

Stratégies d'exploration fonctionnelle et de suivi thérapeutique

Dosages des IgG antiaviaires et antimoisissures sur UniCAP dans l'alvéolite allergique extrinsèque et l'aspergillose bronchopulmonaire allergique

Quantification of IgG antibodies against birds and molds by UniCAP in hypersensitivity pneumonitis and allergic bronchopulmonary aspergillosis

N. Gillain ^{a,*}, J.-L. Grand ^b, R. Broux ^b, J.-P. Sacré ^c, J.-M. Minon ^a

^a Service de biologie clinique, CHR La Citadelle, 1, boulevard du 12^e de Ligne, 4000 Liège, Belgique

^b Service de pneumologie, CHR La Citadelle, 1, boulevard du 12^e de Ligne, 4000 Liège, Belgique

^c Service de pédiatrie, CHR La Citadelle, 1, boulevard du 12^e de Ligne, 4000 Liège, Belgique

Reçu le 25 mars 2005 ; accepté le 3 juin 2005

Résumé

Le dosage d'IgG spécifiques par immunofluorimétrie peut être entièrement automatisé grâce à l'UniCAP 100 (Pharmacia). Nous avons dosé des IgG antiaviaires (perruche, perroquet, pigeon, canari), antiactinomycètes thermophiles (*Thermoactinomyces vulgaris*, *Micropolyspora faeni*) et antimoisissures (*Aspergillus fumigatus* et *vulgaris*, *Penicillium* sp, *Cladosporium herbarum* et *cladosporoïdes*, *Stachybotrys atra*, *Alternaria tenuis*) chez 12 patients présentant une alvéolite allergique extrinsèque (ou pneumopathie d'hypersensibilité) cliniquement établie. Sur base de normes de référence établies dans notre laboratoire, nous avons observé des IgG élevées chez 83 % d'entre eux. En revanche, chez 15 patients pour qui le diagnostic de pneumopathie d'hypersensibilité n'était qu'évoqué, les taux étaient normaux ou peu significatifs. L'intérêt des IgG antimoisissures est limité car l'antigène responsable étant difficile à identifier, un taux normal peut correspondre à un mauvais choix et non à une absence de trouble immunitaire. Ces dosages doivent toujours être interprétés en fonction de la clinique. Les IgG anti-*Aspergillus fumigatus* ont été dosés chez 43 patients asthmatiques ou mucoviscidosiques. Six patients présentaient une aspergillose bronchopulmonaire allergique sur base de la clinique, mais seulement trois d'entre eux, des IgG élevées. Malgré leurs limites, les dosages d'IgG spécifiques, sont utiles dans l'exploration des pneumopathies d'origine fongique ou aviaire.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Immunofluorimetric determination of IgG specific antibodies may be realised with UniCAP system (Pharmacia). We have measured IgG titers against birds (budgerigar, parrot, pigeon, canary), thermophilic actinomycetes (*Thermoactinomyces vulgaris*, *Micropolyspora faeni*) and molds (*Aspergillus fumigatus* and *vulgaris*, *Penicillium* sp, *Cladosporium herbarum* and *cladosporoïdes*, *Stachybotrys atra*, *Alternaria tenuis*) in 12 patients with clinically proven hypersensitivity pneumonitis. We observed elevated IgG in 83% of the subjects using normal values established in our laboratory. On the contrary, in 15 patients for whom diagnostic was only suspected, IgG were normal or not significantly elevated. Mold IgG antibodies interest is limited to inaccurate choice of the antigen rather than to the absence of disease. The results must always be interpreted in accordance with clinic. Anti-*Aspergillus fumigatus* antibodies were realised in 43 patients with asthma or cystic fibrosis. Among six patients with clinical proven allergic bronchopulmonary aspergillosis, only 3 had high IgG titers. Despite of those false negative results, measurement of IgG especially against birds and *Aspergillus fumigatus* is a useful diagnostic tool in the diagnosis of pneumopathy caused by fungi or birds.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : nicole.gillain@chrcitadelle.be (N. Gillain).

Mots clés : IgG anti-aviaires, IgG anti-moisissures ; Pneumopathie d'hypersensibilité ; Alvéolite allergique extrinsèque ; Aspergillose bronchopulmonaire allergique ; UniCAP

Keywords: IgG anti-birds; IgG anti-molds; Hypersensitivity pneumonitis; Allergic bronchopulmonary aspergillosis; UniCAP

