline		-	-		
CRE...	CLAMOXYL inj	30% eau		-	-		
CZA...	CLAMOXYL gel	pure		-		-	
CZA...	CLAMOXYL inj	pure		-		-	
CZA...	HICONCIL	pure		-		-	
DE ...	Amoxicilline	pure			-		
DEF...	Amoxicilline	pure		-		-	
DEF...	Amoxicilline	50% eau		-		-	
DEL...	CLAMOXYL gel	pure				-	
DEL...	CLAMOXYL inj	pure				-	
DEL...	CLAMOXYL gel	50% vaseline				-	
DEL...	CLAMOXYL inj	50% vaseline				-	
DES...	Amoxicilline	pure			-		
DES...	Amoxicilline	50% vaseline			-		
DES...	Amoxicilline	50% eau			-		
DIL...	CLAMOXYL	pure		<b>2+</b>		<b>3+</b>	
DOU...	Amoxicilline	pure		-		-	
DOY...	CLAMOXYL inj	pure		-		-	
DUP...	CLAMOXYL	pure		-		-	
ERA...	CLAMOXYL gel	pure		-		-	
ERA...	Amoxicilline	50% vaseline		-		-	
ERA...	Amoxicilline	pure		-		-	

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture			
		véhicule	20 min.	48h	72 h	96 h	144 h	
FAU...	Amoxicilline	pure		-	-			
FER..	CLAMOXYL 1 g inj	pure		-	-			
FER..	CLAMOXYL 1 g inj	10% vaseline		-	-			
FER..	CLAMOXYL 1 g inj	2% vaseline		-	-			
FEV...	CLAMOXYL gel	pure		-		-		
FEV...	CLAMOXYL inj	pure		-		-		
FLE...	CLAMOXYL gel	pure		douteux	douteux	douteux		
FLE...	CLAMOXYL inj	pure		douteux	+	+		
FRI...	CLAMOXYL 1 g cp	pure	-	-		-		
GER...	Amoxicilline	pure		-		-		
GER...	Amoxicilline	30% eau		-		-		
GER...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-		
GER...	CLAMOXYL inj	pure		-	-	-		
GER...	CLAMOXYL inj	30% eau		-	-	-		
GRA...	CLAMOXYL 1 g inj	pure		-	-			
GRA...	CLAMOXYL 1 g inj	50% vaseline		-		-		
GRA...	CLAMOXYL 1 g inj	10% eau		-		-		
HAU...	Amoxicilline	pure		-		-		
HAU...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-		
HER...	CLAMOXYL inj	50% eau		douteux	-			
HER...	Amoxicilline	pure		-	-			
HER...	Amoxicilline	50% eau		-	-			
HER...	Amoxicilline	10% vaseline		-	-			
HER...	Amoxicilline	1% vaseline		-	-			
JAF...	Amoxicilline	pure		-		-		
JEA...	CLAMOXYL gel	pure		-		-		
JEA...	CLAMOXYL inj	pure		-		-		
JEA...	CLAMOXYL gel	50% vaseline		-		-		
JEA...	CLAMOXYL inj	50% vaseline		-		-		
JOU...	Amoxicilline	pure		-		-		
JOU...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-		
JOU...	Amoxicilline	30% eau		-		-		

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture		
		véhicule	20 min.	48h	72 h	96 h	144 h
KEY...	CLAMOXYL	pure	-	-		-	
LAR...	CLAMOXYL	pure		-			
LEB...	Amoxicilline	pure		-	-		
L'HU...	CLAMOXYL 2 g inj	pure		2+			
L'HU...	CLAMOXYL 2 g inj	50% vaseline		2+			
L'HU...	Amoxicilline	50% eau		-		-	
L'HU...	AMODEX gélule poudre	pure		2+	2+		
LUR...	CLAMOXYL inj	pure		-		-	
LUR...	CLAMOXYL inj	50% vaseline		-		-	
LUR...	CLAMOXYL inj	50% eau		-		-	
MAC...	CLAMOXYL gel	pure		-		-	
MAG...	Amoxicilline	pure		-		-	
MAG...	Amoxicilline	50% vaseline		-		-	
MAG...	Amoxicilline	50% eau		-		-	
MAR...F	CLAMOXYL inj	pure		-		-	
MAR...F	Amoxicilline	50% vaseline		-		-	
MAR...F	Amoxicilline	pure		-		-	
MAR...M	Amoxicilline	pure		-			
MAR...M	Amoxicilline	50% vaseline		-		-	
MAR...M	Amoxicilline	10% vaseline		-		-	
MAT...	CLAMOXYL gel	pure		-		-	
MAT...	Amoxicilline	pure		-		-	
MAT...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-	
MAT...	Amoxicilline	30% eau		-		-	
MER...	GRAMIDIL	pure		-		-	
MET...	CLAMOXYL 1 g inj	pure	-	-			
MET...	CLAMOXYL 1 g inj	50% vaseline	-	-			
MET...	CLAMOXYL 1 g inj	50% eau	-	-			
MIL...	Amoxicilline	pure		-			+
MIL...	Amoxicilline	10% vaseline		-			-
MOL...	CLAMOXYL gel	50% vaseline	-	+			
MOU...	Amoxicilline	pure		-		-	-
MOU...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-	-
MOU...	Amoxicilline	30% eau		-		-	-

Patient	Produit testé	Concentration			Lecture			
		véhicule	20 min.	48h	72 h	96 h	144 h	
NOE...	Amoxicilline	pure		-		-		
PAR...	CLAMOXYL inj	pure		-		-		
PAR...	Amoxicilline	50% vaseline		-		-		
PAR...	Amoxicilline	pure		-		-		
PAR...	Amoxicilline	50% eau		-		-		
PAR...	HICONCIL	pure		-		-		
PAS...	CLAMOXYL gel	pure		-		-		
PAS...	CLAMOXYL gel	30% eau		-		-		
PAS...	Amoxicilline NS	pure		-		-		
PAS...	Amoxicilline NS	30% eau		-		-		
PED...	CLAMOXYL 1 g inj	pure		-		-		
PEI...	AGRAM	pure		-		-		
PEI...	Amoxicilline	pure	-	-		-		
PER...	CLAMOXYL gel	pure		-		-		
PER...	CLAMOXYL inj	pure		-		-		
PER...	CLAMOXYL gel	50% vaseline		-		-		
PER...	CLAMOXYL inj	50% vaseline		-		-		
PHE...	CLAMOXYL	pure	-	<b>2+</b>		<b>2+</b>		
PIC...	Amoxicilline	pure		-		-		
PIC...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-		
PIC...	Amoxicilline	30% eau		-		-		
PIL...	Amoxicilline	50% vaseline		-		-		
PIL...	Amoxicilline	pure		-		-		
REH...	CLAMOXYL	pure		-	-			
RIV...	Amoxicilline	pure		-		-		
RIV...	Amoxicilline	50% vaseline		-		-		
RIV...	Amoxicilline	50% eau		-		-		
RIV...	CLAMOXYL inj	pure		-		-		
RON...	Amoxicilline	pure		-			+	
ROU...	CLAMOXYL inj	pure		-		-		
ROU...	CLAMOXYL inj	50% vaseline		-		-		

Patient	Produit testé	Concentration véhicule	Lecture				
			20 min.	48h	72 h	96 h	144 h
SAU...	Amoxicilline	pure		-			
SIM...	Amoxicilline	pure		-		-	
SIM...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-	
SIM...	Amoxicilline	30% eau		-		-	
TOU...	Amoxicilline	pure	-	-	-		+
TOU...	Amoxicilline	1% eau		-	-	-	
TOU...	Amoxicilline	0,1% eau		-	-	-	
TOU...	Amoxicilline	1% vaseline		-	-	-	
TOU...	Amoxicilline	0,1% vaseline		-	-	-	
TOU...	CLAMOXYL gélule poudre	pure		-	-	+	+
VAL...	CLAMOXYL	pure	-	-		-	
VIN...	CLAMOXYL	pure		-		-	
VIN...	CLAMOXYL	50% eau		-		-	
VIN...	CLAMOXYL	10% eau		-		-	
VIN...	CLAMOXYL	1% eau		-		-	
VIN...	CLAMOXYL	50% vaseline		-		-	
VIN...	CLAMOXYL	10% vaseline		-		-	
VIN...	CLAMOXYL	1% vaseline		-		-	
VIN...	Amoxicilline	pure		-		-	
VIN...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-	
VIN...	Amoxicilline	30% eau		-		-	
VIN...	CLAMOXYL gel	pure		-			
VIR...	Amoxicilline	pure		-		-	
VIR...	Amoxicilline	30% vaseline		-		-	
VIR...	Amoxicilline	30% eau		-		-	
ZAM...	Amoxicilline	pure		-	-	-	-
ZAM...	Amoxicilline	30% vaseline		-	-	-	-
ZAM...	Amoxicilline	30% eau		-	-	-	-

Remarque : NS signifie non ionisée et non trihydratée.

*6.4.3.3. Discussion des résultats.*

TABLEAU XXVI : Comparaison des résultats lors de tests épicutanés positifs aux AINS.

