

Contribution à l'étude de la pathogénie des réactions anaphylactoïdes aux dextrans

B. DE WURSTEMBERGER, C. BERTINAT, J.P. GIRARD *

RÉSUMÉ

Une étude immunologique de dextran 40 et 70 provenant de trois producteurs (Fisons, Pharma-Cormos et Pfeiffer-Langen) a été entreprise. Le collectif analysé comprenait des patients ayant développé une réaction anaphylactoïde au dextran, des patients ayant reçu et bien toléré ces produits et, enfin, des témoins non-atopiques et atopiques. Les tests pratiqués étaient les suivants : tests cutanés, RAST, libération de l'histamine leucocytaire, stimulation lymphocytaire, recherche d'anticorps hémagglutinants et précipitants. Les résultats obtenus confirment que la pathogénie des réactions aux dextrans n'est pas le fait des anticorps IgE, mais d'anticorps hémagglutinants et précipitants, probablement de type IgG. De plus, les dextrans ne paraissent pas capables d'activer les lymphocytes T. Enfin, ces macromolécules ne semblent pas présenter de propriétés histamino-libératrices. A noter que les sujets témoins atopiques ont une tendance marquée à susciter la formation d'anticorps hémagglutinants, ce qui en fait une population à risque. Finalement, il n'existe pas de différences marquées de réactivité entre les dextrans 40 et 70, mais on remarque une plus faible immunogénicité pour le dextran P-L.

SUMMARY

Contribution to the study of the pathogenesis of anaphylactic reactions to dextrans.—An immunological study of dextrans 40 and 70 produced by three manufacturers (Fisons, Pharma-Cormos and Pfeiffer-Langen) was undertaken. The population studied included patients that developed an anaphylactic reaction to dextran, patients that received and tolerated these products well and non-atopic and atopic controls. The following tests performed : skin tests, RAST, leukocytic histamine release, leukocytic stimulation, test for hemagglutinating and precipitating antibodies. The results confirm that the pathogenesis of reactions to dextran is not due to IgE antibodies but rather to hemagglutinating and precipitating antibodies, probably of the IgG type. Moreover, dextran is probably not able to activate T lymphocytes. These macromolecules do not appear to have histamine-releasing properties. It should be noted that the atopic controls had a distinct tendency to form hemagglutinating antibodies making them high-risk subjects. Finally, there is no distinct difference in reactivity between dextrans 40 and 70. However, slight immunogenicity is noted for dextran P-L.

Les dextrans ont une place importante parmi les agents macromoléculaires utilisés en clinique comme expandeurs plasmatiques. Les dextrans natifs sont des polymères du glucose dont le poids moléculaire est de l'ordre de 1.5×10^6 D. Des dextrans partiellement hydrolysés et purifiés ont été introduits en médecine dès 1947 [4, 10].

Les préparations actuellement utilisées sont d'un poids moléculaire moyen de 40 000 et 70 000 préparées à partir du dextran natif par action de leuconostoc mésentéroïdes. Très rapidement, des réactions d'intolérance de gravité variable sont apparues, suggérant un mécanisme anaphylactique. Quatre degrés de sévérité des manifestations d'intolérance ont été décrits [5], soit :

- type I, manifestations cutanées ;
- type II, hypotension légère, tachycardie, nausées, dyspnée^e ;
- type III, choc vasculaire aigu, bronchospasme sévère ;
- type IV, arrêt cardiaque et respiratoire.

La fréquence des manifestations du type I est de 40-50 p. cent chez les patients présentant une histoire personnelle d'allergie. En revanche, pour les trois autres types d'intolérance, la fréquence ne semble pas plus élevée chez les sujets allergiques, par rapport à une population non allergique [18]. La fréquence globale des réactions varie de 0,03-4,7 p. cent selon diverses études et celle des formes sévères de 0,008-0,6 p. cent [1,16].

* Département de Médecine, Division d'Immunologie-Allergologie, Hôpital Cantonal Universitaire de Genève.

Tirés à part : Dr J.P. Girard, Département de Médecine, Division d'Immunologie — Allergologie, Hôpital Cantonal Universitaire, 24, rue Micheli-du-Crest, 1211 GENÈVE 4.

Reçu le 28 janvier 1985. Accepté le 29 mars 1985.