1. Introduction

L'alvéolite allergique extrinsèque (AAE) ou pneumopathie d'hypersensibilité (PH) est une pneumopathie inflammatoire et granulomateuse provoquée par l'inhalation de particules organiques capables de pénétrer dans les alvéoles pulmonaires (diamètre < 5 microns). On recense au moins 200 antigènes responsables de PH [1]. Ils sont d'origine bactérienne, fongique ou animale. La prévalence de la maladie augmente avec le degré d'exposition (nombre de particules par m³ d'air, fréquence et durée du contact...). Seulement 5 à 15 % des personnes exposées présenteront une AAE. Les manifestations cliniques peuvent être aiguës, subaiguës ou chroniques [2]. La forme aiguë correspond à un syndrome grippal qui se manifeste quatre à huit heures après l'exposition et qui disparaît généralement après 48 heures. Lors d'expositions ultérieures, le patient peut présenter les mêmes symptômes, mais les troubles respiratoires seront plus graves et dureront plus longtemps. Chez certaines personnes, l'exposition chronique engendrera une fibrose pulmonaire [3]. La physiopathologie de la maladie est encore mal connue. L'inhalation de l'antigène provoque vraisemblablement la formation de complexes immuns au niveau de la paroi des alvéoles pulmonaires (hypersensibilité de type III). Ces complexes fixent le complément et le C5a active les macrophages alvéolaires qui libèrent des cytokines, notamment du TNF α . Elles sont responsables d'une infiltration de neutrophiles et d'une réaction inflammatoire au niveau de l'épithélium bronchoalvéolaire. Lorsque la stimulation antigénique devient chronique, on observe une infiltration de lymphocytes Th1 (hypersensibilité de type IV). Les macrophages alvéolaires se transforment en cellules géantes multinucléées et forment des granulomes qui envahissent l'interstitium pulmonaire. Ils synthétisent du TGF- β qui stimule la prolifération des fibroblastes et l'angiogenèse [1] [4]. La fibrose interstitielle qui en résulte peut être fatale au patient. Le meilleur remède consiste à éliminer l'agent causal même si le pronostic est moins bon lorsque la maladie est passée au stade de la chronicité. L'intérêt d'un diagnostic précoce est évident. Il est essentiellement clinique, fondé sur l'interrogatoire du patient, des examens radiologiques et la biopsie. L'analyse du lavage bronchoalvéolaire révèle une hyperlymphocytose et un rapport CD4/CD8 généralement bas [1]. Le laboratoire peut confirmer le diagnostic par la mise en évidence d'IgG spécifiques de l'allergène incriminé (précipitines) par immunodiffusion selon la méthode d'Ouchterlony (Tableau 1).

Ce type de pneumopathie a été longtemps considéré comme une maladie professionnelle [5] (Tableau 2). Ces dernières années, des études ont démontré que l'exposition à des moisissures présentes au domicile était responsable non seu-

Tableau 1

Critères diagnostiques d'une alvéolite allergique extrinsèque ou pneumopathie d'hypersensibilité (GERM « O »P, 2002)

Critères majeurs :

- preuve d'une exposition à un antigène sur base :
 - de précipitines dans le sérum
 - d'une exposition connue du patient à un antigène responsable de pneumonie d'hypersensibilité
 - par une étude aérobiologique ou un prélèvement réalisé au domicile ou sur le lieu de travail du patient
- symptômes respiratoires compatibles
- alvéolite lymphocytaire au lavage alvéolaire
- diminution de la diffusion du CO
- imagerie compatible (radiographie ou tomodensitométrie haute résolution).

Ils peuvent être confirmés par

- une biopsie pulmonaire
- un test de provocation respiratoire positif.

lement de problèmes allergiques [6], mais était également la cause de fibrose pulmonaire inexplicée. Cela a été démontré notamment par une étude réalisée au Texas chez une septantaine de patients souffrant de pneumopathie interstitielle : l'agent causal était présent au domicile dans 95 % des cas et présent sur le lieu de travail dans seulement 5 % des cas. Après assainissement des habitats, la fonction respiratoire de 67 % des patients s'est améliorée sans traitement. Des précipitines antimoisissures ont été observées seulement chez 23 % d'entre eux [7]. Les logements insalubres ou ayant subi des dégâts des eaux ne sont pas les seuls en cause. L'habitat moderne, mal aéré et trop isolé, favorise la prolifération des moisissures [8]. L'humidité relative est souvent élevée (douches dans salle de bain sans fenêtre, sèche-linge non raccordé, cuisine sans hotte...). Les climatiseurs et les humidificateurs mal entretenus favorisent la contamination de l'air ambiant. La présence de nombreux animaux domestiques, notamment des oiseaux, et de leurs litières sont des sources antigéniques susceptibles de déclencher un trouble immunitaire chez certaines personnes (Tableau 3)

Une pneumonie d'hypersensibilité est donc vraisemblablement la cause de nombreuses pneumonies interstitielles classées comme idiopathiques et la recherche ou mieux, le dosage d'IgG spécifiques, devrait être plus souvent pratiqué. L'UniCAP 100 de Pharmacia permet de réaliser facilement ces dosages. Cet appareil a été initialement conçu pour le dosage des IgE spécifiques par immunoenzymofluorescence. Pour doser les IgG, il suffit de remplacer le conjugué anti-IgE par un conjugué anti-IgG. Un panel d'antigènes destiné au diagnostic de l'AAE a été proposé par la firme, soit trois antigènes aviaires : pigeon, perroquet et perruche, deux actinomycètes thermophiles : *Micropolyspora faeni* (M.F.) et *Thermoactinomyces vulgaris* (T.V.), sept moisissures : *Aspergillus fumi-*

Tableau 2

Antigènes responsables de pneumonie d'hypersensibilité dans le milieu professionnel

