



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE**

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée
par
Julien DECKER

Le 12 février 2015

**ASPERGILLOSE BRONCHOPULMONAIRE ALLERGIQUE :
D'UNE ANALYSE ÉPIDÉMIOLOGIQUE CHEZ DES PATIENTS MUCOVISCIDOSIQUES A
L'INTRODUCTION D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE DE CONFIRMATION
SÉROLOGIQUE**

Conformément aux dispositions du décret n°90-810
du 10 septembre 1990, ce mémoire tient lieu de :

THÈSE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN MÉDECINE

Examineurs de la thèse :

Mme le Professeur Marie MACHOUART,
PU-PH, Faculté de médecine de Nancy

Président

Mme le Docteur Anne DEBOURGOGNE,
MCU-PH, Faculté de médecine de Nancy

Juge et directeur de thèse

Mme le Professeur Chantal FINANCE,
PU-PH, Faculté de pharmacie de Nancy

Juge

Mme le Docteur Jocelyne DERELLE,
PH, CHU de Nancy

Juge



Président de l'Université de Lorraine :
Professeur Pierre MUTZENHARDT

Doyen de la Faculté de Médecine :
Professeur Marc BRAUN

Vice-doyens
Pr Karine ANGIOI-DUPREZ,
Vice-Doyen
Pr Marc DEBOUVERIE, Vice-Doyen

Assesseurs :

Premier cycle : Dr Guillaume GAUCHOTTE
Deuxième cycle : Pr Marie-Reine LOSSER
Troisième cycle : Pr Marc DEBOUVERIE

Innovations pédagogiques : Pr Bruno CHENUÉL

Formation à la recherche : Dr Nelly AGRINIER
Animation de la recherche clinique : Pr François ALLA

Affaires juridiques et Relations extérieures : Dr Frédérique CLAUDOT
Vie Facultaire et SDES : Dr Laure JOLY
Relations Grande Région : Pr Thomas FUCHS-BUDER
Etudiant : M. Lucas SALVATI

Chargés de mission

Bureau de docimologie : Dr Guillaume GAUCHOTTE
Commission de prospective facultaire : Pr Pierre-Edouard BOLLAERT
Universitarisation des professions paramédicales : Pr Annick BARBAUD
Orthophonie : Pr Cécile PARIETTI-WINKLER
PACES : Dr Chantal KOHLER
Plan Campus : Pr Bruno LEHEUP
International : Pr Jacques HUBERT

=====

DOYENS HONORAIRES

Professeur Jean-Bernard DUREUX - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER
Professeur Henry COUDANE

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY
Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL - Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE
Jean-Louis BOUTROY - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT -
François CHERRIER Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE - Emile de
LAVERGNE - Jean-Pierre DESCHAMPS
Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE - Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre
GAUCHER
Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Oliéro GUERCI - Claude HURIET
Christian JANOT - Michèle KESSLER - François KOHLER - Jacques LACOSTE - Henri LAMBERT - Pierre
LANDES
Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN - Bernard LEGRAS
Jean-Pierre MALLIÉ - Michel MANCIAUX - Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU - Michel MERLE - Denise
MONERET-VAUTRIN Pierre MONIN - Pierre NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN
- Gilbert PERCEBOIS

Claude PERRIN - Guy PETIET - Luc PICARD - Michel PIERSON – François PLENAT - Jean-Marie POLU - Jacques POUREL Jean PREVOT - Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER – Denis REGENT - Michel RENARD - Jacques ROLAND
 René-Jean ROYER - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT - Michel SCHWEITZER - Daniel SIBERTIN-BLANC - Claude SIMON Danièle SOMMELET - Jean-François STOLTZ - Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT- Augusta TREHEUX - Hubert UFFHOLTZ Gérard VAILLANT - Paul VERT - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET – Jean-Pierre VILLEMOT - Michel WAYOFF
 Michel WEBER

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Pierre BEY - Professeur Marc-André BIGARD – Professeur Jean-Pierre CRANCE Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeure Michèle KESSLER - Professeur Jacques LECLERE

Professeur Pierre MONIN - Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Luc PICARD – Professeur François PLENAT Professeur Jacques POUREL - Professeur Michel SCHMITT – Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur Paul VERT - Professeure Colette VIDAILHET - Professeur Michel VIDAILHET Professeur Michel WAYOFF

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS (Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Gilles GROSDIDIER - Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Professeur Bernard FOLIGUET – Professeur Christo CHRISTOV

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDECINE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

2^{ème} sous-section : (*Radiologie et imagerie médecine*)

Professeur Michel CLAUDON – Professeure Valérie CROISÉ-LAURENT

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER - Professeur René ANXIONNAT

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER – Professeur Bernard NAMOUR

2^{ème} sous-section : (*Physiologie*)

Professeur François MARCHAL – Professeur Bruno CHENUÉL – Professeur Christian BEYAERT

3^{ème} sous-section : (*Biologie Cellulaire*)

Professeur Ali DALLOUL

4^{ème} sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Olivier ZIEGLER – Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière*)

Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIEWSKI – Professeure Evelyne SCHVOERER

2^{ème} sous-section : (*Parasitologie et Mycologie*)

Professeure Marie MACHOUART

3^{ème} sous-section : (*Maladies infectieuses ; maladies tropicales*)

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD – Professeure Céline PULCINI

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Épidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA

2^{ème} sous-section : (*Médecine et santé au travail*)

Professeur Christophe PARIS

3^{ème} sous-section : (*Médecine légale et droit de la santé*)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)
Professeure Eliane ALBUISSON – Professeur Nicolas JAY

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Professeur Pierre FEUGIER

2^{ème} sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie*)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY - Professeur Didier PEIFFERT

Professeur Frédéric MARCHAL

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{ère} sous-section : (*Anesthésiologie - réanimation ; médecine d'urgence*)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Gérard AUDIBERT

Professeur Thomas FUCHS-BUDER – Professeure Marie-Reine LOSSER

2^{ème} sous-section : (*Réanimation ; médecine d'urgence*)

Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT - Professeur Bruno LÉVY – Professeur Sébastien GIBOT

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie*)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET – Professeur J.Y. JOUZEAU (*pharmacien*)

4^{ème} sous-section : (*Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie*)

Professeur François PAILLE – Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE,
HANDICAP ET RÉÉDUCATION

1^{ère} sous-section : (*Neurologie*)

Professeur Hervé VESPIGNANI - Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE

Professeur Luc TAILLANDIER - Professeur Louis MAILLARD – Professeure Louise TYVAERT

2^{ème} sous-section : (*Neurochirurgie*)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE – Professeur Olivier KLEIN

Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS

3^{ème} sous-section : (*Psychiatrie d'adultes ; addictologie*)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

4^{ème} sous-section : (*Pédopsychiatrie ; addictologie*)

Professeur Bernard KABUTH

5^{ème} sous-section : (*Médecine physique et de réadaptation*)

Professeur Jean PAYSANT

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (*Rhumatologie*)

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLÉ

2^{ème} sous-section : (*Chirurgie orthopédique et traumatologique*)

Professeur Daniel MOLE - Professeur Didier MAINARD - Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

3^{ème} sous-section : (*Dermato-vénéréologie*)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeure Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie*)

Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (*Pneumologie ; addictologie*)

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT

2^{ème} sous-section : (*Cardiologie*)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE

Professeur Nicolas SADOUL - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET

3^{ème} sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardiovasculaire*)

Professeur Thierry FOLLIGUET

4^{ème} sous-section : (*Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire*)

Professeur Denis WAHL – Professeur Sergueï MALIKOV

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{ère} sous-section : (*Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie*)

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

3^{ème} sous-section : (*Néphrologie*)

Professeure Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT

4^{ème} sous-section : (*Urologie*)

Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (*Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie*)

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY - Professeur Athanase BENETOS

Professeure Gisèle KANNY – Professeure Christine PERRET-GUILLAUME

2^{ème} sous-section : (*Chirurgie générale*)

Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{ère} sous-section : (*Pédiatrie*)

Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET

Professeur Cyril SCHWEITZER – Professeur Emmanuel RAFFO – Professeure Rachel VIEUX

2^{ème} sous-section : (*Chirurgie infantile*)

Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE

3^{ème} sous-section : (*Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale*)

Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Olivier MOREL

4^{ème} sous-section : (*Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale*)

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (*Oto-rhino-laryngologie*)

Professeur Roger JANKOWSKI – Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER

2^{ème} sous-section : (*Ophthalmologie*)

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeure Karine ANGIOI

3^{ème} sous-section : (*Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie*)

Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeure Muriel BRIX

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

61^{ème} Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Professeur Walter BLONDEL

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeur Jean-Marc BOIVIN

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeur associé Paolo DI PATRIZIO

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteure Manuela PEREZ

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Docteur Edouard BARRAT - Docteure Françoise TOUATI – Docteure Chantal KOHLER

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Docteure Aude MARCHAL – Docteur Guillaume GAUCHOTTE

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDECINE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Docteur Jean-Claude MAYER - Docteur Jean-Marie ESCANYE

2^{ème} sous-section : (*Radiologie et imagerie médecine*)

Docteur Damien MANDRY – Docteur Pedro TEIXEIRA (*stagiaire*)

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Docteure Sophie FREMONT - Docteure Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN

Docteure Catherine MALAPLATE-ARMAND - Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA – Docteur Abderrahim OUSSALAH (*stagiaire*)

2^{ème} sous-section : (*Physiologie*)

Docteur Mathias POUSSEL – Docteure Silvia VARECHOVA

3^{ème} sous-section : (*Biologie Cellulaire*)

Docteure Véronique DECOT-MAILLERET

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)

Docteure Véronique VENARD – Docteure Hélène JEULIN – Docteure Corentine ALAUZET

2^{ème} sous-section : (*Parasitologie et mycologie (type mixte : biologique)*)

Docteure Anne DEBOURGOGNE (*sciences*)

3^{ème} sous-section : (*Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales*)

Docteure Sandrine HENARD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteure Frédérique CLAUDOT – Docteur Cédric BAUMANN –

Docteure Nelly AGRINIER (*stagiaire*)

2^{ème} sous-section (*Médecine et Santé au Travail*)

Docteure Isabelle THAON

3^{ème} sous-section (*Médecine légale et droit de la santé*)

Docteur Laurent MARTRILLE

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Hématologie ; transfusion : option hématologique (type mixte : clinique)*)

Docteur Aurore PERROT (*stagiaire*)

2^{ème} sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie : cancérologie (type mixte : biologique)*)

Docteure Lina BOLOTINE

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Docteur Christophe PHILIPPE – Docteure Céline BONNET

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Docteure Françoise LAPICQUE – Docteur Nicolas GAMBIER – Docteur Julien SCALA-BERTOLA

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (*Rhumatologie*)

Docteure Anne-Christine RAT

3^{ème} sous-section : (*Dermato-vénéréologie*)

Docteure Anne-Claire BURSZEJN

4^{ème} sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie*)

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

3^{ème} sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire*)

Docteur Fabrice VANHUYSE

4^{ème} sous-section : (*Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire*)

Docteur Stéphane ZUILY

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{ère} sous-section : (*Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie*)

Docteur Jean-Baptiste CHEVAUX (*stagiaire*)

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (*Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie*)

Docteure Laure JOLY

=====

MAÎTRE DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteure Elisabeth STEYER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES
Monsieur Vincent LHUILLIER

19^{ème} Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE
Madame Joëlle KIVITS

60^{ème} Section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE, GÉNIE CIVIL
Monsieur Alain DURAND

61^{ème} Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL
Monsieur Jean REBSTOCK

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Madame Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Monsieur Nick RAMALANJAONA

65^{ème} Section : BIOLOGIE CELLULAIRE
Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE
Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE ISLA - Madame Nathalie MERCIER – Madame Céline HUSELSTEIN

66^{ème} Section : PHYSIOLOGIE
Monsieur Nguyen TRAN

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale
Docteure Sophie SIEGRIST - Docteur Arnaud MASSON - Docteur Pascal BOUCHE

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)

Professeure Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume-Uni)
Professeur Yunfeng ZHOU (2009)
Université de Wuhan (CHINE)
Professeur David ALPERS (2011)
Université de Washington (U.S.A)
Professeur Martin EXNER (2012)
Université de Bonn (ALLEMAGNE)

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Marie MACHOUART,
PU-PH, laboratoire de mycologie-parasitologie, CHU de Nancy.

*Tu me fais l'honneur d'accepter la présidence de ce jury.
Je te remercie de l'intérêt que tu as bien voulu porter à mon travail.*

A Madame le Docteur Anne DEBOURGOGNE,
MCU-PH, laboratoire de mycologie-parasitologie, CHU de Nancy.

*Je te remercie sincèrement pour la confiance que tu m'as accordée en me proposant ce
travail, pour ton soutien et tout le temps que tu m'as consacré.*

Sois assurée de ma sincère reconnaissance.

Merci pour tous ces moments de partages et de complicité... et aussi pour les gâteaux !

A Madame le Docteur Jocelyne DERELLE,
PH, service de médecine infantile, CHU de Nancy.

*Je vous suis très reconnaissant du soutien et de l'intérêt que vous avez porté à ce travail.
Veuillez trouver l'expression de toute ma gratitude.*

A Madame le Professeur Chantal FINANCE,
PU-PH, laboratoire de virologie, CHU de Nancy.

*Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.
Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance profonde.*

Aux professionnels médecins et pharmaciens
qui m'ont accueilli dans leurs services et m'ont enseigné le savoir-faire et le
savoir être du biologiste.

Aux équipes techniques
qui m'ont accueilli, intégré et fait partager leur expérience et leur bonne
humeur.

Aux équipes des Dr Derelle et Billon des CRCM du CHU de Nancy
qui étaient toujours disponibles lors de l'élaboration de ce travail.

A ma famille,

A mes parents.

Merci pour tout.

A Marie,

qui a cru en moi depuis le début de cette aventure et qui m'a toujours encouragé.

A mes grands-parents,

qui veillent sur moi ici ou là-haut.

A mes cousins, cousines, oncles et tantes, parrain et marraine.

Merci pour tous vos précieux conseils.

A mes amis,

A la Dudette, au Président, au Minion,

*Tu m'as fait découvrir tes passions : l'œnologie, la mode, la guitare et...
l'œnologie. L'élève n'est pas encore prêt à dépasser le maître (sauf peut-être dans une
catégorie).*

*Plus sérieusement, on a surtout vécu des moments inoubliables : des éclats de
rire, des instants de joie : une soirée crêpes qui dégénère, un « vous avez des lunettes
habituellement ? » d'anthologie, des peines – parfois en musique et/ou en dansant
(souviens-toi du Télégramme), des souvenirs cocasses, des confessions (très) intimes et des
câlins partagés.*

Merci aussi pour le badge, les clés, le canap' et désolé pour les lattes.

A Lolo,

*2^e grand œnologue de renom et accessoirement champion de salsa portoricaine
et de culturisme.*

*A ces discussions en tête à tête tout en bossant les pecs et les biceps, à ces
soirées en trio réjouissantes (...Télégramme bis), à tes instants de folie pure qui me font
toujours bien rire (la chemise, les modes Lolo-off et Lolo-robot).*

A Nini,

*Parce que ça fait toujours chaud au cœur de croiser quelqu'un qui nous
comprend aussi bien et qui soit là à chaque moment même les plus difficiles voire
incongrus (une visite à la cour des miracles, l'épisode du rasta en scooter, les instants
« BANG ! »...). Et parce que les câlins, nous on aime encore bien !*

A Caro, ma plus fidèle confidente et « deuxième maman ».

*Merci pour tous ces moments « choubidous » et tes conseils éclairés et précieux.
Et promis, on continuera à prendre des verres et des caf' ensemble même si on
se retrouve à « Tataouine-les-Bains » !*

Aux Lulu(s),

*Une avec un L, son franc-parler légendaire et ses expressions truculentes
retrouvées dorénavant dans le langage courant.
L'autre avec deux L, ses cigales, sa bonne humeur et ses talents culinaires
inégalables.*

A Lucio et Aurélie,

Lucio, merci pour toutes ces belles années d'amitié sans arrière-pensées :

- *les années lycées ou la découverte des « plaisirs simples de la vie »,*
- *les années P1 où se côtoyaient les soirées nanars, les repas gastronomiques au RU, les balades nocturnes sur le chemin du Willis, les visites de carrées obstinées, les « sortages » et enfin quelques soirées « bossage »,*
- *la P2 et ton acharnement à vouloir me faire découvrir les joies des soirées étudiantes,*
- *la D1 et l'externat et les soirées Pizza Fresca entre amis arrosées de Muscat du NORMA,*
- *l'internat, où malgré la pression, tu as organisé un week-end d'enfer au pays des Bouchons, et qui t'a ramené sur tes terres d'origine le temps d'un semestre en mocassins.*

Aurélié, merci à toi de veiller sur ton Nico.

A Jude et Céline,

Vous êtes toujours disponibles dans les moments de joie comme dans ceux plus difficiles, malgré vos obligations professionnelles et familiales.

Jude, la personne la plus gentille que je connaisse, avec qui j'ai vécu des moments inoubliables voire magiques (un « vachement beaucoup » qui vient du cœur, un vol en parapente en tenue de mariée, une séance photo qui vire à l'obsession...) et d'autres plus tendres (« Tu veux un câlin ? »...).

Céline, la personne la plus gentille que je connaisse (bis), toujours à l'écoute et de bons conseils.

A Mick et Guigui,

Aux petits restos, quelque peu éparpillés sur l'année, mais qui font toujours bien plaisir.

Mick, merci pour tous ces moments de partage, affectifs (une nuit de veillée, un petit « reste avec moi » qui en dit beaucoup...) et culturels (débatte sur quel est le « meilleur film du monde », se demander qui citer dans la partie REMERCIEMENTS (sic !) d'une thèse : Angelina Jolie ou Scarlett Johansson ?).

Guigui, merci pour ta générosité, ta bonne humeur et ton rire légendaire communicatifs

A la Team Hémato – Cricri, Pr Fibrine, Barbidou (featuring Nicks).

A tous ces moments absolument incroyables passés ensemble : des lectures de myélos dans la joie et la bonne humeur (euphémisme), des soirées tarot de dingue faites de visites impromptues, des chutes de podium, des chutes tout court. Merci à Barbidou et ton carnet de répliques cultes, à conserver loin des regards indiscrets.

A Pierre,

Qui n'a pas changé depuis la 6^e, à quelques détails près.

A Kevin,

La personne la plus demandée de la Terre mais qui trouve toujours un créneau pour aller boire un coup au P'tit René !

A tous ceux qui se sont éloignés mais qui restent toujours dans
mes pensées :

Romain, Isa, Popol, Mr Ousch, Mumute, JP...

Et à toutes ces belles rencontres faites durant ces 4 années
d'internat :

Les « anciens » : Brice, Jojo, Anthony, Valérie, Alex, Christelle, Dimitri, Claire,
Hélène...

Les plus jeunes : Elodie, Arnaud, Clément, Briec, Lucie, Benoît...

Et Yannick, pour sa visite étincelante le temps d'un été morose.

SERMENT

« **A**u 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 sont 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 ».

Table des matières

LISTE DES PROFESSEURS.....	2
REMERCIEMENTS.....	8
SERMENT.....	18
TABLE DES MATIERES.....	19
INDEX DES FIGURES.....	22
INDEX DES TABLEAUX.....	22
ABREVIATIONS.....	23
INTRODUCTION.....	25
 PARTIE I : L'ABPA : DONNEES DE LA LITTERATURE.....	 26
1. GENERALITES.....	27
2. EPIDEMIOLOGIE	29
A. PREVALENCE	29
B. FACTEURS PREDISPOSANTS.....	30
a) <i>Chez les patients mucoviscidosiques</i>	30
b) <i>Chez les patients asthmatiques</i>	30
c) <i>Facteurs prédisposants communs à l'asthme et à la mucoviscidose</i>	31
3. PHYSIOPATHOLOGIE.....	32
A. DIFFERENCE ABPA / HYPERSENSIBILITE A ASPERGILLUS.....	32
B. PATHOGENICITE / FACTEURS DE VIRULENCE.....	32
C. IMMUNITE	34
4. DIAGNOSTIC	35
A. CRITERES DIAGNOSTIQUES	35
a) <i>Chez l'asthmatique</i>	35
b) <i>Chez le patient mucoviscidosique</i>	36
c) <i>Proposition de nouveaux critères diagnostiques par Rithest Agarwal</i>	37
B. CLINIQUE	38
C. IMAGERIE	38
a) <i>Radiographie thoracique</i>	39
b) <i>Tomodensitométrie (TDM) thoracique</i>	40
c) <i>Classification des formes radiologiques selon Rithest Agarwal, 2013</i>	42
D. FONCTION RESPIRATOIRE	43
a) <i>Spirométrie</i>	43
b) <i>Tests pharmacologiques</i>	45
c) <i>Etude des échanges gazeux au repos : transfert pulmonaire des gaz</i>	45
E. BIOLOGIE	46
a) <i>Microbiologie</i>	46
b) <i>Hyperéosinophilie</i>	46
c) <i>Prick tests</i>	47

d) Marqueurs immunologiques	48
e) IgE totales	48
f) IgE spécifiques à <i>A. fumigatus</i>	48
g) -IgE spécifiques contre les allergènes recombinants d' <i>A. fumigatus</i>	49
h) IgG spécifiques à <i>A. fumigatus</i>	50
i) Précipitines aspergillaires	51
j) Thymus and Activation Regulated Chemokines (TARC)	51
k) Cellular Antigen Stimulation Test (CAST)	52
5. STADES	53
A. SELON PATTERSON ET AL (1982)	53
B. SELON KUMAR (2003)	54
6. TRAITEMENTS	55
A. CORTICOTHERAPIE SYSTEMIQUE	55
B. CORTICOÏDES INHALES	56
C. TRAITEMENTS ANTIFONGIQUES	56
a) Itraconazole SPORANOX®	56
b) Voriconazole VFEND®	58
D. OMALIZUMAB XOLAIR®	58
E. MESURES ASSOCIEES	58
a) Solution saline hypertonique en aérosols	58
b) Contrôle des surinfections bactériennes	59
c) Désobstruction bronchique et amélioration de la clairance mucociliaire	59
d) Contrôle de l'exposition environnementale	59
7. COMPLICATIONS	60
A. EXACERBATIONS RECURRENTES	60
B. COLLAPSUS DES VOIES AERIENNES	60
C. BRONCHECTASIES	60
D. ASPERGILLOSE PULMONAIRE CHRONIQUE	61
E. HYPERTENSION ARTERIELLE PULMONAIRE	61

PARTIE II : CARACTERISTIQUES DES PATIENTS PRESENTANT UNE ABPA AU CHU DE NANCY.....62

1. PATIENTS ET METHODES	63
2. RESULTATS	64
A. EPIDEMIOLOGIE	64
a) <i>Prévalence</i>	64
b) <i>Age et sexe</i>	64
B. CARACTERISTIQUES DE LA PATHOLOGIE SOUS-JACENTE, LA MUCOVISCIDOSE	66
a) <i>Mutations génétiques</i>	66
b) <i>Âge au diagnostic</i>	66
c) <i>Complications</i>	66
C. CIRCONSTANCES DIAGNOSTIQUES	67
D. IMAGERIE	68
E. EPREUVES FONCTIONNELLES RESPIRATOIRES (EFR)	68
F. BIOLOGIE	68
a) <i>IgE totales et spécifiques</i>	69
b) <i>IgG spécifiques et précipitines</i>	69
c) <i>ECBC</i>	70
d) <i>Eosinophilie</i>	70
G. TRAITEMENT	73
3. DISCUSSION.....	74

PARTIE III : UTILISATION D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE DIAGNOSTIQUE DE CONFIRMATION POUR LA RECHERCHE D'ANTICORPS ASPERGILLAIRES.....79

1. CONTEXTE SCIENTIFIQUE.....	80
2. MATERIELS ET METHODES.....	82
A. PATIENTS TESTES.....	82
B. REACTIFS ET MODE OPERATOIRE.....	82
a) <i>Co-Electrosynérèse</i>	82
b) <i>Western Blot</i>	87
3. RESULTATS	93
A. RESULTATS GENERAUX	93
B. ANALYSE DES CONCORDANCES ET DISCORDANCES	95
C. ANALYSE EN FONCTION DE LA PERIODE CLINIQUE	96
D. DOSSIER DE VALIDATION DE METHODES	97
4. DISCUSSION.....	100