De très nombreuses études ont porté sur les mécanismes pathogéniques des réactions anaphylactoïdes aux dextrans [7, 9, 19]. Il semble actuellement bien démontré que les anticorps de type IgE ne jouent guère de rôle dans le développement des réactions d'intolérance [8].

En revanche, des anticorps hémagglutinants ont été mis en évidence chez des patients ayant présenté des réactions aux dextrans [5, 7]. Des anticorps de différentes spécificités peuvent être présents ; toutefois, il apparaît que la classe des IgG2 semble être plus spécifiquement incriminée dans la pathogénie des réactions [12]. Enfin, il semble y avoir une relation entre le titre des anticorps et la sévérité des manifestations cliniques [7, 12], avec activation du complément par la voie normale [7].

L'objet du présent travail est le suivant : étude immunologique de dextrans 40 et 70 de plusieurs sources commerciales, dans plusieurs populations de sujets ayant reçu du dextran et des témoins.

MATERIEL ET METHODE

Patients

14 patients ayant développé une réaction anaphylactoïde sévère au dextran. 23 patients ayant reçu récemment du dextran, sans toutefois présenter des manifestations d'intolérance. Enfin, 145 sujets témoins n'ayant jamais reçu de dextran, dont 100 patients atopiques présentant des problèmes cliniques d'atopie au moment de l'étude.

Antigènes

Les dextrans 40 et 70 de trois provenances différentes ont été testés (Fisons, Pharma-Cosmos et Pfeiffer-Langen).

Investigations immunologiques

Tests cutanés

Les dextrans 40 et 70 des trois sources ont été testés en solution au 1/1000 en tests intradermiques.

Tests d'hémagglutination passive

La classique technique d'hémagglutination passive a été appliquée, utilisant des érythrocytes de mouton, traités à l'acide tannique au 1/1000 et incubés avec une solution antigénique à 100 mg/ml. Un antisérum préparé chez le lapin a servi de contrôle positif. Enfin, la spécificité de la réaction a été assurée au moyen de la technique d'inhibition de l'hémagglutination. Toutefois, les dextrans se fixant mal sur les érythrocytes tannés, il a été nécessaire de les conjuguer à la concanavaline-A, soit une incubation de 36 heures des dextrans

100 mg/ml, avec 250 mg/ml de concanavaline-A. Une élution des conjugués sur Sephadex G-200 a permis de séparer ces derniers de la fraction non conjuguée.

Double-diffusion en gelose

La recherche des anticorps précipitants anti-dextrans a été effectuée selon la technique classique d'Ouchterlony. Dans le puits central de la plaque d'agarose, le sérum du patient a été déposé, ainsi que les différents dextrans, dans des puits disposés en étoile. Après une incubation de 24 h, la plaque d'agarose a été séchée et colorée au bleu de Commassie.

Tests de transformation lymphoblastique

Chez 128 patients, les lymphomonocytes prélevés par ponction veineuse ont été séparés sur Ficoll-Isopaque (Pharmacia), et mis en cultures en présence des dextrans 100 mg/ml, non conjugués à Con-A. Un test de viabilité au bleu de trypan a montré une absence totale de toxicité à cette concentration. Après une incubation de 4 jours, à 37°C, dans une atmosphère air-Co₂ 5 %, de la thymidine-H³ 1,0 µc/10⁶ cellules (NEN-Dreieichenhain, Allemagne) a été ajoutée à chaque tube. Les cellules ont été récoltées 16 heures plus tard et l'activité isotopique mesurée à l'aide d'un compteur à scintillation liquide Packard.

RAST-IgE

Les sérums à investiguer ont été incubés durant 24 heures avec chacun des dextrans, en présence d'un tampon phosphate 0,05 M. pH 7,4, ceci en présence de 0,3 % d'albumine sérique humaine et de 0,5 % de Tween 20. A la fin de la période d'incubation, un sérum anti-IgE humaine, marqué à I¹²⁵ a été ajouté dans chaque échantillon. La lecture de l'activité isotopique a été faite sur un compteur à scintillation liquide. L'analyse de signification a été faite en appliquant cette technique à des sérums de patients allergiques aux acariens et en comparant ces résultats avec ceux du RAST-Pharmacia. Ceci nous a permis de définir la valeur de 250 cpm comme limite inférieure de signification. Les résultats ont été appréciés après soustraction de l'activité obtenue en l'absence de dextrans.