Cette liste est très loin d'être exhaustive : des produits chimiques sont également responsables d'AAE (exemple, le diacétyl aromatisant utilisé dans la production de pop-corn)

La maladie	Le responsable
Maladie du poumon de fermier (beaucoup plus fréquente chez l'éleveur de bovins exposé à la paille humide que chez le céréalier)	- actinomycètes thermophiles : <i>Thermoactinomyces vulgaris</i> , <i>T. Sacchari</i> , <i>T. viridis</i> ..., <i>Micropolyspora faeni</i> (également appelé <i>Saccharo-polyspora rectivirgula</i>) - <i>Aspergillus</i> sp dont <i>A. fumigatus</i> - <i>Penicillium</i> sp - <i>Cladosporium</i> - <i>Mucor</i>
Maladie des éleveurs d'oiseaux (les plus fréquemment atteints)	- pigeon - tous les animaux de la basse-cour - oiseaux exotiques, rapaces...
Maladie des travailleurs en contact avec du compost	- les actinomycètes thermophiles - <i>Aspergillus</i> sp dont <i>Aspergillus fumigatus</i>
Maladie des champignonnistes	les actinomycètes thermophiles
Maladie des fromagers	<i>Penicillium</i> sp

Tableau 3

Antigènes responsables de pneumonie d'hypersensibilité d'origine domestique

La source	Le responsable
Les oiseaux domestiques	- pigeons - perruche, perroquet - canari...
Compostage domestique	- actinomycètes thermophiles - <i>Aspergillus</i> sp dont <i>Aspergillus fumigatus</i>
Humidificateurs et climatiseurs	- actinomycètes thermophiles - <i>Penicillium</i> sp - <i>Aspergillus fumigatus</i> - <i>Aureobasidium pullulans</i>
Sauna	<i>Aureobasidium</i> sp
Habitat humide :	
Le type de moisissure dépend de l'humidité relative des matériaux :	- <i>Aspergillus</i> sp - <i>Penicillium</i> sp
• 75 à 80 % : <i>Aspergillus</i> et <i>Penicillium</i>	
• 80 à 90 % : <i>Cladosporium</i>	- <i>Cladosporium</i> spces trois espèces sont observées dans 95 % des logements humides belges
• > 90 % : <i>Fusarium</i> et <i>Stachybotrys</i>	
dans la salle de bain	- <i>Cladosporium sphaerospermum</i>
sur les matelas	- <i>Cladosporium sphaerospermum</i> , <i>Alternaria</i>
papier peint, plâtre, murs des cuisines, châssis de fenêtre...	- <i>Stachybotrys atra</i> (syn : <i>chartrarum</i>) et <i>Aspergillus versicolor</i> : moisissures toxiques - <i>Ulocladium</i> , - <i>Acremonium</i> - <i>Chaetomium globosum</i> - <i>Phoma</i> sp - <i>Fusarium</i> - <i>Mucor</i> ...
attention au terreau des plantes d'intérieur !	

gatus (A.F.), *Aspergillus versicolor* (A.V.), *Penicillium* sp. (Psp), *Stachybotrys atra* (S.A.), *Cladosporium herbarum* (C.H.), *Cladosporium cladosporioides* (C.C.), *Alternaria tenuis* (synonyme : *alternata*) (A.T.), une levure : *Candida albicans* (C.A.) et deux mixtures (mix1 : *Penicillium notatum*, *Cladosporium herbarum*, *Mucor racemosus*, *Alternaria alternata* et mix2 : *Micropolyspora faeni* et *Thermoactinomyces vulgaris*). Une bonne concordance entre des taux élevés d'IgG dosés sur UniCAP et la présence de précipitines a été démontrée. Des normes de référence ont été établies au

Karolinska Hospital de Stockholm à partir des valeurs observées chez 60 donneurs de sang. La valeur limite a été fixée sur base de la moyenne + 2 déviations standards après transformation logarithmique des données (Tableau 4) [9] [10].

2. But de l'étude

Le but de notre étude est de déterminer l'apport clinique de ces dosages chez des patients présentant des signes clini-

Tableau 4
Nature de l'antigène, abréviation, code réactif et valeurs de référence

	abrev.	code CAP	normes suédoises (mg/l)	normes liégeoises (mg/l)
<i>Alternaria tenuis (alternata)</i>	A.T.	Gm6	3 à 25	< 9,5
<i>Aspergillus fumigatus</i>	A.F.	Gm3	5 à 126	< 50,0
<i>Aspergillus versicolor</i>	A.V.	RGm25		< 56,0
<i>Candida albicans</i>	C.A.	Gm5	33 à 109	< 81,0
<i>Cladosporium herbarum</i>	C.H.	Gm2	5,1 à 56	< 21,5
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	C.C.	RGm26		< 12,7
<i>Micropolyspora faeni</i>	M.F.	RGm22	1,5 à 8,9	< 4,5
<i>Penicillium spp</i>	Psp	RGm27	2,5 à 33	< 39,0
<i>Stachybotrys atra (chartrarum)</i>	S.A.	RGm24		< 11,5
<i>Thermoactinomyces vulgaris</i>	T.V.	RGm23	2,8 à 37	< 16,0
perruche		RGe90	2 à 11	< 6,5
pigeon		RGe91	2 à 12	< 14,0
perroquet		RGe92	2 à 9,1	< 6,0
canari		e201		< 3,0

