



HAL
open science

Le poumon de fermier : aspect épidémiologique et diagnostic immunologique

Marie-Pierre Verdure

► **To cite this version:**

Marie-Pierre Verdure. Le poumon de fermier : aspect épidémiologique et diagnostic immunologique. Sciences pharmaceutiques. 1991. dumas-03660060

HAL Id: dumas-03660060

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03660060>

Submitted on 5 May 2022

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.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

2^e exemplaire

UNIVERSITE Joseph FOURIER GRENOBLE I - Sciences Technologie Médecine

U.F.R. DE PHARMACIE

Domaine de la Merci - La Tronche

ANNEE : 1991

N° D'ORDRE 7028

TITRE DE LA THESE

LE POUMON DE FERMIER - ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE
ET DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE

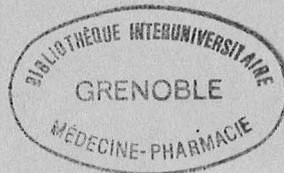
T H E S E

Présentée à l'Université Joseph FOURIER GRENOBLE I
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

Mademoiselle Marie-Pierre VERDURE

[Données à caractère personnel]



Cette thèse sera soutenue publiquement le : 1er JUILLET 1991

Devant M.^{me} le Professeur GRILLOT R., Président du Jury

et

M. le Docteur PERDRIX A. Maître de Conférences

M. le Docteur REPELLIN D. Médecin

M. VIAL G. Pharmacien



115 015597 7

UNIVERSITE Joseph FOURIER GRENOBLE I - Sciences Technologie Médecine

U.F.R. DE PHARMACIE

Domaine de la Merci - La Tronche

ANNEE : 1991

N° D'ORDRE :

TITRE DE LA THESE

LE POUMON DE FERMIER - ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE
ET DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE

T H E S E

Présentée à l'Université Joseph FOURIER GRENOBLE I
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

Mademoiselle Marie-Pierre VERDURE

[Données à caractère personnel]



Cette thèse sera soutenue publiquement le : 1er JUILLET 1991

Devant M.^{me} le Professeur GRILLOT R., Président du Jury

et

M. le Docteur PERDRIX A. Maître de Conférences

M. le Docteur REPELLIN D. Médecin

M. VIAL G. Pharmacien

A toutes les personnes qui m'ont aidée et
soutenue au cours de mes études et lors de
la réalisation de ce travail.

Aux membres du Jury que je remercie de s'être
intéressés à cette thèse et de m'avoir accor-
dé de leur temps.

P L A N

	Page
<u>INTRODUCTION</u>	8
<u>1 - GENERALITES</u>	10
1-1- LE POUMON DE FERMIER : UNE B.A.A.E.	
1-1-1- Définition d'une B.A.A.E.	10
1-1-2- Mécanisme pathogénique	12
1-1-2-1- Formation de complexes immuns	12
1-1-2-2- Autres phénomènes	12
1-1-3- Critères communs aux B.A.A.E.	13
1-1-3-1- Critères cliniques	13
1-1-3-2- Critères radiologiques	14
1-1-3-3- Critères fonctionnels respiratoires	15
1-1-3-4- Critères histopathologiques	15
1-1-3-5- Critères immunologiques	16
1-1-3-6- Le lavage bronchoalvéolaire	17
1-1-3-7- Critères évolutifs	19
1-2- DEFINITION DU POUMON FERMIER	19
<u>2 - ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE DU POUMON DE FERMIER</u>	23
2-1- L'EPIDEMIOLOGIE - DEFINITIONS	23
2-2- REALITES D'UNE ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE CONCERNANT LE POUMON DE FERMIER	23
2-2-1- Difficultés liées à la maladie et à son diagnostic	
2-2-2- Difficultés liées à l'enquête épidémiologique	
2-2-3- Conclusion	25
2-3- RESULTATS DE L'ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE	27
2-3-1- Identification des malades	27
2-3-1-1- Le sexe	27
2-3-1-2- L'âge	27
2-3-1-3- Le tabac	28

	Page
2-3-1-4- Les antécédents - l'atopie	29
2-3-1-5- Facteurs génétiques	29
2-3-2- Aspects géographiques et socioéconomiques	31
2-3-2-1- Influence de la météorologie	31
2-3-2-2- Influence de l'altitude	31
2-3-2-3- Influence climatique	32
2-3-2-4- Influence des saisons	32
2-3-2-5- Aspect économique	32
2-3-3- L'exposition	34
2-3-3-1- La substance à l'origine	34
2-3-3-2- Le contact	40
<u>3 - ASPECT IMMUNOLOGIQUE DU DIAGNOSTIC DE POUMON DE FERMIER</u>	42
3-1- LES ANTIGENES UTILISES	42
3-1-1- Les antigènes utilisés à titre systématique	
3-1-1-1- Les antigènes bruts	
3-1-1-2- Les antigènes purs	
3-1-2- Les antigènes à la carte	43
3-1-3- Essai d'une synthèse relative à l'utilisation d'antigènes dans différents pays	44
3-2- LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE : LA RECHERHCE DE PRECIPITINES	48
3-2-1- Généralités	49
3-2-1-1- Caractéristiques d'une réaction d'immunoprécipitation	49
3-2-2- Double diffusion d'Outcherlony (DD) ou immunoprécipitation sur plaque (ID)	50
3-2-2-1- Principe	
3-2-2-2- Intérêts	
3-2-2-3- Inconvénients	
3-2-3- Immunoélectrophorèse (IE) ou technique de Grabar William	51
3-2-3-1- Principe	
3-2-3-2- Intérêts	
3-2-3-3- Inconvénients	

	Page
3-2-4- Interprétation des résultats	52
3-2-4-1- Erreurs par défaut	
3-2-4-2- Erreurs par excès	
3-2-5- Conclusion	53
3-3- AUTRES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC	54
3-3-1- Immunoélectrophorèse bidirectionnelle ou électrophorèse croisée	54
3-3-1-1- Principe	
3-3-1-2- Intérêts et inconvénients	
3-3-2- L'électrosynésèse	55
3-3-2-1- Principe	
3-3-2-2- Interprétation des résultats	
3-3-2-3- Intérêts et inconvénients	
3-3-3- Les techniques sérologiques quantitatives	57
3-3-3-1- Introduction	57
3-3-3-2- E.L.I.S.A.	58
3-3-3-3- I.F.I.	59
3-3-3-4- Conclusion	60
<u>CONCLUSION</u>	64
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	67

INTRODUCTION

Le poumon de fermier fait partie des bronchoalvéolites allergiques extrinsèques (B.A.A.E.), ensemble d'affections respiratoires dues généralement à l'inhalation de poussières végétales ou animales présentes dans le milieu ambiant.

Ces poussières inhalées déclenchent ensuite au niveau pulmonaire des réactions immunologiques caractéristiques pouvant aller jusqu'à la fibrose.

Le diagnostic de cette maladie est essentiel. Il repose sur un ensemble de critères épidémiologiques, cliniques, radiologiques, sérologiques ...

C'est dans le but de constituer une synthèse des données bibliographiques actuelles que ce travail a été réalisé.

Il est constitué de trois parties :

- la première partie rassemble des généralités concernant les B.A.A.E. et le poumon de fermier en particulier,
- la deuxième partie aborde l'aspect épidémiologique. Elle a pour but de rassembler et d'analyser d'après la littérature les facteurs qui interviennent dans la survenue du poumon de fermier.

Enfin, la troisième partie concerne l'aspect immunologique du diagnostic. elle détaille plus particulièrement l'attitude prise par le laboratoire face à la demande des cliniciens suspectant un poumon de fermier, notamment lors du choix des antigènes utilisés. Cette étude a été réalisée en s'appuyant sur l'expérience et les données du service de parasitologie du CHU de Grenoble qui travaille en étroite collaboration avec le service de médecine du travail.



1 - GENERALITES

1-1- LE POUMON DE FERMIER : UNE B.A.A.E.

1-1-1- Définition d'une B.A.A.E.

B.A.A.E. est l'abréviation de "Broncho alvéolite allergique extrinsèque".

Ce sont des réactions bronchopulmonaires immunologiques secondaires à l'inhalation d'antigènes : composés végétaux ou animaux, présents dans l'environnement. Ces antigènes sont étrangers à l'organisme.

Les B.A.A.E. surviennent chez des individus préalablement sensibilisés. Elles touchent n'importe quel individu placé dans des conditions d'exposition et de réceptivité adéquates. Les circonstances d'exposition au risque sont multiples et vont donner pour chacune d'elle un nom particulier à l'affection; poumon de fermier, maladie des éleveurs d'oiseaux ...

(Cf : tableau I)

TABLEAU 1

PRINCIPALES CAUSES D'ALVEOLITES ALLERGIQUES EXTRINSEQUES

Maladie	Source d'antigène	Précipitines contre
Poumon de fermier	Poussière de foin moisi	M. faeni, M. vulgaris, divers
Maladie de champignonistes	Couche de champignons	M. vulgaris, M. faeni
Bagasse	Poussière de bagasse moisie	M. vulgaris
Byssinose	Fleur, réceptacle du coton	Antigène de coton ds les fleurs
Maladie des fromagers	Poudre de bleu	Penicillium casei
Maladie des éleveurs d'oiseaux	Sérum, déjection, plumes, œufs de pigeon, perruches, tourterelles, canards, poules...	M. vulgaris, sérum, déjection, plumes, blanc d'œuf
Maladie des écorceurs d'érable, maladie des bois exotiques et non exotiques	Poussière d'écorce d'érable, poussière d'iroko, sequoia, cèdre, chêne, acajou...	Coniosporum corticale, alternaria, pullariae, poussière de bois
Poumon des malteurs	Poussière d'orge germé	Aspergillus fumigatus et clavatus
Priseurs de poudre de post-hypophyse	Inhalation d'extraits d'hypophyse de porc ou de bœuf	Antigènes bovins et porcins
Maladie des minotiers	Farine de blé parasitée	Sitophilus granarius...
Fièvre des climatiseurs et des humidificateurs	Contamination de l'air conditionné	Actinomycètes thermophiles
Pneumopathie des détergents	Enzymes protéolytiques contenues dans les détergents	
Aspergillose broncho-pulmonaire allergique	Inhalation d'antigène d'Aspergillus fumigatus, niger, nidilans	
Pneumopathies par poussières de maison	Poussières domestiques	Acaris, dermatophagoïdes
Subérose	Liège	Extraits de liège + Pénicillium fréquentans
Canabiose	Chanvre roui	Chanvre roui + ?
Fourreur, sisal, café...		

D'après PERDRIX.A (18)

1-1-2- Mécanisme pathogénique des B.A.A.E.

Plusieurs phénomènes immunologiques sont concernés, mais rappelons la nécessité d'une exposition à un antigène, d'une sensibilisation préalable à cet antigène et la notion de dose antigénique efficace.

1-1-2-1- Formation de complexes immuns

C'est le phénomène qui semble le plus retenu.

Ce mécanisme fait intervenir la réaction III de la classification de Gell et Coombs, appelée réaction d'HYPERSENSIBILITE SEMI RETARDEE de type ARTHUS.

Lors de cette réaction, il y a formation d'anticorps de type IgG et IgM, capables de former un complexe immunitaire avec l'antigène correspondant.

Ces anticorps sont dits précipitants car ils se déposent au niveau des tissus pulmonaires où ils vont fixer et activer le complément (voie classique).

La formation de complexes immuns serait à l'origine des lésions de vascularites inflammatoires et nécrotiques.

1-1-2-2- Autres phénomènes envisagés

Ils précèdent, accompagnent ou suivent la formation de complexes immuns :

-HYPERSENSIBILITE RETARDEE de type IV

Elle met en jeu l'immunité cellulaire : captation de l'antigène par les macrophages, activation du macrophage induction d'une lymphoblastose avec production de lymphocytes sensibilisés.

Au contact de l'antigène, les lymphocytes T sensibilisés sont à l'origine soit d'une toxicité directe, soit d'une sécrétion de lymphokines responsables d'une inflammation. Dans les deux cas, il y a élimination de l'antigène.

-Réaction de type I

Elle a été envisagée, mais cette hypothèse est actuellement abandonnée.

Il s'agit d'une réaction immédiate qui fait intervenir des anticorps de type IgE. Ces IgE ont le pouvoir de se fixer sur certaines cellules. Au contact de l'antigène correspondant,

l'IgE provoque la lyse de la cellule porteuse et la libération de médiateurs chimiques.

Ce mécanisme avait été évoqué comme étant à l'origine de l'augmentation de la perméabilité capillaire.

Salvaggio (22), au cours d'études concernant la pathogénèse des B.A.A.E., observe une élévation du taux d'IgG, IgA, IgM dans le sérum et le lavage bronchoalvéolaire. Rien de semblable n'est observé en ce qui concerne le taux d'IgE.

-Activation de la voie alterne du complément

Dans ce cas, l'activation du complément ne nécessite pas la présence de complexe immun.

