



HAL
open science

Étude du profil de sensibilisation à *Aspergillus fumigatus* d'une cohorte de patients adultes : apport dans le diagnostic et la prise en charge de l'aspergillose bronchopulmonaire allergique

Alexis Parouteau

► **To cite this version:**

Alexis Parouteau. Étude du profil de sensibilisation à *Aspergillus fumigatus* d'une cohorte de patients adultes : apport dans le diagnostic et la prise en charge de l'aspergillose bronchopulmonaire allergique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03012828

HAL Id: dumas-03012828

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03012828>

Submitted on 18 Nov 2020

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

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

Université de Bordeaux
U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2020

N°3181

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement
Le 22/10/2020 par

Alexis PAROUTEAU

Né le 23 Avril 1986 à Brive-la-Gaillarde

**Etude du profil de sensibilisation à *Aspergillus fumigatus*
d'une cohorte de patients adultes**

**Apport dans le diagnostic et la prise en charge de
l'aspergillose bronchopulmonaire allergique**

Directeur de thèse : Mme le Docteur Anne SARRAT

Membres du jury

Mr le Professeur Patrick BLANCO	Président
Mme le Professeur Joana VITTE	Rapporteur
Mme le Professeur RAHERISON-SEMJEN Chantal	Membre
Mr le Docteur Frédéric GABRIEL	Membre
Mr le Docteur Julien GORET	Membre

Université de Bordeaux
U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2020

N°3181

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement
Le 22/10/2020 par

Alexis PAROUTEAU

Né le 23 Avril 1986 à Brive-la-Gaillarde

**Etude du profil de sensibilisation à *Aspergillus fumigatus*
d'une cohorte de patients adultes**

**Apport dans le diagnostic et la prise en charge de
l'aspergillose bronchopulmonaire allergique**

Directeur de thèse : Mme le Docteur Anne SARRAT

Membres du jury

Mr le Professeur Patrick BLANCO	Président
Mme le Professeur Joana VITTE	Rapporteur
Mme le Professeur RAHERISON-SEMJEN Chantal	Membre
Mr le Docteur Frédéric GABRIEL	Membre
Mr le Docteur Julien GORET	Membre

REMERCIEMENTS

À mon Président du jury, Monsieur le Professeur Patrick BLANCO

Vous me faites l'honneur de présider le jury de cette thèse. Veuillez accepter mon profond respect et mes plus sincères remerciements.

À ma Directrice de thèse, Madame le Docteur Anne SARRAT

Merci de m'avoir permis de découvrir l'allergologie, cette discipline si intéressante de l'immunologie que je ne soupçonnais pas au début. J'ai été très heureux d'être « référent allergo » et « monsieur Choc » pendant mes semestres d'immunologie. Merci pour la passion communicative que tu as pour ton travail. Tu as accepté de diriger mon travail de thèse et de m'accompagner dans sa rédaction. Et je te remercie enfin pour ta disponibilité, ton soutien et surtout pour ta patience. Je te témoigne ma profonde et respectueuse reconnaissance.

À mon Rapporteur, Madame le Docteur Joana VITTE

Vous me faites l'honneur d'être le rapporteur de ce travail. Je vous remercie d'avoir accepté d'apporter des critiques à ce sujet. Soyez assurée de ma respectueuse reconnaissance.

Au membre du jury, Madame le Professeur Chantal RAHERISON-SEMJEN

Je vous suis très reconnaissant d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

Au membre du jury, Monsieur le Docteur Frédéric GABRIEL

Merci pour toutes les notions apprises au cours de mon stage de parasitologie-mycologie. Je te remercie également d'avoir collaboré à la réalisation de ce travail et d'avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse. Tu trouveras ici le témoignage de toute ma gratitude.

Au membre du jury, Monsieur le Docteur Julien GORET

Merci d'avoir participé également à la réalisation de cette thèse. Tu m'as beaucoup aidé lorsque je ne savais plus comment avancer. Je t'en suis très reconnaissant.

À Madame le Docteur Julie MACEY

Merci de m'avoir aidé dans la réalisation de cette thèse, pour votre disponibilité lorsque vous avez pris du temps pour revoir les dossiers des patients avec moi. Merci enfin pour vos corrections sur la partie clinique de ma thèse. Soyez assurée de ma respectueuse reconnaissance.

J'adresse mes remerciements également :

Aux biologistes, techniciens et autres personnels du CHU de Bordeaux avec qui j'ai eu l'honneur de travailler. Merci de m'avoir encadré et formé tout au long de mon internat.

À l'ensemble des biologistes et du personnel du laboratoire du CH de Mont-de-Marsan. Merci pour votre formidable accueil. J'adresse particulièrement un grand merci à Romain Cantarelli pour sa grande pédagogie et sa bienveillance.

À toute l'équipe du laboratoire d'immunologie, les biologistes tous très disponibles et pédagogues, et les techniciennes des différents secteurs (humoral, auto-immunité, cellulaire et HLA).

À mes co-internes et amis : PE (alias chaghop), Emilie, Alexandre, Kavish, Cyrielle, Guillaume, Esther, Florian, Audrey, Elodie, Arnaud, Célia et j'en passe... Merci de m'avoir accompagné tout au long de mon cursus et d'avoir été disponibles quand j'en avais besoin.

À l'ensemble des biologistes et des salariés de Biolib, c'est un plaisir de venir travailler avec vous. J'adresse un grand merci à Stéphanie qui m'a permis d'intégrer cette formidable équipe.

À ma famille de cœur : la famille Duquesne

Pour votre présence, vos encouragements et votre amour depuis mon enfance malgré la distance. A Lolo, ma meilleure amie, merci d'avoir été là dans les bons moments comme dans les moments difficiles. À tes trois jolies filles : Louna, Ylana et Elena. À ton mari et mon ami Christian (qu'il veille bien sur vous de là-haut).

À mon père et Murielle

Pour m'avoir donné les moyens de réussir et m'avoir toujours encouragé. Merci papa pour les valeurs que tu m'as transmises, ta présence et ton soutien depuis toujours.

À ma sœur, mon beau-frère, ma nièce et mon neveu,

Merci Vanessa d'être toujours là pour moi. Les moments difficiles de la vie nous ont rapprochés même si nous nous sommes éloignés géographiquement. Merci de m'avoir soutenu pendant toutes ces années et je te soutiendrai toujours également. À Lilou et Nono, mes « petits loups » qui me mettent toujours du baume au cœur.

À ma future épouse, Tania

Je te remercie infiniment pour ta présence, ton soutien, ta bienveillance et ton amour. Chaque jour tu embellis mon quotidien et je tiens faire de même pour le reste de notre vie.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	7
LISTE DES ABREVIATIONS	9
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	10
I. <i>Aspergillus fumigatus</i>	11
A. Généralités	11
B. Caractéristiques morphologiques	11
C. Pouvoir pathogène, facteurs de virulence.....	13
D. Interactions entre l' <i>Aspergillus</i> et les systèmes de défenses respiratoires de l'hôte	14
a. Interactions de l' <i>Aspergillus</i> avec les cellules épithéliales bronchiques.....	14
b. Interactions entre l' <i>Aspergillus</i> et les cellules épithéliales alvéolaires.....	16
c. Interactions entre l' <i>Aspergillus</i> et l'espace interstitiel	16
E. Pathologies associées	17
a. Patients immunodéprimés : l'aspergillose pulmonaire invasive (API)	17
b. Patients non immunodéprimés.....	19
1. Pathologies non allergiques	19
a) L'aspergillose pulmonaire chronique (APC)	19
• L'aspergillome.....	20
• L'aspergillose pulmonaire chronique cavitaire (APCC)	21
• L'aspergillose pulmonaire chronique fibrosante (APCF)	21
• Le nodule aspergillaire	22
• L'aspergillose invasive subaiguë (AIS)	22
• Le diagnostic et le traitement de l'APC	22
b) La bronchite aspergillaire	23
2. Pathologies Allergiques.....	23
a) Classifications des hypersensibilités	23
b) Pneumopathies d'hypersensibilité (PHS)	25
c) Asthme avec sensibilisation aspergillaire (ASA)	25
d) Aspergillose bronchopulmonaire allergique	26
II. L'aspergillose bronchopulmonaire allergique	26
A. Manifestations cliniques, épidémiologie	26
B. Facteurs prédisposants	27
C. Physiopathologie	28
D. Diagnostic de l'ABPA.....	29
a. Critères diagnostics.....	29
b. Imagerie	30

1.	La radiographie pulmonaire	30
2.	La tomodensitométrie pulmonaire.....	31
3.	L'IRM	32
c.	Explorations fonctionnelles respiratoires (EFR)	32
d.	Tests cutanés.....	33
e.	Tests biologiques	34
1.	Eosinophilie	34
2.	Culture mycologique.....	35
3.	Recherche d'IgG spécifiques anti- <i>A. fumigatus</i>	36
4.	Dosage des IgE totales	39
5.	Dosage des IgE spécifiques m3 (extrait total d' <i>A. fumigatus</i>)	40
E.	Profil moléculaire	42
a.	Asp f1	43
b.	Asp f2	43
c.	Asp f3	43
d.	Asp f4	43
e.	Asp f6	43
F.	Traitement	44
a.	Les glucocorticoïdes.....	44
b.	Les agents antifongiques.....	44
1.	Les triazolés	44
2.	L'amphotéricine B.....	45
c.	L'immunothérapie	46
d.	Eviction.....	46
G.	Complications.....	46
	ÉTUDE RÉALISÉE À BORDEAUX.....	48
I.	Contexte	48
A.	Objectif de l'étude	48
B.	Critères d'inclusion.....	48
C.	Pathologies.....	48
II.	Matériel et méthodes.....	49
III.	Analyses statistiques.....	50
IV.	Résultats	50
A.	Comparaison des valeurs d'IgE spécifiques en fonction des groupes de patients.....	51
B.	Comparaison de performance des cut-offs fixés à 0,10 kUA/L et à 0,35 kUA/L	54
a.	seuil à 0,10 kUA/L	54
b.	Seuil à 0,35 kUA/L (recommandations pour le diagnostic de l'ABPA).....	56
C.	Analyse ROC des groupes ABPA et non ABPA	58

D. Patients ABPA en rémission	60
E. La sérologie IgG aspergillaire	61
V. Discussion	63
VI. Conclusion.....	66
ANNEXE	67
BIBLIOGRAPHIE.....	72

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Tableaux

Tableau 1. Critères diagnostics de l'ABPA chez les patients mucoviscidosiques	30
Tableau 2. Stades de l'ABPA en fonction des signes radiologiques	31
Tableau 4. Détails de la semi-quantification du Western Blot <i>Aspergillus</i>	38
Tableau 5. Structures clonées sous forme de protéines de liaison aux IgE anti- <i>Aspergillus fumigatus</i>	42
Tableau 6. Récapitulatif des médianes, moyennes, écarts-types et écarts interquartiles pour le m3 et les recombinants pour chaque groupe de patients	53
Tableau 7. Calcul de la significativité statistique des recombinants par un test T de Student	54
Tableau 8. Calcul des sensibilités, spécificités, VPP et VPN des patients ayant des ABPA en cours pour un seuil à 0,10 kUA/L	55
Tableau 9. Calcul des sensibilités, spécificités, VPP et VPN des patients ayant des ABPA en cours pour un seuil à 0,35 kUA/L	57
Tableau 10. Récapitulatif des analyses ROC du m3 et des recombinants aspergillaires	59
Tableau 11. Analyse des sensibilités, spécificités, VPN, VPP et AUC des combinaisons de recombinants	59
Tableau 12. Valeurs des IgE spécifiques des patients en rémission d'ABPA	60
Tableau 13. Evolution des profils des patients aux antécédents d'ABPA	61
Tableau 14. Récapitulatif des analyses ROC des sérologies IgG anti- <i>Aspergillus fumigatus</i>	62

Figures

Figure 1. Appareil reproducteur des <i>Aspergillus</i>	11
Figure 2. <i>Aspergillus fumigatus</i> sur scotch.....	12
Figure 3. Représentation schématique de la réponse de l'hôte aux conidies d' <i>Aspergillus</i> inhalées	14
Figure 4. Structure de base des cellules épithéliales bronchiques.....	15
Figure 5. Modèle d'internalisation d' <i>Aspergillus fumigatus</i> par les cellules épithéliales des voies respiratoires.....	15
Figure 6. Images anatomopathologiques d'une aspergillose pulmonaire invasive.....	18
Figure 7. Images tomодensitométriques de l'aspergillose pulmonaire invasive.....	19
Figure 8. Représentation schématique des différentes formes d'aspergillose pulmonaire chronique et de leurs chevauchements.....	20
Figure 9. Image radiographique d'un aspergillome	21
Figure 10. La réaction d'hypersensibilité immédiate médiée par les IgE	24
Figure 11. Evènements clés de l'interaction et des conséquences immunitaires entre <i>Aspergillus</i> <i>fumigatus</i> et l'hôte humain	28
Figure 12. Images tomодensitométriques de l'ABPA	32
Figure 13. Résultats d'une spirométrie forcée.....	33
Figure 14. Principe du Prick Test cutané.....	34
Figure 15. <i>Aspergillus fumigatus</i> en culture Sabouraud dextrose agar.....	36
Figure 16. Résultats du WB <i>Aspergillus</i>	38

Figure 17. Principe du dosage des IgE totales par test ImmunoCAP	40
Figure 18. Principe du dosage des IgE spécifiques par ImmunoCAP	41
Figure 19. Répartition de la cohorte de patients selon leurs pathologies.....	49
Figure 20. Répartition des patients en ABPA, ABPA en rémission et non ABPA	50
Figure 21. Distribution des IgE spécifiques des groupes ABPA, ABPA en rémission et non ABPA	53
Figure 22. Répartition des IgE spécifiques pour un seuil à 0,10 kUA/L	54
Figure 23. Répartition des combinaisons de recombinants pour un seuil à 0,10 kUA/L	56
Figure 24. Répartition des IgE spécifiques pour un seuil à 0,35 kUA/L	56
Figure 25. Répartition des combinaisons de recombinants pour un seuil à 0,35 kUA/L	57
Figure 26. Analyses ROC du m3 et des recombinants	58
Figure 27. Analyses ROC des sérologies IgG Elisa et Western Blot.....	62

LISTE DES ABREVIATIONS

A.fumigatus *Aspergillus fumigatus*

ABPA	Aspergillose bronchopulmonaire allergique
Ac	anticorps
AIS	aspergillose invasive subaiguë
APC	aspergillose pulmonaire chronique
APCC	aspergillose pulmonaire chronique cavitaire
APCF	aspergillose pulmonaire chronique fibrosante
API	aspergillose pulmonaire invasive
ASA	asthme avec sensibilisation aspergillaire
BPCO	bronchopneumopathie chronique obstructive
CD	cellule dendritique
CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CMH	complexe majeur d'histocompatibilité
CPA	cellule présentatrice d'antigène
CPT	capacité pulmonaire totale
CRCM	centre de ressources et de compétences de la mucoviscidose
EFR	explorations fonctionnelles respiratoires
FEIA	fluorescence enzyme immuno-assay
HAM	mucus à haute atténuation
HRCT	tomodensitométrie à haute résolution
HS	hypersensibilité
HTAP	hypertension artérielle pulmonaire
IgG	Immunoglobulines G
IgM	Immunoglobulines M
IgE	Immunoglobulines E
MBL	mannose binding lectin
MBPA	mycose bronchopulmonaire allergique
MnSOD	superoxyde dismutase du manganèse
PAMP	Pathogen-Associated Molecular Patterns
PHS	pneumopathie d'hypersensibilité
PNB	polynucléaire basophile
PNN	polynucléaire neutrophile
PRR	Pattern Recognition Receptor
PT	prick test
TLR	Toll Like Receptor
VEMS	volume expiratoire maximal seconde

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Aspergillus fumigatus (*A. fumigatus*) est un champignon filamenteux saprophyte, cosmopolite. C'est un pathogène aéroporté opportuniste responsable de plusieurs pathologies principalement pulmonaires chez des patients fragilisés. Il peut être responsable de pathologies allergiques ou non allergiques selon le terrain sous-jacent parmi lesquelles :

- L'aspergillose pulmonaire invasive chez des patients immunodéprimés.
- L'aspergillose pulmonaire chronique chez des patients souffrant d'une pathologie pulmonaire sous-jacente.
- L'asthme aspergillaire et l'aspergillose bronchopulmonaire allergique (ABPA) sur terrain asthmatique ou mucoviscidose.

Dans l'ABPA, l'organisme développe une réaction allergique contre *A. fumigatus* conduisant à un asthme sévère avec des lésions pulmonaires potentiellement irréversibles. Outre la mise en évidence du pathogène par examen direct et/ou la recherche d'antigènes spécifiques (galactomannane) et les examens sérologiques IgM et IgG, le diagnostic biologique recherche la sensibilisation à *A. fumigatus* par la présence d'IgE spécifiques vis-à-vis de l'extrait total d'*A. fumigatus* (m3). Plus récemment, l'utilisation de composants moléculaires recombinants unitaires permet d'établir un profil de sensibilisation vis-à-vis de Asp f1, Asp f2, Asp f3, Asp f4 et Asp f6. Dans cette étude, nous avons établi les différents profils de sensibilisation à *A. fumigatus* des patients souffrant de pathologies pulmonaires pour lesquels la recherche d'IgE spécifiques anti-*A. fumigatus* m3 est positive.

L'objectif de cette étude est de définir si l'utilisation de ces allergènes moléculaires apporte une aide au diagnostic et/ou au suivi de l'ABPA. Ce travail comporte deux parties : après une revue des données bibliographiques concernant *A. fumigatus* et les pathologies pulmonaires dont il est responsable, plus particulièrement les pathologies allergiques, les résultats de notre étude seront présentés.

I. *Aspergillus fumigatus*

A. Généralités :

Les différentes espèces d'*Aspergillus* sont très répandues dans l'environnement. Ce sont des champignons filamenteux saprophytes qui jouent un rôle important dans les cycles du carbone et du nitrogène à travers la décomposition des matières organiques. Les *Aspergillus* produisent des conidies asexuées très tolérantes au stress et persistantes dans l'environnement (1,2). Certaines espèces d'*Aspergillus* peuvent avoir un impact considérable sur la santé humaine et animale. Ceci peut être en partie expliqué par la présence d'espèces résistantes à l'amphotéricine B (*A. terreus*, *A. lentulus*, *A. ustus*, *A. alabamensis*) ainsi qu'à l'émergence d'espèces résistantes aux azolés comme *A. fumigatus* (potentiellement expliqué par l'utilisation de pesticides azolés dans le milieu agricole)(3). *A. fumigatus* est une des espèces les plus ubiquitaires, s'étendant dans un vaste environnement du nord de la toundra aux tropiques(4). Elle est capable de se développer à l'intérieur des bâtiments, dont les hôpitaux, grâce à la grande capacité de dispersion et à la résistance des conidies (5) mises en suspension dans les zones de travaux.

B. Caractéristiques morphologiques :

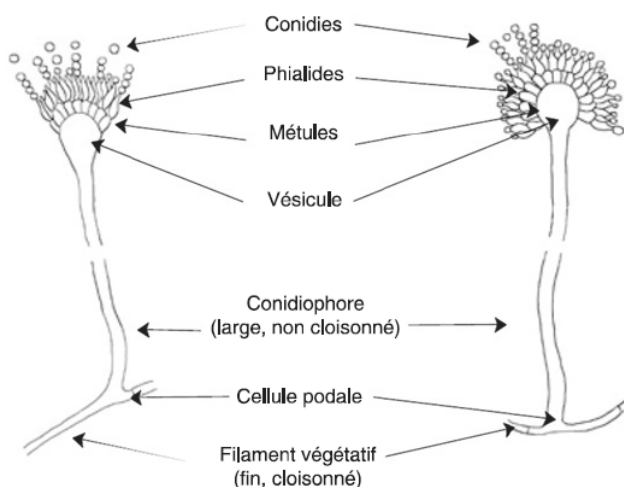


Figure 1. Appareil reproducteur des *Aspergillus*. D'après Cahier de formation Biologie Médicale, les moisissures d'intérêt médical, 2002

Le genre *Aspergillus* représente environ 250 espèces connues de champignons filamenteux. L'observation de la forme asexuée met en évidence un thalle végétatif sous forme de filaments ou hyphes qui, en se ramifiant, constituent le mycélium (6). Les *Aspergillus* sont caractérisés par un thalle végétatif formé de filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés. Sur ces filaments prennent naissance les conidiophores (filaments non cloisonnés) qui se terminent par une vésicule sur laquelle sont disposées les cellules conidiogènes ou phialides.

La conidiogénèse s'effectue sur un mode blastique, c'est-à-dire par le bourgeonnement d'une série de spores ou conidies à l'apex des phialides. La vésicule d'*A. fumigatus* a une structure unisériée (elle supporte une seule rangée de phialides sans métules) et la tête conidienne est dite en colonne (ne couvrant pas l'ensemble de la vésicule).

Lorsque les conditions de température et d'hygrométrie sont favorables, la conidie se détache et se disperse facilement grâce à sa petite taille pour donner naissance à un tube germinatif puis un filament. Les conidies ont une taille de 1 à 2 μm pour *A. fumigatus*.

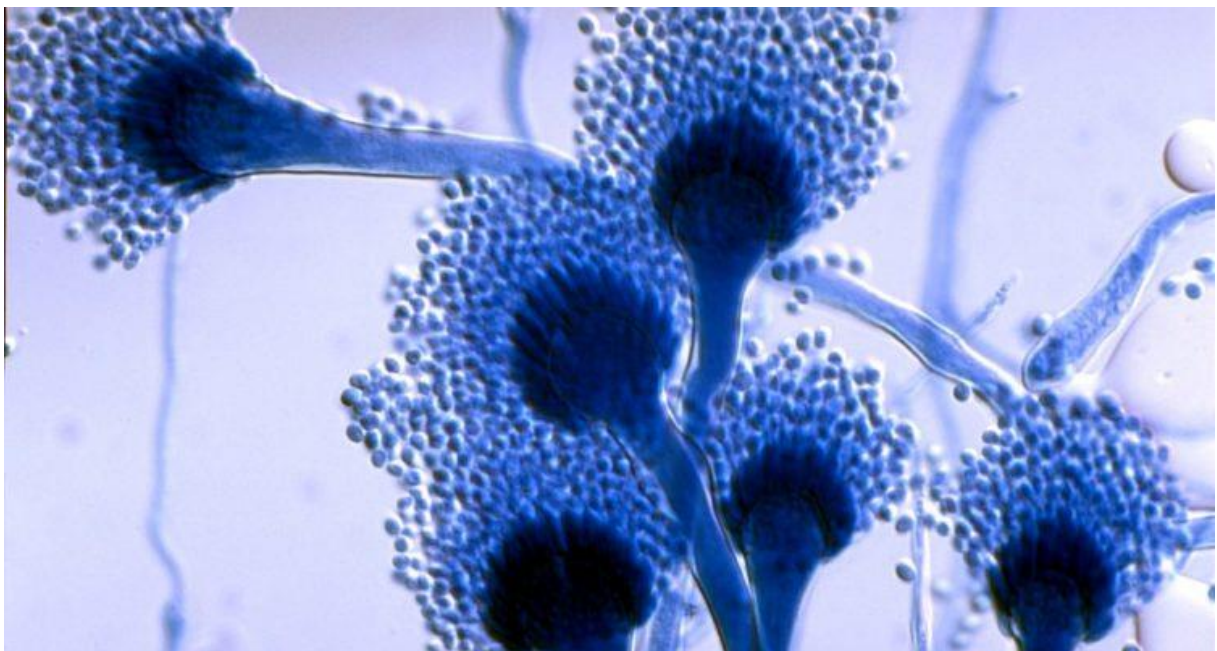


Figure 2. *Aspergillus fumigatus* sur scotch, après coloration au bleu de lactophénol, site internet Trustmyscience.com

C. Pouvoir pathogène, facteurs de virulence

Les *Aspergillus* sont des champignons thermophiles ayant une température optimale de croissance entre 25°C et 40°C. Ils utilisent plusieurs moyens pour envahir les tissus et échapper au système immunitaire de l'hôte. Les conidies sont des particules inertes recouvertes de protéines appelées hydrophobines qui augmentent leur adhérence aux macromolécules (laminine, collagène et fibronectine) et inhibent les réponses immunitaires innées vis-à-vis de celles-ci (7,8). RodA est une des hydrophobines les mieux connues, qui masque les PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns) d'*Aspergillus* empêchant leurs reconnaissances par les PRRs (Pattern Recognition Receptors) comme les dectine-1 et dectine-2 présents à la surface des macrophages et des cellules épithéliales bronchiques, qui jouent un rôle important dans l'immunité innée antifongique (9,10).