CONCLUSION.....102

BIBLIOGRAPHIE.....103

Index des figures

FIGURE 1 : DIFFERENTS TYPES D'ASPERGILLOSE, AVEC LEUR DUREE D'EVOLUTION, EN FONCTION DE L'ETAT IMMUNITAIRE DU PATIENT	27
FIGURE 2 : SCHEMA DES DIFFERENTS ACTEURS DE LA REPONSE DE L'HOTE A L'INHALATION DE CONIDIES D' <i>ASPERGILLUS</i>	33
FIGURE 3 : EXEMPLES D'INFILTRATS PULMONAIRES CHEZ DES ENFANTS MUCOVISCIDOSIQUES ATTEINTS D'ABPA QUI DISPARAISSENT SOUS CORTICOTHERAPIE ORALE ET TRAITEMENT ANTIFONGIQUE.....	40
FIGURE 4 : FENETRE PULMONAIRE D'UN TDM THORACIQUE MONTRANT DES BRONCHECTASIES S'ETENDANT JUSQU'A LA PERIPHERIE ET DES IMPACTIONS MUCOÏDES A L'INTERIEUR DES CAVITES BRONCHECTASIQUES DU POUMON GAUCHE	41
FIGURE 5 : A GAUCHE ; FENETRE MEDIASTINALE D'UN TDM THORACIQUE MONTRANT LA PRESENCE DE MUCUS HAUTEMENT ATTENUÉ AVEC, A DROITE, LA CORRESPONDANCE AVEC LA FENETRE PULMONAIRE.....	42
FIGURE 6 : VOLUMES ET CAPACITES PULMONAIRES	44
FIGURE 7 : DETERMINATION DU VEMS ET DE LA CVF	45
FIGURE 8 : ÂGE DES 17 PATIENTS AU MOMENT DE L'ETUDE.....	64
FIGURE 9 : ABPA : ÂGE AU DIAGNOSTIC ET DELAI D'APPARITION APRES LE DIAGNOSTIC DE MUCOVISCIDOSE POUR LES 17 PATIENTS ETUDIES.....	65
FIGURE 10 : SEXE-RATIO DES PATIENTS ATTEINTS D'UNE ABPA SUIVIS AU CRCM DU CHU DE NANCY	65
FIGURE 11 : CIRCONSTANCES DIAGNOSTIQUES DE L'ABPA AU CRCM DU CHU DE NANCY.....	67
FIGURE 12 : TRAITEMENT INSTAURÉ AU MOMENT DU DIAGNOSTIC D'ABPA	73
FIGURE 13 : PRINCIPE DE LA METHODE DE CO-ELECTROSYNERESE (MODE OPERATOIRE DE LA PLATEFORME D'IMMUNODIAGNOSTIC DU CHU DE NANCY).....	83
FIGURE 14 : CO-ELECTROSYNERESE.....	86
FIGURE 15 : AUTOMATE AUTO-LiPA UTILISÉ POUR LA REALISATION DES WB.....	88

Index des tableaux

TABEAU 1 : LES CINQ STADES DE L'ABPA, D'APRES PATTERSON <i>ET AL</i>	54
TABEAU 2 : DONNEES BIOLOGIQUES AU MOMENT DU DIAGNOSTIC ET DES EXACERBATIONS D'ABPA	72
TABEAU 3 : RESULTATS WB <i>ASPERGILLUS</i> VS CO-ELECTROSYNERESE.....	94
TABEAU 4: CONCORDANCES ET DISCORDANCES COES /WB.....	95

ABRÉVIATIONS

ABPA : Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique

ABPA-B : ABPA with Bronchiectasis

ABPA-CPF : ABPA with Chronic Pleuropulmonary Fibrosis

ABPA-HAM : ABPA with High-Attenuation Mucus

ABPA-S : Serological ABPA

Ac : Anticorps

Ag : Antigène

APC : Aspergillose Pulmonaire Chronique

AS : Aspergillus Sensitization

CAST : Cellular Antigen Stimulation Test

CD : Cluster Differentiation

CFTR : Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator

CO : Monoxyde de carbone

CoES : Co-Electrosynérèse

COFRAC : Comité Français d'Accréditation

CPT : Capacité Pulmonaire Totale

CRCM : Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose

CV : Capacité Vitale

CVF : Capacité Vitale Forcée

CVL : Capacité Vitale Lente

Da: Dalton

DLCO : Capacité de diffusion pulmonaire du monoxyde de carbone

ECBC : Examen Cytobactériologique des Crachats

EFR : Epreuves Fonctionnelles Respiratoires

ELISA : Enzyme Linked ImmunoAssay

ERCF : European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis

ESCF : North American Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis

FEIA : Fluorescent Enzyme ImmunoAssay
HAM : High-Attenuation Mucous Plugging
HLA : Human Leucocyte Antigen
HTAP : Hypertension Artérielle Pulmonaire
IEP : Immunoélectrophorèse
Ig : Immunoglobuline
IL : Interleukine
MBL : Mannose-Binding Lectin
PBS : Phosphate Buffered Saline
PRRs : Pattern Recognition Receptors
RAST : RadioAllergoSorbent Test
SP : Surfactant Pulmonaire
TARC : Thymus and Activation Regulated Chemokine
TDM : Tomodensitométrie
TLRs : Toll-Like Receptors
VC : Volume Courant
VR : Volume Résiduel
VRE : Volume de Réserve Expiratoire
VRI : Volume de Réserve Inspiratoire
VEMS : Volume Expiratoire Maximal en une Seconde
WB : Western Blot

INTRODUCTION

L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique est une pathologie touchant essentiellement des sujets immunocompétents et compliquant le plus souvent un asthme ou une mucoviscidose.

Son diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et radiologiques.

Actuellement, la recherche des anticorps aspergillaires (l'un des critères diagnostique de l'ABPA) est confirmée au CHU de Nancy par la technique de co-électrosynérèse. Cependant, cette technique est longue et difficile à interpréter. De plus, certains réactifs tendent à ne plus être commercialisés. Ainsi, le laboratoire doit mettre en place une nouvelle méthode de confirmation sérologique.

Les objectifs de travail seront de caractériser la population de patients atteints d'ABPA au CHU de Nancy, et de mettre en place une nouvelle technique de confirmation sérologique du diagnostic d'ABPA au sein de la plateforme de sérodiagnostic du CHU de Nancy – Brabois.

Dans un premier temps, une synthèse des données actuelles disponibles dans la littérature scientifique sur l'ABPA sera réalisée, en détaillant notamment les différents moyens diagnostiques ainsi que les mesures thérapeutiques envisageables.

Ensuite, les caractéristiques des patients atteints d'une ABPA dans notre centre, le CHU de Nancy, seront déterminées et confrontées aux données nationales et internationales concernant cette pathologie et ce terrain spécifique.

Enfin, la comparaison de méthode et l'étude des performances de la technique Western Blot seront présentées pour déterminer si cette méthode sera retenue en pratique clinique dans notre centre.

PARTIE I

L'ASPERGILLOSE BRONCHO-PULMONAIRE ALLERGIQUE :

DONNÉES DE LA LITTERATURE

1. Généralités

Aspergillus est un champignon sporifère commun, fréquemment retrouvé dans les déchets organiques, la poussière et les composts. Différentes espèces existent, mais *Aspergillus fumigatus*, pathogène ubiquitaire pouvant coloniser l'arbre bronchique, est responsable de 80 % des infections chez l'Homme (1). Différents tableaux cliniques peuvent être décrits en fonction des pathologies sous-jacentes tels que :

- l'aspergillome chez des patients ayant des cavernes pulmonaires préexistantes ;
- l'aspergillose chronique nécrosante chez ceux ayant une immunodépression légère ou une maladie pulmonaire chronique ;
- l'aspergillose invasive dans des cas d'immunodépression sévère ;
- l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA).

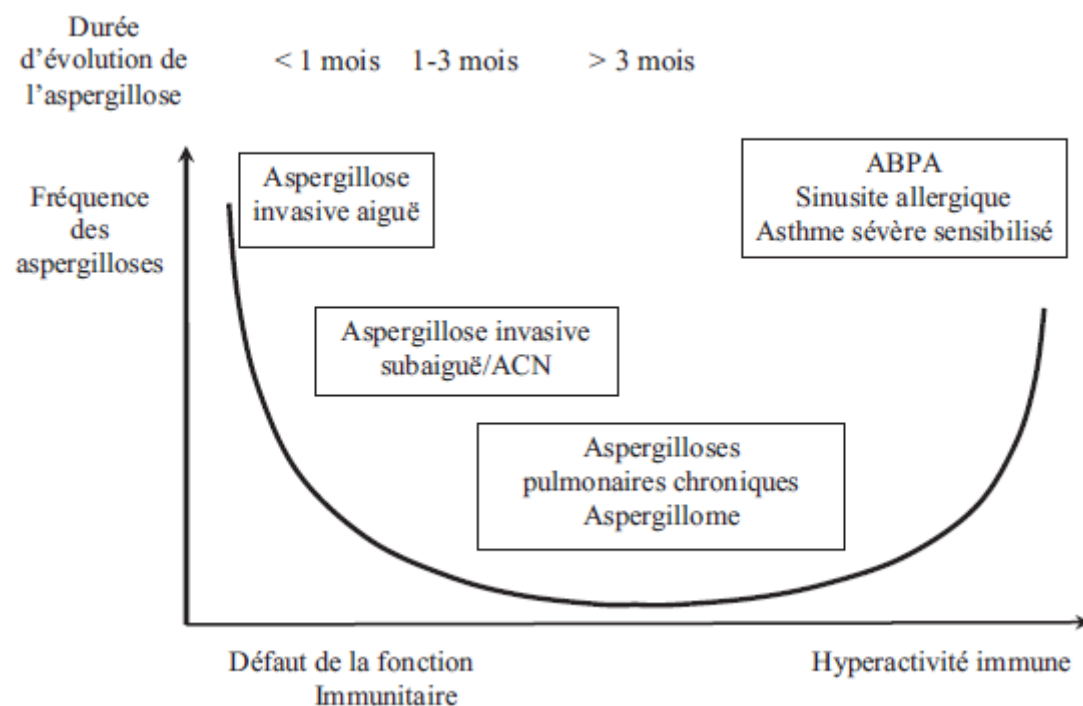


Figure 1 : Différents types d'aspergillose, avec leur durée d'évolution, en fonction de l'état immunitaire du patient (2)

Cette dernière entité résulte d'une réaction complexe d'hypersensibilité vis-à-vis d'*Aspergillus fumigatus*. Elle survient chez des patients non immunodéprimés, essentiellement asthmatiques ou atteints de mucoviscidose.

En réalité, bien qu'*A. fumigatus* soit le principal agent pathogène dans l'ABPA, plusieurs autres espèces du genre *Aspergillus* peuvent être responsables de la maladie notamment *A. flavus*, *A. nidulans* et *A. niger* (3).

L'inhalation de spores à partir de l'environnement entraîne le développement d'hyphes aspergillaires au niveau du mucus bronchique. Ceci induit une réponse immune par l'intermédiaire de lymphocytes T (Th2 CD4+) et la production d'immunoglobulines (Ig) E, G et A (4).

Cliniquement, l'ABPA se caractérise par une altération de la clairance mucociliaire, des impactions mucoïdes, une obstruction des voies aériennes et des infiltrats pulmonaires. Elle est marquée par des épisodes sévères d'inflammation et d'obstruction bronchique pouvant mener, à terme, à une destruction tissulaire avec l'apparition de bronchiectasies. Les exacerbations sont entrecoupées de périodes de rémissions plus ou moins longues. Au stade terminal, la maladie peut aboutir à une fibrose irréversible (5).

Le diagnostic est établi grâce à un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et radiologiques.

La maladie reste cependant sous-diagnostiquée dans plusieurs pays, voire diagnostiquée à tort comme une tuberculose pulmonaire dans les pays en voie de développement (6). Il existe de plus un retard de dix ans entre l'apparition des symptômes et la confirmation du diagnostic d'ABPA (7).

Le traitement de l'ABPA repose essentiellement sur la corticothérapie systémique associée à l'itraconazole (8,9). D'autres molécules commencent également à faire preuve de leur efficacité.

2. Epidémiologie

L'ABPA a été décrite pour la première fois par Hinson et Peppys, en 1952, sur une série de huit patients asthmatiques originaires du Royaume-Uni (10). Aux Etats-Unis, les premiers cas ont été identifiés dans les années 1970 (11,12).

A. Prévalence

La prévalence de l'ABPA s'étend de 1 à 8 % chez les patients asthmatiques, et elle survient surtout chez les adultes (13). Dans la mucoviscidose, elle touche principalement les enfants de plus de six ans (14), les adolescents et les adultes, avec une prévalence allant de 6 à 25 % (15).

D'après le registre épidémiologique de la mucoviscidose, la prévalence globale de l'ABPA en Europe était de 7,8 % en 2000, avec des écarts variables selon les pays, allant de 2,1 % en Suède à 13,6 % en Belgique (14,16). Elle est moindre aux Etats-Unis (2 %)(17).

En France, elle est le plus souvent rencontrée dans les régions du Nord, alors qu'elle est plus rare dans les régions méridionales (18).

B. Facteurs prédisposants

Les facteurs prédisposants décrits dans la littérature diffèrent selon la pathologie d'origine, que ce soit la mucoviscidose ou l'asthme.

a) Chez les patients mucoviscidosiques

Dans l'ESCF (North American Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis) (17) et l'ERCF (European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis) (16), une augmentation de la prévalence de l'ABPA a été notée chez plusieurs catégories de patients :

- les enfants de plus de 6 ans ou les adolescents,
- ceux ayant des fonctions respiratoires faibles, des sifflements respiratoires et une infection chronique microbienne à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Candida albicans*.

Chacun de ces critères peut ainsi être considéré comme facteur favorisant l'ABPA.

L'atopie (définie par un taux d'IgE > 1000 UI/mL) est considérée comme étant un facteur de risque majeur pour le développement d'une ABPA. En effet, chez les patients atopiques, la prévalence de l'ABPA est de 22 % alors que chez les non atopiques, elle est seulement de 2 % (19).

Bien que *A. fumigatus* soit assez fréquemment isolé dans les crachats des patients mucoviscidosiques (9 – 57 %) (17), sa simple présence n'est pas associée à l'ABPA (20).

b) Chez les patients asthmatiques

Tous les asthmatiques ne développent pas une ABPA malgré l'exposition à un même milieu. Les facteurs environnementaux ne sont pas les seuls à l'origine de la maladie de même que l'atopie, responsable de la grande majorité des cas d'asthme dans les pays développés.

De plus, selon Marchand *et al*, les individus ayant une mutation du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) sont plus à risque de développer une ABPA. Cette même étude a également montré qu'une ou plusieurs mutations du gène CFTR, en association avec des facteurs environnements et génétiques, pourraient être impliquées dans la

pathogénèse de l'ABPA, chez des sujets n'ayant pas les critères cliniques de la mucoviscidose ni même de l'asthme (21).

c) Facteurs prédisposants communs à l'asthme et à la mucoviscidose

D'après Chauhan *et al*, les antigènes HLA-DR, DR2 et DR5, et probablement les antigènes HLA-DR4 et DR7, contribueraient à cette susceptibilité. Au contraire, HLA-DQ2 serait associé à une protection vis-à-vis de l'affection (22,23).

De plus, des polymorphismes au niveau de la région du collagène de la protéine A2 du surfactant pulmonaire (SP-A2 G1649C et SP-A2 A1660G) et de l'IL-4RA pourraient aussi être impliqués dans la prédisposition au développement de l'ABPA (21,24).

3. Physiopathologie

Les mécanismes liés à l'ABPA ne sont pas entièrement connus et sont assez diversifiés. Des taux importants d'exposition aux spores aspergillaires seraient associés à des exacerbations d'ABPA.

Au cours de l'ABPA, l'inhalation de spores est suivie du développement d'hyphes aspergillaires avec induction d'une réponse lymphocytaire T (Th2 CD4+) et de la production d'anticorps (IgE médiée [type I] et IgG médiée [type III]) (4).

A. Différence ABPA / Hypersensibilité à Aspergillus

L'hypersensibilité à *Aspergillus* (ou *Aspergillus Sensitization*) (AS) est une entité particulière essentiellement décrite dans des populations de patients asthmatiques et parfois dans des populations de patients atteints de mucoviscidose.

Elle peut être définie par la présence d'une réaction d'hypersensibilité immédiate cutanée contre des antigènes d'*A. fumigatus*. Ce qui équivaut à la présence d'IgE spécifiques à *A. fumigatus* (25).

L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique est un stade avancé de l'AS, l'AS étant la première étape pathogénique dans le développement de l'ABPA.

Contrairement à celle de l'ABPA, la prévalence de l'AS est beaucoup plus élevée, allant de 5,5 % (selon Ma *et al.*(26)) à 38,5 % (selon Agarwal *et al.*(27)), dans des populations de patients asthmatiques.

B. Pathogénicité / Facteurs de virulence

Les conidies fongiques sont immunologiquement inertes en raison de la présence d'hydrophobines de surface qui empêchent la reconnaissance immunitaire des spores fongiques (28). Cependant, la clairance défectueuse des conidies dans l'asthme ou la mucoviscidose leur permet de germer et de produire ainsi des tubes germinatifs qui donneront des hyphes. Chez les patients sains, ces formes sont détruites par les polynucléaires neutrophiles. Les macrophages présents au niveau des voies respiratoires reconnaissent les champignons par l'intermédiaire de PRRs (Pattern Recognition Receptors) comme les TLRs

(Toll-Like Receptors) et la MBL (Mannose-Binding Lectin), qui déclenchent la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (29).

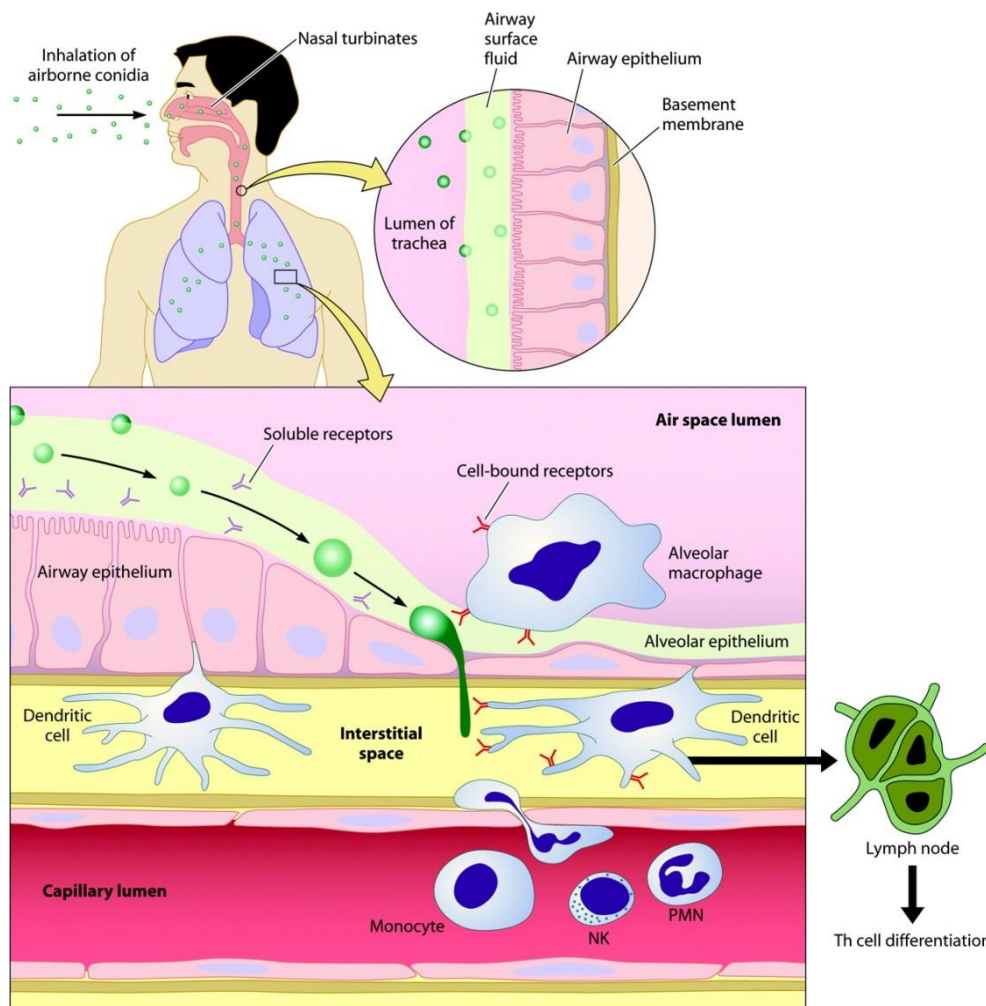


Figure 2 : Schéma des différents acteurs de la réponse de l'hôte à l'inhalation de conidies d'*Aspergillus* (29).

Dans l'ABPA, il est supposé que des défauts dans l'immunité innée et adaptative entraînent la persistance d'*A. fumigatus*.

Dans l'asthme, les conidies d'*A. fumigatus* inhalées (et occasionnellement d'autres champignons) sont capables de persister et de germer, conduisant à la croissance fongique. *A. fumigatus* libère une variété de protéines qui favorise la libération de cytokines pro inflammatoires (interleukine [IL] 6 et IL8) par l'épithélium des voies respiratoires (30,31). En outre, certaines protéases aspergillaires sont directement toxiques pour l'épithélium pulmonaire entraînant un détachement des cellules épithéliales et une mort cellulaire. Cette cascade d'évènements active le système immunitaire inné pulmonaire menant à la production de diverses cytokines inflammatoires (5).

Ces derniers éléments favorisent également le développement de l'ABPA chez les patients atteints de mucoviscidose. De plus, l'altération de la clairance d'un mucus anormal dans la mucoviscidose façonne l'environnement dans lequel *A. fumigatus* colonise les voies respiratoires pouvant ainsi favoriser le développement de l'ABPA. En raison de l'augmentation du mucus dans les voies respiratoires, les spores inhalées sont piégées. La présence continue de l'allergène conduit à une inflammation des voies aériennes respiratoires et à la persistance de lésions pulmonaires ultérieures (3).

C. Immunité

L'exposition des antigènes d'*A. fumigatus* aux cellules dendritiques pulmonaires active les cellules Th naïves en cellules T spécifiques d'*Aspergillus*. La réaction immunitaire de l'hôte à *Aspergillus* est une réponse lymphocytaire Th1 CD4+.

Cependant, la réponse immunitaire dans l'ABPA et l'AS (qui est quantitativement plus importante dans l'ABPA) est une réponse lymphocytaire Th2 CD4+ avec sécrétion de cytokines IL-4, IL-5 et IL-13. La réponse Th2 entraîne une réaction inflammatoire profonde avec afflux de diverses cellules inflammatoires (incluant polynucléaires neutrophiles et éosinophiles), une prolifération mastocytaire ainsi que la synthèse d'IgE, d'IgA et d'IgG (totales et spécifiques d'*A. fumigatus*) par les lymphocytes B (5). Cette synthèse d'immunoglobulines a lieu dans le sang et dans l'arbre respiratoire. Les taux d'anticorps spécifiques de type IgE et IgA sont plus élevés dans le liquide broncho-alvéolaire (LBA) que dans le sang, suggérant une synthèse locale, contrairement aux anticorps IgG anti-*Aspergillus fumigatus* (32).

Les patients avec ABPA développent plus fréquemment une réponse IL4+CD3+T (après stimulation par Asp f2, f3, f4 de lymphocytes circulants) comparativement aux asthmatiques sensibilisés à *Aspergillus* (33).

4. Diagnostic

A. Critères diagnostiques

Le diagnostic d'ABPA se fait sur un faisceau de critères cliniques, radiologiques et biologiques. Cette infection touchant surtout les patients asthmatiques et ceux atteints de mucoviscidose, des critères diagnostiques ont été établis selon la pathologie préexistante.

a) Chez l'asthmatique

Selon Greenberger, huit critères ont été définis, certains étant déterminants (3) :

- Asthme ;
- Tests cutanés positifs envers *Aspergillus fumigatus* en lecture immédiate ;
- IgE totales élevées (>1000 UI/mL) ;
- Présence d'IgE spécifiques envers *A. fumigatus* ;
- Présence d'anticorps précipitants IgG envers *A. fumigatus* ;
- Elévation des IgG sériques vis-à-vis d'*A. fumigatus* ;
- Eosinophilie sanguine ;
- Infiltrats pulmonaires ;
- Bronchectasies proximales.

Une réactivité cutanée immédiate contre *A. fumigatus* est presque systématique, tandis qu'une réactivité retardée n'est observée que dans 16 à 33 % des cas. Une hyperéosinophilie au niveau du sang ou des expectorations peut être observée au diagnostic ou pendant les périodes d'exacerbations en l'absence de corticoïdes. *Aspergillus fumigatus* n'est présent dans les expectorations que dans 50 % des cas (3).

Les tests les plus pertinents sont les dosages des IgE totales sériques, des IgG et IgE spécifiques d'*A. fumigatus* et la recherche d'anticorps précipitants. L'importance des anticorps spécifiques est fonction du traitement, de l'âge et du stade de l'ABPA. En effet, le taux d'IgE totales sériques diminue chez les patients atteints d'ABPA généralement 2 mois après un traitement par corticoïdes oraux bien conduit (34).

b) Chez le patient mucoviscidosique

Le diagnostic d'ABPA dans la mucoviscidose est difficile. En effet, les critères diagnostiques décrits par Greenberger (3) correspondent à des manifestations souvent partagées et rencontrées au cours de la mucoviscidose.

Afin de délimiter le flou diagnostique et de permettre un diagnostic précoce de la maladie, la « Cystic Fibrosis Foundation » a proposé, en 2003, un certain nombre de critères (8). Dans le cas classique, il s'agissait de :

1. Détérioration clinique aiguë ou subaiguë (toux, sibilants, majoration de l'expectoration, dégradation de la tolérance à l'exercice ou de la fonction respiratoire) non attribuable à une autre étiologie;
2. Réactivité immédiate (cutanée ou sérique) à *A. fumigatus* :
 - Cutanée : papule avec un diamètre > 3 mm au prick test, encerclée par un érythème, en l'absence de traitement par antihistaminique,
 - Sérique : présence d'IgE spécifique à *A. fumigatus*;
3. IgE sériques totales supérieures à 1000 UI/mL (2400 ng/mL), à moins que le patient soit sous corticothérapie systémique (si c'est le cas, refaire le test à l'arrêt du traitement) ;
4. Anticorps précipitants ou IgG sériques anti-*A. fumigatus* ;
5. Anomalies nouvelles ou récentes observées sur la radiographie thoracique (infiltrats ou quantité de mucus) ou la tomodensitométrie thoracique (broncheectasies) qui ne disparaissent pas après la prise d'antibiotiques et la physiothérapie standard.