Histamine leucocytaire

La capacité de libérer l'histamine leucocytaire par les dextrans a été pratiquée à l'aide de la technique isotopique-enzymatique décrite par Taylor et coll. [20]. Celle-ci a été pratiquée sur du sang complet, en présence ou en l'absence du sérum du patient. En bref, le sérum du patient a été utilisé non dilué. Trois concentrations d'antigènes ont été appliquées, soit 20, 60, et 120 mg/ml,

TABLEAU I. — Résultats des tests intradermiques pratiqués avec 6 préparations de dextrans dans différentes populations.

		Patients (N = 8)	Dextrans tolérés (N = 23)	Témoins non-atopiques (N = 45)	Témoins atopiques (N = 100)
D40	F	0	1	0	0
	P-L	1 (1)	0	1	0
	P-C	0	1	0	0
D70	F	1 (2)	2 (5)	0	2
	P-L	1 (3)	0 (3)	0	0
	P-C	0 (1)	1 (2)	0	0
Total tests		3 (7)	5 (10)	1	2

Entre parenthèses, réponse d'apparition tardive, 2-6 heures.

TABLEAU II. — Résultats des tests d'hémagglutination passive avec 6 préparations de dextrans dans différentes populations. Seuls les titres ≥ 2 ont été retenus.

		Patients (N = 14)	Dextrans tolérés (N = 23)	Témoins non- atopiques (N = 45)	Témoins atopiques (N = 100)	Total
D40	F	14	15	2	33	64 (35,2)
	P-L	11	13	1	21	46 (25,2)
	P-C	10	9	1	16	36 (19,7)
D70	F	14	17	2	41	73 (40)
	P-L	14	15	2	28	59 (32,9)
	P-C	13	8	1	14	36 (19,7)
Total tests +		76 (90,5)	77 (55,8)	9 (3,3)	153 (25,5)	

Entre parenthèses, résultat présenté en pourcentage du total.

soit trois points permettant de construire une courbe de libération d'histamine. L'expérience acquise avec d'autres antigènes ayant montré qu'une libération de 15 p. cent ou plus, par rapport à l'histamine totale, était significative, cette valeur a été retenue pour les tests en présence de dextrans.

RESULTATS

Tests cutanés

Ces derniers sont représentés dans le tableau I. Sur un total de 1 056 tests, 11 réponses immédiates et 17 réponses semi-tardives ont été observées, ceci particulièrement dans les groupes ayant reçu du dextran.

Tests d'hémagglutination

Les résultats de ces derniers sont indiqués dans le tableau II. Le nombre de tests positifs est très élevé chez les sujets qui ont développé une réac-

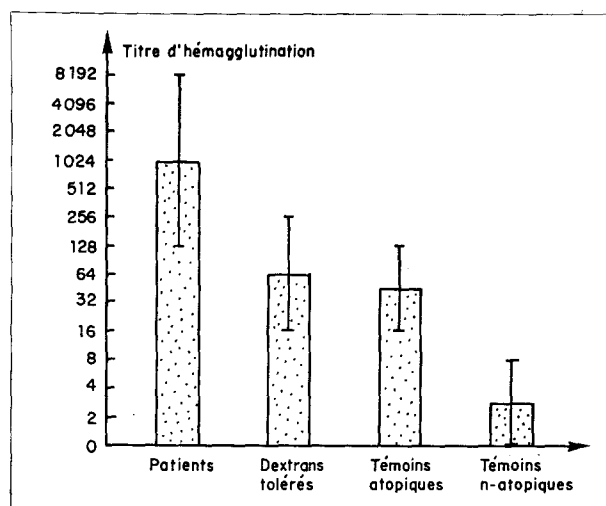
Fig. 1. — Titre d'anticorps dans les populations étudiées (± 25).

TABLEAU III. — Incidence des anticorps précipitants antidextrans dans les populations étudiées.