Lors du développement des hyphes, l'*Aspergillus* perd l'expression de ses hydrophobines permettant au système immunitaire de reconnaître divers épitopes. Parmi ces éléments, on peut citer :

- Les antigènes polysaccharidiques et glycoprotéines : on peut citer l'antigène galactomannane (libéré par les champignons du genre *Aspergillus* en cours de croissance) et les beta-glucanes dont le beta-(1,3)-D-glucane (composant de la paroi des levures et des champignons filamenteux)(11). Ces antigènes montrent pour certains une réactivité croisée avec d'autres antigènes fongiques (12–14). Ces antigènes jouent un rôle dans l'adhérence des hyphes aspergillaires aux tissus de l'hôte (15).
- Les antigènes / allergènes protéiques : de nombreuses protéines, principalement des protéases, ont été rapportées chez *A. fumigatus*. Parmi ces enzymes, on peut citer les protéinases, l'élastase, la ribonucléase (Asp f1), la chymotrypsine, la catalase et la superoxyde dismutase (Asp f6)(12). Ces enzymes sont capables de dégrader de nombreux substrats protéiques permettant un apport d'acides aminés nécessaires à la croissance du champignon (16).

D. Interactions entre l'*Aspergillus* et les systèmes de défenses respiratoires de l'hôte

Le principal mode de dissémination de l'*Aspergillus* repose sur les conidies, hautement hydrophobes produites par la sporulation asexuée. Un individu inhale en moyenne jusqu'à des milliers de conidies chaque jour (7). Après avoir pénétré dans les voies aériennes supérieures, les conidies aspergillaires atteignent les voies respiratoires basses où elles vont entrer en contact étroit avec les cellules épithéliales bronchiques puis les alvéoles pulmonaires. Lorsque les conidies atteignent les alvéoles pulmonaires où l'environnement est propice à leur développement, elles changent de conformation, n'expriment plus les hydrophobines dont RodA et commencent à former des hyphes. Les antigènes aspergillaires (dont les β -glucanes) démasqués peuvent alors être reconnus par l'intermédiaire des lectines des macrophages alvéolaires et des cellules épithéliales.

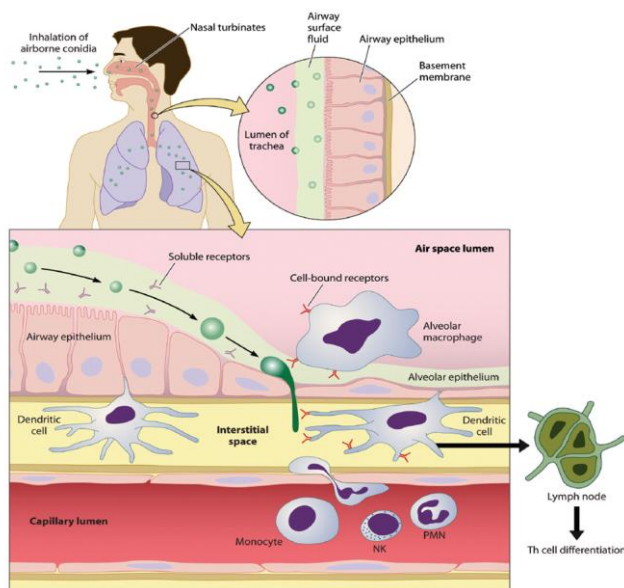


Figure 3. Représentation schématique de la réponse de l'hôte aux conidies d'*Aspergillus* inhalées (17)

a. Interactions de l'*Aspergillus* avec les cellules épithéliales bronchiques

L'épithélium bronchique est pseudostratifié et composé de 3 catégories de cellules : les cellules ciliées, les cellules sécrétrices et les cellules basales (18).

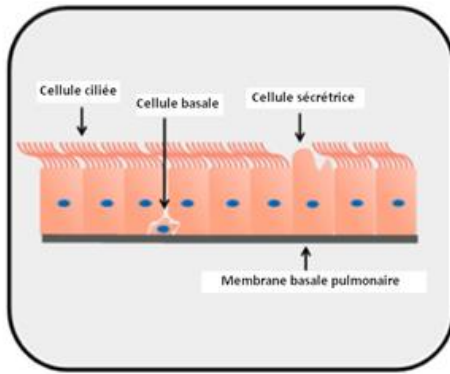


Figure 4. Structure de base des cellules épithéliales bronchiques (19)

Ces cellules épithéliales ont un rôle de clairance muco-ciliaire grâce aux mouvements de leurs cils vibratiles et à la sécrétion de mucus. Le mucus contient également des peptides antimicrobiens, des PRRs solubles comme la pentraxine et la mannose binding-lectin (MBL), des radicaux libres et des cytokines (comme l'IL-8)(20,21). La pentraxine 3 (Ptx3) est un PRR soluble qui a un rôle important dans la reconnaissance et la destruction des conidies par les macrophages (22). Ptx3 active le complément par la voie classique en se liant au C1q (23). L'IL-8 est une chimiokine pro-inflammatoire agissant comme chimio-attractant pour les polynucléaires neutrophiles (PNN) pour assurer leur recrutement sur le site de l'infection(19). Les cellules épithéliales jouent aussi un rôle dans la reconnaissance et la destruction des conidies aspergillaires par internalisation de la conidie par l'intermédiaire du β -glucane (PAMP) et de son récepteur dectine-1 (PRR). Elles utilisent un mécanisme similaire à la phagocytose (24,25) avec la participation des microtubules et de la polymérisation de l'actine. Une fois internalisées, les conidies sont dirigées vers le phagolysosome. Bien que la majorité des conidies est dégradée, un faible pourcentage survit et se développe en hyphes dans l'espace interstitiel (24).

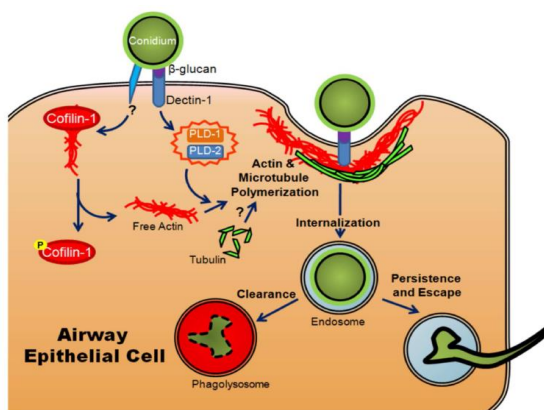


Figure 5. Modèle d'internalisation d'*Aspergillus fumigatus* par les cellules épithéliales des voies respiratoires (19)

L'action des cellules ciliées de l'épithélium respiratoire permet ainsi l'élimination d'une partie des conidies mais la petite taille de celles-ci (1-2 microns pour *A. fumigatus*), leur permet d'échapper pour un grand nombre d'entre elles à ce mécanisme et de pénétrer plus profondément dans les voies aériennes (8,26).

b. Interactions entre l'*Aspergillus* et les cellules épithéliales alvéolaires

Les cellules épithéliales alvéolaires couvrent environ 95% de la surface alvéolaire. Les macrophages constituent environ 5% des cellules alvéolaires (27). Les cellules épithéliales alvéolaires ne possèdent pas de cils vibratiles mais conservent des fonctions phagocytaires et sécrètent le surfactant. Les macrophages vont pouvoir phagocyter les conidies par l'intermédiaire des dectines et de PRRs solubles comme la Ptx3 (comme décrit précédemment).

c. Interactions entre l'*Aspergillus* et l'espace interstitiel

Malgré ces divers mécanismes de défense, certains hyphes aspergillaires vont pouvoir se développer et traverser la barrière épithéliale pour atteindre l'espace interstitiel. Les hyphes sont alors reconnus par les PNN et par les cellules dendritiques (CD). Les PNN attirés sur les lieux par des chimiokines produites localement (dont l'interleukine 8) rejoignent l'espace interstitiel par diapédèse. Ils reconnaissent l'agent pathogène par l'intermédiaire de leurs PRRs comme les TLRs (*Toll Like Receptors*) et le phagocytent pour le détruire.

Les CD, cellules présentatrices d'antigènes (CPA) reconnaissent les PAMPs des pathogènes par leurs PRRs et TLRs. Après reconnaissance, internalisation et dégradation, ces cellules présentent divers épitopes aux lymphocytes T CD4+ par l'intermédiaire des molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de classe II (apprêtement). Les CD migrent alors vers les organes lymphoïdes secondaires (ganglions, rate, tissus lymphoïdes associés aux muqueuses). Elles vont permettre la différenciation et l'amplification de lymphocytes T helper (Th) CD4+ spécifiques reconnaissant ces antigènes liés au CMH de classe II. Ces lymphocytes permettent la polarisation de l'immunité adaptative selon différentes orientations cytokiniques. De façon générale :

- Les lymphocytes Th1 sécrètent majoritairement de l'Interféron-gamma (IFN- γ), du Tumeur Necrosis Factor-alpha (TNF- α) et de l'interleukine-2 (IL-2) et induisent les

réponses immunitaires cellulaires (réponse cellulaire) les plus efficaces contre les virus et bactéries.

- Les lymphocytes Th2 sécrètent l'IL-4 et l'IL-13 favorisant la synthèse des immunoglobulines dont l'IgE (réponse humorale) et l'IL-5 favorisant le recrutement des polynucléaires éosinophiles.
- Les lymphocytes Th17 sécrètent de l'IL-17, de l'IL-22 et de l'IL-21. Ces cellules sont importantes pour le contrôle des infections bactériennes extra-cellulaires et fongiques, elles facilitent le recrutement et l'activation des cellules phagocytaires, en particulier les PNN.
- Les lymphocytes Treg sécrètent de l'IL-10, puissante cytokine anti-inflammatoire.

Après activation par la rencontre d'un antigène pour lequel ils expriment des récepteurs spécifiques, les lymphocytes B peuvent former les centres germinatifs dans les organes lymphoïdes secondaires où ils subissent les processus d'hypermutation somatique et de commutation isotypique, avant de se différencier en cellules B mémoire ou en plasmocytes produisant des immunoglobulines (IgG, IgA, IgE).

Toutes ces étapes ont pour but l'élimination du champignon.

Cette cascade d'évènements permettant la défense de l'hôte contre l'*Aspergillus* permet de comprendre comment les différentes pathologies pulmonaires peuvent survenir :

- anomalie mécanique : défaut de la clairance muco-ciliaire telle qu'une altération des cellules épithéliales ou une anomalie du mucus)
- déficit de l'immunité innée : neutropénie
- anomalie de la réponse adaptative : altération de la balance Th1/Th2

E. Pathologies associées

a. Patients immunodéprimés : l'aspergillose pulmonaire invasive (API)

L'API est une infection opportuniste dévastatrice se développant chez des patients sévèrement immunodéprimés. Un dysfonctionnement du système immunitaire, soit au niveau de la réponse innée (neutropénie prolongée ; défaut de la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase dans la maladie granulomateuse chronique) ou de la réponse adaptative lors de la prise de corticostéroïdes au long cours ou d'un traitement immunosuppresseur, prédispose à une API (28).

Le diagnostic est difficile car la clinique est rarement évocatrice et peu spécifique. Il repose notamment sur des critères cliniques non systématiques tels que fièvre, toux ou dyspnée. L'atteinte vasculaire peut se manifester sous forme de douleur thoracique ou d'hémoptysie dues à un infarctus pulmonaire. Enfin des convulsions ou des signes neurologiques focaux peuvent témoigner d'une forme disséminée (29). Le diagnostic de certitude repose sur l'analyse histologique mettant en évidence des hyphes invasifs ou une culture aspergillaire positive dans un liquide normalement stérile (ex.: liquide pleural, hémocultures)(30).

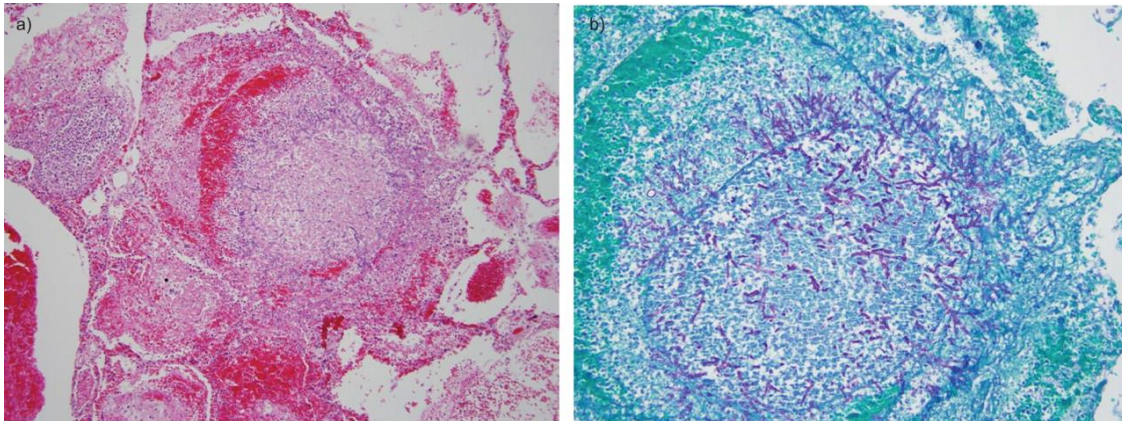


Figure 6. Images anatomopathologiques d'une aspergillose pulmonaire invasive, provenant du Dr Mousa Al-Abbadi (Université Tennessee Est, Johnson City, TN, USA)

- a) Parenchyme pulmonaire avec nécrose, hémorragie pulmonaire et hyphes aspergillaires (hématoxyline-éosine 100x)*
- b) Hyphes aspergillaires au sein du parenchyme pulmonaire (Grocott méthénamine 200x)*

La sensibilité de l'examen direct avec mise en culture dans le liquide broncho-alvéolaire ou les crachats est assez mauvais dans le diagnostic d'API (environ 50-60%)(31). Le dosage des antigènes galactomannanes peut être réalisé dans le plasma, le liquide céphalo-rachidien (LCR) ou le liquide broncho-alvéolaire (LBA)(32,33). Le dosage de β -D-glucane, peut aider à dépister une infection fongique, mais ce polysaccharide fongique est non spécifique de l'*Aspergillus*.

Dans le LBA, la PCR (Polymerase Chain Reaction) aspergillaire présente de nombreux faux positifs en raison de la contamination de l'arbre bronchique par les spores.

Enfin l'imagerie, et notamment la tomodensitométrie thoracique, est un examen de choix, dont le signe le plus précoce, dès les premiers jours, est le « signe du halo », dû au caractère angio-invasif et hémorragique de la lésion. Ce signe a une très bonne valeur prédictive positive (de 80% à 90% selon les études)(34). Par la suite, la rétraction du poumon nécrotique donne

une image en « signe du croissant aérique » visible à quatorze jours dans environ 60% des cas(35).

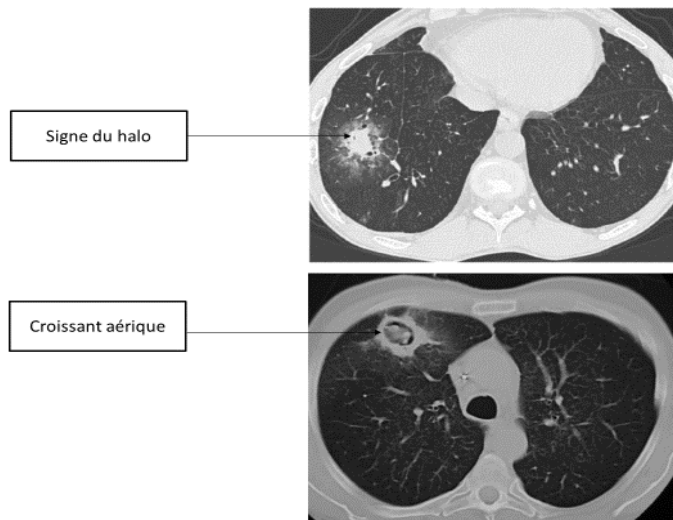


Figure 7. Images tomodensitométriques de l'Aspergillose pulmonaire invasive(35)

Pour faciliter les études cliniques, des critères ont été établis par l'EORTC/MSG (European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycosis Study Group) revus en 2019 pour définir l'API possible, probable et prouvée (30).

Le traitement de choix est le voriconazole. Avant son utilisation, la mortalité se situait aux alentours de 80% (37). Aujourd'hui, le pronostic s'est amélioré avec une mortalité globale inférieure à 40% (38).

b. Patients non immunodéprimés

1. Pathologies non allergiques

a) L'aspergillose pulmonaire chronique (APC)

Plus communément causée par l'*A. fumigatus*, l'APC est retrouvée chez des individus non immunodéprimés mais avec une pathologie pulmonaire sous-jacente. L'APC affecte environ 3 millions de personnes à travers le monde (39). Elle survient presque exclusivement chez des individus ayant des antécédents pulmonaires de tuberculose, d'infection à mycobactéries non tuberculeuses, d'ABPA, de sarcoïdose, de pneumothorax, de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), de cancers du poumon traités chirurgicalement et de bronchectasies (40). L'APC comprend plusieurs entités qui ne sont pas toujours bien individualisées. On y trouve

l'aspergillome simple, l'aspergillose pulmonaire chronique cavitaire, l'aspergillose pulmonaire chronique fibrosante, l'aspergillose invasive subaiguë ou aspergillose pulmonaire chronique nécrosante et le nodule aspergillaire. Il existe un chevauchement entre ces différentes pathologies.

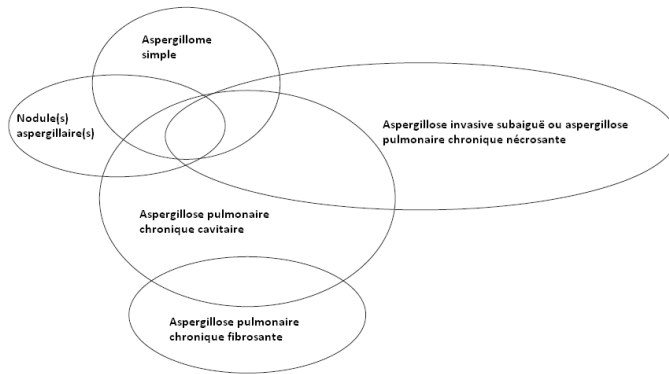


Figure 8. Représentation schématique des différentes formes d'aspergillose pulmonaire chronique et de leurs chevauchements (41)

- **L'aspergillome**

Il forme l'entité la mieux reconnue des APC. Il représente une masse solide d'hyphes aspergillaires, de fibrine, de mucus et d'autres débris cellulaires, formé dans une cavité pulmonaire pré-existante (41–44). L'aspergillome simple correspond à une cavité pulmonaire unique contenant une boule fongique, avec preuve sérologique ou microbiologique de la présence d'*Aspergillus spp* chez un patient non immunodéprimé asymptomatique ou présentant des symptômes mineurs, et sans progression radiologique sur au moins 3 mois d'observation (41). Cette pathologie est caractérisée par l'absence d'autres signes d'aspergillose pulmonaire chronique cavitaire et elle est typiquement retrouvée après une infection à *M. tuberculosis* (40,45,46). Contrairement aux autres formes d'aspergillose pulmonaire chronique, l'aspergillome pulmonaire simple est généralement indolent et détecté de manière fortuite (47). Le diagnostic repose sur des critères cliniques, des critères radiologiques caractéristiques et la mise en évidence sérologique ou microbiologique d'*Aspergillus spp*. L'imagerie thoracique montre une masse dans une cavité pré-existante avec présence d'un croissant d'air périphérique (48).

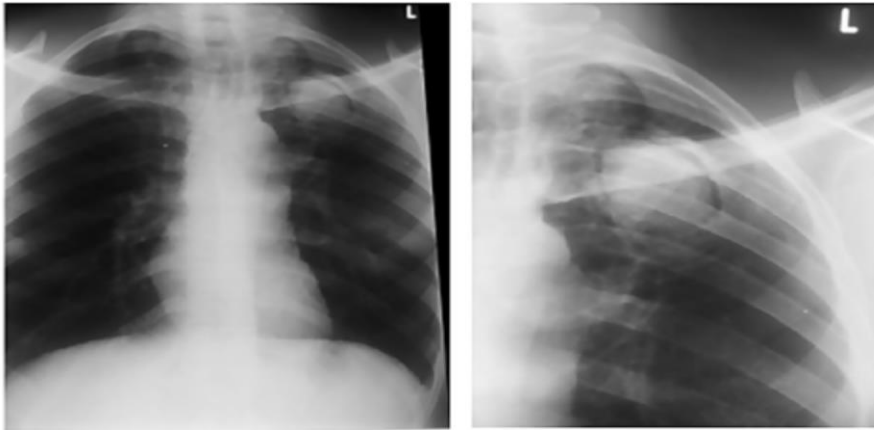


Figure 9. Image radiographique d'un aspergillome (49)

- L'aspergillose pulmonaire chronique cavitaire (APCC)

Il s'agit d'une ou plusieurs cavités pulmonaires contenant éventuellement un ou plusieurs aspergillomes, des preuves sérologiques ou microbiologiques de la présence d'*Aspergillus spp* avec des symptômes pulmonaires et/ou systémiques importants et une progression radiologique manifeste (nouvelles cavités, augmentation des infiltrats péri-cavitaires ou augmentation de la fibrose) sur une période d'au moins 3 mois d'observation (41).

L'APCC décrit une combinaison de symptômes radiologiques, respiratoires et systémiques, secondaires à une infection par *Aspergillus spp* sur un fond de pathologie pulmonaire chronique pré-existante (50). Les symptômes pulmonaires et systémiques reflètent une réaction inflammatoire chronique conduisant à un épaissement pleural et à une nécrose parenchymateuse avec formation de cavités à paroi épaisse prédominante, la marque radiologique caractéristique. Plus de la moitié de ces cavités peuvent contenir un aspergillome (51). En fin de compte, la fibrose des segments pathologiques se produit, aboutissant au développement de l'aspergillose pulmonaire chronique fibrosante (42,50).

- L'aspergillose pulmonaire chronique fibrosante (APCF)

Elle correspond à la destruction fibrosante d'au moins deux lobes pulmonaires compliquant une APCC conduisant à une perte majeure des fonctions pulmonaires (41). Elle est souvent le résultat final d'une APCC non traitée. Bien qu'évoluant au stade d'APCC, les aspergillomes sont rares dans l'APCF (42).

- Le nodule aspergillaire

Il s'agit d'une forme rare de l'aspergillose pulmonaire chronique. Les lésions pulmonaires peuvent être uniques ou multiples. Le diagnostic est presque toujours posé après biopsie d'excision où l'histologie confirme la présence d'hyphes aspergillaires sans invasion tissulaire. La majorité des nodules font moins de 3 cm, ne forment pas de cavité et apparaissent comme des lésions solides à l'imagerie. Les diagnostics différentiels de ces lésions nodulaires comprennent entre autres les cancers pulmonaires, les métastases pulmonaires, les nodules cryptococciques, la coccidioïdomycose, les mycobactéries tuberculeuses et non tuberculeuses ainsi que les nodules rhumatoïdes (41,43,52–56).

- L'aspergillose invasive subaiguë (AIS)

Elle était auparavant appelée aspergillose chronique nécrosante ou aspergillose pulmonaire semi-invasive. Elle survient chez des patients ayant un degré modéré d'immunodépression et comporte des signes cliniques et radiologiques similaires à l'APCC mais d'évolution plus rapide (57). Les symptômes peuvent évoluer sur une période de seulement quelques semaines. Certains terrains prédisposent à l'AIS comme le diabète, la malnutrition, l'alcoolisme, l'âge avancé, le traitement par corticoïdes au long cours, les traitements immunosuppresseurs, la radiothérapie, une pneumopathie chronique obstructive, une infection par une mycobactérie atypique ou l'infection HIV (39).