Molécule ou spécialité	Forme galénique	Composition	Excipient	Mode de pénétration	Résultats
PROFENID inj	Poudre	Kétoprofène sodique	Produit pur	Occlusion	2+
PROFENID inj	Poudre	Kétoprofène sodique	Produit pur	Occlusion	+
PROFENID cp	Poudre	Kétoprofène sodique	Produit pur	Occlusion	+
FELDENE inj	Solution	Piroxicam Alcool benzylique Propylène-glycol Métabisulfite de sodium Ethanol (100mg/ml)	Produit pur	Promoteurs	+
FELDENE cp 20 mg	Poudre	Piroxicam	Produit pur	Occlusion	-
VOLTARENE inj	Solution	Alcool benzylique Propylène-glycol Disulfite de sodium	Produit pur	Promoteurs	+

En ce qui concerne les résultats des tests épicutanés des anti-inflammatoires non stéroïdiens, on peut remarquer que l'on obtient rarement des réactions positives.

Pour les produits suivants, aucune réaction positive n'a été observée quelque soit la présentation, quelque soit l'excipient utilisé.

Il s'agit :

- de l'indométacine (2 cas de suspicion de toxidermie),
- du naproxène,
- de l'étodolac,
- de l'acide tiaprofénique (1 cas de suspicion de toxidermie),
- de l'acide niflumique.

On peut supposer que pour ces molécules, le manque de résultats soit du à un mauvais choix d'excipients, à des personnes non allergiques au produit testé, à une sensibilisation à une partie ou à l'un des métabolites de la molécule que l'on ne retrouve pas ou trop peu lorsque l'on teste la molécule mère. Le métabolisme enzymatique au niveau épidermique est peu important et les tests avec la molécule mère ne permettent pas de révéler la sensibilisation.

Les résultats des tests épicutanés relevés dans la littérature et regroupés dans le tableau III ont montré des réactions positives avec les anti-inflammatoires non stéroïdiens mais il s'agit d'allergies de contact (sauf pour l'acide tiaprofénique) donc non comparables ici.

Le tableau XXVI regroupe tous les résultats positifs avec les AINS. Ils sont obtenus pour des tests épicutanés réalisés à partir de spécialités injectables comme le FELDENE IM<sup>®</sup> (piroxicam), le PROFENID IM/IV<sup>®</sup> (kétoprofène sodique sous forme de poudre), le VOLTARENE IM<sup>®</sup> (diclofénac) et dans un seul cas à partir de comprimé (kétoprofène).

Trois réactions positives sont observées pour le kétoprofène (5 cas de suspicion de toxidermie) sous forme de sel de sodium, sans excipient (deux pour la forme injectable, une pour la forme comprimé).

Les tests au piroxicam (7 cas de suspicion de toxidermie) n'ont donné qu'une réponse positive avec du FELDENE<sup>®</sup> injectable pur. Chez le même patient, le piroxicam fut testé sous forme de poudre pure. Le test fut négatif.

Le diclofénac (3 cas de suspicion de toxidermie) n'a présenté qu'une seule réaction positive et deux réactions douteuses, ceci lorsque la forme injectable a été testée.

Il n'y a pas de réactions positives aux anti-inflammatoires lorsque la vaseline est utilisée comme excipient.

En ce qui concerne le kétoprofène, les réactions positives obtenues sont dues au caractère occlusif du test ; il en résulte une hyperhydratation locale qui permet un bon passage transcutané. Dans le cas du kétoprofène sodique testé pur, la molécule se trouve sous forme non dissociée ; elle se comporte comme une paire d'ions et emprunte la voie transcellulaire. Il semble préférable de tester une molécule ionisée sous forme pure (pas de dissociation).

Le piroxicam est une molécule plutôt lipophile. Les excipients du FELDENE IM<sup>®</sup> contenus dans cette spécialité indique que nous sommes en présence d'un mélange plutôt polaire contenant deux substances augmentant fortement la pénétration cutanée des molécules, l'éthanol à la concentration de 10% et le propylène-glycol. Le piroxicam poudre, testé pur, donne un résultat négatif ce qui indique que le pouvoir occlusif du test épicutané n'est pas suffisant pour induire un bon passage transcutané. Par contre, la forme injectable donne un résultat positif. Cette molécule doit être testée en utilisant des excipients du type propylène-glycol, éthanol qui sont de bons promoteurs de pénétration cutanée. L'imputabilité du piroxicam a été confirmée par une IDR positive (le résultat n'a pas été repris ici).

Pour le diclofénac (molécule très lipophile) comme pour le piroxicam, c'est la présence d'excipient comme le propylène-glycol qui induit une réaction positive du test.

Dans nos excipients, la concentration en éthanol à 95° était de 10% seulement. On peut donc supposer que les excipients que nous avons retenus ne permettraient pas un bon passage transcutané.

Pour les AINS se présentant sous forme ionisée, l'occlusion permet un bon passage transcutané. Il est possible de les tester sous forme pure. Par contre, sous forme non ionisée, il faut préférer l'utilisation d'excipients ayant un rôle de promoteur de pénétration cutanée comme le propylène-glycol.

TABLEAU XXVII : Comparaison des résultats lors de tests épicutanés positifs à l'amoxicilline.

Molécule ou spécialité	Forme galénique	Composition	Excipient	Mode de pénétration	Résultats
CLAMOXYL gélule	Poudre	Amoxicilline trihydrate	Produit pur	Occlusion	+
CLAMOXYL inj	Poudre	Amoxicilline sodique	Produit pur	Occlusion	+
			30% vaseline	Occlusion	+
			30% eau	Occlusion	-
AMODEX gélule	Poudre	Amoxicilline trihydrate	Produit pur	Occlusion	2+
			50% eau		-
CLAMOXYL inj	Poudre	Amoxicilline sodique	Produit pur	Occlusion	2+
			50% vaseline	Occlusion	2+
CLAMOXYL inj	Poudre	Amoxicilline sodique	Produit pur	Occlusion	3+
CLAMOXYL inj	Poudre	Amoxicilline sodique	Produit pur	Occlusion	2+
			10% vaseline	Occlusion	-
CLAMOXYL inj	Poudre	Amoxicilline sodique	Produit pur	Occlusion	2+
CLAMOXYL inj	Poudre	Amoxicilline sodique	Produit pur	Occlusion	+
			30% vaseline	Occlusion	+
CLAMOXYL gélule	Poudre	Amoxicilline trihydrate	50% vaseline	Occlusion	+

Molécule ou spécialité	Forme galénique	Composition	Excipient	Mode de pénétration	Résultats
CLAMOXYL gélule	Poudre	Amoxicilline trihydrate	Produit pur	Occlusion	+
Amoxicilline	Poudre	Amoxicilline non ionisée	Produit pur	Occlusion	+
			1% vaseline	Occlusion	-
			0,1% vaseline	Occlusion	-
			1% eau	Occlusion	-
			0,1% eau	Occlusion	-

Le tableau XXVII résume les réactions positives observées avec l'amoxicilline.

Un test est positif à l'amoxicilline pure ; le test est négatif lorsque cette molécule est testée diluée à 1% et 0,1% dans l'eau et la vaseline.

Parmi tous les tests, l'amoxicilline a été testée dans 18 cas de suspicion de toxidermie. Pour le CLAMOXYL<sup>®</sup> injectable (amoxicilline sodique), six réactions positives sont observées. Quatre réactions positives sont observées pour la poudre de gélules d'amoxicilline trihydratée (sous forme non ionisée) :

- une avec de l'AMODEX<sup>®</sup> gélule,
- trois avec du CLAMOXYL<sup>®</sup> gélule.

L'amoxicilline sous forme sodique ou trihydratée produit des résultats positifs lorsqu'elle est diluée dans la vaseline à une concentration supérieure ou égale à 30%, alors que les résultats sont négatifs lors d'une dilution dans l'eau.

L'amoxicilline est une molécule apolaire. Présentée sous forme sodique ou trihydratée, elle devient polaire et soluble dans l'eau. A la lumière des résultats, lorsqu'une forme polaire d'amoxicilline est testée avec un excipient polaire comme l'eau, le résultat est négatif. Par contre, lorsque l'on utilise un excipient apolaire comme la vaseline, les résultats des tests sont positifs.

L'occlusion permet un bon passage transcutané ; en effet les tests réalisés avec de l'amoxicilline pure sous forme sodique ou trihydratée sont positifs.

La molécule testée dans les tests épicutanés était jusqu'en juin 1997 de l'amoxicilline sodique provenant de spécialités injectables. Nous avons vu précédemment que la pénétration cutanée des molécules ionisables était relativement limitée. De même que pour la forme sodique, les résultats des tests épicutanés avec l'amoxicilline trihydratée sont négatifs lorsque l'eau est utilisée comme véhicule (il y a solubilisation de la molécule), même si la concentration en principe actif est élevée (50%), en raison d'un faible passage transcutané.

Par contre, lorsque l'amoxicilline sodique est diluée dans de la vaseline, il n'y a ni solubilisation ni dissociation du sel. Nous sommes donc en présence d'une molécule très hydrophile présentée dans un véhicule lipophile ; les conditions sont bonnes pour permettre un bon passage de la molécule d'où une réaction positive des tests épicutanés.

Si la molécule utilisée pour les tests épicutanés était de l'amoxicilline base, il faudrait alors utiliser des excipients hydrophiles.

