

Détection des anticorps anti-*Micropolyspora faeni* : comparaison de la méthode ELISA aux techniques *in vitro* classiques

C. DE CHAMPS¹, C. MARTIN¹, D. CAILLAUD², J.M. AIACHE¹

RÉSUMÉ

L'intérêt de la méthode ELISA dans le diagnostic du poumon de fermier reste discuté. 410 sérums ont été testés en ELISA avec un antigène de *Micropolyspora faeni* préparé au laboratoire simultanément à la recherche de précipitines par les deux techniques classiques de double diffusion d'Ouchterlony (DDO) et d'immunoélectrophorèse. Les résultats de l'ELISA sont donnés en index proportionnel à la densité optique (DO) du sérum analysé et intégrant la DO d'un sérum témoin positif et celle d'un témoin négatif. La comparaison de l'ELISA à la DDO montre que pour un index à 11 comme seuil de positivité, la sensibilité et la spécificité de l'ELISA sont égales à 83 p. cent. Par rapport à l'immunoélectrophorèse pour un index à 52 comme seuil de positivité, la sensibilité de l'ELISA est égale à 100 p. cent et la spécificité à 97 p. cent. 157 dossiers ont pu être documentés cliniquement. Pour 14 d'entre eux, les résultats étaient discordants entre l'ELISA et la recherche de précipitines. Chez 11 de ces patients, il existe une excellente corrélation entre l'exposition au foin moisi et le résultat de l'ELISA. Ainsi, comme cela a été montré pour d'autres allergènes, l'ELISA pourrait être un marqueur biologique complémentaire des méthodes traditionnelles dans le diagnostic de la maladie du poumon de fermier.

MOTS-CLÉS : Poumon de fermier – Alvéolite – *Micropolyspora faeni* – Précipitines – ELISA.

SUMMARY

Detection of anti-*Micropolyspora faeni* antibodies: comparison of the ELISA method with classical *in vitro* techniques. – The value of the ELISA method in the diagnosis of farmer's lung remains controversial. 410 sera were tested by ELISA with a *Micropolyspora faeni* antigen prepared in the laboratory simultaneously with a test for precipitins by the two classical Ouchterlony double diffusion (ODD) immunoelectrophoresis techniques. The results of ELISA are expressed as an index proportional to the optical density (OD) of the serum analysed and integrating the OD of a positive control serum and that of a negative control serum. Comparison of ELISA and ODD, using an index of 11 as the positivity cut-off value, showed that the sensitivity and specificity of ELISA were equal to 83 per cent. Using an index of 52 as the positivity cut-off value, the sensitivity of ELISA was 100 per cent and the specificity was 97 per cent compared to immunoelectrophoresis. 157 case files were clinically documented. Discordant results between ELISA and the test for precipitins were observed in 14 cases. In 11 of these patients, an excellent correlation was observed between exposure to mouldy hay and the ELISA result. Therefore, as demonstrated for other allergens, ELISA can constitute a complementary laboratory marker to traditional methods in the diagnosis of farmer's lung disease.

KEY-WORDS : Farmer's lung – Alveolitis – *Micropolyspora faeni* – Precipitins – ELISA.

1. Laboratoire d'Allergologie,

2. Service de Pneumophtisiologie,

Hôpital Sabourin, B.P. 125, 63020 CLERMONT-FERRAND Cedex 2.

Tirés à part : Dr C. De Champs (adresse ci-dessus).

Reçu le 16 janvier 1997. Accepté le 12 juin 1997.

INTRODUCTION

La maladie du Poumon de fermier est une alvéolite allergique extrinsèque (AAE) due à l'inhalation intense de particules organiques d'origine végétale. Les agents déclenchants sont souvent des moisissures ou des bactéries sporulées. Parmi les agents étiologiques les plus fréquents on retrouve un actinomycète thermophile *Micropolyspora faeni* [14].

Cette maladie est souvent une maladie professionnelle dont un des critères diagnostiques est la présence d'anticorps sériques précipitants (précipitines). Au-delà des considérations médico-légales, l'identification de l'allergène responsable permet de prendre des mesures prophylactiques indispensables à la guérison du malade [5].

La recherche de précipitines par les méthodes traditionnelles (immunodiffusion ou immunoélectrophorèse) est de réalisation lourde. C'est pourquoi certains laboratoires essaient de remplacer une de ces techniques par des tests de réalisation plus rapide comme les réactions immunoenzymatiques par exemple.

