

Dosage post-mortem d'un marqueur biologique d'activation mastocytaire, la tryptase sérique Étude préliminaire de spécificité

N. PETIT ¹, D.A. MONERET-VAUTRIN ², J. SAINTE-LAUDY ³, G. KANNY ², G. VEDEL ¹

RÉSUMÉ

Un dosage de tryptase sérique post-mortem est réalisé dans 10 cas dont la mort est due à une cause cardiaque (6), liée à une néoplasie (2), un choc septique (1) et une mort subite du nourrisson (1). Le sang est prélevé par ponction cardiaque (7), carotidienne (5) et veineuse périphérique (1). Le dosage est effectué par test radio-immunologique en phase solide Pharmacia. Sur 13 dosages 3 sont supérieurs à 4 ng/ml ($N < 2$ ng/ml). Les auteurs attirent l'attention sur la possibilité d'élévation de tryptase quand le sang est prélevé longtemps après la mort, ou par ponction intracardiaque, ou après choc électrique ou massage cardiaque. La spécificité de ce dosage pour le diagnostic post-mortem de choc anaphylactique est discutée.

MOTS CLÉS : Tryptase – Autopsie – Choc anaphylactique – Mort subite – Spécificité médico-légale.

La tryptase est une endoprotéase neutre, présente dans les deux types de mastocytes humains, dont la libération indique sélectivement une activation mastocytaire, puisqu'elle n'est pas retrouvée dans d'autres cellules, hormis les basophiles, en quantité négligeable [1]. Excepté les très rares cas de mastocytose, la tryptase est virtuellement absente du sérum des sujets sains. Elle est également absente au cours des maladies cardiaques, ou infectieuses [2, 3]. C'est pourquoi différents auteurs ont proposé l'utilisation de ce dosage

1. Samu 55, hôpital général St-Nicolas, 55100 VERDUN.

2. Service de médecine D, médecine interne-immunologie clinique et allergologie, CHRU hôpital central, 29, avenue de Lattre de Tassigny, 54035 NANCY Cedex.

3. Laboratoire Cerba, 95066 VAL-D'OISE Cedex 9, France.

Tirés à part : Dr N. Petit.

Reçu le 12 mai 1997. Accepté le 23 juin 1997.

SUMMARY

Post-mortem assay of a laboratory marker of mast cell activation: serum tryptase. Preliminary study of specificity. – The level of post-mortem serum tryptase was determined in 10 cases. The cause of the death was an acute heart (6), the outcome of neoplasia (2), septic shock (1) and cot death (1). Blood was obtained from cardiac, carotid or peripheral venous puncture. A RIA (Pharmacia) is performed in 13 samples. The level was increased in 3 out of 13 cases, in the range 4-26 ng/ml ($N < 2$ ng/ml). The specificity of the post-mortem assay of tryptase might depend on several factors; the interval between death and veni puncture, the presence of heart disease, the site of taking of blood, the various methods of resuscitation.

KEY WORDS : Tryptase – Post-mortem – Anaphylaxis – Cot death – Forensic specificity.

comme marqueur de choc anaphylactique [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9].

Le diagnostic post-mortem d'un choc anaphylactique reste actuellement un diagnostic d'élimination fondé sur un faisceau d'arguments. Il n'y a pas d'élément autopsique reconnu permettant d'affirmer sans risque d'erreur que l'anaphylaxie est la cause d'un décès [10]. Il a été montré que la tryptase a l'avantage d'être dosable post-mortem [4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15]. Un intérêt médico-légal de ce dosage a été avancé. Le but de ce travail réalisé sur dix sujets décédés est de contribuer à évaluer la spécificité d'un dosage post-mortem de tryptase.

PETIT N., MONERET-VAUTRIN D.A., SAINTE-LAUDY J., KANNY G., VEDEL G. – Dosage post-mortem d'un marqueur biologique d'activation mastocytaire, la tryptase sérique. Étude préliminaire de spécificité. *Rev. fr. Allergol.*, 1997, **37** (7), 827-831.