Selon Salvaggio (22), cette activation pourrait être à l'origine de réactions précoces, non spécifiques, au niveau pulmonaire.

-La réaction à corps étrangers

Les particules végétales inhalées en grand nombre sont à elles seules pathogènes. On en retrouve d'ailleurs dans les lésions sous forme de corps étrangers.

-Nouvelles orientations d'étude

*Rôle du macrophage alvéolaire; cellule effectrice ou cellule uniquement à l'origine du processus antigénique ?

*Rôle des sécrétions issues du macrophage.

*Rôle du déséquilibre observé entre les lympho T suppresseurs (augmentés), et les lympho T helper (diminués).

*Rôle des agents solubles produits par les lymphocytes T.

*Influence de la génétique: elle expliquerait l'inégalité des individus devant l'exposition aux agents extrinsèques.

1-1-3- Critères communs aux B.A.A.E.

1-1-3-1- Critères cliniques

-forme récente aiguë

-10 à 20% des observations

-Elle se présente comme une allergie pseudo-grippale avec malaise, fièvre, toux sèche, polypnée jusqu'à un état asphyxiant, râles fins, crépitants diffus

-C'est une forme paroxystique, semi-retardée

(4 à 10 heures après l'inhalation de l'antigène) qui régresse en 24 à 72 heures si le contact n'est pas renouvelé.

- forme récente subaigüe

- elle concerne 60 à 80% des observations

- elle se manifeste de façon moins paroxystique, avec des signes identiques à la forme aigüe, sur un fond de dyspnée d'effort et d'amaigrissement.

- forme ancienne chronique

- 10 à 15% des cas

- les manifestations sont d'évolution insidieuse, progressive, d'emblée sur ce mode ou après de nombreux épisodes aigus ou subaigus.

- Elle est caractérisée par une dyspnée d'effort croissante, puis dyspnée de repos, toux sèche, amaigrissement important, asthénie, crépitant et enfin cyanose avec hypocratisme digital.

- L'évolution peut aller jusqu'à une décompensation cardiaque droite avec asphyxie qu'il sera difficile à faire régresser.

1-1-3-2- Critères radiologiques

- Dans les formes récentes

- une radiographie normale n'élimine pas le diagnostic.

On observe sur les clichés :

- une miliaire typique diffuse à grains fins et moyens, bien dispersés dans tous les territoires. Parfois les grains sont espacés ou confluent,

- des infiltrations pulmonaires en plage ou en macronodule.

Une régression en 15 jours à 1 mois après éviction de l'antigène est possible.

- Dans les formes chroniques

- Elles associent des éléments d'allure et d'âge divers : avec la réticulation de fond, quelques micronodules, des traversées denses, voire des images microkystiques du poumon en "rayon de miel", des fibroses intersticielles diffuses indélébiles.

1-1-3-3- Critères fonctionnels respiratoires

Ils correspondent aux critères des pneumopathies intersticielles et traduisent la raréfaction de la zone d'échange.

TABLEAU II

CRITERES RESPIRATOIRES FONCTIONNELS

SPIROGRAPHIE	.CV = capacité vitale .VEMS = volume expiré maximal en 1 seconde .Rapport de Tiffeneau = VEMS/C''	chute chute Normal ou >N (N = 75%)
GAZ DU SANG	.Hypoxémie normo ou hypocapnique .Alcose respiratoire compensée .Hypoxémie aggravée par l'effort, corrigée par O ₂	
TCLO = TEST DU TRANS- FERT DU CO	Chute \pm (zone d'échange)	

1-1-3-4- Critères histopathologiques

-En microscopie optique :

-au début, des lésions d'alvéolites diffuses avec réaction intersticielle et comblement alvéolaire sont observées,

-puis, elles sont remplacées par un granulome pulmonaire pseudo-tuberculoïde sans nécrose caséuse ou acidophile, avec sa couronne de lymphocytes et de fibroblastes.

-Au fur et à mesure de l'évolution, une tendance marquée à la fibrose collagène prédomine.

-Dans les formes chroniques, on retrouve sur fond de fibrose, des altérations d'âge plus récent.

-En microscopie électronique :

-on visualise des cellules géantes avec des inclusions et de nombreux plasmocytes chargés de grains de sécrétion.

-En immunofluorescence

-des dépôts d'antigènes sont révélés dans les parois bronchiolaires et au contact des vaisseaux. Dans les granulomes, on remarque la présence d'IgG, IgA, IgM et de complément (C3)

1-1-3-5- Critères immunologiques

Ils tentent de prouver un conflit antigène-anticorps

-La sérologie est utilisée dans le but de rechercher des anticorps précipitants par différentes méthodes, les principes de ces techniques seront développés dans la troisième partie de ce travail. Nous nous contenterons de les citer pour l'instant

-la précipitation en milieu gélifié : double diffusion d'Ouchterlony et immunoelectrophorèse

-l'électrophorèse bidimensionnelle

-l'électroimmunodiffusion ou électrosynérèse

-les extensions de l'électrosynérèse

↳ ELIEDA, Enzym linked immunodiffusion assay

Les immuns complexes sont révélés par une méthode enzymatique de type ELISA

↳ ELIEDEPA; ELIEDA bidirectionnelle

Les tests cellulaires

• Ils sont complexes, longs et onéreux. Ils ne sont utilisés qu'en seconde intention.

-Test d'inhibition de migration leucocytaire TIHL

Il a un intérêt dans les cas douteux et peut être utilisé à titre rétrospectif.

-Test de transformation lymphoblastique

• La positivité de ces tests cellulaires permet uniquement de conclure à une sensibilisation à l'antigène.

Les tests d'inhalation

Ils consistent à reproduire des gestes professionnels ou à réaliser des aérosols de la substance jugée responsable.

- Ce sont des techniques délicates, réservées aux séronégatifs, ou en cas de discussion médico-légale.

- Autres techniques

- chute du complément ou de sa fraction C₃ en période aiguë.
- recherche de complexes immuns circulants
- majoration des gamma globulines : par le fait des IgG spécifiques. Parfois élévation des IgA et IgM
- le titre de l'enzyme de conversion de l'angiotensine n'est pas augmenté contrairement à la sarcoidose, même en phase aiguë ou après inhalation d'une espèce antigénique.

1-1-3-6- Le lavage bronchoalvéolaire - B.A.L.

C'est un examen facile qui ne nécessite pas d'hospitalisation.

Les principales modifications observées au niveau du lavage bronchoalvéolaire, sont résumées dans le tableau III qui suit.

TABLEAU III

PRINCIPALES MODIFICATIONS DU B.A.L.

C Y T O L O G I E		
	Témoïn	A.A.E. active
Nombre de cellule/ml	base 1	x 3 ou 4
Macrophage alvéolaire	80-90%	↘ (+ inclusions lipidiques)
Polynucléaires + eosino	1%	↑ 48 ^h puis ↘
Lymphocytes	10-15%	↑ 4 ^o -8 ^o h ↘ 48h ↑ 3-4j 25% → 60 → 70%
		T helper ? T supresseur ?
B I O C H I M I E		
Phosph chol (PC ou lécithine)	Majorité	↘ ↘
Phosph Inositol	Faible Q	↑
Phosph éthanol	—	↑
Transferrine	N	↑
Ig	N	↑ IgA, ↑ IgG, ↑ IgM
Microviscosité	N	↑

d'après PERDRIX A. (18)

REMARQUES :

la lymphocytose est paradoxalement moins élevée que celle attendue si le caractère bronchique des manifestations est dominant en cas de tabagisme, de corticothérapie ou de passage à la chronicité.

1-1-3-7- Critères évolutifs

La régression des symptômes est rapide et complète après l'éviction de l'allergène. La réapparition des troubles lors d'un nouveau contact est systématique.

Dans le cas d'une éviction totale, tout redevient normal pour les formes aiguës en 48 à 72h. Pour les formes subaiguës, il faudra de deux semaines à plusieurs mois. Pour les formes chroniques, la fibrose demeure, seuls les éléments œdémateux et inflammatoires aidés par un traitement aux corticostéroïdes, régressent.

Pour toute B.A.A.E., la clef du diagnostic, de l'évolution, de la prophylaxie, reste l'éviction du risque.

1-2- DEFINITION DU POU MON DE FERMIER

C'est une affection dyspnéisante observée en milieu agricole et reconnue en France depuis 1973 comme une maladie professionnelle invalidante consécutive à l'agression d'antigènes qui sont présents dans le foin ou autres végétaux.

Le régime agricole des maladies professionnelles est différent de celui des maladies professionnelles (régime général). Il est régi par le livre VII du code rural.

En 1973, le poumon de fermier constitue le 17ème tableau de maladie professionnelle en milieu agricole (tableau IV).

Il a depuis 1979, été complété et étendu dans un tableau n° 45 (tableau V).

Les antigènes sont représentés par divers microorganismes dont les plus fréquemment en cause dans le poumon de fermier sont les suivants :

-des moisissures : Aspergillus fumigatus
Aspergillus flavus
Aspergillus nidulans

-et surtout des bactéries filamenteuses, appelées actinomycètes thermophiles : Micropolyspora faeni

Thermoactinomyces vulgaris

La présence de ces antigènes dans le foin et autres

végétaux, est la conséquence du phénomène de moisissement qui sera abordé plus tard, dans l'étude épidémiologique.

TABLEAU IV

MALADIE PROVOQUEE PAR L'INHALATION DE POUSSIÈRES DE FOIN MOISI
OU DE PRODUITS VÉGÉTAUX MOISIS

(tableau n° 17)

<i>Caractérisation de la maladie</i>	<i>Délai de prise en charge</i>	<i>Travaux susceptibles de provoquer la maladie</i>
Pneumopathies professionnelles aiguës ou subaiguës lorsqu'il y a syndrome respiratoire (dyspnée, toux, expectoration) ou signes généraux (fièvre, amaigrissement) et des anticorps précipitants dans le sérum contre les moisissures responsables (au moins un arc de précipitation à l'immunoélectrophorèse)	30 jours	Tous travaux agricoles entraînant l'exposition aux poussières de foin moisi ou de particules végétales moisies.
Pneumopathies chroniques: fibrose interstitielle pulmonaire confirmée par l'exploration fonctionnelle respiratoire et les signes radiologiques (miliaire ou réticulo-micro-nodulation) en sus des symptômes respiratoires généraux et immunologiques	3 ans	
Complications cardiaques: hyposystolie ou asystolie par insuffisance ventriculaire droite	10 ans	

TABEAU V

**AFFECTIONS RESPIRATOIRES PROFESSIONNELLES
DE MECANISME ALLERGIQUE**

(tableau n° 45)

<i>Caractérisation de la maladie</i>	<i>Délai de prise en charge</i>	<i>Liste indicative des principaux travaux susceptibles de provoquer la maladie</i>
<p><i>Syndrome dyspnéique paroxystique</i></p> <p>Confirmé par tests ou par épreuves fonctionnelles récidivant après nouvelle exposition à l'agent pathogène</p>	7 jours	Manipulation ou emploi habituels, dans l'exercice de la profession, de tous produits.
<p><i>Pneumopathies à précipitines</i></p> <p>Syndrome respiratoire fébrile avec dyspnée, toux, expectoration récidivant après nouvelle exposition au risque, dont l'étiologie professionnelle est confirmée par la présence dans le sérum d'anticorps précipitants permettant d'identifier l'agent pathogène correspondant au produit responsable</p>	30 jours	Travaux exposant à l'inhalation de poussières provenant notamment : de l'affinage des fromages. de la culture des champignons de couche, du broyage ou du stockage des blé, orge, seigle, de l'ensachage de la farine et de graines de céréales alimentaires : son utilisation industrielle ou artisanale, de l'élevage de petits animaux de laboratoire, de la préparation des fourrures.
<p><i>Pneumopathies chroniques</i></p> <p>Fibrose pulmonaire avec signes radiographiques et troubles respiratoires confirmés par l'exploration fonctionnelle lorsqu'il y a des signes immunologiques significatifs</p>	1 an	
<p>Complications cardiaques des pneumopathies chroniques : hyposystolie ou asystolie par insuffisance ventriculaire droite</p>	10 ans	

d'après MONNET PASCALE (15)

2 - ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE DU POUMON DE FERMIER

2-1- L'EPIDEMIOLOGIE - DEFINITIONS

Selon l'O.M.S. (Organisation Mondiale de la Santé), l'épidémiologie est l'étude de la fréquence, de la distribution, de l'invalidité des maladies dans les populations humaines. C'est aussi l'étude des facteurs qui influencent la distribution de ces maladies.

L'épidémiologie a trois axes d'études :

- la description, qui mesure l'ampleur d'une maladie,
- l'étiologie, qui cherche à comprendre et qui permet de dégager les facteurs intervenant dans la survenue,
- l'évaluation qui a pour but final d'élaborer des moyens de prévention.

Dans une étude épidémiologique, plusieurs paramètres sont utilisés. Parmi eux, l'incidence et la prévalence, donnent une image de la morbidité de la maladie étudiée.

