

Année 2017/2018

N°

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

Fatimata Nafissetou SANFO

Née le 29 avril 1990 à Bobo Dioulasso (Burkina Faso)

TITRE

Antigènes recombinants d'*Aspergillus fumigatus*, existe-t-il des corrélations cliniques, biologiques et radiologiques chez les patients présentant une hypersensibilité aspergillaire?

Présentée et soutenue publiquement le 23 avril 2018 devant un jury composé de:

Président : **Professeur Patrice DIOT, pneumologie, Faculté de médecine-Tours**

Membres du jury:

Professeur Laurent PLANTIER, pneumologie, Faculté de médecine-Tours

Docteur Guillaume DESOUBEAUX, parasitologie-mycologie, MCU-PH, Faculté de médecine-Tours

Docteur Arnaud CIREE, immunologie, PH, CHU-Tours

Directeur de thèse : Professeur Sylvain MARCHAND-ADAM, pneumologie, Faculté de médecine-Tours

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr. Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Pr. Henri MARRET

ASSESEURS

Pr. Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*

Pr. Mathias BUCHLER, *Relations internationales*

Pr. Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université*

Pr. Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*

Pr. François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*

Pr. Patrick VOURC'H, *Recherche*

SECRETAIRE GENERALE

Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Pr. Emile ARON (†) – 1962-1966

Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962

Pr. Georges DESBUQUOIS (†) - 1966-1972

Pr. André GOUAZE - 1972-1994

Pr. Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004

Pr. Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Pr. Daniel ALISON

Pr. Catherine BARTHELEMY

Pr. Philippe BOUGNOUX

Pr. Pierre COSNAY

Pr. Etienne DANQUECHIN-DORVAL

Pr. Loïc DE LA LANDE DE CALAN

Pr. Noël HUTEN

Pr. Olivier LE FLOCH

Pr. Yvon LEBRANCHU

Pr. Elisabeth LECA

Pr. Gérard LORETTE

Pr. Roland QUENTIN

Pr. Alain ROBIER

Pr. Elie SALIBA

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – G. BALLON – P. BARDOS – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – P. BONNET – M. BROCHIER – P. BURDIN – L. CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUAZE – J.L. GUILMOT – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – J. LAUGIER – P. LECOMTE – G. LELORD – E. LEMARIE – G. LEROY – Y. LHUINTRE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAINÉ – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – M. ROBERT – J.C. ROLLAND – D. ROYERE – A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – B. TOUMIEUX – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
ARBEILLE Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
AUPART Michel	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BALLON Nicolas	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie clinique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BODY Gilles	Gynécologie et obstétrique
BONNARD Christian	Chirurgie infantile
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BRILHAULT Jean	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck	Urologie
BUCHLER Matthias	Néphrologie
CALAIS Gilles	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent	Psychiatrie d'adultes
CHANDENIER Jacques	Parasitologie, mycologie
CHANTEPIE Alain	Pédiatrie
COLOMBAT Philippe	Hématologie, transfusion
CORCIA Philippe	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe.....	Radiologie et imagerie médicale
DE TOFFOL Bertrand	Neurologie
DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DIOT Patrice	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
DUMONT Pascal.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Réanimation
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FAVARD Luc	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUQUET Bernard	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GOGA Dominique	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
GOUDEAU Alain	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GRUEL Yves	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier	Urologie
HALIMI Jean-Michel	Thérapeutique
HANKARD Régis	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe	Biologie cellulaire

LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique.....	Bactériologie-virologie
LAURE Boris	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel.....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie
MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAGES Jean-Christophe	Biochimie et biologie moléculaire
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Dominique	Réanimation médicale, médecine d'urgence
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophthalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
QUENTIN Roland	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria.....	Biophysique et médecine nucléaire
SIRINELLI Dominique	Radiologie et imagerie médicale
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

LEBEAU Jean-Pierre
LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien Soins palliatifs

POTIER Alain Médecine Générale
 ROBERT Jean Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

BAKHOS David Physiologie
 BARBIER Louise Chirurgie digestive
 BERHOUE Julien Chirurgie orthopédique et traumatologique
 BERTRAND Philippe Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
 BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle Biologie cellulaire
 BLASCO Hélène Biochimie et biologie moléculaire
 BRUNAULT Paul Psychiatrie d'adultes, addictologie
 CAILLE Agnès Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
 CLEMENTY Nicolas Cardiologie
 DESOUBEUX Guillaume Parasitologie et mycologie
 DOMELIER Anne-Sophie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
 DUFOUR Diane Biophysique et médecine nucléaire
 FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie Anatomie et cytologie pathologiques
 GATAULT Philippe Néphrologie
 GAUDY-GRAFFIN Catherine Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
 GOUILLEUX Valérie Immunologie
 GUILLON Antoine Réanimation
 GUILLON-GRAMMATICO Leslie Epidémiologie, économie de la santé et prévention
 HOARAU Cyrille Immunologie
 IVANES Fabrice Physiologie
 LE GUELLEC Chantal Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
 MACHET Marie-Christine Anatomie et cytologie pathologiques
 PIVER Éric Biochimie et biologie moléculaire
 REROLLE Camille Médecine légale
 ROUMY Jérôme Biophysique et médecine nucléaire
 TERNANT David Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
 ZEMMOURA Ilyess Neurochirurgie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia Neurosciences
 BOREL Stéphanie Orthophonie
 DIBAO-DINA Clarisse Médecine Générale
 LEMOINE Maël Philosophie
 MONJAUZE Cécile Sciences du langage - orthophonie
 PATIENT Romuald Biologie cellulaire
 RENOUX-JACQUET Cécile Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS – INRA

BOUAKAZ Ayache Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
 CHALON Sylvie Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
 COURTY Yves Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100

DE ROCQUIGNY Hugues Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM
966

ESCOFFRE Jean-Michel Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM
930

GILOT Philippe Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282

GOUILLEUX Fabrice..... Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292

GOMOT Marie..... Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM
930

HEUZE-VOURCH Nathalie Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM
1100

KORKMAZ Brice Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM
1100

LAUMONNIER Frédéric Chargé de Recherche INSERM - UMR INSERM
930

LE PAPE Alain Directeur de Recherche CNRS – UMR INSERM
1100

MAZURIER Frédéric Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS
7292

MEUNIER Jean-Christophe Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM
966

PAGET Christophe Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM
1100

RAOUL William Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292

SI TAHAR Mustapha Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM
1100

WARDAK Claire Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM
930

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE Claire Orthophoniste

GOUIN Jean-Marie Praticien Hospitalier

PERRIER Danièle Orthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie

LALA Emmanuelle Praticien Hospitalier

MAJZOUB Samuel Praticien Hospitalier

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice Praticien Hospitalier

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et selon la tradition d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

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

REMERCIEMENTS

Je remercie infiniment le seigneur et toutes les personnes qui m'ont soutenu de près ou de loin tout au long de ces nombreuses années d'étude de médecine.

A Monsieur le Professeur DIOT, professeur en pneumologie, doyen de la Faculté de médecine de Tours, président du jury.

Merci pour l'honneur que vous m'accordez de présider ma thèse. Merci de m'avoir transmis la rigueur dès le début de mon internat, je garderai précieusement cette valeur tout au long de ma carrière.

A Monsieur le Professeur MARCHAND-ADAM, chef de service de pneumologie, directeur de thèse.

Merci pour votre accompagnement durant ces quatre années de spécialisation, merci pour vos enseignements, pour votre amabilité, votre réactivité, votre disponibilité et pour tous vos bons conseils pendant l'écriture de ma thèse.

A Monsieur le Professeur PLANTIER, professeur en pneumologie.

Merci pour tous vos enseignements en physiologie respiratoire et de merci de faire partie de mon jury.

A Monsieur le Docteur DESOUBEAUX, maitre de conférence des universités-praticien hospitalier en parasitologie-mycologie, co-directeur de thèse.

Merci pour votre disponibilité et votre aide si précieuse depuis 2015 pour l'élaboration de ce travail. Merci de m'avoir réappris les bonnes règles d'écriture d'un article scientifique. Ce fut agréable de travailler avec vous.

A Monsieur le Docteur CIREE, praticien hospitalier en immunologie.

Merci pour vos conseils concernant cette étude et merci de faire partie de mon jury.

A tous mes maitres, tous les médecins que j'ai rencontrés tout au long de mon internat, merci pour vos enseignements et vos conseils qui ont contribué à faire de moi le médecin que je suis.

A toute l'équipe médicale du service de pneumologie de Tours.

A Thomas, tu m'as appris à travailler dans la bonne humeur tout en restant rigoureuse, ta disponibilité est sans pareil.

Aux docteurs Pichon et Carmier, merci de m'avoir transmis votre passion pour l'oncologie thoracique.

Au Dr Magro et Mankikian, merci pour vos enseignements.

A Marion Campana, ça sera un plaisir de t'avoir comme collègue.

A Mada, je te souhaite que du bonheur à Paris, j'espère que je te reverrai de temps à temps.

A toute l'équipe médicale du service de pneumologie d'Orléans, particulièrement au docteur Morel et au docteur Lemaire, ma passion pour la pneumologie a grandi en travaillant avec vous. A Maud et Guillaume, j'ai hâte de travailler de nouveau avec vous.

A toute l'équipe paramédicale des services de pneumologies 1 et 2 (infirmières, aides-soignantes), merci pour votre accueil, votre bienveillance et vos enseignements à mon arrivée dans le service, je m'en souviendrai longtemps.

Aux infirmières d'hospitalisation de jour, j'ai adoré travailler avec vous dans la bonne humeur et l'entente générale. Merci car vous avez su m'encourager dans les moments de rush.

Aux attachés de recherche clinique de pneumologie, merci Gaëlle de m'avoir aidé pour mon recueil de données.

A ma CamCam et ma Chachatte, nous formons un trio d'enfer, vous m'avez été d'un grand soutien durant ces années d'internat et que d'expériences partagées ensemble : les stages, les Du, le Soutien Pneumologique Internationale...et ce n'est pas fini.

A tous mes co-internes de pneumologie : Fanny, Xing, Tilia, Marion F, Sylvie, Marion T, Timothée, Nicolas, les bébés pneumongoles, vous m'avez appris que l'union fait la force.

Au médecin et à mes co-internes de radiothérapie, merci pour ces 6 mois passés dans une bonne ambiance. Hélène ne change pas, tu es adorable.

A mon team lilloise : Alicia, Raissa, Mayi, Vero, vous avez marqué le début de mes études de médecine et de ma vie en France.

A mes sœurs et amies d'enfance : Aicha, Carole, Gladys, Murielle, Fatou, Inna, Carine et toutes les loubilettes, vous êtes géniales, je sais que je pourrai toujours compter sur vous.

A ma petite Bénida, j'espère toujours te donner l'exemple à suivre.

A ma famille, mes grands-parents, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines au Burkina, en Côte d'Ivoire et en France, merci pour vos encouragements et vos prières. Merci tonton Hamed de m'avoir encouragé sur le chemin de la médecine et d'avoir cru en moi.

A ma nouvelle famille Yobouet, merci de m'adopter comme enfant et sœur et de prendre soins de moi.

A mes frères et sœurs : Kader, Rachid, Malicka, Habdyne, Alima, Iman, vous êtes une famille en or. Merci Malicka d'être mon amie et ma confidente, merci pour ton soutien en toute circonstance.

A mon unique et futur mari, merci Samaecken pour tout ton amour, pour ta présence et ton soutien dans les bons comme dans les mauvais moments.

Enfin à mes parents, merci papa et maman car c'est grâce à vous si je suis celle que je suis aujourd'hui, vous avez toujours cru en moi et vous m'avez donné une éducation qui m'a permis de me construire. Que Dieu vous le rende au centuple.

RÉSUMÉ

Introduction : L'élévation des immunoglobulines E (IgE) spécifiques est un critère majeur pour le diagnostic des hypersensibilités au champignon *Aspergillus*, notamment en cas d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (APBA) dont le diagnostic reste difficile. Des antigènes recombinants d'*Aspergillus fumigatus* (rAsp f) ont été développés pour pallier à l'hétérogénéité des extraits antigéniques totaux (Asp m3) utilisés habituellement pour la détection des IgE spécifiques. L'objectif de notre étude était de rechercher une association entre les IgE spécifiques dirigées contre les antigènes recombinants rAsp f1, f2, f3, f4, f6 et les caractéristiques cliniques, biologiques et radiologiques de patients présentant une hypersensibilité aspergillaire en phase diagnostique et de suivi.