- Le diagnostic et le traitement de l'APC

Le diagnostic d'APC nécessite la combinaison de plusieurs caractéristiques : une imagerie en faveur (CT scan), la mise en évidence directe de l'*Aspergillus* (examen microbiologique) ou la mise en évidence d'une réponse immunologique contre l'*Aspergillus* (IgG anti-aspergillaires) et l'exclusion d'un autre diagnostic. De plus, la pathologie doit être présente depuis au moins 3 mois, mis à part l'AIS.

La réponse aux traitements antifongiques est généralement longue. Néanmoins, la plupart des patients répondent dans les 6 mois (58). Un minimum de 4 à 6 mois de traitement oral par triazolés est recommandé initialement. L'hémoptysie peut être traitée par l'acide tranexamique ou par embolisation. Enfin la chirurgie d'exérèse des aspergillomes chez des patients ayant conservé une bonne capacité pulmonaire est une autre alternative.

b) La bronchite aspergillaire

Cette entité clinique est décrite dans la mucoviscidose et la BPCO. Sa fréquence est estimée à 30% chez les patients adultes atteints de mucoviscidose (59). Le tableau clinique se traduit par un trouble ventilatoire obstructif dû à une inflammation bronchique non spécifique. Dans certains cas elle peut être asthmatiforme (60). La biologie se caractérise par une sérologie positive à IgG anti-*Aspergillus* en l'absence d'IgE anti-*Aspergillus* avec culture ou PCR en temps réel positive dans les expectorations (61). Le traitement n'est pas codifié, mais il semble que les patients répondent bien aux antifongiques de type azolés (62).

2. Pathologies Allergiques

A. fumigatus est responsable de pathologies allergiques relevant de divers mécanismes d'hypersensibilité. Il convient donc avant tout de rappeler la classification des hypersensibilités.

a) Classifications des hypersensibilités

Selon la World Allergy Organization (WAO), l'hypersensibilité est définie comme l'apparition de symptômes et signes reproductibles, à la suite d'une exposition à un stimulus défini toléré par des sujets normaux. L'hypersensibilité met en jeu des mécanismes immunologiques.

Les hypersensibilités sont réparties en 4 types selon la classification de Gell et Coombs.

- Type 1: hypersensibilité immédiate

La réaction a lieu immédiatement (<1 h) après un second contact avec l'antigène. Les antigènes responsables sont définis comme des allergènes induisant la formation d'anticorps d'isotype IgE. Lors du premier contact avec l'allergène, des IgE spécifiques de l'allergène sont synthétisées et se fixent par leurs fragments Fc à la surface des mastocytes et des polynucléaires basophiles (PNB) sur des récepteurs spécifiques de haute affinité des IgE (FcεRI). Lors de la seconde exposition à l'allergène, celui-ci se lie aux fragments Fab des IgE et réalise un pontage entre deux IgE à la surface des mastocytes et polynucléaires basophiles. Ce pontage entraîne une cascade de signalisation intra cellulaire aboutissant à la dégranulation de ces cellules. Des médiateurs préformés comme l'histamine ou la tryptase et des médiateurs néoformés comme les prostaglandines issues du métabolisme de l'acide arachidonique par

les cyclo-oxygénases. Ces médiateurs provoquent notamment une contraction des cellules musculaires lisses, une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire.

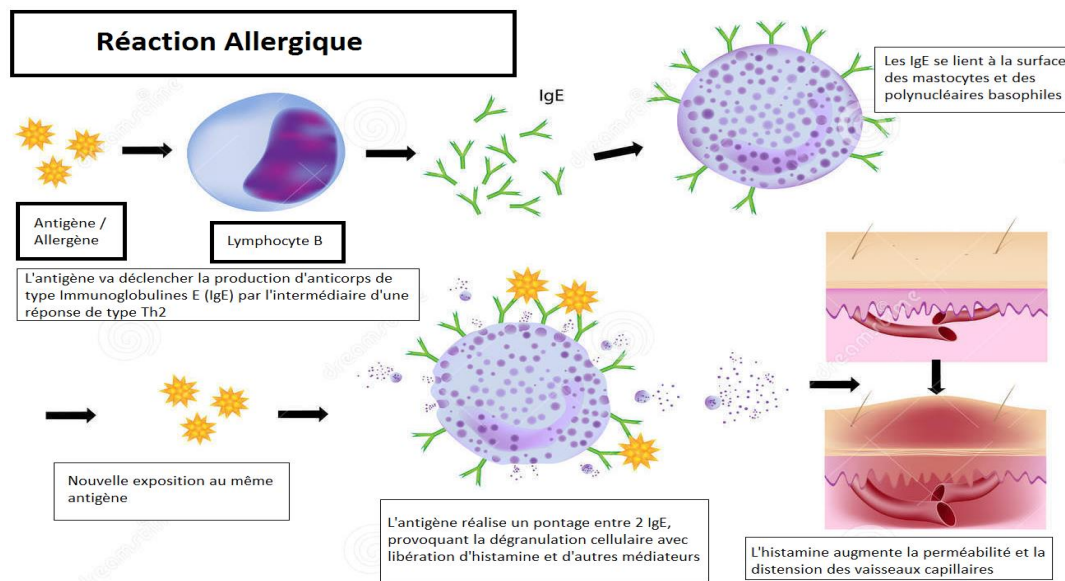


Figure 10. La réaction d'hypersensibilité immédiate médiatee par les IgE, Dreamstime.com

- Type II: hypersensibilité cytotoxique

Le temps d'apparition des symptômes est de quelques minutes à quelques heures. Les antigènes sont endogènes ou correspondent à des composés chimiques (haptènes) capables de se lier aux membranes cellulaires. Les exemples d'hypersensibilité de type II sont les cytopénies médicamenteuses (anémie hémolytique, leucopénie, ou thrombocytopenie). Elles sont médiées par des IgG ou des IgM.

- Type III: hypersensibilité à complexes immuns

La réaction peut débuter 3 à 10 h après l'exposition à l'antigène qui peut être exogène (infections chroniques bactériennes, virales ou parasitaires) ou endogène (antigènes non spécifiques d'organe comme dans le lupus érythémateux systémique). L'antigène est soluble et non lié à l'organe impliqué. Cette HS est médiée par des complexes immuns solubles impliquant surtout des IgG. La réaction peut être systémique (maladie sérique) ou limitée à quelques organes (reins, peau, poumons, articulations, ...). Les lésions contiennent principalement des PNN et des dépôts de complexes immuns et de complément.

- Type IV: hypersensibilité retardée, à médiation cellulaire

La réaction est retardée (>12 h) et a lieu généralement dans les 24 à 72 h après l'exposition à l'antigène. Elle est impliquée dans la pathogenèse de nombreuses maladies auto-immunes (dermatite atopique, psoriasis, ...) et infectieuses (tuberculose, lèpre, histoplasmosse, toxoplasmosse, leishmaniose, ...). Les allergènes ou antigènes sont exogènes. Les mécanismes

d'endommagement tissulaire mettent en jeu l'immunité cellulaire (lymphocytes, monocytes, macrophages ...)(63).

b) Pneumopathies d'hypersensibilité (PHS)

Les PHS correspondent à une HS de type IV selon la classification de Gell et Coombs. Elles sont dues à l'inhalation chronique, professionnelle ou environnementale, d'antigènes le plus souvent organiques, parfois chimiques, de faible poids moléculaire. Leur dénomination dépend des circonstances étiologiques et des antigènes inhalés : maladie du poumon de fermier, maladie des éleveurs d'oiseaux, maladie des champignonnistes... La PHS résulte d'une réponse immune exagérée à l'inhalation d'un antigène auquel le sujet a préalablement été sensibilisé. Cette réponse est médiée par l'accumulation pulmonaire de lymphocytes de type Th1. Cette pathologie est caractérisée par la formation de granulomes, notamment péribronchiolaires. La pathologie souvent négligée, conduit à un trouble fonctionnel respiratoire essentiellement restrictif.

Six critères diagnostics simples permettent de suspecter une PHS :

- L'exposition à un antigène connu pour être pathogène ;
- La récurrence des symptômes (fièvre, frissons, douleurs diffuses, toux, dyspnée...);
- Ces symptômes survenant 4 à 8 h après l'exposition à l'antigène ;
- La présence de crépitants à l'auscultation ;
- Une perte de poids ;
- La positivité de la sérologie vis-à-vis de cet antigène (mise en évidence de précipitines spécifiques) (64).

Histologiquement, on retrouve un infiltrat inflammatoire péribronchiolaire qui va s'étendre jusqu'à l'interstitium et aux alvéoles adjacentes, composé principalement de lymphocytes T classiquement CD8+, mais aussi de PNN, de macrophages, de plasmocytes et de mastocytes (63). Ces infiltrats vont former des granulomes sans nécrose caséuse, puis aboutir à de la fibrose en l'absence d'éviction de la source antigénique.

c) Asthme avec sensibilisation aspergillaire (ASA)

L'ASA relève d'un mécanisme d'HS de type I selon la classification de Gell et Coombs. La prévalence de l'hypersensibilité à *Aspergillus* chez des patients asthmatiques a été rapportée entre 38 % à 43 %(65,66). Cette pathologie est essentiellement décrite chez les patients asthmatiques et parfois chez les patients atteints de mucoviscidose. Elle est définie par la

présence d'une symptomatologie asthmatique et d'IgE spécifiques anti-*A. fumigatus* (à différencier de la simple sensibilisation aspergillaire pour laquelle on ne retrouve que la présence d'IgE spécifiques sans retentissement clinique)(67), en l'absence d'autres critères permettant un diagnostic d'ABPA. Même si l'ASA est le plus reconnu, il existe d'autres sources fongiques d'asthme (*Alternaria spp*, *Cladosporium spp*, ...) et on qualifie donc ces pathologies d'asthme sévère avec sensibilisation fongique (68). L'ASA est le principal diagnostic différentiel de l'ABPA, tout en sachant que cette pathologie peut évoluer vers l'ABPA (69).

d) Aspergillose bronchopulmonaire allergique

L'ABPA relève des mécanismes d'HS de type I et III selon la classification de Gell et Coombs. Objet de notre étude, c'est une pathologie complexe que nous allons détailler dans le paragraphe suivant.

II. L'aspergillose bronchopulmonaire allergique

L'ABPA est une pathologie touchant principalement les patients atteints d'asthme ou de mucoviscidose. Il s'agit d'un stade avancé de l'hypersensibilité à *Aspergillus*. *A. fumigatus* est l'espèce la plus fréquemment incriminée mais d'autres espèces d'*Aspergillus* sont également mises en cause telles que *A. flavus*, *A. niger* et *A. terreus* (70). D'autres espèces de champignons filamenteux peuvent entraîner une pathologie similaire à l'ABPA que l'on nomme alors mycose bronchopulmonaire allergique (MBPA).

A. Manifestations cliniques, épidémiologie

L'ABPA atteint le plus fréquemment des adultes jeunes et complique une pathologie pulmonaire sous-jacente. Rarement l'ABPA est découverte de manière fortuite chez des patients asymptomatiques. Les terrains les plus propices à l'apparition de l'ABPA sont l'asthme et la mucoviscidose. La prévalence estimée de l'ABPA est de 1 à 2% chez les asthmatiques (7 à 14% chez les cortico-dépendants) et de 8 à 10% chez les patients atteints de mucoviscidose, avec des extrêmes allant de 1 à 25%, et ces chiffres sont légèrement inférieurs chez les enfants par rapport aux adultes (71).

Les manifestations cliniques de la pathologie ne sont pas spécifiques et rendent son diagnostic difficile. L'ABPA peut se présenter avec des symptômes atypiques tels que de la fièvre, une altération de l'état général (asthénie, amaigrissement), des hémoptysies, des expectorations purulentes voire des expectorations noirâtres de moules bronchiques, une majoration de la toux, des sibilants respiratoires ou une douleur thoracique (72). Chez les sujets asthmatiques, l'ABPA se manifeste généralement par un asthme difficile à contrôler (fréquence des crises, majoration de la dyspnée, ...). Chez les patients mucoviscidosiques, le diagnostic est plus difficile à poser, ces patients sont colonisés par plusieurs souches bactériennes pouvant être responsables de symptômes similaires. L'ABPA devra alors être suspectée devant une réponse inefficace à une antibiothérapie bien menée. L'ABPA peut enfin être diagnostiquée tardivement, à un stade avancé de la maladie, lors de l'apparition d'une hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) (73).

B. Facteurs prédisposants

Plusieurs facteurs sont identifiés à risque pour le développement d'une ABPA :

- Les pathologies pulmonaires chroniques : asthme, mucoviscidose, mais également les BPCO et dilatations de bronches.
- Les facteurs génétiques :
 - Certains haplotypes HLA favorisent une réponse Th2 exagérée avec synthèse d'IgE comme les HLA-DR2 et HLA-DR5 (74). Des études ont montré que les HLA-DRB1*1501 et HLA-DRB1*1503 étaient liés à un risque plus élevé de développer une ABPA (75). A l'inverse le HLA-DQ2 confère une protection vis-à-vis de l'ABPA (76).
 - Le polymorphisme de la chaîne alpha du récepteur à l'IL-4 (IL-4R α) semble aussi jouer un rôle de facteur de risque d'ABPA en étant responsable d'une hyperréactivité des lymphocytes B et des mastocytes (77).
 - Le polymorphisme du promoteur de l'IL-10 (cytokine anti-inflammatoire produite par les lymphocytes Th2 et les lymphocytes T régulateurs), entraînant une inhibition préférentielle de la réponse Th1 (78).

- La fréquence de la mutation hétérozygote du gène CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) est plus élevée chez les patients atteints d'ABPA par rapport aux patients asthmatiques ou à la population générale (79).
- Le microbiote : des altérations du microbiome pulmonaire ou intestinal, de par son rôle dans les mécanismes de régulation immunitaire, favoriseraient les pathologies aspergillaires dont l'ABPA (80).

C. Physiopathologie

L'ABPA relève d'un mécanisme d'HS de type I prépondérant. Les sujets atteints d'asthme ou de mucoviscidose présentent des anomalies de la réponse immunitaire innée avec une orientation exacerbée Th2 de la réponse immunitaire adaptative (81).

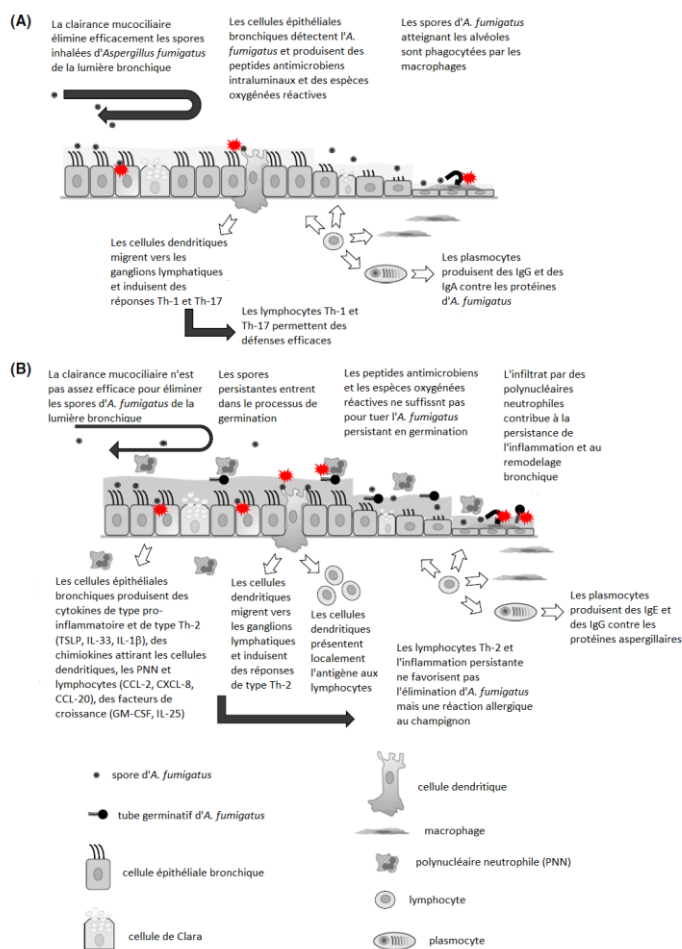


Figure 11. Evènements clés de l'interaction et des conséquences immunitaires entre *Aspergillus fumigatus* et l'hôte humain. (A) chez un sujet immunocompétent, (B) chez un sujet pathologique (exemple : mucoviscidosique) (71)

Chez les patients atteints de mucoviscidose, d'asthme ou d'autres pathologies pulmonaires chroniques, les spores peuvent se développer et former des hyphes car il y a une altération de la clairance muco-ciliaire et une stagnation du liquide bronchique empêchant les peptides anti-microbiens d'atteindre l'*Aspergillus*. La persistance et la croissance d'*A. fumigatus* provoquent une réponse inflammatoire importante mais inefficace, orientée Th2 avec des niveaux élevés d'IgE et d'IgG anti-*Aspergillus*.

Finalement, cette réponse inflammatoire Th2 robuste est délétère, entraînant une production de mucus, une hyperréactivité bronchique, une inflammation et des bronchectasies qui caractérisent l'ABPA (35).

D. Diagnostic de l'ABPA

a. Critères diagnostics

Le diagnostic d'ABPA étant difficile, plusieurs classifications ont été proposées. Les derniers critères communs pour les patients asthmatiques et mucoviscidosiques ont été proposés par R. Agarwal (ISHAM working group) en 2013 (82):

- 1) Facteurs prédisposants : asthme bronchique, mucoviscidose
- 2) Critères majeurs obligatoires :
 - Réaction cutanée d'hypersensibilité immédiate à *A. fumigatus* ou taux élevé d'IgE spécifiques anti-*A. fumigatus*
 - Taux d'IgE totales élevées (> 1000 UI/ml)
- 3) Associés à au moins deux critères mineurs :
 - Présence d'anticorps (Ac) précipitants ou d'IgG spécifiques anti-*A. fumigatus*
 - Anomalies radiologiques pulmonaires compatibles avec l'ABPA (transitoires ou permanentes)
 - Eosinophilie > 0,5 G/L en l'absence d'imprégnation par des corticoïdes
 - NB : il est précisé que si un patient présente tous les « autres critères », un taux d'IgE < 1000 UI/ml peut être acceptable

Le diagnostic étant plus difficile à poser chez les patients mucoviscidosiques, nécessitant une surveillance accrue avec au minimum un bilan annuel, d'autres critères ont été proposés par la SPLF (Société de Pneumologie de Langue Française) en 2016 (83).

Tableau 1. Critères diagnostics de l'ABPA chez les patients mucoviscidosiques(83)

Critères classiques	Critères minimaux
Détérioration aiguë ou subaiguë et déclin de VEMS sans autre cause	Détérioration aiguë ou subaiguë et déclin de VEMS sans autre cause
IgE > 1000 UI/mL	IgE > 500 UI/mL
Réactivité cutanée immédiate prick test ou IgE spécifiques anti-aspergillaires	Réactivité cutanée immédiate prick test ou IgE spécifiques anti-aspergillaires
Précipitines à <i>A. fumigatus</i> ou IgG anti- <i>A. fumigatus</i>	Précipitines à <i>A. fumigatus</i> ou IgG anti- <i>A. fumigatus</i>
Infiltrat pulmonaire nouveau ou récent	Infiltrat pulmonaire nouveau ou récent

Pour les IgE spécifiques, le seuil de positivité est fixé à 0,35 kUA/L.

Agarwal et al. (84) ont proposé une autre classification de l'ABPA en fonction des résultats de la tomodensitométrie à haute résolution (HRCT) comme suit :

- ABPA-S (sérologique), stade léger
- ABPA-CB (broncheectasies centrales), stade modéré
- ABPA-CB-HAM (broncheectasies centrales et présence de mucus à haute atténuation (HAM)), stade grave.

Cette classification reflète non seulement la gravité mais également le risque de rechutes.

b. Imagerie

1. La radiographie pulmonaire

La radiographie pulmonaire montre des signes non spécifiques lors des premiers stades de la maladie, et il est difficile de poser un diagnostic à partir de cet examen (8–10,18). La radiographie thoracique est normale dans presque 50% des cas (84). Les atteintes pulmonaires touchent préférentiellement les lobes supérieurs. Des signes radiologiques ont été définis en fonction des stades de l'ABPA, certains pouvant être aperçus sur la radiographie pulmonaire.

Tableau 2. Stades de l'ABPA en fonction des signes radiologiques (84)

STADE	DESCRIPTION	IMAGES RADIOLOGIQUES
I	Phase aiguë	normale; infiltrats pulmonaires et impactions mucoïdes, prédominants dans les lobes supérieurs
II	Rémission	résolution significative des infiltrats pulmonaires et clairance des impactions mucoïdes
III	Exacerbation	réapparition d'infiltrats pulmonaires et/ou d'impactions mucoïdes
IV	ABPA cortico-dépendante	résolution significative des infiltrats pulmonaires et des impactions mucoïdes, persistance d'opacités pulmonaires fixées
V	Stade terminal (fibrose)	présence de bronchectasies, de fibrose pulmonaire et d'hypertension artérielle pulmonaire

Ces anomalies radiographiques peuvent prendre de multiples apparences et peuvent être classées en anomalies transitoires et permanentes. Les signes de fibrose apparaissent aux stades tardifs de la maladie en l'absence de prise en charge adaptée.

2. La tomодensitométrie pulmonaire

La tomодensitométrie à haute résolution (HRCT) permet une meilleure évaluation de la distribution des bronchectasies et des autres anomalies invisibles sur la radiographie pulmonaire (85). Les résultats de l'HRCT se composent principalement de bronchectasies et d'impactions mucoïdes impliquant principalement les bronches segmentaires et sous-segmentaires des lobes supérieurs, ainsi que des nodules centro-lobulaires ou des structures linéaires ramifiées (86). L'impaction mucoïde correspond au remplissage des bronches dilatées par des sécrétions muqueuses. Le mucus bronchique est généralement hypodense, mais peut prendre un aspect hyperdense, on parle alors de HAM (High attenuation mucus) (87). Actuellement la présence de HAM est considérée comme pathognomonique de l'ABPA (33). Une étude de 2019 sur 137 patients atteints de mucoviscidose dont 23 ABPA a mis en évidence que le HAM est le biomarqueur le plus spécifique de l'ABPA dans la mucoviscidose, avec une bonne sensibilité (88). Cette hyperdensité est notamment attribuée à la présence de sels de calcium et de métaux (ions fer et manganèse) (34).

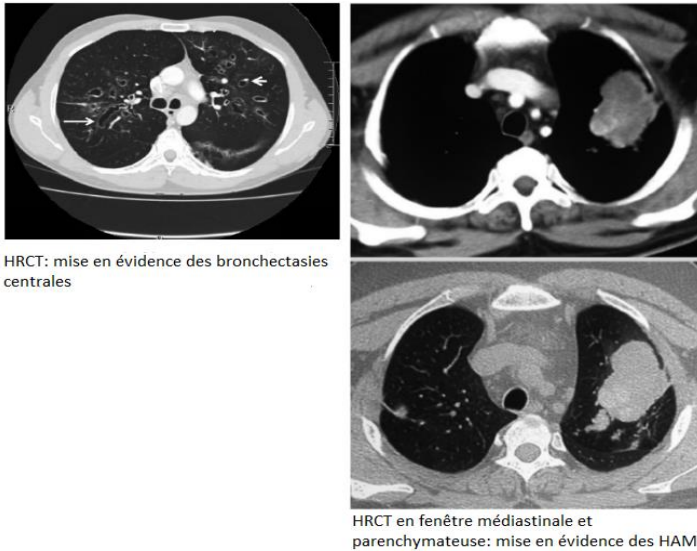


Figure 12. Images tomodensitométriques de l'ABPA (84)

3. L'IRM

Peu d'études ont été réalisées pour déterminer le rôle de l'IRM dans l'ABPA. Il a été démontré récemment que l'impaction mucoïde dans les bronches dilatées peut être très bien perçue à l'IRM comme des lésions hyperintenses en séquence T2. Les foyers hypointenses T2 au sein de ces lésions correspondent au HAM sur HRCT, suggérant ainsi un diagnostic d'ABPA (89). Avec les développements techniques dans les séquences IRM, elle pourra jouer un rôle dans l'imagerie de l'ABPA dans un avenir proche.

c. Explorations fonctionnelles respiratoires (EFR)

Les EFR constituent le moyen primordial pour évaluer la fonction ventilatoire chez les patients. La spirométrie est un examen simple et non invasif faisant partie des EFR. Elle consiste à souffler dans un tube relié à un appareil d'analyse.