Certains résultats nous prouvent que la concentration en principe actif joue un rôle non négligeable dans la réactivité des tests épicutanés. Dans deux cas, les molécules testées à une concentration inférieure à 10% en amoxicilline induisent des réactions négatives alors que la même molécule testée pure provoque des réactions positives.

Dans la littérature, les tests épicutanés à l'amoxicilline donnent des résultats positifs dans la vaseline et l'eau. Certains tests ont été réalisés avec de l'amoxicilline non ionisée (18). L'amoxicilline non ionisée est une molécule apolaire. L'emploi d'un excipient polaire comme l'eau augmente le passage transcutané par hyperhydratation locale. Malheureusement, parmi les tests réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier avec de l'amoxicilline non ionisée diluée à 30% dans l'eau ou la vaseline, aucun n'a donné de réactions positives.

Remarque :

L'utilisation de molécules ionisées peut être un frein à l'obtention de bons résultats.

Désormais, nous réussissons à obtenir des produits chimiques purs provenant soit de l'industrie pharmaceutique, soit de fournisseurs de produits chimiques utilisables chez l'homme.

#### **6.4.4. Conclusion.**

Pour la réalisation des tests épicutanés, il faudra toujours préférer la poudre pure (sous forme non ionisée et sans impuretés), lorsque cela est possible plutôt qu'une forme galénique donnée. La préparation sera plus homogène et reproductible en raison de l'absence des excipients contenus dans le médicament.

Pour tester un médicament commercialisé sous forme topique, il est logique de conserver son caractère polaire ou apolaire. Les tests se feront avec une préparation diluée.

Il en sera de même avec les solutions. Le problème rencontré ici se pose en terme de stabilité d'émulsion. En effet, si l'émulsion réalisée avec une solution lipophile et un excipient hydrophile n'est pas stable, l'échantillon testé expose au risque de ne tester que l'excipient pur ou la solution pure.

Il peut enfin être intéressant d'utiliser des excipients préparés du commerce, ceux-là même qui entrent dans la composition de préparations magistrales et qui se rapprochent des excipients cités au 5.7.3. Il faudra si possible choisir ceux exempts de parfums, de colorants et de conservateurs. Nous en avons retenus six :

PANOXYBASE® (laboratoire STIEFEL, FRANCE)

Gel hydroalcoolique :

- polyoxyéthylène-lauryl-éther de silicate d'aluminium et de magnésium, hydroxypropylméthylcellulose,
- éthanol qsp 100%.

EFFAGEL<sup>®</sup> (laboratoire LA ROCHE POSAY, FRANCE)

Gel aqueux :

- silicate d'aluminium,
- silicate de magnésium,
- hydroxypropylméthylcellulose,
- acide sorbique,
- alcool laurique polyoxyéthyléné,
- parahydroxybenzoate de méthyle,
- eau purifiée, qsp 100%.

AQUABASE AVENE<sup>®</sup> (laboratoire AVENE, FRANCE)

Crème excipient pour préparations magistrales, émulsion H/E :

- alcool cétostéarylique éthoxylé,
- monostéarate de glycérol,
- huile de paraffine,
- eau distillée, qsp 100%.

CAPIBASE<sup>®</sup> (laboratoire de la CREME D'ORIENT, FRANCE)

Solution hydroalcoolique :

- alcool éthylique 48%,
- propylène-glycol,
- eau distillée, qsp 100%.

LOCABASE<sup>®</sup> (laboratoire PIERRE FABRE DERMATOLOGIE, FRANCE)

Solution alcoolique :

- polyoxyéthylène glycol,
- butylhydroxytoluène,
- alcool éthylique à 95° 13,95 g, qsp un flacon 90 ml.

SOLUBASE® (laboratoire STIEFEL, FRANCE)

Solution alcoolique :

- alcool éthylique,
- propylène-glycol,
- polyoxyéthylènelauryléther, qsp 100%.

## 7. DISCUSSION.

La positivité des tests épicutanés semble reposer sur la capacité de la molécule à pénétrer à travers la peau, ainsi qu'à son métabolisme cutané. Nous nous sommes limités à étudier l'impact des facteurs d'amélioration de la préparation cutanée.

Contrairement à une urticaire qui ne donne que très rarement une réaction positive aux tests épicutanés (hypersensibilité de type I), ceux-ci présentent un intérêt dans le diagnostic des toxidermies relevant davantage d'un mécanisme de type hypersensibilité retardée (type IV).

Les exemples les plus probants sont :

- les eczémas généralisés par réactivation systémique,
- les exanthèmes maculo-papuleux médicamenteux,
- les érythrodermies médicamenteuses,
- les pustuloses exanthématiques aiguës généralisées,
- les éruptions lichénoïdes médicamenteuses,
- l'érythème pigmenté fixe,
- les photo-allergies médicamenteuses,
- le syndrome de Lyell,
- l'érythème polymorphe (12,82,87).

Nous avons mis en évidence qu'un pansement occlusif entraînait un état d'hyperhydratation, ce qui induisait des modifications physico-chimiques de la peau, en particulier une augmentation de la circulation sanguine (augmentation de la résorption des molécules) et une augmentation de la fluidité des lipides cutanés.

L'action occlusive, quelle soit obtenue par la vaseline ou par la technique du test (chambres assurant une parfaite étanchéité) joue un rôle primordial. Nous avons rapporté dans notre étude plusieurs réactions positives de tests épicutanés (grâce à l'action occlusive du test) alors que la molécule était testée pure.

Au niveau cutané, il y a un risque de métabolisme cutané. Il existe en effet une activité enzymatique comparable à celle du foie et qui peut être responsable de réactions faussement négatives, ou faussement positives ; par exemple : c'est le phenylester de N,N-diéthylglycine qui est responsable des toxidermies au propacétamol et non pas le paracétamol.

Parmi les multiples facteurs intervenant dans la pénétration cutanée, les plus significatifs sont :

- le coefficient de partage stratum corneum / excipient, noté K, qui permet de prévoir la libération ou non du principe actif à partir de l'excipient,
- les propriétés physico-chimiques de la molécule à tester :
  - ◆ son poids moléculaire,
  - ◆ son coefficient de partage octanol / eau,
  - ◆ sa constante de dissociation,
- la concentration en principe actif de la molécule à tester,
- l'excipient ; pour une même molécule, les variations de flux de pénétration d'une molécule peuvent varier de manière importante selon l'excipient choisi,
- la granulométrie de la préparation à tester ; il faut éviter d'obtenir une préparation sous forme de suspension ; en effet, pour pénétrer, la molécule doit être solubilisée par l'excipient et libérée par ce dernier après passage cutané.

Avant de tester une molécule, il faudra rechercher quatre données la concernant :

- son poids moléculaire qui doit être inférieur à 800 Daltons (données disponibles dans le Martindale),
- son pH en solution qui doit être compris entre 6 et 8,
- sa constante de dissociation (pKa) qui détermine l'état d'ionisation de la molécule :
  - molécule ionisée : molécule très hydrosoluble utilisant la voie annexielle ; les excipients de choix seront :
    - ❖ la vaseline,
    - ❖ les hydrogels.

- molécule non ionisée : molécule lipophile utilisant la voie transcellulaire et intercellulaire ; les excipients de choix sont :
  - ❖ l'eau,
  - ❖ le diméthylsulfoxyde,
  - ❖ le diméthylformamide,
  - ❖ les hydrogels,
  - ❖ les mélanges triglycérides (tricapryline ou autre) / éthanol,
  - ❖ la glycérine,
  - ❖ des solvants organiques (l'éthanol, le propylène-glycol pour les molécules insolubles dans l'eau, l'acétone).
  
- son caractère polaire ou non qui découle de la valeur du coefficient de partage octanol / eau qui doit être compris de préférence entre -1 et 2 :
  - < -1 : molécule hydrophile (polaire) ; les excipients de choix sont :
    - ❖ les excipients hydratants (action hydratante et occlusive) qui permettent d'augmenter :
      - ◆ fortement le passage des molécules polaires,
      - ◆ fortement le passage des molécules ionisées,
      - ◆ le passage des molécules moyennement lipophiles.
  
    - ❖ les excipients hydratants sont :
      - ◆ la vaseline,
      - ◆ les hydrogels,
      - ◆ le propylène-glycol,
      - ◆ les sulfoxydes,
      - ◆ le diméthylformamide,
      - ◆ la glycérine,
      - ◆ l'eau.

➤ > 2 : molécule lipophile (apolaire) ; les excipients de choix désorganiseront les lipides cutanés en favorisant le passage des molécules lipophiles (action promotrice) ; ce sont :

- ❖ les solvants polaires (acétate d'éthyle, acétone, éthanol),
- ❖ les excipients lipophiles (acide oléique, huile d'olive),
- ❖ les liquides apolaires lipophiles (myristate d'isopropyle, huile de silicone),
- ❖ des solvants organiques (éthanol pour les molécules non ionisables, propylène-glycol pour les molécules insolubles dans l'eau),
- ❖ le diméthylsulfoxyde,
- ❖ les surfactants anioniques ou non ioniques (polyéthylène-glycols, alcool cétostéarylique).

Il faut, pour les molécules non ionisées, préférer les préparations de faible viscosité par rapport à celles de forte viscosité (pommades grasses occlusives).