		Patients (N = 14)	Dextrans tolérés (N = 23)	Témoins non- atopiques (N = 45)	Témoins atopiques (N = 100)	Total
D40	F	9	6	2	18	35 (19,7)
	P-L	7	8	3	30	48 (26,3)
	P-C	4	10	0	20	34 (18,6)
D70	F	11	14	5	25	55 (30,2)
	P-L	8	11	4	18	41 (22,5)
	P-C	8	9	3	23	43 (23,6)
Total tests +		47 (55,9)	56 (40,5)	17 (6,2)	134 (22,3)	

Entre parenthèses, résultat présenté en pourcentage du total.

tion d'intolérance aux dextrans ; il l'est notablement moins chez les sujets ayant reçu des dextrans, mais les ayant bien tolérés. Dans les deux groupes témoins, la différence de fréquence entre les sujets atopiques et non atopiques est frappante. Enfin, la production d'anticorps est notablement plus fréquente avec les préparations F et P-L qu'avec la préparation P-C, la différence entre les formes 40 et 70 n'étant pas significative.

Enfin, si l'on considère les valeurs moyennes dans chaque groupe (+ 1 déviation-standard), on note des titres d'anticorps nettement plus élevés dans le groupe des patients que dans les autres groupes. A noter également les titres relativement élevés dans le groupe des témoins atopiques (fig. 1).

Recherche d'anticorps précipitants

Les résultats de ces derniers sont indiqués dans le tableau III. Les mêmes remarques que ci-dessus

peuvent être faites au sujets des anticorps précipitants. La fréquence de ceux-ci est nettement plus élevée dans les groupes qui ont reçu des dextrans et particulièrement chez ceux qui ont développé

TABLEAU IV. — Analyse de la libération de l'histamine leucocytaire, en présence des dextrans dans les populations étudiées. Les chiffres indiquent le nombre de tests significatifs soit ≥ 15 p. cent d'histamine libérée.

		Patients (N = 10)	Dextrans tolérés (N = 20)	Témoins non- atopiques (N = 25)	Témoins atopiques (N = 50)
D40	F	0	1	0	2
	P-L	1	0	0	1
	P-C	0	0	0	1
D70	F	0	1	0	3
	P-L	0	1	0	1
	P-C	0	0	0	2
Total tests +		1 (1,56)	3 (2,5)	0	12 (4,0)

Entre parenthèses, résultat présenté en pourcentage du total.

TABLEAU V. — Résultats des tests de transformation lymphoblastique en présence des dextrans dans les populations étudiées.

		Patients (N = 8)	Dextrans tolérés (N = 20)	Témoins non- atopiques (N = 25)	Témoins atopiques (N = 75)
D40	F	1	0	0	2
	P-L	0	1	1	1
	P-C	1	1	0	1
D70	F	1	1	0	1
	P-L	1	1	1	2
	P-C	0	0	0	1
Total tests +		4 (8,3)	4 (3,3)	2 (1,3)	8 (1,7)

Entre parenthèses, résultat présenté en pourcentage du total.

TABLEAU VI. — Résultats des RAST-dextrans pratiqués dans différentes populations.

		Patients (N = 14)	Dextrans tolérés (N = 20)	Témoins non- atopiques (N = 25)	Témoins atopiques (N = 75)
D40	F	1	0	0	2
	P-L	0	1	1	1
	P-C	0	0	0	2
D70	F	0	1	0	1
	P-L	0	1	1	0
	P-C	1	0	0	2
Total tests +		2 (2,3)	3 (2,5)	2 (1,3)	8 (1,7)

Entre parenthèses, résultat présenté en pourcentage du total.

des manifestations d'intolérance. Ici également, notons la fréquence plus élevée d'anticorps précipitants chez les témoins atopiques, par rapport au groupe de contrôle non atopique. En revanche, il n'y a que peu de différence entre les antigènes de provenance différente aussi bien en D 40 qu'en D 70.

Histamine leucocytaire

Cette technique n'a pas été pratiquée chez tous les sujets de l'étude. Les résultats des tests pratiqués sont indiqués dans le tableau IV. Sur un total de 630 tests pratiqués, les dextrans n'induisent la libération d'histamine leucocytaire que dans 16 cas, soit 1,50 p. cent. De plus, les valeurs sont modestes, la plus élevée étant de 29 p. cent. A noter toutefois que c'est dans le groupe des sujets atopiques que le pourcentage de résultats positifs est le plus élevé. Enfin, il n'y a pas de différence entre les dextrans 40 et 70, ainsi qu'entre les trois préparations commerciales.