- Définition de l'incidence : c'est le nombre de sujets qui développent la maladie parmi une population sur une période donnée et qui n'étaient pas malades au début de l'étude.

- La prévalence correspond au nombre de sujets qui souffrent de la maladie étudiée parmi une population, à un moment donné. Elle est usuellement exprimée en pourcentage (la population totale étudiée sert de référence).

2-2- REALITES D'UNE ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE CONCERNANT LE POUMON DE FERMIER

Il apparaît qu'une enquête épidémiologique réelle soit difficile à mettre en oeuvre.

2-2-1- Difficultés liées à la maladie et à son diagnostic

C'est une maladie dont le diagnostic est difficile et qui n'est pas toujours évoqué. Une enquête réalisée dans huit pays de la CEE, nous le prouve (7). Ce travail est basé sur l'étude de certificats de décès de patients atteints de problèmes respiratoires. On observe de nombreuses différences de diagnostic. Selon l'âge des médecins, leur lieu d'activité (ville, campagne), leur nationalité, le poumon de fermier n'est pas systématiquement envisagé.

C'est une maladie qui nécessite un diagnostic différentiel,

pas toujours aisé, avec d'autres maladies respiratoires. La population agricole est soumise à de nombreux polluants atmosphériques; poussières organiques, inorganiques, fertilisants, pesticides, vapeurs de gasoil ...

Les cas de bronchite chronique et d'asthme seront à différencier de ceux du poumon de fermier.

Pour les raisons évoquées ci-dessus, le diagnostic du poumon de fermier nécessite de s'appuyer sur divers critères. Ces critères s'ils sont observés, permettront d'évoquer ou d'affirmer la présence de la maladie.

Le choix de ces critères qui orientent le diagnostic est très important car il va conditionner les résultats des études épidémiologiques. Or ces critères ne sont pas standardisés, ce qui rend les études épidémiologiques réalisées dans différents pays, difficilement comparables.

Cette dernière remarque a été faite par l'équipe de CHU de Besançon (5). Tableau VI.

- Les chiffres de prévalence du poumon de fermier obtenus dans différents pays passent du simple au double :

Ecosse 1977 p = 5.5/1000

France 1985 p = 43.7/1000

- Plus aberrantes sont encore les différences de résultats obtenus à quelques années d'intervalle, dans une même région :

Irlande Shelley 1979 p = 8.75/1000

O'Brien 1982 p = 170/1000

- Si l'on considère les méthodes utilisées dans ces différentes études, on s'aperçoit que leurs auteurs n'ont pas utilisé les mêmes critères de diagnostic. Ainsi pour des chiffres de prévalence élevés, seuls les critères radiologiques ont été utilisés. Le fait de rajouter aux critères cliniques des critères sérologiques, fait baisser considérablement le chiffre de prévalence.

2-2-2- Difficultés liées à l'enquête épidémiologique elle-même

- La méthode d'étude idéale serait le suivi d'une population sur de nombreuses années, avec régulièrement, un interrogatoire, un bilan clinique et sanguin.

Ce qui paraît difficile à réaliser aussi bien en temps, qu'en moyens.

- Une étude rétrospective paraît être une entreprise péril-

TABLEAU VI

PREVALENCES DU POUMON DE FERMIER
OBTENUES DANS DIFFERENTES ETUDES

AUTEURS		PAYS	PREVALENCE (/1000)
BOYD	1971	Ecosse	5,5
GRANT	1972	Ecosse	
		Orkney	88
		Ayrshire	88
		East Pothian	27
MADSEN	1976	USA	39
GUM	1979	USA (Vermont)	42,6
SHELLEY	1979	IRLANDE	8,75
GRUCHOW	1981	USA (Wisconsin)	4,2
O'BRIEN	1982	Irlande	170
MARCER	1984	Italie	26,6
SAIA	1984	Italie	14
	1985	France -Doubs	43,7

d'après DEPIERRE, DALPHIN, PERNET

DUBIEZ, FAUCOMPRES, BRETON (5)

leuse. Elle consiste à rechercher, à partir de résultats d'examens ou de dossiers d'hospitalisation, les individus malades ou suspects, afin de les soumettre à un interrogatoire concernant leur histoire. Pour arriver à des résultats cohérents, il est nécessaire de retrouver la quasi totalité des individus recensés, ce qui apparaît déjà comme très difficilement réalisable.

Dans tous les types d'études, la mémoire humaine doit intervenir et malheureusement, elle n'est pas infaillible. Il n'est pas toujours aisé de retrouver dans sa mémoire, des informations concernant des notions de temps, par exemple : date d'apparition de symptômes, durée de contact, chronologie des manifestations, évolution de la maladie ...

De plus, ce type d'enquête épidémiologique risque de heurter des susceptibilités et par conséquent, d'être faussé. La population agricole est une population fière, riche d'un patrimoine acquis au cours des générations : un interrogatoire sur son mode de vie, ses habitudes de travail, la qualité de son foin ... peut être très mal perçu.

2-2-3- Conclusion

Une étude épidémiologique réelle sur le poumon de fermier semble être très difficile à mettre en oeuvre.

L'étude qui va suivre, aura donc pour but de rassembler et d'analyser, d'après la littérature, les facteurs qui interviennent dans la survenue de cette affection.

2-3- RESULTATS DE L'ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE

2-3-1- Identification des malades

Le poumon de fermier touche essentiellement la population agricole.

2-3-1-1- Le sexe

Selon les pays, on observe une répartition variable de la maladie entre les deux sexes.

En Amérique du Nord, en Europe (France)(2)(5), la prévalence de la maladie est plus importante chez les hommes que chez les femmes.

Dans certaines régions de Finlande (Nord-Sud Ouest)(6), on observe le contraire.

En Asie, Japon, Chine, (9)(23), il n'y a pas de différence entre hommes et femmes.

•Hypothèse d'explication:

C'est une hypothèse liée à la notion d'exposition.

En Amérique du Nord, comme en Europe Occidentale, les femmes sont moins exposées que les hommes. Elles prennent moins part aux travaux de la ferme.

Dans le nord et le sud-ouest de la Finlande, les hommes, par tradition, se réservent les travaux extérieurs; les femmes se chargent des tâches intérieures à la ferme, notamment les soins aux animaux.

En Asie : la répartition du travail est la même, quel que soit le sexe.

2-3-1-2- L'âge

Quelle que soit l'étude et le pays, les cas de poumon de fermier, sont rencontrés majoritairement à partir de 50 ans (50-55 ans). Les cas diagnostiqués avant l'âge de 30 ans, sont rares.

Ces observations suggèrent l'importance de la notion de durée d'exposition à l'antigène.

Il a été observé des manifestations aiguës ou chroniques de poumon de fermier chez des enfants (3,4,16,25). Ces cas ont été contrôlés cliniquement, radiologiquement, sérologiquement.

Ont été mis en cause dans la survenue de poumon de fermier chez des jeunes individus :

-la participation à des tâches brèves mais régulières à la ferme,

-le fait de porter les mêmes vêtements à la ferme et dans le lieu d'habitation. Ce contact indirect avec la substance antigénique pourrait être suffisant à lui seul pour provoquer la maladie. Une étude réalisée aux U.S.A. (Etat du Minnesota) (16) conclue que ce type de pathologie serait fréquent, mais sous-évalué. Les affections respiratoires touchant les enfants et les jeunes individus, seraient assimilées à des affections bactériennes et virales. C'est souvent après plusieurs épisodes saisonniers de fièvre et de toux, que le diagnostic serait envisagé.

2-3-1-3- Le tabac

Plusieurs remarques ont été faites, et diverses hypothèses ont été émises.

-Les remarques :

Quel que soit le pays, il a été remarqué :

•une tendance à trouver plus de malades atteints de poumon de fermier chez les non fumeurs,

•et surtout, une prévalence, en anticorps vis à vis des antigènes responsables de poumon de fermier, plus importante chez les non fumeurs. Ce qui sous entend, une réaction immunologique plus importante chez ces individus.

Les résultats d'une étude japonaise (9) concernant la prévalence en anticorps vis à vis des antigènes du poumon de fermier (Micropolyspora faeni), illustrent ce phénomène.

Lorsque l'on étudie la population dans son ensemble, on observe que les anticorps sont plus nombreux chez les femmes que chez les hommes. Or, dans la population japonaise féminine, on compte peu de fumeuses.

Si l'on s'intéresse uniquement à la population "non fumeur" (hommes et femmes confondus), on n'observe plus aucune différence de résultat.

Cette étude nous apprend aussi que la prévalence en anticorps est inversement proportionnelle au nombre de cigarettes fumées par année.

- Les hypothèses émises :

- un effet protecteur de la cigarette vis à vis du poumon de fermier,
- une tendance des sujets atteints d'affections respiratoires liées au tabagisme, à éviter toute exposition aux poussières végétales,
- une tendance des sujets, sensibles aux poussières végétales, à ne pas fumer,
- le fait d'avoir fumé et d'être tombé malade, fait exclure cet individu de l'étude.

• L'hypothèse la plus retenue et qui expliquerait la forte prévalence en anticorps chez les non fumeurs par rapport aux fumeurs, est que le tabac affecterait les macrophages alvéolaires et les cellules de la fonction immunitaire, ce qui entraînerait par la suite une modification dans la réponse humorale. On observerait donc chez les fumeurs, une plus faible réaction immunologique de défense face aux antigènes.

2-3-1-4- Les antécédents - L'Atopie

- Les antécédents

Aucun antécédent personnel ou familial n'a été retenu.

- L'Atopie

Elle a été étudiée par une équipe finlandaise (6) chez des "poumon de fermier".

Définition de l'Atopie : c'est un état de sensibilité clinique sujet à des influences héréditaires.

Dans l'étude finlandaise, un sujet était considéré comme atopique s'il souffrait ou avait souffert d'eczéma infantile, de dermatite infantile, de rhume des foins, de rhinite allergique.

On n'a pas pu montrer une influence de l'Atopie sur la survenue de poumon de fermier.

Bien que la survenue de poumon de fermier semble être légèrement plus importante chez le sujet atopique, la différence est trop faible pour conclure. De plus, des études antérieures sont arrivées à des conclusions contraires.

2-3-1-5 La génétique

L'influence de la génétique sur le développement d'une B.A.A.E. a été envisagée à plusieurs reprises :

-Etudes de la distribution des groupes sanguins et des antigènes du système HLA chez des malades et chez des patients en bonne santé (8). Aucun résultat n'a été confirmé.

-Etude de la réponse IgG, vis à vis d'antigènes présumés responsables de poumon de fermier, chez les individus d'une même famille et chez des étrangers à cette famille. Finlande (24).

Conduite de l'étude

On a étudié la réponse anticorps de type IgG :

- chez des malades confirmés (poumon de fermier)
- chez les parents de ces malades
- chez les conjoints de ces malades
- chez les parents des conjoints.

Les antigènes utilisés pour cette étude étaient :

- Aspergillus fumigatus
- Aspergillus umbrosus
- Thermoactinomyces vulgaris
- Micropolyspora faeni

Résultats de l'étude

On observe une réponse anticorps vis à vis de T. vulgaris plus importante chez les "poumon de fermier". Ces individus diffèrent des autres par le fait d'avoir été plus fréquemment et plus récemment exposés à l'antigène. Cette remarque ne nous permet pas de conclure ... A. fumigatus n'est pas, contrairement à T. vulgaris, responsable de poumon de fermier. C'est une moisissure très commune de l'environnement agricole finlandais. Tous les individus de cette étude sont, par conséquent, exposés à cet antigène. Si l'on regarde la réponse anticorps vis à vis de cet Aspergillus, on remarque qu'elle est significativement plus importante chez les malades et chez leurs parents. Cette différence de réponse anticorps chez des personnes soumises à la même exposition, ne peut être liée à une différence d'âge, de sexe, de tabac ...

On peut alors extrapoler et conclure à l'intervention de facteurs génétiques dans la survenue de la réponse anticorps vis à vis des antigènes du "poumon de fermier".

-Etude de la pathogénèse des B.A.A.E. par Salvaggio sur des modèles animaux (22).

Salvaggio conclut qu'une B.A.A.E. est le résultat d'une série complexe de réactions immunologiques :

- sensibilisation initiale
- développement d'un infiltrat pulmonaire et d'un granulome en partie T dépendant
- évolution inflammatoire du granulome modulée par des déterminants génétiques.

Il évoque notamment l'intervention de la chaîne lourde des IgG (IgH) dans l'intensité de la formation du granulome inflammatoire chez les souris. Ainsi, la capacité à développer un granulome de grande intensité et l'apparition consécutive d'une anergie, seraient sous contrôle génétique, et liées à la chaîne lourde des Ig.

2-3-2- Aspects géographiques et socioéconomiques

Le "poumon de fermier" paraît se rencontrer sur tous les continents : Amérique, Europe, Asie. Cependant, des facteurs géographiques et socioéconomiques influencent l'apparition ou la répartition de cette affection.