MÉTHODES

Trois sites de ponction sur cadavre ont été utilisés : le prélèvement veineux périphérique à partir d'un cathéter mis en place avant le décès, le prélèvement intracardiaque par trois voies d'abord différentes (intercostale, sous-xyphoïdienne et cathétérisme cardiaque droit) et le prélèvement artériel par voie carotidienne. L'échantillon était prélevé à l'aide d'une seringue en plastique à usage unique, sans utilisation d'antiseptique, l'échantillon de sang étant ensuite transvasé dans un tube sec. Les échantillons ont été centrifugés dans les quelques minutes suivant le prélèvement (4 500 tours/mn pendant cinq minutes), puis immédiatement congelés à -20°C . Leur acheminement s'est fait dans la carboglace sans rupture de la chaîne du froid.

Les dosages de tryptase ont été réalisés par radioimmunoassay en phase solide [16]. La limite de détection du test est de 0,5 ng/ml et la limite de normalité fixée à 1 ng/ml. La reproductibilité est de 94 à 100 p. cent, et la spécificité supérieure à 99 p. cent. Toutefois le fabricant attire l'attention sur le fait que l'efficacité du radioimmunoassay n'a pas été complètement testée.

OBSERVATIONS

Cas n° 1

Patient de 80 ans décédé d'un choc cardiogénique sur insuffisance cardiaque terminale d'origine ischémique, après 12 heures de réanimation utilisant oxygénothérapie, remplissage vasculaire modéré par solutés cristalloïdes, héparine, puis amines vasopressives. Aucun antécédent particulier n'a été rapporté.

Cas n° 2

Homme de 90 ans, diabétique, hypertendu avec BBD incomplet et rétrécissement aortique, ayant présenté un malaise à la suite d'une douleur thoracique brutale, décédé une heure plus tard d'un choc cardiogénique sur arythmie paroxystique et œdème pulmonaire aigu secondaire. Traitement reçu : trinitrine, bumétanide, oxygénothérapie.

Cas n° 3

Patiente de 65 ans en très mauvais état général, décédée d'insuffisance aiguë sur carcinomatose péritonéale dans le cadre d'un néoplasme ovarien métastasé. Aucune manœuvre de réanimation n'a été effectuée.

Cas n° 4

Homme de 71 ans, coronarien connu sans antécédent allergique, retrouvé inconscient en fibrillation ventriculaire, décédé après 45 minutes de manœuvres de réanimation comprenant intubation, massage cardiaque externe, injection intraveineuse d'épinéphrine et chocs électriques externes.

Cas n° 5

Homme de 73 ans vivant seul sur lequel aucun renseignement complémentaire n'a été obtenu, retrouvé inconscient en fibrillation ventriculaire, décédé après 30 minutes de réanimation comprenant massage cardiaque externe, intubation, épinéphrine 20 mg (dose cumulée) et 3 chocs électriques externes.

Cas n° 6

Arrêt cardio-respiratoire brutal inexpliqué chez un homme de 41 ans s'étant plaint de fatigue intense dans l'après-midi. Son seul antécédent connu était un asthme pour lequel il ne suivait pas de traitement continu. Les manœuvres de réanimation ont duré 45 minutes.

Cas n° 7

Homme de 40 ans, hypercholestérolémique ayant des antécédents familiaux d'infarctus du myocarde, retrouvé en arrêt cardio-respiratoire sur un chemin alors qu'il faisait un footing. Tentative de réanimation par intubation, massage cardiaque externe, épinéphrine, chocs électriques externes.

Cas n° 8

Femme de 73 ans, décédée d'un arrêt cardio-respiratoire subit, dans un contexte de carcinome colique métastasé. Absence de réanimation efficace.