Matériel et méthodes : Entre mai 2015 et juillet 2017, nous avons étudié une cohorte incluant 104 patients du CHRU de Tours, dans les services de pneumologie, d'allergologie ou de pédiatrie, présentant une hypersensibilité aspergillaire (atopie, asthme aspergillaire ou ABPA) chez qui il a été dosé les IgE spécifiques dirigées contre rAsp f1, f2, f3, f4 et f6. La réactivité aux antigènes recombinants a été comparée en analyse en composante principale (APC) et l'association avec les caractéristiques cliniques, biologiques et radiologiques des patients, à l'inclusion (M0) et lors du suivi ont été appréciées en analyse multivariée par covariance. **Résultats :** En APC, les antigènes recombinants étaient corrélés positivement. En analyse multivariée, les IgE anti-Asp m3 et totales étaient associées positivement à la présence spécifique de chacune des IgE dirigées contre les antigènes recombinants ; les IgE anti-rAsp f2 étaient corrélées positivement au risque de survenue d'exacerbation, $r=0,263$ IC 95% [0,36-0,84] $p=0,007$ à M0, $0,206$ IC 95% [0,07-0,34] $p=0,003$ en phase de suivi ; les IgE-anti rAsp f4 étaient corrélées au risque de survenue d'exacerbation en phase de suivi $r=0,14$ IC 95% [0,01-0,5] $p=0,035$ et à la présence de saccules ou d'abcès sur le scanner thoracique au diagnostic et en phase de suivi $r=0,258$ IC 95% [0,01-0,5] $p=0,042$ et $r=0,230$ IC 95% [0,03-0,37] $p=0,02$ respectivement. Finalement, l'élévation d'IgE anti-rAsp f2 $>35,4\text{kuA/L}$ était prédictive d'exacerbations et celle d'IgE anti- rAsp f4 $>0,14\text{kuA/L}$ était prédictive de l'apparition d'abcès ou de saccules au scanner.

Conclusion : Notre étude suggère que certains antigènes recombinants pourraient être intéressants pour identifier les patients présentant une ABPA à plus haut risque de rechute.

Mots clés : hypersensibilité aspergillaire, aspergillose broncho-pulmonaire allergique, Immunoglobuline E spécifiques, antigènes recombinants, exacerbation.

ABSTRACT

Introduction: Elevated immunoglobulin E (IgE) level against *Aspergillus fumigatus* is a major criterion for diagnosis of hypersensitivity to *Aspergillus* in particular bronchopulmonary allergic aspergillosis which diagnosis remains difficult. Because of the lack of reproducibility and frequent cross reactivity with other antigens of the crude extracts from *Aspergillus* (Asp m3), recombinant allergens (rAsp f) have been developed. The purpose of our study was to assess correlation between IgE against rAsp f1, f2, f3, f4 and f6 and clinical, biological and radiological characteristics of patients with hypersensitivity to *Aspergillus* during diagnosis and follow up phases.

Material and methods: Our cohort study included 104 patients with atopy, asthma or bronchopulmonary allergic aspergillosis, from the pulmonology, pediatric and allergology department of the Teaching Hospital of Tours between May, 2015 and July, 2017. The reactivity of the Ig E contained in the sera sample of those patients to rAsp f1, f2, f3, f4 and f6 were analysed. Principal component analysis (PCA) was used to compare the recombinant allergens while clinical, biological and radiological characteristics were compared in multivariate analysis of covariance in inclusion and in follow-up phase.

Results: In PAC, the recombinants allergens were positively correlated; in analyse of covariance, total IgE and specific Asp m3 IgE detection were associated positively to the reactivity of each of the recombinant allergens; rAsp f2 IgE detection were positively correlated to the risk of exacerbation: $r=0,263$ 95%CI [0,36-0,84] $p=0,007$ at inclusion(M0) and $r=0,206$ 95%CI [0,07-0,34] $p=0,003$ in follow-up phase;. rAsp f4 IgE detection was also correlated positively to exacerbation in follow-up phase: $r=0,14$ 95%CI [0,01-0,5] $p=0,035$. Bronchoceles detected by CT were correlated positively to rAsp f4 IgE detection: $r=0,258$ 95%CI [0,01-0,5] $p=0,042$ et $r=0,230$ 95%CI [0,03-0,37] $p=0,02$ respectively at inclusion and follow-up phase. Finally, the detection of elevated IgE rAspf f2 more than 35,4kuA/L was predictive of exacerbations and the one of elevated IgE rAsp f4 more than 0,14kuA/L was predictive of occurrence of bronchoceles.

Conclusion: Some of recombinant allergens of *Aspergillus* seem to be useful for screening bronchopulmonary allergic aspergillosis with high risk of recurrent relapses.

Keywords: hypersensitivity to *Aspergillus*, bronchopulmonary allergic aspergillosis, immunoglobulin E, recombinant allergens of *Aspergillus*, exacerbation.

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

ABPA : aspergilloses broncho-pulmonaire allergique

APC : analyse en composante principale

BPCO : bronchopneumopathie chronique obstructive

CHRU : centre régional hospitalo-universitaire

CPT : capacité pulmonaire totale

CSI : corticostéroïdes inhalés

CVF : capacité vitale fonctionnelle

DEP : débit expiratoire de pointe

DLCO : diffusion libre du monoxyde de carbone

E coli : *Escherichia coli*

EFR : épreuves fonctionnelles respiratoires

GINA : *Global Initiative for Asthma*

HAS : Haute Autorité de Santé

IEP : immunoélectrophorèse

Ig : immunoglobulines

IL : interleukine

ISHAM : *International society of Human and animal Mycology*

NK : *Natural Killer*

rAsp f : antigène recombinant d'*Aspergillus fumigatus*

VEMS : volume expiratoire minute par seconde

TH : *T-Helper*

TABLE DE MATIERES

1	.INTRODUCTION.....	17
	GENERALITES	17
	ASPERGILLOSE BRONCHO-PULMONAIRE ALLERGIQUE	19
1.2.1	<i>Physiopathologie</i>	19
1.2.2	<i>Critères diagnostiques</i>	21
	LES IGE SPECIFIQUES ET LES ANTIGENES RECOMBINANTS	22
1.1	1.3.1 <i>Antigènes aspergillaires</i>	22
1.2	1.3.2 <i>Production des extraits totaux antigéniques Asp m3</i>	22
	1.3.3 <i>Production des antigènes recombinants rAsp f</i>	22
1.3	OBJECTIF DE L'ETUDE	23
2	.MATERIEL ET METHODES.....	24
1.4	POPULATION.....	24
	BIOLOGIE	24
2.1	DONNEES CLINIQUES	25
2.2	EPREUVES FONCTIONNELLES RESPIRATOIRES	25
2.3	IMAGERIE THORACIQUE	25
2.4	ETUDES STATISTIQUES	27
2.5		
2.6		
3	.RESULTATS	27
3.1	CARACTERISTIQUES CLINIQUES	27
3.2	CARACTERISTIQUES PARACLINIQUES	28
	3.2.1 <i>Biologie</i>	28
	3.2.2 <i>Epreuves fonctionnelles respiratoires</i>	28
3.3	3.2.3 <i>Imagerie</i>	28
3.4	ANALYSE EN COMPOSANTE PRINCIPALE	30
	ETUDE DE CORRELATION A M0 ET EN PHASE DE SUIVI.....	31
	3.4.1 <i>rAsp f1</i>	31
	3.4.2 <i>rAsp f2</i>	32
	3.4.3 <i>rAsp f3</i>	33
	3.4.4 <i>rAsp f4</i>	34
4.1	3.4.5 <i>rAsp f6</i>	36
4.2	3.4.6 <i>Exemple d'évolution des antigènes recombinants</i>	36
4.3		
4.4	.DISCUSSION	39
4.5		
4.6	DIAGNOSTIC D'HYPERSENSIBILITE A <i>ASPERGILLUS</i>	39
	INTERET DES EFR.....	40
	EXACERBATION D'ABPA ET CONTROLE DE L'ASTHME	40
	SEVERITE DE L'ATTEINTE BRONCHIQUE AU SCANNER.....	40
	LIMITATIONS DE L'ETUDE.....	41
	CONCLUSION	41
5	. BIBLIOGRAPHIE	42

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1. <i>Aspergillus fumigatus</i> en microscopie optique x100 (Argawal et al, British Society for Allergy and Clinical Immunology, août 2013)	17
Figure 2. Cycle naturel du champignon <i>Aspergillus fumigatus</i> (Gangneux J-P et al- Elsevier Masson, Maladies infectieuses, 2013.)	18
Figure 3. Physiopathologie de l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (Argawal et al, British Society for Allergy and Clinical Immunology, août 2013)	20
Figure 4. Cercle de corrélation, analyse en composante principale	30
Figure 5. Diagramme en bâton de l'analyse en covariance des IgE anti-rAsp f1	32
Figure 6. Courbe ROC des IgE anti-rAsp f4 chez les patients présentant des abcès ou saccules sur le scanner thoracique	35
Figure 7. Exemple de l'évolution des IgE dirigées contre les antigènes recombinants et des IgE spécifiques m3 chez une patiente âgée de neuf ans présentant une aspergillose broncho-pulmonaire allergique sur un terrain de mucoviscidose.	37
Figure 8. Scanner thoracique de la patiente âgée de neuf ans présentant aspergillose broncho-pulmonaire allergique sur un terrain de mucoviscidose.	38
Tableau 1. Critères diagnostiques de l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique, groupe ISHAM 2013	21
Tableau 2. Score de BHALLA CT modifié et simplifié (Judge et al. Chest 2006)(22).....	26
Tableau 3. Caractéristiques de la population	29
Tableau 4. Analyse de covariance pour les IgE anti-rAsp f1	31

Tableau 5. Analyse de covariance pour les IgE anti-rAsp f2.....	33
Tableau 6. Analyse de covariance pour les IgE anti-rAsp f3.....	34
Tableau 7. Analyse de covariance pour les IgE anti-rAsp f4.....	35
Tableau 8. Analyse de covariance pour les IgE anti-rAsp f6.....	36

1 .INTRODUCTION

Généralités

Retrouvé dans la terre, sur les plantes ou sur les débris végétaux en voie de putréfaction, les champignons du genre *Aspergillus* sont des moisissures filamenteuses ubiquitaires (1,2), saprophytes, et thermorésistantes pour quelques espèces (37-55°C). Ce genre représente 1 à 7% des champignons environnementaux. Structuellement, *Aspergillus* spp se compose de deux parties : un organe végétatif appelé mycélium, hyphe ou thalle, et un organe doué de multiplication asexuée appelé conidiophore composé d'un pied ou stipe qui se termine par des phialides produisant des spores; mesurant deux à trois micromètres (*figure 1*). Ces spores, ou conidies se propagent par voie aérienne, et leurs petites tailles leur confèrent la possibilité d'atteindre les alvéoles pulmonaires (3) (*figure 2*). La contamination de l'air ambiant est variable selon que l'on se trouve à l'intérieur ou à l'extérieur d'un bâtiment, selon le climat, les saisons, l'environnement, les mouvements d'air. La concentration moyenne de spores aspergillaires dans l'air est de 0,2 à 15 conidies /mm³, il en résulte que l'être humain inhale naturellement plusieurs centaines de conidies par jour (4)..



Figure 1. Aspergillus fumigatus en microscopie optique x100 (Argawal et al, British Society for Allergy and Clinical Immunology, août 2013)

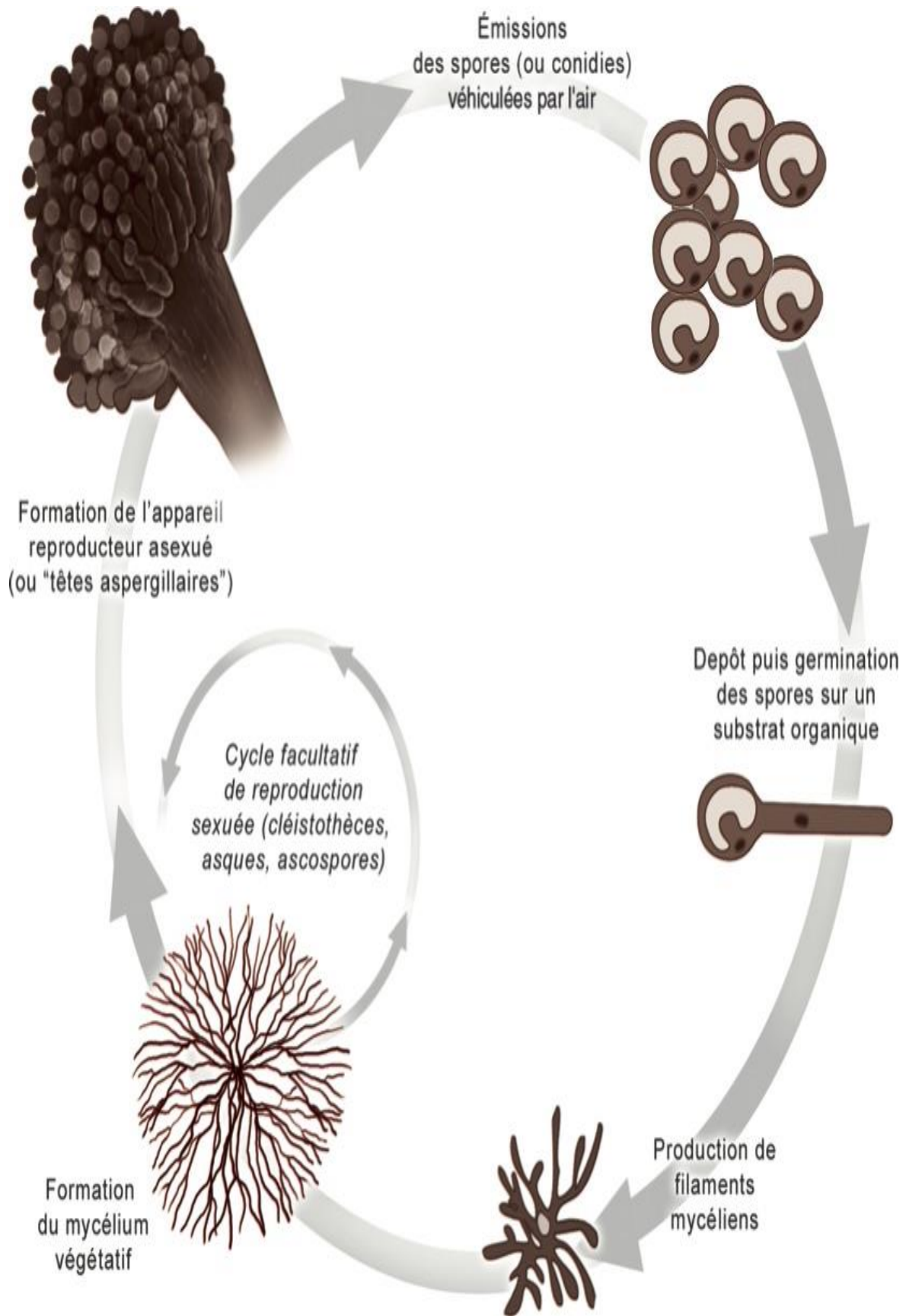


Figure 2. Cycle naturel du champignon *Aspergillus fumigatus* (Gangneux J-P et al- Elsevier Masson, Maladies infectieuses, 2013.)