ques et radiographiques francs d'AAE et chez des patients présentant une symptomatologie respiratoire complexe pour lesquels les analyses étaient demandées dans le but d'exclure ce diagnostic. Nous avons, en outre, effectué le dosage des IgG anti-*Aspergillus fumigatus* chez des patients asthmatiques graves ou mucoviscidosiques susceptibles de présenter une aspergillose bronchopulmonaire allergique (ABPA). Chez ces patients, l'accumulation de mucus favorise la formation de véritables moulages bronchiques, contenant du mycélium d'A.F [11]. La présence du champignon dans les voies respiratoires, entraîne l'apparition de troubles immunologiques caractérisés par des manifestations d'hypersensibilité de type I, IgE dépendante, et de type III [12]. Les patients présentent des zones de bronchectasie très étendues [13]. La biologie est caractérisée par des taux élevés d'IgE totales, une hyperéosinophilie, des IgE et des IgG spécifiques antiaspergillaires élevés [14]. Les critères de diagnostic (Tableau 5) ne sont pas encore définitivement établis [11] [13]. Non traitée, l'ABPA, peut également être la cause de lésions granulomateuses et de fibrose. Chez le patient mucoviscidosique, la dégradation de la fonction respiratoire serait liée au taux d'IgG anti-A.F [15].

Tableau 5
Critères diagnostiques d'une aspergillose bronchopulmonaire allergique (GERM « O » P 2002)

- Critères majeurs :
 - asthme
 - infiltrats pulmonaires (transitoires ou fixés)
 - éosinophilie sanguine > 500/mm³
 - IgE totales élevées (seuil controversé)
 - tests cutanés envers *Aspergillus fumigatus* positifs en lecture immédiate
 - présence d'IgG anti-*Aspergillus fumigatus*
 - présence de bronchectasies proximales
- Critères mineurs :
 - présence d'*Aspergillus fumigatus* dans l'expectoration
 - présence de moules bronchiques dans l'expectoration
 - tests cutanés positifs envers *Aspergillus fumigatus* en lecture retardée

3. Matériel et méthodes

Les dosages des IgG ont été réalisés sur UniCAP 100 à l'aide des réactifs UniCAP Specific IgG de la firme Pharmacia. L'antigène dont on veut rechercher les anticorps est couplé par covalence sur un support, l'ImmunoCAP. Les IgG spécifiques du sérum du patient se fixent sur le CAP et, après lavage, l'appareil dispense des anticorps anti-IgG conjugués à de la β -galactosidase. Après incubation et lavage, l'activité de l'enzyme fixé sur l'ImmunoCAP est déterminée en mesurant la fluorescence du produit de dégradation d'un substrat le 4-Methylumbelliféryl- β -D-galactoside. Cette fluorescence est comparée à celle d'une gamme étalon allant de 2,0 à 200 mg/l d'IgG.

Nous avons utilisé les immunoCAP repris dans le Tableau 4 ; l'usage des IgG anti-C.A. a été abandonné en pneumologie. Il est important de signaler que les ImmunoCAP utilisés pour la recherche des IgG anti-aviaires sont des ImmunoCAPS contenant des antigènes provenant de déjections, de sérum et de plumes de pigeon, de perroquet ou de perruche. Ils sont différents des CAP utilisés pour le dosage des IgE qui ne comportent que des antigènes provenant des plumes. En raison de la fréquence des demandes, nous avons utilisé le CAP destiné au dosage des IgE pour la recherche des IgG anticari (Tableau 4).

4. Patients

Les observations qui feront l'objet de ce texte portent sur des données accumulées de février 2003 à fin juin 2004. Elles concernent 70 patients âgés de 4 à 82 ans.

Chez 27 patients, c'est le diagnostic d'AAE qui était évoqué. Onze patients présentaient une fibrose idiopathique ou une AAE confirmée (Tableau 1) ; chez un douzième patient souffrant d'une hypoxie grave, on n'a pu réaliser ni biopsie ni lavage bronchoalvéolaire ; enfin un treizième patient présentait des signes d'AAE aigus. Les 14 autres patients ne présentaient qu'une fibrose débutante, un asthme non aller-

gique, une toux chronique ou une sinusite grave susceptible d'entraîner des complications pulmonaires. L'anamnèse révélant manifestement un problème de pollution au domicile, l'intervention du SAMI (Service d'analyse des milieux intérieurs) de la Province de Liège a été sollicitée pour six d'entre eux. À la demande du clinicien, les agents de ce service visitent l'habitation des patients suspects d'AAE et font l'inventaire des différents endroits contaminés par des moisissures ou autres polluants. Les moisissures isolées sont identifiées par un laboratoire spécialisé. Un rapport de la visite est renvoyé au clinicien ainsi qu'une liste de conseils au patient en vue de l'assainissement de son habitat.

Chez les 43 autres patients, le diagnostic d'ABPA était suspecté sur base des antécédents pulmonaires, notamment une mucoviscidose.