Cas n° 9

Homme de 83 ans, bénéficiant d'une dialyse péritonéale à domicile, décédé d'un choc septique à point de départ péritonéal.

Cas n° 10

Nourrisson de 3 mois ; mort subite du nourrisson inexpliquée. Un bilan très poussé avait été réalisé lors de plusieurs hospitalisations suite à des malaises, en raison de deux cas de mort subite dans la fratrie lors d'un premier mariage du père ; bilan négatif. L'autopsie réalisée dans le cadre du protocole régional de prise en charge de la mort subite du nourrisson, n'a pas été contributive.

Tableau I. – Dosages de tryptase post-mortem chez 10 sujets

Sujet	Sexe	Âge (ans)	Ipm (h)	Site de ponction	T°	MCE/CEE	Tryptase (ng/ml)
1	M	80	6	carotide interne	A	non	< 2
2	M	90	0	intracardiaque	A	non	< 2
3	F	65	2,5	intracardiaque	A	non	< 2
4	M	71	0,5	carotide interne	A	oui	< 2
			4	carotide interne	A		< 2
			8	carotide interne	A		< 2
			24	intracardiaque	R		26
5	M	73	38	intracardiaque	R	oui	9
6	M	41	3	intracardiaque	A	oui	1,5
7	M	40	1	carotide interne	A	oui	< 2
8	F	73	25	intracardiaque	R	non	4
9	M	83	< 15 mn	veine périphérique	A	non	< 2
10	F	0,25	4	intracardiaque	A	non	< 2

(IPM : intervalle post-mortem. T° : température de conservation des corps. A = corps conservé à température ambiante. R = corps réfrigéré. MCE : massage cardiaque externe. CEE : choc électrique externe).

RÉSULTATS (tableau I)

DISCUSSION

Un dosage post-mortem de tryptase sérique a été effectué dans diverses circonstances. Dans une douzaine de cas publiés la mort est consécutive à une piqûre d'hyménoptère : le taux de tryptase est supérieur à 10 ng/ml, jusqu'à 51 ng/ml [6, 7, 15]. Dans un cas de décès par choc anaphylactique certain au latex, la tryptase est à 8,1 ng/ml alors que l'autopsie n'a montré aucune tare cardiaque ni pulmonaire [11]. Dans les 8 cas de décès après ingestion d'aliments où des IgE spécifiques ont été retrouvées, la tryptase était augmentée 6 fois [6]. Enfin, quelques décès après réaction adverse médicamenteuse ont été décrits avec des taux de tryptase allant de 6 ng/ml à 6 µg/ml [2, 6, 18]. Dans deux cas de choc per-anesthésique fatal décrits par Baldo et Fisher, une élévation franche du taux post-mortem de tryptase sérique a permis d'objectiver l'activation mastocytaire pré-mortem [9].

Schwartz et Yunginger ont réalisé une étude sur 94 cas de morts subites inexplicées entre les mois de mai et novembre, dont des échantillons de sérum avaient été conservés, afin de rechercher si un certain nombre de ces décès pouvait être rattaché à une réaction anaphylactoïde passée inaperçue [14]. Alors qu'une première série de dosages avait révélé que 22 sujets sur les 94 étaient sensibilisés avant leur mort aux venins d'hyménoptères (IgE spécifiques élevées), dans un deuxième temps des dosages ont objectivé 9 cas ayant un taux de tryptase sérique franchement

élevé (> 10 ng/ml) sur 68 cas pour lesquels du sérum était encore disponible. Parmi ces 68 sujets, 4 ont eu à la fois un taux sérique de tryptase et d'IgE spécifiques anti-venin d'hyménoptères élevé. La biologie post-mortem permet donc d'envisager un diagnostic de choc anaphylactique au venin alors que ni l'étude des circonstances de la mort, ni les signes cliniques (les cas de piqûre d'insecte constaté avaient été exclus), ni les constatations autopsiques ne permettaient d'évoquer un choc anaphylactique. Dans cette étude l'élévation franche de la tryptase caractérise 13 p. cent des morts subites inexplicées de l'adulte.