Il existe 180 espèces d'*Aspergillus*, et très peu sont pathogènes pour l'Homme. Ce sont principalement *Aspergillus fumigatus* (responsable de 80-90% des atteintes fongiques respiratoires), puis *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. terreus* dans le reste des cas (2,4). Chez les patients immunodéprimés, ces espèces sont responsables de phénomènes invasifs, et chez les sujets à terrain allergique, de manifestations d'hypersensibilité (2,5).

La prévalence de l'hypersensibilité à *Aspergillus fumigatus* est estimée entre 6% à 39% selon une revue de la littérature réalisée par le groupe de travail ISHAM (*International society of Human and animal Mycology*) en 2013 (6). Les différentes manifestations d'hypersensibilités sont :

- les pneumopathies avec alvéolite allergique extrinsèque (médiée par les Immunoglobulines G ou IgG, réaction d'hypersensibilité de type III et IV).

- l'asthme aspergillaire chez 16 à 38% des asthmatiques (2,7), et dont le diagnostic repose sur l'association d'une clinique d'asthme et d'une élévation des IgE spécifiques ou d'une réaction immédiate au test cutané ou *prick test* positive (réaction d'hypersensibilité de type I).

- l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) qui est médiée par les IgE (réaction d'hypersensibilité de type I), par les IgG (type III) et par l'immunité cellulaire (type IV) (2,6). Sous-diagnostiquée, elle a une incidence estimée dans certains pays entre 4 et 14% chez les patients asthmatiques cortico-dépendants et 6% chez les patients atteints de mucoviscidose (2). Il y aurait plus de quatre millions de cas dans le monde selon les estimations (6) et 145 épisodes d'ABPA pour 100 000 habitants en France selon l'HAS en 2016, soit 95 361 cas. Cette pathologie peut également être retrouvée chez les patients présentant une bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), mais il existe peu de données épidémiologiques.^{1,2}

Aspergillose broncho-pulmonaire allergique

1.2.1 Physiopathologie

Décrite pour la première fois en 1952 par Hinson et al (8), l'ABPA est due, en partie, à une colonisation massive des bronches par les spores d'*Aspergillus* (9,10) qui activent tout d'abord l'immunité innée. Les macrophages phagocytent les spores, alors que les polynucléaires neutrophiles les détruisent par dégranulation et les cellules NK (*Natural Killer*) stimulent la voie *T-helper1* ou TH1. L'altération de la clairance muco-ciliaire à cause de l'inflammation locale favorise la prolifération fongique et la formation d'amas de filaments. Ce phénomène active secondairement une réponse immunitaire à orientation TH2

prédominante qui est responsable de l'élévation des interleukines 4 (IL-4) et 13 (IL 13) en phase aiguë entraînant la production d'IgE et d'interleukines 5 (IL 5). Les polynucléaires éosinophiles sont activés à la phase retardée (11) (12) (*figure 3*).

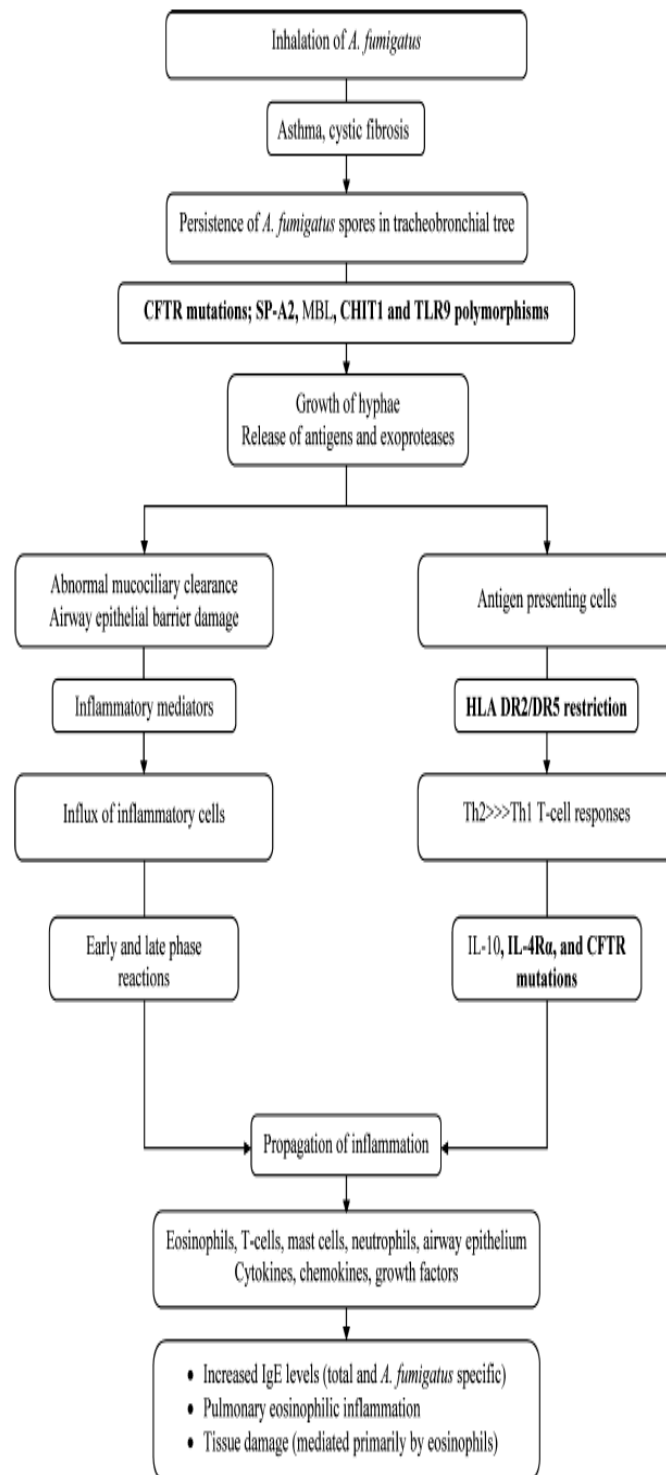


Figure 3. Physiopathologie de l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (Argawal et al, *British Society for Allergy and Clinical Immunology*, août 2013)

1.2.2 Critères diagnostiques

Le diagnostic d'ABPA repose sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et radiologiques (1) qui ont été révisés à plusieurs reprises (*tableau 1*). La dernière révision a été réalisée en 2013 par le groupe de travail ISHAM. Le diagnostic positif requiert la présence de trois critères majeurs : 1/terrain atopique ou asthme ; 2/IgE totales supérieures à 1000 ng/mL(ou 417 kUI/L) ; 3/IgE spécifiques anti-*Aspergillus* m3 supérieures à 0,35 kuA /L ou un test cutané positif. A ces critères majeurs, il faut associer au moins deux des trois critères mineurs parmi les suivants : 1/sérologie IgG anti-*Aspergillus* positive ; 2/présence ou antécédents de polynucléaires éosinophiles supérieurs à 500 par millimètre cube (mm³) ; 3/infiltrats pulmonaires à l'imagerie. Les images radiologiques les plus souvent décrites sont des bronchectasies avec ou sans impactions mucoïdes, des troubles de ventilation comme une perfusion en mosaïque, des nodules ou micronodules, des signes de fibrose (13).

Tableau 1. Critères diagnostiques de l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique, groupe ISHAM 2013

Predisposing conditions

Bronchial asthma, cystic fibrosis

Obligatory criteria (both should be present)

Type I *Aspergillus* skin test positive (immediate cutaneous hypersensitivity to *Aspergillus* antigen) or elevated IgE levels against *Aspergillus fumigatus*

Elevated total IgE levels (> 1000 IU/mL)*

Other criteria (at least two of three)

Presence of precipitating or IgG antibodies against *A. fumigatus* in serum

Radiographic pulmonary opacities consistent with ABPA[†]

Total eosinophil count > 500 cells/μL in steroid naïve patients (may be historical)

*If the patient meets all other criteria, an IgE value < 1000 IU/mL may be acceptable.

[†]The chest radiographic features consistent with ABPA may be transient (i.e. consolidation, nodules, tram-track opacities, toothpaste/finger-in-glove opacities, fleeting opacities) or permanent (i.e. parallel line and ring shadows, bronchiectasis and pleuropulmonary fibrosis).

Les IgE spécifiques et les antigènes recombinants

1.3.1 Antigènes aspergillaires

Une vingtaine d'antigènes aspergillaires ont été identifiés à ce jour (10), et leurs natures respectives sont de plusieurs types : polysaccharides, protéines ou glycoprotéines (principalement des enzymes de type élastase, protéase, catalase, dismutase et ribonucléase cytotoxiques). Les antigènes identifiés comme ayant une forte affinité pour les IgE spécifiques anti-AF sont Asp. f1, Asp. f2, Asp f3, Asp f4 et Asp f6, et sont principalement produits au stade hyphal du cycle aspergillaire (11).

1.3.2 Production des extraits totaux antigéniques Asp m3

Les IgE spécifiques m3 anti-*Aspergillus fumigatus* sont recherchées par immunodiagnostic direct ou indirect après mis en contact du sérum du patient avec des extraits totaux antigéniques (Asp m3). Ces extraits sont issus de cultures aspergillaires produites de façon non standardisée, induisant ainsi une grande variabilité des mélanges antigéniques entre souches puis entre lots. Il existe un manque de reproductibilité des antigènes issus de ces extraits totaux (14) qui contiennent à la fois des protéines, des glycoprotéines, des toxines, des carbohydrates et des composants inertes (10). Tous les antigènes contenus dans ses extraits ne sont pas spécifiques d'*Aspergillus* car il peut exister une contamination par d'autres antigènes fongiques. Les immunoglobulines y compris les IgE n'étant pas spécifiques de l'épitope d'un seul antigène, il en résulte des réactions croisées avec d'autres antigènes fongiques (HAS 2005), ce qui peut induire une interprétation erronée des résultats des IgE spécifiques déterminées à partir d'antigènes Asp m3.

1.3.3 Production des antigènes recombinants rAsp f

Pour pallier à l'hétérogénéité et au manque de reproductibilité des extraits totaux d'*Aspergillus fumigatus* utilisés pour le dosage des IgE Anti-Asp m3, des antigènes recombinants d'*Aspergillus fumigatus* produits par clonage dans *Escherichia coli* (*E. coli*) ont été développés depuis une vingtaine d'années (10,15). Les principaux antigènes recombinants commercialisés sont rAsp f 1, rAsp f 2, rAsp f 3, rAsp f 4 et rAsp f 6. Leur clonage consiste à extraire les ARN messagers de *Aspergillus fumigatus* issus d'une culture aspergillaire de 72 à 96 heures qui sont ensuite purifiés par chromatographie puis, via l'action d'une transcriptase inverse sont rétro-transcrits en ADN. Ces ADN sont transférés dans *E. coli* après sélection des gènes d'intérêt pour permettre la production des antigènes recombinants. L'utilisation de ces principaux antigènes permet en théorie d'améliorer la sensibilité et la spécificité de la

détection des IgE anti-AF, et donc d'améliorer le diagnostic et le suivi des patients notamment dans l'ABPA (16).

rAsp f1 est une protéine recombinante de type ribotoxine de 18 kDa, et un allergène majeur produit au stade hyphal et non au stade de spores d'*Aspergillus fumigatus*. Il n'est pas retrouvé chez les autres espèces d'*Aspergillus* (15,17) ce qui lui confère une bonne spécificité théorique.

rAsp f2 est un des allergènes majeurs d'*Aspergillus fumigatus*, et une protéine recombinante de 37 kDa. D'après les données préliminaires, plus de 90% des patients présentant une hypersensibilité aspergillaire semblent avoir des IgE spécifiques dirigées contre Asp f2.(18)

rAsp f3 est une protéine recombinante peroxysomale de 19kDa. Certaines études ont montrées des similitudes avec des protéines peroxysomales de *Candida boidinii* ou de *Malassezia furfur* (19) mais elles gardent une bonne spécificité dans le diagnostic de l'hypersensibilité à *Aspergillus*.

rAsp f4 est une protéine recombinante de 30kDa dont la fonction biologique reste indéterminée ce jour.

rAsp f6 est une protéine recombinante de 26kDa qui appartient à la famille des manganèse superoxide dismutases (MnSOD). D'après les premiers essais, elle semble avoir une bonne spécificité dans le diagnostic des ABPA, proche de 100% dans une étude réalisée par Hemmann S et al en 1999 (20).