Elle permet de définir :

- Le volume courant **VT** : volume mobilisé à chaque cycle respiratoire pendant une respiration normale.
- La capacité vitale **CV** : représente le volume d'air total que les poumons peuvent mobiliser.
- Le volume résiduel **VR** : volume d'air se trouvant dans les poumons à la fin d'expiration forcée. Autrement dit qu'il est impossible d'expirer.
- La capacité pulmonaire totale **CPT** : somme de la capacité vitale CV et du volume résiduel VR.

- Le volume expiratoire maximal seconde **VEMS** : quantité d'air expulsé durant la première seconde de l'expiration forcée, réalisée après une inspiration maximale.
- La capacité vitale forcée **CVF** : La CVF est mesurée lors d'une expiration forcée. Le patient inspire au maximum et souffle le plus rapidement possible tout l'air de ses poumons dans le spiromètre.

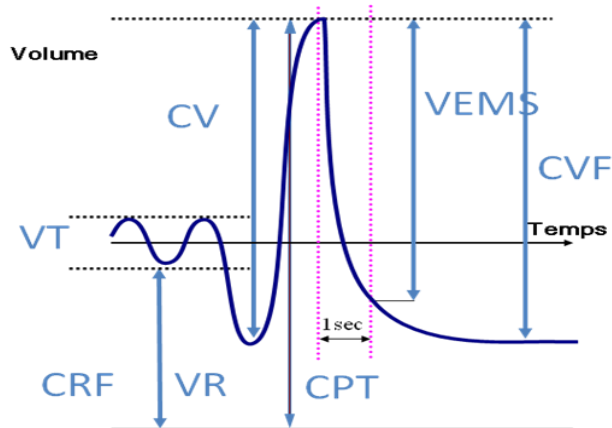


Figure 13. Résultats d'une spirométrie forcée (90)

Un rapport de Tiffeneau (= $VEMS/CVF$) < 70% définit un syndrome obstructif. Si le rapport de Tiffeneau se normalise après adjonction de bronchodilatateurs (bêta-2-mimétiques et/ou anticholinergiques), alors on parle de réversibilité. Chez un sujet asthmatique, on retrouve typiquement un trouble ventilatoire obstructif réversible (91). Une réversibilité significative est définie par une augmentation de VEMS et/ou de CVF supérieure ou égale à 12% par rapport à la valeur de base et supérieure ou égale à 200 ml(92). La réversibilité est moins fréquente et moins importante dans l'ABPA (93). Le trouble ventilatoire restrictif est défini par une $CPT < 80\%$ accompagné d'une réduction de la capacité vitale, typiquement retrouvé dans les pneumopathies interstitielles et la fibrose pulmonaire. En l'absence de prise en charge adaptée, l'ABPA peut aboutir à une fibrose pulmonaire irréversible responsable d'un syndrome restrictif. Toutefois les EFR peuvent être normales dans l'ABPA, et une spirométrie normale ne permet pas d'exclure le diagnostic (94).

d. Tests cutanés

Les tests cutanés ou Skin Prick Tests sont des procédures permettant la mise en évidence d'une sensibilisation immédiate vis-à-vis d'un ou plusieurs allergènes. Il s'agit d'un test rapide qui peut être interprété en 15-20 minutes. Le principe consiste à déposer une goutte d'extrait allergénique sur la peau du patient et d'utiliser une lancette pour réaliser une petite effraction

cutanée. Le résultat est considéré positif si une papule de diamètre ≥ 3 mm est formée lors de la lecture (95).

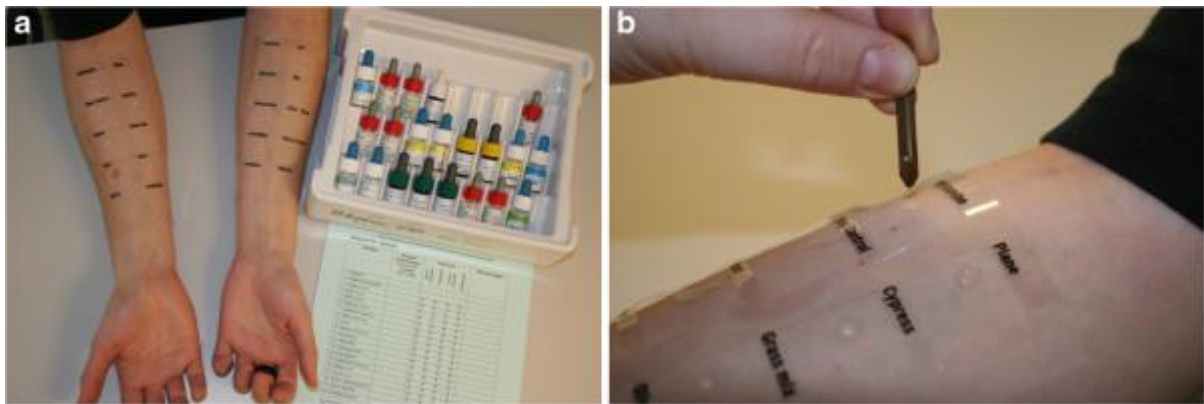


Figure 14. Principe du Prick Test cutané(95), (a) préparation au test cutané sur l'avant-bras, (b) Prick test avec lancette à travers une goutte d'extrait d'allergène

Lorsqu'un allergène est introduit dans la peau, il va se lier au fragment Fab des IgE spécifiques de l'allergène fixées à la surface des mastocytes. Il s'agit d'une réaction d'hypersensibilité de type I selon la classification de Gell et Coombs (comme vu précédemment). Cette réaction va se traduire par un érythème local avec formation d'une papule autour de la zone d'injection. Ce test ne peut pas être réalisé chez tous les patients allergiques car il existe certaines interférences ne permettant pas l'interprétation des tests tels qu'un eczéma généralisé, un dermographisme ou des traitements anti-histaminiques, corticoïdes topiques puissants ou oraux à long terme ou un traitement par anticorps anti-IgE (Omalizumab). Les anti-histaminiques doivent être arrêtés au moins une semaine avant le test, l'Omalizumab au moins 6 semaines avant le test (96). De plus, ce test peut provoquer des réactions généralisées voire un choc anaphylactique et tend à être remplacé par le dosage des IgE spécifiques.

e. Tests biologiques

1. Eosinophilie

La réponse immunitaire de type Th2 induite après inhalation des spores d'*Aspergillus* conduit à la libération d'IL-5 par les lymphocytes TCD4+. L'IL-5 va induire la différenciation et

le recrutement des polynucléaires éosinophiles au niveau du site de l'inflammation (97). Sur une cohorte de 209 patients atteints d'ABPA, R. Agarwal et al. ont mis en évidence que 60% d'entre eux avaient une éosinophilie sanguine < 1 G/L, parmi lesquels 24% avaient une éosinophilie $< 0,500$ G/L (98). Le taux d'éosinophiles montre donc un intérêt limité dans le diagnostic de l'ABPA. Il ne semble pas y avoir de relation entre le nombre d'éosinophiles dans le sang et la fonction pulmonaire ou d'autres paramètres immunologiques. Cependant, le taux d'éosinophiles est plus élevé chez les patients atteints de bronchectasie centrale ou avec une importante atténuation du mucus à l'imagerie (98).

2. Culture mycologique

La culture mycologique se réalise sur gélose de Sabouraud, la croissance du champignon se fait en 2 à 5 jours à 30 ± 2 °C. Lorsqu'une colonie pousse, on peut tout d'abord s'aider d'une analyse macroscopique en regardant l'aspect de cette colonie (duveteux, poudreux, cotonneux, ...), le relief, la taille et la couleur. Ensuite on peut réaliser une analyse microscopique à l'aide d'un scotch que l'on va déposer sur la colonie puis disposer entre lame et lamelle avec une coloration au bleu de lactophénol. On s'aidera ensuite des caractéristiques morphologiques vues précédemment. La culture d'*Aspergillus spp* dans un prélèvement respiratoire est un examen qui manque de sensibilité, et ne permet généralement pas de faire la distinction entre une colonisation et une infection (50), sauf si la pousse est très rapide et qu'il y a de nombreuses colonies. Enfin, la spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS : Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation Time-Of-Flight) permet d'obtenir sous forme de spectre le profil protéique des champignons filamenteux et notamment l'identification et la discrimination des espèces aspergillaires (99). L'antifongigramme sera réalisé en fonction du type de pathologie, notamment en cas d'infection profonde ou systémique. La méthode la plus utilisée par les laboratoires de mycologie en France est la méthode d'antifongigramme en bandelette Etest, c'est-à-dire qu'on dispose les bandelettes Etest des 5 antifongiques utilisables (Voriconazole, Fluconazole, Amphotéricine B, caspofungine et Micafungine) après ensemencement. On réalise ensuite une lecture des concentrations minimales inhibitrices (CMI) à 24h et 48h (100).

La fréquence des résistances d'*Aspergillus spp* aux antifongiques triazolés est en augmentation depuis les années 2000. Il y a deux modes principaux d'acquisition de ces résistances : la sélection de mutants résistants secondaire à un traitement par triazolés au long cours ou l'acquisition de mutants résistants de novo en lien avec l'utilisation de fongicides azolés dans le milieu agricole (101).



Figure 15. *Aspergillus fumigatus* en culture Sabouraud dextrose agar (102)

3. Recherche d'IgG spécifiques anti-*A. fumigatus*

La nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) impose la réalisation d'un test de dépistage et d'un test de confirmation (si le dépistage est positif) pour la détection des anticorps anti-*Aspergillus* (NABM 2017).

L'objectif du dépistage est d'avoir une excellente sensibilité (afin de détecter tous les malades) et celui de la confirmation d'avoir une excellente spécificité (pour permettre l'élimination de faux positifs).

Les techniques de dépistage comprennent :

- L'électrosynérèse
- L'hémagglutination indirecte
- Les techniques immuno-enzymatiques (ELISA)
- L'immunodiffusion double (Ouchterlony)

Les techniques de confirmation comprennent :

- La coélectrosynérèse
- L'immunoélectrophorèse
- L'immunoempreinte (Western Blot)

Nous ne détaillerons pas toutes ces techniques mais seulement celles utilisées au CHU de Bordeaux, l'ELISA et le Western Blot.

- ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)

La technique PLATELIA *Aspergillus* IgG BIO-RAD est celle utilisée au CHU de Bordeaux.

Il s'agit d'une technique immuno-enzymatique indirecte en microplaque utilisée pour détecter les IgG anti-*Aspergillus* dans le sérum ou le plasma.

- Principe du test : on ajoute le sérum ou le plasma d'un échantillon dans le puits d'une microplaque dans lequel sont coâtés des antigènes recombinants aspergillaires purifiés. Après une séance de lavage, on ajoute le conjugué (anticorps de souris anti-IgG humaines marqués à la peroxydase). Un complexe antigène aspergillaire-IgG humaine anti-*Aspergillus*-anticorps de souris anti-IgG humaine/ peroxydase est alors formé. On ajoute alors un chromogène contenant le substrat de la peroxydase. La réaction est stoppée par adjonction d'acide sulfurique 1N. Et on réalise enfin la lecture de la densité optique par un spectrophotomètre à 450/620 nm.

- Interprétation :

- Concentration < 5 AU/ml : négatif, absence d'IgG anti-*Aspergillus*
- Concentration entre 5 et 10 AU/ml : douteux
- Concentration \geq 10 AU/ml : positif, présence d'IgG anti-*Aspergillus*

Les techniques ELISA sont des techniques sensibles, permettant la réalisation de grandes séries. Elles ont pour avantage d'être faciles, rapides à réaliser et d'être automatisées.

- Immunoempreinte (Western Blot)

La technique Western Blot *Aspergillus* IgG LD BIO Diagnostics est celle utilisée au CHU de Bordeaux.

Il s'agit d'un test semi-quantitatif de détection des IgG dans le sérum.

Contrairement à la détection des immunoprécipitines (technique de référence), les techniques de WB sont pratiques, standardisées et faciles à réaliser et à interpréter. De plus, le délai de rendu des résultats est plus court (4h pour le Western Blot versus 24-36h pour la détection des immunoprécipitines)(103).

Principe du test :

- Technique du Western Blot : Les antigènes *A. fumigatus*, après séparation électrophorétique ont été fixés par électro-transfert à la surface d'une feuille de nitrocellulose (appelée le transfert) découpée en 24 bandelettes identifiées de 1 à 24.
- Déroulement du test : chaque échantillon sérique à tester est incubé séparément avec une bandelette. Les anticorps spécifiques éventuellement présents dans le prélèvement se fixent sélectivement sur les antigènes. A l'étape suivante, le conjugué Phosphatase Alcaline –anti-IgG humaines se lie aux anticorps fixés. Enfin, les immuns-complexes réagissent avec les substrats. Les antigènes reconnus par les anticorps

spécifiques de classe IgG présents dans les échantillons sont ainsi révélés sous forme de bandes transversales violettes.

- **Interprétation** : 4 bandes ont été retenues pour leur spécificité, leur sensibilité et leur facilité de lecture. Situées à 16, 18-20, 22 et 30 kDa, elles sont donc appelées : P16, P18-20, P22 et P30. La présence simultanée de 2 bandes bien définies parmi P16, P18-20, P22 et P30 est indicative de la présence d'anticorps spécifiques anti-*Aspergillus*. L'évaluation semi-quantitative se réalise par la mesure de l'intensité de chaque bande (allant de 1 à 4) (103). Elle permet un meilleur suivi des patients.

Tableau 3. Détails de la semi-quantification du Western Blot *Aspergillus* (103)

Nombre de bandes	Résultats		
	Négatif	Positif faible	Positif
0-1	NA	NA	NA
2	NA	$2 \leq I \leq 4$	$4 < I$
3	NA	$3 \leq I \leq 6$	$6 < I$
4	NA	$4 \leq I \leq 8$	$8 < I$

NA : non applicable

I : intensité

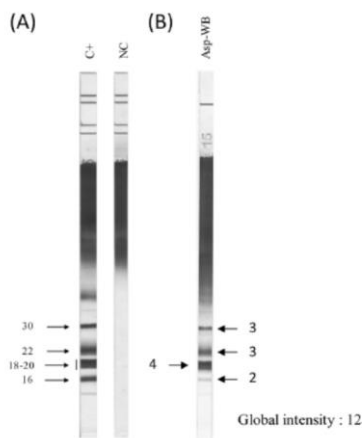


Figure 16. Résultats du WB *Aspergillus*(103) :

(A) C+, contrôle positif, présence de P16, P18-20, P22 et P30 ; NC, contrôle négatif, aucune bande visible

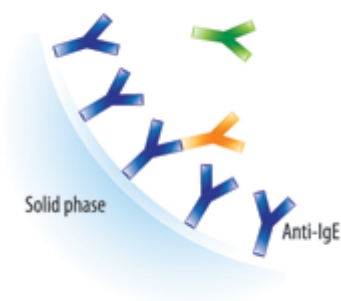
(B) Patient positif, P16 d'intensité 2, P18-20 d'intensité 4, P22 d'intensité 3 et P30 d'intensité 3, soit une intensité totale à 12.

4. Dosage des IgE totales

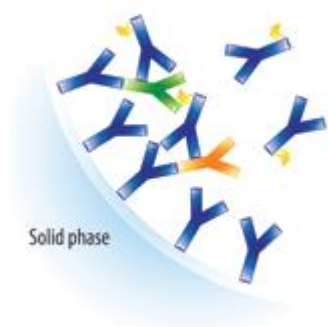
Le taux d'IgE totales est un des critères majeurs du diagnostic d'ABPA lorsque le taux est > 1000 kUI/L (1 UI = 2,4 ng) on admet un seuil plus faible à 500 UI/mL (comme vu précédemment) pour les patients atteints de mucoviscidose pour lesquels le diagnostic est plus difficile à poser. Les valeurs seuils des IgE totales peuvent être variables selon les sources bibliographiques. En effet, les seuils sont fixés à 1000 ou 500 UI/mL. Certains laboratoires puis certaines équipes médicales ont exprimé les résultats en mg/L, or 1000 mg/L correspond à environ 417 UI/mL (82). Le dosage des IgE totales accompagne toujours le dosage des IgE spécifiques anti-aspergillaire pour le diagnostic et le suivi d'ABPA, de même que pour le bilan annuel des patients atteints de mucoviscidose (104).

Le diagnostic doit toujours être confronté à la clinique car une élévation des IgE totales peut être due à d'autres pathologies : sujet atopique, urticaire chronique, parasitose systémique, vascularite (Churg et Strauss), certains déficits immunitaires (syndrome de Job-Buckley, syndrome de Wiskott-Aldrich), exceptionnel myélome à IgE, tabagisme, ... Les variations des taux des IgE totales peuvent servir de marqueur d'exacerbation ou de réponse au traitement de la pathologie, en confrontant ces données à la clinique (105). Les taux augmentent lors des phases d'exacerbation et diminuent après un traitement par corticoïdes, généralement dans les 2 mois après instauration, et peuvent se normaliser au stade de fibrose (106).

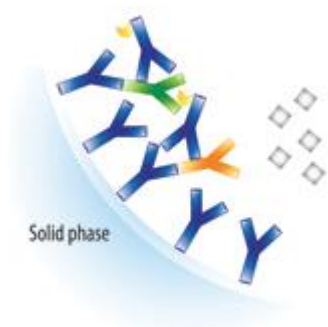
Au laboratoire d'immunologie du CHU de Bordeaux, le dosage des IgE totales, comme le dosage des IgE spécifiques se réalise sur l'automate Immuno CAP par technique sandwich en FEIA (Fluorescence Enzyme Immuno Assay).



Les IgE du sérum se fixent sur des Ac anti-IgE couplés de façon covalente à la phase solide (mousse de cellulose), formant ainsi un complexe anti IgE-IgE.



Après lavage, des Ac anti-IgE marqués par une enzyme (β -galactosidase) sont ajoutés pour former un complexe anti IgE-IgE-anti IgE*.



Après incubation, les Ac anti-IgE* non liés sont éliminés par lavage et le complexe anti IgE-IgE-anti IgE* est incubé avec un substrat de l'enzyme la 4-méthyl-umbelliferyl- β -D-galactoside, réduite par l'enzyme β -galactosidase en 4-méthyl-umbelliférone.

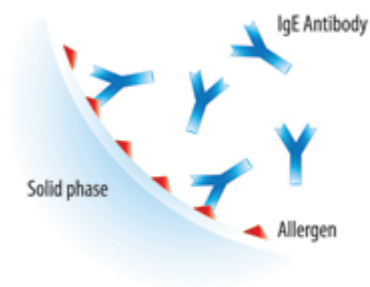


Après arrêt de la réaction, la fluorescence de l'éluât émise par la 4-méthylumbelliférone est mesurée. La fluorescence est directement proportionnelle à la concentration d'IgE dans le sérum.

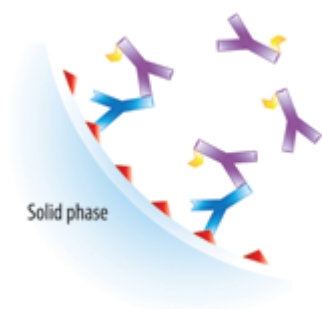
Figure 17. Principe du dosage des IgE totales par test ImmunoCAP (Thermo Fisher Scientific, 2012).

5. Dosage des IgE spécifiques m3 (extrait total d'*A. fumigatus*)

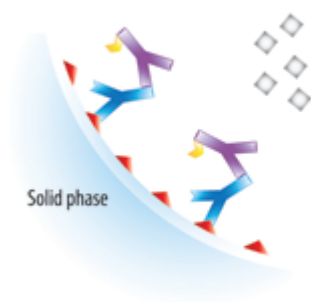
Tout comme les IgE totales, les taux des IgE spécifiques anti-*A. fumigatus* varient en fonction de l'état de la pathologie (exacerbation, traitement, rémission). Ce marqueur sensible est indispensable pour le diagnostic d'ABPA. Un résultat négatif permet d'exclure le diagnostic d'ABPA, même si le taux d'IgE totales est élevé. Les normes concernant les IgE spécifiques sont des taux inférieurs à 0,10 kUA/L (ce qui correspond au seuil de positivité du test). Le seuil retenu pour le m3 dans le diagnostic de l'ABPA est de 0,35kUA/L.



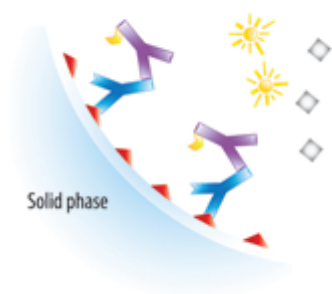
L'allergène, l'extrait ou le composant allergénique couplé de façon covalente à la phase solide (mousse de cellulose) réagit avec les IgE spécifiques de l'échantillon de sérum formant ainsi un complexe allergène-IgE spécifique.



Après lavage, des Ac anti-IgE marqués par une enzyme (β -galactosidase) sont ajoutés pour former un complexe allergène-IgE-anti IgE*.



Après incubation, les Ac anti-IgE* non liés sont éliminés par lavage et le complexe allergène-IgE-anti IgE* est incubé avec un substrat de l'enzyme, la 4-méthyl-umbelliferyl β -D-galactoside, réduite par l'enzyme β -galactosidase en 4-méthyl-umbelliférone.



Après arrêt de la réaction, la fluorescence de l'éluât émise par la 4-méthylumbelliférone est mesurée. La fluorescence est directement proportionnelle à la concentration d'IgE spécifiques de l'allergène dans le sérum.

Figure 18. Principe du dosage des IgE spécifiques par ImmunoCAP (Thermo Fisher Scientific, 2012)

E. Profil moléculaire

L'allergologie moléculaire est une discipline récente avec le clonage du premier allergène (Der p1) datant de 1988. En 1999 R. Valenta introduit le concept de diagnostic résolu par les composants (Component Resolved Diagnosis ou CRD) avec des allergènes naturels purifiés produits par extraction et purification à partir d'une source allergénique et des allergènes recombinants produits par génie génétique par clonage d'un variant moléculaire dans un système d'expression (ADN d'*Escherichia coli*)(107). Ce procédé permet notamment la discrimination entre une réactivité croisée et une véritable sensibilisation chez les patients allergiques (108) par l'utilisation d'allergènes spécifiques et de panallergènes. Les panallergènes présentent des homologies de séquence importantes avec des protéines d'autres espèces ou genres, ce qui contribue à la réactivité croisée. En plus de l'application à visée diagnostique, de nouvelles formes d'immunothérapie basées sur des allergènes recombinants et des peptides dérivés d'allergènes synthétiques ont été explorées (109). Parmi les nombreux allergènes moléculaires découverts pour *A. fumigatus*, seuls 5 sont actuellement commercialisés : Asp f1, Asp f2, Asp f3, Asp f4 et Asp f6.

Tableau 4. Structures clonées sous forme de protéines de liaison aux IgE anti-*Aspergillus fumigatus* (110)

Allergen	Size	CDS ^a (kDa)	Function/sequence similarity	IgE-binding <i>in vitro</i> (%) ^b	SPT ^c	Accession no.
Asp f 1	16.9	C	Ribotoxin	66	pos.	S889330
Asp f 2	37.0	C	Fibrinogen binding protein?	ND	NT	U56938
Asp f 3	18.5	C	Peroxisomal protein	88	pos.	U58050
Asp f 4	30.0	P	Unknown	42	pos.	AJ001732
Asp f 5	42.1	C	Metalloprotease	85	pos.	Z30424
Asp f 6	23.0	C	MnSOD	35	pos.	U53561
Asp f 7	11.6	P	Unknown	39	pos.	AJ223315
Asp f 8	11.1	C	P ₂ ribosomal protein	10	pos.	AJ224333
Asp f 9	32.3	P	Unknown	66	pos.	AJ223327
Asp f 10	34.4	C	Aspartic protease	18	pos.	X85092
Asp f 11	18.8	C	Cyclophilin	50	pos.	AJ006689
Asp f 12	65.0	P	Heat shock protein	ND	NT	U92465
Asp f 13	34.0	C	Alkaline serine protease	ND	NT	Z11580
Asp f 15	19.5	C	Serine protease?	29	pos.	AJ002026
Asp f 16	43.0	C	Unknown	ND	NT	G3643813
Asp f 17	19.4	P	Unknown	43	pos.	AJ224865
Asp f 18	34.0	C	Vacuolar serine protease	ND	NT	Y13338
Asp f 22w	46.0	C	Enolase	ND	NT	AF284645
Asp f 23	44.0	C	L3 ribosomal protein	ND	NT	AF464911
Asp f 27	18.0	C	Cyclophilin	75	pos.	AJ937743
Asp f 28	12.0	C	Thioredoxin	16	pos.	AJ937744
Asp f 29	12.0	C	Thioredoxin	26	pos.	AJ937745

^aCoding sequences: C = complete, P = partial.