Le prétraitement de la peau par un solvant pourrait augmenter le passage transcutané des molécules ; il n'est cependant pas retenu en routine car il peut entraîner des réactions faussement positives (produits irritants ou allergisants).

Dans notre analyse des résultats préliminaires concernant les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les bêta-lactamines, plusieurs observations ont pu être mises en évidence :

- ◆ l'excipient joue un rôle dans la réactivité des tests épicutanés,
- ◆ pour l'amoxicilline :
  - la vaseline contrairement à l'eau, est un excipient de choix pour l'amoxicilline sous forme sodique,
  - il faudra la tester sous forme non ionisée et non hydratée afin d'augmenter le nombre d'excipients à utiliser et la sensibilité des tests.

- ◆ pour les anti-inflammatoires non stéroïdiens, il faudra :
  - s'orienter sur d'autres excipients (cf paragraphe 5.7.3.),
  - utiliser de fortes concentrations d'éthanol ou de propylène-glycol pour avoir une augmentation des flux de pénétration cutanée par désorganisation des lipides cutanés,
  - utiliser des solvants de polarité inverse à celle des anti-inflammatoires non stéroïdiens (molécules apolaires) pour augmenter la pénétration cutanée.
- ◆ tenir compte de la concentration en principe actif (risque de faux négatifs si elle est trop faible),
- ◆ pour les molécules ionisées, l'occlusion permet d'obtenir des réactions positives aux tests.

Aussi, une étude prospective est envisagée. Elle repose sur la mise en évidence d'un intérêt comparé entre différents types d'excipients pour l'exploration des toxidermies à l'aide de tests épicutanés. Il faut également tester, lorsque cela est possible, les produits chimiques purs et non pas sous forme de sels ; il faut rechercher les laboratoires chez qui ces produits seront disponibles.

## **7.1. REFERENCES DES MOLECULES CHOISIES.**

Nous avons vu qu'une attention particulière devait être portée au moment de l'approvisionnement.

Les produits provenant de fournisseurs de réactifs non pharmaceutiques, quelque soit leur pureté, doivent être exclus. Ces produits commercialisés ne sont pas destinés à un usage humain. Ce sont le plus souvent des réactifs de chimie.

Les produits retenus pour la réalisation de tests épicutanés médicamenteux à l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier sont soit des spécialités, soit des produits purs issus de laboratoires pharmaceutiques (fabricant, Cooper) (cf. tableau XXVIII).

Le tableau XXVIII énonce une liste de molécules pures avec les coordonnées du laboratoire correspondant.

TABLEAU XXVIII : Références de certaines molécules pures, sous forme non ionisées, à utiliser lors de tests épicutanés.

Molécule	Référence
Acide niflumique	Laboratoire UPSA
Amoxicilline	Laboratoire Bouchara
Diclofénac	Laboratoire Ciba-Geigy
Indométacine	Cooper
Kétoprofène	Laboratoire Menarini
Piroxicam	Cooper

Le tableau XXIX regroupe les données physico-chimiques de l'amoxicilline et des principaux anti-inflammatoires non stéroïdiens. Certaines données telles que les constantes de dissociation ou le coefficient de partage octanol / eau ne sont pas disponibles pour toutes les molécules.

TABLEAU XXIX : Propriétés physico-chimiques de quelques bêta-lactamines et de quelques anti-inflammatoires non stéroïdiens pouvant être retenus pour l'étude prospective.

Molécule	Coefficient de partage Octanol / Eau	Masse moléculaire (Daltons)	Constante de dissociation
Acide niflumique	K > 12	282,1	pKa 1 = 2,1 pKa 2 = 5,0
Indométacine	K=3,08	357,8	pKa = 4,5
Kétoprofène	à pH 7,0 K = 2 à pH 7,4 K = 1 à pH 9 K = 0,1	254,3	pKa = 3,7
Diclofénac	K = 13,4	318,1	pKa = 3,9
Amoxicilline (hydratée)		356,4	pKa = 2,4 (COOH) pKa = 7,4 (OH) pKa = 9,6 (NH <sub>2</sub> )
Céfamandole (sodique)		512,5	pKa = 2,46
Ibuprofène	K = 3,51	206,3	pKa = 4,4
Piroxicam	K= 0,05	331,4	pKa = 6,3

En fonction de toutes ces données, il était intéressant d'étudier si le choix de certains excipients sélectionnés d'après leurs potentialités théoriques d'augmentation de la pénétration cutanée améliorerait la réactivité des tests épicutanés, d'où la mise en œuvre d'une étude prospective.

## **7.2. ETUDE PROSPECTIVE.**

L'étude prospective sera mise en route en collaboration avec le Docteur A. Barbaud du service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier en liaison avec la Pharmacie de l'hôpital. Elle concernera la réactivité des tests épicutanés réalisés avec les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les bêta-lactamines.

### **7.2.1. Matériels.**

Une liste type d'excipients potentiellement intéressants a été arrêtée :

- l'huile d'olive,
- l'acétone,
- l'éthanol (le plus concentré possible),
- la vaseline,
- l'eau,
- le diméthylsulfoxyde,
- le propylène-glycol,
- des hydrogels et des gels hydroalcooliques,
- des mélanges éthanol / triglycérides,
- l'acétate d'éthyle.

De même, une liste type de molécules à tester a été arrêtée :

- Acide niflumique,
- Diclofénac,
- Ibuprofène,
- Indométacine,
- Kétoprofène,
- Piroxicam,
- Amoxicilline,
- Céfamandole sodique.

### 7.2.2. Méthode.

Le médecin remplira une demande de test pour tout anti-inflammatoire non stéroïdien et pour toute bêta-lactamine sur les ordonnances prévues à cet effet (cf. p 175). Les molécules seront testées à 30%. Les arbres décisionnels, définis dans le chapitre 5.7.3. serviront à choisir les excipients les plus adaptés.

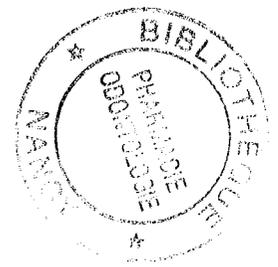
#### Exemple de choix d'excipient à l'aide des arbres décisionnels :

Le diclofénac, de poids moléculaire égal à 318,1 Daltons, est une molécule que l'on peut obtenir auprès des laboratoires Ciba-Geigy sous forme non ionisée ( $pK_a = 3,9$ ). Son coefficient de partage est de 13,4. C'est une molécule apolaire donc lipophile. Elle est insoluble dans l'eau. Elle se présente sous forme de poudre. Les excipients que nous pourrions utiliser seront un gel hydroalcoolique, l'acétone, un mélange eau (80) / éthanol (20), un mélange triglycéride (40) / éthanol (60), un mélange acétate d'éthyle (50) / éthanol (50), le diméthylsulfoxyde à 20% dans l'eau, le propylène-glycol à 20% dans l'eau.

La liste des différentes molécules à tester, ainsi que leurs propriétés physico-chimiques sont regroupées dans le tableau XXIX. Dans la plupart des cas, les molécules à tester le sont sous forme non sodique (produits purs) ; c'est le cas des anti-inflammatoires non stéroïdiens et de l'amoxicilline. Pour les céphalosporines, il faut utiliser les spécialités injectables.

L'analyse de la demande de tests se fera par le pharmacien ou l'interne en pharmacie du service Pharmacie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier. Une fois réalisées et étiquetées, les préparations les plus homogènes seront délivrées dans le service de Dermato-allergologie. La mise en place, la lecture des résultats des tests, leur enregistrement sur des fiches de recueil des résultats (cf. annexe 2) reste identique à la procédure habituelle appliquée dans le service.

L'analyse des résultats devrait permettre de retenir en routine les excipients les plus adaptés pour tester les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les bêta-lactamines.



ETUDE PROSPECTIVE  
REACTIVITE DES TESTS EPICUTANES DANS DIVERS EXCIPIENTS  
CLASSE PHARMACOLOGIQUE : LES ANTI-INFLAMMATOIRES NON STEROIDIENS

Patient :

Nom :

Prénom :

Molécule à tester :

Spécialité :

Molécule pure :

Ionisée

Non ionisée

Excipients :

Eau (80) / Ethanol (20)

Ethanol (60) / Triglycéride (40)

Gel hydroalcoolique

Propylène-glycol dans l'eau à 20%

Diméthylsulfoxyde dans l'eau à 20%

Acétone

Acétate d'éthyle (50) / Ethanol (50)

Huile d'olive

Vaseline

Eau

Date d'exécution :

Médecin prescripteur :

Signature :

## CONCLUSION

La sensibilité des tests épicutanés, dans le diagnostic des toxidermies, varie de 28 à 40%. Ces tests possèdent un intérêt lorsque la clinique évoque ce type de réaction (réactions d'hypersensibilité de type IV (de type dermatite de contact)) (12,82). Cependant, le diagnostic, à l'aide de ces tests, n'est pas toujours concluant car le stratum corneum gêne le passage transcutané des molécules médicamenteuses.

La technique d'utilisation et de réalisation de ces tests est bien connue mais il n'existe pas ou peu de références, dans la littérature, quant à une méthodologie précise et universelle.