Dans les formes plus frustes, les critères minimums pour le diagnostic étaient :

1. Détérioration clinique aiguë ou subaiguë (toux, sibilants, majoration de l'expectoration, dégradation de la tolérance à l'exercice, modification de la fonction respiratoire) non attribuable à une autre étiologie;
2. Réactivité immédiate (cutanée ou sérique) à *A. fumigatus* :
 - Cutanée : papule avec un diamètre > 3 mm au prick test, encerclée par un érythème, en l'absence de traitement par antihistaminique,
 - Sérique : présence d'IgE spécifique à *A. fumigatus in vitro*;
3. IgE sériques totales supérieures à 500 UI/mL (1200 ng/mL). Si une ABPA est suspectée et si le taux d'IgE totales est compris entre 200 et 500 UI/mL, il est recommandé de

répéter le test entre 1 et 3 mois. Si le patient est sous corticothérapie systémique, refaire le test à l'arrêt du traitement ;

4. Un des critères suivants : (a) présence de précipitines ou d'IgG vis-à-vis d'*A. fumigatus* ; ou (b) anomalies nouvelles ou récentes observées sur la radiographie thoracique (infiltrats ou quantité de mucus) ou la tomodensitométrie thoracique (bronchectasies) qui ne disparaissent pas après la prise d'antibiotiques et la physiothérapie standard

Ainsi, a été mise en place une conférence de consensus pour le dépistage de l'ABPA chez les patients atteints de mucoviscidose (8). Celle-ci recommande de :

1. Maintenir un niveau élevé de suspicion d'ABPA chez les patients de plus de six ans.
2. Déterminer la concentration sérique d'IgE totales annuellement. Si cette concentration est supérieure à 500 UI/mL, réaliser un test de réactivité immédiate à *A. fumigatus* (cutané ou sérique). Si les résultats sont positifs, il faut considérer le diagnostic sur la base des critères mineurs.
3. Si la concentration en IgE totales est comprise entre 200 et 500 UI/mL, répéter le dosage si il y a une suspicion accrue d'ABPA, par exemple une exacerbation de la maladie, et effectuer d'autres tests diagnostiques (test de réactivité immédiate cutanée vis-à-vis d'*A. fumigatus*, IgE spécifiques et IgG spécifiques vis-à-vis d'*A. fumigatus*, précipitines sériques et imagerie thoracique).

c) Proposition de nouveaux critères diagnostiques par Rithest Agarwal (ISHAM working group) :

En 2013, Agarwal *et al* ont proposé de nouveaux critères pour le diagnostic d'ABPA combinant les patients asthmatiques et ceux souffrant de mucoviscidose (5):

1. Facteurs prédisposants : asthme bronchique, mucoviscidose
2. Critères obligatoires (tous doivent être présents) :

Réaction cutanée d'hypersensibilité immédiate vis-à-vis d'*Aspergillus fumigatus* ou taux élevé d'IgE spécifiques anti-*A. fumigatus* ;

Taux d'IgE totales élevé (>1000 UI/mL)

3. Associés à au moins deux de ces critères :

Présence de précipitines 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.

Il est précisé que si un patient présente tous les « autres critères », un taux d'IgE <1000 UI/mL peut être acceptable.

B. Clinique

L'ABPA se manifeste plus fréquemment chez de jeunes adultes et fait généralement suite à un asthme qui devient corticodépendant et difficile à contrôler (crises bronchospastiques, majoration de la dyspnée...). Elle se présente aussi avec des symptômes atypiques tels que la fièvre, des malaises, une altération de l'état général (surtout une asthénie et un amaigrissement), des expectorations purulentes, des hémoptysies, des expectorations brunes ou noirâtres de moules bronchiques, une majoration de la toux et des sifflements respiratoires ou une douleur thoracique (4). Une condensation pulmonaire, en l'absence d'infection bactérienne, peut être observée (35).

Chez les patients mucoviscidosiques, qui, à terme, sont colonisés par plusieurs souches bactériennes pouvant être responsables de symptômes similaires, l'ABPA doit être suspectée devant une réponse inefficace à l'antibiothérapie intraveineuse.

Les patients peuvent aussi être asymptomatiques et l'ABPA sera découverte de manière fortuite sur des examens réalisés en routine.

Elle peut également être diagnostiquée à un stade plus avancé de la maladie, voire par une complication comme l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) (36).

Durant les périodes d'exacerbations de l'ABPA, les patients sont symptomatiques et présentent une fièvre, des hémoptysies et une toux productive.

C. Imagerie

Les anomalies radiologiques présentes au cours de l'ABPA peuvent être labiles ou fixées. Parmi les lésions labiles, sont distingués les infiltrats, les impactions mucoïdes et

l'atélectasie. Les lésions fixées sont dominées par les bronchectasies (dilatations des bronches) surtout présentes au niveau des lobes supérieurs avec une topographie centrale. Elles sont surtout de formes cylindriques et plus rarement de formes kystiques ou variqueuses, bien que ces deux dernières soient plus typiques de l'ABPA (8). Au stade terminal, d'autres lésions fixées surviennent comme la fibrose pulmonaire et les images cavitaires.

Ces lésions s'observent essentiellement par radiographie et tomodensitométrie thoracique.

a) Radiographie thoracique

- Généralités

La radiographie thoracique standard ne constitue pas en soi un bon examen pour le diagnostic d'ABPA. Elle peut néanmoins être un bon outil pour le suivi de patients souffrant d'ABPA sous corticothérapie.

- Particularités chez les enfants atteints de mucoviscidose

Des infiltrats pulmonaires transitoires ou persistants sont visibles à la radiographie. Ils sont habituellement distribués au niveau des zones pulmonaires moyennes et quelquefois au niveau des lobes supérieurs (37,38). Ces anomalies peuvent également être observées chez des patients mucoviscidosiques en l'absence d'ABPA. Cependant, dans un contexte clinique d'ABPA chez un patient souffrant de la mucoviscidose, l'apparition de nouveaux infiltrats pulmonaires sur une radiographie pulmonaire est significative.

Il est également suggéré que la disparition, partielle ou totale, des infiltrats pulmonaires avec une corticothérapie orale peut être un bon moyen d'identifier les infiltrats dus à l'ABPA (39).

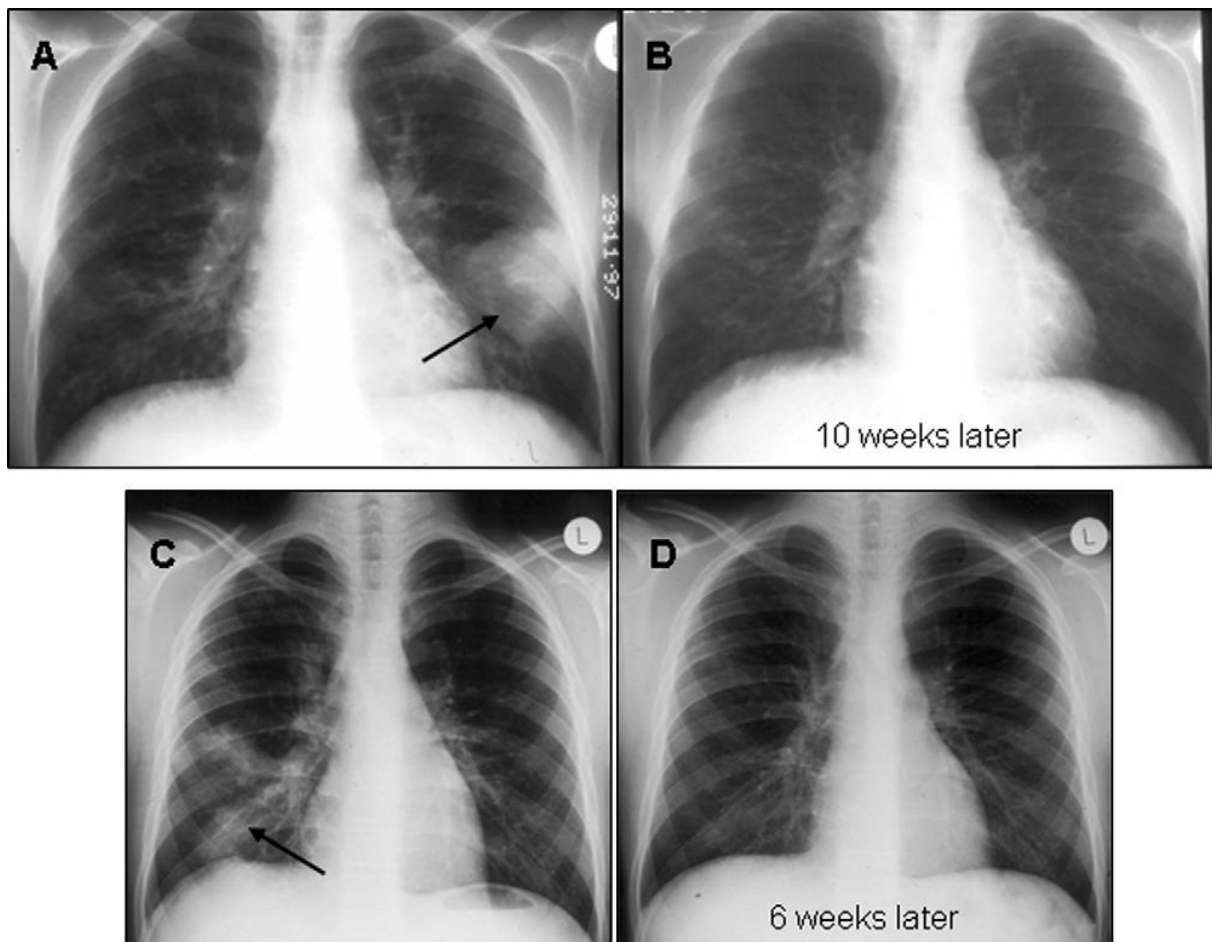


Figure 3 : Exemples d'infiltrats pulmonaires (flèches) chez des enfants mucoviscidosiques atteints d'ABPA qui disparaissent sous corticothérapie orale et traitement antifongique (après 10 semaines [A,B] ou 6 semaines [C,D]) (39).

b) Tomodensitométrie (TDM) thoracique

- Généralités

La tomodensitométrie thoracique détecte des anomalies non apparentes sur une radiographie standard, permet une meilleure évaluation de la structure et de la distribution des bronchectasies et constitue l'examen d'imagerie de choix (40).

Les anomalies rencontrées couramment sur le TDM thoracique incluent les bronchectasies, les impactions mucoïdes, les nodules centrolobulaires, les micronodules « en mimosa » (tree-in-bud patterns) ainsi que la fibrose pleuro-pulmonaire traduisant une aspergillose pulmonaire chronique (41,42). Des anomalies plus rares peuvent également être retrouvées : opacités nodulaires miliaires, opacités périhilaires simulant une lymphadénopathie hilare, effusions pleurales... (40)

La présence de bronchectasies centrales avec un rétrécissement périphérique des bronches semble typique de l'ABPA. Cependant, ces bronchectasies peuvent s'étendre en périphérie, et, de plus, des bronchectasies périphériques ont été décrites dans 26 à 39 % des lobes présentant des bronchectasies (42,43). D'autres études sont assez contradictoires à propos de ce sujet (42–46). Le groupe expert a également estimé que les bronchectasies centrales devraient être considérées comme une complication de l'ABPA et non comme un critère diagnostique (40).



Figure 4 : Fenêtre pulmonaire d'un TDM thoracique montrant des bronchectasies s'étendant jusqu'à la périphérie (flèches) et des impactions mucoïdes à l'intérieur des cavités bronchectasiques du poumon gauche (éclair) (40).

L'impaction mucoïde des voies respiratoires est un critère habituellement retrouvé dans l'ABPA. Les bouchons muqueux dans cette pathologie sont généralement hypodenses mais peuvent être hyperdenses chez 20 % des patients (43). Une hyperdensité spontanée du bronchogramme (High-attenuation mucous plugging : HAM), définie comme un mucus visuellement plus dense que le muscle squelettique paravertébral, est un critère pathognomonique de l'ABPA (27). L'HAM demeure un signe radiologique important pour le diagnostic différentiel par rapport aux autres causes de bronchectasies. Ainsi sa présence confirme que l'ABPA est la cause des bronchectasies sous-jacentes.

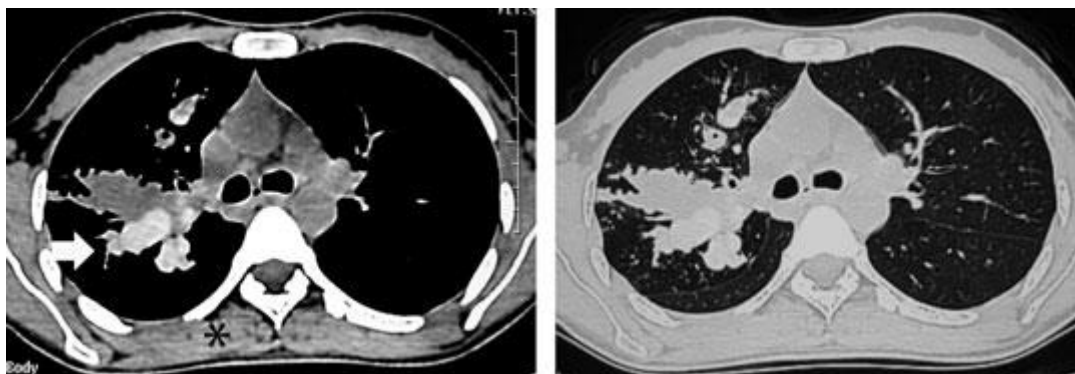


Figure 5 : A gauche ; fenêtre médiastinale d'un TDM thoracique montrant la présence de mucus hautement atténué (flèche en gras) avec, à droite, la correspondance avec la fenêtre pulmonaire. En effet, le mucus est visuellement plus dense que les muscles para-vertébraux (astérisque noire) (40).

- Particularités chez les enfants atteints de mucoviscidose

La tomodensitométrie thoracique est considérée comme plus sensible pour détecter les modifications vues dans la mucoviscidose et l'ABPA. Une haute atténuation des bouchons muqueux a été décrite comme une caractéristique de l'ABPA mais pas régulièrement dans la mucoviscidose (47,48). Cependant, des impactions mucoïdes avec une atténuation normale et des nodules centrolobulaires vus au scanner peuvent être observés dans la mucoviscidose chez des patients souffrant ou non d'ABPA (39).

La présence de bronchectasies centrales est une des caractéristiques principales de l'ABPA, mais ce type de bronchectasie (associé à des bronchectasies périphériques) est vu habituellement dans la mucoviscidose compliquée ou non d'ABPA. Toutefois, la prédominance d'une distribution centrale en l'absence de bronchectasies périphériques est en faveur d'ABPA (46,49).

c) Classification des formes radiologiques selon Rithest Agarwal, 2013 (5)

En se basant sur les classifications de Greenberger et Kumar, ainsi que sur une étude d'Agarwal, ce dernier et le groupe d'experts ont classé l'ABPA en quatre stades radiologiques :

- ABPA-S (ABPA sérologique) : Tous les critères diagnostiques de l'ABPA sont présents mais il n'y a pas d'anomalie sur le TDM en rapport avec ABPA.

- ABPA-B (ABPA avec bronchectasies) : Tous les critères diagnostiques de l'ABPA sont présents y compris les bronchectasies visibles sur le TDM. Elles sont plutôt proximales, mais également distales.

- ABPA-HAM : Tous les critères diagnostiques de l'ABPA sont présents y compris les impactions mucoïdes à mucus hyperdense.

- ABPA-CPF : ABPA avec au moins deux à trois des critères radiologiques suivants : aspect de fibrose pulmonaire voire pleurale, lésions fibro-cavitaires, aspergillomes, en l'absence d'impaction mucoïde ou d'hyperatténuation du mucus.

D. Fonction respiratoire

L'étude de la fonction respiratoire est nécessaire lors du diagnostic et du suivi ou lors des signes d'exacerbation, mais ne peut être utilisée seule dans l'évaluation de la réponse au traitement (4).

Le test de provocation bronchique avec des antigènes aspergillaires n'est, bien sûr, pas recommandé, puisqu'il peut provoquer un bronchospasme fatal (50).

a) Spirométrie

La spirométrie explore les volumes pulmonaires mobilisables, notamment le VEMS, volume expiratoire maximum au cours de la première seconde lors d'une expiration forcée, à partir de la capacité pulmonaire totale (CPT) et de la capacité vitale forcée (CVF) et lente (CVL).

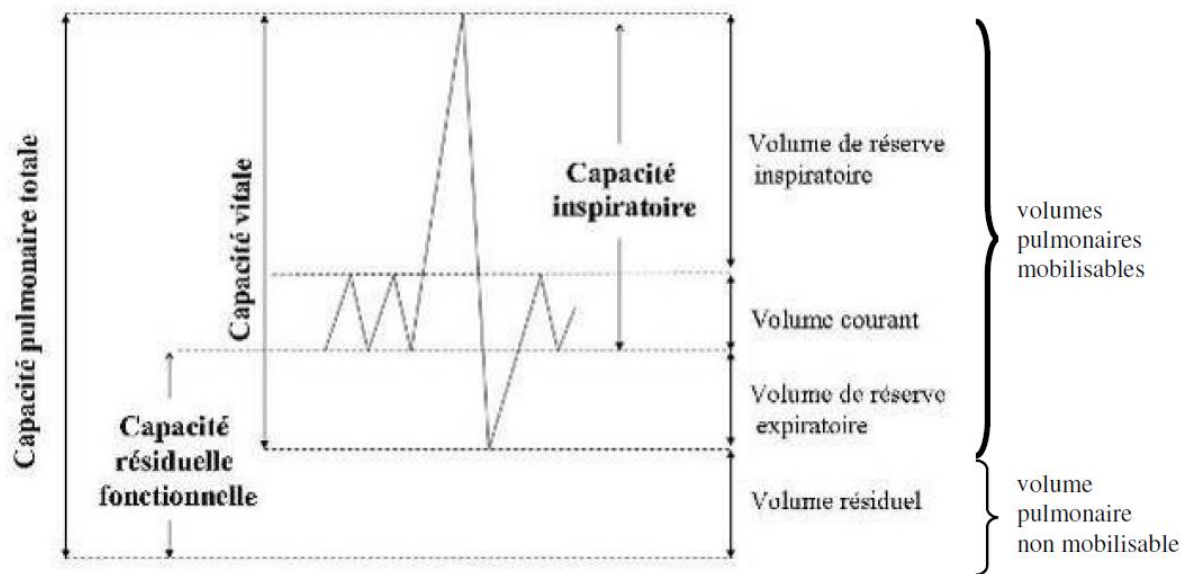


Figure 6 : volumes et capacités pulmonaires

Volume courant (VC) : volume d'air mobilisé à chaque cycle respiratoire, pendant une inspiration ou une expiration normale.

Volume de réserve inspiratoire (VRI) : volume d'air pouvant être mobilisé au-delà du volume courant pendant une inspiration profonde (forcée).

Volume de réserve expiratoire (VRE) : volume d'air supplémentaire pouvant être expiré après une expiration normale.

Capacité vitale (CV) : Somme des trois volumes précédents. Elle représente le volume d'air maximal que les poumons peuvent mobiliser, lors d'une inspiration forcée à partir du volume résiduel (VR), ou d'une expiration forcée à partir de la capacité pulmonaire totale (CPT)

Volume résiduel (VR) : Volume d'air se trouvant dans les poumons à la fin de l'expiration forcée. Autrement dit, le volume qu'il est impossible d'expirer. Il est impossible de mesurer ce volume avec des tests de spirométrie.

Capacité vitale forcée (CVF) : Volume d'air expulsé avec force jusqu'au volume résiduel (VR) à partir de la capacité pulmonaire totale (CPT). La CVF se mesure de la manière suivante: le patient est assis ou debout, il inspire à fond et souffle le plus rapidement possible tout l'air de ses poumons dans le spiromètre.

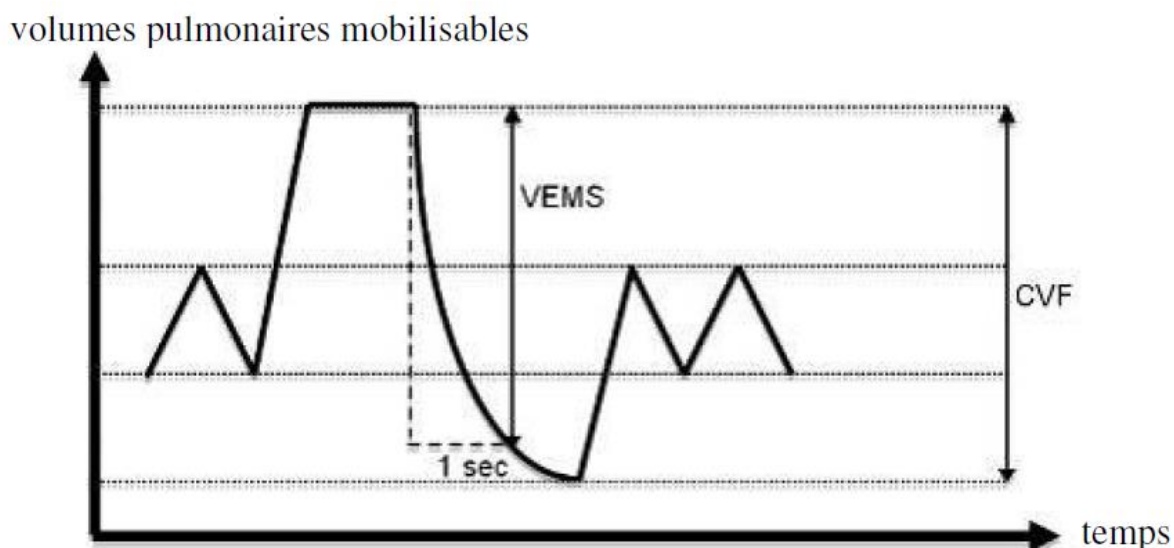


Figure 7 : Détermination du VEMS et de la CVF

Dans l'ABPA, des réductions des volumes, notamment le VEMS, sont observées au moment du diagnostic, lors des exacerbations et chez les patients au stade de fibrose (51).

L'obstruction, définie par une diminution du rapport $VEMS/CVF < 0,7$, est aggravée lors des exacerbations.

b) Tests pharmacologiques

La réversibilité du trouble ventilatoire obstructif (mesurée par le VEMS), après l'administration d'un bronchodilatateur (β_2 agoniste ou anti-cholinergique) est moins fréquente et moins importante dans l'ABPA, comparée à celle des patients asthmatiques (52).

c) Etude des échanges gazeux au repos : transfert pulmonaire des gaz

La technique consiste à inhaler une quantité connue de CO, de réaliser une apnée de 10 secondes, puis d'expirer. En retranchant la partie qui est expirée après l'apnée de la quantité totale de CO, la quantité qui a diffusé est alors connue. Toute valeur de DLCO < 70 % de la valeur théorique est considérée comme pathologique.

Le transfert du CO explore le système respiratoire dans sa globalité (ventilation, diffusion, circulation, hémoglobine). Le transfert du CO dépend donc du volume alvéolaire (VA) disponible pour sa diffusion.

Dans l'ABPA, une diminution de la capacité de diffusion pulmonaire est surtout observée au cours des périodes d'exacerbations et lors du stade de fibrose (51).

Cependant, les test de fonctions respiratoires peuvent être normaux dans l'ABPA et une spirométrie normale ne doit pas exclure le diagnostic (43).

E. Biologie

a) Microbiologie

Dans l'ABPA, *Aspergillus fumigatus* est présent dans seulement 50 % des cas au niveau des expectorations (53).

Chez les patients atteints de mucoviscidose, la prévalence se situe entre 10 et 60 %. En effet, elle varie en fonction du degré d'exposition aux spores ; les personnes vivant dans des zones rurales ou dans des logements mal ventilés ont de plus haut taux de colonisation (17). Il y a un taux plus élevé de colonisation à *Aspergillus fumigatus* chez les patients atteints de mucoviscidose et souffrant d'ABPA. D'après l'ERCF, la colonisation par *A. fumigatus* est présente chez 45 % des patients atteints d'ABPA, comparée à 16 % chez ceux sans ABPA (54).

b) Hyperéosinophilie

Une hyperéosinophilie au niveau du sang ou des expectorations peut être observée lors du diagnostic ou lors des exacerbations en l'absence de corticoïdes. Dans les expectorations, elle peut s'élever jusqu'à 3 G/L (53).

Une éosinophilie sanguine $> 0,5$ G/L était considérée comme un critère majeur de l'ABPA. Cependant, une étude récente a démontré que seulement 40 % des patients atteints d'ABPA avait une éosinophilie $> 0,5$ G/L au moment du diagnostic (55), ainsi un taux faible d'éosinophiles n'exclut pas une ABPA. Dans l'ABPA, l'éosinophilie pulmonaire constitue un meilleur paramètre que l'éosinophilie sanguine, bien qu'il existe une faible corrélation entre les deux (56,57).

Une hyperéosinophilie est commune dans beaucoup d'autres pathologies (allergiques, parasitaires, hémopathies...). Sa spécificité est par conséquent médiocre.

De plus, les patients sous corticothérapie orale peuvent avoir un taux faible ou normal d'éosinophiles.

Enfin, chez les patients atteints de mucoviscidose, l'hyperéosinophilie a un rôle limité dans le diagnostic d'ABPA. En effet, une hyperéosinophilie peut être présente chez ce type de patient et serait due à une infection chronique à *A. fumigatus* plutôt qu'à l'ABPA (8).

c) Prick tests

Une réaction cutanée d'hypersensibilité immédiate aux antigènes d'*A. fumigatus* est caractéristique d'ABPA, et correspond à la présence d'IgE spécifiques à *A. fumigatus*. Le test peut être réalisé aussi bien par un prick test cutané que par une injection intradermique. Dans la plupart des cas, le prick test cutané sera réalisé en première intention. Il s'agit d'un test facile, rapide et peu onéreux.

La sensibilité du test est de 90 % pour le diagnostic d'ABPA (58).