Le but de ce travail est de comparer les résultats biologiques obtenus par une méthode ELISA à ceux des méthodes traditionnelles.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Sérums

410 sérums conservés congelés au laboratoire ont été testés en ELISA vis à vis de l'antigène *Micropolyspora faeni*. La recherche de précipitines avait été faite avec le même antigène et par les deux techniques de double diffusion et immunoélectrophorèse, dès leur arrivée avant congélation.

Pour 157 d'entre eux un questionnaire comportant des renseignements cliniques a été renvoyé par le médecin traitant.

L'antigène

L'antigène a été préparé à partir de cultures sur milieu Agar dans notre laboratoire selon une technique déjà décrite [6] comportant une incubation dans une solution de Coca puis une congélation et décongélation avant filtration [1].

Recherche des précipitines

Elle a été effectuée par les méthodes classiques de double diffusion d'Ouchterlony (DDO) et d'immunoélectrophorèse (IME) [9, 15]. Pour la

DDO, les gels préparés avec de l'Agar à 1 p. cent dans un tampon à pH 7.0 sont coulés sur des plaques de 5 X 11 cm [15]. Un puits central de 12.5 mm de diamètre est découpé pour le sérum du patient (300 µl). Séparés d'une distance de 6 mm, sont répartis 6 puits de 4 mm de diamètre, pour les antigènes (30 µl).

L'immunoélectrophorèse est réalisée selon la méthode de Grabar et William [9]. Les gels d'Agar à 1 p. cent sont coulés sur des plaques de verre de 9 X 13 cm. 15 µl d'antigène sont déposés dans un puits et soumis à une électrophorèse pendant 1 h 30 à 100 V en tension constante. 250 µl de sérum sont rajoutés dans la rigole. Après 2 jours de diffusion, les arcs de précipitation sont mis en évidence par une coloration à l'Amido Black (Rhône Poulenc).

Une double lecture est réalisée par deux biologistes différents, permettant de noter le nombre d'arcs et l'intensité de l'arc le plus coloré.

L'ELISA

La méthode ELISA a été mise au point et validée au laboratoire selon la méthode de dilution en échiquier. Elle s'inspire d'une technique décrite par Richardson [17] et a été adaptée aux antigènes préparés au laboratoire (tableau I).

Des plaques de polystyrène Imulon A sont utilisées pour l'antigène de *Micropolyspora faeni* reconstitué à 10 µg/ml et incubé sous agitation 1 h 30 à 37°.

Chacun des sérums des patients est dilué au 1/50° dans du PBS-Tween 20 et distribué dans 2 puits. Un témoin antigène PBS-Tween sans sérum et un témoin positif constitué d'un sérum fortement positif en double diffusion et immunoélectrophorèse sont placés dans chaque plaque et incubés 1 h 30 à 37°.

La révélation se fait par des anticorps de chèvre anti-immunoglobuline G humaine marqués à la phosphatase alcaline (Sigma - 1 h 00 à 37°) et son substrat chromogène, le P-nitrophényl-phosphate (Sigma). La lecture se fait à 405 nm et 650 nm dans un lecteur de microplaques thermostaté à 37°C, Kinetic QCL. La densité optique (DO) retenue est la moyenne des valeurs obtenues pour chacun des puits.

Pour tenir compte des variations inter-essais, les résultats sont exprimés en index calculé à l'aide de la DO du témoin positif (DO_P), du témoin antigène (DO_A) et du sérum analysé (DO_S) [8].

$$I = \frac{DO_P - DO_S}{DO_P - DO_A} \times 100$$

Tableau I. – Différentes étapes de la technique ELISA

Étapes	Temps	Températures	Tampons	pH	Volume
1. Sensibilisation par l'antigène	1 h 30 (sous agitation)	37°C	Carbonate-bicarbonate	9,6	200 µl
Lavage	3 x 3 minutes	ambiante	PBS Tween 20	7,2	250 µl
2. Liaison avec les anticorps du sérum	1 h 30 (sous agitation)	37°C	PBS Tween 20	7,2	200 µl
Lavages	3 x 3 minutes	ambiante	PBS Tween 20	7,2	250 µl
3. Liaison avec le conjugué anti IgG - phosphatase alcaline	1 h 00 (sous agitation)	37°C	PBS Tween 20	7,2	200 µl
Lavages	3 x 3 minutes	ambiante	PBS Tween 20	7,2	250 µl
4. Réaction enzymatique du substrat et du chromogène (p nitrophenyl-phosphate)	1 h 00 (sous agitation)	37°C à l'obscurité	Diethanolamine	9,6-9,8	200 µl
5. Arrêt de la réaction et lecture ($\lambda = 405/650$ nm)		37°C	Na OH 3M		50 µl