2-3-2-1- Influence de la météorologie

On remarque une corrélation positive entre chutes de pluie au cours de la saison des foins ou des moissons et la survenue de cas de "poumon de fermier", le printemps suivant.

De même, une corrélation négative est observée les années correspondant à des été secs.

2-3-2-2- Influence de l'altitude

L'altitude intervient sur la température : plus on monte, plus il fait froid. Or, le froid empêche le développement des actinomycètes dans les granges et autres lieux de stockage.

Les régions de moyennes montagnes constituent des régions à risques. Elles sont caractérisées par des chutes de pluie assez fréquentes, une altitude pas trop élevée.

En France, ce sont souvent des régions de production laitière (5), or nous verrons plus tard, que ce type d'activité agricole est à lui seul un facteur favorisant.

2-3-2-3- Influence climatique

Le climat intervient au niveau de la température et de la météorologie.

Un climat particulier pourra être bénéfique au développement de tel ou tel agent pathogène. Ce qui pourrait expliquer les variations des espèces observées dans chaque pays.

En Grande-Bretagne, Micropolyspora faeni est considéré comme le responsable principal de "poumon de fermier". En Finlande, c'est Thermoactinomyces vulgaris qui est mis en cause.

Ceci s'expliquerait par une différence climatique entre les deux pays. En Grande Bretagne, le climat est beaucoup plus pluvieux, il est particulièrement favorable à la croissance de M. faeni (6).

2-3-2-4- Influence des saisons

On observe des variations saisonnières en ce qui concerne l'apparition de cas de "poumon de fermier", notamment au cours de la période hivernale. C'est au cours de cette époque de l'année que le bétail est à l'intérieur et qu'il est alimenté par le foin engrangé.

L'incidence de "poumon de fermier" est augmentée en avril, puis diminuée en octobre. En avril, on utilise le foin stocké la saison précédente. Ce foin, s'il était humide, a eu tout le temps de subir les transformations d'une microflore mésophile normale en microbes thermotolérants et thermophiles pathogènes (5).

2-3-2-5 Aspect économique

-Le type d'exploitation

Le poumon de fermier semble beaucoup plus fréquent dans les fermes consacrées à l'élevage du bétail et à la production laitière. En revanche, il paraît beaucoup plus rare dans les fermes consacrées uniquement à la culture céréalière.

-La taille de l'exploitation

La taille de l'exploitation peut être le reflet du type d'exploitation. Pour la France par exemple, les fermes de moyenne montagne, constituent un risque important. Souvent de petite taille, elles pratiquent une agriculture diversifiée où la production laitière est la principale ressource.

En ce qui concerne l'intervention de la superficie de l'exploitation sur la survenue de la maladie, les résultats, selon les

pays, se contredisent.

En Finlande (6), la prévalence du "poumon de fermier" est moins importante dans les fermes de grande superficie.

Au Japon (9), une prévalence élevée en anticorps vis à vis d'antigènes tels que Micropolyspara faeni et Thermoactinomyces vulgaris, est associée à la notion de grande superficie d'exploitation.

Deux hypothèses d'explication sont émises :

Pour les Finlandais, grande superficie est synonyme de ferme de bon statut économique. Les tâches y sont partagées entre les différents individus. L'exposition individuelle à l'agent antigénique est donc diminuée.

Pour les Japonais, une superficie importante serait à l'origine d'une extension de la manipulation du foin, et donc d'une augmentation de la probabilité d'exposition au "poumon de fermier".

Remarque :

aucune relation entre survenue de "poumon de fermier" et importance du troupeau n'a été mise en évidence, bien que souvent cette donnée reflète la taille de l'exploitation (9).

-Niveau de modernisation

Les conditions très artisanales des travaux agricoles constituaient jadis un ensemble de facteurs favorisant l'éclosion de la maladie. Le foin par exemple, était fané à la main et engrangé dans des locaux souvent peu spacieux et mal aérés. L'alimentation du troupeau nécessitait de longues manipulations à la fourche, pour séparer les brins d'herbe et en faciliter la consommation par l'animal.

On pourrait penser, aujourd'hui, à une réduction de la fréquence du "poumon de fermier", du fait de la mécanisation des travaux et d'une plus grande salubrité des locaux de travail. Mais les risques ne sont pas totalement écartés.

- La vétusté des installations.

Il reste encore de vieilles installations où les locaux sont petits et mal aérés, et qui favorisent le confinement.

- La mécanisation de certaines tâches.

→ Récolte du foin :

hier, la fenaison demandait plusieurs semaines et le foin trempé par un orage, avait le temps de sécher sur place. Aujourd'hui,

grâce à la mécanisation, la fenaison se fait en quelques jours. Souvent la presque totalité du foin est rentré humide. Du fait de son conditionnement (mise en bottes), ce foin aggloméré ne séchera jamais plus.

→ Manipulation mécanisée des végétaux

Observée en Finlande (6), elle peut être à l'origine d'une augmentation de la dispersion des spores dans l'environnement et donc du risque d'exposition.

2-3-3- L'exposition

2-3-3-1 La substance à l'origine

-Le support

Il s'agit de foin ou autre production végétale comme l'orge, l'avoine, le maïs, les aliments composés, ayant subi un phénomène de moisissement.

A souligner que les céréales sont à l'origine d'autres affections respiratoires dans la population agricole comme la bronchite chronique et l'asthme.

• Les facteurs favorisant le phénomène de moisissement :

→ L'humidité :

La quantité d'eau contenue dans le foin ou le grain au début du stockage, affecte le niveau de moisissement.

Cette humidité est liée aux chutes de pluie au cours des travaux de récolte. Elle est corrélée négativement avec les jours de beau temps, au cours de cette même période.

→ La température

Elle va s'élever au cours du stockage.

Cette thermogénèse est fonction de la teneur en eau (>28%) et est favorisée par une plus grande disponibilité en matière azotée (luzerne).

→ Certaines pratiques agricoles

La mise en bottes, vue précédemment, favorise la rétention de l'humidité et le développement de moisissures du fait de l'agglomération qu'elle crée.

→ Autres facteurs

La notion de rentabilité, oblige à travailler de plus en plus rapidement : le foin ou les céréales sont souvent rentrés trop

tôt.

- *Conséquences du moisissement*

Lorsque la température augmente au cours du stockage, la microflore mésophile normale est remplacée par des germes thermotolérants et thermophiles.

Les résultats d'une étude réalisée par Le Barsj à Toulouse (12), résumés dans le tableau VII qui suit, nous montre l'influence de l'humidité et de la température sur la nature de la microflore de différents fourrages.

TABLEAU VII

MICROFLORE DE DIFFERENTS FOURRAGES

<p>FOURRAGE A : luzerne</p> <p>Humidité : 25.5%</p> <p>T° : 28°</p>	<p>→ <u>Microflore habituelle des foins à la limite d'une bonne conservation</u></p> <p>-de peu thermotolérante xerophile</p> <p><u>Aspergillus glaucus</u></p> <p>-à mésophile</p> <p><u>Thermoactinomyces vulgaris</u></p>
<p>FOURRAGE B : fléole</p> <p>Humidité : 29.7%</p> <p>T° : 49°</p>	<p>→ <u>Espèces xérophiles thermotolérante</u></p> <p><u>Aspergillus amstelodami</u></p> <p><u>Aspergillus versicolor</u></p> <p>→ <u>Espèce thermopréférante ayant un caractère d'hydrophilie et de tolérance au confinement plus marqué</u></p> <p><u>Aspergillus corymbifera</u> 310⁶ p/g (p : propagule)</p> <p><u>Aspergillus fumigatus</u></p> <p><u>Aspergillus nidulans</u> 2,510⁶ p/g</p> <p><u>Mucor mucida</u></p> <p><u>Rhizopus nigricans</u></p> <p>→ <u>Espèce thermophile</u></p> <p><u>Talaromyces dupontii</u></p> <p><u>Thermoascus aurantiacus</u></p> <p><u>Humicola stellata</u></p> <p>→ <u>Actinomycètes thermophiles</u></p> <p><u>Micropolyspora faeni</u></p> <p><u>Thermoactinomyces vulgaris</u></p>
<p>FOURRAGE C : luzerne</p> <p>Humidité : 37.5%</p> <p>T° : 38°</p>	<p>→ <u>Microflore prédominante :</u></p> <p><u>Thermopréférante</u></p> <p><u>Paecilomyces varioti</u></p> <p>→ <u>Abondance d'actinomycètes thermophiles</u></p> <p><u>T.Vulgaris</u> 210⁸ p/g</p> <p><u>M.Faeni</u> 10⁷ p/g</p>

d'après Le Bars J. (12)

- Les moyens d'intervention sur le phénomène de moisissement.

→ L'ensilage du foin ou d'autres végétaux, serait une bonne méthode de prévention (6). c'est une technique de conservation des produits agricoles qui consiste une fois coupés, à les placer en silos. Mis en tas, ils subissent alors une fermentation alcoolique au cours de laquelle il y a formation d'acide lactique, qui joue le rôle de conservateur.

→ Un traitement chimique des céréales par l'acide propionique s'est montré efficace (6). Par contre, il semble que pour le foin ce ne soit pas possible.

→ Le séchage artificiel avant ou pendant le stockage, peut être envisagé. Il y a alors intervention du type de séchoir:

- pour le fourrage, une étude épidémiologique de l'aérocontamination en microflore et actinomycètes, réalisée dans plusieurs fermes du Doubs, soulève ce problème (20).

Les auteurs de cette étude répartissent les fermes en trois catégories.

Le premier type de ferme est caractérisé par un conditionnement traditionnel du foin : le séchage se fait aux champs, puis le fourrage est engrangé en vrac, ou sous forme de balles rondes (400kg) ou de balles rectangulaires (15kg).

Le type II utilise le séchage en grange sans réchauffage : le foin est collecté aux champs, alors qu'il n'est pas totalement sec. On utilise une ventilation à température ambiante pour terminer le séchage.

Enfin la ferme de type III, est équipée d'un système de séchage en grange avec réchauffage. Le foin engrangé rapidement, le plus souvent en vrac, subit une ventilation réchauffée (solaire ou mécanique).

En comparant l'atmosphère de ces trois catégories de fermes, on observe une baisse sensible de la concentration en actinomycètes pour celles qui utilisent un séchage en grange avec réchauffage (type III).

- pour les céréales (Cf le tableau VIII)

TABLEAU VIII

ETUDE DE L'INCIDENCE DU POUMON DE FERMIER
SELON LE TYPE DE SECHOIR A GRAIN UTILISE
(FINLANDE)

TYPE DE SECHOIR A GRAIN	UTILISATION	INCIDENCE DU POUMON DE FERMIER
Séchoir : plateforme et air chaud	NON	437
	OUI	330
Séchoir : cellule et air chaud	NON	447
	OUI	330
Séchoir à air froid	NON	400
	OUI	717

D'après Eur. J Resp. (6)

L'importance d'un séchoir à air chaud est encore prouvée dans cette étude.

En conclusion, le type de séchoir détermine la croissance des microorganismes et donc la concentration de ces derniers dans l'air ambiant.

- La ou les substances pathogènes

● Nature des espèces

Ce sont des bactéries (les actinomycètes thermophiles) et des champignons (les Aspergillus). Ces microorganismes sont présents dans le foin et les végétaux moisiss.

Il semblerait que ce soit les actinomycètes les plus souvent impliqués dans la maladie.

Parmi les actinomycètes, ce sont Micropolyspora faeni et Thermoactinomyces vulgaris.

Selon les pays, des variations en fréquence sont observées.

TABLEAU IX

EXEMPLES DE REPARTITION

PAYS	ESPECE RESPONSABLE LA PLUS RENCONTREE
Grande Bretagne	<u>M. faeni</u>
Finlande	<u>T. vulgaris</u>
Japon	<u>M. faeni</u> et <u>T. vulgaris</u>
Chine	<u>T. vulgaris</u>
France	<u>M. faeni</u>

Ces variations de répartition pourraient être expliquées par des différences climatiques (6).

● Conditions requises

La taille des particules inhalées doit être inférieure à 5µm. Ce qui correspond à la taille des spores de nombreux champignons et actinomycètes.

TABLEAU X

DIAMETRE AERODYNAMIQUE MOYEN
D'AGENTS RESPONSABLES DE POUMON DE FERMIER

AGENT	DIAMETRE AERODYNAMIQUE MOYEN	OBSERVATIONS
<u>T. vulgaris</u>	1.25 μ m	99.5%)des)particules)ont un
<u>A. fumigatus</u>	2.9 μ m	85.0%)diamètre)< 5 μ m

D'après Toulouse (21)

- Cas particulier des actinomycètes (selon Salvagio (22))

Les actinomycètes font partie du même ordre botannique que Mycobacterium tuberculosis (Actinomycétale).

Expérimentalement, on a pu prouver qu'ils pouvaient :

- provoquer la production d'anticorps de type IV (comme le BK),

- activer la voie alterne du complément, activer les macrophages alvéolaires et induire la transformation des lymphocytes.