Les analyses ont été demandées par des pneumologues à l'aide d'un formulaire spécial rédigé par le responsable clinique de l'étude. Pour des raisons d'éthique, toute demande de recherche de précipitines ou de sérologie aspergillaire prescrite sur le formulaire de demande traditionnel était réalisée avec les techniques validées au laboratoire. Des dosages d'IgG antimoisissures ont également été prescrits par un ORL dans le cadre des sinusites et des NARES (*non allergic rhinitis with eosinophilic syndrome*). Nous n'envisagerons pas cet aspect dans ce texte. L'avantage de cette participation a été de nous fournir un nombre important de données observées chez des patients.

Pour les anticorps anti-aviaires, la demande était fonction de ou des oiseaux présents au domicile. En revanche, lorsqu'il s'agissait d'une exposition à des moisissures, le panel complet était souvent prescrit du moins dans les premiers temps de l'étude, la firme finançant les réactifs.

5. Résultats

Les conclusions présentées ici sont fondées sur des normes de référence établies par nos soins. Nous avons rapidement constaté que les taux des IgG observés chez les patients étaient beaucoup plus bas que les IgG des donneurs de sang suédois. En raison du coût des tests, il n'était pas possible de redéfinir des normes sur un aussi grand nombre de témoins. Nous avons donc dû utiliser, pour nos calculs, les concentrations observées chez les patients durant les neuf premiers mois de l'étude et celles observées chez dix témoins. En raison de la distribution asymétrique des données, nous avons utilisé une méthode non paramétrique : après élimination des valeurs nettement écartées de la moyenne, nous avons pris comme limite supérieure la valeur correspondant au percentile 90 (Tableau 4). Chaque dossier a été revu sur base de ces nouvelles normes. Des liens entre les IgG et la clinique étant dès lors observés, l'étude a continué sur ces nouvelles bases.

Chez 27 patients, c'était le diagnostic d'AAE qui était évoqué.

Onze de ces 27 patients (41 %), présentaient une AAE confirmée ou une fibrose idiopathique. Seulement deux patients avaient des IgG normales (antimoisissures), les neuf

Tableau 6

Données biologiques des patients présentant une fibrose ou une AAE confirmée

<i>IgG normales :</i>	
• Co., 79 ans :	anti-A.F. (16,3 mg/l) + Psp (9,23 mg/l) + A.T. (5,23 mg/l) + M.F. (4,23 mg/l)
• Ci., 73 ans :	anti-A.F. (23,5 mg/l) + Psp (12,2 mg/l) + A.T. (2,88 mg/l) + C.H. (4,43 mg/l) + S.A. (2,57 mg/l)
<i>IgG élevées :</i>	
<i>antimoisissures et/ou antiactinomyces :</i>	
• Gi., 30 ans :	anti-A.T. (10,9 mg/l) + S.A. (14,9 mg/l)
• Je., 69 ans :	anti-A.F. (57,9 mg/l) + Psp (47,9 mg/l)
• Wi., 53 ans :	anti-A.T. (23,1 mg/l) + A.F. (54,1 mg/l) + C.H. (49,5 mg/l) + Psp. (41,1 mg/l) + S.A. (41,4 mg/l)
• Pi., 34 ans :	anti-A.F. (86,4 mg/l) + A.V. (99,6 mg/l)
<i>antioiseaux :</i>	
• Be., 68 ans :	antipigeon (85,9 mg/l)
• Ba., 74 ans :	anticanari (7,43 mg/l)
• Br., huit ans :	antipigeon (938 mg/l) + perruche (435 mg/l) + perroquet (415 mg/l)
• Pr., 73 ans :	antipigeon (39,4 mg/l)
<i>antimoisissures et antiaviaires :</i>	
• Ca., 65 ans :	anti-A.T. (15,5 mg/l) + A.F. (66,9 mg/l) + A.V. (72,3 mg/l) + C.H. (21,5 mg/l) + C.C. (22,9 mg/l) + Psp (66 mg/l) + S.A. (18,8 mg/l) + T.V. (21 mg/l) + M.F. (17,3 mg/l) + antiperruche (19,3 mg/l) + antipigeon (16 mg/l) + antiparroquet (12,8 mg/l)

autres avaient des IgG élevées : antimoisissures et/ou antiactinomycètes, chez quatre patients ; anti-oiseaux, chez quatre patients ; antimoisissures et antiaviaires, chez un patient. Les valeurs observées chez ces patients sont reprises au Tableau 6.

Un de ces 27 patients dont l'AAE n'a pu être confirmée par biopsie en raison d'une hypoxie grave, présentait des IgG anti-T.V. (31,5 mg/l) acquises vraisemblablement plusieurs années auparavant lorsqu'il était en contact avec de la paille humide (élevage de lapins). En revanche, il n'a pas d'IgG dirigées contre les moisissures signalées à son domicile par le SAMI.

Un patient présentait des signes d'AAE aiguë quatre à six heures après exposition à des chevaux et de la paille humide, ses IgG anti-M.F. et T.V. étaient normales, mais les IgG anti-C.C. (17,1 mg/l), élevés.