Corrélation entre les résultats biologiques et les données cliniques

Un questionnaire inspiré de Reynaud et coll. [16] a été adressé aux médecins traitants des sujets testés. Les réponses ont permis d'établir un score clinique en prenant en compte le tabagisme : actuel = 2, ancien = 1, absent = 0 ; l'exposition au foin moisi : certaine = 2, douteuse = 1, absente = 0 ; les symptômes cliniques (dyspnée, toux, fièvre) : 3 symptômes = 2, 1 ou 2 = 1, absence = 0 ; la radiographie pulmonaire, aspect réticulo-nodulaire = 2, infiltrat localisé = 1, radio normale = 0 ; les épreuves fonctionnelles respiratoires : capacité pulmonaire totale diminuée ou altération de la diffusion du monoxyde de carbone = 2, syndrome obstructif = 1, fonction respiratoire normale = 0 ; le lavage broncho-alvéolaire ou l'examen histologique : compatible avec une alvéolite allergique extrinsèque = 2 (AAE), autre altération = 1, histologie normale = 0.

RÉSULTATS

La répartition des sérums selon les résultats de la double diffusion est la suivante : pour 354 sérums aucun arc n'a été mis en évidence, 1 arc a été observé pour 38 sérums, 2 arcs pour 7, 3 arcs pour 8, 4 arcs et plus pour 3.

La médiane et les valeurs extrêmes de l'index obtenu en ELISA sont les suivantes : 3 (-7 ; 73) pour les sérums n'ayant aucun arc de précipitation, 5 (0 ; 137), 14 (6 ; 132), 68 (2 ; 206) et 103 (96 ; 120) pour les sérums ayant respectivement 1, 2, 3, 4 arcs et plus.

La distribution de la valeur de l'index en fonction du nombre d'arcs (fig. 1) montre que 90 p. cent des sérums ayant 0 ou 1 arc de précipitation ont respectivement un index inférieur à 15 et à 43 et que 90 p. cent des sérums ayant au moins 2 arcs de précipitation ont un index supérieur à 7. En prenant pour valeur seuil un index à 11 et un nombre d'arcs supérieur à 1, l'ELISA a une sensibilité et une spécificité de 83 p. cent (fig. 2). En prenant pour valeur seuil un index à 30 et un nombre d'arcs supérieur à 1, l'ELISA a une sensibilité de 13/18 (72,2 %) et une spécificité de 274/292 (93,8 %) par rapport à la double diffusion.

Les valeurs médianes de l'index selon l'intensité montre des résultats similaires, 6 (0 ; 134), 27 (0 ; 206) et 113 (9 ; 202) pour les sérums ayant respectivement des arcs de précipitation d'intensité 1, 2 et plus de 2 arcs. La distribution de l'index en fonction de l'intensité (fig. 3) est assez similaire à celle du nombre d'arcs. Si on considère les 14 sérums ayant à la fois plus de 1 arc de précipitation et une intensité supérieure à 1, la médiane de l'index est égale à 85 (2 ; 206).

La recherche de précipitines par immunoelectrophorèse ne révèle aucun arc pour 386 sérums, 1 arc pour 17 et plus d'un arc pour 5 sérums. Les valeurs médianes et extrêmes de l'index obtenu en ELISA sont de 3 (-6 ; 206), 9 (0 ; 112) et 120 (58 ; 202) pour les sérums ayant respectivement 0, 1 et plus d'un arc en immunoelectrophorèse.

En prenant pour l'immunoelectrophorèse un nombre d'arcs supérieur à 1 pour la positivité, la sensibilité et la spécificité de l'ELISA par rapport à l'immunoelectrophorèse ont une valeur égale respectivement à 100 p. cent et 97 p. cent pour un index à 52 (fig. 4). Les distributions des valeurs de