Aussi, l'objectif de notre travail était de recenser les moyens d'améliorer la réactivité des tests épicutanés médicamenteux notamment par une augmentation du passage transcutané des principes actifs.

Il existe différents facteurs qui modifient la pénétration cutanée des molécules, comme les facteurs constitutionnels (état de la peau) et des facteurs liés aux tests. Parmi ces facteurs liés aux tests, il faut en retenir quatre sur lesquels nous pouvons intervenir pour augmenter la pénétration cutanée :

- ✓ l'utilisation d'excipients de polarité inverse à celle de la molécule à tester,
- ✓ l'utilisation d'excipients désorganisant la structure de la couche cornée,
- ✓ une concentration en produit à tester suffisamment élevée,
- ✓ l'utilisation, si possible, de molécules sous forme non ionisées.

Nous avons pu observer dans la littérature des variations de flux de pénétration cutanée pour une même molécule selon l'excipient choisi, avec un impact possible sur la réactivité des tests épicutanés médicamenteux.

A partir de ces données, notre travail nous a conduit à mener à la pharmacie une démarche systématique de réflexion sur le choix optimal des excipients lors de la réalisation des tests épicutanés. Ce travail a abouti à la réalisation d'arbres décisionnels qui permettent quelque soit la molécule à tester, d'utiliser l'excipient le plus adapté pour permettre un bon passage transcutané et une bonne réactivité du test.

Les premiers essais déjà réalisés ponctuellement avec les anti-inflammatoires non stéroïdiens nous ont permis de mieux adapter les excipients retenus, comme la concentration en éthanol (actuellement, l'éthanol n'est plus utilisé dilué mais tel quel).

A l'aide de ces données, une étude prospective devrait nous permettre, à partir d'un échantillonnage suffisant, de retenir en routine les excipients les plus adaptés pour tester les anti-inflammatoires non stéroïdiens.



## BIBLIOGRAPHIE

- (1) Agache P, Panisset F, Pirot F.  
Absorption cutanée.  
Encycl. Med. Chir. (Paris-France), Dermatologie, 1995, 12-235-C-30, 10p.
- (2) Agner T, Menne T.  
Sensitivity to clioquinol and chlorquinaldol in the quinoline mix.  
Contact Dermatitis, 1993;29:163.
- (3) Aiache JM.  
Les dispositifs transdermiques.  
Concours Med, 1993;115(34):2948-2955.
- (4) Alanko K.  
Patch testing in cutaneous reactions caused by carbamazepine.  
Contact Dermatitis, 1993;29:254-257.
- (5) Alanko K.  
Topical provocation of fixed drugs eruption ; a study of 30 patients.  
Contact Dermatitis, 1993;31:25-27.
- (6) American academy of pediatrics.  
Inactive ingredients in pharmaceutical products.  
Pediatrics, 1985;76(4):635-643.
- (7) Arnaud A, Pradal M, Vervloet D.  
L'allergie médicamenteuse. In : Allergologie.  
Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 1993: 1152 p.
- (8) Aron-Brunetiere R.  
Le rôle de l'excipient en corticothérapie locale.  
Rev Med, 1974;15.
- (9) Aspe E, Guy RH, Lee WA and al.  
Optimization of in vitro flux through hairless mouse skin of cidofovir, a potent nucleotide analog.  
J Pharm Sci, 1995;84(6):750-754.
- (10) Auclair F, Besnard M, Dupont C and al.  
Importance of blood flow to the local distribution of drugs after percutaneous absorption in the bipedicated dorsal flap of the hairless rat.  
Skin Pharmacol, 1991;4:1-8.

- (11) Banchereau J.  
Interleukines et autres cytokines impliquées dans la réponse immunitaire et la réponse allergique. In : Allergologie.  
Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 1993: 1152 p.
- (12) Barbaud A.  
Approche diagnostique des toxidermies.  
Rev Fr Allergol, 1997;37(3):370-372.
- (13) Barbaud A.  
Tests épicutanés médicamenteux dans les toxidermies.  
Rev fr Allergol, 1998;38(4):374-378.
- (14) Barbaud A.  
Prick-tests et IDR dans les toxidermies : leurs modalités, leur intérêt comparé à celui des tests épicutanés médicamenteux. In : progrès en Dermato-allergologie 4<sup>ème</sup> ed.  
Nancy : John Libbey Eurotext, 1998: 247 p.
- (15) Barbaud A, Trechot P, Gillet-Terver MN, Zannad F, Schmutz JL.  
Investigations immunoallergologiques dans une toxidermie au diltiazem (Tildiem 300 LP).  
Thérapie, 1993;48(5):499-500.
- (16) Barbaud A, Béné MC, Faure G.  
Immunological physiopathology of cutaneous adverse drug reactions.  
Eur J Dermatol, 1997;7:319-323.
- (17) Barbaud A, Béné MC, Schmutz JL et coll.  
Role of delayed cellular hypersensitivity and adhesion molecules in Amoxicillin-induced morbilliform rashes.  
Arch Dermatol, 1997;133:481-486.
- (18) Barbaud A, Reichert-Penetrat S, Trechot P et coll.  
The use of skin testing in the investigation of cutaneous adverse drug reactions.  
Br J Dermatol, 1998;139:49-58.
- (19) Barry BW, Williams AC.  
Terpenes as skin penetration enhancers. In : Pharmaceutical skin penetration enhancement.  
New York : Marcel Dekker, 1993: 440 p.
- (20) Bentejac R.  
Développement galénique. In : Formes pharmaceutiques pour applications locales.  
Paris : Lavoisier TEC et DOC, 1996: 504 p.

- (21) Bircher AJ, Thürlimann W, Pasche-Koo F and al.  
Contact hypersensitivity to corticosteroids in routine patch test patients.  
Dermatology, 1995;191:109-114.
- (22) Boehncke WH, Gall H.  
Type-IV hypersensitivity to topical estradiol in a patient tolerant to orally.  
Contact Dermatitis, 1996;35:187-188.
- (23) De Boer EM, Bruynzeel DP.  
Allergy to pravastatin.  
Contact Dermatitis, 1994;30:238.
- (24) Bonnetblanc JM, Vaillant L, Wolkenstein P.  
Facteurs prédisposants des réactions cutanées aux médicaments.  
Ann Dermatol Venereol, 1995;122:484-486.
- (25) Breathnach SM, Hinter H.  
Adverse drug reactions and the skin.  
Oxford : Blackwell Scientific Publications, 1992: 393 p.
- (26) Bronaugh RL, Stewart RF, Simon M.  
Methods for in vitro percutaneous absorption studies. VII :use of the excised human skin.  
J Pharm Sci, 1986;75:1094-1097.
- (27) Calkin JM, Maibach HI.  
Delayed hypersensitivity drug reactions diagnosed by patch testing.  
Contact Dermatitis, 1993;22:33.
- (28) Celesti L, Murratzu C, Valotti M and al.  
The single-pass perfused rabbit ear as a model for studying percutaneous absorption of clonazepam. II. Influence of hydrogel-borne propylene glycol and skin pretreatment with lauryl alcohol.  
Meth Find Exp Clin Pharmacol, 1993;15(1):49-56.
- (29) Chevremont M.  
Le revêtement cutané. In : Notions de cytologie et histologie.  
3<sup>ème</sup> ed. Liege : Desoer, 1991: 1402 p.
- (30) Cnudde F, Leynadier F, Dry J.  
Cutaneous reaction to captopril : value of patch-tests.  
Contact Dermatitis, 1990;23:375-376.
- (31) Coenraads PJ, Woest TE, Blanksma LJ and al.  
Contact allergy to d-penicillamine.  
Contact Dermatitis, 1990;23:171-172.

- (32) Corazza M, Strumia R, Lombardi AR and al.  
Allergic contact dermatitis from spironolactone.  
Contact Dermatitis, 1996;35:365.
- (33) Couarraze G, Clemessy M.  
Modélisation de la mise à disposition percutanée de principes actifs par des systèmes transdermiques. In : Formes pharmaceutiques pour applications locales.  
Paris : Lavoisier TEC et DOC, 1996: 504 p.
- (34) Dadoune JP, Hadjiisky P, Siffroi JP et coll.  
Appareil tégumentaire. In : Histologie.  
Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 1990: 462 p.
- (35) Dessaint JP, Capron M, Capron A.  
Hypersensibilité immédiate à IgE. In : Allergologie.  
Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 1993: 1152 p.
- (36) Durandeau C, Gueroult P, Fawaz F et coll.  
Promoteurs d'absorption cutanée.  
Ann Pharm Fr, 1992;50 (2):68-78.
- (37) Echechipia S, Alvarez MJ, Garcia BE and al.  
Generalized dermatitis due to mitomycin C patch test.  
Contact Dermatitis, 1995;33:432.
- (38) Elias PM.  
Epidermal lipids, membranes and keratinization.  
Int J Dermatol, 1981;1:20.
- (39) Färm G.  
Contact allergy to nicotine from a nicotine patch.  
Contact Dermatitis, 1993;29:214-215.
- (40) Fernandez JC, Gamboa P, Jauregui I and al.  
Concomitant sensitization to enoxolone and mafenide in a topical medicament.  
Contact Dermatitis, 1992;27:262.
- (41) Fernandez-Rivas M.  
Fixed drug eruption caused by norfloxacin.  
Allergy, 1997;52:477-478.
- (42) Flynn GL.  
Physicochemical determinants of skin absorption. In : Principles of route-to-route extrapolation for risk assessment.  
Elsevier New York : 1990 Gerrity TR, Henry CJ ed : 93-127.