La performance diagnostique de ces antigènes recombinants chez les patients asthmatiques ou chez les patients ayant une mucoviscidose avec ou sans ABPA a été évaluée dans plusieurs études avec une bonne spécificité variant entre 90 et 100% (15). Cependant à ce jour, la recherche d'IgE dirigées contre ces antigènes recombinants n'a pas été officiellement retenue comme critère diagnostique. Finalement, les antigènes recombinants demeurent peu utilisés en pratique clinique. De plus, il n'existe pas de données dans la littérature évaluant la valeur pronostique de la réactivité sérique vis-à-vis de ces antigènes recombinants, notamment pas d'étude évaluant l'association avec la symptomatologie, l'évolution clinique, ou les examens complémentaires des patients présentant une hypersensibilité à AF, notamment dans l'ABPA.

Objectif de l'étude

L'objectif de l'étude était de rechercher une association entre les IgE spécifiques dirigées contre les allergènes recombinants rAsp f1, rAsp f2, rAsp f3, rAsp f4 et rAsp f6, et les caractéristiques biologiques, cliniques et radiologiques de patients présentant une

hypersensibilité aspergillaire notamment chez les patients atteints d'ABPA tant en phase diagnostique qu'en phase de suivi.

2 .MATERIEL ET METHODES

Il s'agissait d'une étude de cohorte analytique, monocentrique réalisée au centre hospitalier et universitaire de Tours entre mai 2015 et juillet 2017.

Population

Les patients présentant une hypersensibilité à *Aspergillus fumigatus* pris en charge au centre hospitalier et universitaire de Tours en consultation ou en hospitalisation dans les services de ^{2.1}pneumologie, d'allergologie ou de pédiatrie étaient inclus quel que soit leur âge et leur sexe. Les critères d'inclusion étaient l'atopie définie par des IgE spécifiques m3 supérieures à 0,1kuA/L, l'asthme aspergillaire défini par un asthme associé à *un prick test* ou des IgE spécifiques m3 positives ou une ABPA définie par les critères diagnostiques du groupe ISHAM associés ou non à une mucoviscidose(6). Tous les patients inclus étaient suivis selon un rythme défini par le médecin référent indépendamment de l'étude et selon la pathologie présentée.

2.2 Biologie

Les IgE spécifiques m3 et des IgE spécifiques dirigées contre les antigènes recombinants rAsp f1, rAsp f2, rAsp f3, rAsp f4, rAsp f6 (Thermo Fisher Scientific) étaient dosées dans le sérum à chaque visite, M0 étant la date de l'inclusion et du premier prélèvement. La méthode utilisée pour la détermination des IgE spécifiques m3 et des IgE dirigées contre les antigènes recombinants était l'immunodosage de type sandwich ou IMMUNOCAP (PHADIA THERMO FISHER). L'analyse était réalisée sur un analyseur PHADIA 250. En pratique les antigènes étaient fixés sur un dérivé cellulosique enfermé dans une capsule. Les IgE spécifiques contenues dans le sérum des patients se fixaient aux antigènes présents sur la mousse cellulosique. La présence des IgE spécifiques était révélée par des anticorps anti-IgE qui se fixaient aux IgE spécifiques. Ces anticorps anti IgE étaient marqués par une enzyme libérant un composé fluorescent. Le degré de fluorescence était évalué puis converti en concentration *via* une courbe de calibration. Les résultats des IgE spécifiques étaient exprimés en kuA/L. D'après le fabricant, le seuil de positivité des IgE spécifiques m3 était de 0,1 kuA/L et des IgE spécifiques dirigées contre les antigènes recombinants de 0,1 kuA/L.

Les résultats des IgE totales, de la sérologie aspergillaire, du taux d'éosinophiles sanguin en nombre par mm³ ont été répertoriés. Les IgE totales étaient également déterminées par

IMMUNOCAP, étaient exprimées en kUI/L, et le seuil de positivité était de 114 kUI/L. La sérologie aspergillaire était déterminée par technique ELISA par l'analyseur MULISKANFC- (THERMO SCIENTIFIC), en utilisant les kits de réactifs MASTAZYME- ELISA ASPERGILLUS FUMIGATUS (MAST DIAGNOSTICA GmbH), puis confirmée par immunoélectrophorèse (IEP) en utilisant des extraits totaux antigéniques ASPERGILLUS ID POS CNTRL (IMMY) ; l'analyseur utilisé était le CONSORT E865 à voltage 595. Le seuil de positivité pour la technique ELISA était de 25 UA/ml. Les résultats d'immunoélectrophorèse étaient exprimés en nombre d'arc de précipitation.

Données cliniques

Les données répertoriées étaient l'âge, le sexe, la présence de toux, de dyspnée, d'expectorations, le terrain atopique, l'antécédent de mucoviscidose, la présence d'une ABPA selon les critères du groupe ISHAM, la présence d'un asthme, le contrôle de l'asthme selon la classification du *Global Initiative for Asthma* GINA (contrôlé, partiellement contrôlé ou non contrôlé). Nous avons classé le contrôle de l'asthme en deux variables : asthme contrôlé et asthme non contrôlé (qui regroupe les patients présentant un asthme partiellement contrôlé et non contrôlé). L'exacerbation était définie par une majoration des symptômes cliniques nécessitant une modification des traitements habituels ou une hospitalisation.

La présence d'un traitement par corticostéroïdes inhalés (CSI), corticoïdes oraux ou omalizumab étaient des données prises en compte dans notre étude.

2.4

Epreuves fonctionnelles respiratoires

Les épreuves fonctionnelles respiratoires ou EFR (pléthysmographie et mesure du transfert du monoxyde de carbone) ou le débit expiratoire de pointe (DEP) chez les patients asthmatiques permettaient une évaluation fonctionnelle des patients. Le volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) pré- et post-bronchodilatateur, la capacité vitale fonctionnelle (CVF), le rapport de Tiffeneau (VEMS/CVF), la capacité pulmonaire totale (CPT) et la diffusion libre du monoxyde de carbone (DLCO) étaient répertoriés.

2.5

Imagerie thoracique

Un scanner thoracique était réalisé principalement chez les patients présentant une ABPA dans le cadre du bilan du diagnostic ou du suivi. L'atteinte bronchique était évaluée par le score de BHALLA CT modifié que nous avons simplifié (coté de zéro à trente-trois). Les items évalués par le score étaient la sévérité et l'extension des dilatations de bronches, la sévérité de l'épaississement bronchique, les impactions mucoïdes, les abcès et les saccules, les

bulles, les troubles de ventilation, les micronodules, la perfusion en mosaïque, le verre dépoli et l'épaississement des septa. Chacun de ces onze items étaient cotés de zéro à trois, zéro correspondant à l'absence d'anomalie, trois à une atteinte très sévère et diffuse (*tableau 2*). Un score entre zéro et onze correspondait à une atteinte légère, entre onze et vingt-deux à une atteinte modérée, entre vingt-deux et trente-trois à une atteinte sévère.

Tableau 2. Score de BHALLA CT modifié et simplifié (Judge et al. Chest 2006)(22)

CT Abnormalities	Score			
	0	1	2	3
Severity of bronchiectasis	Absent	Lumen slightly greater than adjacent vessel	Lumen 2 to 3 X adjacent vessel	Lumen > 3 X adjacent vessel
Peribronchial thickening	Absent	Airway wall thickness equal to adjacent vessel	Airway wall thickening ≤ 2 X adjacent vessel	Airway wall thickening > 2 X adjacent vessel
Extent of bronchiectasis (BPS)	Absent	1-5	6-9	> 9
Extent of mucous plugging (BPS)	Absent	1-5	6-9	> 9
Sacculations/abscesses (EPS)	Absent	1-5	6-9	> 9
Generations of bronchial divisions	Absent	Up to fourth generation	Up to fifth generation	Up to sixth generation
No. of bullae	Absent	Unilateral	Bilateral	> 4
Emphysema (BPS)	Absent	1-5	> 5	
Collapse/consolidation	Absent	Subsegmental	Segmental/lobar	
Mosaic perfusion*	Absent	1-5	> 5	
Air trapping*	Absent	1-5	> 5	
Acinar nodules*	Absent	Subsegmental/segmental	Lobar	
Thickening of intralobular septae*	Absent	Subsegmental/segmental	Lobar	Diffuse (> 1 lobe)
Ground glass*	Absent	Subsegmental/segmental	Lobar	Diffuse (> 1 lobe)

*Modifications to the original Bhalla score. BPS = bronchopulmonary segments.

Etudes statistiques

Une analyse en composante principale (APC) a été réalisée pour comparer visuellement la réactivité vis-à-vis des différents antigènes recombinants entre eux en utilisant un cercle de corrélation déterminée par une matrice composée de coefficient de corrélation de Pearson et par la méthode de projection. Une analyse univariée et multivariée par covariance avec un risque alpha à 0,05 et un intervalle de confiance fixé à 95% ont permis de mesurer l'association entre la réactivité aux antigènes recombinants, et les différentes variables quantitatives et qualitatives à la visite M0, puis en phase de suivi. Le coefficient de corrélation normalisé déterminé permettait d'évaluer la présence d'une association positive ou négative entre les IgE dirigées contre les antigènes recombinant et les différentes variables (positive si supérieur à 0 ; négative si inférieur). La significativité statistique était définie par un intervalle de confiance ne comprenant pas zéro. Une courbe ROC (*receiver operating characteristic*) a été réalisée pour déterminer la performance diagnostique des IgE dirigées contre les antigènes recombinants pouvant avoir un intérêt en pratique.

Le logiciel utilisé pour l'ensemble des analyses est la version 18.06 du XLSTAT PREMIUM (ADDINSOFT).

3 .RESULTATS

Les caractéristiques cliniques et paracliniques des patients sont détaillées dans le *tableau 3*.
3.1

Caractéristiques cliniques

Cent-quatre patients dont 49 femmes (47%) et 55 hommes (53%) ont été inclus entre mai 2015 et juillet 2017. L'âge moyen des patients était de 46 ans [41-51] avec un âge minimal de quatre ans et un âge maximal de 90 ans, 10 patients avaient un âge inférieur à 18 ans. Vingt-neuf patients (27,8%) présentaient une ABPA dont six (20%) étaient atteints de mucoviscidose. Trente-deux patients (31 %) avaient une mucoviscidose, 89 patients (86%) un asthme ou bronchospasme. La toux était présente chez 83 patients (79,8%), la dyspnée chez 85 patients (81,7%) et les expectorations chez 73 patients (70,2%). Concernant le contrôle de l'asthme, 62 patients (69,7%) présentaient un asthme non contrôlé, 27 (30,3%) un asthme contrôlé. Trente-quatre patients présentant un asthme ou une ABPA (35,4%) étaient en phase d'exacerbation à l'inclusion. Un traitement par un corticoïde oral était présent chez 33 patients (32%) dont 17 patients ayant une ABPA, un traitement par CSI chez 86 patients (83,5%) et un traitement par omalizumab chez trois patients (2,8%). Soixante-six patients

(principalement les patients présentant une atopie ou un asthme) ont eu un seul prélèvement au cours de l'étude. La durée maximale de suivi dans le cadre de l'étude était de 24 mois et la durée minimale de suivi de quatre mois.

Caractéristiques paracliniques

3.2.1 Biologie

Cent-quatre prélèvements évaluant les IgE dirigées contre les antigènes rAsp f1, f2, f3, f4, f6 et les IgE m3 ont été analysés à l'inclusion, et un total de 288 prélèvements ont été testés sur l'ensemble de l'étude. Le taux moyen d'IgE spécifiques m3 était de 9,7 kuA/L [6,27-13,13]. Le taux moyen des IgE totales et d'éosinophiles sanguin étaient de 1838kUI/L [1083-2594] et de 421/mm³ [339,9-502,2] respectivement. Quarante-sept patients (51,6%) avaient des IgE totales >417 kUI/L à l'inclusion. Soixante-dix-huit patients (77,2%) à M0 avaient un taux d'IgE m3 >0,35 kuA/L.

3.2.2 Epreuves fonctionnelles respiratoires

Soixante-onze mesures de spirométrie étaient disponibles à l'inclusion, les moyennes du rapport de Tiffeneau et du VEMS à l'inclusion étaient de 61,7% [57,5-66] et 67,3% [60,2-74,4] respectivement. Quarante patients avaient un trouble ventilatoire obstructif avec un rapport de Tiffeneau inférieur à 70% parmi lesquels 29 patients (41%) avaient un VEMS supérieur à 80%, 23 patients (32%) un VEMS entre 80 et 50%, 12 patients (17%) un VEMS entre 50 et 30%, sept patients (10%) un VEMS inférieur à 30%. Trente-quatre mesures de CPT étaient disponibles avec une moyenne 116,2% [108,7-123,9]. Treize patients avaient une distension thoracique avec une CPT>120%, trois patients un syndrome restrictif avec une CPT<80% et 18 une CPT normale.

3.2.3 Imagerie

Un scanner thoracique avait été réalisé chez 45 patients à M0. Le score moyen de BHALLA CT modifié et simplifié était de 8 [7,2-10,1], 30 patients avaient un score inférieur à 11, 15 patients un score entre 11 et 22, aucun patient n'avait un score supérieur à 22.