2-3-3-2- Le contact

-Introduction

Ce contact concerne uniquement les voies respiratoires. Les spores inhalées pénètrent et sont retenues dans les tissus pulmonaires périphériques.

D'après certains auteurs (17), au cours de la manipulation de foin contaminé, plus de 750 000 spores par minute pourraient être inhalées.

-Les différents types de contact

→ Direct

Contact au cours de la manipulation des végétaux.

→ Indirect

Contamination des lieux d'habitation par les vêtements ou

autres vecteurs souillés.

Ce type de contact expliquerait de nombreux cas infantiles et pourrait être à lui seul responsable de poumon de fermier.

-Facteurs favorisant le contact

→Facteurs qui favorisent la concentration en microorganismes et poussières de l'environnement.

•Le confinement, la vétusté des installations.

•Une trop grande proximité entre lieu de travail et lieu d'habitation.

•La mécanisation: Elle est souvent responsable d'une grande dispersion des spores dans l'atmosphère. C'est le cas de la manipulation mécanisée du grain en Finlande (6), de l'importance des machines agricoles en Chine (23).

→Certains travaux agricoles

Tous les travaux de la ferme n'exposent pas au même risque de poumon de fermier.

Dans la majorité des cas, ce sont les producteurs laitiers les plus touchés, à l'inverse des producteurs céréaliers.

L'étude réalisée dans le Doubs (5), montre que la tâche à plus haut risque, est celle qui consiste à donner à manger régulièrement au bétail.

→Le temps de travail

Il semblerait qu'il existe un temps minimum de travail par jour.

Au Japon (9) la prévalence du poumon de fermier augmente avec le nombre d'heures passées par jour à travailler à la ferme (au moins 4 heures par jour). En effet, dans ce cas, la probabilité d'exposition au foin ou à d'autres allergènes est augmentée.

CONCLUSION

La revue des données récentes de la littérature concernant l'épidémiologie du poumon de fermier, nous montre que le risque est toujours présent bien que l'on connaisse depuis longtemps certains facteurs favorisant la survenue de la maladie. C'est le cas par exemple de la manipulation sans précaution, dans un endroit mal aéré, d'un foin engrangé humide.

La modernisation des travaux agricoles a non seulement pas écarté le risque, mais offre aujourd'hui de nouvelles possibilités de contracter la maladie du poumon de fermier.

3 - ASPECT IMMUNOLOGIQUE DU DIAGNOSTIC DU POUMON DE FERMIER

Le foin moisi est à l'origine de la plus part des cas de poumon de fermier. Il constitue un mélange complexe composé de substances végétales et d'une flore pathogène qui s'est développée.

Comme nous venons de le voir, les transformations qu'a subies le foin, sont liées à de nombreux facteurs. Parmi eux, l'environnement géographique joue un rôle important. Ces facteurs sont très variables et ne pourront qu'orienter difficilement le diagnostic, d'où la nécessité d'une étude sérologique.

Lorsque dans un contexte agricole, le clinicien suspecte une B.A.A.E. il s'adresse à un laboratoire. D'après l'orientation épidémiologique, clinique, parfois radiologique, il demande une sérologie de poumon de fermier. Mais il devrait garder à l'esprit que d'autres causes de B.A.A.E. sont possibles.

Au laboratoire, on se pose alors inévitablement la question du choix des antigènes à utiliser.

3-1- LES ANTIGENES UTILISES LORSQU'UN POUMON DE FERMIER EST SUSPECTE

En pratique, on utilise au laboratoire, à titre systématique, une batterie standard d'antigènes afin de prouver la présence d'anticorps face à certains de ces antigènes. Ces derniers pourront ensuite être incriminés comme agent déclenchant.

Ce n'est que dans certains cas particuliers de haute suspicion mais de sérologie négative face à la batterie standard, que l'on pourra utiliser des "antigènes à la carte", provenant de la propre exploitation du sujet.

3-1-1- Les antigènes utilisés à titre systématique ou "batterie standard"

On va différencier, dans ce groupe, deux types d'antigènes : les antigènes bruts et les antigènes de souches pures.

3-1-1-1- Les antigènes bruts

Ce sont extraits antigéniques de foin moisi. Il s'agit de foin de sujets malades, retenus pour leur bonne antigénicité. Leur

composition antigénique n'est pas ou peu connue. Ils contiennent très certainement des actinomycètes thermophiles : des réactions croisées entre Micropolyspora faeni et ces antigènes de foin, face à un sérum témoin positif le prouvent.

On constate fréquemment que les sérums de malades exposés au foin moisi, réagissent plus intensément face aux antigènes de foin que face aux bactéries ou moisissures isolées. D'où l'intérêt de l'utilisation de ces antigènes.

Par exemple, au laboratoire de Parasitologie du CHU de Grenoble, trois extraits de foin moisi provenant de la région, sont utilisés à titre systématique :

- Foin moisi - Dauphiné
- Foin II - Dauphiné
- Foin III - Haute-Savoie

3-1-1-2- Les antigènes de souches pures

Ils sont constitués par des extraits de moisissures ou bactéries obtenus en culture et reconnus comme le plus souvent en cause selon la région. Parmi eux, on retrouve des actinomycètes (Micropolyspora faeni, Thermoactinomyces vulgaris) des moisissures comme Aspergillus fumigatus ...

•Particularité de M. faeni

C'est l'actinomycète le plus souvent rencontré dans les différents échantillons recueillis auprès des malades. Il est également le plus fréquemment mis en cause.

Il possède une caractéristique intéressante. Il est porteur de deux activités enzymatiques de type chymotrypsique. Cette activité chymotrypsique est également présente chez les Aspergillus, mais est absente chez les autres actinomycètes.

Cette particularité constitue une aide au diagnostic sérologique. La seule présence d'un arc porteur de cette activité enzymatique dans les cas où les réactions de précipitation sont douteuses (1 seul arc par exemple), permet d'affirmer l'intervention de cet actinomycète.

3-1-2- Les antigènes à la carte

Ce sont des extraits de foin ou de céréales, prélevés sur le lieu de travail de l'individu soupçonné de poumon de fermier et

qui a répondu de façon peu satisfaisante aux antigènes utilisés à titre systématique.

C'est un moyen de confirmation mis en oeuvre dans des cas particuliers (haute suspicion et sérologie restée jusqu'à maintenant négative ou peu significative).

3-1-3- Essai de synthèse relative à l'utilisation d'antigènes dans différents pays.

Ces informations proviennent de la littérature. Elles sont soit issues de résumés d'enquête épidémiologique, soit de cas cliniques.

Elles sont rassemblées dans le tableau XI qui suit.

TABLEAU XI

ANTIGENES UTILISES SELON LES PAYS OU LES REGIONS

SOURCE	ANTIGENE (S)	METHODE
"Etude de l'incidence de précipitine chez des PF dans la pop. d'HOKKAIDO" JAPON 1986 (9)	<u>T. vulgaris</u> <u>M. faeni</u>	Immunoélectrophorèse (IE)
"Etude des précipitines contre les microbes de foin moisi dans une pop. de fermiers" FINLANDE 1987 (6)	<u>M. faeni</u> <u>T. vulgaris</u> <u>A. fumigatus</u> <u>A. umbrosus</u>	Immunodiffusion (ID) et précipitation sur microplaques
"Enquête épidémio" BESANCON 1988 (5)	<u>M. faeni</u> 3 extraits de foin moisi	DDO (double diffusion) IE
"Enquête épidémio" TOULOUSE (2) Même équipe : Etude rétrospective	7 extraits de foin moisi 3 actinomycètes thermophiles 2 extraits de déjections d'oiseaux 6 extraits de foin moisi <u>M. faeni</u> <u>T. vulgaris</u> 7 extraits de déjections d'oiseaux	DDO IE
"Diagnostic du PF" SUEDE 1986 (13)	2 antigènes de Poumon de Fermier 10 antigènes de champignons Depuis 1982 : Antigènes relatifs à l'élevage des porcs	DD Depuis 1982 DIGELISA

Il est difficile de tirer une conclusion de cette synthèse. Nous ne possédons pas toutes les informations pour être objectif, et ces renseignements sont insuffisants, car obtenus à partir de résumés d'enquêtes.

On remarque toutefois la présence constante d'au moins deux actinomycètes thermophiles dans la gamme antigénique utilisée.

Une différence d'attitude est aussi perçue. Certains utilisent uniquement des antigènes de foin, alors que d'autres étendent leur gamme à d'autres antigènes (antigènes de déjection d'oiseaux, antigènes relatifs au confinement des porcs ...).

En effet, dans un contexte agricole, une B.A.A.E. peut être due non seulement aux antigènes de poumon de fermier, mais aussi à d'autres antigènes présents dans cet environnement. Les cas de poumons d'éleveur d'oiseaux ou les cas de B.A.A.E. dues à des Aspergillus doivent aussi être envisagés. D'où l'intérêt d'utiliser une gamme antigénique étendue.

TABLEAU XII

CENTRE HOSPITALIER REGIONAL
ET UNIVERSITAIRE
DE GRENOBLE

B.P. 217 X
38043 GRENOBLE CEDEX
Tél. 78 42 81 21

SERVICE de PARASITOLOGIE
Professeur P. AMBROISE-THOMAS

NOM - Prénom :

Adressé par :

Date de réception :

Date de réponse :

Réponse : Partielle - complémentaire

SERO-DIAGNOSTIC DE L'ASPERGILLOSE, DU POU MON DE FERMIER, DU POU MON D'ELEVEUR D'OISEAUX
(Techniques de précipitation)

ANTIGENES ETUDIES	IMMUNO-DIFFUSION	IMMUNO-ELECTROPHORESE	REACTIONS ENZYMATIQUES
<u>Aspergillus fumigatus</u>			
<u>Aspergillus flavus</u>			
<u>Aspergillus terreus</u>			
<u>Aspergillus nidulans</u>			
<u>Foin du Dauphiné II</u>			
<u>Foin du Dauphiné III</u>			
<u>Foin moisi</u>			
<u>Micropolyspora faeni</u>			
<u>Thermoactinomyces vulgaris</u>			
Déjection de canard			
Déjection de perruche			
Déjection de tourterelle			
Déjection de poule			
Déjection de pigeon			
Sérum de poulet			
Sérum de pigeon			
Jaune d'oeuf			
Blanc d'oeuf			

IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE ASPERGILLUS FUMIGATUS :

CONCLUSION :

Comme nous l'avons vu précédemment, il y a intervention de facteurs géographiques sur l'identité de l'antigène responsable de poumon de fermier.

Ces antigènes, en vue du diagnostic, sont donc impossibles à standardiser sur une grande échelle. Il est nécessaire de réaliser des batteries d'antigènes, spécifiques de la région, suffisamment importantes afin d'assurer un diagnostic correct et une meilleure reproductibilité.

C'est dans cette optique, que le laboratoire de Parasitologie du CHU de Grenoble, utilise la gamme suivante.

Elle comporte 18 antigènes :

- Des espèces Aspergillaires : A. fumigatus
A. flavus
A. terreus
A. nidulans

- 3 extraits de foin moisi, propres à la région Dauphiné-Savoie.

- 2 actinomycètes thermophiles : Micropolyspora faeni,
Thermoactinomyces vulgaris.

- Des antigènes relatifs au poumon d'éleveur d'oiseaux :

- Déjection de canard
- Déjection de perruche
- Déjection de tourterelle
- Déjection de poule
- Déjection de pigeon
- Sérum de poulet
- Sérum de pigeon
- Jaune d'oeuf
- Blanc d'oeuf

(Cf tableau XII)

3-2- LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE : LA RECHERCHE DE PRECIPITINES POSITIVES

Après avoir souligné la difficulté du choix d'antigènes appropriés dans le diagnostic sérologique du poumon de fermier, la question de la méthode sérologique à utiliser se pose. Les techniques de mise en évidence des anticorps précipitants ou précipitines

sont les plus anciennes et les plus fréquemment utilisées.

Après avoir décrit les principales caractéristiques de ces techniques de recherche de précipitines, nous essaierons de dégager leurs intérêts et leurs inconvénients. Puis nous essaierons de conclure sur la signification réelle de la présence de ces anticorps.