Holgate [4] et Platt [13] ont recherché la possibilité qu'un accident anaphylactoïde soit à l'origine d'une partie des morts subites du nourrisson, respectivement sur 82 et 50 cas. La base de l'hypothèse (anaphylaxie et mort subite du nourrisson) est que ces enfants sont devenus sensibilisés à une protéine du lait de vache ; c'est pourquoi Platt a choisi de coupler l'étude post-mortem des IgE spécifiques aux protéines du lait de vache (caséine, alpha lactalbumine et beta lactoglobuline). Les résultats de ces études indiquent que, chez un nourrisson décédé de mort subite on a 20 fois plus de chances d'avoir un taux de tryptase élevé que dans un cas « contrôle » dont le décès est substantiellement expliqué. Dans 40 p. cent des cas l'augmentation sérique de la tryptase témoigne d'une activation mastocytaire suffisante pour avoir causé un choc anaphylactoïde avant la mort [13]. Dans 60 p. cent des cas de mort subite avec un taux de tryptase > 10 ng/ml, la recherche d'IgE spécifiques anti-lactoglobuline est positive. Cependant, l'anaphylaxie vraie IgE médiée n'est

pas le seul mécanisme de dégranulation mastocytaire pouvant être mis en cause dans ces cas de mort subite.

La libération de la tryptase par les mastocytes est liée à l'héparine qui la stabilise. Ce complexe macromoléculaire diffuse lentement des tissus vers la circulation. Le pic de tryptase sérique, après une réaction anaphylactique systémique induite expérimentalement (test de provocation par piqûre d'abeille), est atteint au bout de une à deux heures contre 10 minutes à une heure pour l'histamine [1]. Le meilleur délai pour le dosage est inférieur à 6 heures [1, 2, 17]. La demi-vie d'élimination plasmatique de la tryptase est comprise entre 1,5 et 2,5 heures [1]. Des faux négatifs peuvent exister, en cas de prélèvement trop précoce réalisé moins de 30 minutes après le contact allergénique. En cas d'issue fatale, l'extrême rapidité du collapsus pourrait être une cause possible de faux négatif. C'est pourquoi la durée des efforts de réanimation doit être connue.

La spécificité de l'élévation post-mortem de la tryptase est mal connue, Randall et coll. ont évalué les taux de tryptase post-mortem sur des échantillons sanguins de 49 cas d'autopsies pour lesquels il n'y avait pas d'argument orientant vers un tel choc [10]. Un important pourcentage des échantillons avaient des taux élevés de tryptase sérique, 31 cas supérieurs au seuil de 1 ng/ml dont un cas à 106 ng/ml. Si l'on retient le seuil proposé par Schwartz, de 10 ng/ml, 5 cas de l'étude de Randall (10 p. cent des cas) sont positifs [3, 17].

Comme dans la littérature [2, 3], cette étude montre que le taux de tryptase n'est pas augmenté en cas de choc cardiogénique ou septique (cas 1, 2, 3 et 9). Bien que l'intervalle de temps entre l'heure du décès et le prélèvement n'influence pas le taux de tryptase sérique pour différents auteurs, les trois cas positifs de cette étude [4, 5 et 8] concernent précisément les sangs prélevés au-delà de 24 heures sur corps réfrigérés. Ces résultats invitent à poser l'hypothèse d'un certain degré d'autolyse des mastocytes sous-endocardiques dans les temps qui suivent la mort.

Il est connu que les cardiopathies chroniques comportent une densité mastocytaire très accrue

(densité multipliée par 5) [20, 21, 22]. Toutefois on n'a pas observé d'augmentation de la tryptase post-mortem chez les trois sujets cardiaques certains [1, 2, 4]. Ceci va dans le même sens que l'étude de Randall où, sur 13 décès de cause cardiovasculaire, un seul a une augmentation de tryptase sérique.