Dans la plupart des cas, le prick test servant à la détection d'*Aspergillus* est assez sensible pour que l'absence d'un test positif diminue la probabilité du diagnostic d'ABPA. Cependant, sa spécificité est modérément faible : une réaction positive ne signifie pas forcément ABPA. La prévalence d'une réaction cutanée à *Aspergillus* est de 23 à 28 % chez les patients asthmatiques (13). Les patients atteints d'asthme sévère peuvent donc être faussement positifs ou avoir une réponse exagérée à l'allergène testé, alors que ceux ayant pris un traitement antihistaminique dans les dernières 24-48 heures peuvent avoir un test faussement négatif.

De même, cette prévalence est de 29 % chez les patients atteints de mucoviscidose ne souffrant pas d'ABPA (59).

Par conséquent, un prick test positif doit toujours être suivi par une sérologie et une imagerie pour confirmer le diagnostic d'ABPA ; c'est pourquoi cet examen n'est pas souvent fait et une sérologie est ainsi réalisée en première intention.

Une réactivité immédiate vis-à-vis d'*A. fumigatus* est presque systématique, tandis qu'une réactivité retardée n'est observée que dans 16 à 33 % des cas (53).

d) Marqueurs immunologiques

Il s'agit des tests les plus pertinents pour le diagnostic d'ABPA, notamment les IgE totales sériques ainsi que les IgE et IgG spécifiques d'*Aspergillus fumigatus*, utilisés en routine et plus récemment les anticorps dirigés contre les allergènes recombinants d'*A. fumigatus*, actuellement encore à l'état de recherche.

e) IgE totales

Le taux d'IgE totales est un test utile pour le diagnostic et le suivi de l'ABPA. Dans les critères diagnostiques de l'ABPA, un taux d'IgE totales > 1000 UI/mL constitue un critère majeur (8). Un taux d'IgE sérique normal (en l'absence de corticothérapie systémique) exclu généralement une ABPA active comme étant responsable des symptômes actuels du patient.

D'autre part, une élévation du taux d'IgE totales reflète une hypersensibilisation à des allergènes. Cette élévation a ainsi plus de chance d'être due à l'atopie elle-même qu'à l'ABPA.

Malgré ses limites, les IgE totales constituent un outil valable pour le diagnostic d'ABPA chez les patients atteints de mucoviscidose. Leurs variations servent ainsi de marqueur pour les exacerbations de la maladie et la réponse au traitement, en rapport avec la clinique (60). Leur taux augmente pendant les phases d'exacerbation et diminue après un traitement par corticoïdes, généralement dans les deux mois après initiation (61), et peut aussi se normaliser au stade de fibrose (61).

f) IgE spécifiques à *A. fumigatus*

Comme les IgE totales, le taux d'IgE spécifiques à *A. fumigatus* peut être utile comme marqueur d'exacerbation ou de rémission et varie également en fonction du traitement.

La présence d'IgE spécifiques à *A. fumigatus* est un marqueur sensible d'ABPA dans l'asthme et la mucoviscidose comparé au taux d'IgE totales seul (62,63). Une augmentation sérologique du taux d'IgE spécifiques (> 17,5 UI/mL), mesuré par RAST

(RadioAllergoSorbent Test), suggère une sensibilisation au champignon, et, associée à un taux élevé d'IgE totales, augmente la probabilité du diagnostic d'ABPA.

Bien que les taux d'IgE totales et spécifiques soient utiles pour le diagnostic et la surveillance de l'ABPA, il existe certains patients pour lesquels ces taux sont perpétuellement augmentés (39). Dans ces cas, il est difficile de prouver si un nouveau symptôme est dû ou non à une exacerbation de l'ABPA.

g) IgE spécifiques contre les allergènes recombinants d'*A. fumigatus*

Depuis que l'identification des allergènes aspergillaires est possible, en utilisant des allergènes recombinants, la détection d'IgE spécifiques produites contre ces allergènes permet d'apporter une aide supplémentaire pour le diagnostic d'ABPA. Ces allergènes recombinants sont devenus plus largement utilisés en Europe car ils sont plus sensibles et spécifiques que les IgE totales et spécifiques. Leur utilisation aux Etats-Unis est encore peu répandue.

La détection des IgE dirigés contre les allergènes recombinants d'*A. fumigatus* se fait par technique ELISA ou par la technologie ImmunoCAP en phase solide, ce qui permet des tests quantitatifs et entièrement automatisés (8).

Environ 40 épitopes connus et présents sur *Aspergillus fumigatus* sont capables de se lier à l'IgE.

Environ une vingtaine d'allergènes recombinants (appelés Asp f1 à Asp f22) sont synthétisés, leur poids moléculaire varie de 11 à 90 kDa. Ils pourraient prochainement permettre de différencier une ABPA d'un asthme aspergillaire (64,65). Par exemple, rAsp f2, f4 et f6 semblent interagir surtout avec les IgE sériques de patients atteints d'ABPA, à l'inverse de f1 et f3, présents également chez les patients asthmatiques sensibilisés à *A. fumigatus* (66). De plus, une réactivité cutanée avec rAsp f4 et f6 est observée. D'après Schwienbacher *et al*, Asp f6 semble être un antigène présent exclusivement au niveau des hyphes aspergillaires et est absent chez les patients atteints d'un asthme allergique. Asp f6 est ainsi un antigène spécifique de l'ABPA (67).

Les performances diagnostiques des allergènes recombinants Asp f1, Asp f2, Asp f3, Asp f4 et Asp f6 ont été évaluées dans le but de différencier une mucoviscidose avec ou

sans ABPA (68,69). Ces études ont montré la présence d'IgE dirigées contre rAsp f1 et f3 chez des patients mucoviscidosiques, sensibilisés à *A. fumigatus*, non atteint d'ABPA, avec une sensibilité de 88 % et une spécificité de 100 %. En revanche, les IgE spécifiques contre rAsp f4 et f6 sont exclusivement détectées chez les patients atteints d'ABPA. 80 % des patients avec ABPA ont montré une réponse à Asp f4, 55 % à Asp f6 et 90 % à au moins l'un de ces allergènes (66)

D'autres études impliquant rAsp f1 et f3 ont montré une pauvre discrimination entre des patients sensibilisés à *A. fumigatus* et ceux atteints d'ABPA, alors qu'une réponse positive à chacun des allergènes recombinants Asp f2, f4 et f6 a montré une sensibilité et une spécificité de 100 % pour le diagnostic d'ABPA.

Les patients avec une ABPA ont, dans 70 % des cas, un taux élevé d'IgE spécifiques dirigés contre Asp f16, contrairement aux patients qui n'ont qu'une simple réactivité cutanée à *Aspergillus fumigatus* (70).

Cependant, il a été relevé un certain nombre d'incohérences dans les résultats obtenus dans différents centres (64). Bien que les données actuelles suggèrent un rôle prometteur des antigènes recombinants dans le diagnostic de l'ABPA, de plus grandes études venant de différents centres sont attendues par les groupes d'experts pour donner une recommandation finale sur la valeur diagnostique de ces allergènes.

h) IgG spécifiques à *A. fumigatus*

Le dosage des IgG et des sous-classes d'IgG spécifiques à *A. fumigatus* (Af) peut être également utile pour le diagnostic d'ABPA, surtout comme test de dépistage. Ainsi, pour confirmer le diagnostic, d'autres tests sérologiques seront requis.

Ces IgG spécifiques peuvent être recherchées soit par méthode ELISA (Enzyme Linked ImmunoAssay), soit par méthode FEIA (Fluorescent Enzyme ImmunoAssay) ou d'autres techniques (71).

Baxter *et al* ont comparé deux tests commerciaux (ImmunoCap et Platelia Aspergillus IgG EIA) aux techniques d'électrosynérèse. Ces tests avaient une meilleure sensibilité par rapport à l'électrosynérèse (respectivement 97 et 93 %). La méthode

ImmunoCap a une meilleure reproductibilité et est ainsi plus adaptée pour le suivi des taux d'IgG durant le traitement (72). Cependant, les IgG anti-*Aspergillus* ne sont pas spécifiques de l'ABPA et des taux élevés peuvent également être rencontrés dans d'autres formes d'aspergillose, en particulier l'Aspergillose Pulmonaire Chronique (APC) (73).

Selon Skov *et al*, un profil spécifique d'augmentation des taux des sous-classes d'anticorps Af-IgG1, Af-IgG2 et Af-IgG4, mais pas d'Af-IgG3 chez les patients atteints d'ABPA serait observé. Le dosage des anticorps Af-IgG4 était le plus spécifique pour établir le diagnostic d'ABPA (74).

i) Précipitines aspergillaires

Les précipitines sériques (IgG) contre *A. fumigatus* sont présentes chez 69 à 90 % des patients atteints d'ABPA (40).

La prévalence de ces précipitines aspergillaires augmenterait avec l'âge chez les patients atteints de mucoviscidose, indépendamment de l'ABPA (75,76). La détection des précipitines aspergillaires peut donc représenter des expositions antérieures à la maladie actuelle. Cependant, si des taux importants de précipitines sont détectés, la probabilité d'être atteint d'ABPA augmente.

j) Thymus and Activation Regulated Chemokines (TARC)

Une TARC est une chimiokine produite suite à la réponse immunitaire antifongique. Des études ont prouvé que les patients mucoviscidosiques atteints d'ABPA avaient des taux sériques de TARC élevés (77), comparés à ceux sans ABPA (78).

Comparé aux autres marqueurs sériques (IgE totales et spécifiques d'*A. fumigatus*, IgG spécifiques d'*A. fumigatus*, IgE spécifiques contre les allergènes recombinants d'*A. fumigatus* fl, 3, 4 et 6), les TARC constituent un marqueur plus sensible et spécifique. Les taux de TARC semblent pouvoir faire la différence entre une mucoviscidose compliquée ou non d'ABPA ; des patients mucoviscidosiques colonisés ou sensibilisés à *A. fumigatus* et des patients mucoviscidosiques atopiques. Des taux de TARC seraient élevés même avant l'apparition des signes cliniques d'ABPA et avant l'augmentation des IgE (78). Leur taux reste élevé durant une période de temps prolongée et il est suggéré que l'augmentation et la

baisse de ce taux pourraient être utilisés pour le suivi des exacerbations et des rémissions de l'ABPA (77,78).

Toutefois, d'autres études impliquant un nombre plus important de patients sont encore nécessaires pour étudier ce nouveau marqueur, qui semble avoir un grand potentiel clinique pour la détection précoce de l'ABPA.

k) Cellular Antigen Stimulation Test (CAST)

Les CAST sont utilisés en tant que marqueurs diagnostiques des réactions allergiques et pseudo-allergiques.

Ce test mesure les sulfidoleucotriènes qui sont produits *in vitro* par des polynucléaires basophiles stimulés par des allergènes.

Ringer *et al* ont étudié le rôle potentiel d'utilisation des CAST dans le diagnostic d'ABPA dans une étude de 27 patients atteints de mucoviscidose dont huit avait une ABPA confirmée cliniquement et biologiquement. Les tests étaient positifs chez tous les patients atteints d'ABPA et chez cinq patients contrôles sans ABPA mais ayant des IgE spécifiques à *A. fumigatus*. Ceci confère à ce test une forte sensibilité de 100 % mais une faible spécificité de 74 %. Cependant, la combinaison d'un test CAST positif, d'un taux d'IgE totales > 500 UI / mL et la présence d'IgE spécifiques contre les allergènes recombinants rAsp f4 et f6 était seulement retrouvée chez les patients atteints d'ABPA, élevant la spécificité à 100 % (79).

De même que pour les TARC, d'autres études impliquant un nombre plus important de patients sont nécessaires avant que les CAST ne deviennent un examen de routine pour le diagnostic d'ABPA.

5. Stades

Si elle n'est pas traitée, l'ABPA, par son processus inflammatoire inexorable, peut entraîner une dilatation des bronches et atteindre, au final, le stade de fibrose irréversible associé à un cœur pulmonaire chronique (5). L'ABPA ne se guérit généralement pas mais elle peut rester quiescente pendant de longues périodes.

A. Selon Patterson et al (1982)

D'après Patterson *et al*, l'ABPA peut être divisée en cinq stades (80,81). Il est important de noter que ces stades ne correspondent pas à des phases de la maladie.

- Stade 1 : stade aigu, caractérisé par des épisodes de sifflements respiratoires (wheezings) et une obstruction des voies aériennes réversible. Il est identifié par une augmentation nette des IgE totales, une hyperéosinophilie périphérique, la présence d'IgE et d'IgG spécifiques à *A. fumigatus* et d'infiltrats pulmonaires observés à l'imagerie. A noter que le taux d'IgE diminue ensuite lentement sur une période de six semaines.

- Stade 2 : stade de rémission, caractérisé par une chute du taux d'IgE totales (sans pour autant revenir à la normale), l'absence d'hyperéosinophilie et la disparition des infiltrats pulmonaires à la radiographie thoracique.

- Stade 3 : stade d'exacerbation, se produit chez des patients ayant un diagnostic d'ABPA établi. Les différentes caractéristiques sont les mêmes que celles observées dans le stade 1. A ce stade, les patients répondent encore bien aux corticoïdes. Le traitement précoce des infiltrats pulmonaires peut ainsi prévenir la destruction bronchique.

- Stade 4 : corticodépendance. A ce stade, toute tentative de réduction ou d'arrêt de la corticothérapie entraîne l'aggravation de l'ABPA. La présence de bronchectasies centrales est prouvée par la tomодensitométrie.

- Stade 5 : stade de fibrose. Il s'agit du stade terminal principalement caractérisé par une insuffisance respiratoire irréversible. La destruction bronchique est importante et l'arbre respiratoire est colonisé par des germes comme *Pseudomonas aeruginosa* et

Staphylococcus aureus. Les taux d'IgE et de polynucléaires éosinophiles peuvent être élevés ou bas.

Stades	Caractéristiques cliniques	Biologie	Radiologie	
I : aigu	Fièvre, douleur	Augmentation IgE totales sériques	Infiltrats	
II : rémission	Asymptomatique	IgE totales sériques normales ou augmentées	Pas d'infiltrat en absence de corticoïdes 6 mois	
III : exacerbation	Symptômes du stade aigu	Augmentation des IgE totales sériques	Infiltrats	
IV : asthme corticodépendant	Asthme persistant sévère	IgE totales sériques élevées ou normales	Présence ou absence d'infiltrat	
V : fibrose	Cyanose, dyspnée	IgE totales sériques élevées ou normales	Lésions cavitaires, bronchectasies étendues, fibrose	

Tableau 1 : Les cinq stades de l'ABPA, d'après Patterson *et al* (4).

B. Selon Kumar (2003)

Selon Kumar, les patients souffrant d'ABPA pourraient être divisés en 3 groupes (82) :

- ABPA avec une sérologie positive (s-ABPA)
- ABPA avec bronchectasies centrales
- ABPA avec bronchectasies centrales et autres anomalies radiologiques

Le groupe « s-ABPA » peut être considéré comme une forme moins agressive ou un stade débutant, et donc important à reconnaître afin de prévenir la progression vers un stade terminal d'ABPA

6. Traitements

Le traitement de l'ABPA a pour objectifs le contrôle de l'asthme et des exacerbations ainsi que la prévention de la destruction pulmonaire, en stoppant le développement des bronchiectasies et de l'aspergillose pulmonaire chronique.

Deux types de molécules sont utilisés classiquement pour leur efficacité dans cette affection : les corticoïdes oraux, qui sont immunosuppresseurs, et les antifongiques azolés, notamment l'itraconazole ou le voriconazole, qui atténuent la charge fongique dans les voies respiratoires. Depuis quelques années, l'omalizumab fait également preuve de son efficacité, en particulier chez les patients résistants à l'itraconazole ou ayant un nombre important d'exacerbations.

A. Corticothérapie systémique

Les corticoïdes oraux sont actuellement le traitement de référence des exacerbations de l'ABPA, d'après la dernière conférence de consensus de 2003 (8).

Ce sont des anti-inflammatoires ayant un effet immunosuppresseur sur l'hyperréactivité dans l'asthme et l'ABPA.

Il n'existe pas de données pour orienter sur la dose et la durée de la corticothérapie. L'utilisation de doses faibles de corticoïdes sans traitement antifongique est associée à un plus haut risque d'exacerbations récurrentes ou de corticodépendance (45 %) (81). Une dose plus forte de corticoïdes est associée à un plus haut taux de rémission et à une plus faible prévalence de corticodépendance (13,5 %) (43).

Cependant, généralement les exacerbations sont traitées par corticothérapie orale à la dose de 0,5 à 0,7 mg / kg de prednisone (83). Elle n'est pas indiquée au long cours. Elle doit être prolongée deux à six mois et réévaluée en fonction des symptômes cliniques, des épreuves fonctionnelles respiratoires, du taux d'IgE sériques totales et des résultats d'imagerie. Mais, dans la plupart des cas, la poursuite d'une corticothérapie orale prolongée est nécessaire, malgré le risque d'effets secondaires sévères (ostéoporose, diabète, hypertension artérielle, ulcère gastro-duodénal...).

B. Corticoïdes inhalés

Les corticoïdes inhalés atteignent des concentrations élevées au niveau de l'arbre trachéo-bronchique en ne donnant que des effets secondaires systémiques minimes. De nombreuses études ayant un petit nombre de patients ont rapporté l'utilisation de corticoïdes inhalés dans l'ABPA (84–89). Ces études utilisaient des doses variables de corticoïdes inhalés et plusieurs patients continuaient à recevoir une corticothérapie systémique. Les critères cliniques, radiologiques et spirométriques étaient utilisés pour définir la réponse au traitement. Ces données ne permettent pas de conclure sur l'effet bénéfique des corticoïdes inhalés pris isolément.

Cependant, à forte dose, ils permettent de contrôler les symptômes de l'asthme au cours des périodes de rémission.

C. Traitements antifongiques

L'ABPA résulte de la colonisation de l'arbre bronchique par *Aspergillus fumigatus*. Les traitements antifongiques ont été proposés dans cette indication. En effet, ils peuvent diminuer la charge fongique et par conséquent diminuer la réponse immunitaire en réduisant la stimulation antigénique, et ainsi réduire les besoins en corticoïdes oraux (9).

La classe des azolés est essentiellement utilisée : l'itraconazole SPORANOX® en règle générale, mais également le voriconazole VFEND® principalement en cas d'inefficacité du premier.

a) Itraconazole SPORANOX®

L'itraconazole est le traitement antifongique de choix ayant montré son efficacité en association avec les corticoïdes oraux.

Deux études contrôlées randomisées (84 patients au total) ont évalué le rôle de l'itraconazole dans l'ABPA (90,91).

Dans la première étude (90), randomisée, contrôlée en double insu, 55 patients ayant une ABPA corticodépendante ont reçu soit de l'itraconazole 200 mg deux fois par jour soit un placebo pendant 16 semaines. La réponse au traitement était définie par une diminution de la dose de corticoïdes oraux d'au moins 50 %, par une diminution du taux

sérique d'IgE totales de 25 % et, au moins un des paramètres suivants : augmentation de la tolérance à l'exercice d'au moins 25 %, amélioration d'au moins 25 % des résultats de spirométrie ou résolution des opacités pulmonaires. Le taux de réponse était statistiquement significatif en faveur de l'itraconazole (46 % de réponse chez les patients sous itraconazole contre 19 % chez ceux ayant reçu un placebo). Dans une seconde partie de l'étude, tous les patients recevaient en ouvert de l'itraconazole pendant 16 semaines. Durant cette phase, 12 des 33 patients qui n'avaient pas eu de réponse pendant la phase en double aveugle ont eu des réponses, et aucun de ceux ayant eu une réponse dans la phase initiale n'a fait de rechute. Les résultats de cette étude démontrent clairement l'efficacité de l'itraconazole en association à la corticothérapie orale.

Dans la seconde étude (91), Wark *et al.* ont évalué l'effet anti-inflammatoire de l'itraconazole chez les patients souffrant d'ABPA. Vingt-neuf patients « cliniquement stables » ont été inclus et randomisés pour recevoir soit de l'itraconazole 400 mg / jour soit un placebo. Une diminution de tous les paramètres inflammatoires (éosinophilie sanguine, taux sérique d'IgE totales et spécifiques d'*A. fumigatus*, présence d'*A. fumigatus* et polynucléaires éosinophiles dans les ECBC) a été observée dans le groupe traité. La diminution du taux de polynucléaires éosinophiles dans les crachats induits était surtout marquée lors du premier mois de traitement. Tous les patients recevaient également une corticothérapie inhalée et cinq patients dans chaque groupe recevaient une corticothérapie orale.

Une des principales limites est qu'aucune de ces études n'a fait état de résultats sur plus de huit mois en termes de rechutes d'ABPA.

En pratique clinique, le traitement par itraconazole devrait généralement être suivi par un dosage du médicament afin d'assurer une biodisponibilité adéquate (92) et de minimiser sa toxicité. Des données récentes suggèrent également que des taux sanguins faibles peuvent être associés à une dégradation clinique et au possible développement de résistance aux azolés pour *A. fumigatus* (92,93).

L'itraconazole a aussi été testé en monothérapie dans les phases d'exacerbation de l'ABPA (91,94), mais d'autres études sont requises pour confirmer son efficacité en monothérapie.

Chez l'enfant, la dose est généralement de 10 mg / kg.

Bien qu'il soit bien toléré à long terme, une attention particulière est à donner à la voie de métabolisation essentiellement hépatique et son usage doit être réalisé avec prudence chez les patients atteints de mucoviscidose avec une atteinte hépatique prononcée.

b) Voriconazole VFEND®

Le voriconazole est efficace dans le traitement de l'ABPA (95), s'il est bien toléré. Son utilisation se fait surtout en pédiatrie, dans l'ABPA compliquant une mucoviscidose (96,97). Il est principalement indiqué chez les patients qui développent une intolérance à l'itraconazole ou en cas d'échec d'un traitement bien conduit par itraconazole (98).

D. Omalizumab XOLAIR®

L'omalizumab est un anticorps monoclonal recombinant ciblé sur l'immunoglobuline E. Il réduit le taux d'IgE ainsi que la sensibilité de cette immunoglobuline à son récepteur (FcεR) (99).

L'utilisation de l'omalizumab dans l'ABPA est associée à une amélioration des symptômes, une réduction du nombre d'hospitalisations dues à l'asthme et aux exacerbations, une amélioration des fonctions respiratoires ainsi qu'à une réduction de la dose de corticoïdes oraux (95). Cependant, la plupart de ces données sont des cas cliniques sur un seul patient. Des études cliniques font défaut pour pouvoir évaluer et généraliser ce traitement.

Actuellement, l'omalizumab peut être utilisé chez les patients ayant une ABPA corticodépendante ou chez ceux qui développent des effets indésirables liés au traitement.

E. Mesures associées

a) Solution saline hypertonique en aérosols

Une solution saline hypertonique peut être utilisée pour réduire la viscosité des expectorations de bouchons muqueux. Cependant, la première dose doit être administrée sous surveillance médicale et précédée d'une dose de salbutamol à cause du risque de bronchospasme (100,101).

b) Contrôle des surinfections bactériennes

Un traitement par azithromycine au long cours peut également être donné pour réduire la toux et les expectorations chez les patients ayant des bronchectasies et des exacerbations fréquentes (102,103). Mais, si le traitement n'a pas fait preuve de son efficacité au bout de 2 à 3 mois, il devra être arrêté.

c) Désobstruction bronchique et amélioration de la clairance mucociliaire

En première intention, une kinésithérapie de drainage bronchique sera réalisée.

Une bronchoscopie thérapeutique devra être envisagée chez les patients ayant un collapsus proximal qui persiste après 3 à 4 semaines d'une corticothérapie systémique bien conduite. L'élimination des bouchons muqueux peut ainsi entraîner une amélioration significative des symptômes et de la fonction respiratoire (104).

d) Contrôle de l'exposition environnementale

Des preuves suggèrent que certaines exacerbations d'ABPA seraient entraînées par des expositions environnementales (10,105,106).

Il est donc recommandé d'éviter les activités qui pourraient être responsables de l'inhalation d'un nombre important de conidies aspergillaires comme le jardinage, l'agriculture, l'exposition à la poussière lors des rénovations domestiques et d'habiter à proximité d'un site de compostage. Si ces activités sont inévitables, le port de masques chirurgicaux peut minimiser l'inhalation de spores (40).

7. Complications

Les complications de l'ABPA incluent des épisodes d'exacerbations récurrents, une insuffisance respiratoire aiguë due à un collapsus proximal des voies aériennes, des bronchectasies, et si elle n'est pas traitée une aspergillose pulmonaire chronique avec apparition d'une hypertension artérielle pulmonaire et d'une insuffisance respiratoire chronique.

A. Exacerbations récurrentes

Les exacerbations récurrentes dans l'ABPA peuvent être dues à des épisodes récurrents d'impactions mucoïdes ou à des épisodes récurrents d'aggravation de la limitation du débit respiratoire. Durant la phase aiguë, la plupart des patients recevront un traitement par corticothérapie orale. Cependant, l'objectif devrait être de prévoir ces exacerbations récurrentes par une utilisation judicieuse des corticoïdes et des azolés (40).

B. Collapsus des voies aériennes

Des impactions mucoïdes chez les patients atteints d'ABPA sont habituellement retrouvées, bien qu'un collapsus lobaire et des bronches principales soit moins fréquent. Les patients ayant un collapsus important des voies aériennes peuvent développer une insuffisance respiratoire aiguë. Chez ces patients, une bronchoscopie thérapeutique est indiquée en fonction de la sévérité de l'insuffisance respiratoire (40).

C. Bronchectasies

Il s'agit de la complication la plus redoutée de l'ABPA. Actuellement, la plupart des patients sont diagnostiqués avec des bronchectasies, en particulier dans les pays en voie de développement. L'apparition de ces bronchectasies dénote non seulement des dommages permanents aux poumons, mais aussi une prédisposition aux rechutes fréquentes (107).