- (43) Foti C, Bonamonte D, Trenti R and al.  
Occupational contact allergy to cephalosporins.  
Contact Dermatitis, 1997;36:104-105.
- (44) Fousereau J.  
Les tests épicutanés. In : Les eczémas allergiques cosmétiques, thérapeutiques et vestimentaires.  
Paris : Masson, 1987: 600 p.
- (45) Fowler JF Jr, Rietschel RL.  
Fischer's contact dermatitis 4<sup>ème</sup> ed.  
Baltimore : Pine JW, 1995: 1116 p.
- (46) Friend DR, Heller J.  
Simple alkyl esters as skin penetration enhancers. In : Walters KA, Hadgraft J, éditeurs.  
Pharmaceutical skin penetration enhancement.  
New York : Marcel Dekker,1993: 440 p.
- (47) Fullerton A, Menne T, Hoelgaard A.  
Patch testing with nickel chloride in a hydrogel.  
Contact Dermatitis, 1989;20:17-20.
- (48) Galindo Bonilla PA, Garcia Rodriguez R, Feo Brito F.  
Patch testing for allergy to beta-lactam antibiotics.  
Contact Dermatitis, 1994;31:319-20.
- (49) Garcia-Abujeta JL, Fernandez L, Maquiera E.  
Contact allergy to budesonide in an oral spray.  
Contact Dermatitis, 1995;32:253.
- (50) Gaspari AA.  
Contact allergy to ophthalmic dipivalyl epinephrine hydrochloride : demonstration by patch testing.  
Contact Dermatitis, 1993;28:35-37.
- (51) Gastaminza G, Echechipia S, Navarro JA and al.  
Fixed drug eruption from piroxicam.  
Contact Dermatitis, 1993;28:43.
- (52) Goday J, Aguire A, Diaz-Perez JL.  
A positive patch test in a pyrazinamide drug eruption.  
Contact Dermatitis, 1990;22:181.

- (53) Goday JJ, Yanguas I, Ilardia R and al.  
Subacute contact dermatitis from fepradinol.  
Contact Dermatitis, 1993;29:160.
- (54) Gonzales Gutierrez ML, Esteban Lopez MI, Ruiz MD.  
Positivity of patch-tests in cutaneous reaction to aminocaproic acid : two case reports.  
Allergy, 1995;50:745-746.
- (55) Gonzalo Garijo MA, Bobadilla Gonzalez P.  
Cutaneous-mucosal allergic contact reaction due to topical corticosteroids.  
Allergy, 1995;50:833-836.
- (56) Goto S, Uchida T, Lee CK and al.  
Effect of various vehicles on ketoprofen permeation across excised hairless mouse skin.  
J Pharm Sci, 1993;82(9):959-963.
- (57) Grandolfo M, Pipoli M, Foti C and al.  
Influence of vehicle on patch test reponse to nickel sulfate.  
Contact Dermatitis, 1996;35:173-174.
- (58) Grange JC.  
Effets indésirables ou toxiques des médicaments en médecine générale : un an de recueil.  
Thérapie, 1990;45:331-334.
- (59) Grosshans E, Samsoen M.  
Histologie de la peau normale.  
Paris : Encycl Med Chir Dermatologie, 1977, 12220 A<sup>10</sup>, 4p.
- (60) De Grott AC.  
Patch testing : Tests concentrations and vehicles for 2800 allergens.  
Amsterdam : Elsevier, 1986: 295 p.
- (61) Guidetti MS, Vincenzi C, Papi M.  
Sclerodermatous skin reaction after vitamin K<sub>1</sub> injections.  
Contact Dermatitis, 1994;31:45-46.
- (62) Guillaume JC.  
La barrière cutanée.  
La Pratique Med, 1983;20:51-59.
- (63) Guy RH, Potts RO.  
Structure-permeability relationships in percutaneous penetration.  
J Pharm Sci, 1992;81(6):603-604.

- (64) Hadgraft J, Williams DG.  
Azone : Mecanisms of action and clinical effect. In : Walters KA, Hadgraft J, éditeurs.  
Pharmaceutical skin penetration enhancement.  
New York : Marcel Dekker,1993: 440 p.
- (65) Handbook of pharmaceutical excipients.  
London : The pharmaceutical society of great britain, Washington, American  
Pharmaceutical Association, 1986: 375 p.
- (66) Herbst RA, Lauerma AI, Maibach HI.  
Intradermal testing in the diagnosis of allergic contact dermatitis.  
Contact Dermatitis, 1993;29:1-5.
- (68) Hilton J, Woollen BH, Scott RC and al.  
Vehicle effects on in vitro percutaneous absorption trough rat and human skin.  
Pharm Res, 1994;11(10):1396-1400.
- (69) Le Hir A.  
Abrégé de Pharmacie galénique 6<sup>ème</sup> ed.  
Paris : Masson, 1992: 385 p.
- (70) Hoelgaard A, Mollgaard B, Baker E.  
Vehicule effect on topical drug delivery.  
Int J Pharm, 1988;43:233-240.
- (71) Ibañez MD, Alonso E, Muñoz MC and al.  
Delayed hypersensitivity reaction to paracetamol (acetaminophen).  
Allergy, 1996;51:121-123.
- (72) Idson B.  
Vehicle effects in percutaneous absorption.  
Drug Metabolism Rev, 1983;14(2):207-222.
- (73) Izu R, Aguirre A, Gonzalez M and al.  
Contact dermatitis from tioconazole with cross-sensitivity to other imidazoles.  
Contact Dermatitis, 1992;26:130-131.
- (74) Izumoto T, Aioi A, Uenoyama and al.  
Relations ship between the transference of a drug from a transdermal patch and the  
physicochemical properties.  
Chem Pharm Bull, 1992 ;40(2) :456-458.
- (75) Jamoule JC.  
La pénétration cutanée.  
Ann Dermatol Venereol, 1988;115(5):627-640.

- (76) Kasting GB, Smith RL, Cooper ER.  
Effect of lipid solubility and molecular size on percutaneous absorption. In :Skin pharmacokinetics.  
Basel : Karger, 1987: 138-153.
- (77) Katagiri K, Takayasu S.  
Drug induced acute generalized exanthematous pustulosis.  
J Dermatol, 1996;23:623-627.
- (78) Kathleen V, Maibach R, Maibach HI.  
Percutaneous absorption and age.  
Drugs Aging, 1992;2(5):432-449.
- (79) Kawada A, Kobayashi T, Noguchi H and al.  
Fixed drug eruption induced by sulfasalazine.  
Contact Dermatitis, 1996;34:155.
- (80) Kawada A, Noguchi H, Hiruma M and al.  
Fixed drug eruption induced by lidocaine.  
Contact Dermatitis, 1996;35:375.
- (81) Keere S, Busschots A, Doods-Goossens A.  
Erythema-multiforme-like contact dermatitis due to phenylbutazone.  
Contact Dermatitis, 1995;33:213.
- (82) Krebs A, Boillat-Armagni C, Saurat JH.  
Réactions cutanées aux médicaments. In : Dermatoses des états d'hypersensibilité 2<sup>ème</sup> ed.  
Paris : Masson, 1990: 911 p.
- (83) Kimura K, Ezo K, Yokozeki H and al.  
A case of eosinophilic pustular folliculitis (Ofuji's disease) induced by patch and challenge tests with indeloxazine hydrochloride.  
J Dermatol, 1996;23:479-83.
- (84) Kondo S, Sugimoto I.  
Enhancement of transdermal delivery by superfluous thermodynamic potentiel : I.  
Thermodynamic analysis of nifedipine transport across the lipoidal barrier.  
J Pharmacobio-Dyn, 1987 ;10:587-589.
- (85) Kondo S, Yamanaka C, Sugimoto I.  
Enhancement of transdermal delivery by superfluous thermodynamic potentiel : III.  
Percutaneous absorption of nifedipine in rats.  
J Pharmacobio-Dyn, 1987 ;10:743-747.

- (86) Kubota K, Maibach HI.  
Estimation of the permeability coefficient from a finite-dose, in vitro percutaneous drug penetration study.  
J Pharm Sci, 1991;80(10):1001-1002.
- (87) Lachapelle JM, Tennstedt D.  
Les tests épicutanés dans les toxidermies médicamenteuses. In : progrès en dermatologie allergologie 4<sup>ème</sup> ed.  
John Libbey : 1998:57-66.
- (88) Lavarenne et al.  
Effets indésirables en gériatrie.  
Thérapie, 1983;38:485-493.
- (89) Lee CK, Kitagawa K, Uchida T and al.  
Transdermal delivery of theophylline using an ethanol/panasate 800-ethylcellulose gel preparation.  
Biol Pharm Bull, 1995;18(1):176-180.
- (90) Lee CK, Uchida T, Kitagawa K and al.  
Effect of hydrophilic and lipophilic vehicles on skin permeation of tefagur, alclofenac and ibuprofen with or without permeation enhancers.  
Biol Pharm Bull, 1993;16(12):1264-1269.
- (91) Lee CK, Uchida T, Kitagawa K and al.  
Skin permeability of various drugs with different lipophilicity.  
J Pharm Sci, 1994;83(4):562-565.
- (92) Leeson TS, Leeson CR.  
Peau et phanères. In : Histologie 2<sup>ème</sup> ed.  
Paris : Masson, 1980: 531 p.
- (93) Leopold CS, Lippold BC.  
Enhancing effects of lipophilic vehicles on skin penetration of methyl nicotinate in vivo.  
J Pharm Sci, 1995;84(2):195-197.
- (94) Lippold BC.  
How to optimize drug penetration through the skin.  
Pharm Acta Helv, 1992;67(11):294-300.
- (95) Machet L, Vaillant L, Dardaine V and al.  
Patch testing with clobazam : relapse of generalized drug eruption.  
Contact Dermatitis, 1992;26:347-348.