^bIncidence among patients sensitized to *A. fumigatus*.

^cSkin prick test: NT = not tested, pos. = positive.

a. Asp f1

C'est une ribonucléase (ribotoxine de la famille des mitogillines), protéine de 18 kDa. Il s'agit d'une protéine de défense, inhibitrice de la synthèse protéique. Ce marqueur est spécifique de la germination, donc absent des spores, et apparaît lors de la formation des hyphes aspergillaires. Il est hautement spécifique d'*A. fumigatus*, ses seules homologues de structure restant confinées au genre *Aspergillus*. C'est un allergène majeur, avec une prévalence des IgE Asp f 1 aux environs de 85% en cas d'ABPA et de 45-75% dans les autres sensibilisations anti-aspergillaires (111).

b. Asp f2

Il s'agit d'une protéine de liaison du fibrinogène de 37 kDa. C'est également un allergène majeur, Sa prévalence rapportée sur plusieurs petites séries de patients sensibilisés est de 87 à 100% chez le patient ABPA, par opposition aux patients souffrant d'un asthme allergique (112).

c. Asp f3

Il s'agit d'une protéine péroxysomale de 19kDa. Cette protéine a une réactivité croisée avec d'autres espèces de champignons telles que *Candida boidinii*, *Penicillium citrinum* ou *Malassezia furfur* (113).

d. Asp f4

Il s'agit d'un allergène de 30kDa, dont les propriétés sont encore méconnues. Différentes études ont mis en évidence la pertinence des IgE anti-Asp f4 dans le diagnostic de l'ABPA avec des sensibilités allant jusqu'à 92,3% et des spécificités jusqu'à 93,7% (114).

e. Asp f6

Il s'agit d'une superoxyde dismutase à manganèse (MnSOD), protéine de 26 kDa, qui est une protéine de défense contre les radicaux libres. Il existe une réactivité avec les autres MnSOD : de *Saccharomyces cerevisiae*, humaine, Hev b10 du latex, ... Les études cliniques suggèrent un manque de spécificité des IgE anti-Asp f6 dans l'ABPA (112).

F. Traitement

Les objectifs généraux du traitement de l'ABPA comprennent la réduction des symptômes de l'asthme ou de la mucoviscidose, la réduction de l'inflammation pulmonaire et des exacerbations pour prévenir la progression vers la fibrose pulmonaire (115).

a. Les glucocorticoïdes

Plusieurs études ont montré une amélioration significative des patients après instauration d'un traitement par glucocorticoïdes qui combat la réponse inflammatoire contre *A. fumigatus* (106). La dose la plus efficace et la plus sûre est la dose modérée (0,5 mg/kg/jour)(116). Le traitement à forte dose (0,75 mg/kg/jour) entraîne une chute plus rapide des IgE mais également plus d'effets secondaires tels que l'hyperglycémie, la prise de poids, le syndrome de Cushing ou de l'ostéoporose (117). Le traitement par corticoïdes se déroule sur plusieurs mois à doses décroissantes. Les rechutes sont fréquentes à la décroissance ou à l'arrêt du traitement.

Les corticoïdes inhalés permettent d'atteindre une forte concentration dans l'arbre bronchique avec un minimum d'effets systémiques et apportent un bénéfice dans le traitement de l'asthme sous-jacent (82). Toutefois, leur rôle dans le traitement de l'ABPA reste indéfini. Un essai contrôlé en double-aveugle de béclaméthasone versus placebo n'a pas montré d'amélioration significative (118).

b. Les agents antifongiques

L'ajout d'antifongiques permet d'épargner l'usage des corticostéroïdes, en réduisant leur besoin pour contrôler l'inflammation (119). Les antifongiques ayant une activité contre *Aspergillus* sont recommandés comme adjuvant ou en seconde ligne de traitement dans l'ABPA (82,120).

1. Les triazolés

Les antifongiques azolés sont des molécules synthétiques ayant pour cible la cytochrome P51 (CYP51), essentielle dans la voie de biosynthèse de l'ergostérol, le principal stérol de la paroi fongique. La CYP51 est une C14-alpha-déméthylase codée par le gène ERG11. Cette enzyme est nécessaire à l'élimination d'un groupement méthyl sur le carbone 14 du squelette

stéroïde, et son blocage aboutit à l'accumulation de stérols 14-méthyl 3,6 diol toxiques pour la cellule (121). Les azolés inhibent la synthèse d'ergostérol et donc la croissance fongique (122).

L'itraconazole : Stevens et al, en 2000, ont démontré que l'adjonction d'itraconazole chez des patients atteints d'ABPA cortico-dépendants pouvait conduire à une amélioration clinique sans risque toxique significatif(123). Wark et al ont montré, sur une cohorte de 29 patients asthmatiques avec une ABPA stable, une diminution du taux d'éosinophiles dans les expectorations, une diminution du taux d'IgE et d'IgG anti-*Aspergillus*, ainsi qu'une diminution de l'incidence des exacerbations(124).

Le voriconazole et le posaconazole : certains patients peuvent continuer à avoir des symptômes malgré le traitement par itraconazole ou développer des effets secondaires nécessitant son arrêt. Suite à une étude rétrospective sur 25 patients asthmatiques atteints d'ABPA, Chishimba et al suggèrent que le voriconazole et le posaconazole peuvent être une alternative dans le traitement de l'ABPA lorsque l'itraconazole ne peut pas être prolongé (125).

L'isavuconazole : dernier azolé mis sur le marché. Ce médicament a l'autorisation de mise sur le marché (AMM) dans le traitement de l'aspergillose invasive et de la mucormycose chez les patients pour lesquels le traitement par amphotéricine B est inapproprié (recommandations HAS 2016). Dans le cadre de l'ABPA, un premier case report a été publié en 2017 montrant le succès de l'isavuconazole avec un minimum d'effets secondaires (126).

2. L'amphotéricine B

L'amphotéricine B est un polyène d'origine naturelle dont la cible est l'ergostérol. Il se lie de façon covalente à l'ergostérol pour former des pores dans la membrane plasmique, permettant aux électrolytes de les traverser et provoquer la mort du champignon (121). L'amphotéricine B intraveineuse est associée à de nombreux effets secondaires comme la fièvre, des frissons, une anaphylaxie, une arythmie cardiaque, des atteintes hépatiques ou rénales. L'amphotéricine B lipidique (Ambisome®) est plutôt utilisée dans les infections fongiques à *Aspergillus* car elle offre l'avantage d'être moins toxique que l'amphotéricine B désoxycholate (meilleure tolérance rénale, diminution des réactions fébriles et des frissons)(127). Un protocole NEBULAMB était en place jusqu'au 31 juillet 2019 pour évaluer l'efficacité de l'amphotéricine B nébulisée versus placebo chez des patients non mucoviscidosiques atteints d'ABPA.

c. L'immunothérapie

L'omalizumab (Xolair®) est un anticorps monoclonal humanisé anti-IgE liant l'IgE par sa fraction constante Fc, empêchant sa fixation sur son récepteur spécifique et notamment le récepteur de haute affinité FcεRI à la surface des mastocytes et des polynucléaires basophiles. Les mastocytes et basophiles ne pourront donc pas être activés et dégranuler par la voie IgE médiée. L'omalizumab est indiqué pour améliorer le contrôle de l'asthme chez les adultes et les adolescents (à partir de 12 ans) atteints d'asthme allergique persistant sévère non amélioré par la prise d'un traitement quotidien par un corticoïde inhalé à forte dose et un bêta2-agoniste inhalé à longue durée d'action. Plusieurs études ont montré que l'omalizumab était associé à une amélioration de la fonction pulmonaire, une diminution des symptômes respiratoires et une diminution des besoins en corticoïdes systémiques chez les patients atteints d'asthme allergique (128,129). Voskamp et al ont montré, sur une petite cohorte de 13 patients asthmatiques atteints d'ABPA, une réduction significative des exacerbations chez les patients recevant de l'omalizumab (130).

d. Eviction

Certains patients peuvent développer une ABPA à la suite d'une forte exposition à *Aspergillus* à l'occasion de travaux ou de dégâts des eaux. Il faut donc éviter les zones de fortes expositions et prendre l'avis de conseillers en environnement pour un meilleur contrôle de l'environnement et éviter les récurrences.

G. Complications

L'ABPA peut évoluer en l'absence de traitement vers de nombreuses complications :

- **Exacerbations** : Durant la phase aiguë, la plupart des patients reçoivent un traitement par corticothérapie orale. Cependant, l'objectif devrait être de prévenir ces exacerbations récurrentes par une utilisation judicieuse des corticoïdes et des azolés (82).
- **Collapsus des voies aériennes** : pouvant aller jusqu'à une insuffisance respiratoire aiguë. En fonction de la sévérité de l'insuffisance respiratoire, une bronchoscopie thérapeutique peut être indiquée (82).

- **Bronchectasies** : l'apparition de bronchectasies évoque des dommages pulmonaires permanents mais aussi une prédisposition aux rechutes fréquentes (131).
- **Aspergillose pulmonaire chronique** : celle-ci progresse de façon variable selon les individus, mais peut être stoppée par un traitement bien conduit par des azolés (58)
- **Hypertension artérielle pulmonaire (HTAP)** : si l'ABPA n'a pas été traitée de façon appropriée, une fibrose pulmonaire peut se développer avec des signes de cœur pulmonaire et d'insuffisance respiratoire chronique. Mis à part le traitement par corticoïdes oraux, l'oxygénothérapie longue durée est indiquée dans ce cas (132).

ÉTUDE RÉALISÉE À BORDEAUX

I. Contexte

Nous avons mené une étude prospective monocentrique sur la période du 1^{er} Juillet 2016 au 14 Septembre 2017 au CHU de Bordeaux.

A. Objectif de l'étude

Cette étude a pour but de savoir quel est l'intérêt de l'utilisation des allergènes moléculaires d'*A. fumigatus* dans le diagnostic et la prise en charge de l'ABPA. Le dosage des IgE spécifiques dirigées contre les allergènes moléculaires recombinants d'*A. fumigatus* (rAsp f1, f2, f3, f4 et f6) a été réalisé sur une population de patients pour lesquels le dosage des IgE spécifiques anti-*A. fumigatus* dirigées contre l'extrait total (m3) était positif.

B. Critères d'inclusion

Dans cette étude, les profils de 125 patients sont étudiés. Les critères d'inclusion sont les suivants :

- Patients adultes atteints de pathologies pulmonaires chroniques
- Suivis par les services de pneumologie et par le Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) du CHU de Bordeaux
- Dosage des IgE anti-m3 positif ($\geq 0,10$ kUA/L)

C. Pathologies

Le dosage des IgE totales associé au dosage des IgE spécifiques anti-m3 est prescrit lors des exacerbations de pathologies pulmonaires chroniques et dans le suivi annuel des patients mucoviscidosiques. Les pathologies pulmonaires chroniques comprennent l'asthme, la

bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), les dilatations de bronches et les aspergilloses chroniques. Parmi ces patients, certains sont transplantés pulmonaires.

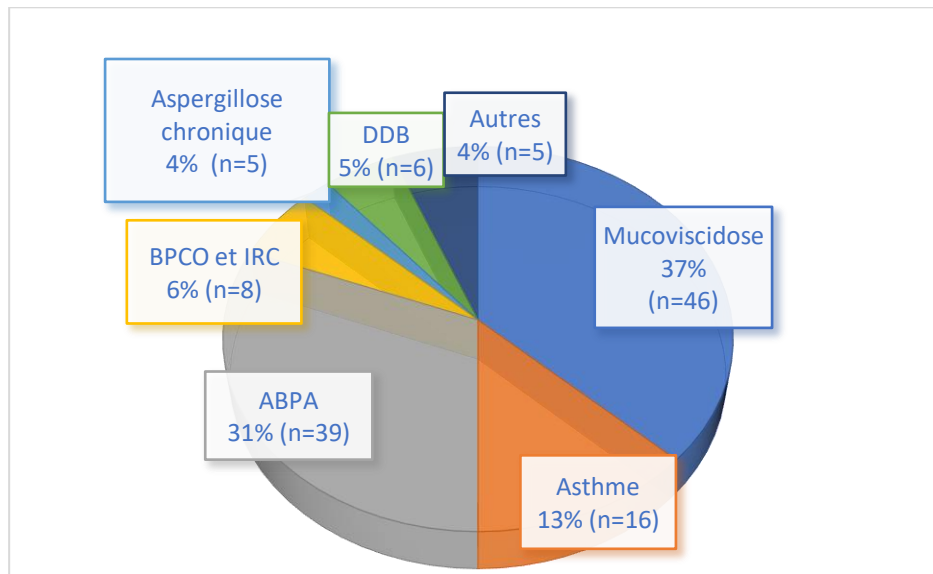


Figure 19. Répartition de la cohorte de patients selon leurs pathologies

II. Matériel et méthodes

Pour tous les patients inclus dans l'étude, le sérum restant après analyses a été conservé dans une sérothèque dédiée à -80°C. Pour chaque patient nous avons collecté les valeurs des IgE totales, des IgE anti-m3 et des IgE spécifiques dirigées contre chacun des 5 recombinants (codes allergènes : m218, m219, m220, m221, et m222 pour rAsp f1, f2, f3, f4, and f6, respectivement), les valeurs des IgG aspergillaires en ELISA et Western Blot. Les techniques de dosages des IgE et IgG aspergillaires ont déjà été décrites précédemment. La collecte des résultats du dosage sanguin des polynucléaires éosinophiles a été réalisée à partir des numérations formules sanguines réalisées au laboratoire d'hématologie sur DxH. Les renseignements cliniques, les EFR et les résultats d'imagerie ont été récupérés, quand c'était possible, à partir des dossiers informatisés des patients sur le logiciel DxCare.

III. Analyses statistiques

Les comparaisons des moyennes par l'intermédiaire du Test t de Student ont été réalisées grâce au logiciel BiostaTGV. Les diagrammes en nuages de points montrant les distributions des recombinants ainsi que les courbes ROC ont été réalisés à partir du logiciel XLSTAT et les ROC multiparamétriques grâce au logiciel CombiROC.

IV. Résultats

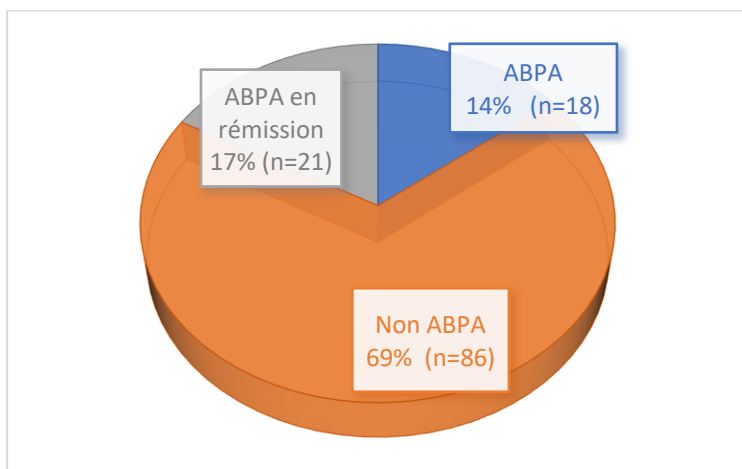


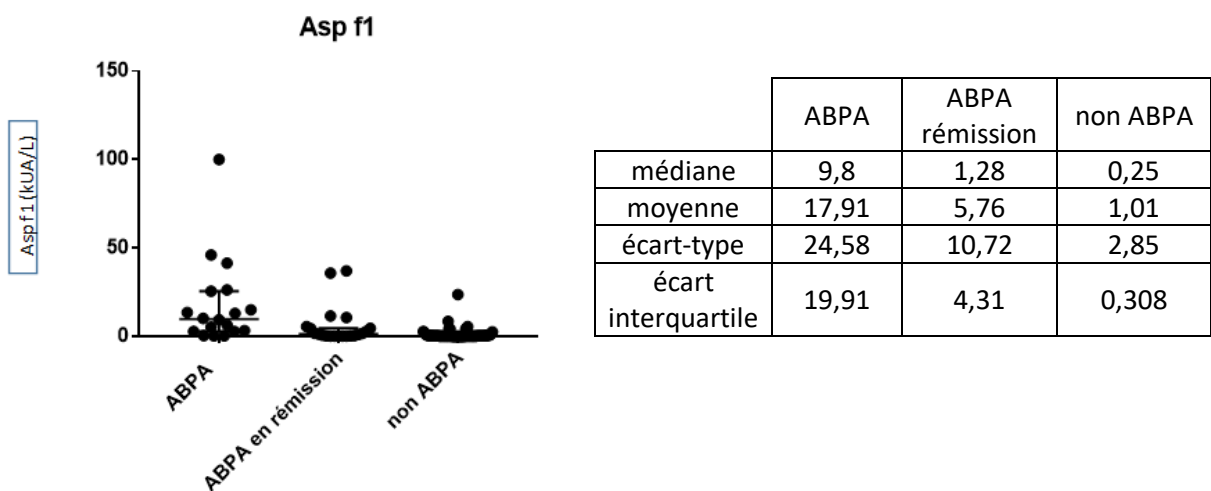
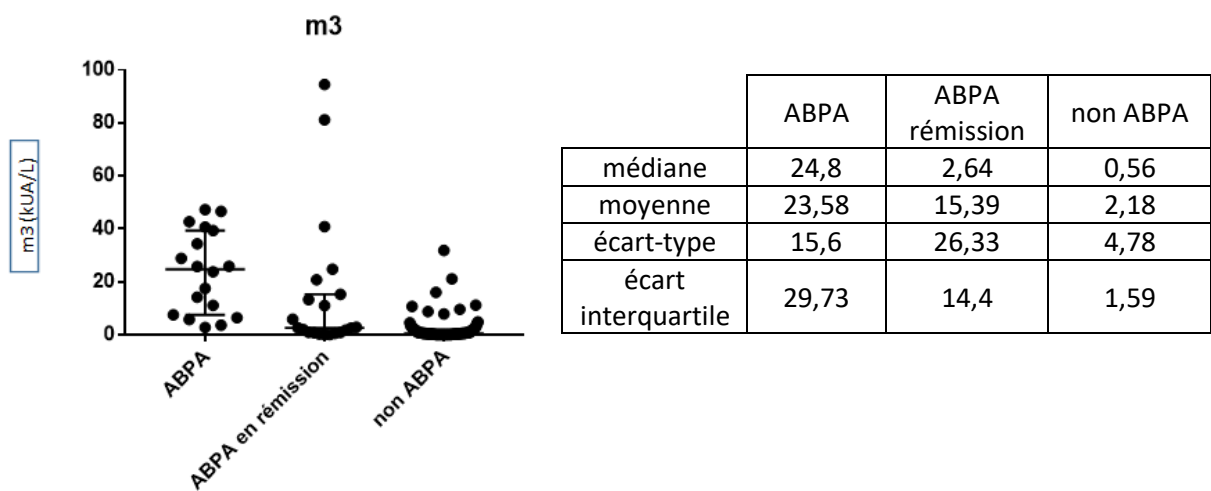
Figure 20. Répartition des patients en ABPA, ABPA en rémission et non ABPA

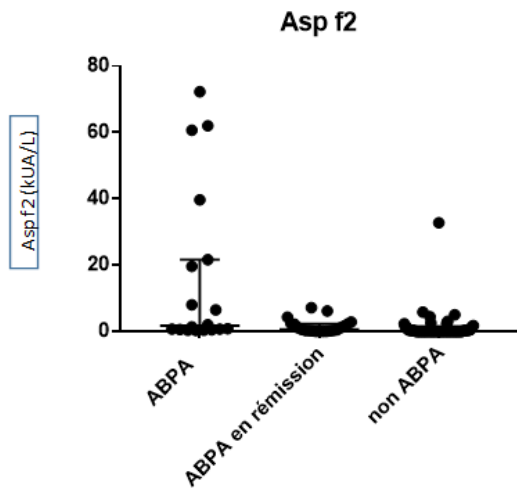
Parmi les 39 patients classés en ABPA (qui représentent 31% de la cohorte), 18 présentaient les symptômes d'ABPA au moment de l'étude et 21 étaient connus pour des antécédents d'ABPA. Toujours parmi ces patients 11 étaient déjà connus pour de l'asthme et 17 pour une mucoviscidose.

Pour la suite des analyses statistiques nous allons séparer dans 2 groupes différents les patients atteints d'ABPA et les patients aux antécédents d'ABPA, ces derniers ayant des profils plus hétérogènes. Nous aurons ainsi 18 patients classés en ABPA, 21 classés en rémission d'ABPA et 86 en non ABPA.

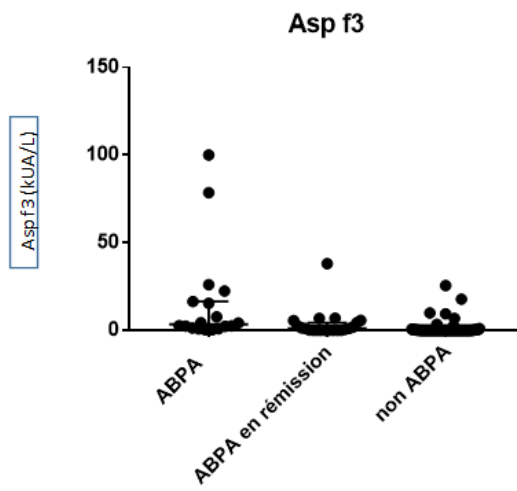
A. Comparaison des valeurs d'IgE spécifiques en fonction des groupes de patients.

Pour les trois groupes (ABPA, ABPA en rémission et non ABPA), nous avons relevé les moyennes, médianes, écarts-types et écarts interquartiles des valeurs du m3 et de chaque recombinant. Ensuite des diagrammes en nuages de points permettent de voir la répartition des valeurs.