Chez les 14 derniers patients de ce groupe (52 %), le diagnostic d'AAE n'a pas été retenu sur base des données cliniques. Le taux des IgG de ces patients était presque toujours compris dans les normes de référence. Il s'agissait : d'IgG anti-T.V. et M.S., chez deux patients ; antiparroquet chez deux patients ; antimoisissures chez six patients ; anti-aviaires, chez quatre patients.

Des moisissures au domicile avaient été envisagées comme cause de la maladie chez six patients et une intervention du SAMI a été demandée pour quatre d'entre eux. Les patients n'avaient pas d'anticorps contre les moisissures identifiées, mais l'un d'entre eux présentait des anti-C.H. (32 mg/l) dont on n'a pas pu identifier l'origine. Au domicile d'un autre patient, le SAMI a identifié du *Cladosporium sphaerospermum* ; nous avons dosé les IgG anti-*Cladosporium herbarum* et *cladosporoides*, l'espèce de la moisissure était donc incorrecte.

Tableau 7
Données biologiques des patients présentant une ABPA sur base de la clinique

Le patient	La clinique	IgE totales (kUA/l)	Rast A.F.	IgG anti-A.F. (mg/l)	Éosinophilie
Ph., 78 ans	Moules bronchiques avec aspergillus	232	Classe 2	69,6	normale
Vo., 40 ans	Asthme compliqué par la consommation de cannabis contaminé par A.F. [21]	767	Classe 3	78,0	normale
De., 70 ans	Moules bronchiques avec A.F.	405	Classe 3	89	élevée
Be., 33 ans	Asthme grave, bronchectasies	> 5000	Classe 6	26,5	normale
Du., 82 ans	Bronchectasies	2191	Classe 5	28	normale
Pa., 66 Ans	Bronchectasies, infiltrats pulmonaires, moules bronchiques	707	Classe 4	22	normale

Enfin, une patiente présentait des IgG antiperruches de 56,4 mg/l alors que l'importance de l'animal n'avait pas été envisagée.

La maladie pouvait être causée par un oiseau chez quatre patients ; malheureusement, le panel Pharmacia ne comportait pas l'oiseau suspect : une « volière », un oiseau chanteur africain, un poulailler industriel et un canari (nous ne disposions pas encore de ce test lorsque ce patient a été examiné).

Chez 43 patients atteints de mucoviscidose ou d'asthme grave, les IgG anti-*Aspergillus fumigatus* ont été déterminées dans le cadre de l'aspergillose bronchopulmonaire allergique.

Six patients présentaient des signes évidents d'ABPA, principalement des bronchectasies très étendues et des IgE totales et spécifiques anti-A.F. très élevées. Nous n'avons observé des IgG anti-*Aspergillus fumigatus* supérieures aux normes que chez la moitié de ces patients dont les données sont reprises au Tableau 7. Nous n'avons pas d'explication pour les « faux négatifs » : compétition entre les IgE élevées et les IgG pour les antigènes fixés sur l'ImmunoCAP ? mauvaise reconnaissance par le conjugué anti-IgG de la sous-classe d'IgG à laquelle appartient l'anti-A.F. de ces patients ? IgG produite localement et circulant sous forme d'immunocomplexes qui ne se fixent pas sur l'ImmunoCAP ?

6. Discussion

Cette étude démontre l'intérêt du dosage des IgG spécifiques mais elle met également en évidence un certain nombre de problèmes.

Lorsqu'une exposition aux moisissures semble être la cause de la maladie, le choix de l'anticorps à doser est difficile en raison du très grand nombre d'espèces susceptibles d'être responsables de l'affection. Grâce à l'intervention du SAMI, on peut connaître la nature des moisissures présentes au domicile du patient, mais on ne dispose pas toujours d'un ImmunoCAP portant l'antigène correspondant. Le panel proposé par Pharmacia ne comporte qu'un petit nombre des moisissures relevées dans la région liégeoise (Fig. 1). Des IgG normales peuvent donc être faussement rassurantes, le bon test n'ayant pas été réalisé. En revanche, le dosage des IgG anti-A.F. est très intéressant en raison de sa fréquente positivité dans l'AAE, de son rôle dans le diagnostic de l'ABPA et du

suivi des patients souffrant d'ABPA ou mucoviscidosiques. Les dosages d'IgG réalisés à l'aide de l'UniCAP sont très bien corrélés avec l'hémagglutination (Fumouze), technique que nous avons abandonnée au profit de la technique automatisée.