Fait notable, chez 4 sujets ayant reçu des chocs électriques externes après massage cardiaque externe, l'attention a été attirée sur un taux de tryptase élevé lorsque la ponction était intracardiaque (cas 4 et 5). Le cas 7 a eu une ponction au niveau de la carotide interne. Le cas 4 montre une différence nette du taux de tryptase selon que le sang a été prélevé par ponction intracardiaque (26 ng/ml) ou par ponction de la carotide interne (< 2). On peut se poser la question d'une éventuelle dégranulation des mastocytes cardiaques sous-endocardiques par les manœuvres de réanimation. Le lieu de ponction serait indifférent pour les divers auteurs, mais la littérature ne fait jamais état des manœuvres de réanimation effectuées avant le prélèvement sanguin.

CONCLUSION

Le dosage de la tryptase post-mortem est considéré comme un test utile dans l'évaluation des morts inexpliquées, en association avec la recherche d'IgE spécifiques d'un allergène (venin ou aliment), lorsque celui-ci peut être suspecté.

Toutefois, le seuil de normalité et la spécificité du dosage de tryptase post-mortem ne sont pas encore suffisamment fondés. Nous attirons l'attention sur des facteurs possibles de non spécificité : délai tardif du prélèvement, pouvant correspondre à une autolyse mastocytaire, lieu de ponction intracardiaque surtout en cas de cardiopathie, antécédents immédiats de choc électrique externe ou de massage cardiaque externe.

Ces facteurs méritent d'être précisés par des études ultérieures.

RÉFÉRENCES

1. Schwartz L.B., Yunginger J.W., Miller J., Bokhari R., Dull D. – Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in the circulation after anaphylaxis. *J. Clin. Invest.*, 1989, 83, 1551-1555.
2. Laroche D., Vergnaud M.C., Sillard B., Soufarapis H., Bricard H. – Biochemical markers of anaphylactoid reactions to drugs. Comparison of plasma histamine and tryptase. *Anesthesiology*, 1991, 75, 945-949.
3. Schwartz L.B., Metcalfe D.D., Miller J.S., Earl H., Sullivan T. – Tryptase levels as an indicator of mast-cell activation in systemic anaphylaxis and mastocytosis. *N. Engl. J. Med.*, 1987, 316, 1622-1626.
4. Jones R.T., Nelson D.R., Schwartz L.B. – Elevated mast cell-derived tryptase levels in post-mortem sera from victims of fatal anaphylaxis (abstract), *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1990, 85, 154.
5. Watkins J., Wild G. – Improved diagnosis of anaphylactoid reactions by measurement of serum tryptase and urinary methylhistamine. *Ann. Fr. Anesth. Reanim.*, 1993, 12, 169-172.
6. Yunginger J.W., Nelson D.R., Squillance D.L., Jones R.T., Holley K.E., Hyma B.A., Biedrycki L., Sweeney K.G., Sturmer W.Q., Schwartz L.B. – Laboratory investigation of deaths due to anaphylaxis. *J. Forensic Sci.*, 1991, 36, 857-865.