- (96) Machet L, Vaillant L, Pinton J and al.  
L'absorption percutanée : méthodes d'études, facteurs de variations, applications thérapeutiques.  
Rev Eur Dermatol, 1991;3:159-169.
- (97) Maitani Y, Shimada K, Nagai T.  
L-menthol, oleic acid and lauricidin in absorption enhancement of free and sodium salt of diclofenac using ethanol treated silicone membrane as model for skin.  
Chem Pharm Bull, 1996;44(2):403-408.
- (98) Maleville J, Massicot P, Guillet G et coll.  
Erythème polymorphe-Syndrome de Lyell.  
Encycl Med Chir Paris, Dermatologie, 1981, 12450A<sup>10</sup>, 10p.
- (99) Mancuso G, Reggiani M, Staffa M.  
Long lasting allergic patch test reaction to phenylephrine.  
Contact Dermatitis, 1997;36:110-111.
- (100) Martindale the extra Pharmacopoeia Reynolds JEF editeur.  
31<sup>ème</sup> ed, London : Royal Pharmaceutical society, 1996: 2363 p.
- (101) Marty JP, Guy R.  
Pénétration cutanée et biodisponibilité. In: Formes pharmaceutiques pour applications locales.  
Paris : Lavoisier TEC et DOC, 1996: 504 p.
- (102) Marty JP, Vaution C.  
Excipients et biodisponibilité cutanée. In : progrès en Dermato-allergologie 4 ème ed.  
John Libbey : 1998 : 115-122.
- (103) The merck index an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals Budavari editeur  
20<sup>ème</sup> ed, Whitehouse Station : Merck&Co, 1996: 10102 p.
- (104) Michel M, Dompmartin A, Szczurko C and al.  
Eczematous-like drug eruption induced by synergists.  
Contact Dermatitis, 1996;34:86-87.
- (105) Mitsuhiko H, Satoh S, Maibach HI and al.  
Enhancement of propanolol hydrochloride and diazepam skin absorption in vitro : Effect of enhancer lipophilicity.  
J Pharm Sci, 1991;80(1):32-35.
- (106) Mochida K, Teramae H, Hamada T.  
Fixed drug eruption due to colchicine.  
Dermatology, 1996;192:61.

- (107) Moes AJ.  
La pénétration cutanée des médicaments.  
J Pharm Belg, 1993;48(4):252-260.
- (108) Monteseiren J, Conde J.  
Contact eczema from famotidine.  
Contact Dermatitis, 1990;22:290.
- (109) Nagayama H, Nakamura Y, Shinkai H.  
A case of drug eruption due to simultaneous sensitization with three different kind of drugs.  
Journ of Dermatol, 1996;23:899-901.
- (110) Ogiso T, Iwaki M, Paku T.  
Effect of various enhancers on transdermal penetration of indomethacin and urea, and relationship between penetration parameters and enhancement factors.  
J Pharm Sci, 1995;84(4):482-488.
- (111) Oleaga JM, Aguirre A, Gonzalez M and al.  
Topical provocation of fixed eruption due to sulphamethoxazole.  
Contact Dermatitis, 1993;29:155.
- (112) Ortega NR, Barranco P, Lopez Serrano C and al.  
Delayed cell-mediated hypersensitivity to tetrazepam.  
Contact Dermatitis, 1996;34:139.
- (113) Parmentier L, Wolkenstein P.  
Conduite à tenir devant un exanthème d'origine médicamenteuse.  
Informations Dermatologiques, 1994;2:13-17.
- (114) Perault MC, Breuil K, Dejean C and al.  
Bilan d'un an de collaboration entre une unité hospitalière d'allergologie et un centre de pharmacovigilance.  
Thérapie, 1990;45:435-439.
- (115) Pharmacopée Française rédigée par ordre du gouvernement éditée sous la direction de la commission nationale de Pharmacopée par l'Ordre National des Pharmaciens 10<sup>ème</sup> ed.  
Paris : Maisonneuve SA,1982.
- (116) Pigatto P, Bigardi A, Legori A and al.  
Cross-reactions in patch testing and photopatch testing with ketoprofen, tiaprofenic acid and cinnamic aldehyde.  
Am J Contact Dermatitis, 1996;7(4):220-223.

- (117) Poirier J, Ribadeau Dumas JL.  
La peau et les organes des sens. In : Abrégé d'histologie.  
Paris : Masson, 1988:237-241.
- (118) Regnault JP.  
Immunologie générale.  
Montréal : Décarie, 1988: 469 p.
- (119) Rietschel RL.  
The patch test as an exercise in cutaneous pharmacokinetics.  
Arch Dermatol, 1992;128:678-679.
- (120) Riviere JE, Williams PL.  
Pharmacokinetic implications of changing blood flow in skin.  
J Pharm Sci, 1992;81(6):601-602.
- (121) Roberts MS, Walker M.  
Water : The most natural penetration enhancer. In : Walters KA, Hadgraft J, éditeurs.  
Pharmaceutical skin penetration enhancement.  
New York : Marcel Dekker 1993 :1-27.
- (122) Rodriguez F, Fernandez L, Gargia-Abujeta JL and al.  
Generalized dermatitis due to codeine.  
Contact Dermatitis, 1995;32:120.
- (123) Rodriguez-Mosquera M, Iglesias A, Saez A and al.  
Patch test diagnosis of carbamazepine sensitivity ?  
Contact Dermatitis, 1991;25:137.
- (124) Roitt IM.  
Immunologie.  
6<sup>ème</sup> ed. Paris : Pradel, 1990: 287 p.
- (125) Roitt IM, Brostoff J, Male DK.  
Immunologie.  
3<sup>ème</sup> ed. De Boeck : Université, 1994: 406 p.
- (126) Romano A, Di Fonso M, Papa G and al.  
Evaluation of adverse cutaneous reactions to aminopenicillins with emphasis on those manifested by maculopapular rashes.  
Allergy, 1995;50:113-118.
- (127) Romano A, Di Fonso M, Pietrantonio F and al.  
Repeated patch testing in delayed hypersensitivity to beta-lactam antibiotics.  
Contact Dermatitis, 1993;28:190.

- (128) Romano A, Pietrantonio F.  
Delayed hypersensitivity to flurbiprofen.  
J Int Med, 1997;241:81-83.
- (129) Romano A, Pietrantonio F, Di Fonso M and al.  
Positivity of patch-tests in cutaneous reaction to diclofenac.  
Allergy, 1994;49:57-59.
- (130) Scerri L, Shall L, Zaki I.  
Carbamazepine-induced anticonvulsivant hypersensitivity syndrome-pathogenic and diagnostic consideration.  
Clin Exp Dermatol, 1993;18:540-542.
- (131) Scheuplin RJ.  
Percutaneous absorption after twenty-five years : or old wine in new wines skins.  
J Invest Dermatol, 1976;67:31-38.
- (132) Scheuplin RJ, Blank IH, Brauner GJ and al.  
Percutaneous absorption of steroids.  
J Invest Dermatol, 1969;52:63-70.
- (133) Shah VP, Flynn GL, Guy RH and al.  
In vivo percutaneous penetration / absorption.  
Int J Pharm, 1991;74:1-8.
- (134) Siddiqui O.  
Physicochemical, physiological, and mathematical considerations in optimizing percutaneous absorption of drugs. Critical Reviews.  
Therapeutic Drug Carrier Systems, 1989;6(1):1-38.
- (135) Sousa-Basto A, Azenha A, Duarte ML and al.  
Generalized cutaneous reaction to diltiazem.  
Contact Dermatitis, 1993;28:44.
- (136) Takahashi K, Suzuki T, Sakano H and al.  
Effect of vehicles on diclofenac permeation across excised rat skin.  
Biol Pharm Bull, 1995;18(4):571-575.
- (137) Tanglertsampan C, Maibach HI.  
The role of vehicles in diagnostic patch testing.  
Contact Dermatitis, 1993;29:169-174.