D. Aspergillose pulmonaire chronique

Les premières descriptions d'ABPA incluait des patients présentant une fibrose pulmonaire, habituellement au niveau du lobe supérieur. Des cavités pulmonaires étaient documentées chez 3 à 21 % des patients. Une fibrose pleurale était retrouvée chez 18 à 43 % des patients (40). Ces résultats sont cohérents avec une aspergillose pulmonaire chronique, qui peut compliquer un certain nombre de pathologies pulmonaires, dont l'ABPA. L'aspergillose pulmonaire chronique progresse de façon variable selon les individus, mais peut être stoppée par un traitement bien conduit par des azolés (108).

E. Hypertension artérielle pulmonaire

Si l'ABPA n'est pas traitée de façon appropriée, des bronchectasies généralisées ainsi qu'une fibrose pulmonaire peuvent se développer, avec des manifestations éventuelles de cœur pulmonaire et d'insuffisance respiratoire chronique. Certains patients, chez qui le diagnostic d'ABPA n'aurait pas été établi, peuvent même présenter une hypertension artérielle pulmonaire (36). Mis à part le traitement par corticoïdes oraux, l'oxygénothérapie longue durée est indiquée comme dans d'autres pathologies pulmonaires (109).

PARTIE II

CARACTÉRISTIQUES DES PATIENTS PRÉSENTANT UNE ABPA AU CHU DE NANCY

1. Patients et méthodes

Les patients présentant une ABPA dans notre centre correspondent essentiellement à ceux atteints de mucoviscidose dont l'ABPA constitue une des complications. De ce fait, dans cette partie, les caractéristiques de cette pathologie vont être déterminées dans cette population de patients mucoviscidosiques au CHU de Nancy.

Ces patients sont suivis, notamment en consultation, aux Centres de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) du CHRU de Brabois, dans le service de pneumologie par le Docteur Billon, pour les adultes et dans le service de médecine infantile par le Docteur Derelle et ses collaborateurs, pour les enfants.

Cent trente patients sont suivis au CRCM pédiatrique, quatre-vingt-seize au CRCM adulte. Dix-sept patients ont été inclus, huit au CRCM pédiatrique et neuf au CRCM adulte. Dans ces centres les critères de définition de l'ABPA sont : la présence d'IgE totales et spécifiques d'*A. fumigatus*, pouvant être associés ou non à la présence de signes cliniques, fonctionnels, radiologiques et associés ou non à d'autres signes biologiques (positivité des sérologies IgG spécifiques d'*A. fumigatus*, hyperéosinophilie, présence d'*A. fumigatus* dans les crachats).

En examinant les différents dossiers médicaux des deux CRCM, les données épidémiologiques, cliniques, radiologiques, biologiques de l'ABPA ainsi que les traitements administrés ont été recueillis et synthétisés.

Au CHU de Nancy, l'ABPA est toujours diagnostiquée à partir de la positivité des marqueurs utilisés pour le suivi d'un patient atteint de mucoviscidose (IgE totales et spécifiques, IgG spécifiques +/- recherche de précipitines), associée ou non à des signes cliniques, fonctionnels ou radiologiques.

2. Résultats

A. Epidémiologie

a) Prévalence

La prévalence globale des patients souffrant d'ABPA au CHU de Nancy est de 7,5 %. Au CRCM pédiatrique, elle est de 6,2 %. Et au CRCM adulte, elle atteint 9,4 %.

b) Age et sexe

Les patients étudiés sont actuellement âgés de onze à trente-six ans.

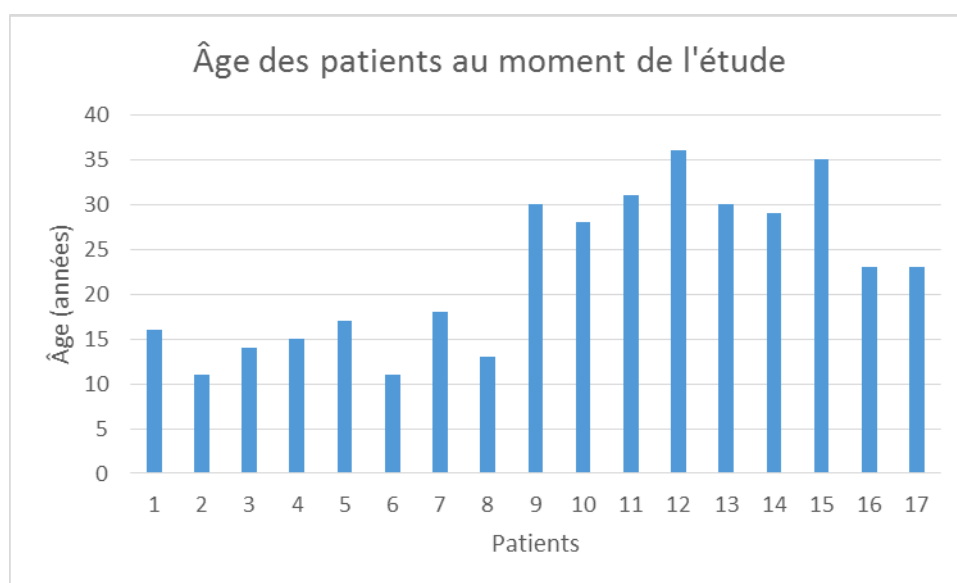


Figure 8 : Âge des 17 patients au moment de l'étude

L'âge moyen au diagnostic d'ABPA est de 15,70 ans et va de deux à trente et un ans. La médiane est de 13 ans. Le délai moyen entre les diagnostics de mucoviscidose et d'ABPA est de 13,26 ans.

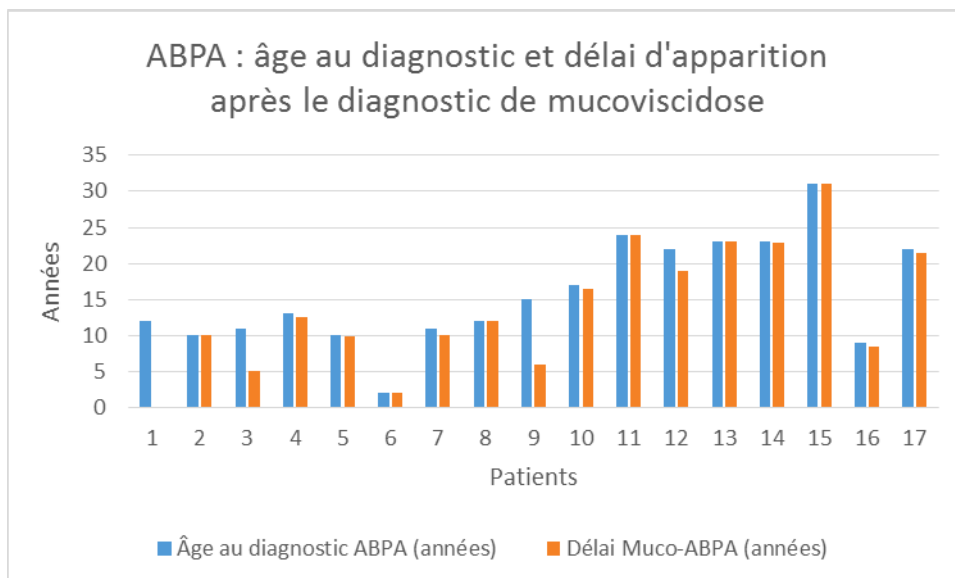


Figure 9 : ABPA : Âge au diagnostic et délai d'apparition après le diagnostic de mucoviscidose pour les 17 patients étudiés

Le sexe ratio global H/F est de 11/6 (6/8 au CRCM pédiatrique, 5/9 au CRCM adulte).

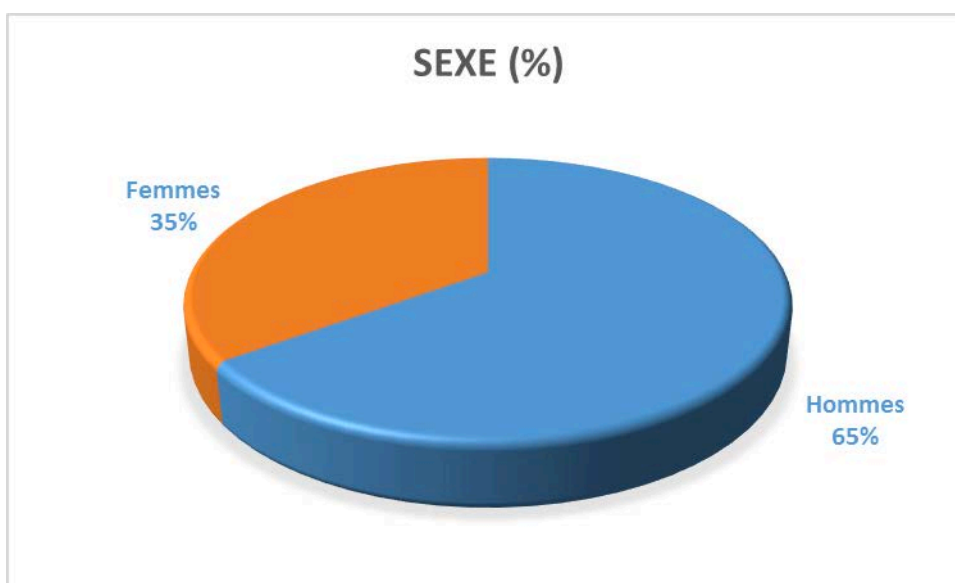


Figure 10 : Sexe-ratio des patients atteints d'une ABPA suivis au CRCM du CHU de Nancy

B. Caractéristiques de la pathologie sous-jacente, la mucoviscidose

a) Mutations génétiques

53 % des patients (9/17) présentent la mutation $\Delta F508$ du gène CFTR à l'état homozygote. Un patient possède cette mutation à l'état hétérozygote. 18 % des patients (3/17) portent cette mutation associée à une seconde (G542X, I148T ou Q1313X). Les autres patients (24 %, 4/17) présentent d'autres mutations, isolées ou associées (G542X, R553X, Y1092X, Q1100P, R1158X, CFTRdele2,3).

b) Âge au diagnostic

Le diagnostic de mucoviscidose était établi en général au cours de la première année de vie, entre la période néonatale et l'âge de 12 ans dans notre population. La moyenne est de 24 mois et la médiane de 5 mois.

c) Complications

Tous les patients présentent une insuffisance pancréatique exocrine. 24 % des patients (4/17) souffrent d'une insuffisance pancréatique endocrine (diabète insulino-dépendant) et 29 % (5/17) présentent une polypose naso-sinusienne.

La plupart sont colonisés par des bactéries opportunistes fréquemment retrouvées chez ce type de patients : *Pseudomonas aeruginosa* (76 %, 13/17 patients), *Staphylococcus aureus* (76 %, 13/17 patients), *Stenotrophomonas maltophilia* (35 %, 6/17 patients), *Burkholderia cepacia* (6 %, 1/17 patients) et *Acromobacter xylosoxidans* (6 %, 1/17 patients). Un patient a seulement présenté une primo-infection à *Pseudomonas aeruginosa* sans développer d'infection chronique. Un autre est colonisé par des mycobactéries atypiques.

C. Circonstances diagnostiques

Comme dit précédemment, l'ABPA est toujours diagnostiquée à partir du bilan biologique de suivi des patients atteints de mucoviscidose.

Différentes circonstances diagnostiques sont observées (par ordre décroissant) :

- la dégradation de la fonction respiratoire lors des épreuves fonctionnelles (41 %, 7/17 patients),
- une ou des anomalie(s) isolée(s) observée(s) au cours du bilan biologique de suivi (35 %, 6/17 patients),
- des signes cliniques (bronchites à répétition, persistance d'une toux sèche, d'une dyspnée d'effort, majoration du volume et de la fréquence des expectorations, hémoptysie / hyperthermie) (24 %, 4/17 patients) associés ou non à une dégradation de la fonction respiratoire,
- une majoration des signes radiologiques (8 %, 2/17 patients) pouvant également être associée à d'autres signes (cliniques ou fonctionnels).

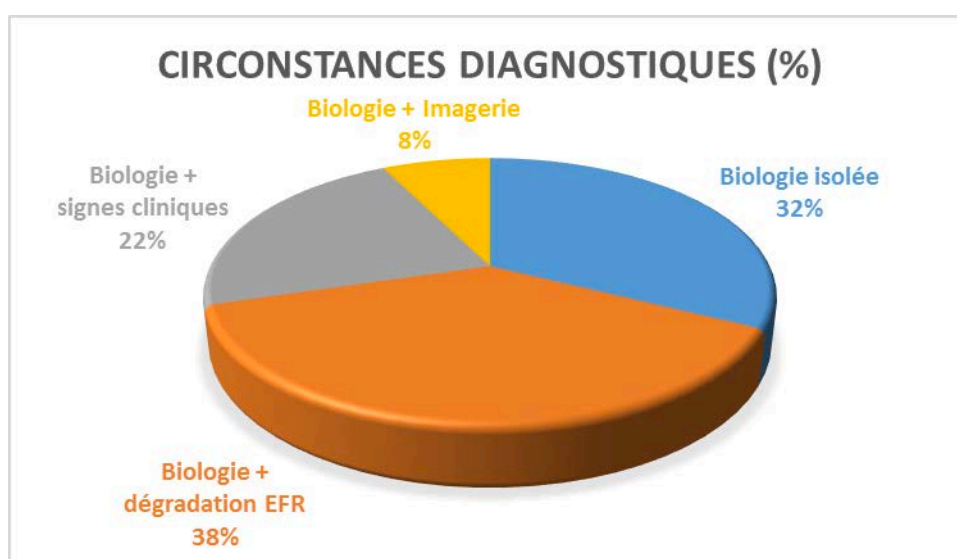


Figure 11 : Circonstances diagnostiques de l'ABPA au CRCM du CHU de Nancy

D. Imagerie

La plupart des patients présentait déjà des signes radiologiques consécutifs à la mucoviscidose au moment du diagnostic initial d'ABPA ou lors d'une période d'exacerbation : 88 % avaient des broncheectasies (15/17 patients) dont 53 % étaient bilatérales ou diffuses et 76 % avaient des impactions mucoïdes (13/17 patients) dont 31 % étaient diffuses.

E. Epreuves fonctionnelles respiratoires (EFR)

Le VEMS (Volume Expiratoire Maximal en une Seconde) a été le seul caractère étudié pour noter les variations (amélioration ou dégradation) des fonctions respiratoires chez les différents patients étudiés. Mesuré par spirométrie, il correspond au volume d'air expiré en une seconde au cours d'une expiration forcée effectuée après une inspiration maximale. Il est exprimé en pourcentage.

Pour prendre en compte ces variations, les valeurs choisies sont celles mesurées six mois avant le diagnostic, au moment du diagnostic et six mois après le diagnostic et lors des différentes exacerbations. Ces paramètres sont disponibles chez dix des dix-sept patients étudiés. Aucune diminution notable du VEMS n'a été démontrée au moment du diagnostic par rapport à la valeur retrouvée six mois avant, excepté dans trois cas (baisse de 100 à 82 %, de 61 à 45 % et de 85 à 75 %).

F. Biologie

Trois patients ont été exclus de cette partie de l'étude. Les résultats biologiques, au moment du diagnostic d'ABPA, n'étaient pas disponibles. En effet, ces patients ont été diagnostiqués entre 1999 et 2003, dates auxquelles le logiciel informatique des laboratoires du CHU, Glims, n'était pas encore en place. De plus, les dossiers médicaux papiers de ces patients n'ont pas été retrouvés. L'analyse sera donc faite sur quatorze patients.

a) IgE totales et spécifiques

- Au diagnostic

Au moment du diagnostic, 50 % des patients (7/14) présentait un taux d'IgE totales élevé (> 1000 UI / mL), 21 % (3/14 patients) avait un taux entre 500 et 1000 UI / mL et 29 % (4/14 patients) avait un taux < 500 UI / mL. Une élévation significative ($> 1,5$ X) du taux d'IgE totales a été retrouvée chez 57 % des patients (8/14) par rapport au bilan réalisé un an avant le diagnostic d'ABPA.

Au moment du diagnostic, 86 % des patients (12/14) avait des IgE spécifiques à *A. fumigatus* ($> 0,35$ kU / L). Une élévation significative ($> 1,5$ X) du taux d'IgE spécifiques a été retrouvée chez 29 % des patients (4/14) par rapport au bilan réalisé un an avant le diagnostic d'ABPA.

- Lors des phases d'exacerbation

Chez les quatorze patients inclus dans cette partie de l'étude, au total 14 épisodes d'exacerbation de l'ABPA sont observés. Cinq patients n'ont jamais fait de rechute, tandis qu'un patient a eu cinq épisodes d'exacerbations sur une période de six ans. Un autre patient présente quant à lui une ABPA persistante (taux d'IgE totales > 1000 UI / mL, six mois après le diagnostic).

Lors de ces périodes d'exacerbations, les taux d'IgE totales étaient > 1000 UI / mL dans 57 % des cas (8/14), compris entre 500 et 1000 UI / mL dans 7 % des cas (1/14) et < 500 UI / mL dans 29 % des cas (4/14). Chez un patient, le résultat du dosage des IgE totales au moment de son épisode d'exacerbation n'a pas été retrouvé.

Le taux d'IgE spécifiques étaient $> 0,35$ kU / L dans 93 % des cas d'exacerbations (13/14).

b) IgG spécifiques et précipitines

Au moment du diagnostic, les IgG spécifiques d'*A. fumigatus* étaient présentes chez 86 % des patients (12/14). Au moment des périodes d'exacerbation, elles étaient positives dans 71 % des cas (10/14). Chez deux patients pour lesquels elles étaient négatives au moment du diagnostic, les IgG spécifiques se sont positivées lors des périodes d'exacerbation.

La recherche de précipitines aspergillaires était utilisée comme test de confirmation pour le diagnostic d'ABPA et, par conséquent, était réalisée uniquement en cas de sérologie (IgG) positive. Au moment du diagnostic, chez les douze patients ayant des IgG positives, la présence d'arcs spécifiques (entre 1 et 3) était observée dans seulement 42 % des cas (5/12). Lors des périodes d'exacerbation où les IgG étaient positives, 60 % des cas (6/10) présentaient des précipitines (entre 1 et 3 arcs spécifiques).

c) ECBC

Au moment du diagnostic d'ABPA, *A. fumigatus* était retrouvé dans 93 % des crachats des quatorze patients inclus dans cette partie de l'étude (13/14). Au moment des différentes exacerbations, la présence d'*A. fumigatus* est observée dans 71 % des prélèvements.

d) Eosinophilie

Au moment du diagnostic, une hyperéosinophilie sanguine ($> 0,5 \text{ G / L}$) est retrouvée chez 50 % des patients (7/14). Sur les quatorze exacerbations prises en compte dans l'étude, huit cas présentaient une hyperéosinophilie (57 %).

Patients	Période du prélèvement	IgE totales (UI / mL)	IgE spécifiques (KU / L)	IgG spécifiques	Précipitines	ECBC (<i>A. fumigatus</i>)	Eosinophilie (G / L)
1	1 an avant le diagnostic	Non réalisé	Non réalisé				
	Diagnostic (juillet 2010)	628	4,374	Positifs	2 arcs spécifiques	Présence	100
	Exacerbation 1 (juillet 2013)	866	20,4	Positifs	Absence	Présence	1120
2	3 ans avant le diagnostic	42,9	2,46				
	Diagnostic (mars 2013)	3531	> 100	Positifs	3 arcs spécifiques	Présence	770
	Persistance (Septembre 2013)	4310	16,8	Positifs	3 arcs spécifiques	Présence	970
3	1 an avant le diagnostic	410	22,6				
	Diagnostic (avril 2011)	1162	32	Positifs	1 arc spécifique	Présence	750
	Exacerbation 1 (été 2012)	2011	44,3	Négatifs	Absence	Présence	790
	Exacerbation 2 (juin 2014)	2925	41	Positifs	1 arc spécifique	Présence	850
4	1 an avant le diagnostic	1074	<0,35				
	Diagnostic (mars 2013)	1853	<0,35	Positifs	1 arc spécifique	Présence	240
	Suivi (février 2014)	965	<0,35	Positifs	2 arcs spécifiques	Présence	320
5	1 an avant le diagnostic	425	10				
	Diagnostic (mai 2007)	1822	32	Positifs	Absence	Présence	1660
	Exacerbation 1 (novembre 2008)	490	27,3	Négatifs	Non réalisé	Absence	?
	Exacerbation 2 (mars 2010)	1100	18,8	Positifs	1 arc spécifique	Absence	640
	Exacerbation 3 (septembre 2011)	1039	27,2	Négatifs	Non réalisé	Absence	480
	Exacerbation 4 (juillet 2012)	1941	35,8	Négatifs	Non réalisé	Présence	320
	Exacerbation 5 (juillet 2014)	3801	76,3	Positifs	Absence	Absence	250
6	1 an avant le diagnostic	7	<0,35				
	Diagnostic (août 2005)	55,5	1,91	Négatifs	Non réalisé	Présence	728
	Exacerbation 1 (juillet 2007)	?	3,72	Positifs	2 arcs spécifiques	Présence	1380
7	1 an avant le diagnostic	11	<0,35				
	Diagnostic (décembre 2007)	577	3,42	Positifs	1 arc spécifique	Présence	1320
	Exacerbation 1 (août 2009)	383	9,2	Positifs	2 arcs spécifiques	Présence	500
	Exacerbation 2 (avril 2011)	340	9,1	Positifs	Absence	Présence	950

8	1 an avant le diagnostic	408	19,49				
	Diagnostic (juillet 2014)	3934	69,9	Positifs	Absence	Absence	390
9	1 an avant le diagnostic	?	?				
	Diagnostic (novembre 1999)	789	?	Positifs	?	Présence	?
	Exacerbation 1 (janvier 2004)	?	?	Positifs	?	Présence	?
10	1 an avant le diagnostic	?	?				
	Diagnostic (2003)	?	?	?	?	?	?
	Exacerbation 1 (novembre 2011)	21,2	<0,35	Positifs	1 arc spécifique	Absence	520
11	1 an avant le diagnostic	?	?				
	Diagnostic (2007)	79,8	<0,35	Positifs	Absence	Présence	80
12	1 an avant le diagnostic	?	?				
	Diagnostic (juin 2000)	1062	23,5	Négatifs	Non réalisé	Présence	140
	Exacerbation 1 (mars 2001)	1675	26	Positifs	1 arc spécifique	Présence	233
	Exacerbation 2 (septembre 2004)	>2000	58,5	Positifs	1 arc spécifique	Présence	310
13	1 an avant le diagnostic	61,6	0,53				
	Diagnostic (octobre 2007)	70,9	<0,35	Positifs	Absence	Présence	120
14	1 an avant le diagnostic	14,4	<0,35				
	Diagnostic (janvier 2008)	14,6	0,56	Positifs	Absence	Présence	620
	Exacerbation 1 (septembre 2012)	88,2	<0,35	Positifs	Absence	Présence	560
15	1 an avant le diagnostic	356	27,4				
	Diagnostic	715	27,1	Positifs	Absence	Présence	680
16	1 an avant le diagnostic	?	?				
	Diagnostic (2000)	?	?	?	?	?	?
	Exacerbation 1 (janvier 2008)	?	?	?	?	?	?
17	1 an avant le diagnostic	1217	47,5				
	Diagnostic	1093	60	Positifs	Absence	Présence	Non réalisé

Tableau 2 : Données biologiques au moment du diagnostic et des exacerbations d'ABPA

G. Traitement

Au moment du diagnostic ou lors des différentes périodes d'exacerbation, les traitements utilisés dans la population étudiée étaient : corticoïdes oraux (65 %, 11/17 patients) et itraconazole SPORANOX® (88 %, 15/ 17 patients). Au diagnostic, 59 % des patients (10/17) recevaient ces deux molécules en association, 29 % (5/17) avaient seulement de l'itraconazole et un patient recevait des corticoïdes oraux seuls (6 %). Une patiente diagnostiquée en avril 2014 sur les seuls critères biologiques n'a pas eu de traitement contre l'ABPA.

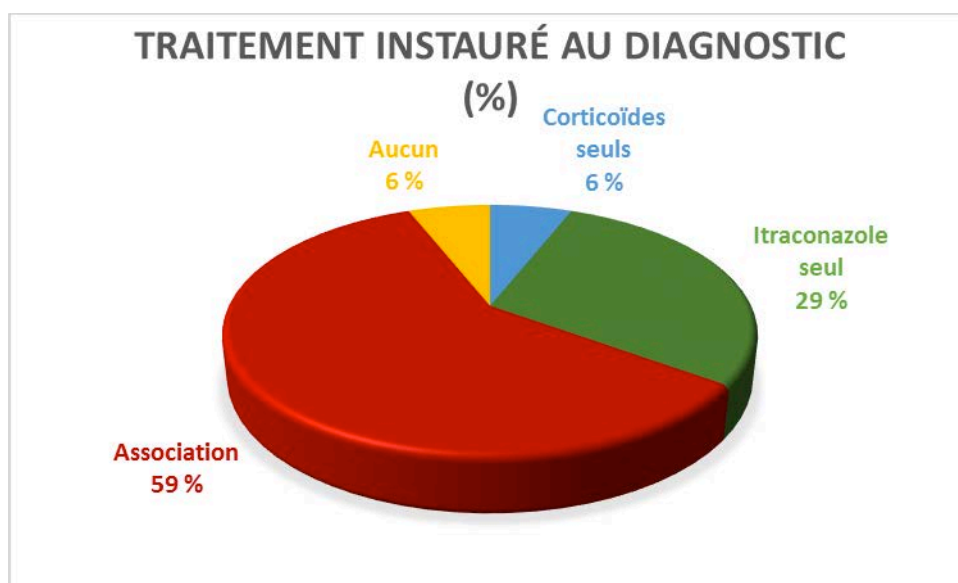


Figure 12 : Traitement instauré au moment du diagnostic d'ABPA

Ces traitements de première intention étaient parfois associés au voriconazole VFEND® et / ou à l'omalizumab XOLAIR® chez les patients pour qui ces traitements devenaient inefficaces.