7. Ansari M.Q., Zamora J.L., Lipscomb M.F. – Postmortem diagnosis of acute anaphylaxis by serum tryptase analysis. A case report. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1993, 99, 101-103.
8. Holgate S.T., Walters C., Walls A.F., Lawrence S., Shell D.J., Variend S., Fleming P.J., Berry P.J., Gilbert R.E., Robinson C. – The anaphylaxis hypothesis of sudden infant death syndrome: mast cell degranulation in cot death revealed by elevated concentrations of tryptase in serum. *Clin. Exp. Allergy*, 1994, 24, 1115-1122.
9. Fisher M.M., Baldo B.A. – The diagnosis of fatal anaphylactic reactions during anesthesia: employment of immunoassays for mast cell tryptase and drug-reactive IgE antibodies. *Anaesth. Intensive Care*, 1993, 21, 353-357.
10. Randall B., Butts J., Halsey J.F. – Elevated postmortem tryptase in the absence of anaphylaxis. *J. Forensic. Sci.*, 1995, 40, 208-3211.
11. Ownby D.R., Tomlanovitch M., Sammons N., Mc Cullough J. – Anaphylaxis associated with latex allergy during baryum enema examinations. *AJR*, 1991, 156, 903-908.
12. Sampson H.A., Mendelson L., Rosen J.P. – Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N. Engl. J. Med.*, 1992, 327, 380.
13. Platt M.S., Yunginger J.W., Sekula-Perlman A., Irani A.-M.A., Smialek J., Mirchandani H.G., Schwartz L.B. – Involvement of mast cells in sudden infant death syndrome. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1994, 4, 250-256.
14. Schwartz H.J., Yunginger J.W., Schwartz L.B. – Is unrecognized anaphylaxis a cause of sudden unexpected death? *Clin. Exp. Allergy*, 1995, 25, 866-870.
15. Schaefer T., Vieluf D., Eisenmenger W., Ring J. – Sudden death after one wasp sting. *ACI News*, 1990, 2, 117.
16. Enander I., Matsson P., Nystrand J., Andersson A.S., Eklund E., Bradford T.R., Schwartz L.B. – A new radioimmunoassay for human mast cell tryptase using monoclonal antibodies. *J. Immunol. Method.*, 1991, 13, 39-46.
17. Schwartz L.B. – Tryptase: a clinical indicator of mast cell-dependent events. *Allergy Proc.*, 1994, 15, 119-123.
18. Baldo B.A., Fisher M.M. – Diagnosis of IgE-dependent anaphylaxis to neuromuscular blocking drugs, thiopentone and opioids. *Ann. Fr. Anesth. Reanim.*, 1993, 12, 173-181.
19. Patella V., De Crescenzo G., Ciccarelli A., Marino G. – Human heart mast cells : a definitive case of mast cell heterogeneity. *Int. Arch. Allergy immunol.*, 1995, 106, 386-393.
20. Marone G., Patella V., De Crescenzo G., Genovese A. – Adt M. Human heart mast cells in anaphylaxis and cardiovascular disease. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1995, 107, 72-75.
21. Moneret-Vautrin D.A., Zannad F., Kanny G., Thinus G. – L'anaphylaxie cardiaque. *Rev. Fr. Allergol.*, 1996, 36, 497-502.
22. Dvorak A.M. – Mast-cell degranulation in human hearts. *N. Engl. J. Med.*, 1986, 315, 969-970.
23. Sicot C. – Accidents anaphylactiques aigus : jurisprudence et conduite à tenir. *Concours Méd.*, 1995, 117, 46-47.



LA SEMAINE DES HÔPITAUX

Rédaction : 31, bd de Latour-Maubourg, 75343 PARIS Cedex 07

Tél. : 01 40 62 64 00 – Télécopie : 01 45 55 69 20

Administration – Abonnements – Publicité : 15, rue Saint-Benoît, 75278 PARIS Cedex 06

Tél. : 01 45 48 42 60 – Télécopie : 01 45 44 81 55

ABONNEMENTS

	France	Étranger
– Individuel	500 F	800 FF
– Collectivités et Institutions	1 940 F	2 490 FF

Les abonnements sont payables au comptant et ne sont mis en service qu'après réception du règlement.

Les chèques bancaires en provenance de l'étranger devront être adressés au Crédit du Nord, Pl. Catalogne, PARIS (France). Code banque 30076. Code guichet 02147. N° de compte 10028300200. Clé RIB 05.

Checks drawn on banks in countries other than France should be made payable to Crédit du Nord, Pl. Catalogne, PARIS (France). Code banque 30076. Code guichet 02147. N° de compte 10028300200. Clé RIB 05.