3-2-1- Généralités

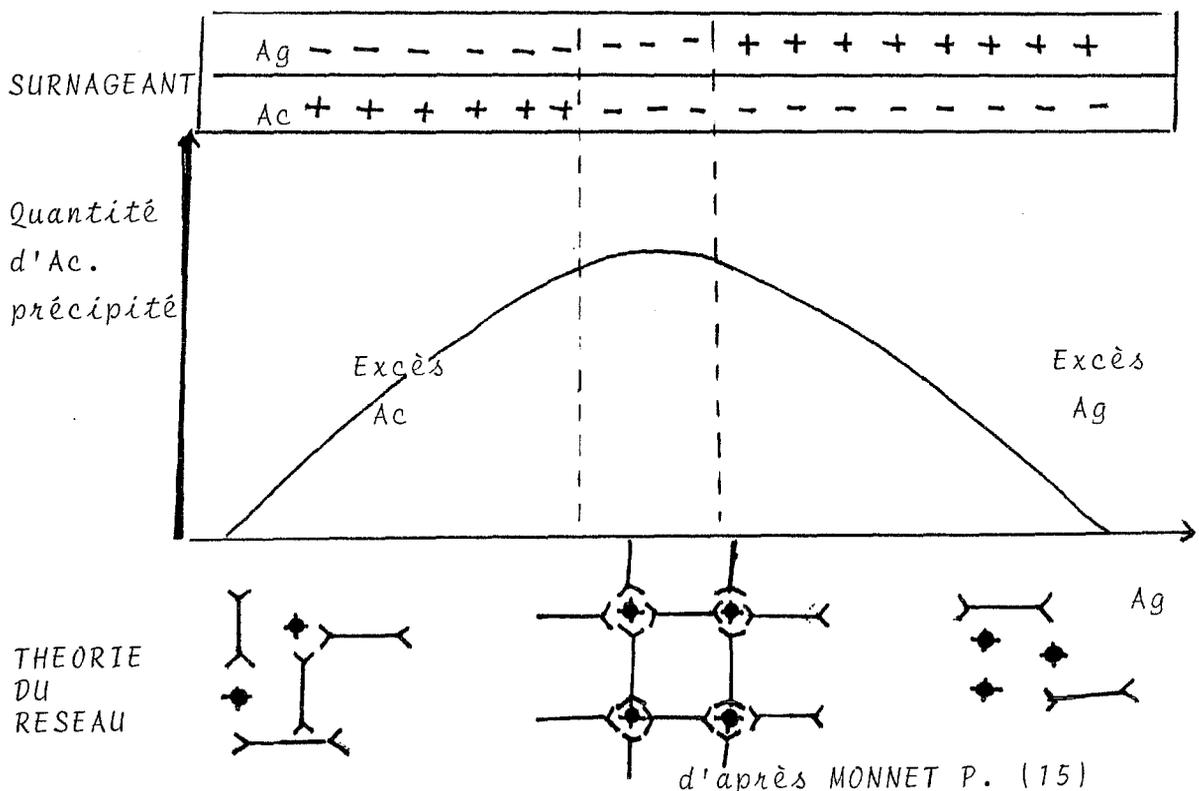
Ce sont des méthodes de recherche qualitatives qui mettent en jeu des réactions de précipitation.

3-2-1-1- Caractéristiques d'une réaction d'immunoprécipitation

C'est la mise en présence d'antigènes et d'anticorps dits précipitants, dans un certain rapport. Il y a alors formation d'un précipité et cette réaction est très spécifique.

Il existe une précipitation maximale ou optimale pour un rapport antigène-anticorps très précis. Cette remarque peut s'expliquer par le schéma suivant

SCHEMA I
REACTION D'IMMUNOPRECIPITATION



Il faudra donc éviter tout excès d'anticorps ou d'antigène dans les techniques sérologiques utilisant la réaction d'immunoprécipitation.

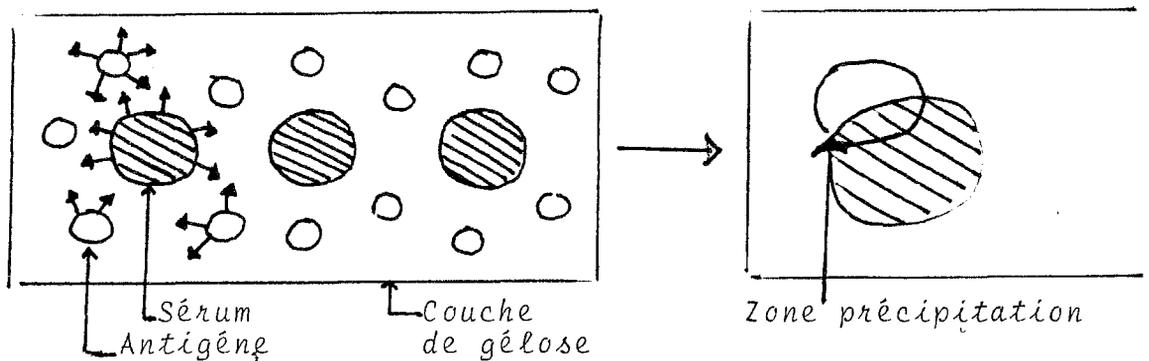
3-2-2- Double diffusion d'Outcherlony (D.D) ou immunoprécipitation sur plaque (I.D).

3-2-2-1- Principe

Dépôts des sérums et des antigènes étudiés dans des puits circulaires creusés dans une couche de gélose.

Les sérums et les antigènes vont migrer dans la gélose et vont donner lieu en cas de réactions positives à l'apparition d'arcs de précipitation au point d'équivalence.

SCHEMA II
DOUBLE DIFFUSION D'OUTCHERLONY



d'après MONNET P. (15)

3-2-2-2- Intérêts

- Simple
- Bonne spécificité
- Bon moyen de criblage permettant d'étudier plusieurs antigènes vis à vis d'un même sérum.

3-2-2-3- Inconvénients

- Nécessite un temps assez long : une semaine au moins
- Technique grande consommatrice d'antigènes et de sérums
- Manque de sensibilité
- Uniquement qualitative

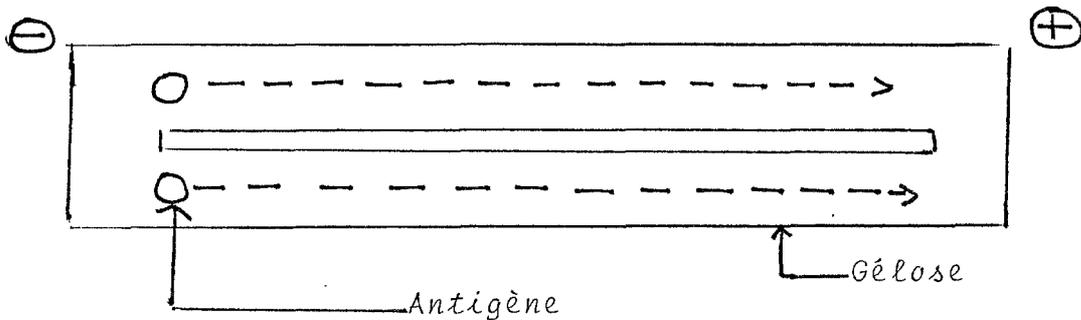
3-2-3- Immunoélectrophorèse (IE) ou technique de Grabar William

3-2-3-1- Principe

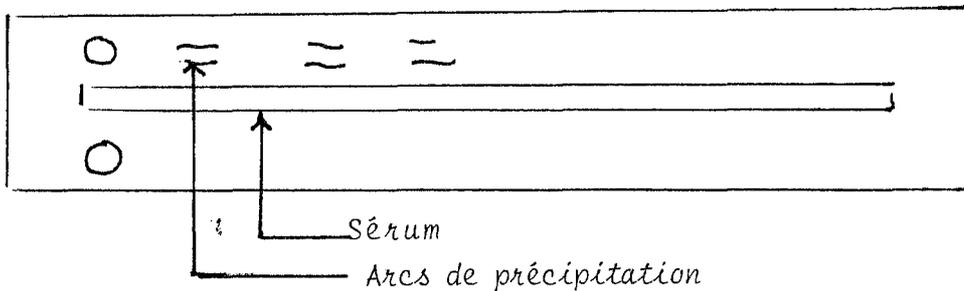
Dans un premier temps : séparation électrophorétique des protéines antigéniques.

Dans un deuxième temps : double diffusion des fractions d'antigènes et d'anticorps, puis apparition des arcs de précipitation

SCHEMA III
IMMUNOELECTROPHORESE



Séparation électrophorétique des protéines antigéniques.



Double diffusion des fractions antigène et anticorps.

D'après MONNET P. (15)

3-2-3-2- Intérêts

-C'est une technique de grande spécificité : la lecture se fait face à des fractions antigènes plus spécifiques (car fractionnement électrophorétique).

-C'est le deuxième temps d'une recherche de précipitines. Par exemple, elle est utilisée à Grenoble pour les antigènes contre lesquels le sérum présente au moins un arc de précipitation en immu-

modiffusion.

3-2-3-3- Inconvénients

- Longue
- Grande consommation d'antigène
- Toujours peu sensible
- Uniquement qualitative

3-2-4- Interprétation des résultats

Ce sont des méthodes qualitatives qui détectent la présence ou l'absence de précipitines dans le sérum.

L'interprétation des résultats consiste à apprécier le nombre et l'intensité des arcs de précipitation.

En général, chez les individus suspects cliniquement de poumon de fermier, la recherche de précipitines se révèle positive.

Pour certains, la présence de précipitine est un argument de grande valeur puisqu'elle signe le diagnostic avec un risque d'erreur inférieur à 1%. La recherche de précipitines est positive dans 85 à 90% des formes aiguës et subaiguës, et dans 50% des formes chroniques. Mais il existe des causes d'erreurs par excès et par défaut.

3-2-4-1- Erreurs par défaut

Il peut arriver que chez certains sujets, la recherche de précipitines sériques soit négative, alors que la tableau clinique et les autres investigations complémentaires, permettent de poser le diagnostic avec une quasi certitude.

Plusieurs explications sont possibles :

-Une fluctuation des précipitines au cours de l'évolution de la maladie : les précipitines apparaissent après le contact avec l'antigène, puis diminuent après plusieurs mois. On peut observer la disparition de certains arcs dans les formes anciennes et même l'absence de précipitines dans les formes chroniques.

-Une soustraction prolongée à l'antigène.

-Corticothérapie.

-Le tabac : la prévalence de précipitine chez les fumeurs est beaucoup plus faible que chez les non fumeurs.

-Mauvais choix de l'antigène.
Le sérum n'a pas été étudié face à l'antigène responsable.

3-2-4-2- Erreurs par excès

Il existe des précipitines dans le sérum de sujets exposés ou "sujets contacts", manipulant du foin moisi, mais ne présentant pas les signes cliniques de la maladie.

Récemment, une équipe Canadienne (3) s'est intéressée à 445 fermiers d'un groupe de 888 préalablement étudiés 4 ans plus tôt : le but de cette étude était d'évaluer les changements intervenus pendant cette période, concernant la clinique et la sérologie.

TABLEAU XII

EVOLUTION DES PRECIPITINES

445 PATIENTS				
1ère étude	48 (10.8%) Précipitines ⊕		397 PRECIPITINES ⊖	
2ème étude	14 ⊖	34 ⊕	28 ⊕	369 ⊖
	⏟ 62 précipitines ⊕			

↓ 4 ans

Cette étude montre une fluctuation dans la présence des précipitines ce qui suggère que de nombreux fermiers peuvent avoir au moins une fois dans leur vie, des précipitines positives, sans développer un poumon de fermier. Elle conclut que la présence de ces anticorps chez un fermier asymptomatique paraît avoir aucune importance clinique.

3-2-5- Conclusion

La présence de précipitines ne constitue qu'un argument immunologique ne pouvant à lui seul poser le diagnostic, car il traduit le "contact du sujet avec l'antigène".

Les résultats sérologiques doivent être confrontés à un ensemble de données épidémiologiques, cliniques, radiologiques ... Une réaction négative ne permet pas d'éliminer le diagnostic, surtout dans le cas d'un poumon de fermier chronique.

Une recherche de précipitines positives n'a aucune valeur si elle n'est pas accompagnée de la nature exacte des antigènes étudiées, du nombre et de l'intensité des arcs et si elle n'est pas replacée dans le contexte médical.

C'est un examen essentiel qui constitue un élément clef du diagnostic. Mais il existe des problèmes liés :

- aux antigènes utilisés ; choix, pureté, spécificité
- à l'impossibilité de différencier par le seul examen un sujet "contact" sain et un sujet malade.

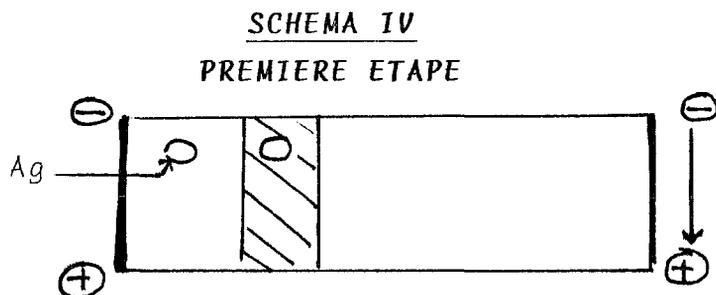
3-3- AUTRES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC

Ce sont des méthodes plus récentes qui essaient de répondre aux insuffisances des méthodes d'immunoprécipitation vues auparavant.