Au moment du diagnostic ou lors des rechutes, 73 % des patients répondaient bien aux traitements de première intention (11/15). Cependant, un traitement par VFEND® a été instauré chez quatre de ces patients et seulement un seul parmi eux a montré une bonne évolution. L'instauration d'un traitement par XOLAIR® a dû être mise en place chez les trois autres patients. Le premier patient a évolué de façon favorable. Il a été inefficace pour le second qui est au stade d'ABPA résistante. Le troisième patient est en cours de suivi.

3. Discussion

La prévalence des patients atteints d'ABPA au CHU de Nancy est similaire à la prévalence mondiale chez les patients mucoviscidosiques (7,5 % vs 6-25 %) (15). Elle survient principalement chez les enfants de plus de six ans, les adolescents et les adultes (14,15). Dans notre étude, la médiane de l'âge moyen au diagnostic était de 13 ans. La proportion respective de ses différentes tranches d'âge était la suivante : 29 % (5/17 patients), 29 % (5/17) et 35 % (6/17). Un seul patient a été diagnostiqué avant l'âge de six ans.

D'après le registre français de la mucoviscidose (110) l'âge médian au diagnostic de mucoviscidose de la population nationale est de 3 mois et se rapproche donc de celui de notre étude (5 mois). L'âge moyen au diagnostic est de 4,3 ans alors que celui de notre population était d'environ 2 ans.

La mutation $\Delta F508$ à l'état homozygote constitue le génotype principal retrouvé dans la population générale (42,3 %), de même que dans celle de notre étude (53 %).

La présence des complications de la mucoviscidose dans la population générale, comparées à celles de notre étude sont respectivement : diabète insulino-dépendant (12,4 % vs 24 %), insuffisance pancréatique exocrine (82,3 % vs 100 %), polyposse naso-sinusienne (13,2 % vs 29 %).

La population de patients de notre étude présentait donc des caractéristiques propres de la mucoviscidose proches de celles de la population nationale. Il est possible que notre population de patients présentant une ABPA soit atteinte d'une mucoviscidose plus agressive, détectée plus tôt au cours de la vie et générant plus de complications.

Certains facteurs favorisants retrouvés dans la population générale étaient présents dans la population étudiée notamment six mois avant et au moment du diagnostic d'ABPA (16,17). Il s'agissait des fonctions respiratoires faibles, de la colonisation par des bactéries opportunistes et du caractère supposé prédisposant de l'atopie.

Des fonctions respiratoires faibles étaient ici essentiellement représentées par un VEMS moyen ($50 \% < \text{VEMS} < 80 \%$) ou faible ($< 50 \%$). Six mois avant le diagnostic, 18 % des patients (3/17) avaient un VEMS moyen et 29 % (5/17) un VEMS faible.

Un certain nombre de patients était colonisé par des bactéries opportunistes : *Pseudomonas aeruginosa* (76 %), *Stenotrophomonas maltophilia* (35 %), *Burkholderia cepacia* (6 %). Ces germes colonisent ou infectent également la population générale de

patients mucoviscidosiques : *Pseudomonas aeruginosa* (41,8 %), *Stenotrophomonas maltophilia* (9,9 %), *Bukholderia cepacia* (1,7 %). Cependant, l'étude européenne menée par Mastella en 2000, concernant des patients mucoviscidosiques atteints d'ABPA comparés à d'autres sans ABPA (14), a montré ces résultats : *Pseudomonas aeruginosa* (84,5 % vs 64,1 %), *Stenotrophomonas maltophilia* (16,7 % vs 7,3 %), *Bukholderia cepacia* (7,9 % vs 5,7 %). Ainsi, leur plus forte incidence dans notre population corrélée à celles d'autres études corrobore l'idée qu'ils pourraient constituer des facteurs favorisant la survenue d'une ABPA.

L'atopie serait elle aussi un facteur de risque important pour le développement de l'ABPA chez des patients mucoviscidosiques (62,94). Par exemple, dans une étude comprenant 104 patients mucoviscidosiques, l'ABPA survenait dans 22 % des cas chez des patients atopiques et dans seulement 2 % des cas chez des patients non atopiques (94). Six mois avant le diagnostic, 12 % des patients (2/17) de notre étude pouvaient être considérés comme atopiques (IgE totales > 1000 UI / mL).

Chez les patients diagnostiqués entre 2013 et 2014 (4/17), les critères diagnostiques utilisés dans les différents CRCM correspondent à ceux établis par Rithest Agarwal en 2013 (5). Tous présentaient au moins les deux critères obligatoires (présence d'IgE totales et spécifiques d'*A. fumigatus*) associés à au moins deux des autres critères (présence de précipitines ou d'IgG spécifiques, anomalies radiologiques compatibles avec l'ABPA, éosinophilie > 0,5 G/L).

Pour ceux diagnostiqués entre 2003 et 2013 (10/17), 70 % des patients présentait au moins trois des cinq critères diagnostiques de l'ABPA établis par la Cystic Fibrosis Foundation en 2003 (8) (détérioration clinique, réactivité immédiate à *A. fumigatus*, IgE totales sériques > 1000 UI / mL, anticorps précipitants ou IgG sériques anti-*A. fumigatus*, anomalies nouvelles ou récentes sur la radiographie thoracique).

Les signes cliniques, non spécifiques, décrits au moment du diagnostic d'ABPA (majoration de la toux, de la dyspnée, du volume des expectorations, fièvre, hémoptysies...) sont régulièrement décrits dans la littérature (4) au moment de poussées d'ABPA chez les patients mucoviscidosiques. Il est souvent difficile de faire la part des choses entre la symptomatologie de la mucoviscidose, celle de l'ABPA voire d'une autre complication (surinfection bactérienne par exemple).

Au moment du diagnostic, une diminution notable du VEMS n'a été observée que dans trois cas. En effet, près de la moitié des patients (8/17) avait déjà un VEMS moyen ou faible six mois avant le diagnostic, dû à l'insuffisance respiratoire compliquant la mucoviscidose.

En imagerie thoracique, la plupart des patients présentaient déjà des anomalies caractéristiques de l'ABPA (broncheectasies – localisées ou diffuses, impactions mucoïdes) au moment du diagnostic. Cependant, ces anomalies sont également observées dans la mucoviscidose, en l'absence de cette complication (37,38). Néanmoins, l'apparition de nouveaux infiltrats au moment du diagnostic a été notée chez deux patients de l'étude, ce qui rend ce critère significatif.

Bien que l'hyperdensité spontanée du bronchogramme soit considérée comme un critère pathognomonique de l'ABPA (27), elle n'a été décrite chez aucun patient de l'étude. Ce qui corrobore l'hypothèse selon laquelle elle ne serait pas régulièrement retrouvée dans l'ABPA compliquant une mucoviscidose (47,48).

Au moment du diagnostic et des expectorations, *A. fumigatus* est fréquemment retrouvé dans les ECBC (respectivement 93 % et 71 %). Ces taux sont cependant plus élevés que ceux décrits dans la littérature qui se situent autour de 50 % (53). Peut-être est-ce dû au fait que notre population soit issue d'un milieu rural, et soit ainsi plus à risque d'exposition aux spores d'*A. fumigatus*. De plus, dans la plupart des cas décrits dans la littérature, les patients atteints d'ABPA sont testés indifféremment au moment d'une exacerbation ou d'une rémission ce qui expliquerait la présence plus faible d'*A. fumigatus* dans la population générale.

Une hyperéosinophilie sanguine était présente chez 50 % des patients au moment du diagnostic et dans 57 % des cas au moment des périodes d'exacerbations. Bien qu'elle soit devenue un des critères indispensables pour le diagnostic d'ABPA (5), l'hyperéosinophilie manque de spécificité. En effet, elle pourrait être due à d'autres pathologies associées chez ce type de patient. Par exemple, dans notre étude, certains patients présentaient des allergies, notamment aux acariens, à *Alternaria* et aux phanères de chevaux. De plus, l'hyperéosinophilie serait également due à une infection chronique à *A. fumigatus* plutôt qu'à l'ABPA en elle-même (8).

Comme décrit dans la littérature (8), une augmentation significative du taux d'IgE totales est retrouvée chez la plupart des patients de l'étude, 57 % au moment du diagnostic. Il

était > 1000 UI / mL chez 50 % au moment diagnostic et dans 57 % des cas durant les périodes d'exacerbations. Cela confirme qu'il s'agit d'un excellent marqueur pour le diagnostic et le suivi de la maladie. Une étude réalisée dans 58 centres au Royaume-Uni (111) a montré qu'un taux d'IgE totales était supérieur à 1000 UI / mL chez des patients mucoviscidosiques atteints d'ABPA dans 45 % des cas.

De même, une élévation significative du taux d'IgE spécifiques d'*A. fumigatus* a été observée chez 86 % des patients au moment du diagnostic et 93 % en cas d'exacerbation. Dans l'étude multicentrique menée au Royaume-Uni (111), 54 % des patients avaient des anticorps spécifiques.

Ces élévations étaient associées dans la plupart des cas. Cela appuie ainsi l'hypothèse selon laquelle une augmentation du taux d'IgE spécifiques associée à une augmentation du taux d'IgE totales augmenterait la probabilité du diagnostic d'ABPA (62,63).

La spécificité des IgG spécifiques d'*A. fumigatus* et des précipitines aspergillaires sera discutée dans la partie III.

L'administration d'une corticothérapie systémique (65 % vs 56,2 %, respectivement dans notre étude et dans l'étude européenne menée par Mastella *et al* (14)) d'un antifongique (itraconazole) (88 % vs 83,1 %, idem (14)) ou leur association, au moment du diagnostic ou des périodes d'exacerbations, a permis de confirmer leur efficacité dans le traitement de l'ABPA (8,9). Dans notre étude, il a été rapporté un taux de 73 % de succès en tant que traitement de première intention.

Le voriconazole est utilisé classiquement en pédiatrie en tant que traitement antifongique de seconde intention (96,97). Hilliard *et al* ont rapporté son efficacité en tant que traitement de seconde intention, administré en monothérapie, après un traitement inefficace par l'association itraconazole / corticothérapie orale, chez deux adolescents (de 13 et 16 ans) mucoviscidosiques ayant eu une exacerbation d'ABPA (96). Dans notre étude, il a fait preuve de son efficacité dans seulement un cas sur quatre. Il s'agissait d'une patiente de quinze ans ayant fait une rechute traitée par corticothérapie orale associée à de l'itraconazole. Le traitement s'étant avéré inefficace, un switch itraconazole / voriconazole avait été mis en place, toujours en association avec une corticothérapie systémique, et avait ainsi entraîné une régression assez rapide des symptômes.

Les études faites sur l'efficacité de l'omalizumab dans l'ABPA portent souvent sur quelques voire un seul patient (95,99) et manquent ainsi de précision. Par exemple, Zirbes et Milla ont rapporté les cas de trois enfants, non améliorés par l'itraconazole, pour lesquels l'omalizumab a rapporté une diminution significative des exacerbations et a permis un sevrage de la corticothérapie (112). Van der Ent *et al* ont quant à eux observé une amélioration rapide et significative des symptômes chez une fille de 12 ans traitée par omalizumab après l'arrêt de la corticothérapie systémique responsable de nombreux effets secondaires (113). Dans notre étude, un traitement par omalizumab avait été instauré chez trois patients résistants aux traitements de première et seconde intention. Il a fait preuve de son efficacité dans 1/3 des cas. Le deuxième patient a développé une ABPA résistante à tout traitement. De plus, le dernier patient est toujours en cours de suivi.

En définitive, les caractéristiques de notre population, qu'elles concernent les données épidémiologiques, diagnostiques ou thérapeutiques, se rapprochent globalement de celles de la population générale de patients mucoviscidosiques atteints d'ABPA.

Partie III

UTILISATION D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE DIAGNOSTIQUE DE CONFIRMATION POUR LA RECHERCHE D'ANTICORPS ASPERGILLAIRES

1. Contexte scientifique

L'Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique (ABPA) est une pathologie survenant chez des patients immunocompétents et compliquant essentiellement une mucoviscidose ou un asthme. Son diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques. Le diagnostic biologique fait principalement intervenir des marqueurs immunologiques. Les IgE totales et spécifiques d'*A. fumigatus* ainsi que les IgG spécifiques sont actuellement utilisés en routine pour le diagnostic d'ABPA.

Les IgG spécifiques d'*A. fumigatus* constituent un bon marqueur pour le diagnostic d'ABPA et font partie du bilan systématique de suivi des patients présentant la mucoviscidose.

La recherche de ces anticorps fait intervenir dans un premier temps une technique de dépistage, généralement quantitative. Les méthodes le plus souvent utilisées sont l'ELISA ou l'hémagglutination indirecte, avec une utilisation respective pour 31 et 11 laboratoires de CHU français.

Cette détection doit ensuite être confirmée. Historiquement, des techniques de précipitation étaient utilisées, telles que la double immunodiffusion et l'immunoélectrophorèse (2). Les différents arcs de précipitation, observés par ces techniques, avaient été identifiés en fonction de leur position de la cathode jusqu'à l'anode. Les quatre précipitines (ou anticorps précipitants) les plus fréquemment retrouvées étaient : l'arc C (retrouvé dans 100 % des cas d'aspergillome), l'arc J (96 %), l'arc M (74 %) et l'arc F (65 %) (2). Une réponse positive permettant de conclure que l'organisme avait été imprégné par les antigènes d'*A. fumigatus* était donnée si trois à quatre arcs étaient observés.

Ensuite, parallèlement à ces résultats, ont été détectées des précipitines porteuses d'activité enzymatique : l'activité chymotrypsique et l'activité catalasique.

Les arcs chymotrypsiques comprennent l'arc chymotrypsique I, peu spécifique et l'arc chymotrypsique II (correspondant à l'arc C mentionné plus haut) dont la présence signe un contact direct de l'organisme avec les antigènes d'*A. fumigatus*. Ce dernier est surtout retrouvé dans les sérums de patients présentant un aspergillome, mais moins fréquemment dans les cas d'ABPA.

L'activité catalasique (correspondant à l'arc J mentionné précédemment), est quant à elle non spécifique d'*A. fumigatus*. Néanmoins, cet arc était toujours présent lorsque les techniques de précipitation montraient plus de trois arcs de précipitation. Cette activité

enzymatique constituait un atout majeur pour le diagnostic des aspergillomes, des ABPA ou en cas d'infiltrat pulmonaire aspergillaire (2).

Une bonne corrélation a été rapportée entre le nombre d'arcs (double diffusion) et les taux d'IgG mesurés en ELISA.

Cependant, les techniques de confirmation précédemment décrites posent de nombreuses difficultés : standardisation, approvisionnement en réactif notamment. Et, malgré une bonne spécificité, la sensibilité de ce test demeure médiocre (86 %). De plus, un test ELISA est souvent positif avant la détection des précipitines (entre 1,5 et 7,5 mois) (114).

De ce fait, une nouvelle méthode a été développée dans ce contexte et repose sur la technique de western blot, test qualitatif de diagnostic sérologique de l'aspergillose. Des études récentes ont montré que celle-ci avait de meilleures performances. Sa sensibilité est de 98,2 % pour le diagnostic de l'ABPA et sa spécificité de 94 %.

Dans ce travail, la mise en place de cette technique dans notre laboratoire sera donc présentée en s'appuyant sur notre population d'intérêt.

2. Matériels et méthodes

A. Patients testés

Les dix-sept patients étudiés dans la partie II ont bénéficié d'une sérologie aspergillaire. Les sérums ont été testés avec la nouvelle méthode de confirmation, le Western Blot, comparativement à l'ancienne méthode de référence utilisée par la plateforme d'immunodiagnostic du CHU de Nancy, la co-électrosynérèse (CoES).

La plupart de ces dosages sont réalisés dans le cadre du suivi annuel des patients mucoviscidosiques atteints ou non d'ABPA. Ils sont plus rapprochés dans le cas où une exacerbation est suspectée ou pour vérifier l'efficacité du traitement instauré.

Les sérums disponibles dans la sérothèque de la plateforme d'immunodiagnostic étant stockés pendant dix-huit mois, certains dosages ont été réalisés plusieurs mois voire plusieurs années après la date de diagnostic d'ABPA. Ainsi, certains patients ont été testés au moment du diagnostic ou quelques mois après. D'autres furent testés lors d'une période d'exacerbation. Mais la plupart des tests étaient réalisés chez des patients asymptomatiques vis-à-vis de l'ABPA pour lesquels les prélèvements étaient faits plusieurs années après le diagnostic ou de la date de la dernière exacerbation (voir tableau 3).

B. Réactifs et mode opératoire

a) Co-Electrosynérèse

- Principe de la méthode

La co-électrosynérèse est une méthode qualitative, basée sur la détection d'arc de précipitation lors de la migration simultanée d'antigène et d'anticorps sur une bande d'acétate de cellulose sous l'action d'un champ électrique.

La recherche d'anticorps précipitants dirigés contre *A. fumigatus* est réalisée en cas de détection d'anticorps anti-*Aspergillus* lors du test de dépistage par ELISA.

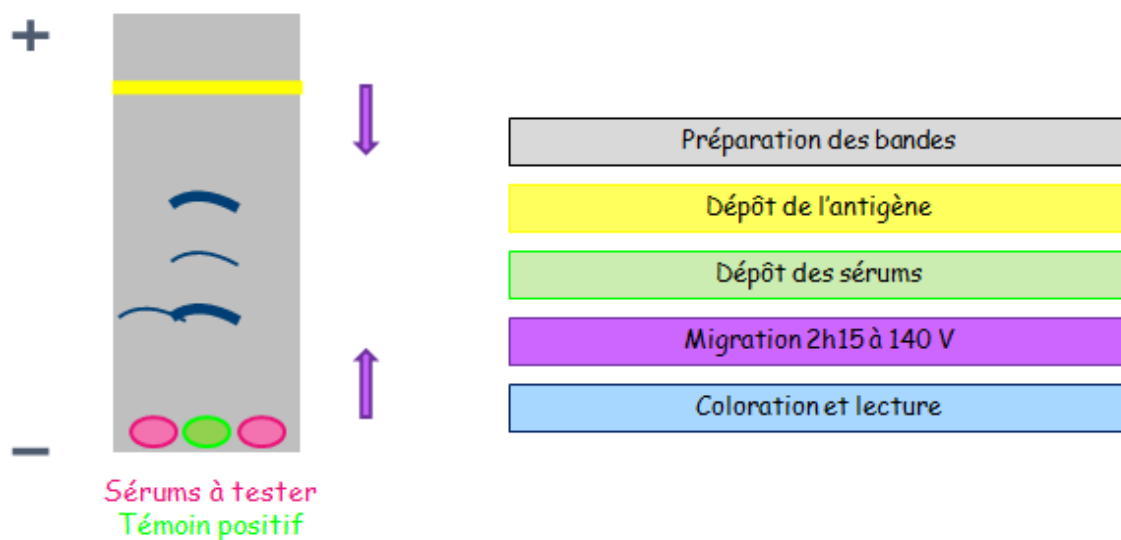


Figure 13 : Principe de la méthode de co-électrosynérèse (Mode opératoire de la plateforme d'immunodiagnostic du CHU de Nancy)

- Conditions de prélèvement

Les échantillons doivent être prélevés sur tube sec (ou tube sec avec gel séparateur).

- Préparation des réactifs

Porter tous les réactifs et échantillons à +18/+25°C avant le début du test.

➤ Tampon de migration Tris - glycine pH 8,8

Tris (hydroxyméthylaminométhane)	14,1 g
Glycine	27.6 g
Citrate trisodique	0.30 g
Eau distillée qsp	1 litre

➤ Eau Physiologique + 0.3% Tween 20 (premier rinçage des bandes après migration)

NaCl	9 g
Eau distillée qsp	1 litre
Tween 20	3 mL

➤ Eau Physiologique (rinçage des bandes après migration)

NaCl	9 g
Eau distillée qsp	1 litre

➤ Décolorant sous la hotte de la pièce B01.E1E057A

Acide acétique	100 mL
Ethanol	400 mL
Eau distillée	500 mL

➤ Colorant Serva Blue sous la hotte de la pièce E1E051

Tablettes (comprimés bleus)	8 tablettes
Décolorant	100 mL

Le colorant est à changer toutes les 2 semaines

➤ Antigène métabolique et somatique à mélanger volume à volume

- Mode opératoire

1. Préparation des bandes :

Remplir la cuve de tampon de migration (essuyer le pont de la cuve).

- Identifier chaque bande d'acétate de cellulose / modèle pour marquer les 3 repères (repère des dépôts : Ag / sérum soit une distance de 2,5 cm, repère de pliage de la bande).
- Placer les bandes Sartorius une à une dans une boîte « hydratation » contenant 200 mL de tampon de migration.
- Eviter la formation de zones non hydratées en déposant délicatement les bandes à la surface du tampon et laisser le liquide les recouvrir progressivement.
- Agiter pendant 20 minutes.
- Sortir les bandes une à une et éliminer l'excès de tampon entre 2 feuilles de papier Joseph.
- Placer les bandes sur le portoir de la cuve en veillant à ce qu'elles soient bien tendues et parallèles.
- Mettre les pinces de chaque côté du support pour maintenir les bandes.
- Placer immédiatement le portoir dans la cuve remplie de tampon de migration.
- Fermer la cuve et mettre sous tension (140 Volts) pendant 5 minutes.
- Débrancher et laisser stabiliser 5 minutes.

2. Dépôt de l'antigène :

Positionner la cuve dans le sens de la longueur.

- Pipeter 15 μ L du mélange Ag métabolique + Ag somatique :

- mélange pur sur une première bande ;
- mélange dilué au $\frac{1}{2}$ dans du PBS 7.2 (à préparer extemporanément) sur une seconde bande.
- Déposer 15 μ L sous forme linéaire en s'aidant de la règle (côté pôle négatif = anode).

3. Dépôt des sérums :

- Pipeter 15 μ L du sérum à étudier et 15 μ L de témoin positif et le déposer « en goutte » (côté pôle positif = cathode) :
 - témoin positif au centre ;
 - sérums à tester de part et d'autre.
- Laisser les dépôts pénétrer dans la membrane (environ 30 min), cuve ouverte.

4. Migration :

- Après pénétration des sérums, fermer la cuve et brancher le câble au générateur.
- Migrer pendant 2h15 à 140 Volts.
- A l'arrêt de la migration, arrêter le générateur et débrancher la cuve.
- Vider le tampon de migration puis replacer le support dans la cuve et fermer la cuve.
- Laisser stabiliser 10 minutes.

Penser à agiter le bac de colorant (pour éviter des dépôts de colorants sur les bandes) minimum 30 min avant coloration.

5. Coloration :

- Couper les bandes en conservant 1 cm de part et d'autre des dépôts Ag et sérum.
- Placer les bandes coupées dans la boîte « lavage » contenant 200 mL de tampon eau physiologique - Tween pendant 5 minutes sous agitation.
- Faire un 2^{ème} bain dans 200 mL d'eau physiologique pendant 10 minutes sous agitation.

Etapes sous la hotte :

- Placer les bandes coupées dans la boîte « coloration » contenant 200 mL de solution colorante pendant 10 minutes sous agitation.
- Réaliser 1 seul bain décolorant pendant environ 3 minutes jusqu'à obtention d'un fond blanc de la bande hors champ migration.

- Rincer les bandes dans un bac d'eau du robinet et les laisser dans l'eau.
- Vider le décolorant utilisé dans le bidon de déchets liquides.

6. Lecture :

- Lire à l'aide du système de transillumination avec la loupe : noter la présence d'arc continu ou non continu.
- NB : Il est impératif que le témoin positif présente au moins 3 arcs spécifiques.

- Interprétation

Un test sera considéré comme négatif en l'absence d'arcs spécifiques ou en présence d'arcs non continus avec le témoin positif.

Un test sera considéré comme positif en présence d'arc(s) continu(s) avec le témoin positif.

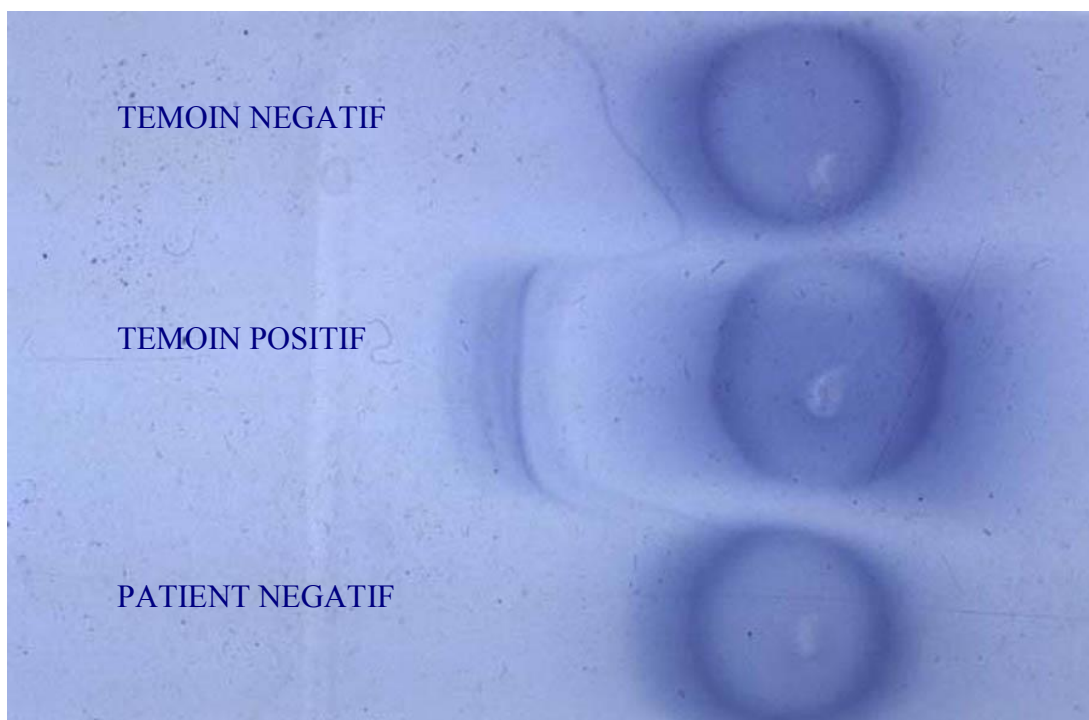


Figure 14 : Co-électrosynérèse

b) Western Blot

ASPERGILLUS Western Blot (WB) IgG est un test qualitatif de diagnostic sérologique par western blot de l'aspergillose. Il est proposé comme test de confirmation d'un résultat positif ou douteux obtenu par des tests classiques de dépistage, notamment par ELISA.