Tests de transformation lymphoblastique

Les résultats de ce test sont indiqués dans le tableau V. Les tests ont été faits en triplicat et la moyenne des trois valeurs a été utilisée. Un index de stimulation $\geq 1,5$ est considéré comme positif. Comme l'indique ce tableau, sur un total de 768 tests de transformation lymphoblastique, seulement 18 résultats positifs ont été obtenus, soit 2,3 p. cent.

RAST

Les résultats de ce test sont présentés dans le tableau VI. Sur un total de 804 RAST pratiqués, seulement 15 résultats positifs ont été obtenus, soit 1,8 p. cent.

DISCUSSION

Cette étude confirme un certain nombre d'études antérieures au sujet des mécanismes pathogéniques des manifestations d'intolérance aux dextrans. Les tests cutanés sont en effet rarement positifs, particulièrement lorsqu'il s'agit de réponses immédiates. Toutefois, il faut relever aussi bien dans le groupe des patients que parmi ceux qui ont reçu des dextrans sans développer de manifestations cliniques, une fréquence élevée de réponses cutanées semi-tardives (2-6 heures), lesquelles pourraient avoir une signification pathogénique. Ces résultats confirment d'autres études en ce qui concerne les réponses immédiates [5, 7, 19]. Relevons que ces auteurs, et particulièrement Hedin [7], ont noté une augmentation de la fréquence des réponses cutanées lorsque les tests sont pratiqués plusieurs mois après la réaction. La

présence de tests positifs chez les patients n'ayant pas reçu de dextrans pourrait éventuellement s'expliquer par une antigénicité croisée avec les polysaccharides du pneumocoque [2]. Il n'est pas fait mention dans les études publiées à ce sujet de l'incidence de réponses cutanées tardives, observation qui nous paraît digne d'intérêt. Les résultats obtenus avec les RAST confirment la pauvreté des réponses obtenues en tests cutanés. L'absence de réactivité des IgE a été démontrée aussi bien par la technique des RAST [8, 15, 21] que par la technique de la PCA chez le singe [6, 8]. Ces résultats confirment que les réactions d'intolérance aux dextrans ne sont pas liées à des anticorps anaphylactiques de type IgE. Parmi les hypothèses pathogéniques proposées, les propriétés histamino-libératrices des dextrans, notamment des dextrans natifs, ont été avancées [13]. Cependant, cette hypothèse n'a pas été confirmée chez l'homme [13, 14]. Bien que l'infusion de dextrans chez l'homme semble augmenter l'histaminémie (Docnicke in [13]), nos résultats démontrent d'une manière convaincante que les dextrans utilisés en médecine ne sont que très rarement histamino-libérateurs et lorsqu'ils le sont, il s'agit de témoins atopiques qui n'ont jamais reçu de dextrans. Quel peut être l'effet des dextrans sur les lymphocytes T ? Dans notre étude, nous avons obtenu moins de 3 p. cent de réponses positives, ceci en confirmation d'autres observations [17]. En revanche, quelques études préliminaires portant sur la réponse lymphocytaire, in vitro, en présence de dextrans

et de deux mitogènes, soit la PHA et le pokeweed, démontrent clairement un effet potentialisateur de ce dernier mitogène, en présence des 4 dextrans testés. Nos résultats concernant le développement d'anticorps hémagglutinants et précipitants chez les patients ayant développé un accident à la suite de perfusion de dextrans confirment les travaux des chercheurs suédois et allemands [5, 7, 12, 18]. Ces résultats suggèrent que les complexes immuns à IgG pourraient être impliqués comme éléments responsables des mécanismes de l'intolérance aux dextrans ; cette hypothèse doit être cependant nuancée lorsque l'on considère la fréquence relativement élevée d'anticorps hémagglutinants et précipitants chez nos témoins atopiques. En raison du rôle des anticorps IgG favorisant les effets secondaires aux dextrans, cette observation implique une certaine prudence dans l'indication médicale des dextrans chez les sujets atopiques. Enfin, l'analyse des différents dextrans utilisés dans ce travail permet de conclure qu'il n'y a pas de potentialité anaphylactoïde très différente entre les dextrans 40 et 70. En revanche, les dextrans P-L semblent moins que les deux autres développer d'anticorps hémagglutinants. S'agit-il d'un problème d'impuretés responsables de cette différence de réactivité ? Notre étude ne nous autorise pas à répondre à cette question.