Tableau 3. Caractéristiques de la population

Population n=104		n(%) ou moyenne, IC 95%
Age années		46, [41,4- 51,6]
Sexe	féminin	49 (47%), [37,5-56,7]
	masculin	55 (53%), [43,2-62,4]
Terrain	atopique	82 (79%), [71,9-87,4]
	mucoviscidose	32 (31,1 %), [22,1-40]
	ABPA*	29 (27,8%), [19,2-36,5]
	asthme / bronchospasme	89 (86%), [80,7-93,7]
	asthme contrôlé	28 (33,3%), [19,5-37,8]
	asthme non contrôlé	62 (69,3%), [62,1-80,4]
Clinique	toux	83 (79,8%), [72,1-87,5]
	expectorations	73 (70,2%), [61,4-78,9]
	dyspnée	85 (81,7%), [74,3-89,1]
	exacerbation	34 (35,4%), [25,8-44,9]
Traitement	corticoïdes oraux	33 (32%), [23-41]
	corticostéroïdes inhalés	86 (83%), [76-90]
	omalizumab	3-2,9%, [0-6,1]
Biologie	IgE Totales	1838, [1083-2594]
	>417 kUI/L	47 (51,6 %), [41,3-61,9]
	IgE spécifiques Af m3	9,7, [6,27-13,13]
	>0.35 kUa/L	78 (77,2%), [69-85,4]
	sérologie aspergillaire positive(Elisa)	30 (36,6%), [26,1-47]
	arcs (IEP)	0,8, [0,5-1,1]
	éosinophiles > 500/mm3	421, [339,9-502,2] 38 (38,7%), [29,1 - 48,9]
Epreuves fonctionnelles respiratoires	VEMS/CV %	61,7, [57,5-66]
	VEMS** %	67,3, [60,2-74,4]
	CVF %	88,6, [82,6-94,6]
	CPT%***	116,2, [108,7-123,9]
	DLCO%	65,6, [43,8-87,4]
	DEP	335,4,[243-427]
Imagerie	score BHALLA CT modifié****	8,68, [7,2-10,1]

n : nombre de patients, IC 95 : intervalle de confiance à 95%

* six de ces patients présentaient une ABPA

**71 mesures étaient disponibles à l'inclusion

***34 mesures étaient disponibles à l'inclusion

**** 45 scanners étaient disponibles à l'inclusion

Analyse en composante principale

Par méthode de projection, les variables ont été représentées dans deux dimensions : F1 étant la première dimension de l'ACP représentait 68,60% des données et F2 la deuxième dimension de l'ACP représentait 13,35% des données. Cumulées, ces deux dimensions représentaient 81,95% des données. Selon le cercle de corrélation (*figure 4*), l'ensemble des antigènes recombinants étaient en corrélation positive

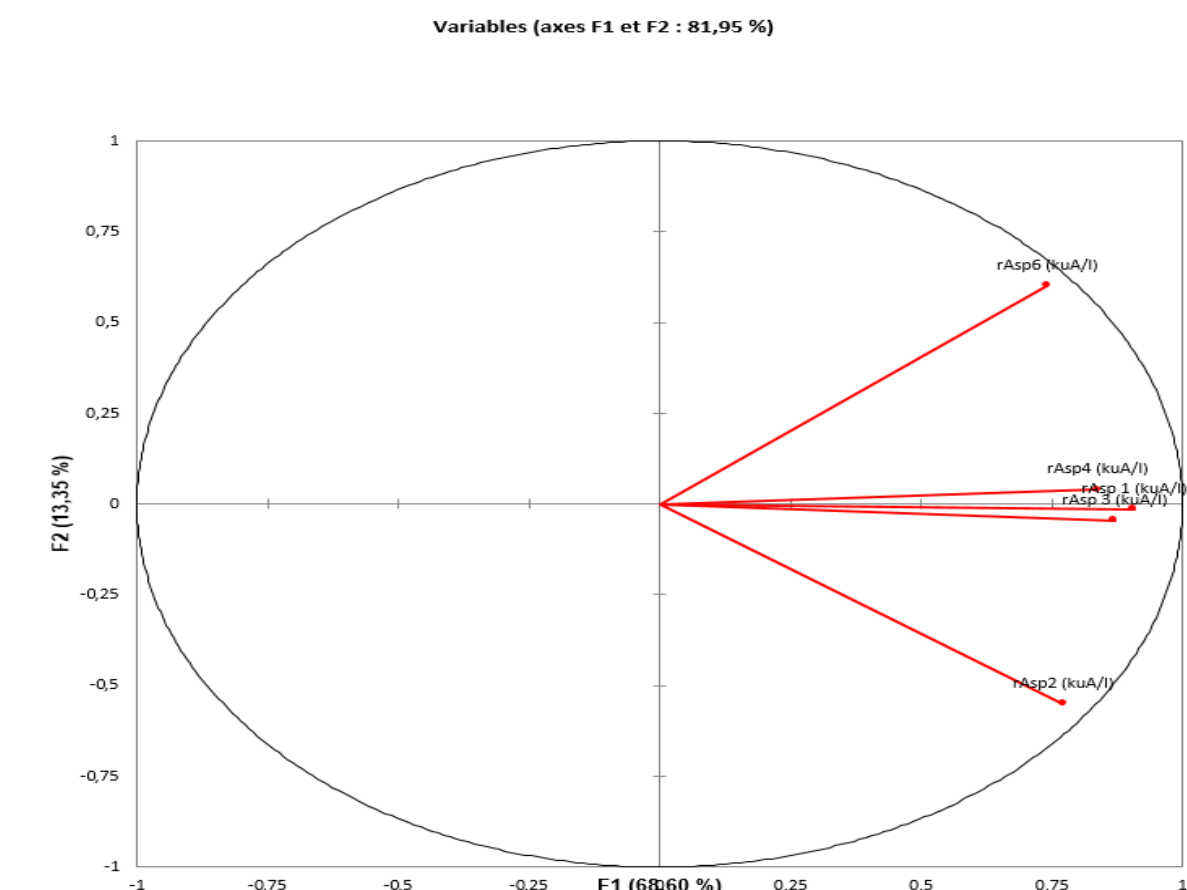


Figure 4. Cercle de corrélation, analyse en composante principale

F1=axe horizontal=première dimension dans laquelle 68,60% des informations sont représentées.

F2=axe vertical=deuxième dimension dans laquelle 13,35% des informations sont représentées

— Variables

La présence d'une association positive entre variables est représentée par un angle aigu, l'absence d'association par un angle droit et l'association négative par un angle obtu.

Etude de corrélation à M0 et en phase de suivi

L'élévation des IgE totales et celle des IgE spécifiques m3 étaient corrélées de façon positive, et significative aux IgE dirigées contre l'ensemble des antigènes recombinant à M0 et en phase de suivi.

3.4

3.4.1 rAsp f1

Les IgE dirigées contre rAsp f1 étaient corrélées de façon positive et significative à la présence d'arcs de précipitation déterminés par immunoélectrophorèse et de façon négative à la sérologie aspergillaire déterminée par ELISA avec un coefficient de corrélation normalisé (r) à 0,346 IC 95% [0,09-0,59] $p=0,008$ à M0, 0,384 IC 95% [0,11-0,65] $p=0,006$ en phase de suivi, et -0,261 IC 95% [-0,44- -0,07] $p=0,006$ à M0, -0,319 IC 95% [-0,53- -0,09] $p=0,005$ en phase de suivi respectivement. Les coefficients de corrélation positive entre les IgE anti-rAsp f1 et les IgE totales étaient: $r=0,263$ IC 95% [0,11-0,41] $p=0,001$ à M0, $r=0,22$ IC 95% [0,06-0,37] $p=0,007$ en phase de suivi, et ceux entre les IgE anti-rAsp f1 et les IgE spécifiques m3 étaient : $r=0,895$ IC 95% [0,73-1,05] $p<0,0001$ à M0 et $r=0,71$ IC 95% [0,54-0,88] $p<0,0001$ en phase de suivi (tableau 4 ; figure 5)

Tableau 4. Analyse de covariance pour les IgE anti-rAsp f1

Variables	Phase pris en charge	Coefficient corrélation	IC 95%	p
Terrain atopique	M0	-0.068	[-0,05-0,19]	0,28
	Suivi	--	--	--
Asthme /bronchospasme	M0	0,05	[-0,05-0,15]	p 0,28
	Suivi	--	--	--
ABPA	M0	-0,007	[-0,15-0,14]	p 0,92
	Suivi	--	--	--
Exacerbation	M0	0,064	[-0,05-0,18]	0,30
	Suivi	-0,07	[-0,21-0,07]	0,33
IgE spécifiques m3	M0	0,895	[0,73-1,05]	<0,0001
	Suivi	0,71	[0,54-0,88]	<0,0001
IgE totales	M0	0,263	[0,11-0,41]	0,001
	Suivi	0,22	[0,06-0,37]	0,007
Sérologie aspergillaire positive (ELISA)	M0	-0,261	[0,09-0,59]	0,006
	Suivi	-0,319	[0,11-0,65]	0,006
Présence d'Arcs de précipitation (IEP)	M0	0,346	[0,09-0,59]	0,008
	Suivi	0,384	[0,11-0,65]	0,006

IC95% : intervalle de confiance à 95% ; M0 : inclusion ; **Gras** : résultats statistiquement significatifs

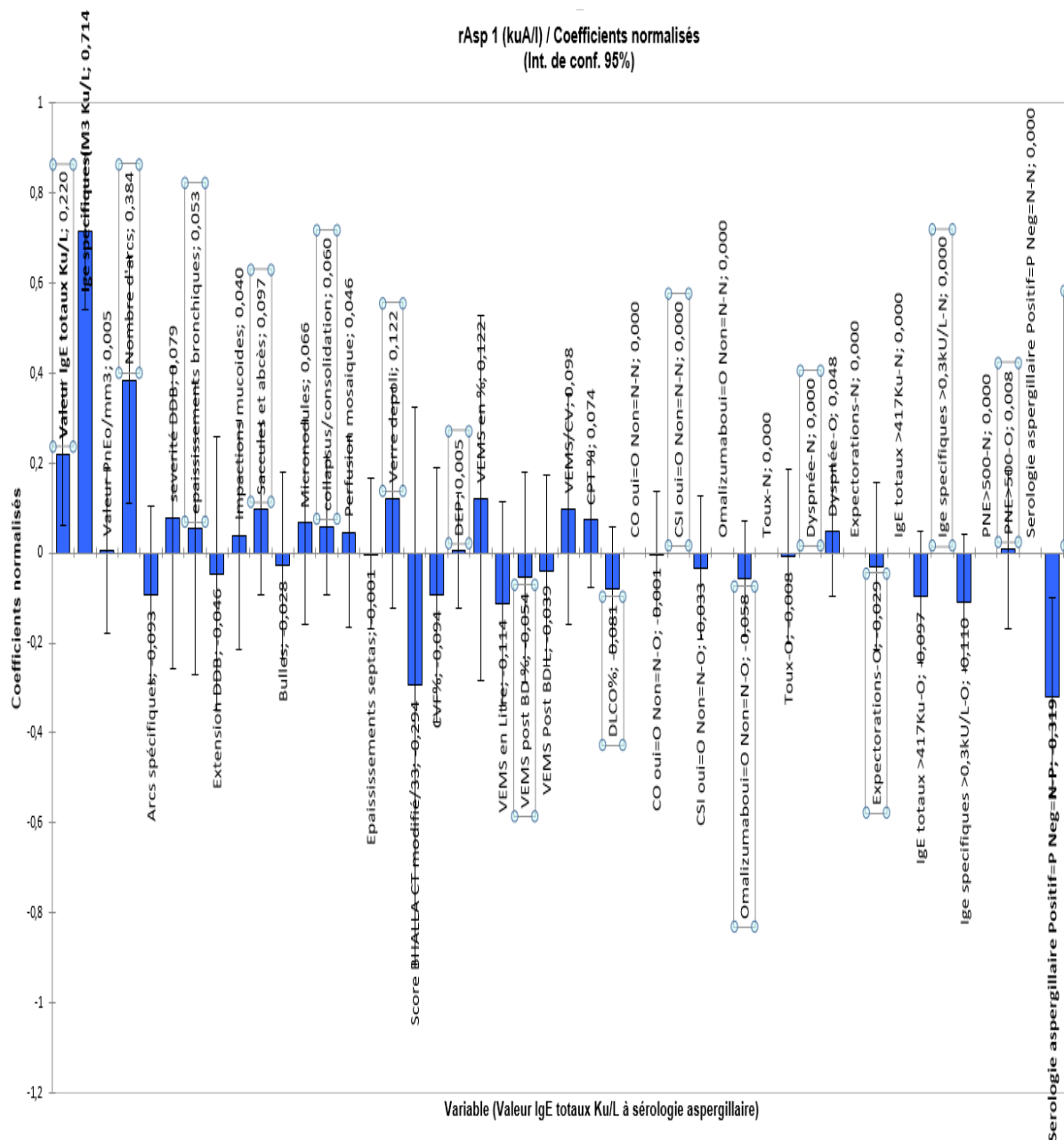


Figure 5. Diagramme en bâton de l'analyse en covariance des IgE anti-rAsp f1

3.4.2 rAsp f2

Les IgE dirigées contre rAspf2 étaient corrélées de façon positive et significative à l'exacerbation (asthme ou ABPA), $r=0,263$ IC 95% [0,07-0,45] $p=0,007$ à M0, $r=0,206$ IC 95% [0,07-0,34] $p=0,003$ en phase de suivi. L'étude de la performance diagnostique de rAsp f2 chez les patients en exacerbation en phase de suivi a été réalisée via une courbe ROC qui retrouvait un seuil prédictif de l'exacerbation de 35,4kuA/L avec une spécificité de 93,2% et une sensibilité de 17,2%. L'AUC était inférieure à 0,5 soit 0,464 IC 95% [0,36-0,56]. Les coefficients de corrélation positive entre les IgE anti-rAsp f2 et les IgE totales étaient : $r=0,255$ IC 95% [0,11-0,41] $p=0,03$ à M0, $r=0,224$ IC 95% $p=0,003$ en phase de suivi, et ceux

entre les IgE anti-rAsp f2 et les IgE spécifiques m3 étaient: $r=0,605$ IC 95% [0,36-0,84] $p<0,0001$ à M0 et $r= 0,714$ IC 95% [0,07-0,37] $p<0,0001$ en phase de suivi (tableau 5) .