3-3-1- Immunoélectrophorèse bidirectionnelle ou électrophorèse croisée

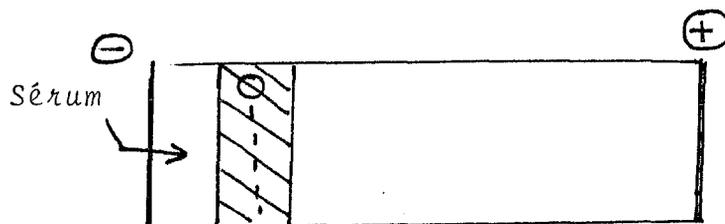
3-3-1-1- Principe

Dans un premier temps : séparation électrophorétique des antigènes déposés dans des puits creusés dans de la gélose. On obtient différentes fractions antigéniques (alignées sur une droite)



La 2ème étape consiste à découper une bande étroite de gel qui est placée sur une nouvelle lame. Sur cette lame sera coulé un gel dans lequel le sérum a été incorporé à faible dose.

SCHEMA V
DEUXIEME ETAPE



Dans un troisième temps, la séparation électrophorétique permet d'obtenir des zones de précipitation en forme de pic.

3-3-1-2- Intérêts et inconvénients

-Plus spécifique que l'immunoélectrophorèse classique.

-Intérêt chez les sujets exposés aux poussières organiques et pour lequel le diagnostic de B.A.A.E. a été déjà évoqué devant les signes cliniques ou radiologiques. Elle permettrait d'éliminer la plus part des réactions faussement positives, rencontrées chez les sujets contacts (arc de précipitation vis à vis de un ou plusieurs antigènes en immunodiffusion ou en immunoélectrophorèse sans signe clinique).

-Manque de sensibilité.

-Technique peu connue. On ne peut faire qu'une interprétation semi quantitative des diagrammes obtenus : les différents pics n'ont pas encore pu être tous identifiés.

-les fractions de plus faible réactivité peuvent être gênées par celle de forte réactivité

-il est difficile de mettre une étiquette sur les fractions qui peuvent exister sous plusieurs formes.

-Technique longue, délicate, consommatrice d'antigène et de sérum.

-Actuellement, elle est impossible à utiliser en routine car trop lourde techniquement.

3-3-2- L'électrosynérèse ou contre électrophorèse (C.E.P.) ou Electroimmunodiffusion (E.I.D.) ou contre immunoélectrophorèse.

3-3-2-1- Principe

L'électrosynérèse consiste à accélérer et orienter une immunodiffusion double sous l'influence d'une différence de potentiel.

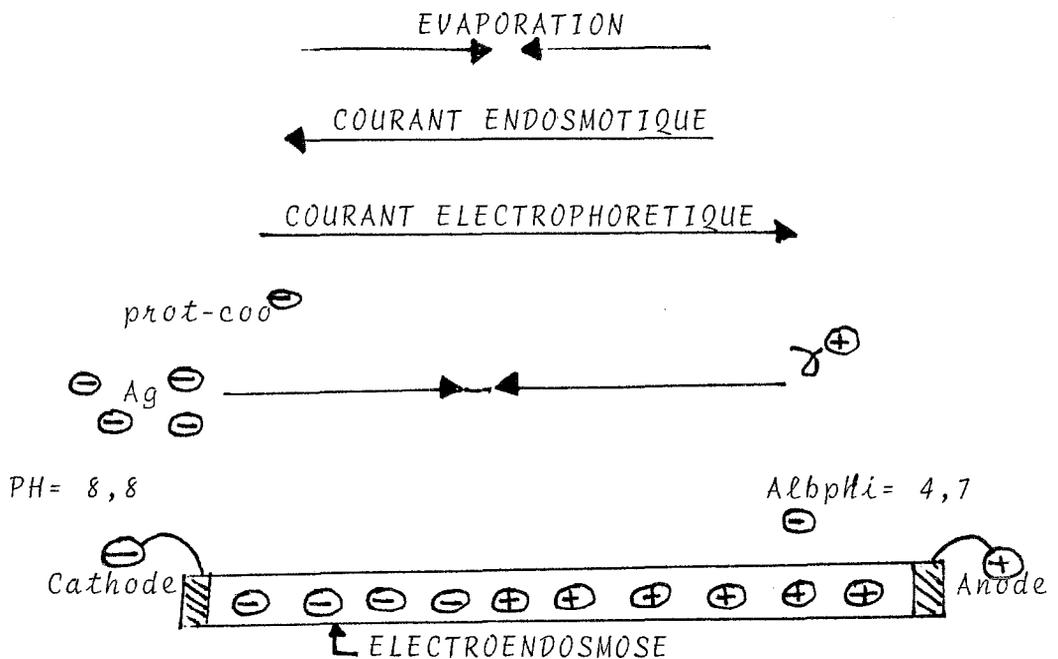
La force ionique, le pH, les quantités d'antigènes, sont les principaux facteurs qui interviennent. En ce qui concerne les quantités d'antigène et de sérum, elles doivent être bien ajustées. Un excès de l'un ou de l'autre, conduit à une redissolution du précipité.

Le support de migration est constitué par une membrane d'acétate de cellulose.

La migration est régie par différentes forces induites par le courant électrique :

- la charge nette
- le courant d'évaporation
- l'électroendosmose

SCHEMA VI
PRINCIPE DE L'ELECTROSYNERESE



d'après

-L'électroendosmose : courant liquidien qui au sein du film d'acétate de cellulose, chargé négativement, va de l'anode vers la cathode. Du côté anodique, les charges du support se neutralisent, puis se positivisent. Cette modification de l'ionisation du support va modifier l'ionisation des protéiques sériques.

-Le courant d'évaporation : il est créé par l'échauffement du support par effet Joule. C'est un courant liquidien double : l'un part de l'anode, l'autre de la cathode. Sa vitesse diminue plus on s'éloigne des bords, et elle s'annule au centre. L'eau évaporée est remplacée par une solution tampon venant des bacs à électrodes.

3-3-2-2- Interprétation des résultats d'une électrosynérèse

Il apparaît des arcs de précipitations qui pour être spécifiques, doivent se raccorder avec les arcs apparus au niveau des sérums de référence.

On peut révéler des arcs supportant certaines réactions enzymatiques.

Le résultat est exprimé en nombre d'arcs avec éventuellement une appréciation de l'intensité.

Comme dans le cas de l'immunodiffusion et l'immunoélectrophorèse, l'antigène doit être précisé. Les critères de positivité sont différents selon les antigènes.

3-3-2-3- Intérêts et inconvénients

Par rapport aux méthodes classiques, les avantages sont nombreux :

-la rapidité : il est possible de rendre des résultats le jour même pour les sérums négatifs et les sérums très positifs. Pour les sérums douteux, la réponse définitive sera obtenue sous 36 heures.

-économie d'antigène et de sérum.

-meilleure sensibilité. L'électrosynérèse est plus sensible que l'immunoélectrophorèse. Ce gain de sensibilité semble toutefois se réaliser au détriment de la spécificité. Ainsi l'utilisation systématique de l'électrosynérèse dans le poumon de fermier, risque de mettre en évidence beaucoup plus souvent des arcs chez de simples sujets contacts.

3-3-3- Les techniques sérologiques quantitatives

3-3-3-1- Introduction

Les recherches de précipitines sont l'une des clés du diag-

nostic sérologique. Mais elles ne permettent pas de suivre le taux d'anticorps, notamment lors de mesures prophylactiques et du suivi thérapeutique.

L'immonodiffusion et l'immunoélectrophorèse sont des techniques qualitatives qui visualisent un certain nombre de systèmes précipitants. Mais l'étude de dilutions de sérum pour déterminer le titre en anticorps n'est pas possible.

Nous allons décrire deux techniques utilisées aujourd'hui dans certains laboratoires et qui permettent cette approche sérologique du poumon de fermier.

3-3-3-2- E.L.I.S.A. : Enzym linked Immuno Sorbent Assay

● Principe : description schématique

C'est une méthode sandwich réalisée en plusieurs étapes :

- fixation de l'antigène A dans les puits de la plaque de microtitration, puis lavage afin d'éliminer l'excès d'antigène
- contact avec le sérum étudié. Fixation des anticorps, puis lavage afin d'éliminer l'excès d'anticorps
- action du conjugué "antiglobuline" marquée par une enzyme de type péroxydase (détectable à des concentrations infimes). Lavage afin d'éliminer l'excès de conjugué.
- addition du substrat et du chromogène (solution normalement incolore mais qui peut prendre une teinte variable en présence de l'enzyme correspondant).

● Lecture des résultats

- à l'oeil nu
- au photomètre ;

On définira alors un seuil de positivité : titre d'anticorps ou densité optique à partir desquels on considère qu'il existe des anticorps spécifiques dans le sérum du malade,

un seuil de spécificité : titre d'anticorps ou densité optique à partir desquels on considère que le sujet est atteint de la maladie (le seuil de spécificité est toujours supérieur au seuil de positivité).

● Remarques concernant E.L.I.S.A.

Méthode de sensibilité élevée, utilisant de petits volumes en antigènes et sérum.

Méthode rapide facilement reproductible.

Méthode spécifique, qualitative et quantitative.

ELISA peut être utilisée comme instrument de screening. Elle prouve la sensibilisation à un antigène.

Elle permet aussi le suivi de l'évolution par la mesure des taux d'anticorps.

Elle nécessite néanmoins un bon choix d'antigènes.

C'est une technique nouvelle et nous manquons de recul pour conclure. D'après la littérature (14), il semblerait que pour la détection des anticorps face à Microspolyspora faeni, ELISA se soit montré supérieur en sensibilité, notamment par rapport à l'électrosynésèse. Toujours d'après la littérature, elle serait particulièrement valable dans la détection de basses concentrations en anticorps de grande affinité (face à M. faeni). Mais la signification de ces taux est encore peu claire.

Aucune corrélation entre titre en anticorps, statut clinique et pronostic, n'a été établie et démontrée.

3-3-3-3- I.F.I. : Immunofluorescence Indirecte

-Principe

Technique réalisée sur des dilutions de sérums. On utilise des antigènes figurés, déposés sur des lames. Après incubation et lavage, les éventuels anticorps spécifiques sont révélés par des antiglobulines conjuguées à une substance fluorescente (isothiocyanate de fluorescine). Pour masquer les fluorescences non spécifiques, on utilise un contre colorant : le bleu d'Evans.

-Lecture

Au microscope à lumière UV

Réaction positive : fluorescence jaune verte

Réaction négative : fluorescence plus ou moins rouge

Possibilité de quantification

Comme pour ELISA : notion de seuil de positivité et de spécificité.

-Remarques

Reproductibilité élevée mais emploi d'un matériel onéreux.

Il est difficile de réaliser des séries importantes et de lire les taux limites (interprétation quantitative).

Technique qui semblerait moins spécifique par rapport à l'immunodiffusion et l'immunoélectrophorèse (26).

3-3-3-4- Conclusion

ELISA et IFI sont des techniques qui ne sont jamais utilisées en première intention dans le diagnostic de poumon de fermier.

Aujourd'hui ces deux méthodes paraissent avoir un grand intérêt dans la recherche de l'agent étiologique lorsque le diagnostic d'alvéolite est posé.

C'est dans cette optique que des études ont été réalisées au CHU de Grenoble (19).

Des remarques intéressantes ont été faites en ce qui concerne ELISA et IFI. Les voici résumées.

Comme nous l'avons vu auparavant, le poumon de fermier a pour origine l'inhalation d'agents antigéniques notamment des actinomycètes thermophiles. Il arrive pourtant que des champignons comme les *Aspergillus* soient à l'origine de cette maladie. On parle alors d'aspergillose bronchopulmonaire allergique.

Cette affection se différencie des autres pathologies aspergillaires par le fait :

- qu'elle est déclenchée après contact avec l'allergène inhalée
- qu'il n'y a aucune prolifération fongique dans l'organisme
- que c'est une maladie immunologique.

On a observé que dans ce type d'alvéolite aspergillaire, la production de systèmes précipitants reste faible et que la COES reste d'interprétation délicate.

L'étude réalisée par Pinel (19) à Grenoble s'est intéressée à 252 patients soit 260 sérologies. Elle comportait une immunodiffusion face à 18 antigènes (notamment des espèces aspergillaires), une IFI, une ELISA.

Plusieurs observations ont été faites à la suite de ces travaux, les voici résumées :

- ELISA s'est montrée positive ($D > 0,45$ = seuil de positivité) dans 24 cas sur 260. Parmi ceux-ci, 15 correspondaient à des alvéolites documentées (Cf Tableau XIV).

-Une valeur d'ELISA positive est associée à la présence de système précipitant face à différents *Aspergillus* principalement face à *Aspergillus fumigatus* (13 cas sur 15). Dans ce cas, le nombre d'arcs de précipitation est toujours faible.

-Une valeur en IFI $> 1/160$ est observée dans 12 cas sur 15. Ces valeurs en IFI sont en général élevées (jusqu'à $1/640$).

-De même, les valeurs en ELISA sont souvent élevées ($DO > 1$), ceci dans 10 cas sur 15, soit 66,6%.