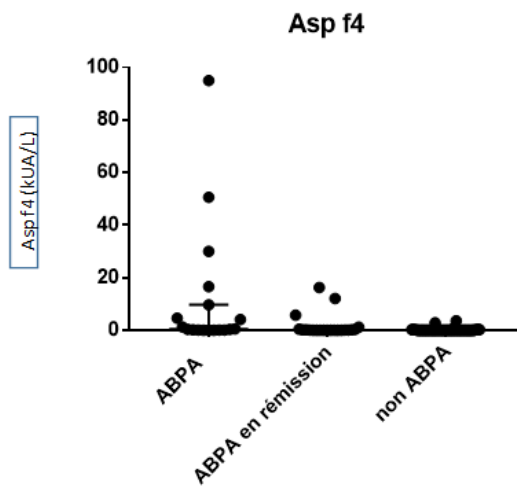




	ABPA	ABPA rémission	non ABPA
médiane	1,69	0,61	<0,10
moyenne	16,56	1,59	0,86
écart-type	24,69	2,05	3,65
écart interquartile	20,52	2,07	0,31



	ABPA	ABPA rémission	non ABPA
médiane	3,41	1,04	<0,10
moyenne	16,04	3,64	0,98
écart-type	28,03	8,26	3,67
écart interquartile	14,58	4,22	0,15



	ABPA	ABPA rémission	non ABPA
médiane	0,46	0,13	<0,10
moyenne	11,88	1,76	0,16
écart-type	24,68	4,37	0,54
écart interquartile	8,32	0,32	0,05

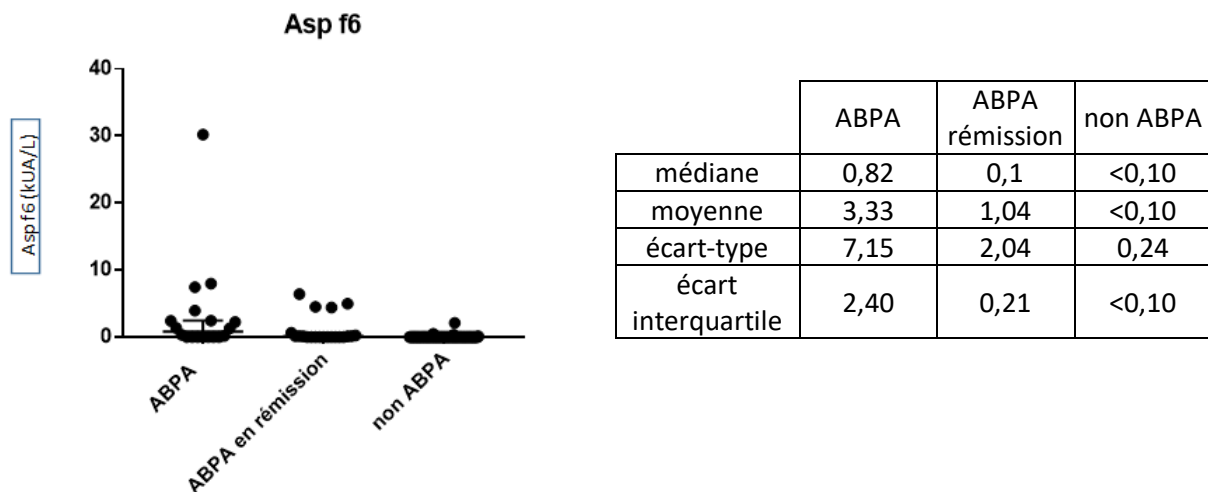


Figure 21. Distribution des IgE spécifiques des groupes ABPA, ABPA en rémission et non ABPA

Voici un tableau récapitulatif de toutes ces valeurs :

Tableau 5. Récapitulatif des médianes, moyennes, écarts-types et écarts interquartiles pour le m3 et les recombinants pour chaque groupe de patients

		m3	Asp f1	Asp f2	Asp f3	Asp f4	Asp f6
ABPA (n=18)	Médiane (kUA/L)	24,80	9,82	1,69	3,41	0,46	0,82
	Moyenne (kUA/L)	23,58	17,91	16,56	16,04	11,88	3,33
	Ecart-type	15,60	24,58	24,69	28,03	24,68	7,15
	Ecart interquartile	29,73	19,91	20,52	14,58	8,32	2,40
ABPA rémission (n=21)	Médiane (kUA/L)	2,64	1,28	0,61	1,04	0,13	0,10
	Moyenne (kUA/L)	15,39	5,76	1,59	3,64	1,76	1,04
	Ecart-type	26,33	10,72	2,05	8,26	4,37	2,04
	Ecart interquartile	14,4	4,31	2,07	4,22	0,32	0,21
Non ABPA (n=86)	Médiane (kUA/L)	0,56	0,25	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
	Moyenne (kUA/L)	2,18	1,01	0,86	0,98	0,16	<0,10
	Ecart-type	4,78	2,85	3,65	3,67	0,54	0,24
	Ecart interquartile	1,59	2,85	0,31	0,15	0,05	<0,10

On constate que les moyennes et médianes sont nettement plus élevées chez les patients ABPA comparativement aux autres groupes, et ce pour le m3 comme pour chaque recombinant. Il existe également une grande dispersion des valeurs chez les patients ABPA, notamment en ce qui concerne les recombinants Asp f1, Asp f2 et Asp f3.

En faisant une comparaison des moyennes des différents groupes avec un test t de Student (tableau 6), on constate qu'il existe des différences statistiquement significatives ($p < 0,05$) entre les groupes « tous ABPA » (comprenant les patients ABPA et ceux en rémission) et non ABPA pour chaque recombinant. Si on prend séparément les patients ABPA et les ABPA en rémission, alors on constate qu'il existe des différences statistiquement significatives entre les patients ABPA et non ABPA pour les recombinants Asp f1, Asp f2 et Asp f3. Entre les groupes ABPA et ABPA en rémission, on met en évidence une différence seulement pour le recombinant Asp f2, et entre les groupes ABPA en rémission et non ABPA seulement pour Asp f6.

Tableau 6. Calcul de la significativité statistique des recombinants par un test T de Student

		m3	Asp f1	Asp f2	Asp f3	Asp f4	Asp f6
p value	tous ABPA/non ABPA	0,0000276	0,00179	0,0132	0,016	0,0318	0,017
	ABPA / non ABPA	0,0000195	0,0096	0,015	0,036	0,06	0,068
	ABPA / rémission ABPA	0,238	0,064	0,02	0,085	0,104	0,205
	rémission ABPA / non ABPA	0,033	0,057	0,227	0,166	0,107	0,037

B. Comparaison de performance des cut-offs fixés à 0,10 kUA/L et à 0,35 kUA/L

a. Seuil à 0,10 kUA/L

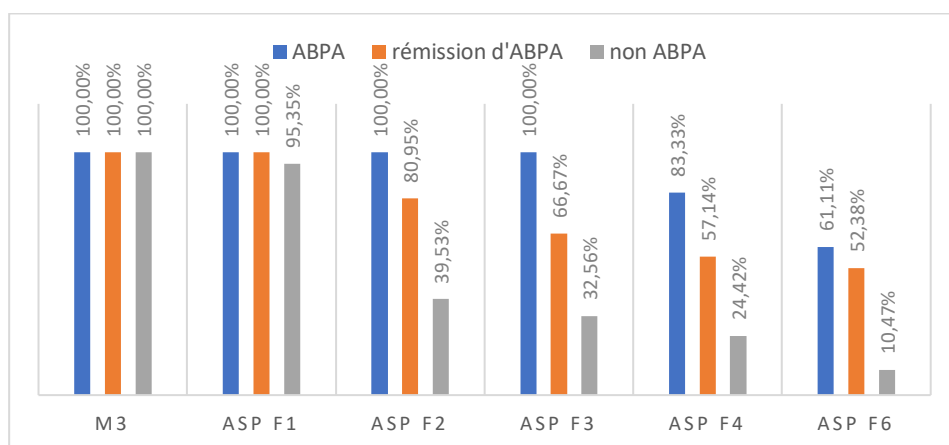


Figure 22. Répartition des IgE spécifiques pour un seuil à 0,10 kUA/L

Tableau 7. Calcul des sensibilités, spécificités, VPP et VPN des patients ayant des ABPA en cours pour un seuil à 0,10 kUA/L

	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
m3	100%	NA	17,31%	0,00%
Asp f1	100%	4,65%	18,00%	100%
Asp f2	100%	60,47%	34,62%	100%
Asp f3	100%	67,44%	39,13%	100%
Asp f4	83,33%	74,42%	41,67%	95,59%
Asp f6	61,11%	89,53%	55%	91,67%

Nous rappelons que :

- La sensibilité est la probabilité que le test soit positif si la personne est atteinte de la maladie
- La spécificité est la probabilité que le test soit négatif si la personne testée est indemne de la maladie
- La valeur prédictive positive (VPP) d'un test est la probabilité que la personne soit réellement malade si son test est positif
- La valeur prédictive négative (VPN) d'un test est la probabilité que la personne n'ait pas la maladie si son test est négatif

Avec un seuil à 0,10 kUA/L, si on ne prend en compte que les patients ABPA et non ABPA :

- les recombinants Asp f1, Asp f2 et Asp f3 ont une très forte sensibilité à 100% mais au détriment d'une faible spécificité
- Asp f4 semble intéressant car possède d'assez fortes sensibilité et spécificité

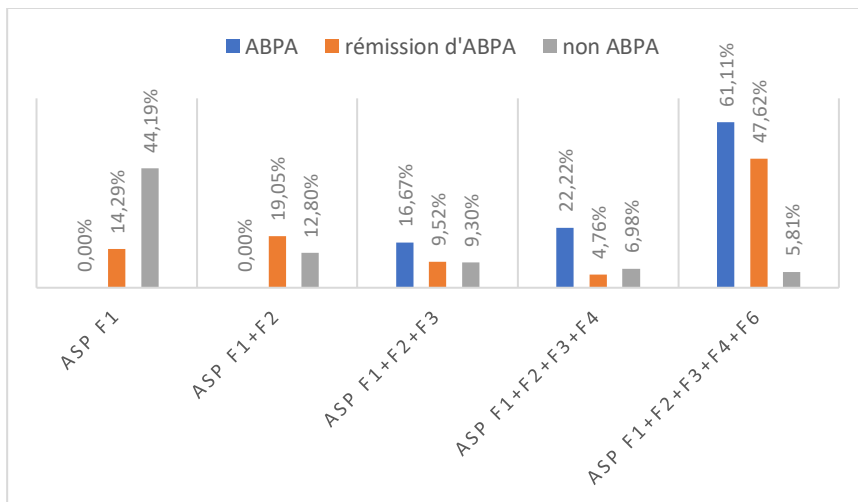


Figure 23. Répartition des combinaisons de recombinants pour un seuil à 0,10 kUA/L

Si on s'intéresse aux combinaisons des marqueurs (figure 23), on constate que certaines associations sont beaucoup plus fréquentes que d'autres :

- 100% des patients ABPA ont des profils allant de Asp f1+f2+f3 au profil complet (plus de 60% d'entre eux ont un profil complet).
- 44% des patients non ABPA ont seulement Asp f1 de positif.

b. Seuil à 0,35 kUA/L (recommandations pour le diagnostic de l'ABPA)

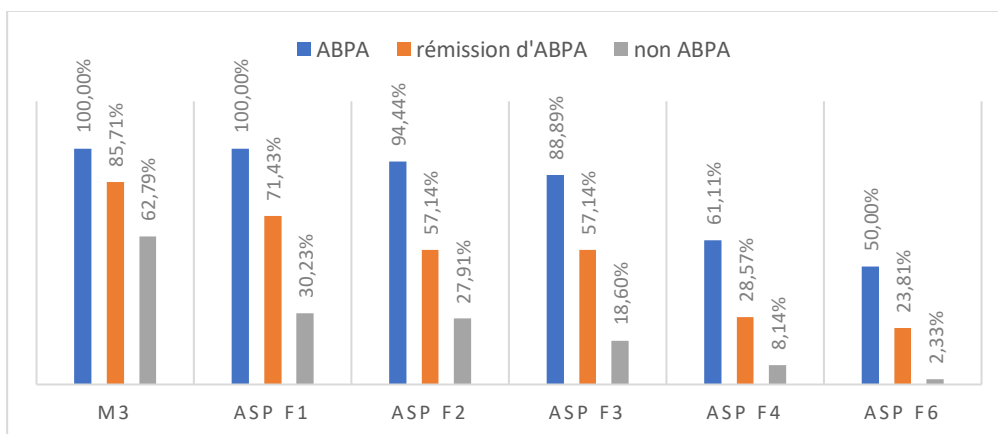


Figure 24. Répartition des IgE spécifiques pour un seuil à 0,35 kUA/L

Tableau 8. Calcul des sensibilités, spécificités, VPP et VPN des patients ayant des ABPA en cours pour un seuil à 0,35 kUA/L

	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
m3	100,00%	37,21%	25,00%	100,00%
Asp f1	100,00%	69,77%	40,91%	100,00%
Asp f2	94,44%	72,09%	41,46%	98,41%
Asp f3	88,89%	81,40%	50,00%	97,22%
Asp f4	61,11%	91,86%	61,11%	91,86%
Asp f6	50,00%	2,33%	81,82%	90,32%

Avec un seuil à 0,35 kUA/L, on constate une forte diminution des recombinants positifs, notamment une diminution de moitié pour Asp f1 chez les non ABPA. Néanmoins 100% des ABPA restent positifs à ce seuil. On augmente de manière très nette la spécificité du recombinant Asp f1.

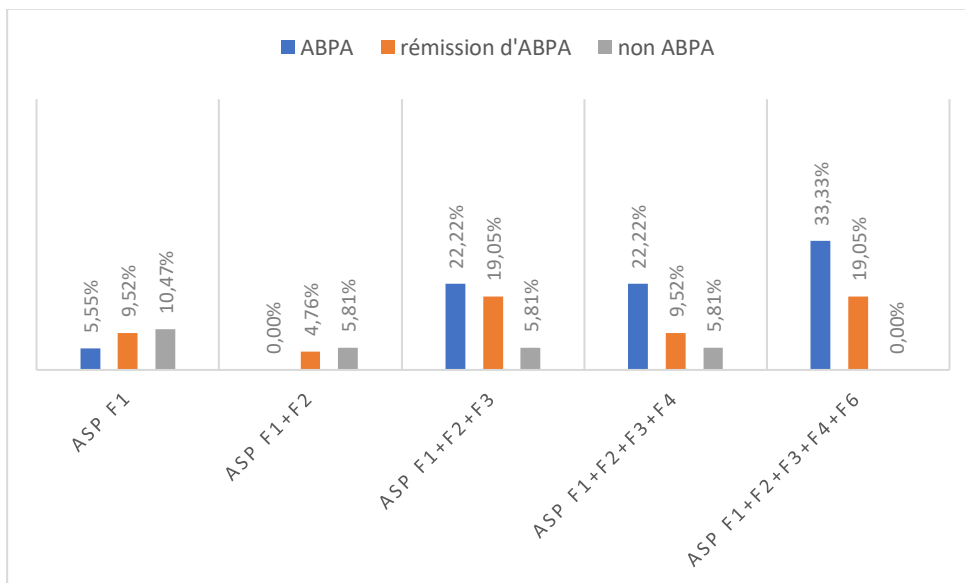


Figure 25. Répartition des combinaisons de recombinants pour un seuil à 0,35 kUA/L

On constate qu'avec un seuil à 0,35 kUA/L on tend à s'affranchir des patients non ABPA et plus le profil devient complet plus on a de patients ABPA : 78% des patients ABPA ont des profils allant de Asp f1+f2+f3 au profil complet.

C. Analyse ROC des groupes ABPA et non ABPA

Pour essayer de déterminer les valeurs seuils à utiliser pour avoir les meilleures sensibilité et spécificité nous avons réalisé une analyse ROC pour chaque allergène moléculaire en ne sélectionnant que les patients ABPA et non ABPA et en laissant de côté les patients en rémission. Ceci a donc été réalisé avec 104 patients (86 non ABPA et 18 ABPA) :

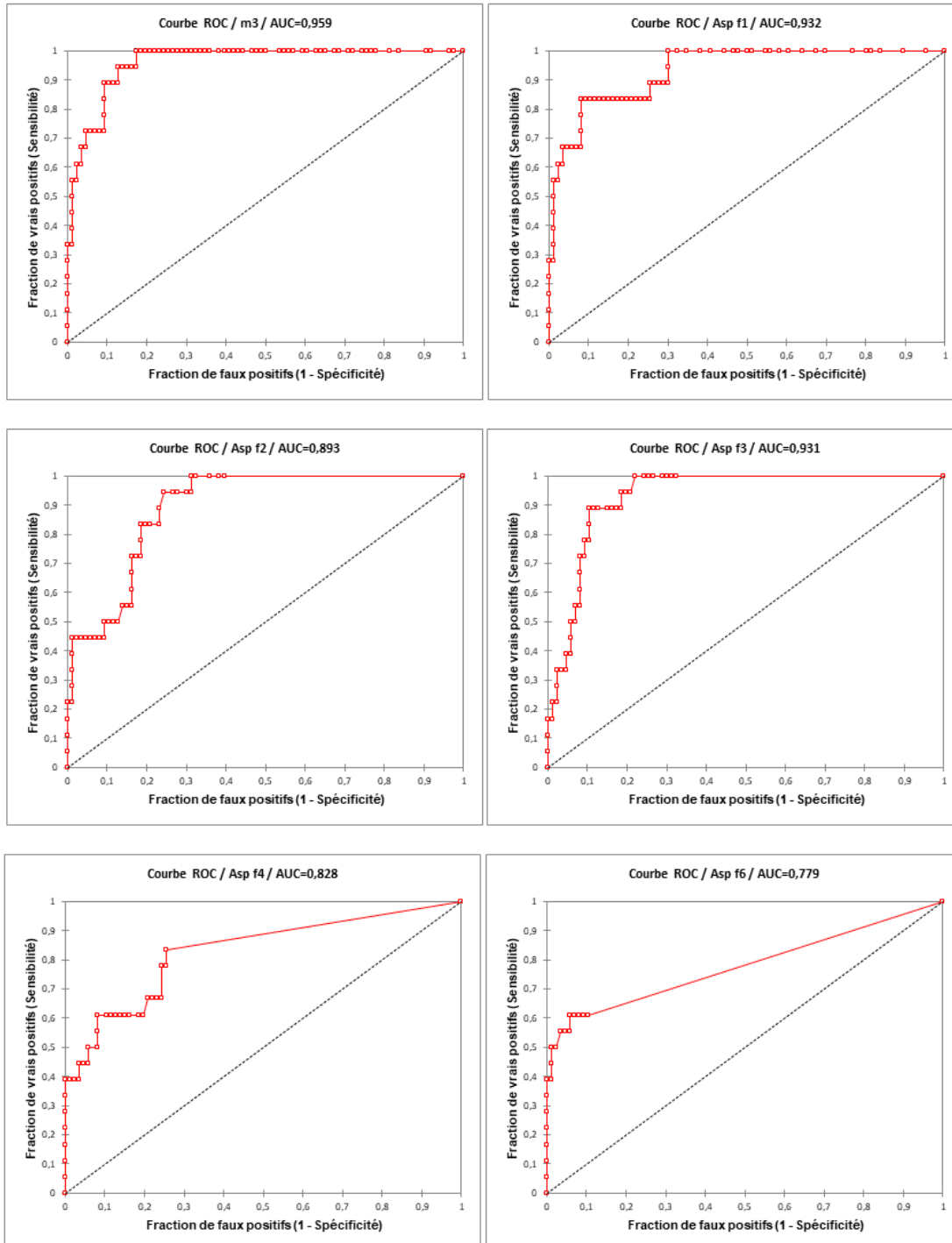


Figure 26. Analyses ROC du m3 et des recombinants

Le test le plus performant semble être le m3 suivi par les recombinants Asp f1 et Asp f3 avec les AUC les plus élevées (0,932 et 0,931). Pour le dosage de chaque recombinant $p < 0.001$, donc chacun d'entre eux a une significativité statistique. Les valeurs à partir desquelles on a les meilleures sensibilités et spécificités (calculées à l'issue de l'analyse ROC) figurent ci-dessous :

Tableau 9. Récapitulatif des analyses ROC du m3 et des recombinants aspergillaires

	m3	Asp f1	Asp f2	Asp f3	Asp f4	Asp f6
Seuil optimal (kUA/L)	≥2,75	≥2,77	≥0,37	≥0,87	≥0,10	≥0,18
Sensibilité %	100	83	94	89	83	61
Spécificité %	83	92	76	90	74	94
VPP %	55	68	45	64	41	69
VPN %	100	96	99	98	96	92

Une valeur de m3 $\geq 2,75$ apporte les meilleures sensibilités et VPN. Une excellente sensibilité est importante afin de dépister tous les malades. Si on fixe un seuil à 2,75 pour le m3 au sein de la cohorte de 104 patients ABPA et non ABPA alors cela permet de garder les 18 patients ABPA et seulement 15 patients non ABPA (sur 86 initialement), soit 100% des patients ABPA et 17% des non ABPA.

Grâce au logiciel CombiROC on a pu réaliser des calculs de sensibilités, spécificités, VPP et VPN avec des ROC multiparamétriques en associant les différents recombinants :

Tableau 10. Analyse des sensibilités, spécificités, VPN, VPP et AUC des combinaisons de recombinants

	f1+f2	f1+f3	f1+f4	f1+f6	f2+f3	f2+f4	f2+f6	f3+f4	f3+f6	f4+f6
Se %	89	89	78	89	89	94	89	94	94	67
Sp %	87	88	95	90	88	78	78	87	84	94
VPP %	59	62	78	64	62	47	46	61	55	71
VPN %	97	97	95	98	97	99	97	99	99	93
AUC	0,943	0,95	0,936	0,95	0,926	0,901	0,921	0,941	0,95	0,854

	f1+f2+f3	f1+f2+f4	f1+f2+f6	f1+f3+f4	f1+f3+f6	f1+f4+f6	f2+f3+f4	f2+f3+f6	f2+f4+f6	f3+f4+f6
Se %	89	83	94	89	94	89	94	94	94	89
Sp %	87	92	86	88	86	88	87	85	73	87
VPP %	59	68	59	62	59	62	61	57	43	59
VPN %	97	96	99	97	99	97	99	99	98	97
AUC	0,949	0,948	0,963	0,952	0,968	0,958	0,941	0,952	0,923	0,952

	f1+f2+f3+f4	f1+f2+f3+f6	f1+f2+f4+f6	f1+f3+f4+f6	f2+f3+f4+f6	f1+f2+f3+f4+f6
Se %	89	83	94	94	94	83
Sp %	88	97	86	87	85	98
VPP %	62	83	59	61	57	88
VPN %	97	97	99	99	99	97
AUC	0,953	0,966	0,964	0,968	0,952	0,966

A l'issue de ces combinaisons de ROC on peut conclure qu'un bon nombre de ces combinaisons peut être utilisé. Mais plus on utilise de marqueurs pour aider à poser le diagnostic, meilleure sera la performance du test. Comme vu précédemment, les patients ABPA tendent vers un profil complet.

D. Patients ABPA en rémission

21 patients sont classés en rémission car ils sont connus pour des antécédents d'ABPA. Voici un tableau récapitulatif :

Tableau 11. Valeurs des IgE spécifiques des patients en rémission d'ABPA

	m3	Asp f1	Asp f2	Aspf3	Aspf4	Asp f6
* ABPA en 2006	0,77	0,16	0,33	<0.10	<0.10	<0.10
* ABPA en 2007	5,9	1,77	0,48	1,77	0,37	0,15
ABPA en 2008	20,8	2,82	6,17	5,62	16,3	6,43
* ABPA en 2009	1,92	0,35	0,22	0,15	<0.10	<0.10
* ABPA en 2011	2,85	0,16	0,14	<0.10	<0.10	<0.10
* ABPA en 2012	2,56	1,28	1,1	4,27	0,49	0,66
* ABPA en 2012	0,15	0,26	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10
* ABPA en 2012	0,5	0,15	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
* ABPA en 2013	13,3	4,42	1,08	6,75	0,14	4,41
* ABPA en 2013	1,76	1,02	0,61	0,51	0,2	0,13
* ABPA en 2013	15,3	5,54	1,62	2,62	<0.10	<0.10
* ABPA en 2013	0,94	0,24	0,14	<0.10	<0.10	<0.10
* ABPA en 2013	0,29	0,17	0,32	<0,10	<0,10	<0,10
ABPA en 2013	0,15	11,6	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10
ABPA en 2014	40,9	10,7	2,21	6,95	5,8	4,98
* ABPA en 2014	81,2	37,1	2,17	0,12	0,11	0,1
* ABPA en 2014	11	1,72	2,85	1,04	1,24	0,26
ABPA en 2014.	24,8	4,57	4,27	5,64	0,19	<0.10
* ABPA en 2015	94,5	35,8	7,17	38,1	12,1	4,5
* ABPA en 2015	2,64	0,47	2,38	1,49	0,13	0,15
ABPA en 2016	0,9	0,67	<0,10	1,1	0,22	0,15

* patients mucoviscidosiques

Parmi ces 21 patients, 16 sont mucoviscidosiques. On trouve plus de patients mucoviscidosiques dans cette catégorie, ceci est possiblement dû en partie au fait que ces patients sont dépistés tôt car le dosage des IgE m3 fait partie du bilan de suivi de la mucoviscidose. Il persiste effectivement une trace sérologique de la pathologie. Même si certains patients ont des antécédents d'ABPA datant de plus de 10 ans, il peut persister des taux assez élevés d'IgE spécifiques et des profils complets, que les patients soient mucoviscidosiques ou non.