Remerciements. — Nous tenons à remercier ici la Maison Vifor, Genève, de nous avoir fourni les dextrans et de nous avoir permis, par un soutien financier, de mener à bien ce travail.

REFERENCES

1. Bauer A., Ostling G. — Dextran-induced anaphylactoid reactions in connection with surgery. *Acta anesthesiol. Scand.*, 1970, suppl. 37, 182.
2. Bryan G.C., Sendder J. — Dextrans and pneumococcus polysaccharide cross-reactivity in skin tests and serum precipitin tests. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1952, 55, 477.
3. Conroy M.L., Zhou T., Spengler H., de Weck A.L. — In : Kerr J.W., Guaderton M.A., édit. *Proc. of the XI^e Int. Congress Allergol. Clin. Immunol.*, pp. 341. London, Mac Millan Press LTD, 1983.
4. Gronvall A., Ingelman B. — Dextran as a substitute for plasma. *Nature*, 1945, 155, 45.
5. Hedin H., Richter W., Messmer K., Renek H., Ljungstrom K.G., Laubenthal H. — Incidence, patho-mechanism and prevention of Dextran-induced anaphylactoid/anaphylactic reactions in man.
6. Hedin H., Richter W., Ring J. — Dextran induced anaphylactoid reactions in man. Role of dextran-reactive antibodies. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 1976, 52, 145.
7. Hedin H. — Dextran-induced anaphylactoid reactions in man. Immunological in vitro and in vivo studies. *Uppsala. Diss. Fac. Sci.*, 1977, n° 42.
8. Hedin H., Kraft D., Richter W., Scheiner O., Devey M. — Dextran-reactive antibodies in patients with anaphylactoid reactions to dextran. *Immunobiology*, 1979, 156, 289.
9. Hedin H., Richter W. — Pathomechanisms of Dextran-induced anaphylactoid/anaphylactic reactions in man. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1982, 68, 122.
10. Ingelman B. — Dextran and its use as a plasma substitute. *Acta Chem. Scand.*, 1947, 1, 731.
11. Kabat S.A., Mayer M.M. — Experimental immunochemistry. 2^e éd. Springfield III, Thomas, 1961.
12. Kraft D., Hedin H., Richter W., Scheiner O., Rumpold H., Devey M.E. — Immunoglobulin class and subclass distribution of dextran-reactive antibodies in human reactors and non reactors to clinical dextran. *Allergy*, 1982, 37, 481.
13. Laxenaire M.C., Monneret-Vautrin D., Siguel M., Jacob F., Picard M. — Incidents et accidents observés lors d'utilisation des macromolécules. *Anesth. Anal. Rean.*, 1976, 33, 671.
14. Lorenz W. — Histamine release in man. *Agents Actions*, 1975, 5, 402.
15. Richter W., Hedin H., Ring J. — Immunologische Befunde beider Infusion Kolloidaler Lösungen. *Med. Welt.*, 1977, 28, 1717.
16. Ring J., Messmer K. — Incidence and severity of anaphylactoid reactions to colloid volume substitute. *Lancet*, 1977, 1, 466.
17. Ring J. — Lymphocyte transformation studies using B512 dextran in dextran-allergic patients and normals. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1978, 11, 288.
18. Ring J. — Anaphylaktoide Reaktionen. *Anesthesiologie und Intensivmedizin*, 1978, 111, 2.
19. Ring J. — Pseudo-allergic anaphylactoid reactions to colloid volume substitutes. In : *Par. Genetic aspects and anaphylactoid reactions*, pp. 251. Bâle, S. Karger, 1890.
20. Taylor K.M., Krilis S., Baldo B.A. — An enzymatic-isotopic Microassay for measuring allergic release of histamine from blood and mast cells in vitro. In. *Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 1980, 61, 19.
21. Yount W.J., Dorner M.M., Kunker H.G., Kabat E.A. — Studies on human antibodies IV. Selective variations in subgroup composition and genetic markers. *J. exp. Med.*, 1976, 127, 633.