Tableau 5. Analyse de covariance pour les IgE anti-rAsp f2

Variables	Phase pris en charge	Coefficient corrélation	IC 95%	p
Terrain atopique	M0	-0,094	[-0,28-0,09]	0,32
	Suivi	--	--	--
Asthme /bronchospasme	M0	0,034	[-0,13-0,20]	0,68
	Suivi	--	--	--
ABPA	M0	0,113	[0,115-0,34]	0,32
	Suivi	--	--	--
Exacerbation	M0	0,263	[0,07-0,45]	0,007
	Suivi	0,206	[0,07-0,34]	0,003
IgE spécifiques m3	M0	0,605	[0,36-0,84]	$<0,0001$
	Suivi	0,714	[0,54-0,88]	$<0,0001$
IgE totales	M0	,255	[0,02-0,48]	0,03
	Suivi	0,224	[0,07-0,37]	0,003

3.4.3 rAsp f3

Les IgE anti-rAsp f3 étaient corrélées de façon positive et significative au terrain atopique, $r=0,181$ IC 95% [0,02-0,34] $p=0,029$. Elles étaient également corrélées positivement et de façon significative à la présence de verre dépoli et de bulles au scanner thoracique, $r=0,411$ IC 95% [0,10-0,71] $p=0,09$ et $r=0,315$ IC 95% [0,088-0,54] $p=0,007$ à M0 respectivement, mais ces associations n'étaient pas retrouvées en phase de suivi. Une association négative à la sérologie aspergillaire était retrouvée, $r= -0,24$ IC 95% [-0,47- -0,004] $p=0,047$ à M0 mais pas en phase de suivi. Les coefficients de corrélation positive entre les IgE anti-rAsp f3 et les IgE totales étaient: $r=0,39$ IC 95% [0,19-0,58] $p<0,0001$ à M0, $r=0,205$ IC 95% [0,02-0,38] $p=0,02$ en phase de suivi, et ceux entre les IgE anti-rAsp f3 et les IgE spécifiques m3 étaient: $r=0,537$ IC 95% [0,334-0,74] $p<0,0001$ à M0 et $r=0,484$ IC 95% [0,28-0,68] $p<0,0001$ en phase de suivi (tableau 6).

Tableau 6. Analyse de covariance pour les IgE anti-rAsp f3

Variables	Phase pris en charge	Coefficient corrélation	IC 95%	p
Terrain atopique	M0	0,181	[0,02-0,34]	0,029
	Suivi	--	--	--
Asthme /bronchospasme	M0	-0,036	[-0,19-0,12]	0,90
	Suivi	--	--	--
ABPA	M0	0,139	[-0,05-0,33]	0,15
	Suivi	--	--	--
Exacerbation	M0	0,016	[-0,14-0,17]	0,84
	Suivi	0,067	[-0,009-0,23]	0,42
IgE spécifiques m3	M0	0,537	[0,334-0,74]	p <0,0001
	Suivi	0,484	[0,28-0,68]	p<0,0001
IgE totales	M0	0,39	[0,19-0,58]	<0,0001
	Suivi	0,205	[0,02-0,38]	0,025
Sérologie aspergillaire positive (ELISA)	M0	-0,24	[-0,47- -0,004]	p 0,047
	Suivi	-0,167	[-0,41-0,08]	0,48
Présence d'Arcs de précipitation (IEP)	M0	0,26	[-0,06-0,58]	0,11
	Suivi	0,234	[0,21-0,25]	0,66
Bulles	M0	0,315	[0,088-0,54]	0,007
	Suivi	0,024	[0,21-0,25]	0,84
Verre dépoli	M0	0,411	[0,10-0,71]	0,009
	Suivi	-0,001	[-0,28-0,27]	0,84
Score de BHALLA CT	M0	-0,114	[-0,82-0,59]	0,74
	Suivi	0,41	[-0,29-1,11]	0,25

3.4.4 rAsp f4

Les IgE anti-rAsp f4 étaient corrélées de façon positive et significative à l'exacerbation, $r=0,14$ IC 95% [0,01-0,27] $p=0,035$ en phase de suivi mais la significativité statistique n'était pas retrouvée à M0. Elles étaient également corrélées positivement à la présence de saccules ou abcès au scanner thoracique, $r=0,258$ IC 95% [0,01-0,50] $p=0,042$ à M0 et $r=0,230$ IC 95% [0,03-0,37] $p=0,02$ en phase de suivi. La courbe ROC (*figure 6*) retrouvait une aire sous la courbe à 0,780 IC 95% [0,63-0,93] et un seuil prédictif de l'apparition d'abcès ou de saccules au scanner de 0,14 kuA/L avec une spécificité de 58,6% et une sensibilité de 85,7%. Les coefficients de corrélation positive entre les IgE anti-rAsp f4 et les IgE totales étaient: $r=0,31$ IC 95% [0,06-0,55] $p=0,01$ à M0 et $r=0,259$ IC 95% [0,11-0,40] $p=0,0001$ en phase de suivi ,et ceux entre les IgE anti-rAsp f4 et les IgE spécifiques m3 étaient: $r=0,516$ IC 95% [0,26-0,77] $p<0,0001$ à M0 et $r=0,68$ IC 95% [0,52-0,83] $p<0,0001$ en phase de suivi (*tableau 7*).

Tableau 7. Analyse de covariance pour les IgE anti-rAsp f4

Variables	Phase pris en charge	Coefficient corrélation	IC 95%	p
Terrain atopique	M0	0,078	[-0,28-0,12]	0,44
	Suivi	--	--	--
Asthme /bronchospasme	M0	0,08	[-0,08-0,25]	0,30
	Suivi	--	--	--
ABPA	M0	0,198	[-0,044-0,44]	0,107
	Suivi	--	--	--
Exacerbation	M0	-0,03	[-0,23-0,17]	0,76
	Suivi	0,14	[0,01-0,27]	0,035
IgE spécifiques m3	M0	0,516	[0,26-0,77]	<0,0001
	Suivi	0,68	[0,52-0,83]	<0,0001
IgE totales	M0	0,31	[0,06-0,55]	<0,0001
	Suivi	0,259	0,11-0,40]	0,0001
Saccules-abcès	M0	0,258	[0,01-0,50]	0,042
	Suivi	0,230	[0,03-0,37]	0,02

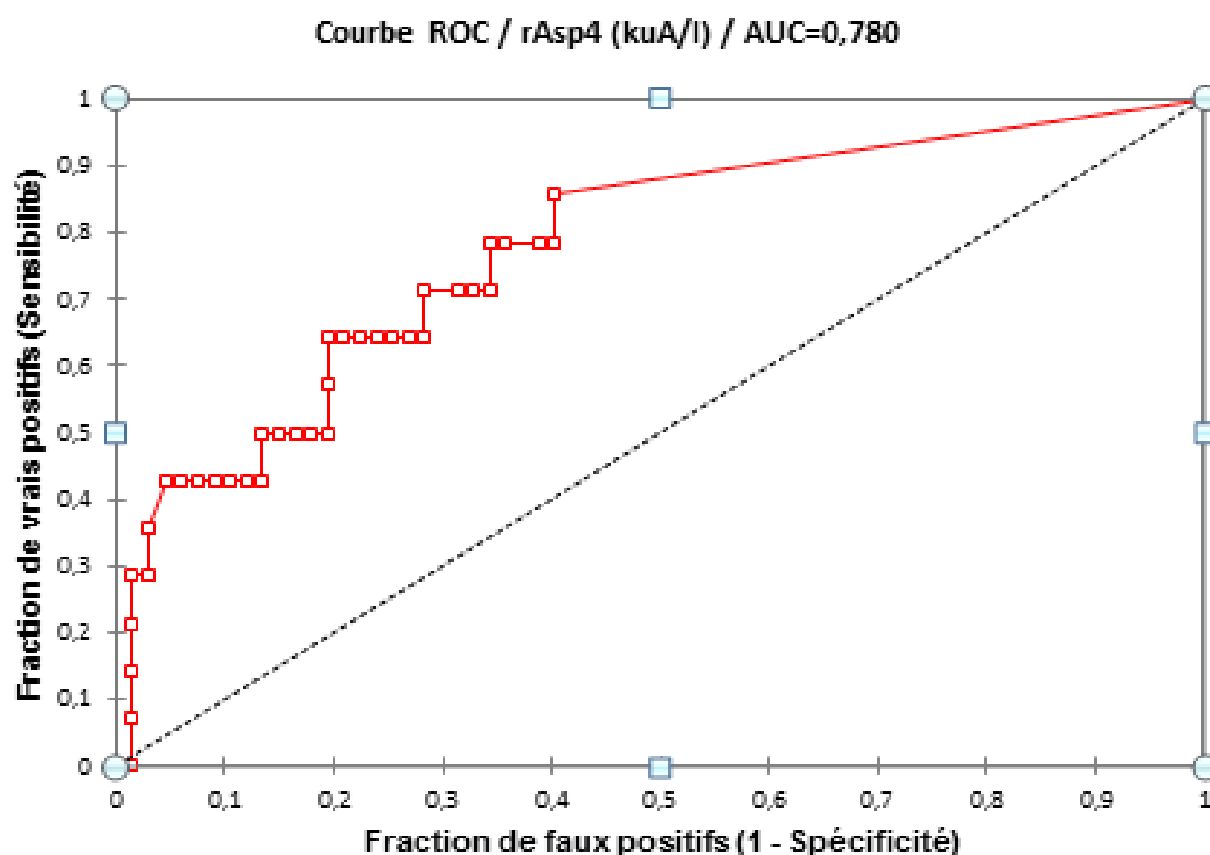


Figure 6. Courbe ROC des IgE anti-rAsp f4 chez les patients présentant des abcès ou saccules sur le scanner thoracique

3.4.5 rAsp f6

Les IgE anti-rAsp 6 étaient associées positivement et de façon significative au terrain atopique, $r=0,162$ IC 95% [0,01-0,31] $p=0,035$. Elles étaient également associées à la présence d'arcs de précipitation déterminés par IEP, $r=0,51$ IC 95% [0,21-0,82] $p=0,01$ à M0 et $r=0,258$ IC 95% [0,14-0,68] $p=0,005$ en phase de suivi, et à l'éosinophilie sanguine supérieure à 500/mm³, $r=0,411$ IC 95% [0,07-0,43] $p=0,03$ en phase de suivi. Les coefficients de corrélation positive entre les IgE anti-rAsp f6 et les IgE totales étaient: $r=0,76$ IC 95% [0,57-0,94] $p<0,0001$ à M0, et $r=0,609$ IC 95% [0,45-0,76] $p<0,0001$ en phase de suivi, et les IgE anti-rAsp f6 étaient corrélées positivement aux IgE spécifiques m3, $r=0,261$ IC 95% [0,07-0,45] $p=0,008$ à M0 uniquement (*tableau 8*).

Tableau 8. Analyse de covariance pour les IgE anti-rAsp f6

Variables	Phase pris en charge	Coefficient corrélation	IC 95%	p
Terrain atopique	M0	0,162	[0,01-0,31]	0,035
	Suivi	--	--	--
Asthme /bronchospasme	M0	0,023	[-0,12-0,16]	0,70
	Suivi	--	--	--
ABPA	M0	0,048	[-0,13-0,22]	0,59
	Suivi	--	--	--
Exacerbation	M0	0,079	[-0,07-0,22]	0,29
	Suivi	-0,021	[-0,16-0,12]	0,76
IgE spécifiques m3	M0	0,261	[0,07-0,45]	0,008
	Suivi	0,144	[-0,02-0,31]	0,09
IgE totales	M0	0,76	[0,57-0,94]	<0,0001
	Suivi	0,609	[0,45-0,76]	<0,0001
Sérologie aspergillaire positive (ELISA)	M0	-0,13	[-0,35-0,09]	0,24
	Suivi	-0,154	[0,14-0,68]	0,16
Présence d'Arcs de précipitation (IEP)	M0	0,51	[0,21-0,82]	0,001
	Suivi	0,411	[0,14-0,68]	0,003
Eosinophiles sanguin	M0	0,198	[-0,03-0,42]	0,08
	Suivi	0,258	[0,07-0,43]	0,005

3.4.6 Exemple d'évolution des antigènes recombinants

La *figure 7* illustre l'évolution des IgE dirigées contre les antigènes recombinants et Asp m3 chez une patiente âgée de neuf ans qui présentait une ABPA sur un terrain de mucoviscidose. La patiente était en phase d'exacerbation à l'inclusion (M0), à huit mois du suivi(M8), et à 16 mois (M16) du suivi. On notait une élévation des IgE anti-rAsp f1, f2 ,f3, f4 et les IgE spécifiques m3 en phase d'exacerbation avec une augmentation plus marquée des IgE anti-rAsp f2. Le scanner thoracique retrouvait des impactions mucoïdes et des saccules (*figure 8*).