Nous avons pu suivre quelques patients pour voir l'évolution des profils dans le temps :

Tableau 12. Evolution des profils des patients aux antécédents d'ABPA

	IgE totales	m3	Asp f1	Asp f2	Asp f3	Asp f4	Asp f6	date pvt
ATCD d'ABPA en 2008	2656	20,8	2,82	6,17	5,62	18,6	6,43	29/06/2017
	4075	22,2	6,21	3,05	13	1,28	9,91	11/10/2018
ABPA en 2016	1074	11,1	0,37	2	0,87	<0,10	<0,10	13/07/2016
	637	4,97	0,2	1,12	0,4	<0,10	<0,10	17/04/2019
	693	4,21	0,2 ↓	1,3 ↓	0,69 ↓	<0,10	<0,10	03/10/2019
ABPA en 2016	4568	40,7	25,5 ↓	19,6 ↓	26,1 ↓	95 ↓	0,18 ↓	06/12/2016
	3786	53,6	19,6 ↓	10,1 ↓	18,7 ↓	44,9 ↓	<0,10 ↓	20/02/2019
ABPA en 2017	910	28,9	5,29 ↓	8,01 ↓	4,14 ↓	30 ↓	3,95 ↓	10/05/2017
	625	22,1	3,13 ↓	6,14 ↓	3,43 ↓	15,7 ↓	1,23 ↓	22/02/2019
	614	21,6	4,1 ↓	5,98 ↓	3,24 ↓	16,4 ↓	2,31 ↓	25/07/2019
ABPA en 2016	747	17,5	10,2 ↓	0,37 ↓	2,34 ↓	0,17 ↓	<0,10	14/10/2016
	74	4,1	1,35 ↓	<0,10 ↓	1,09 ↓	<0,10 ↓	<0,10	24/05/2019
ABPA en 2015, rechute en 2018	2509	94,5	35,8	7,17	38,1	12,1	4,5	06/07/2016
	6825	71,8	42	95,7	>100	36,2	16,4	19/12/2018

Parmi ces patients, 4 ont des antécédents d'ABPA. On peut constater que les taux des IgE spécifiques (pour le m3 et les recombinants) ont tendance à décroître lentement mais il persiste bien une cicatrice sérologique. Une patiente a fait une rechute qui est bien objectivée avec une forte élévation de l'ensemble des recombinants, mais paradoxalement le taux d'IgE m3 a diminué.

E. La sérologie IgG aspergillaire

Pour la sérologie aspergillaire IgG nous avons exclu 6 patients (1 pour lequel la sérologie n'a pas été réalisée et 5 patients porteurs d'aspergilloses chroniques car ces patients ont des valeurs élevées en IgG ce qui risque de masquer une élévation des IgG chez les patients porteurs d'ABPA).

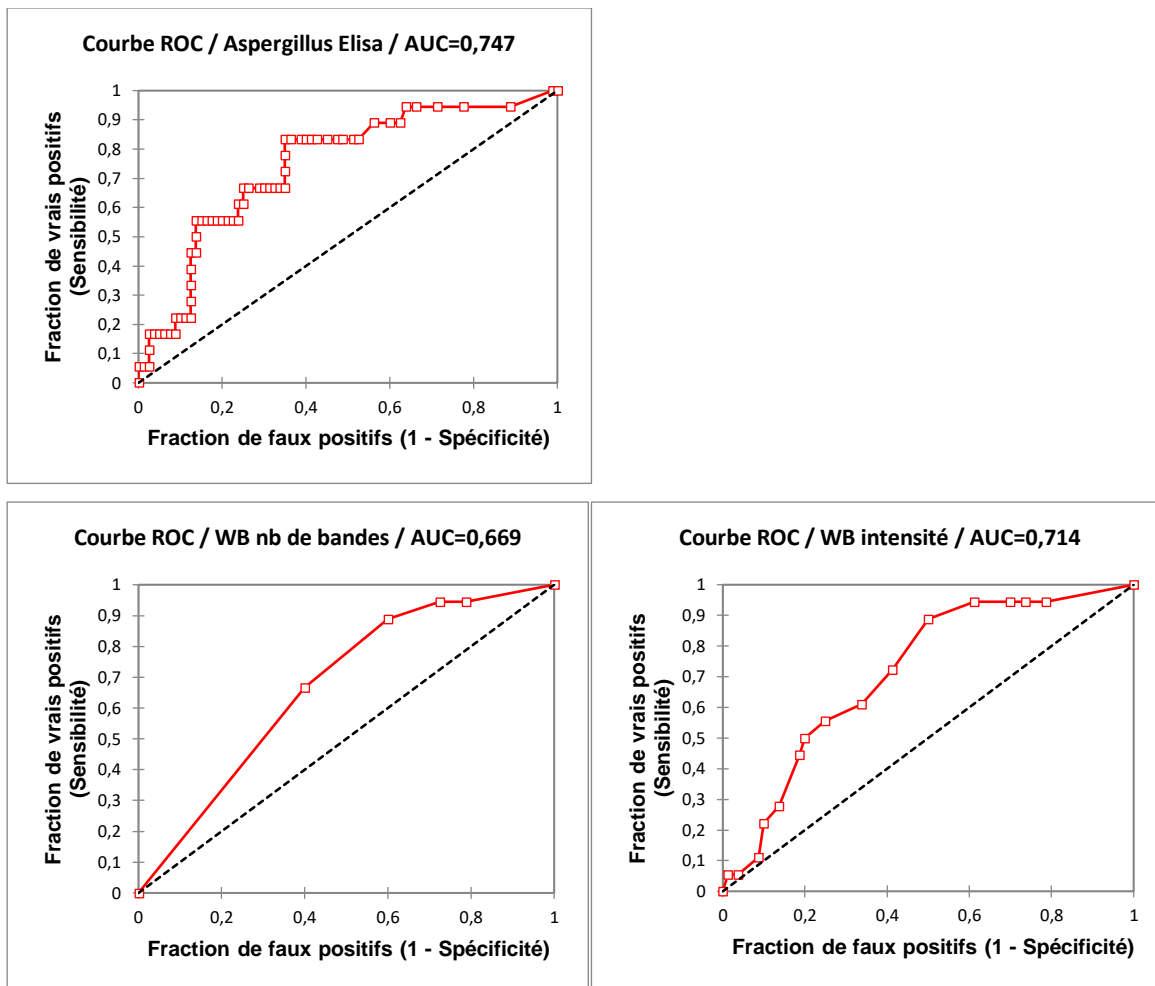


Figure 27. Analyses ROC des sérologies IgG Elisa et Western Blot

Tableau 13. Récapitulatif des analyses ROC des sérologies IgG anti-Aspergillus fumigatus

	ELISA	WB nombre de bandes	WB intensité
Valeur optimale	≥3,1 AU/mL	≥2	≥5
Sensibilité %	83	89	89
Spécificité %	65	40	50
VPP %	35	25	29
VPN%	95	94	95

L'analyse ROC réalisée sur la sérologie IgG ELISA et le Western Blot montre de bonnes sensibilités mais au détriment de faibles spécificités.

Ces analyses ne semblent pas apporter une aide majeure au diagnostic de l'ABPA.

V. Discussion

Nous avons vu qu'il est souvent difficile de différencier l'ASA de l'ABPA. Cependant, cette distinction est importante car la thérapie aux glucocorticoïdes n'est garantie que dans l'ABPA pour prévenir les lésions pulmonaires irréversibles. Le diagnostic de l'ABPA dans la mucoviscidose est également difficile à réaliser, car les atteintes pulmonaires de la mucoviscidose et de l'ABPA partagent plusieurs caractéristiques communes, notamment la présence d'infiltrats pulmonaires et de bronchectasies(106).

Le m3

Nous avons montré que l'extrait source m3 était positif pour l'ensemble des patients de notre cohorte. Les antigènes m3 sont des protéines brutes présentant une réactivité croisée significative avec d'autres champignons(133). Ceux-ci ne présentent donc pas une bonne spécificité.

Les recombinants

Comme vu précédemment, la technologie recombinante a permis d'isoler de grandes quantités d'antigènes d'*A. fumigatus* purs(134). On distingue ainsi des allergènes sécrétés comme Asp f1 et Asp f3 qui sont reconnus par les anticorps des patients atteints d'ABPA et des asthmatiques sensibilisés à *Aspergillus* et des allergènes non sécrétés comme Asp f4 et Asp f6 qui sont détectés principalement chez les patients ABPA (111,135). Les résultats de notre étude suggèrent que, pris isolément, les marqueurs Asp f1 et Asp f3 sont les plus performants. Ils ont respectivement des AUC à 0,932 et 0,931, des sensibilités à 83% et 89% et des spécificités à 92% et 90% pour permettre la distinction entre les patients ABPA et non ABPA. Muthu V. et al en 2018 (136) ont réalisé la revue de 26 études et effectué la méta-analyse de 17 études. Ces auteurs ont montré que les IgE anti-Asp f1 ou f3 ont la plus grande sensibilité (96,7% et 93,3% chez les asthmatiques et les patients mucoviscidosiques, respectivement) pour différencier les patients avec ou sans ABPA. D'un autre côté, les IgE anti-Asp f4 ou f6 ont la meilleure spécificité (99%) chez les patients asthmatiques, alors que Asp f6 seul a la meilleure spécificité (98%) chez les patients mucoviscidosiques, pour distinguer les patients avec ou sans ABPA. Une autre étude a été réalisée au Japon par H. Tanimoto et al (112) en 2015. Cette étude portait sur une cohorte de patients japonais incluant 253 patients souffrant d'asthme avec sensibilisation aspergillaire sans ABPA et 53 patients souffrant

d'ABPA. Il en ressort que les patients atteints d'ABPA avaient des taux significativement plus élevés d'IgE anti-Asp f1 et anti-Asp f2 que les patients asthmatiques sans ABPA. En revanche des taux élevés d'IgE anti-Asp f6 semblent être en lien avec la présence d'une dermatite atopique. Cette étude comporte une importante cohorte néanmoins celle-ci ne porte que sur une population ciblée (patients japonais), ne sachant pas si les profils de sensibilisation sont les mêmes dans toutes les populations. D'autres travaux de Muthu V. et al en 2019 (137) ont inclus 194 sujets dont 123 ABPA et 71 ASA. Ils ont conclu que les IgE anti-Asp f1 et Asp f2 seraient les marqueurs les plus utiles pour différencier l'ABPA des patients sensibilisés à *A. fumigatus*. Il en est ressorti que les IgE anti-Asp f1 ont donné la meilleure combinaison de sensibilité (89%) et de spécificité (100%). En utilisant Asp f1 à un seuil de 4,465 kUA/L ou Asp f2 à seuil de 1,300 kUA/L ils ont obtenu des spécificités à 100% et des sensibilités à 81%. Cette étude monocentrique nécessite une validation supplémentaire. En accord avec les résultats de cette étude, les IgE anti-Asp f1 semblent avoir un fort pouvoir discriminant lorsque le taux est suffisamment élevé.

Les combinaisons

En utilisant l'association de plusieurs recombinants, on constate que les tests les plus performants nécessitent l'utilisation de l'ensemble des recombinants disponibles (Asp f1 + Asp f2 + Asp f3 + Asp f4 + Asp f6).

Les Cutoffs

Nous avons déterminé des cutoffs spécifiques pour chaque allergène recombinant. Ceux-ci ne correspondent pas au seuil de positivité arbitraire ou délivré par le fournisseur (>0,1 kUA/L, 0,35 kUA/L). En effet, d'après les analyses ROC nous avons pu déterminer nos propres seuils. Des cutoffs élevés permettent d'obtenir des bonnes sensibilités et spécificités. Nos résultats sont assez concordants avec les derniers travaux de Muthu et al, dans notre étude Asp f1 a de bonnes sensibilités et spécificités (89% et 92% respectivement) mais à un seuil plus faible (2,75 kUA/L). La meilleure sensibilité (94%) est obtenue avec Asp f2 à un seuil de 0,37 kUA/L. Ensuite Asp f3 obtient également une sensibilité à 89% et une spécificité à 90% pour un seuil à 0,87 kUA/L. Pour les recombinants Asp f4 et Asp f6, les seuils sont plus bas (0,10 kUA/L et 0,18 kUA/L respectivement). Asp f6 a la meilleure spécificité (94%) mais une mauvaise sensibilité (61%). Nous n'avons pas pu définir un seul cutoff homogène (valable pour tous les recombinants) ce qui rend plus délicat l'interprétation d'un bilan biologique.

Intérêt clinique

Une ABPA diagnostiquée trop tardivement peut évoluer vers de nombreuses complications déjà évoquées telles que des exacerbations ou des bronchectasies jusqu'à la fibrose pulmonaire responsable d'une HTAP et d'une insuffisance respiratoire. Il faut alors pouvoir diagnostiquer une ABPA le plus tôt possible pour éviter des lésions irréversibles. Le dosage des IgE anti-m3 ne permet pas à lui seul de différencier une ABPA d'un ASA. De plus, l'ABPA est très difficile à diagnostiquer chez les patients mucoviscidosiques. Les recombinants devraient pouvoir apporter une aide pour poser le diagnostic d'ABPA.

Les autres marqueurs

Comme vu précédemment, il existe une multitude d'autres allergènes recombinants anti-*A. fumigatus*, mais ceux-ci ne sont pas utilisés en routine. Peut-être que ces autres marqueurs pourraient apporter une aide diagnostique. La balance entre les IgE et les IgG4 est indicative d'une tolérance dans de nombreuses pathologies allergiques. Les IgE spécifiques diminuent et les IgG4 augmentent quand la tolérance s'installe. Selon d'anciennes études, les IgG4 sont significativement augmentées dans l'ABPA (138,139). J. Vitte et al (140) ont étudié le dosage des IgG4 anti-Asp f1, Asp f2, Asp f3, Asp f4 et Asp f6 dans l'aide au diagnostic de l'ABPA sur une cohorte de 49 patients. Les IgG4 anti-Asp f2 pourraient avoir un intérêt, néanmoins une cohorte plus importante serait nécessaire pour le confirmer.

Les Limites de l'étude et les perspectives

Notre étude a comporté plusieurs limites. Le nombre de patients atteints d'ABPA était relativement faible avec 18 patients ABPA inclus. Notre étude était monocentrique et ne portait donc que sur une population géographiquement ciblée, comme pour les autres études décrites. Il s'agissait d'une étude hospitalière : la population étudiée n'est pas représentative de la population générale. Une grande étude multicentrique serait nécessaire pour conforter nos résultats.

VI. Conclusion

L'ABPA est une pathologie allergique complexe induite principalement par *A. fumigatus*. Il est important de pouvoir porter un diagnostic de certitude de cette pathologie avant que n'apparaissent des lésions irréversibles et des complications. L'allergologie moléculaire à l'aide des allergènes recombinants Asp f1, Asp f2, Asp f3, Asp f4 et Asp f6 pourrait permettre d'aider au diagnostic, à la prise en charge ou au suivi de ces patients.

Notre étude a été réalisée sur une cohorte de 125 patients dont 18 atteints d'ABPA, 21 en rémission d'ABPA et 86 indemnes d'ABPA. Nous avons pu tester l'ensemble des cinq recombinants pour chaque patient. Presque seuls les patients ABPA ont des profils complets et la plupart possèdent des IgE contre plusieurs recombinants. Peu de patients ont pu être suivis dans notre étude, nous avons refait un dosage des IgE spécifiques seulement sur une poignée d'entre eux et l'on constate qu'elles ont tendance à décroître à distance de l'ABPA et augmenter en cas de rechute.

Les résultats de notre étude suggèrent que l'on devrait utiliser l'ensemble de ces recombinants pour l'aide au diagnostic, voire pour le suivi de l'ABPA.

1	Age	SHY demande	Date de préf	Cones.	Docteur	*Ilg dosage	m3	IAsp11	IAsp12	IAsp13	IAsp14	IAsp16	Elsa	WB	WB/Mb bande	bde P16	bde P18-20	bde P22	bde P31	Somme 4 bdes	DCL asper	culture myco	EO (GLU)	VEWS	Titrenew	test out m3	patho de fond	exacerbations	terrain atopique	TTT reçu	Imagerie
199		3064121650	06/06/2018			206	2,76																								
200	51	F#7093285161	07/09/2017	1324	1324		30	1,46	2,54	<0,10	<0,10	<0,10	0,1	Positif	4	4	3	2	4	13	Présence d	Nesafit	0,06	45%	non	satisme sevel	non	non	velair	Abs	
201	19	F#7093286359	07/09/2017	5106	5106		50	1,32	0,95	0,22	0,15	<0,10	0,7	Positif	4	2	3	3	3	11	Présence d	Abs	0,22	82%	66,50%	MCV suivi	AB	non	non	Scanner thoracique - bronchectasie	
202	23	M#7093290567	08/09/2017	5106	5106		85	0,23	0,11	<0,10	<0,10	<0,10	13,7	Positif	4	2	4	4	3	13	Présence d	Trace d'ant	0,17	68%	75,20%	MCV suivi	non	non	non	IRM absence de cisternes d'AGPA	
203	66	F#7093301829	12/09/2017	1324	1324		255	2,06	0,12	<0,10	<0,10	<0,10	5,8	FaillePos	3	1	2	1	0	4	Trace d'ant	0,09	Abs	non	BCCO post-H	non	non	non	Abs		
204	22	F#7093306855	13/09/2017	5106	5106		153	2,85	0,16	0,14	<0,10	<0,10	1,3	FaillePos	4	1	2	1	1	5	Présence d	0,24	65%	64,40%	MCV suivi	AB	non	non	Abs		
205	21	F#7093312597	14/09/2017	5106	5106		42	1,66	1,08	0,36	0,3	0,23	<0,10	0,3	FaillePos	3	1	1	3	5	Présence c	Abs	0,11	73%	61,80%	MCV suivi	non	non	non	Abs	
206	54	F#7093407825	10/10/2017	1370	1370		39	0,64	0,43	<0,10	<0,10	<0,10	4,4	Positif	3	2	3	2	0	10	Présence c	Abs	0,05	63%	63,40%	non	DDG dételec	oui	non	non	Abs

BIBLIOGRAPHIE

1. Stevenson A, Cray JA, Williams JP, Santos R, Sahay R, Neuenkirchen N, et al. Is there a common water-activity limit for the three domains of life? *ISME J.* juin 2015;9(6):1333-51.
2. Wyatt TT, Golovina EA, Leeuwen R van, Hallsworth JE, Wösten HAB, Dijksterhuis J. A decrease in bulk water and mannitol and accumulation of trehalose and trehalose-based oligosaccharides define a two-stage maturation process towards extreme stress resistance in ascospores of *Neosartorya fischeri* (*Aspergillus fischeri*). *Environ Microbiol.* févr 2015;17(2):383-94.
3. Lass-Flörl C, Cuenca-Estrella M. Changes in the epidemiological landscape of invasive mould infections and disease. *J Antimicrob Chemother.* 01 2017;72(suppl_1):i5-11.
4. Pringle A1, Baker DM, Platt JL, Wares JP, Latgé JP, Taylor JW. Cryptic speciation in the cosmopolitan and clonal human pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*. - PubMed - NCBI. 2005.
5. Araujo R, Amorim A, Gusmão L. Genetic diversity of *Aspergillus fumigatus* in indoor hospital environments. *Med Mycol.* 1 sept 2010;48(6):832-8.
6. Haute Autorité de Santé - Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic des infections à *Aspergillus* [Internet]. 2017. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2736666/fr/actualisation-des-actes-de-biologie-medicale-relatifs-au-diagnostic-des-infections-a-aspergillus
7. Abad A, Fernández-Molina JV, Bikandi J, Ramírez A, Margareto J, Sendino J, et al. What makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen? Genes and molecules involved in invasive aspergillosis. *Rev Iberoam Micol.* déc 2010;27(4):155-82.
8. Dagenais TRT, Keller NP. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in Invasive Aspergillosis. *Clin Microbiol Rev.* juill 2009;22(3):447-65.
9. Steele C, Rapaka RR, Metz A, Pop SM, Williams DL, Gordon S, et al. The beta-glucan receptor dectin-1 recognizes specific morphologies of *Aspergillus fumigatus*. *PLoS Pathog.* déc 2005;1(4):e42.
10. Carrion S de J, Leal SM, Ghannoum MA, Amanianda V, Latgé J-P, Pearlman E. The RodA hydrophobin on *Aspergillus fumigatus* spores masks dectin-1- and dectin-2-dependent responses and enhances fungal survival in vivo. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 sept 2013;191(5):2581-8.
11. Bretagne S. Antigènes fongiques en réanimation: tests disponibles et état des lieux. *Réanimation.* 1 juin 2007;16(3):232-9.
12. Singh BP, Banerjee B, Kurup VP. *Aspergillus* antigens associated with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Front Biosci J Virtual Libr.* 1 janv 2003;8:s102-109.
13. Bennett JE, Bhattacharjee AK, Glaudemans CP. Galactofuranosyl groups are immunodominant in *Aspergillus fumigatus* galactomannan. *Mol Immunol.* mars 1985;22(3):251-4.
14. Azuma I, Kimura H, Hirao F, Tsubura E, Yamamura Y. Skin-testing and precipitation antigens from *Aspergillus fumigatus* for diagnosis of aspergillosis. *Am Rev Respir Dis.* févr 1967;95(2):305-6.

15. Gravelat FN, Beauvais A, Liu H, Lee MJ, Snarr BD, Chen D, et al. *Aspergillus Galactosaminogalactan Mediates Adherence to Host Constituents and Conceals Hyphal β -Glucan from the Immune System.* 22 août 2013 [cité 21 févr 2018];9(8).
16. Farnell E, Rousseau K, Thornton DJ, Bowyer P, Herrick SE. Expression and secretion of *Aspergillus fumigatus* proteases are regulated in response to different protein substrates. *Fungal Biol.* sept 2012;116(9):1003-12.
17. Park SJ, Mehrad B. Innate Immunity to *Aspergillus* Species. *Clin Microbiol Rev.* oct 2009;22(4):535-51.
18. Knight DA, Holgate ST. The airway epithelium: structural and functional properties in health and disease. *Respirol Carlton Vic.* déc 2003;8(4):432-46.
19. Carys A. Croft, Luka Culibrk, Margo M. Moore, and Scott J. Tebbutt. Interactions of *Aspergillus fumigatus* Conidia with Airway Epithelial Cells: A Critical Review. 2016.
20. Camargo JF, Husain S. Immune correlates of protection in human invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 août 2014;59(4):569-77.
21. Margalit A, Kavanagh K. The innate immune response to *Aspergillus fumigatus* at the alveolar surface. *FEMS Microbiol Rev.* sept 2015;39(5):670-87.
22. Garlanda C1, Hirsch E, Bozza S, Salustri A, De Acetis M, Nota R, Maccagno A, Riva F, Bottazzi B, Peri G, Doni A, Vago L, Botto M, De Santis R, Carminati P, Siracusa G, Altruda F, Vecchi A, Romani L, Mantovani A., Author information. Non-redundant role of the long pentraxin PTX3 in anti-fungal innate immune response. - PubMed - NCBI. 2002.
23. Moalli F, Doni A, Deban L, Zelante T, Zagarella S, Bottazzi B, et al. Role of complement and Fc{gamma} receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*. *Blood.* 9 déc 2010;116(24):5170-80.
24. Wasylnka JA, Moore MM. *Aspergillus fumigatus* conidia survive and germinate in acidic organelles of A549 epithelial cells. *J Cell Sci.* 15 avr 2003;116(Pt 8):1579-87.
25. Botterel F, Gross K, Ibrahim-Granet O, Khoufache K, Escabasse V, Coste A, et al. Phagocytosis of *Aspergillus fumigatus* conidia by primary nasal epithelial cells in vitro. *BMC Microbiol.* 18 juin 2008;8:97.
26. Knowles MR, Boucher RC. Mucus clearance as a primary innate defense mechanism for mammalian airways. *J Clin Invest.* 1 mars 2002;109(5):571-7.
27. Crapo JD, Barry BE, Gehr P, Bachofen M, Weibel ER. Cell number and cell characteristics of the normal human lung. *Am Rev Respir Dis.* août 1982;126(2):332-7.
28. Segal BH, Walsh TJ. Current approaches to diagnosis and treatment of invasive aspergillosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 avr 2006;173(7):707-17.
29. Sherif R, Segal BH. Pulmonary aspergillosis: clinical presentation, diagnostic tests, management and complications. *Curr Opin Pulm Med.* mai 2010;16(3):242-50.
30. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 juin 2008;46(12):1813-21.