Le choix de l'antigène est aisé lorsqu'il s'agit d'oiseaux dont l'identité est facile à préciser. Les antigènes aviaires responsables d'AAE, vraisemblablement des mucines intestinales et des IgA, provoquent des réactions immunitaires importantes [16]. Cela explique peut-être pourquoi, de tous les patients, ce sont les éleveurs de pigeons qui sont le plus souvent affectés et pourquoi on observe des précipitines chez 40 % d'entre eux [4]. Les IgG antipigeon très élevées sont souvent associées à des IgG élevées vis-à-vis de tous les antigènes aviaires [17]. C'est le cas d'un de nos patients, âgé de huit ans, qui présente des troubles respiratoires graves : IgG antipigeon de 938 mg/l et antiperroquet de 415 mg/l, les oiseaux qu'il possède, mais aussi antiperruche de 435 mg/l. Le même type de réaction croisée a été observé chez plusieurs de nos patients (non repris dans cette étude). Chez ces patients, les IgG anticannari sont également très élevées. Rappelons que ce test est réalisé avec l'ImmunoCAP prévu pour les Rast, c'est-à-dire contenant uniquement des antigènes provenant des plumes de canari. L'antigène commun à tous les oiseaux, s'il existe, ne doit pas être présent dans les déjec-

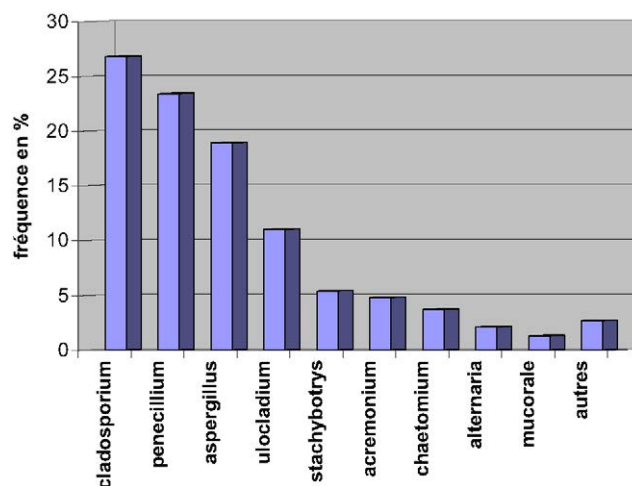


Fig. 1. Type de moisissure identifiée par le SAMI de la Province de Liège.

tions ou le sérum des oiseaux. Autre anomalie chez cet enfant exposé en outre à de nombreuses moisissures au domicile : les taux des IgG antimoisissures est de l'ordre de 30 mg/l quelles qu'elles soient ; il en est de même pour des IgG anti-aliments. Peut-on parler de réaction croisée dans ce cas ?

On peut imaginer que le même phénomène puisse se produire chez des patients dont l'AAE est provoquée par une exposition aux moisissures. Ainsi, un de nos patients présente à la fois des IgG élevées vis-à-vis des moisissures présentes à son domicile et vis-à-vis de toutes les moisissures testées, des actinomycètes thermophiles et de tous les oiseaux (sauf le canari pas encore disponible). Des réactions croisées entre les différentes espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium* sp. ont déjà été observées par différents auteurs [18]. Y a-t-il un antigène, commun à toutes les moisissures, suscitant la synthèse d'IgG, comme cela a été décrit pour les réactions IgE dépendantes [19] ?

Pour interpréter valablement les tests, il est essentiel d'avoir de bonnes valeurs de référence. Notre étude démontre que l'on ne peut pas appliquer à notre population des normes pour les IgG antimoisissures établies dans les pays scandinaves. En est-il autrement pour les oiseaux ? Dans une publication récente, Andreas L. Lopata affirme qu'il n'observe pas de différence significative entre les IgG antiaviaires déterminées en Suède et en Afrique du Sud. Il préconise un seuil de 9,8 mg/l pour les pigeons [17]. Si on appliquait ce seuil à notre population, nous observerions des taux élevés chez 37 % des témoins et 42 % des patients. Sur base de la norme suédoise de 12 mg/l, nous observerions des taux élevés chez 12 % des témoins et chez 42 % des patients. Notre seuil de référence est plus élevé, 14 mg/l (ce qui peut s'expliquer par la pollution de la ville par les pigeons). Avec ce seuil, nous n'observons aucune valeur élevée chez nos témoins et des valeurs élevées chez 28 % de nos patients. Il nous semble préférable de déterminer des normes pour chaque paramètre, même à partir d'un petit nombre d'observations, plutôt que d'utiliser les données reprises de la littérature. Néanmoins, nous avons parfois observé des IgG supérieures à nos normes chez des témoins faisant partie du personnel du laboratoire et exempts de troubles respiratoires. Parfois ces valeurs élevées pouvaient s'expliquer par une exposition importante à l'antigène (des IgG anti-Psp de 67,6 mg/l chez un témoin dont le hobby est la culture de plantes d'appartements) ; dans d'autres cas, elles étaient inexplicables (IgG anti-T.V. de 22,7 mg/l, IgG anticari de 5,75 mg/l).

Bien qu'une diminution des taux d'anticorps anti-*Aspergillus fumigatus* en cours de traitement de la maladie ait été évoquée, d'autres observations démontrent que les taux des IgG sont stables durant de longues périodes et cela malgré des modifications saisonnières [18] ou environnementales [20]. Les IgG de nos témoins étaient relativement stables à l'exception d'un cas où les IgG anti-A.V. sont passées de 12,0 mg/l en septembre 2003 à 58,7 mg/l en juin 2004 (entre les deux prises de sang, un climatiseur a été installé au laboratoire).