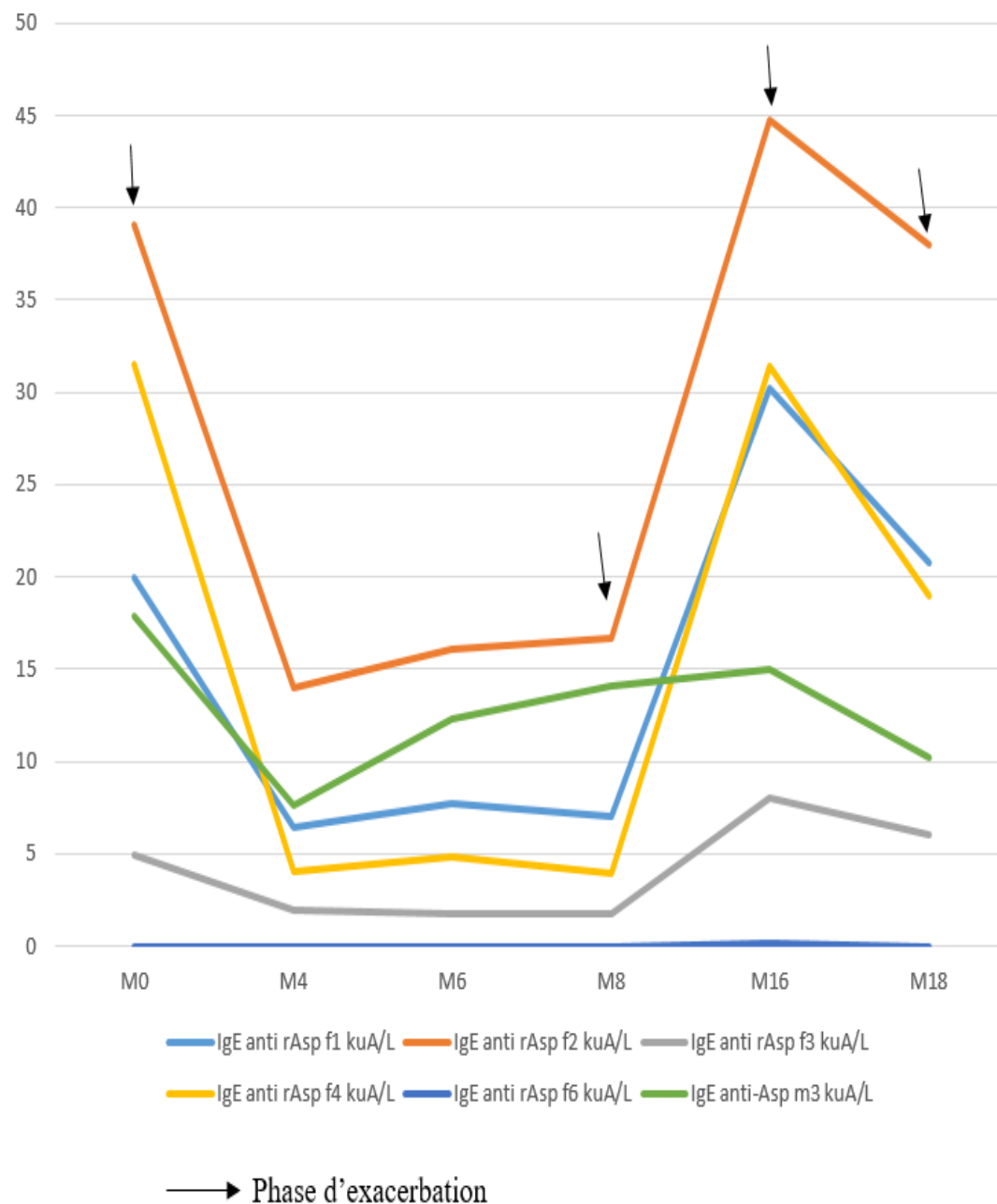


Figure 7. Exemple de l'évolution des IgE dirigées contre les antigènes recombinants et des IgE spécifiques m3 chez une patiente âgée de neuf ans présentant une aspergillose broncho-pulmonaire allergique sur un terrain de mucoviscidose.

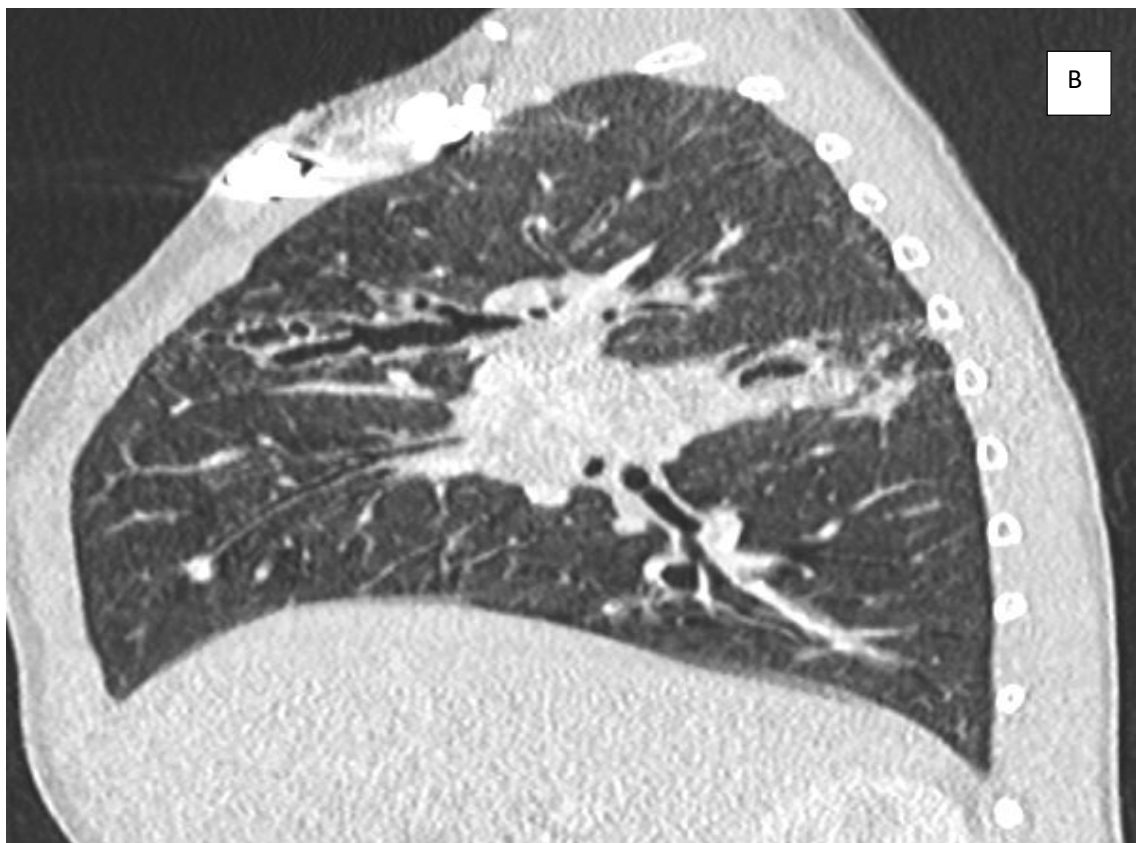


Figure 8. Scanner thoracique de la patiente âgée de neuf ans présentant aspergillose broncho-pulmonaire allergique sur un terrain de mucoviscidose.

(A) coupe axiale mettant évidence des impactions mucoïdes et des saccules, (B) coupe sagittale mettant en évidence des bronchocèles et des impactions mucoïdes.

4 .DISCUSSION

Diagnostic d'hypersensibilité à *Aspergillus*

Les IgE totales et spécifiques sont utilisées pour le diagnostic de l'hypersensibilité à *Aspergillus* et sont des critères majeurs pour le diagnostic de l'ABPA qui est en rapport avec un désordre immunitaire complexe, et dont la prise en charge reste difficile. Les antigènes recombinants dirigés contre les IgE spécifiques d'*Aspergillus fumigatus* semblent avoir un intérêt diagnostique selon plusieurs études (15,16,23). En effet, les IgE dirigées contre rAsp f2, f3, f4, et f6 ont été rapportées comme élevées de façon significative chez les patients présentant une ABPA (24). Une élévation positive des IgE totales >1000Kui/l combinée à une élévation des IgE anti- rAsp f4 et, ou anti-f6 était même associée à la présence d'une ABPA symptomatique avec une sensibilité de 64%, une spécificité de 100%, une valeur prédictive positive de 100% et négative de 94% (15). La sensibilité de rAsp f6 à détecter les IgE spécifiques aspergillaires était plus faible que celle de rAsp f4 chez des patients présentant une ABPA dans une autre étude (53,8% contre 92,3%) (21). rAsp f6 apparaissait aussi avoir moins d'intérêt diagnostique chez les patients ayant une ABPA au cours de la mucoviscidose (10) tandis que rAsp f1 et f3 semblent avoir un intérêt dans le diagnostic de la sensibilisation aspergillaire : les IgE anti-rAsp f1 et anti-rAsp f3 ont été montrées comme élevées chez les sujets asthmatiques sensibilisés à *A. fumigatus*, qu'ils aient ou non une ABPA(25).

Sur le plan biologique, notre étude a retrouvé une association significative entre les IgE dirigées contre les antigènes recombinants rAsp f 1, 2, 3, 4, 6 et les IgE spécifiques m3 ainsi qu'avec les IgE totales. Nous avons également retrouvé une corrélation positive entre les IgE dirigées contre chacun des antigènes recombinants avec néanmoins une force de corrélation moindre entre rAsp f2 et f6. Par ailleurs, nous avons retrouvé une association positive et significative entre les IgE anti-rAsp f1 et la sérologie aspergillaire déterminée par IEP mais une association négative avec la sérologie aspergillaire déterminée par ELISA. Les mêmes associations étaient retrouvées avec les IgE anti-rAsp f3. La sérologie aspergillaire traduit la réponse immunitaire humorale des IgG et permet de quantifier la sensibilisation des patients aux allergènes aspergillaires. L'ELISA est une technique automatisée sensible mais peu spécifique permettant d'obtenir des résultats numériques. L'IEP est une technique spécifique qui permet de mettre en évidence l'activité catalasique du genre *Aspergillus* exprimée en arcs de précipitation. La correspondance entre ces deux techniques n'est pas totale (26). Cela est confirmé par notre étude qui suggère que l'IEP aurait plus d'intérêt pour quantifier la sensibilisation aspergillaire que l'ELISA.

Sur le plan clinique notre étude avait retrouvé une association positive significative entre les IgE dirigées contre rAsp f3 ou rAsp f6 et le terrain atopique mais il n'avait pas été retrouvé d'association significative entre les IgE dirigées contre les différents antigènes recombinants et la présence d'un asthme ou d'une ABPA. Cela pourrait s'expliquer en partie par la forte proportion de nos patients traités (n=33, 32%) par un corticoïde oral, puisqu'il est connu que la corticothérapie systémique entraîne une baisse des IgE totales et spécifiques, estimée à 55% à six semaines chez des patients présentant une ABPA (27).

Intérêt des EFR

Les épreuves fonctionnelles respiratoires ont un intérêt dans le suivi des patients et permettent d'évaluer la sévérité de l'asthme ou de l'ABPA. Leur normalité n'exclue pas l'existence d'une ABPA(6). Les troubles ventilatoires obstructifs ou mixtes peuvent s'aggraver pendant les phases d'exacerbation (29). Les troubles de la diffusion apparaissent à un stade tardif lors d'atteintes fibrosantes ou emphysémateuses. Dans notre étude les EFR n'étaient pas corrélées aux IgE dirigées contre des antigènes recombinants.

Exacerbation d'ABPA et contrôle de l'asthme

Les taux d'IgE spécifiques évoluent selon l'activité de l'ABPA. Ainsi, une diminution des IgE spécifiques m3 de 25% à huit semaines chez les patients ABPA signe une bonne réponse thérapeutique. A l'inverse, une majoration de 50% en corrélation avec la clinique signe une exacerbation (6). L'exacerbation concerne 25 à 50% des patients présentant une ABPA et survient généralement dans les deux ans suivant le diagnostic (28). Il est décrit que les IgE dirigées contre rAsp f1, f2, f3 et f6 sont élevées de façon significative en phase d'exacerbation d'ABPA (24). Dans notre étude, les IgE anti-rAsp f2 étaient associées de façon positive et significative à l'exacerbation à l'inclusion et en phase de suivi, et les IgE anti-rAsp 4 étaient associées de façon positive à l'exacerbation en phase de suivi, l'association n'ayant pas été retrouvée à M0. Nous avons retrouvé un seuil d'IgE anti-rAsp f2 prédictif d'exacerbation de 35,4 kuA/ L, la spécificité étant de 93,2% avec cependant l'aire sous la courbe basse (< 0,5) limitant la performance diagnostique.