31. Desoubeaux G, Bailly É, Chandenier J. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: updates and recommendations. *Med Mal Infect.* mars 2014;44(3):89-101.
32. Guo Y-L, Chen Y-Q, Wang K, Qin S-M, Wu C, Kong J-L. Accuracy of BAL galactomannan in diagnosing invasive aspergillosis: a bivariate metaanalysis and systematic review. *Chest.* oct 2010;138(4):817-24.
33. Kristina Affolter, Michael Tamm, Kathleen Jahn , Jörg Halter, Jakob Passweg, Hans H. Hirsch, and Daiana Stolz. Galactomannan in Bronchoalveolar Lavage for Diagnosing Invasive Fungal Disease | *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2014.
34. Georgiadou SP, Sipsas NV, Marom EM, Kontoyiannis DP. The Diagnostic Value of Halo and Reversed Halo Signs for Invasive Mold Infections in Compromised Hosts. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 mai 2011;52(9):1144-55.
35. Caillot D, Couaillier JF, Bernard A, Casasnovas O, Denning DW, Mannone L, et al. Increasing volume and changing characteristics of invasive pulmonary aspergillosis on sequential thoracic computed tomography scans in patients with neutropenia. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 janv 2001;19(1):253-9.
36. Netgen. Aspergillose pulmonaire invasive et aspergillose pulmonaire chronique. *Revue Médicale Suisse.* 2014 .
37. Marr KA, Carter RA, Crippa F, Wald A, Corey L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 avr 2002;34(7):909-17.
38. Steinbach WJ, Marr KA, Anaissie EJ, Azie N, Quan S-P, Meier-Kriesche H-U, et al. Clinical epidemiology of 960 patients with invasive aspergillosis from the PATH Alliance registry. *J Infect.* nov 2012;65(5):453-64.
39. Hayes GE, Novak-Frazer L. Chronic Pulmonary Aspergillosis—Where Are We? and Where Are We Going? *J Fungi.* 7 juin 2016;2(2).
40. Smith NL, Denning DW. Underlying conditions in chronic pulmonary aspergillosis including simple aspergilloma. *Eur Respir J.* 1 avr 2011;37(4):865-72.
41. Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, Ader F, Chakrabarti A, Blot S, et al. Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. *Eur Respir J.* janv 2016;47(1):45-68.
42. Denning DW, Riniotis K, Dobrashian R, Sambatakou H. Chronic cavitary and fibrosing pulmonary and pleural aspergillosis: case series, proposed nomenclature change, and review. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 oct 2003;37 Suppl 3:S265-280.
43. Kosmidis C, Denning DW, The SM, Kosmidis DC, Manchester OS. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. 2014.
44. Al-Alawi A, Ryan CF, Flint JD, Müller NL. Aspergillus-related lung disease. *Can Respir J.* oct 2005;12(7):377-87.
45. Godet C, Philippe B, Laurent F, Cadranel J. Chronic pulmonary aspergillosis: an update on diagnosis and treatment. *Respir Int Rev Thorac Dis.* 2014;88(2):162-74.
46. Jhun BW, Jeon K, Eom JS, Lee JH, Suh GY, Kwon OJ, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of chronic pulmonary aspergillosis. *Med Mycol.* nov 2013;51(8):811-7.

47. Patterson KC, Streck ME. Diagnosis and treatment of pulmonary aspergillosis syndromes. *Chest*. nov 2014;146(5):1358-68.
48. Tuncel E. Pulmonary air meniscus sign. *Respir Int Rev Thorac Dis*. 1984;46(1):139-44.
49. Ofori. Pulmonary aspergilloma: An evasive disease. 2016. 5531;year=2016;volume=5;issue=2;spage=235;epage=239;aulast=Ofori
50. Uffredi ML, Mangiapan G, Cadranell J, Kac G. Significance of *Aspergillus fumigatus* isolation from respiratory specimens of nongranulocytopenic patients. - PubMed - NCBI. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2003.
51. Ohba H, Miwa S, Shirai M, Kanai M, Eifuku T, Suda T, et al. Clinical characteristics and prognosis of chronic pulmonary aspergillosis. *Respir Med*. mai 2012;106(5):724-9.
52. Lim J, Lyu J, Choi C-M, Oh Y-M, Lee SD, Kim WS, et al. Non-tuberculous mycobacterial diseases presenting as solitary pulmonary nodules. *Int J Tuberc Lung Dis Off J Int Union Tuberc Lung Dis*. déc 2010;14(12):1635-40.
53. Ahn B-C, Lee S-W, Lee J, Kim C. Pulmonary Aspergilloma Mimicking Metastasis from Papillary Thyroid Cancer. *Thyroid*. 30 mars 2011;21(5):555-8.
54. Baser S, Onn A, Lin E, Morice RC, Duvic M. Pulmonary manifestations in patients with cutaneous T-cell lymphomas. *Cancer*. 15 avr 2007;109(8):1550-5.
55. Yasuda M, Nagashima A, Haro A, Saitoh G. Aspergilloma mimicking a lung cancer. *Int J Surg Case Rep*. 18 avr 2013;4(8):690-2.
56. Das CJ, Seith A, Debnath J, Kumar U, Sharma SG, Aron M. *Aspergillus* colonisation of pulmonary rheumatoid nodules: a rare cause of « bull's eye » appearance. *Indian J Chest Dis Allied Sci*. mars 2009;51(1):41-3.
57. Binder RE, Faling LJ, Pugatch RD, Mahasaen C, Snider GL. Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis: a discrete clinical entity. *Medicine (Baltimore)*. mars 1982;61(2):109-24.
58. Felton TW, Baxter C, Moore CB, Roberts SA, Hope WW, Denning DW. Efficacy and safety of posaconazole for chronic pulmonary aspergillosis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 déc 2010;51(12):1383-91.
59. Armstead J, Morris J, Denning DW. Multi-country estimate of different manifestations of aspergillosis in cystic fibrosis. *PloS One*. 2014;9(6):e98502.
60. Philippe B, Germaud P. [Aspergillus in the immunocompetent patient. Towards a new classification?]. *Rev Mal Respir*. nov 2005;22(5 Pt 1):711-4.
61. Baxter CG, Dunn G, Jones AM, Webb K, Gore R, Richardson MD, et al. Novel immunologic classification of aspergillosis in adult cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol*. sept 2013;132(3):560-566.e10.
62. Shoseyov D, Brownlee KG, Conway SP, Kerem E. *Aspergillus* bronchitis in cystic fibrosis. *Chest*. juill 2006;130(1):222-6.
63. Abdul Ghaffar, Denis Hudrisier. REACTIONS D'HYPERSENSIBILITE. *Microbiologie et Immunologie On-line*. 2014 .
64. Lacasse Y, Selman M, Costabel U, Dalphin J-C, Ando M, Morell F, et al. Clinical diagnosis of hypersensitivity pneumonitis. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 oct 2003;168(8):952-8.

65. Maya Chandrani Attapattu. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in a chronic asthmatic. - Semantic Scholar. 1983.
66. 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.
67. Agarwal R, Chakrabarti A. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in asthma: epidemiological, clinical and therapeutic issues. *Future Microbiol*. nov 2013;8(11):1463-74.
68. Agarwal R, Gupta D. Severe asthma and fungi: current evidence. *Med Mycol*. avr 2011;49 Suppl 1:S150-157.
69. Nath A, Khan A, Hashim Z, Patra JK. Prevalence of *Aspergillus* hypersensitivity and allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with bronchial asthma at a tertiary care center in North India. *Lung India Off Organ Indian Chest Soc*. avr 2017;34(2):150-4.
70. Tillie-Leblond I, Rouzic O le, Cortot A. Aspergillose bronchopulmonaire allergique. /data/revues/18770320/v52i3/S1877032012000553/ [Internet]. 12 avr 2012 [cité 19 févr 2018]; Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/en/article/706295>
71. Carsin A, Romain T, Ranque S, Reynaud-Gaubert M, Dubus J-C, Mège J-L, et al. *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis: An update on immune interactions and molecular diagnostics in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Allergy*. nov 2017;72(11):1632-42.
72. A. Dejardin Botelho, I. Tillie-Leblond. Aspergillose bronchopulmonaire allergique. EM-Consulte. 2006 .
73. Agarwal R, Singh N, Gupta D. Pulmonary hypertension as a presenting manifestation of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Indian J Chest Dis Allied Sci*. mars 2009;51(1):37-40.
74. Chauhan B, Santiago L, Hutcheson PS, Schwartz HJ, Spitznagel E, Castro M, et al. Evidence for the involvement of two different MHC class II regions in susceptibility or protection in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol*. 1 oct 2000;106(4):723-9.
75. Chauhan B, Knutsen A p, Hutcheson PS, Slavin RG, Bellone CJ. T cell subsets, epitope mapping, and HLA-restriction in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Clin Invest*. 15 mai 1996;97(10):2324-31.
76. Chauhan B, Santiago L, Kirschmann DA, Hauptfeld V, Knutsen AP, Hutcheson PS, et al. The association of HLA-DR alleles and T cell activation with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 oct 1997;159(8):4072-6.
77. Ober C, Leavitt SA, Tsalenko A, Howard TD, Hoki DM, Daniel R, et al. Variation in the Interleukin 4–Receptor α Gene Confers Susceptibility to Asthma and Atopy in Ethnically Diverse Populations. *Am J Hum Genet*. févr 2000;66(2):517-26.
78. Knutsen AP. Genetic and respiratory tract risk factors for aspergillosis: ABPA and asthma with fungal sensitization. *Med Mycol*. 1 sept 2006;44(Supplement_1):S61-70.
79. Ritesh Agarwal, Ajmal Khan, Ashutosh N. Aggarwal and Dheeraj Gupta. Link between CFTR mutations and ABPA: a systematic review and meta-analysis - Agarwal - 2011 - *Mycoses* - Wiley Online Library [Internet]. 2011. Disponible sur: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0507.2011.02130.x/abstract>

80. Kolwijck E, van de Veerdonk FL. The potential impact of the pulmonary microbiome on immunopathogenesis of Aspergillus-related lung disease. *Eur J Immunol.* nov 2014;44(11):3156-65.
81. Chaudhary N, Datta K, Askin FB, Staab JF, Marr KA. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator regulates epithelial cell response to Aspergillus and resultant pulmonary inflammation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 févr 2012;185(3):301-10.
82. 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.
83. Bassinet L, Bouchara J-P, Dominique S, Leroy S. Aspergillus fumigatus et mucoviscidose. *Rev Mal Respir Actual.* sept 2016;8(3):191-4.
84. Agarwal R, Khan A, Garg M, Aggarwal AN, Gupta D. Pictorial essay: Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Indian J Radiol Imaging.* 10 janv 2011;21(4):242.
85. 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):RC05-7.
86. Neeld DA, Goodman LR, Gurney JW, Greenberger PA, Fink JN. Computerized tomography in the evaluation of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Am Rev Respir Dis.* 1 janv 1990;142(5):1200-5.
87. Goyal R, White CS, Templeton PA, Britt EJ, Rubin LJ. High attenuation mucous plugs in allergic bronchopulmonary aspergillosis: CT appearance. *J Comput Assist Tomogr.* 1992;16(4):649-50.
88. Refait J, Macey J, Bui S, Fayon M, Berger P, Delhaes L, et al. CT evaluation of hyperattenuating mucus to diagnose allergic bronchopulmonary aspergillosis in the special condition of cystic fibrosis. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc.* 2019;18(4):e31-6.
89. Garg MK, Gupta P, Agarwal R, Sodhi KS, Khandelwal N. MRI: a new paradigm in imaging evaluation of allergic bronchopulmonary aspergillosis? *Chest.* févr 2015;147(2):e58-9.
90. V. Brusasco, R. Crapo, G. Viegi. *Revue des Maladies Respiratoires - Vol 24 - n° 3-c2 - EM consulte .* 2007 .
91. Masson E. Rappels sur les EFR . 2008. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/157070/rappels-sur-les-efr>
92. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J.* 1 nov 2005;26(5):948-68.
93. Malo JL, Pepys J, Simon G. Studies in chronic allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Thorax.* juin 1977;32(3):262-8.
94. 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.
95. Heinzerling L, Mari A, Bergmann K-C, Bresciani M, Burbach G, Darsow U, et al. The skin prick test - European standards. *Clin Transl Allergy.* 1 févr 2013;3(1):3.
96. Ansotegui IJ, Melioli G, Canonica GW, Caraballo L, Villa E, Ebisawa M, et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organ J [Internet].* 25 févr 2020;13(2).

97. Kurup VP, Choi H, Murali PS, Coffman RL. IgE and eosinophil regulation in a murine model of allergic aspergillosis. *J Leukoc Biol.* nov 1994;56(5):593-8.
98. Agarwal R, Khan A, Aggarwal AN, Varma N, Garg M, Saikia B, Gupta D, Chakrabarti A. Clinical relevance of peripheral blood eosinophil count in allergic bronchopulmonary aspergillosis. 2011 Nov;4(5-6):235-43
99. Nakamura S, Sato H, Tanaka R, Kusuya Y, Takahashi H, Yaguchi T. Ribosomal subunit protein typing using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for the identification and discrimination of *Aspergillus* species. 26 2017;17(1):100.
100. Paugam A. Le point sur l'antifongigramme. *MISE AU POINT.* 2010;6.
101. Alvarez-Moreno C, Lavergne R-A, Hagen F, Morio F, Meis JF, Le Pape P. Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* harboring TR34/L98H, TR46/Y121F/T289A and TR53 mutations related to flower fields in Colombia. *Sci Rep.* 30 mars 2017;7.
102. Fischer D, Lierz M. Diagnostic Procedures and Available Techniques for the Diagnosis of Aspergillosis In Birds. *J Exot Pet Med.* 1 juin 2015;24.
103. Oliva A, Flori P, Hennequin C, Dubus J-C, Reynaud-Gaubert M, Charpin D, et al. Evaluation of the *Aspergillus* Western blot IgG kit for diagnosis of chronic aspergillosis. *J Clin Microbiol.* janv 2015;53(1):248-54.
104. Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) Mucoviscidose [Internet]. Haute Autorité de Santé. 2017 .
105. Greenberger PA, Patterson R. Diagnosis and management of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Ann Allergy.* juin 1986;56(6):444-8.
106. Agarwal R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Chest.* mars 2009;135(3):805-26.
107. Valenta R, Lidholm J, Niederberger V, Hayek B, Kraft D, Grönlund H. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* juill 1999;29(7):896-904.
108. Hiller R, Laffer S, Harwanegg C, Huber M, Schmidt WM, Twardosz A, et al. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* mars 2002;16(3):414-6.
109. Curin M, Garib V, Valenta R. Single recombinant and purified major allergens and peptides: How they are made and how they change allergy diagnosis and treatment. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol.* 2017;119(3):201-9.
110. Crameri R, Limacher A, Weichel M, Glaser AG, Zeller S, Rhyner C. Structural aspects and clinical relevance of *Aspergillus fumigatus* antigens/allergens. *Med Mycol.* 1 sept 2006;44(Supplement_1):S261-7.
111. Crameri R. Recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens: from the nucleotide sequences to clinical applications. *Int Arch Allergy Immunol.* févr 1998;115(2):99-114.
112. Tanimoto H, Fukutomi Y, Yasueda H, Takeuchi Y, Saito A, Watai K, et al. Molecular-based allergy diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis in *Aspergillus fumigatus*-sensitized Japanese patients. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* déc 2015;45(12):1790-800.

113. Cramer R. The problem of cross-reactivity in the diagnosis of fungal allergy. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* mars 2011;41(3):302-4.
114. 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.
115. Wang JL, Patterson R, Roberts M, Ghory AC. The management of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Am Rev Respir Dis.* juill 1979;120(1):87-92.
116. Agarwal R, Aggarwal AN, Dhooria S, Singh Sehgal I, Garg M, Saikia B, et al. A randomised trial of glucocorticoids in acute-stage allergic bronchopulmonary aspergillosis complicating asthma. *Eur Respir J.* févr 2016;47(2):490-8.
117. Agarwal R, Khan A, Aggarwal AN, Saikia B, Gupta D, Chakrabarti A. Role of inhaled corticosteroids in the management of serological allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA). *Intern Med Tokyo Jpn.* 2011;50(8):855-60.
118. Inhaled beclomethasone dipropionate in allergic bronchopulmonary aspergillosis. Report to the Research Committee of the British Thoracic Association. *Br J Dis Chest.* oct 1979;73(4):349-56.
119. Moreira AS, Silva D, Ferreira AR, Delgado L. Antifungal treatment in allergic bronchopulmonary aspergillosis with and without cystic fibrosis: a systematic review. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* oct 2014;44(10):1210-27.
120. Stevens DA, Moss RB, Kurup VP, Knutsen AP, Greenberger P, Judson MA, et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis--state of the art: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 oct 2003;37 Suppl 3:S225-264.
121. Accoceberry I, Noël T. Antifongiques : cibles cellulaires et mécanismes de résistance. *Thérapie.* 61(3):195-9.
122. Wark P a. B, Gibson PG, Wilson AJ. Azoles for allergic bronchopulmonary aspergillosis associated with asthma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;(3):CD001108.
123. Stevens DA, Schwartz HJ, Lee JY, Moskovitz BL, Jerome DC, Catanzaro A, et al. A randomized trial of itraconazole in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *N Engl J Med.* 16 mars 2000;342(11):756-62.
124. Wark PAB, Hensley MJ, Saltos N, Boyle MJ, Toneguzzi RC, Epid GDC, et al. Anti-inflammatory effect of itraconazole in stable allergic bronchopulmonary aspergillosis: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.* mai 2003;111(5):952-7.
125. Chishimba L, Niven RM, Cooley J, Denning DW. Voriconazole and posaconazole improve asthma severity in allergic bronchopulmonary aspergillosis and severe asthma with fungal sensitization. *J Asthma Off J Assoc Care Asthma.* mai 2012;49(4):423-33.
126. Jacobs SE, Saez-Lacy D, Wynkoop W, Walsh TJ. Successful Treatment of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis With Isavuconazole: Case Report and Review of the Literature. *Open Forum Infect Dis.* 2017;4(2):ofx040.
127. Fohrer C, Nivoix Y, Moulin J-C, Marçais A, Herbrecht R. Apports des dérivés lipidiques de l'amphotéricine B dans la prise en charge des infections fongiques. *Thérapies.* 1 mai 2006;61(3):235-42.

128. Busse WW, Morgan WJ, Gergen PJ, Mitchell HE, Gern JE, Liu AH, et al. Randomized Trial of Omalizumab (Anti-IgE) for Asthma in Inner-City Children. *N Engl J Med.* 17 mars 2011;364(11):1005-15.
129. Humbert M, Busse W, Hanania NA, Lowe PJ, Canvin J, Erpenbeck VJ, et al. Omalizumab in asthma: an update on recent developments. *J Allergy Clin Immunol Pract.* oct 2014;2(5):525-536.e1.
130. Voskamp AL, Gillman A, Symons K, Sandrini A, Rolland JM, O'Hehir RE, et al. Clinical efficacy and immunologic effects of omalizumab in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol Pract.* avr 2015;3(2):192-9.
131. Agarwal R, Khan A, Gupta D, Aggarwal AN, Saxena AK, Chakrabarti A. An alternate method of classifying allergic bronchopulmonary aspergillosis based on high-attenuation mucus. *PLoS One.* 15 déc 2010;5(12):e15346.
132. Jindal SK, Agarwal R. Long-term oxygen therapy. *Expert Rev Respir Med.* déc 2012;6(6):639-49.
133. Kurup VP, Kumar A. Immunodiagnosis of aspergillosis. *Clin Microbiol Rev.* oct 1991;4(4):439-56.
134. Scheiner O. Recombinant allergens: biological, immunological and practical aspects. *Int Arch Allergy Immunol.* 1992;98(2):93-6.
135. 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.
136. Muthu V, Sehgal IS, Dhooria S, Aggarwal AN, Agarwal R. Utility of recombinant *Aspergillus fumigatus* antigens in the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis: A systematic review and diagnostic test accuracy meta-analysis. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* 2018;48(9):1107-36.
137. Muthu V, Singh P, Choudhary H, Sehgal IS, Dhooria S, Prasad KT, et al. Diagnostic Cutoffs and Clinical Utility of Recombinant *Aspergillus fumigatus* Antigens in the Diagnosis of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol Pract.* févr 2020;8(2):579-87.
138. Kurup VP, Resnick A, Kalbfleish J, Fink JN. Antibody isotype responses in *Aspergillus*-induced diseases. *J Lab Clin Med.* mars 1990;115(3):298-303.
139. Greenberger PA, Patterson R. Application of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Lab Clin Med.* févr 1982;99(2):288-93.
140. Vitte J, Ranque S, Carsin A, Gomez C, Romain T, Cassagne C, et al. Multivariate Analysis As a Support for Diagnostic Flowcharts in Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis: A Proof-of-Concept Study. *Front Immunol.* 2017;8:1019.

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque.

Etude du profil de sensibilisation à *Aspergillus fumigatus* d'une cohorte de patients adultes – Apport dans le diagnostic et la prise en charge de l'aspergillose bronchopulmonaire allergique

L'aspergillose bronchopulmonaire allergique (ABPA) est une pathologie immuno-allergique touchant principalement les patients atteints d'asthme et de mucoviscidose. *Aspergillus fumigatus* est l'espèce fongique la plus fréquemment responsable de cette maladie. L'ABPA est une pathologie complexe qui doit bien être différenciée de l'asthme avec sensibilisation aspergillaire car les complications et le pronostic ne sont pas les mêmes. La prévalence de l'ABPA est de 1 à 2% chez les asthmatiques et de 8 à 10% chez les patients mucoviscidosiques. Les patients ABPA sont connus pour être sensibilisés à l'extrait source m3 d'*Aspergillus fumigatus*. L'allergologie moléculaire a permis de produire par génie génétique des allergènes recombinants dont cinq sont actuellement commercialisés : Asp f1, Asp f2, Asp f3, Asp f4 et Asp f6.

L'objectif de notre étude était de savoir si ces allergènes pourraient apporter une aide au diagnostic de l'ABPA et donc à la prise en charge de ces patients. Nous avons étudié une cohorte de 125 patients dont 18 ABPA, 21 ABPA en rémission et 86 non ABPA. Nous avons observé que les patients ABPA produisent des IgE contre plusieurs recombinants voire contre tous les recombinants. Les tests les plus performants nécessitent l'utilisation de l'ensemble de ces allergènes moléculaires.

En conclusion, les résultats de notre suggèrent d'utiliser les cinq recombinants pour le diagnostic et le suivi de l'ABPA.

Mots-clés : allergènes moléculaires, *Aspergillus fumigatus*, aspergillose bronchopulmonaire allergique

Study of the sensitization profile to *Aspergillus fumigatus* in a cohort of adult patients – Contribution to the diagnosis and management of allergic bronchopulmonary aspergillosis

Allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) is an immuno-allergic disease primarily affecting patients with asthma or cystic fibrosis. *Aspergillus fumigatus* is the fungal species most frequently responsible of this disease. ABPA is a complex pathology that must be clearly differentiated from asthma with aspergillus sensitization because the complications and the prognosis are different. The prevalence of ABPA is 1 to 2% in asthmatics and 8 to 10% in cystic fibrosis patients. ABPA patients are known to be sensitized to the m3 source extract of *Aspergillus fumigatus*. Molecular allergology has made it possible to genetically engineer recombinant allergens, five of which are currently marketed: Asp f1, Asp f2, Asp f3, Asp f4 et Asp f6.

The objective of our study was to find out whether these allergens could help in the diagnosis of ABPA and therefore in the management of these patients. We studied a cohort of 125 patients including 18 ABPA, 21 ABPA in remission and 86 non ABPA. We observed that ABPA patients produce IgE against several recombinants or even against all recombinants. The best performing tests require the use of all of these molecular allergens.

In conclusion, our results suggest using all five recombinants for the diagnosis and monitoring of ABPA.

Keywords : molecular allergens, *Aspergillus fumigatus*, allergic bronchopulmonary aspergillosis