- Principe

Les antigènes d'*A. fumigatus*, après séparation électrophorétique sur gel de polyacrylamide, ont été fixés par électro-transfert sur la surface de bandelettes de nitrocellulose (technique de Western Blot). Les bandelettes sont fournies prêtes à l'emploi, numérotées et prédécoupées.

Chaque échantillon sérique à tester est déposé séparément sur une bandelette. Les anticorps anti-*Aspergillus* éventuellement présents dans le prélèvement se fixent sélectivement sur les antigènes d'*A. fumigatus* présents sur les bandelettes. Le lavage élimine les anticorps non fixés. Chaque bandelette est ensuite incubée avec le conjugué Phosphatase Alcaline-anti-IgG humaines qui se lie aux anticorps anti-*Aspergillus* éventuellement fixés. Le lavage élimine le conjugué non fixé. Lors de la dernière étape, les complexes immuns réagissent avec le substrat : les antigènes reconnus par les anticorps anti-*Aspergillus* de classe IgG éventuellement présents dans les échantillons sont révélés sous formes de bandes transversales violettes. La réaction de coloration est arrêtée par un lavage à l'eau distillée. Les bandelettes sont séchées ; leur coloration est stable plusieurs années à l'abri de la lumière.

La présence sur la bandelette de bandes spécifiques est indicative de la présence d'anticorps anti-*Aspergillus* dans l'échantillon. La lecture des bandes se fait en comparaison avec l'immunoblot de référence réalisé à partir du témoin positif fourni dans la trousse.



Figure 15 : Automate Auto-LiPA utilisé pour la réalisation des WB

- Réactifs

- Une pochette de 24 bandelettes de nitrocellulose, numérotées et prédécoupées mais attachées par leur extrémité supérieure à la souche. Elles ont été sensibilisées par électro-transfert d'antigènes d'*Aspergillus fumigatus* séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.
- Un flacon contenant 30 mL de diluant échantillons (solution tampon + surfactant + NaN_3)
- Un flacon contenant 30 mL de conjugué anti-IgG (solution tampon + sérum polyclonal de chèvre anti-IgG humaines conjugué à la phosphatase alcaline + NaN_3 + stabilisants)
- Un flacon contenant 30 mL de substrat (solution tampon + NBT + BCIP + stabilisants)
- Un flacon contenant 60 mL de tampon de lavage concentré 10 fois (solution tampon + surfactant + NaN_3)

- Un tube contenant 100 µL de sérum de contrôle positif (solution tampon + pool de sérums humains positif en sérologie aspergillose + NaN₃ + stabilisants)

Tous les réactifs du coffret doivent être conservés entre 2 et 8°C. Une fois dilué, le tampon de lavage est stable 2 mois.

- Conditions de prélèvement

Les échantillons doivent être prélevés sur tube sec. 10 µL de sérum sont nécessaires pour l'analyse.

Laisser coaguler le sang, centrifuger et décanter le sérum. Le conserver à 2-8°C. Le congeler à -20 +/- 5°C s'il ne doit pas être utilisé dans les 72 h.

- Préparation des réactifs

Tampon de lavage : Pour 4 tests, diluer dans un flacon propre 10 mL de tampon de lavage concentré 10x dans 90 mL d'eau distillée ou désionisée. Le tampon dilué se conserve 2 mois à 2-8°C.

- Mode opératoire

1. Préparer le plan de distribution des échantillons et du contrôle positif. Seule l'utilisation de ce contrôle permet de valider techniquement la manipulation et de fournir un modèle précis pour l'identification finale des bandes antigéniques révélées.

2. Distribuer 1,2 mL de tampon échantillon dans chacun des puits selon le plan établi.

3. Mettre des gants. Ne pas toucher les bandelettes avec les doigts mais utiliser une pincette pour les manipuler. A l'aide d'un cutter (ou scalpel) et d'une règle plate transparente, propre et sèche, découper le nombre de bandelettes nécessaires en prenant garde de conserver le trait de positionnement sur la bandelette. Pour cela, maintenir fermement les bandelettes plaquées par la règle et les découper du côté de la souche (les numéros étant visibles au travers de la règle transparente).

4. Distribuer les bandelettes numérotées à l'aide des pincettes selon le plan de distribution établi. Laisser les bandelettes se réhydrater à la surface du tampon pendant

environ 1 minute, face vers le haut (numéro visible) puis agiter doucement la cuve pour les immerger totalement dans le tampon.

5. Distribuer échantillons et contrôle positif, selon le plan de distribution, à raison de 10 μ L par puits. Agiter doucement la cuve après chaque dépôt. Incuber sur un agitateur oscillant pendant 90 minutes +/- 5 minutes à 18-25°C.

6. Lavage : Vider le contenu des puits à l'aide d'une pompe aspirante, d'une pipette pasteur ou par retournement de la cuve d'incubation et répartir environ 2 à 3 mL de tampon de lavage dilué dans chacun d'eux en évitant de retourner les bandelettes. Agiter doucement la cuve horizontalement puis revider le contenu des puits.

Répartir à nouveau environ 2 à 3 mL de tampon de lavage dilué en évitant de retourner les bandelettes. Incuber 3 à 5 minutes sur l'agitateur. Vider le liquide.

Répéter cette dernière opération une fois.

7. Distribuer 1,2 mL de conjugué anti-IgG dans chacun des puits. Les bandelettes doivent être totalement recouvertes et face vers le haut (numéros visibles). Incuber sur un agitateur oscillant pendant 60 minutes +/- 5 minutes à 18-25 °C.

8. Lavage : procéder comme pour l'étape 6.

9. Distribuer 1,2 mL de substrat NBT/BCIP dans chacun des puits. Les bandelettes doivent être face vers le haut (numéros visibles) et totalement recouvertes par le tampon. Incuber sur un agitateur oscillant, à 18-25°C et à l'abri de la lumière directe (recouvrir les cuves d'un papier d'aluminium).

Vérifier le développement de la coloration régulièrement. Il dure généralement environ 60 minutes mais il n'y a pas de règle absolue.

L'arrêt est décidé lorsque les bandes éventuellement présentes sont bien contrastées par rapport à la couleur que prend la bandelette (gris – rosé). L'arrêt se fait par l'aspiration du substrat avec l'aide d'une pompe aspirante, d'une pipette pasteur + propipette ou par retournement de la cuve d'incubation et la distribution de 2 mL d'eau distillée dans les puits. Répéter une fois ce dernier lavage.

Remarque : Des sérologies très faibles peuvent demander jusqu'à 60 minutes pour se positiver du fait des très faibles concentrations d'anticorps retrouvées dans les prélèvements. La révélation peut être poursuivie tant que la couleur du fond de la bandelette ne s'assombrit pas au point de rendre la lecture difficile (la qualité des lavages a une influence fondamentale sur cette coloration et sur le contraste des bandes).

10. Saisir les bandelettes par leur extrémité numérotée à l'aide de la pincette (cette manipulation est plus aisée si les puits sont plein d'eau) et les déposer, numéro visible, sur un

papier absorbant de type Whatman. Les laisser sécher à l'air. La couleur des bandelettes s'éclaircit naturellement en séchant (la lecture ne doit s'effectuer qu'après séchage complet).

11. Transférer les bandelettes sur la feuille de papier qui servira à les archiver. Aligner les traits de positionnement. Maintenir les bandelettes avec la règle plate et les coller par le haut à l'aide du ruban adhésif transparent. Eviter de les manipuler avec les doigts.

Ces différentes étapes peuvent être réalisées sur Autolipa, un appareil permettant de réaliser les lavages de manière automatique.

- Interprétation

La juxtaposition de la bandelette et du standard de poids moléculaire coloré et fourni dans la trousse permet d'estimer le poids moléculaire des bandes antigéniques révélées.

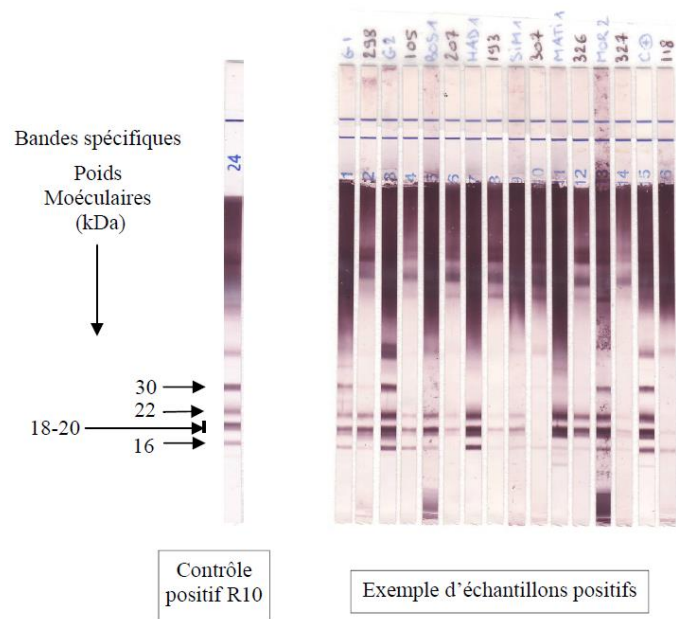
Le contrôle positif est volontairement peu concentré. Il présente toutes les bandes décrites dans la notice. Utilisé dans la même série que les échantillons, il fournit une bandelette témoin qui indique très précisément, en ajustant les traits de positionnement, la position des bandes spécifiques du test.

Un échantillon positif peut présenter de nombreuses bandes situées entre 10 et 200 kDa. En pratique et pour des raisons de spécificité, seule la zone de bas poids moléculaire (≤ 30 kDa) est retenue pour la lecture.

Quatre bandes, parfois dédoublées, 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.

Deux autres bandes spécifiques sont parfois rencontrées à 10 kDa et plus rarement à 15 kDa. Moins visibles et peu fréquentes, elles ne sont pas prises en considération pour l'interprétation du test.

La présence simultanée de deux bandes bien définies parmi P16, P18-20, P22 et P30 est indicative de la présence d'anticorps anti-*Aspergillus*. Bien que pour certains sérums les bandes spécifiques apparaissent très pâles (sous forme de trace plus ou moins présente selon les lecteurs), si au moins deux bandes spécifiques apparaissent ainsi très faiblement, le résultat obtenu est considéré comme positif.



- Limites du test

Les résultats sérologiques doivent être interprétés en fonction des renseignements disponibles (épidémiologie, clinique, imagerie, biologie) afin d'établir le diagnostic d'aspergillose.

Un résultat sérologique négatif n'écarte pas le diagnostic d'aspergillose.

3. Résultats

Les dix-sept patients étudiés dans la partie II ont été testés en western blot en comparaison avec la technique de co-électrosynérèse.

A. Résultats généraux

En fonction des patients sélectionnés, la comparaison de méthode des deux techniques de confirmation a eu lieu à des moments différents de l'histoire clinique :

- trois au moment du diagnostic d'ABPA (patients 4, 8 et 17),
- trois au moment (ou proches de la date) de la dernière rechute (patients 1, 3 et 5),
- un six mois après la date du diagnostic dans le cadre d'une ABPA persistante malgré les traitements de première intention (patient 2).
- les autres dosages ont été faits sur des prélèvements effectués plusieurs mois ou plusieurs années après le diagnostic ou la dernière rechute (patients 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 et 16).

Tous les patients avaient une sérologie aspergillaire positive (IgG spécifiques > 10 unité par la technique ELISA BioRad). Chez 53 % des patients (9/17), la recherche de précipitines (1 à 3 arcs spécifiques) était également positive. Le western-blot était quand à lui positif chez 82 % des patients (14/17).

Tableau 3 : Résultats WB aspergillus vs Co-électrosynérèse

Patients	DD	DDR	DP	IgG Spé	Précipitines	Profil blot				
						16 kDa	18-20 kDa	22 kDa	30 kDa	Résultats
1	juil-10	juil-13	sept-13	64,08	Présence	+	+	+	+	Positif
2	mars-13	sept-13 : persistance	sept-13	>80	Présence	+	+	+	+	Positif
3	avr-11	juin-14	juin-14	41,02	Présence	+	+	-	+	Positif faible
4	mars-13	/	févr-13	36,82	Présence	+	+	+	-	Positif
5	mai-07	juil-14	juil-14	12,95	Absence	-	-	+	-	Négatif
6	août-05	juil-07	janv-13	65,39	Présence	+	+	+	+	Positif
7	déc-07	avr-11	juil-13	21,69	Présence	+	+	+	+	Positif
8	juil-14	/	juil-14	35,01	Absence	-	-	-	-	Négatif
9	nov-99	janv-04	août-13	25,77	Présence	-	+	+	+	Positif
10	2003	nov-11	juil-13	52,5	Présence	+	+	+	+	Positif
11	juin-07	/	avr-13	13,81	Présence	+	+	+	+	Positif
12	juin-00	sept-04	sept-13	13,6	Absence	-	+	+	+	Positif faible
13	oct-07	/	avr-13	11,63	Absence	+	+	+	+	Positif
14	janv-08	sept-12	mars-13	16,17	Absence	+	+	+	+	Positif
15	août-09	/	mai-13	47,51	Absence	-	+	-	-	Négatif
16	2000	janv-08	juin-13	13,19	Absence	+	+	+	+	Positif faible
17	avr-14	/	avr-14	13,59	Absence	+	-	-	+	Positif faible

DD : date du diagnostic

DDR : date de la dernière rechute

DP : date du prélèvement

IgG spé : normale si index < 10

B. Analyse des concordances et discordances

L'étude de concordance révèle dans la population de patients mucoviscidosiques présentant une ABPA 12 concordances et 5 discordances (tableau 4). L'ensemble des discordances correspond à une co-électrosynérèse négative associée à un western blot positif.

62,5 % (5/8) des patients négatifs en co-électrosynérèse étaient positifs en Western-Blot alors qu'aucun patient n'était positif en co-électrosynérèse et négatif en Western-Blot. 100 % des patients ayant des précipitines étaient positifs au Western-Blot.

Ces 5 discordances concernaient les patients 12, 13, 14, 16 et 17.

Pour le patient 17, le dosage a été réalisé au moment du diagnostic et le taux d'IgG spécifiques était de 13,59 unités (pour un seuil de positivité à 10). Concernant les quatre autres patients, les dosages avaient été réalisés dans le cadre du suivi biologique de la mucoviscidose. Les dernières périodes d'exacerbation de l'ABPA dataient d'au moins deux ans pour ces patients et remontaient jusqu'à quatorze ans auparavant. Les taux d'IgG spécifiques étaient compris entre 11,63 et 16,17 unités. Ainsi ces cinq patients présentaient un taux faible d'IgG anti *Aspergillus*.

Les sensibilités de la CoES et du WB étaient donc respectivement de 53 % (9/17) et de 82 % dans la population étudiée (14/17).

Si tous les patients sont considérés, les deux tests sont concordants dans 53 % des cas. Par contre, si uniquement les patients pour lesquels les tests ont été réalisés au moment du diagnostic ou d'une exacerbation d'ABPA sont inclus, la concordance s'élève à 86 % (6/7 patients).

Tableau 4: Concordances et discordances CoES /WB

	CoES -	CoES +	Total
WB -	3	0	3
WB +	5	9	14
Total	8	9	17

C. Analyse en fonction de la période clinique

Au moment du diagnostic d'ABPA (patients 4, 8 et 17), 33 % des patients (1/3) avaient des précipitines et 67 % (2/3) plus de deux bandes spécifiques au western-blot.

Les patients ayant eu des dosages au moment des épisodes d'exacerbation (1, 3 et 5) ont quant à eux 67 % (2/3) de résultats positifs pour les précipitines et des résultats identiques au niveau du western-blot.

Le patient ayant une ABPA persistante (patient 2) était positif dans les deux techniques.

Pour les autres patients, 50 % avaient des précipitines (5/10) et 90 % étaient positifs en western-blot.

D. Dossier de validation de méthodes

Afin d'utiliser la technique de western blot en routine lors de la recherche d'anticorps aspergillaires spécifiques, la vérification de méthode a été réalisée sur site. En référence au tableau du § 9.2.1 du Document Cofrac SH GTA 04, la maîtrise des risques, ainsi que l'évaluation des performances, nécessaires en portée A, ont été mise en œuvre.

a) Description de la méthode

DESCRIPTION DE LA METHODE	
Analyte/Mesurande :	Anticorps anti <i>Aspergillus fumigatus</i>
Principe de la Mesure :	Western Blot
Méthode de mesure :	Détection des bandes en comparaison au témoin positif
Marquage CE (Oui/Non)	Oui
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	Pas de codage CNQ

b) Maîtrise des risques

MAITRISE DES RISQUES		
Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise
Type d'échantillon primaire (urine, sang, Type de récipient (tubes, ...), Additifs :	Type de tube Conditions de transport Délai d'acheminement	Manuel de prélèvement http://chu-nancy.manuelprelevement.fr Procédure de réception des échantillons LABO210-PROC-014 Procédures générale et spécifique à la structure des non conformités LABO210-PROC-0015 LABO4358-FITEC-0002
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...) :	Centrifugation Décantation et aliquotage	Procédure générale et spécifique de gestion de la phase pré-analytique LABO210-PROC-0019 LABO4358-FITEC-0004 Fiche de suivi métrologique Centrifugeuse LABO210-FORM-0029
Main d'œuvre (habilitation du personnel) : Préciser les références des procédures et enregistrements.	Compétences du personnel	Procédure habilitation d'un personnel non médical du pôle Laboratoires aux postes de travail LABO210-PROC-0026 Procédure habilitation du biologiste du LBM LABO210-PROC-0029 Fiche d'habilitation TLM LABO4358-FORM-0011 Fiche d'habilitation Biologiste LABO4315-FORM-0015 Renouvellement d'habilitation et maintien des compétences Biologiste LABO4315-FORM-0021
Conditions ambiantes requises (ex : température, organisation des locaux, éclairage,...) :	Non précisées dans la notice technique	/
Référence du réactif (référence fournisseur, version) :	Aspergillus Western-Blot IgG LDBio REF : ASP-WB24G Notice : F212—ASP WBG-f-30/11/2013 Version 6	Mode opératoire analytique LAB4315-MOOP-0004 Vérification de la date de péremption et date limite d'utilisation après ouverture Traçabilité des réactifs dans Glms
Matériau de références (témoins) :	Pas de matériau de référence	/
Equipements : Exigences métrologiques* (définir les paramètres critiques) Exigences informatiques* spécifiques	Automate Auto-LiPA Pas de transmission des résultats	Fiche de vie dans COSWIN Vérifiée par le service Technique Mode opératoire Analyseur AutoLIPA LAB4358-MOOP-0005 /

* item à renseigner si nécessaire

c) Evaluation des performances de la méthode

EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

SPECIFICITE & SENSIBILITE DIAGNOSTIQUES (indispensable en portée B)	
Résultats de l'étude des courbes ROC à partir d'une étude clinique :	Spécificité : 94 % Sensibilité : 92,2 %

CONTAMINATION	
Inter échantillon pour les paramètres sensibles :	Non réalisée (tests unitaires)
Inter réactif si nécessaire :	Tubulure pour chaque réactif Maintenance hebdomadaire de l'automate
Vérification bibliographique :	Non réalisée
Vérification sur site :	Pas de contamination du témoin positif vis-à-vis des échantillons patients

COMPARAISON DE METHODES	
Méthode précédente, autre méthode utilisée dans le laboratoire :	Co-électrosynérèse
Nombre de mesures :	27
Descriptif de l'échantillon étudié :	Sérums présentant des anticorps aspergillaires détectés par ELISA
Méthode d'exploitation des résultats (études des concordances) :	Etude de concordance
Résultats et interprétations des discordances :	29 % de discordance Le WB permet de détecter et de confirmer la spécificité d'AC circulants de taux faible dans des situations où la coES ne le permettait pas.
Conclusions et dispositions ² :	Méthode validée pour confirmer la spécificité anticorps de la méthode de dépistage par ELISA

4. Discussion

Dans notre étude, la sensibilité des tests était de 53 % pour la CoES et de 82 % pour le WB. Cependant, plus de la moitié des patients (10/17) ont été testés à distance d'une période d'exacerbation de l'ABPA. La positivité du WB signerait donc à la fois une ABPA en phase active d'exacerbation ou une ABPA en phase de rémission clinique. Même à distance d'un épisode d'exacerbation, la spécificité des anticorps reste détectable par western blot.

Si uniquement les tests réalisés au moment d'une poussée d'ABPA ou au moment du diagnostic sont sélectionnés, cette sensibilité passe à 57 % (4/7 patients) pour la CoES et à 71 % pour le WB (5/7 patients). La technique WB serait donc plus performante que la CoES.

D'après l'étude des discordances, il apparaît que le WB permet de détecter et donc de confirmer la spécificité d'AC circulants de taux faible (proche du seuil de positivité de la technique de dépistage) dans des situations où la CoES ne le permettait pas.

Plusieurs études ont montré que le WB *Aspergillus* était au moins aussi performant, voire plus performant, que l'immunoélectrophorèse (IEP), une autre technique de confirmation par précipitation en tant que test de confirmation sérologique pour le diagnostic des aspergilloses chroniques (dont l'ABPA) (115–118).

Brun *et al* ont comparé ces deux techniques pour le diagnostic des aspergilloses chroniques. Le kit commercial *Aspergillus* Western Blot IgG (LDBio Diagnostics) a été comparé à l'immunoélectrophorèse (utilisée en confirmation d'une hémagglutination indirecte). Il s'agissait d'une étude rétrospective incluant 63 patients du service de pneumologie de l'hôpital Avicenne de Bobigny (41 malades ayant une aspergillose chronique et 22 sains) ayant bénéficié d'une sérologie aspergillaire entre juin 2012 et septembre 2014. La sensibilité et la spécificité étaient respectivement de 86,9 % et 97,8 % pour l'IEP et de 94 % et 97,8 % pour le WB (118).

Grenouillet *et al* ont, quant à eux, réalisé une étude de concordance. Ils ont testé 184 sérums « tout-venants » consécutifs reçu entre janvier et juillet 2013, au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHRU de Besançon, qui ont été réévalués par trois techniques : Elisa *Aspergillus* Bordier, IEP avec antigènes somatique et métabolique *Aspergillus fumigatus* Biorad et Western Blot *Aspergillus* LDBio. L'Elisa et le Western Blot étaient plus fréquemment positifs (respectivement 53/184, 28,8 % et 46/184, 25 %) que l'IEP (26 à

32/184, 14,1 % 17,4 %). L'IEP et le Western Blot étaient concordants dans 91,3 % des cas, l'Elisa et le Blot dans 92,4 % des cas (115).

En 2013, Oliva *et al* ont testé trois groupes de patients venant de quatre CHU Français (Grenoble, Marseille, Saint-Etienne et Saint-Antoine, Paris). Le groupe 1 comprenait des sérums de patients ayant une aspergillose pulmonaire chronique prouvée, suspecte ou possible, mais non atteint de mucoviscidose. Le groupe 2 comportait des sérums de patients mucoviscidosiques ayant une ABPA prouvée ou une simple colonisation à *Aspergillus*. Le groupe 3 était constitué de patients témoins. L'IEP a été comparée au kit *Aspergillus* WB IgG de LDBio Diagnostics. La spécificité du WB était de 96 %. La sensibilité allait de 67 % à 100 % selon le diagnostic du patient. Par exemple, 97 % des patients ayant une ABPA prouvée étaient positifs en WB alors que seulement 85 % l'était en IEP (116).

Notre étude manque de puissance en raison d'un faible nombre de patients atteints d'ABPA au CHU de Nancy et d'une durée de conservation des échantillons dans la sérothèque trop courte (18 mois) pour pouvoir interpréter finement la cinétique des anticorps dans une pathologie complexe telle que l'ABPA.

Cependant, la technique western blot répond parfaitement aux attentes des biologistes et des cliniciens, à savoir, confirmer la spécificité des anticorps détectés par ELISA. En effet, dans la population générale, sur une durée de 4 mois, cette technique a permis de considérer 23 % de sérologie comme présentant des anticorps non spécifiques, évitant ainsi des prises en charge non justifiée sur ce seul critère sérologique (données du laboratoire).

De plus, bien qu'étant jusqu'alors la technique sérologique de référence de confirmation sérologique, les techniques de précipitation sont longues, chronophages, non standardisées, parfois difficile à interpréter et avec des problèmes d'approvisionnement en antigènes (118). Le WB, au contraire, est une technique rapide dont l'interprétation est plus aisée.