Sévérité de l'atteinte bronchique au scanner

Les bronchectasies centrales correspondent à l'atteinte radiologique la plus fréquente dans l'ABPA(30). Le scanner thoracique est l'examen préférentiel pour le diagnostic et le suivi de l'ABPA : 27% de patients présentant une ABPA et ayant une radiographie de thorax interprétée comme normale avaient des anomalies au scanner thoracique (31,32). Ces bronchectasies peuvent être associées à des impactions mucoïdes qui peuvent présentées en

leur sein des hyperdensités (*high attenuation mucus*) qui seraient pathognomoniques de l'ABPA(30,31). La présence de bronchectasies, et/ou d'impactions mucoïdes hyperdenses indiquent une maladie immunologique sévère avec une prédisposition à des rechutes récurrentes(6). Dans notre étude, les IgE dirigées contre les antigènes recombinants n'étaient pas associées à la présence de bronchectasies ou à leur intensité évaluée par le score de BHALLA CT modifié. Il peut aussi être observé sur les scanners thoraciques des ABPA la présence de bronchocèles ou saccules qui correspondent à des formes sévères de bronchectasies. Dans notre étude, leurs présences étaient corrélées significativement aux IgE anti-rAsp f4 avec une bonne performance diagnostique puisque l'aire sous la courbe ROC était à 0,7. Ainsi rAsp f4 apparaît être un bon facteur prédictif de la présence de saccule et indirectement de la sévérité de l'atteinte bronchique de l'ABPA.

Limitations de l'étude

Nous avons réalisé une étude rétrospective incluant 32 patients présentant une ABPA dont 17
4.5
étaient traités par corticoïde oral à l'inclusion ; une étude prospective incluant les patients lors du diagnostic initial et non traités par un corticoïde oral aurait permis de mieux évaluer l'évolution des IgE dirigées contre les antigènes recombinants sous traitement par itraconazole et un corticoïde oral.

4.6

Conclusion

Les antigènes recombinants d'*Aspergillus fumigatus* ont un intérêt dans le diagnostic et le suivi des hypersensibilités aspergillaires notamment l'ABPA. Certains patients présentent une maladie immunologique sévère avec des rechutes récurrentes et une évolution possible vers une insuffisance respiratoire chronique. Notre étude montre que l'élévation des IgE anti-rAsp f2 supérieur à 35,4 kuA/L serait associée à l'existence d'exacerbation d'asthme ou d'ABPA et l'élévation des IgE anti-rAsp f4 serait associée à la présence de saccules au scanner thoracique. La détection d'une telle réactivité sérique permettrait d'établir un *screening* des patients à plus haut risque de rechute qui nécessitent une surveillance prolongée et régulière.

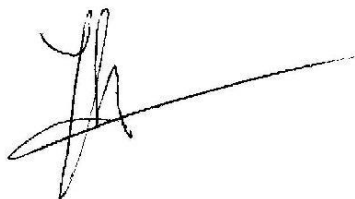
5 . BIBLIOGRAPHIE

1. Shah A, Panjabi C. Allergic aspergillosis of the respiratory tract. *Eur Respir Rev.* 1 mars 2014;23(131):8-29.
2. Germaud P. « Aspergillus » et système respiratoire. *EMC - Médecine.* 1 déc 2005;2(6):585-95.
3. Gangneux J-P, Bouchara J-P, Chabasse D. Biologie et diagnostic des infections à *Aspergillus*. *Datatraitesmc08-56980* [Internet]. 26 oct 2013 [cité 21 janv 2018]; Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/en/article/846338>
4. Park SJ, Mehrad B. Innate immunity to *Aspergillus* species. *Clin Microbiol Rev.* oct 2009;22(4):535-51.
5. Shah PA, Panjabi C. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis: A Review of a Disease with a Worldwide Distribution. *J Asthma.* 1 janv 2002;39(4):273-89.
6. Agarwal R, Chakrabarti A, Shah A, Gupta D, Meis JF, Guleria R, et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* août 2013;43(8):850-73.
7. Shah A, Panjabi C. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis: A Perplexing Clinical Entity. *Allergy Asthma Immunol Res.* juill 2016;8(4):282-97.
8. Hinson KFW, Moon AJ, Plummer NS. Broncho-pulmonary Aspergillosis *. *Thorax.* déc 1952;7(4):317-33.
9. Shah A, Panjabi C. Allergic aspergillosis of the respiratory tract. *Eur Respir Rev.* 1 mars 2014;23(131):8-29.
10. Kurup VP. *Aspergillus* antigens: which are important? *Med Mycol.* mai 2005;43 Suppl 1:S189-196.
11. Madan T, Priyadarsiny P, Vaid M, Kamal N, Shah A, Haq W, et al. Use of a synthetic peptide epitope of Asp f 1, a major allergen or antigen of *Aspergillus fumigatus*, for improved immunodiagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* mai 2004;11(3):552-8.
12. Masson E. Asthme : physiopathologie, diagnostic et suivi d'une maladie chronique des voies aériennes [Internet]. *EM-Consulte.* [cité 14 janv 2018]. Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/article/829595/asthme-physiopathologie-diagnostic-et-suivi-d-une->
13. Panchal N, Bhagat R, Pant C, Shah A. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: the spectrum of computed tomography appearances. *Respir Med.* avr 1997;91(4):213-9.

14. Vailes L, Sridhara S, Cromwell O, Weber B, Breitenbach M, Chapman M. Quantitation of the major fungal allergens, Alt a 1 and Asp f 1, in commercial allergenic products. *J Allergy Clin Immunol.* avr 2001;107(4):641-6.
15. Casaulta C, Flückiger S, Cramer R, Blaser K, Schoeni MH. Time course of antibody response to recombinant *Aspergillus fumigatus* antigens in cystic fibrosis with and without ABPA. *Pediatr Allergy Immunol Off Publ Eur Soc Pediatr Allergy Immunol.* mai 2005;16(3):217-25.
16. Fricker-Hidalgo H, Coltey B, Llerena C, Renversez J-C, Grillot R, Pin I, et al. Recombinant allergens combined with biological markers in the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis patients. *Clin Vaccine Immunol CVI.* sept 2010;17(9):1330-6.
17. Sporik RB, Arruda LK, Woodfolk J, Chapman MD, Platts-Mills TA. Environmental exposure to *Aspergillus fumigatus* allergen (Asp f I). *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* avr 1993;23(4):326-31.
18. Banerjee B, Kurup VP, Greenberger PA, Kelly KJ, Fink JN. C-terminal cysteine residues determine the IgE binding of *Aspergillus fumigatus* allergen Asp f 2. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 nov 2002;169(9):5137-44.
19. Lindborg M, Magnusson CG, Zargari A, Schmidt M, Scheynius A, Cramer R, et al. Selective cloning of allergens from the skin colonizing yeast *Malassezia furfur* by phage surface display technology. *J Invest Dermatol.* août 1999;113(2):156-61.
20. Hemmann S, Menz G, Ismail C, Blaser K, Cramer R. Skin test reactivity to 2 recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens in *A. fumigatus*-sensitized asthmatic subjects allows diagnostic separation of allergic bronchopulmonary aspergillosis from fungal sensitization. *J Allergy Clin Immunol.* sept 1999;104(3 Pt 1):601-7.
21. Fricker-Hidalgo H, Coltey B, Llerena C, Renversez J-C, Grillot R, Pin I, et al. Recombinant Allergens Combined with Biological Markers in the Diagnosis of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis in Cystic Fibrosis Patients. *Clin Vaccine Immunol CVI.* sept 2010;17(9):1330-6.
22. Judge EP, Dodd JD, Masterson JB, Gallagher CG. Pulmonary abnormalities on high-resolution CT demonstrate more rapid decline than FEV1 in adults with cystic fibrosis. *Chest.* nov 2006;130(5):1424-32.
23. Kurup VP, Knutsen AP, Moss RB, Bansal NK. Specific antibodies to recombinant allergens of *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis patients with ABPA. *Clin Mol Allergy.* 21 juill 2006;4:11.
24. Knutsen AP, Hutcheson PS, Slavin RG, Kurup VP. IgE antibody to *Aspergillus fumigatus* recombinant allergens in cystic fibrosis patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Allergy.* févr 2004;59(2):198-203.
25. Cramer R, Hemmann S, Ismail C, Menz G, Blaser K. Disease-specific recombinant allergens for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Int Immunol.* août 1998;10(8):1211-6.

26. Persat F. [Aspergillus serology, from yesterday to today for tomorrow]. *J Mycol Medicale*. mars 2012;22(1):72-82.
27. Agarwal R, Dhooria S, Singh Sehgal I, Aggarwal AN, Garg M, Saikia B, et al. A Randomized Trial of Itraconazole vs Prednisolone in Acute-Stage Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis Complicating Asthma. *Chest*. 11 janv 2018;
28. Agarwal R, Gupta D, Aggarwal AN, Behera D, Jindal SK. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: lessons from 126 patients attending a chest clinic in north India. *Chest*. août 2006;130(2):442-8.
29. Tillie-Leblond I, Tonnel A-B. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Allergy*. août 2005;60(8):1004-13.
30. Agarwal R, Khan A, Garg M, Aggarwal AN, Gupta D. Chest radiographic and computed tomographic manifestations in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *World J Radiol*. 28 avr 2012;4(4):141-50.
31. Agarwal R, Gupta D, Aggarwal AN, Saxena AK, Chakrabarti A, Jindal SK. Clinical significance of hyperattenuating mucoid impaction in allergic bronchopulmonary aspergillosis: an analysis of 155 patients. *Chest*. oct 2007;132(4):1183-90.
32. Kaur M, Sudan DS. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis (ABPA)-The High Resolution Computed Tomography (HRCT) Chest Imaging Scenario. *J Clin Diagn Res JCDR*. juin 2014;8(6):RC05-07.

Vu, le Directeur de Thèse

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'M' or 'N' shape with a long horizontal stroke extending to the right.

**Vu, le Doyen de la Faculté de Médecine de Tours
Tours, le**

SANFO Fatimata Nafissetou

48 pages – 8 tableaux – 8 figures

Introduction : L'élévation des immunoglobulines E (IgE) spécifiques est un critère majeur pour le diagnostic des hypersensibilités au champignon *Aspergillus*, notamment en cas d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (APBA) dont le diagnostic reste difficile. Des antigènes recombinants d'*Aspergillus fumigatus* (rAsp f) ont été développés pour pallier à l'hétérogénéité des extraits antigéniques totaux (Asp m3) utilisés habituellement pour la détection des IgE spécifiques. L'objectif de notre étude était de rechercher une association entre les IgE spécifiques dirigées contre les antigènes recombinants rAsp f1, f2, f3, f4, f6 et les caractéristiques cliniques, biologiques et radiologiques de patients présentant une hypersensibilité aspergillaire en phase diagnostique et de suivi. **Matériel et méthodes :** Entre mai 2015 et juillet 2017, nous avons étudié une cohorte incluant 104 patients du CHRU de Tours, dans les services de pneumologie, d'allergologie ou de pédiatrie, présentant une hypersensibilité aspergillaire (atopie, asthme aspergillaire ou ABPA) chez qui il a été dosé les IgE spécifiques dirigées contre rAsp f1, f2, f3, f4 et f6. La réactivité aux antigènes recombinants a été comparée en analyse en composante principale (APC) et l'association avec les caractéristiques cliniques, biologiques et radiologiques des patients, à l'inclusion (M0) et lors du suivi ont été appréciées en analyse multivariée par covariance. **Résultats :** En APC, les antigènes recombinants étaient corrélés positivement. En analyse multivariée, les IgE anti-Asp m3 et totales étaient associées positivement à la présence spécifique de chacune des IgE dirigées contre les antigènes recombinants ; les IgE anti-rAsp f2 étaient corrélées positivement au risque de survenue d'exacerbation $r=0,263$ IC 95% [0,36-0,84] $p=0,007$ à M0, $0,206$ IC 95% [0,07-0,34] $p=0,003$ en phase de suivi ; les IgE-anti rAsp f4 étaient corrélées au risque de survenue d'exacerbation en phase de suivi $r=0,14$ IC 95% [0,01-0,5] $p=0,035$ et à la présence de saccules ou d'abcès sur le scanner thoracique au diagnostic et en phase de suivi $r=0,258$ IC 95% [0,01-0,5] $p=0,042$ et $r=0,230$ IC 95% [0,03-0,37] $p=0,02$ respectivement. Finalement, l'élévation d'IgE anti-rAsp f2 $>35,4\text{kuA/L}$ était prédictive d'exacerbations et celle d'IgE anti- rAsp f4 $>0,14\text{kuA/L}$ était prédictive de l'apparition d'abcès ou de saccules au scanner. **Conclusion :** Notre étude suggère que certains antigènes recombinants pourraient être intéressants pour identifier les patients présentant une ABPA à plus haut risque de rechute.

Mots clés : hypersensibilité aspergillaire, aspergillose broncho-pulmonaire allergique, Immunoglobuline E spécifiques, antigènes recombinants, exacerbation.

Jury :

Directeur de thèse : Professeur Sylvain MARCHAND-ADAM

Membres du jury:

Professeur Patrice DIOT

Professeur Laurent PLANTIER

Docteur Guillaume DESOUBEAUX

Docteur Arnaud CIREE

Date de soutenance : 23 avril 2018