D'après ces remarques, ELISA et IFI seraient particulièrement intéressantes dans les cas d'alvéolites allergiques dues à des *Aspergillus* pour mettre en évidence des anticorps autres que précipitant.

Cela explique l'utilisation systématique à Grenoble de IFI face à l'antigène *A. fumigatus* pour toute sérologie de poumon de fermier.

TABLEAU XIV

RESULTATS SEROLOGIQUES DANS 15 CAS D'ALVEOLITE ALLERGIQUE D'ORIGINE EXTRINSEQUE

Cas	Réactions de précipitation				IFI + ≥ 160	ELISA + ≥ 0,45	Pneumopathie d'hypersensibilité PF**, PEO**, AAE** d'origines diverses
	Actinomyces thermophiles	Aspergillus	Foins moisiss	(ID)* Fientes			
1 JAR...	0	Fu 2	2	2	320	0,92	PF
2 GIR...	0	Fu 2 + 5 ±	1 ±	1 ±	320	1,03	AAE à <u>Aspergillus</u>
3 GAR...	2	Fu 2 ±	2	8	320	1,2	PF - PEO
4 GER...	2	Fu 1	1	±	320	0,48	PF
5 BEA	2	Fu 2	3 (sciure)	0	640	2,14	AAE à la sciure de bois
6 PER...	0	Fu 2	1 + 1 ±	1 + 1 ±	640	2,2	PF - PEO
7 PIN...	7	Fu 0	5	1 + 1 ±	0	1,62	PF
8 TAR...	1	Fu 1	1 + 1 ±	±	320	0,49	PF
9 CRO...	1	Fu 1	2	±	320	2,22	PF
10 CHA...	1	Fu 0, F1, Nid 1	2	0	320	1,3	PF
11 BUR...	0	Fu 2	3	3	640	2,04	PF - PEO
12 PER...	0	1 chymo +	1	±	320	0,63	AAE à <u>Aspergillus</u>
13 BOM...	0	2	0	0	0	1,23	AAE à <u>Aspergillus</u>
14 ROS...	0	1	2 (tabac)	±	0	0,9	AAE au tabac
15 BOZ...	chymo +	3	±	±	320	3,57	PF

* Nombre d'arcs

** PF : poumon de fermier, PEO : poumon d'éleveur d'oiseaux,
AAF : alvéolite allergique extrinsèque.

D'après PINEL (19)

CONCLUSION

Ce travail avait deux buts : dans un premier temps, rassembler des données épidémiologiques concernant le "poumon de fermier", dans un deuxième temps, faire une synthèse des diverses attitudes prises lors du diagnostic sérologique de la maladie.

La revue des données récentes de la littérature concernant l'épidémiologie du poumon de fermier rassemble de nombreux facteurs qui interviennent dans la survenue de cette pathologie.

Certains me semblent importants à rappeler dans cette conclusion :

- la notion d'exposition à la substance antigénique avec les différents types de contact possible, l'importance de la durée du contact qui explique l'âge moyen de survenue de la maladie chez les individus,

- le développement d'une microflore pathogène qui est la conséquence de l'intervention de nombreux facteurs : soit direct comme le facteur géographique, soit indirects, tels les facteurs économiques favorisant la notion de rentabilité privilégiée aux dépens de la qualité,

- l'explication par la génétique de l'inégalité observée chez les individus devant la maladie et qui constitue une nouvelle orientation d'étude.

En ce qui concerne le diagnostic sérologique, de nombreuses évolutions sont perçues : pour le choix des antigènes, on s'oriente vers des gammes antigéniques de plus en plus étendues et propres à chaque région.

- Les techniques deviennent plus sensibles, spécifiques, rapides et reproductibles.

- On s'intéressait au tout début uniquement aux anticorps précipitants. Actuellement, grâce à l'IFI la détection d'anticorps autres que précipitants, paraît avoir son intérêt. Toutefois, une insuffisance persiste, c'est à dire, l'impossibilité de différencier un individu contact sain, d'un individu malade.

Le poumon de fermier est une des plus ancienne broncho-alvéolite allergique extrinsèque répertoriée. Il touche essentiellement la population agricole, il est donc très localisé. Aujourd'hui il peut

paraitre dérisoire de s'intéresser à cette pathologie. En fait, le poumon de fermier soulève un véritable problème actuel. Le dossier des B.A.A.E. est toujours ouvert : parallèlement au développement technologique, il apparait dans le milieu du travail de nombreux agents capables d'induire ce type d'affection. Cet essort pose de nouvelles difficultés pour les services de médecine du travail qui doivent faire le diagnostic, identifier l'agent antigénique afin de l'éliminer de l'environnement, ou d'éviter l'exposition et faire reconnaître la pathologie comme maladie professionnelle.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - BELIN-L, MALMBERG-P
Antibodies to microbial antigens in various farmer population.
Am.J.Ind. Med, 1986, 10, 277-280
- 2 - CORMIER-Y, BELANGER-J, DURAND-P
Factors influencing the development of serum precipitins to farmer's lung antigen in Quebec dairy farmers.
Thorax, 1985, 40 :138-142
- 3 - CORMIER-Y, BELANGER-J
The fluctuant nature of precipitating antibodies in Dairy farmers
Thorax, 1989, 44: 469-73
- 4 - CUNNINGHAM-A-S, MAY-J-J, FINK-J-N
Farmer's lung in a 10-year-old boy.
N.Y.State.J.Med, 1985, 85: 658-660
- 5 - DEPIERRE-A, DALPHIN-J-C, PERNET-D, DUBIEZ-A, FAUCOMPRES-C, BRETON-J-L
Epidemiological study of farmer's lung in five districts of the French Doubs province.
Thorax, 1988, 43 : 429-435
- 6 - ERKKIO.TERHO.KAJ HUSMAN.IIKKA VOHLONEN
Work-related respiratory diseases among finnish farmers.
Eur-J-Respir-Dis-Suppl, 1987, 152 : 1-227
- 7 - FAREBROTHER-M-J, KELSON-M-C, HELLER-R-F
Death certification of farmer's lung and chronic airway diseases in different countries of the EEC.
Br.J.Dis.Chest, 1985, 79 : 352-360
- 8 - GARI-M, PICARD-D, GEERS-R, PINON-J-M
Alveolites allergiques, apport diagnostic récent dans la maladie du poumon du fermier et des éleveurs d'oiseaux.
Concours méd., 1985, 107 : 3697-3701
- 9 - HOMMA-Y, TERAI-T, MATSUZAKI-M
Incidence of serum-precipitating antibodies to farmer's lung antigens in Hokkaido.
Respiration, 1986, 49 : 300-306
- 10 - KONISHI-K, MURAKAMI-S, KOKUBU-K, ITOH-H, MOURI-T, TAMURA-M
Determination by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of specific IgG antibody activities for diagnosis of farmer's lung disease.
Tohoku.J.Exp.Med, 1985, 147 : 135-144
- 11 - KURUP-V-P, MANTYJARVI-R-A, TERHO-E-O, OJANEN-T-H, KALBFLEISCH-J-H
Circulating IgG antibodies against fungal and actinomycete antigens in the sera of farmer's lung patients from different countries.
Mycopathologia, 1987, 98 : 91-99
- 12 - LE BARS-J
Aspergillus fumigatus, fresensis et les agents du poumon de fermier. Risque de pénétration pulmonaire.
Bull.Soc.Fr.Mycol.med, 1978, 7 : 271-274

- 13 - MALMBERG-P, RASK-ANDERSEN-A, PALMEGREN-U, HOGLUND-S, KOLMODIN, HEDMAN-B
Respiratory problems among swedish farmers, correlation between symptoms and environment.
Eur.J.Respir.Dis.Suppl, 1987, 154 : 22-27
- 14 - MELINN-M, MC PARGHLIN-H
Farmer's lung : a three year survey and comparison of ELISA and CIEP Techniques in antibody detection.
Ir.J.Med.Sci, 1989, 158 : 173-174
- 15 - MONNET PASCALE
Application de l'électrosynèse au diagnostic sérologique des broncho-alvéolites allergiques d'origine extrinsèque.
Thèse Docteur-Pharmacie-Diplôme d'état. Université J.Fourier-Grenoble I 1985
- 16 - O-CONNELL-E-J, ZORA-J-A, GILLESPIE-D-N, ROSENOW-E-C
Childhood hypersensitivity pneumonitis (farmer's lung) : four cases in siblings with long-term follow-up.
J.Pediatr 1989, 114 : 995-997
- 17 - PEPYS-J
Farmer's lung and extrinsic allergic alveolitis.
Practitioner, 1987, 231 : 487-492
- 18 - PERDRIX-A
A propos des granulomatoses exogènes allergiques (poumon de fermier ...).
Rev.méd.Alpes.Fr, 1987, 7 : 343-350
- 19 - PINEL-C
Sérodiagnostic de l'Aspergillose.
Thèse doctorat Es Sciences Pharmaceutiques. Université J. Fourier. Grenoble I, 1989
- 20 - REBOUX, DALPRIN, PERNET, MARTINEZ, DUBIEZ, LAPLANTE, DEPIERRE, DAVALÉ
Epidémiologie de l'aérocontamination en micromycètes et en actinomycètes thermophiles de 35 fermes du Haut Doubs.
Bull.Soc.Fr.Mycol.méd, 1989, 18 : 165-167
- 21 - RECCIO-POURIEL-D, BORDERIEN, LINAS, BESSIERE, SEQUELA
PF et PED. Notre expérience en Midi Pyrénée-Toulouse
Bull.Soc.Fr.Mycol.med, 1978, 7 : 281-284
- 22 - SALVAGGIO-JOHN-E
Current concepts in the pathogenesis of occupationally induced. Allergic Pneumonitis.
Int.Archs Allergy appl.Immun, 1987, 82 : 424-434
- 23 - TAO-BG, SHEN-Y-E, CHEN-G-X, WU-A-L, HONG-Z-R, YUAN-J-W, CHEN-B-C, GU-X-Q
An epidemiological study on farmer's lung among hay grinders in Dafeng County.
Biomed.Environ.Sci, 1988, 1 : 13-18
- 24 - TERHO-E-O, MANTIJARVI-R-A, HEINONEN-O-P, OJANEN-T-H, VOHLONEN-I, TUKIAINEN-H
Familial aggregation of IgG antibody response to antigens associated with farmer's lung.
Int.J.Epidemiol, 1985, 14 : 589-593



- 25 - THORSHAUGE-H, FALLESEN-I, OSTERGAARD-P-A
Farmer's lung in infants and small children.
Allergy, 1989, 44 : 152-155
- 26 - WENZEL-F-J, EMMANUEL-D-A, GRAY-R-L
Immunofluorescent studies in patients with farmer's lung.
J.Allergy Clin.Immunol, 1971, 48 : 224-229



A U T O R I S A T I O N D ' I M P R E S S I O N

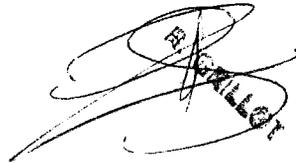
De la Thèse dont l'intitulé est : LE POU MON DE FERTIER -
ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE ET DIAGNOSTIC
IMMUNOLOGIQUE

CANDIDAT : M^{lle} MARIE PIERRE VERDURE

VU

GRENOBLE, le 16 Mai 1991

Le Président du Jury



VU

GRENOBLE, le 20 Mai 1991

Le Président de l'Université
Joseph FOURIER GRENOBLE I
Sciences. Technologie. Médecine



REMOZ

NOM - PRENOM : VERDURE Marie-Pierre

TITRE DE LA THESE : LE POUMON DE FERMIER. ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE
ET DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE

NATURE DE LA THESE : Docteur en Pharmacie

GRENOBLE ANNEE 1991

RESUME

Ce travail consacré au Poumon de fermier a deux buts principaux.

Dans un premier temps, il rassemble d'après la littérature de ces dernières années les facteurs intervenant dans la survenue de cette affection.

Dans un deuxième temps, cette étude fait état des diverses attitudes prises par les laboratoires (celui de parasitologie du CHU de Grenoble en particulier) lors d'une demande de sérologie : le choix d'une gamme antigénique suffisamment large et adaptée, l'utilisation d'une technique sensible, spécifique, rapide, reproductible ... constituent les orientations actuelles. Quant aux anticorps à détecter, on ne recherchait jusqu'à présent que les précipitines.

A Grenoble, la mise en évidence d'anticorps autres que précipitants lors d'une IFI paraît avoir son intérêt dans des cas particuliers.

MOTS CLES : Poumon de fermier, Epidémiologie, Sérologie, Alvéolite allergique extrinsèque.

JURY

Madame le Professeur R. GRILLOT, Président

Monsieur le Docteur A. PERDRIX, Maître de Conférences

Monsieur le Docteur D. REPELLIN

Monsieur G. VIAL, Pharmacien

DATE DE SOUTENANCE : 1er JUILLET 1991

ADRESSE DE L'AUTEUR :

* * * * *