- (138) Tata S, Flynn GL, Weiner ND.  
Penetration of minoxidil from ethanol/propylene glycol solutions : effect of application volume and occlusion.  
J Pharm Sci, 1995;84(6):688-691.
- (139) Trechot PF, Royer RJ, Gaire M et coll.  
Etude sur 30 mois de la répartition des appels au centre régional de pharmacovigilance de Lorraine (Nancy).  
Thérapie, 1990;45:43-46.
- (140) Uchida T, Lee CK, Sekiya N and al.  
Enhancement effect of an ethanol/panasate 800 binary vehicule on anti-inflammatory drug permeation across excised hairless mouse skin.  
Biol Pharm Bull, 1993;16(2):168-171.
- (141) Urrutia I, Audicana M, Echechipia S and al.  
Sensitization to chloramphenicol.  
Contact Dermatitis, 1992;26:66-67.
- (142) Wedig JH, Maibach HI.  
Percutaneous penetration of dipyrithrone in man : effect of skin color (race).  
J Am Aca of Dermatol, 1981 ;5:433-437.
- (143) Weigan DA, Gaylor JR.  
Irritant reaction in negro and caucasian skin.  
South Med Journ, 1974 ;67:548-551.
- (144) Wepierre J.  
Absorption percutanée et risques toxiques chez le nouveau-né.  
Nouv Dermatol, 1991;10:27327-4.
- (145) Wester RC, Maibach HI.  
Percutaneous absorption of drugs.  
Clin Pharmacokinet, 1992;23(4):253-266.
- (146) Whitmore SE.  
The importance of proper vehicule selection in the detection of minoxidil sensitivity.  
Arch Dermatol, 1992;128:653-656.
- (147) Wiechers JW.  
The barrier function of the skin in relation to percutaneous absorption of drugs.  
Pharm Weekbl (Sci), 1989;11(6):185-198.

- (148) Wilkinson SM, Beck MH.  
Corticosteroid contact hypersensitivity : What vehicle and concentration.  
Contact Dermatitis, 1996;34:305-308.
- (149) Williams RL, Thakker KM, John V and al.  
Nitroglycerin absorption from transdermal systems : formulation effects and metabolite concentrations.  
Pharm Res, 1991;8:744-749.
- (150) Wolkenstein P.  
Explorations à visées diagnostique des toxidermies.  
Informations dermatologiques, 1994;4:9-10.
- (151) Wolkenstein P, Chosidow O.  
Toxidermies médicamenteuses.  
Rev Prat, 1997;47:327-333.
- (152) Wolkenstein P, Chosidow O, Flechet ML and al.  
Patch testing in severe cutaneous adverse drug reactions, including Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis.  
Contact Dermatitis, 1996;35:234-236.
- (153) Yamauchi R, Morita A, Tsuji T.  
Fixed drug eruption caused by iopamidol a contrast medium.  
J of Dermatol, 1997;24:243-245.
- (154) Zonzits E, Aberer W, Tappeiner G.  
Drug eruption from mesna.  
Arch Dermatol, 1992;128:80-83.
- (155) Zuber M, Arnaud P.  
Le passage percutané des médicaments : les dispositifs transdermiques.  
Sem Hop Paris, 1996;72(13-14):409-420.
- (156) Zuber M, Chemtob C, Chaumeil JC.  
Etude de la disponibilité « in vitro » d'un corticostéroïde à usage topique à partir de différents véhicules. Essai de corrélation avec une étude in vivo.  
J Pharm Belg, 1982;37(6):393-400.

## LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I : Médicaments responsables de toxidermies (25). Liste non exhaustive. ....	29
TABLEAU II : Mécanisme immunologique des toxidermies (59).....	39
TABLEAU III : Résultats de tests épicutanés de différentes molécules dans différents excipients. .....	45
TABLEAU IV : Variations du flux de pénétration d'hydrocortisone chez l'homme selon la zone d'application par comparaison avec la pénétration mesurée au niveau de l'avant-bras et du ventre (valeur de référence : 1) (96,107).....	80
TABLEAU V : Influence de l'humidité du stratum corneum sur la pénétration cutanée (107). ..	82
TABLEAU VI : Influence de la température sur la pénétration cutanée (107).....	85
TABLEAU VII : Constituants des différentes formes de difluprednate (156). ....	86
TABLEAU VIII : Viscosité apparente des préparations étudiées en Pascal/seconde (156). ....	87
TABLEAU IX : Quantités de difluprednate libérées à partir des préparations à 0,05% (156)....	87
TABLEAU X : Principaux facteurs de l'absorption percutanée et leur importance relative (96). 94	
TABLEAU XI : Propriétés de quelques excipients parmi les plus courants. ....	116
TABLEAU XII : Flux de pénétration du fluazifop-butyl, du diméthylphtalate et du fomesafen dans le propylène-glycol, l'octanol et l'éthyldecanoate (68). ....	119
TABLEAU XIII : Flux de pénétration du kétoprofène selon différents excipients (56).....	121
TABLEAU XIV : Flux de pénétration du diclofénac sodique et non sodique (97).....	124
TABLEAU XV: Flux de pénétration du cidofovir en $\mu\text{g}/\text{h}/\text{cm}^2$ (9). ....	126
TABLEAU XVI : Flux d'indométacine en fonction de cinq promoteurs de pénétration cutanée (110).....	128
TABLEAU XVII : Résultats des tests épicutanés au kétoprofène réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier (p145-146).....	145
TABLEAU XVIII : Résultats des tests épicutanés au diclofénac réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier (p146-147).....	146
TABLEAU XIX : Résultats des tests épicutanés à l'étodolac réalisés dans le service de Dermato- allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.....	147
TABLEAU XX: Résultats des tests épicutanés au naproxène réalisés dans le service de Dermato- allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.....	147

TABLEAU XXI : Résultats des tests épicutanés au piroxicam réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier (p148-149).....	148
TABLEAU XXII : Résultats des tests épicutanés à l'indométacine réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.....	149
TABLEAU XXIII : Résultats des tests épicutanés à l'acide tiaprofénique réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.....	150
TABLEAU XXIV : Résultats des tests épicutanés à l'acide niflumique réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier.....	150
TABLEAU XXV : Résultats des tests épicutanés à l'amoxicilline réalisés dans le service de Dermato-allergologie de l'hôpital Maringer-Villemin-Fournier (p151-156).....	151
TABLEAU XXVI : Comparaison des résultats lors de tests épicutanés positifs aux AINS.....	157
TABLEAU XXVII : Comparaison des résultats lors de tests épicutanés positifs à l'amoxicilline. .....	160
TABLEAU XXVIII : Références de certaines molécules pures, sous forme non ionisées, à utiliser lors de tests épicutanés.....	171
TABLEAU XXIX : Propriétés physico-chimiques de quelques bêta-lactamines et de quelques anti-inflammatoires non stéroïdiens pouvant être retenus pour l'étude prospective.....	172

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma de la peau d'après POIRIER J.,RIBADEAU DUMAS J.L. (117).....	13
Figure 2 : Cellule de Franz (77).....	76
Figure 3 : Profil type de la pénétration cutanée d'une molécule (134).....	78
Figure 4 : Propriétés des excipients (102).....	115

## ANNEXES

- ANNEXE 1 : Fiche de recueil des résultats des tests épicutanés à l'hôpital  
Villemin-Maringer-Fournier..... p 197
- ANNEXE 2 : Projet de fiche de recueil des résultats des tests épicutanés à  
l'hôpital Villemin-Maringer-Fournier..... p 198



Imputabilité: C 0 1 2 3  
 S 1 2 3  
 B 0 1 2 3

Fiche de résultats des tests épicutanés. Service de Dermato-allergologie de l'hôpital MVF

Molécule testée:	Dilution en pourcentage	Résultats			
Nom du patient:		24 h	48 h	72 h	96 h et plus
Excipients					
EAU (80) / ETHANOL (20)					
ETHANOL (60) / TRIGLYCERIDES (40)					
GELS HYDRO-ALCOOLIQUES					
ACETATE D'ETHYLE (50) / ETHANOL (50)					
ACETONE					
DIMETHYLSULFOXIDE (solution aqueuse à 20%)					
PROPYLENE-GLYCOL (solution aqueuse à 20%)					
VASELINE					
EAU					
ETHANOL (40) / TRIGLYCERIDES (60)					



N° d'identification : PH Nancy 00 n° 202

ROLE DES EXCIPIENTS DANS LES TESTS EPICUTANES  
MEDICAMENTEUX POUR LE BILAN DES TOXIDERMIES

Soutenu le 11 Février 2000  
Par Philippe NODET

RESUME

Le diagnostique des réactions cutanées allergiques dues aux médicaments peut se faire à l'aide des tests épicutanés. Cependant ces tests peuvent manquer de sensibilité pour les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les bêta -lactamines.

Nous allons passer en revue les différents moyens d'améliorer la sensibilité de ces tests et plus particulièrement le rôle important que peuvent jouer les excipients. Nous verrons comment choisir l'excipient le plus adapté en fonction des propriétés physico-chimiques d'une molécule afin d'optimiser le résultat des tests épicutanés.

Cela nous conduira à retenir en routine les excipients les plus adaptés pour tester les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les bêta-lactamines.

MOTS CLES

EXCIPIENTS  
TOXIDERMIE  
TESTS EPICUTANES  
PENETRATION CUTANEE

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Madame V.NOIREZ		Expérimentale
		Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/>
		Thème <input type="checkbox"/> 3

Thèmes

1 - Sciences fondamentales  
3 - Médicament  
5 - Biologie

2 - Hygiène - Environnement  
4 - Alimentation - Nutrition  
6 - Pratique professionnelle