7. Conclusion

Nos observations démontrent qu'un taux d'IgG spécifique ne peut être interprété sans la clinique. Prescrits à bon escient et interprétés sur base de valeurs de référence appropriées, les dosages des IgG antiaviaires et antimoisissures, tout particulièrement anti-A.F, sont appelés à devenir des outils indispensables dans l'exploration des pneumopathies d'origine aviaire ou fongique. Ils ont permis de préciser l'étiologie de la fibrose ou de l'AAE chez 83 % des patients de cette étude donnant un argument objectif supplémentaire au clinicien en vue de l'éviction de l'agent incriminé. Leur taux est bien corrélé avec la clinique, élevé chez la plupart des patients présentant une ABPA ou une AAE confirmée et normaux ou faiblement augmentés chez les témoins asymptomatiques et les patients chez qui ces maladies ont pu être exclues sur base de la clinique.

Remerciements

À la firme Pharmacia qui nous a fourni des réactifs pour réaliser cette étude et tout particulièrement à Monsieur P. Lehoucq et Madame F. Streel pour leur disponibilité. À Madame J. Vanherque et à Madame F. Detroz qui ont réalisé les analyses et veillé au bon fonctionnement de l'UniCAP100.

Références

- [1] Mohr L. Hypersensitivity pneumonitis. *Curr Opin Pulm Med* 2004; 10:401–11.
- [2] Lacasse Y, Israël E, Laviolette M, Cormier Y. Aspects cliniques et immunopathologiques des pneumopathies d'hypersensibilité. *Rev Mal Respir* 2004;21:769–81.
- [3] Agostini C, Trentin L, Facco M, Semenzato G. New aspects of hypersensitivity pneumonitis. *Curr Opin Pulm Med* 2004;10:378–82.
- [4] Patel A, Ryu J, Reed C. Hypersensitivity pneumonitis : current concepts and future questions. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(5):661–70.
- [5] Dalphin JC. La pathologie respiratoire en milieu agricole. In: Charpin D, editor. *L'air et la santé*. Paris: Flammarion Médecine-sciences; 2004. p. 254–61.
- [6] Charpin D, Boutin-Forzano S, Charpin-Kadouch C. Habitat et santé respiratoire. In: Charpin D, editor. *L'air et la santé*. Paris: Flammarion Médecine-sciences; 2004. p. 161–73.
- [7] Jacobs R, Andrews C, Coalson J. Organic antigen-induced interstitial lung disease : diagnosis and management. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;88:30–41.
- [8] Beguin H, Nolard N. Flore fongique de l'intérieur des habitations. In: Charpin D, editor. *L'air et la santé*. Paris: Flammarion Médecine-sciences; 2004. p. 101–6.
- [9] Hashemi C. Quantification of IgG antibodies to mold antigens in the diagnosis of allergic alveolitis. *New Horizons* 2003;2:1–5 (Pharmacia Diagnostics).
- [10] Andersson C. Quantification of IgG antibodies to bird antigens by UniCAP in the diagnosis of allergic alveolitis. Document de Pharmacia Diagnostics en cours de publication.

- [11] Geller D, Kaplowitz H, Light M, Colin A. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. Reported prevalence, regional distribution and patient characteristics. *Chest* 1999;116(3):639–46.
- [12] Usha P. Recent researches on allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) and *Aspergillus* allergens/antigens. *Indian J Allergy Asthma Immunol* 2002;16(1):1–13.
- [13] Greenberger P. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110(5):685–92.
- [14] Skov M, Pressler T, Jensen HE, Hoiby N, Koch C. Specific IgG subclass antibody pattern to *Aspergillus fumigatus* in patients with cystic fibrosis with allergic broncho-pulmonary aspergillosis (ABPA). *Thorax* 1999;54:44–50.
- [15] Forsyth K, Hohmann A, Martin A, Bradley J. IgG antibodies to *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis : a laboratory correlate of disease activity. *Arch Dis Child* 1998;63:953–7.
- [16] Lopata A, Schinkel M. Evaluating allergic responses to bird allergens. *Current Allergy and clinical immunology* 2004;17(2):87–90.
- [17] Lopata A, Schinkel M, Potter P, Jeebhay M, Hashemi C, Johanson SGO, et al. Qualitative and quantitative evaluation of bird-specific IgG antibodies. *Int Arch Allergy Immunol* 2004;134:173–8.
- [18] Makkonen K, Viitala K, Parkkila S, Niemelä O. Serum IgG and IgE antibodies against mold-derived antigens in patients with symptoms of hypersensitivity. *Clin Chim Acta* 2001;305:89–98.
- [19] Simon-Nobbe B. IgE-binding epitopes of enolases, a class of highly conserved fungal allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106(5):887–95.
- [20] Chapel H, Haeney M, Misbah S, Snowden N. Maladies pulmonaires interstitielles. In: De Boeck Université, editor. *Immunologie clinique. De la théorie à la pratique, avec cas cliniques. Traduction Masson P.*; 2004. p. 241–5.
- [21] Kouevidjin G, Mazières J, Fayas S, Didier A. Aspergillose bronchopulmonaire allergique aggravée par la consommation de cannabis. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique* 2003;43:192–4.