Ainsi, comme le montrent les données exposées lors de ce travail et la vérification de méthode, la technique western blot peut parfaitement remplacer les techniques de précipitation en pratique clinique courante.

CONCLUSION

Les connaissances sur l'ABPA se sont affinées ces dix dernières années notamment grâce à une standardisation des critères nécessaires au diagnostic et à l'arrivée de nouvelles thérapeutiques pour lutter contre les formes résistantes aux médicaments administrés en première intention.

Notre étude, réalisée sur la population locale du CHU de Nancy et à l'occasion de circonstances diverses (bilan de suivi systématique, suspicion de rechute, diagnostic initial), a montré une bonne comparabilité en termes de données épidémiologiques, cliniques, diagnostiques et thérapeutiques aux cohortes nationales ou internationales.

Ce travail nous a permis d'évaluer localement les performances du test de confirmation des anticorps aspergillaires par Western Blot, en le comparant à la technique précédemment utilisée, la co-électrosynérèse. Les performances plus grandes, associées à la capacité de détecter la spécificité de taux seuils d'anticorps et à une meilleure qualité d'utilisation nous ont permis de choisir cette technique en pratique diagnostique courante.

L'ABPA restant une pathologie complexe, des études de plus grandes ampleurs seraient intéressantes pour réaliser des suivis cinétiques, englobant les données cliniques (exacerbation respiratoire), biologiques (élévation et diminution des IgE totales, spécifiques, des IgG spécifiques, présence ou absence des bandes en WB, éosinophilie) et radiologiques (apparition de nouvelles lésions spécifiques de l'ABPA), aux différents stades de la maladie (diagnostic, rémission, rechute voire fibrose irréversible).

De plus, les résultats prometteurs des études concernant les nouveaux marqueurs envisageables pour le diagnostic d'ABPA (anticorps recombinants, CAST, TARC) constituent de belles perspectives d'avenir pour le diagnostic et le suivi thérapeutique de cette pathologie.

BIBLIOGRAPHIE

1. Soubani AO, Chandrasekar PH. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. *Chest*. 2002 Jun;121(6):1988–99.
2. Persat F. Sérologie aspergillaire, d’hier à aujourd’hui pour demain. *J Mycol Médicale J Med Mycol*. 2012 Mar;22(1):72–82.
3. Greenberger PA, Miller TP, Roberts M, Smith LL. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with and without evidence of bronchiectasis. *Ann Allergy*. 1993 Apr;70(4):333–8.
4. Dejardin Botelho A, Tillie-Leblond I. Aspergillose bronchopulmonaire allergique. *EMC - Pneumol*. 2006 Jan;3(4):1–6.
5. Agarwal R, Shah A, Meis J. F, Moss R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clin Exp Allergy*. 2013 Jul;43(8):850–73.
6. Chakrabarti A, Sethi S, Raman DSV, Behera D. Eight-year study of allergic bronchopulmonary aspergillosis in an Indian teaching hospital. *Mycoses*. 2002 Oct;45(8):295–9.
7. Kirsten D, Nowak D, Rabe KF, Magnussen H. [Diagnosis of bronchopulmonary aspergillosis is often made too late]. *Med Klin Munich Ger* 1983. 1993 Jun 15;88(6):353–6.
8. 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*. 2003 Oct;37 Suppl 3:S225–64.
9. Agarwal R. What is the current place of azoles in allergic bronchopulmonary aspergillosis and severe asthma with fungal sensitization. *Expert Rev Respir Med*. 2012 Aug;6(4):363–71.
10. Hinson KFW, Moon AJ, Plummer NS. Broncho-pulmonary aspergillosis; a review and a report of eight new cases. *Thorax*. 1952 Dec;7(4):317–33.
11. Patterson R, Golbert TM. Hypersensitivity disease of the lung. *Univ Mich Med Cent J*. 1968 Feb;34(1):8–11.
12. Slavin RG, Laird TS, Cherry JD. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in a child. *J Pediatr*. 1970 Mar;76(3):416–21.
13. Maurya V, Gugnani HC, Sarma PU, Madan T, Shah A. Sensitization to *Aspergillus* antigens and occurrence of allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with asthma. *Chest*. 2005 Apr;127(4):1252–9.

14. Mastella G, Rainisio M, Harms HK, Hodson ME, Koch C, Navarro J, et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. A European epidemiological study. Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis. *Eur Respir J*. 2000 Sep;16(3):464–71.
15. De Almeida MB, Bussamra MHF, Rodrigues JC. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in paediatric cystic fibrosis patients. *Paediatr Respir Rev*. 2006 Mar;7(1):67–72.
16. Mastella G, Rainisio M, Harms HK, Hodson ME, Koch C, Navarro J, et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 2001 May;17(5):1052–3.
17. Geller DE, Kaplowitz H, Light MJ, Colin AA. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis: reported prevalence, regional distribution, and patient characteristics. Scientific Advisory Group, Investigators, and Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis. *Chest*. 1999 Sep;116(3):639–46.
18. Fournier EC, Tonnel AB, Wallaert B, Voisin C. [Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Apropos of 30 cases]. *Poumon Coeur*. 1983;39(2):75–82.
19. 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*. 2003 Oct;37 Suppl 3:S225–64.
20. Milla CE. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 1999 Feb;27(2):71–3.
21. Marchand E, Verellen-Dumoulin C, Mairesse M, Delaunois L, Brancalone P, Rahier JF, et al. Frequency of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations and 5T allele in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Chest*. 2001 Mar;119(3):762–7.
22. 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*. 1997 Oct 15;159(8):4072–6.
23. 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*. 2000 Oct;106(4):723–9.
24. Saxena S, Madan T, Shah A, Muralidhar K, Sarma PU. Association of polymorphisms in the collagen region of SP-A2 with increased levels of total IgE antibodies and eosinophilia in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 May;111(5):1001–7.
25. Agarwal R, Chakrabarti A. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in asthma: epidemiological, clinical and therapeutic issues. *Future Microbiol*. 2013 Nov 1;8(11):1463–74.

26. Ma Y, Zhang W, Yu B, Chen Y, Mu S, Cui Y. Prevalence of allergic bronchopulmonary aspergillosis in Chinese patients with bronchial asthma. *Tuberc Respir Dis.* 2011 Dec;34(12):909–13.
27. Agarwal R, Gupta D, Aggarwal AN, Saxena AK, Chakrabarti A, Jindal SK. Clinical significance of hyperattenuating muroid impaction in allergic bronchopulmonary aspergillosis: an analysis of 155 patients. *Chest.* 2007 Oct;132(4):1183–90.
28. Aimaganianda V, Bayry J, Bozza S, Knemeyer O, Perruccio K, Elluru SR, et al. Surface hydrophobin prevents immune recognition of airborne fungal spores. *Nature.* 2009 Aug 27;460(7259):1117–21.
29. Park SJ, Mehrad B. Innate immunity to *Aspergillus* species. *Clin Microbiol Rev.* 2009 Oct;22(4):535–51.
30. Tomee JF, Wierenga AT, Hiemstra PS, Kauffman HK. Proteases from *Aspergillus fumigatus* induce release of proinflammatory cytokines and cell detachment in airway epithelial cell lines. *J Infect Dis.* 1997 Jul;176(1):300–3.
31. Kauffman HF, Tomee JF, van de Riet MA, Timmerman AJ, Borger P. Protease-dependent activation of epithelial cells by fungal allergens leads to morphologic changes and cytokine production. *J Allergy Clin Immunol.* 2000 Jun;105(6 Pt 1):1185–93.
32. Greenberger PA, Smith LJ, Hsu CC, Roberts M, Liotta JL. Analysis of bronchoalveolar lavage in allergic bronchopulmonary aspergillosis: divergent responses of antigen-specific antibodies and total IgE. *J Allergy Clin Immunol.* 1988 Aug;82(2):164–70.
33. Tillie-Leblond I, le Rouzic O, Cortot A. Aspergillose bronchopulmonaire allergique. *Rev Fr Allergol.* 2012 Apr;52(3):134–7.
34. Tillie-Leblond I, le Rouzic O, Cortot A. Aspergillose bronchopulmonaire allergique. *Rev Fr Allergol.* 2012 Apr;52(3):134–7.
35. Tonnel AB, Gosset P, Wallaert B. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis. In: M.D PFBM, M.D JB, M.D PPG, editors. *Highlights in Asthmology* [Internet]. Springer Berlin Heidelberg; 1987 [cited 2014 Jun 23]. p. 58–65.
36. Agarwal R, Singh N, Gupta D. Pulmonary hypertension as a presenting manifestation of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Indian J Chest Dis Allied Sci.* 2009 Mar;51(1):37–40.
37. Phelan MS, Kerr IH. Allergic broncho-pulmonary aspergillosis: the radiological appearance during long-term follow-up. *Clin Radiol.* 1984 Sep;35(5):385–92.
38. Mendelson EB, Fisher MR, Mintzer RA, Halwig JM, Greenberger PA. Roentgenographic and clinical staging of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Chest.* 1985 Mar;87(3):334–9.
39. Thia LP, Balfour Lynn IM. Diagnosing allergic bronchopulmonary aspergillosis in children with cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev.* 2009 Mar;10(1):37–42.

40. 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*. 2013 Aug;43(8):850–73.
41. Lynch DA. Imaging of asthma and allergic bronchopulmonary mycosis. *Radiol Clin North Am*. 1998 Jan;36(1):129–42.
42. Panchal N, Bhagat R, Pant C, Shah A. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: the spectrum of computed tomography appearances. *Respir Med*. 1997 Apr;91(4):213–9.
43. 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*. 2006 Aug;130(2):442–8.
44. Agarwal R, Khan A, Garg M, Aggarwal AN, Gupta D. Chest radiographic and computed tomographic manifestations in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *World J Radiol*. 2012 Apr 28;4(4):141–50.
45. Mitchell TA, Hamilos DL, Lynch DA, Newell JD. Distribution and severity of bronchiectasis in allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA). *J Asthma Off J Assoc Care Asthma*. 2000 Feb;37(1):65–72.
46. Reiff DB, Wells AU, Carr DH, Cole PJ, Hansell DM. CT findings in bronchiectasis: limited value in distinguishing between idiopathic and specific types. *AJR Am J Roentgenol*. 1995 Aug;165(2):261–7.
47. 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 Aug;16(4):649–50.
48. Logan PM, Müller NL. High-attenuation mucous plugging in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Can Assoc Radiol J J Assoc Can Radiol*. 1996 Oct;47(5):374–7.
49. Hansell DM, Strickland B. High-resolution computed tomography in pulmonary cystic fibrosis. *Br J Radiol*. 1989 Jan;62(733):1–5.
50. Varkey B. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis Clinical Perspectives. *Immunol Allergy Clin North Am*. 1998 Aug 1;18(3):479–501.
51. Nichols D, Dopico GA, Braun S, Imbeau S, Peters ME, Rankin J. Acute and chronic pulmonary function changes in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Am J Med*. 1979 Oct;67(4):631–7.
52. Malo JL, Inouye T, Hawkins R, Simon G, Turner-Warwick M, Pepys J. Studies in chronic allergic bronchopulmonary aspergillosis. 4. Comparison with a group of asthmatics. *Thorax*. 1977 Jun;32(3):275–80.
53. McCarthy DS PJ. Allergic broncho-pulmonary aspergillosis. Clinical immunology. 2. Skin, nasal and bronchial tests. *Clin Allergy*.

54. Milla CE, Wielinski CL, Regelman WE. Clinical significance of the recovery of *Aspergillus* species from the respiratory secretions of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol*. 1996 Jan;21(1):6–10.
55. Agarwal R, Khan A, Aggarwal AN, Varma N, Garg M, Saikia B, et al. Clinical relevance of peripheral blood eosinophil count in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Infect Public Health*. 2011 Nov;4(5-6):235–43.
56. Murali PS, Dai G, Kumar A, Fink JN, Kurup VP. *Aspergillus* antigen-induced eosinophil differentiation in a murine model. *Infect Immun*. 1992 May;60(5):1952–6.
57. Wark PA, Saltos N, Simpson J, Slater S, Hensley MJ, Gibson PG. Induced sputum eosinophils and neutrophils and bronchiectasis severity in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Eur Respir J*. 2000 Dec;16(6):1095–101.
58. Agarwal R, Maskey D, Aggarwal AN, Saikia B, Garg M, Gupta D, et al. Diagnostic performance of various tests and criteria employed in allergic bronchopulmonary aspergillosis: a latent class analysis. *PloS One*. 2013;8(4):e61105.
59. Becker JW, Burke W, McDonald G, Greenberger PA, Henderson WR, Aitken ML. Prevalence of allergic bronchopulmonary aspergillosis and atopy in adult patients with cystic fibrosis. *Chest*. 1996 Jun;109(6):1536–40.
60. Greenberger PA, Patterson R. Diagnosis and management of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Ann Allergy*. 1986 Jun;56(6):444–8.
61. Ricketti AJ, Greenberger PA, Mintzer RA, Patterson R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Arch Intern Med*. 1983 Aug;143(8):1553–7.
62. Nelson LA, Callera ML, Schwartz RH. Aspergillosis and atopy in cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis*. 1979 Oct;120(4):863–73.
63. Hutcheson PS, Knutsen AP, Rejent AJ, Slavin RG. A 12-year longitudinal study of *Aspergillus* sensitivity in patients with cystic fibrosis. *Chest*. 1996 Aug;110(2):363–6.
64. Kurup VP, Banerjee B, Hemmann S, Greenberger PA, Blaser K, Crameri R. Selected recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens bind specifically to IgE in ABPA. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2000 Jul;30(7):988–93.
65. Hemmann S, Menz G, Ismail C, Blaser K, Crameri R. Skin test reactivity to 2 recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens in *A. fumigatus*-sensitized asthmatic subjects allows diagnostic separation of allergic bronchopulmonary aspergillosis from fungal sensitization. *J Allergy Clin Immunol*. 1999 Sep;104(3 Pt 1):601–7.
66. Crameri R, Hemmann S, Ismail C, Menz G, Blaser K. Disease-specific recombinant allergens for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Int Immunol*. 1998 Aug;10(8):1211–6.
67. Schwienbacher M, Israel L, Heesemann J, Ebel F. Asp f6, an *Aspergillus* allergen specifically recognized by IgE from patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis, is differentially expressed during germination. *Allergy*. 2005 Nov;60(11):1430–5.

68. Hemmann S, Nikolaizik WH, Schöni MH, Blaser K, Cramer R. Differential IgE recognition of recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens by cystic fibrosis patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis or *Aspergillus* allergy. *Eur J Immunol*. 1998 Apr;28(4):1155–60.
69. Nikolaizik WH, Moser M, Cramer R, Little S, Warner JO, Blaser K, et al. Identification of allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis patients by recombinant *Aspergillus fumigatus* I/a-specific serology. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995 Aug;152(2):634–9.
70. Banerjee B, Kurup VP, Greenberger PA, Johnson BD, Fink JN. Cloning and expression of *Aspergillus fumigatus* allergen Asp f 16 mediating both humoral and cell-mediated immunity in allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA). *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2001 May;31(5):761–70.
71. Fairs A, Agbetile J, Hargadon B, Bourne M, Monteiro WR, Brightling CE, et al. IgE sensitization to *Aspergillus fumigatus* is associated with reduced lung function in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Dec 1;182(11):1362–8.
72. Baxter CG, Denning DW, Jones AM, Todd A, Moore CB, Richardson MD. Performance of two *Aspergillus* IgG EIA assays compared with the precipitin test in chronic and allergic aspergillosis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2013 Apr;19(4):E197–204.
73. Denning DW. Chronic forms of pulmonary aspergillosis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2001;7 Suppl 2:25–31.
74. Skov M, Pressler T, Jensen HE, Høiby N, Koch C. Specific IgG subclass antibody pattern to *Aspergillus fumigatus* in patients with cystic fibrosis with allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA). *Thorax*. 1999 Jan;54(1):44–50.
75. el-Dahr JM, Fink R, Selden R, Arruda LK, Platts-Mills TA, Heymann PW. Development of immune responses to *Aspergillus* at an early age in children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994 Dec;150(6 Pt 1):1513–8.
76. Forsyth KD, Hohmann AW, Martin AJ, Bradley J. IgG antibodies to *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis: a laboratory correlate of disease activity. *Arch Dis Child*. 1988 Aug;63(8):953–7.
77. Hartl D, Latzin P, Zissel G, Krane M, Krauss-Etschmann S, Griesse M. Chemokines indicate allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Jun;173(12):1370–6.
78. Latzin P, Hartl D, Regamey N, Frey U, Schoeni MH, Casaulta C. Comparison of serum markers for allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 2008 Jan;31(1):36–42.
79. Ringer S, Hipler U-C, Elsner P, Zintl F, Mainz J. Potential role of the cellular allergen stimulation test (CAST) in diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2007 Apr;42(4):314–8.

80. Patterson R, Greenberger PA, Radin RC, Roberts M. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: staging as an aid to management. *Ann Intern Med.* 1982 Mar;96(3):286–91.
81. Patterson R, Greenberger PA, Halwig JM, Liotta JL, Roberts M. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Natural history and classification of early disease by serologic and roentgenographic studies. *Arch Intern Med.* 1986 May;146(5):916–8.
82. Kumar R. Mild, moderate, and severe forms of allergic bronchopulmonary aspergillosis: a clinical and serologic evaluation. *Chest.* 2003 Sep;124(3):890–2.
83. Greenberger PA. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol.* 2002 Nov;110(5):685–92.
84. Hilton AM, Chatterjee SS. Bronchopulmonary aspergillosis--treatment with beclomethasone dipropionate. *Postgrad Med J.* 1975;51 Suppl 4:98–103.
85. Heinig JH, Weeke ER, Groth S, Schwartz B. High-dose local steroid treatment in bronchopulmonary aspergillosis. A pilot study. *Allergy.* 1988 Jan;43(1):24–31.
86. Balter MS, Rebuck AS. Treatment of allergic bronchopulmonary aspergillosis with inhaled corticosteroids. *Respir Med.* 1992 Sep;86(5):441–2.
87. Imbeault B, Cormier Y. Usefulness of inhaled high-dose corticosteroids in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Chest.* 1993 May;103(5):1614–7.
88. Seaton A, Seaton RA, Wightman AJ. Management of allergic bronchopulmonary aspergillosis without maintenance oral corticosteroids: a fifteen-year follow-up. *QJM Mon J Assoc Physicians.* 1994 Sep;87(9):529–37.
89. 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.
90. 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.* 2000 Mar;342(11):756–62.
91. 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.* 2003 May;111(5):952–7.
92. Pasqualotto AC, Denning DW. Generic substitution of itraconazole resulting in sub-therapeutic levels and resistance. *Int J Antimicrob Agents.* 2007 Jul;30(1):93–4.
93. Howard SJ, Cerar D, Anderson MJ, Albarrag A, Fisher MC, Pasqualotto AC, et al. Frequency and evolution of Azole resistance in *Aspergillus fumigatus* associated with treatment failure. *Emerg Infect Dis.* 2009 Jul;15(7):1068–76.
94. Nepomuceno IB, Esrig S, Moss RB. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis: role of atopy and response to itraconazole. *Chest.* 1999 Feb;115(2):364–70.

95. Mulliez P. Treatment of ABPA: a place for voriconazole and omalizumab? *Rev Mal Respir.* 2010 Sep;27(7):670–2.
96. Hilliard T, Edwards S, Buchdahl R, Francis J, Rosenthal M, Balfour-Lynn I, et al. Voriconazole therapy in children with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros Off J Eur Cyst Fibros Soc.* 2005 Dec;4(4):215–20.
97. Glackin L, Leen G, Elnazir B, Grealley P. Voriconazole in the treatment of allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. *Ir Med J.* 2009 Jan;102(1):29.
98. Kamei K, Kohno N, Tabeta H, Honda A, Unno H, Nagao K, et al. The treatment of pulmonary aspergilloma with itraconazole. *Kansenshōgaku Zasshi J Jpn Assoc Infect Dis.* 1991 Jul;65(7):808–12.
99. Beck LA, Marcotte GV, MacGlashan D, Togias A, Saini S. Omalizumab-induced reductions in mast cell FcεRI expression and function. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Sep 1;114(3):527–30.
100. Hogan C, Denning DW. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and related allergic syndromes. *Semin Respir Crit Care Med.* 2011 Dec;32(6):682–92.
101. Knutsen AP, Bush RK, Demain JG, Denning DW, Dixit A, Fairs A, et al. Fungi and allergic lower respiratory tract diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Feb;129(2):280–91; quiz 292–3.
102. Serisier DJ, Martin ML. Long-term, low-dose erythromycin in bronchiectasis subjects with frequent infective exacerbations. *Respir Med.* 2011 Jun;105(6):946–9.
103. Figueiredo B de CGE, Ibiapina C da C. The role of macrolides in noncystic fibrosis bronchiectasis. *Pulm Med.* 2011;2011:751982.
104. Agarwal R, Aggarwal AN, Gupta N, Gupta D. A rare cause of acute respiratory failure--allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Mycoses.* 2011 Jul;54(4):e223–7.
105. Kramer MN, Kurup VP, Fink JN. Allergic bronchopulmonary aspergillosis from a contaminated dump site. *Am Rev Respir Dis.* 1989 Oct;140(4):1086–8.
106. Allmers H, Huber H, Baur X. Two year follow-up of a garbage collector with allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA). *Am J Ind Med.* 2000 Apr;37(4):438–42.
107. 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.* 2010;5(12):e15346.
108. 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.* 2010 Dec 15;51(12):1383–91.
109. Jindal SK, Agarwal R. Long-term oxygen therapy. *Expert Rev Respir Med.* 2012 Dec;6(6):639–49.

110. Bellis G, Lemonnier L, Sponga M. Registre français de la mucoviscidose - Bilan des données 2012. 2014.
111. Cunningham S, Madge SL, Dinwiddie R. Survey of criteria used to diagnose allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. *Arch Dis Child*. 2001 Jan;84(1):89.
112. Zirbes JM, Milla CE. Steroid-sparing effect of omalizumab for allergic bronchopulmonary aspergillosis and cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2008 Jun;43(6):607–10.
113. Van der Ent CK, Hoekstra H, Rijkers GT. Successful treatment of allergic bronchopulmonary aspergillosis with recombinant anti-IgE antibody. *Thorax*. 2007 Mar;62(3):276–7.
114. Delhaes L, Frealle E, Pinel C. Serum markers for allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis: State of the art and further challenges. *Med Mycol*. 2010 Nov;48 Suppl 1:S77–87.
115. Grenouillet F, Cabrol N, Grenouillet F, Roussel S. Sérologie aspergillaire : corrélation immunoélectrophorèse - Western Blot *Aspergillus*.
116. Oliva A, Cornet M, Flori P, Hennequin C, Pelloux H, Piarroux R, et al. *Aspergillus* immunoblot : a new diagnostic tool.
117. Paugam G, Toubas D, Dannaoui E, Le Pape P, Cornet M, Persat F. Diagnosis of pulmonary aspergilloma by serological *Aspergillus* antibody detection : comparison of a new commercial immunoblot-based test with detection by immunoprecipitation.
118. Brun S, Bekhechi Z, Uzunhan Y, Mantelet S, Suzanne P, Nicolas P, et al. Comparaison du Western Blot et de l'immunoélectrophorèse pour le diagnostic sérologique des aspergilloses chroniques.

VU

NANCY, le 7 janvier 2015

Le Président de Thèse

NANCY, le 6 janvier 2015

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur M. MACHOUART

Professeur M. BRAUN

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/6801

NANCY, le 16 janvier 2015

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE,
Par délégation le Vice-Président

Martial DELIGNON

TITRE EN ANGLAIS :

Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis : from an epidemiological study in cystic fibrosis patients to the introduction of a new technique for serological confirmation.

Thèse soutenue le 12 février 2015

par Julien DECKER

RÉSUMÉ DE LA THÈSE :

L'aspergillose bronchopulmonaire allergique est une pathologie résultant d'une réaction complexe d'hypersensibilité vis-à-vis d'*Aspergillus fumigatus*. Elle survient chez des personnes immunocompétentes, principalement au cours de la mucoviscidose. Elle est marquée par des phases d'exacerbations, entrecoupées de périodes de rémissions. Son diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et radiologiques. Parmi les critères diagnostiques biologiques définis, un taux d'IgE totales > 1000 UI/mL, la présence d'IgE et d'IgG spécifiques d'*A. fumigatus* pouvant être associés à la présence de précipitines sont principalement retrouvés.

Dans un premier temps, une analyse épidémiologique a été menée chez des patients atteints d'ABPA au CHU de Nancy. Dix-sept patients suivis aux CRCM enfants et adultes ont été inclus. Leurs caractéristiques ont été confrontées aux données nationales et internationales et se sont révélées très similaires à celles décrites dans la littérature.

Dans un second temps, deux méthodes de confirmation sérologique pour la recherche d'IgG anti-*A. fumigatus* ont été comparées : la co-électrosynérèse, technique ancienne, chronophage et peu sensible, et le western-blot, en testant les sérums des patients de la population sélectionnée. Les meilleures performances de cette dernière technique ont été confirmées localement. Le WB permet de détecter et de confirmer la spécificité des anticorps circulants, dont ceux de taux faible dans des situations où la coES ne le permettait pas. Le WB peut ainsi remplacer les techniques de précipitation en pratique courante.

THÈSE : MÉDECINE SPÉCIALISÉE – ANNÉE 2015

MOTS CLÉS : Aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) – *Aspergillus fumigatus* - Mucoviscidose - Co-électrosynérèse (CoE) – Western Blot (WB)

INTITULÉ ET ADRESSE :

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Faculté de médecine de Nancy
9, avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE-LES-NANCY CEDEX