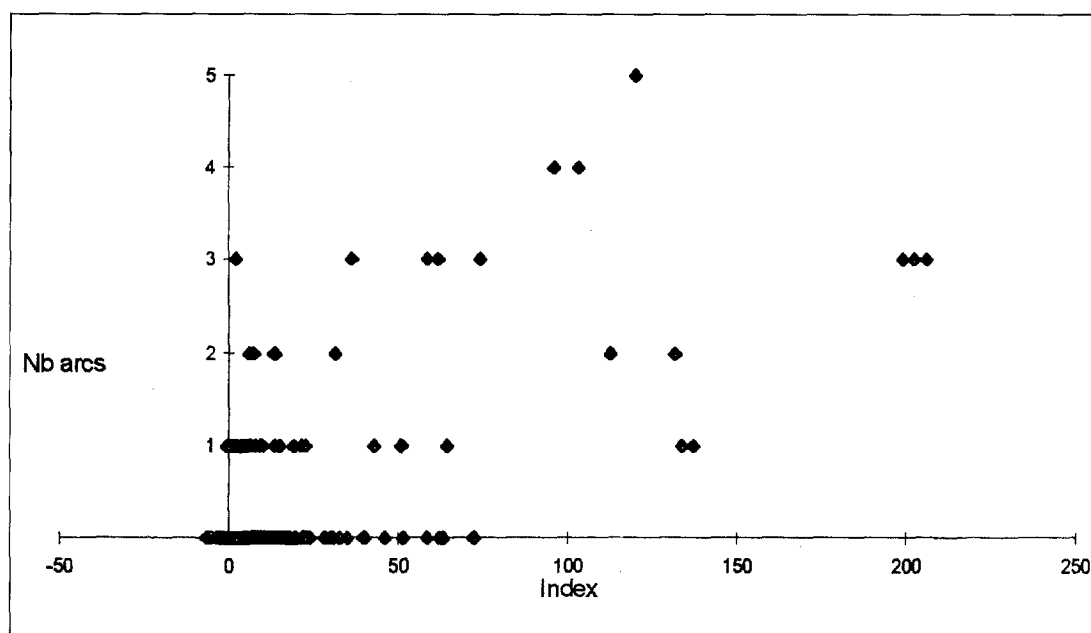


Fig. 1. – Valeur de l'index ELISA en fonction du nombre d'arcs obtenus en double diffusion.

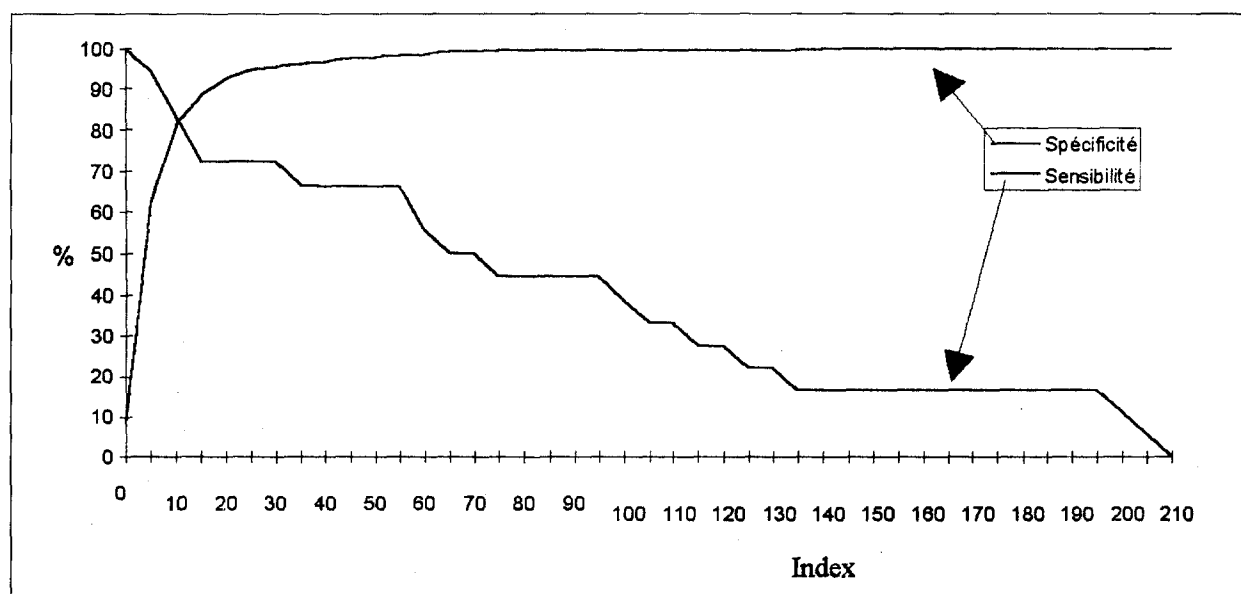


Fig. 2. – Sensibilité et spécificité de l'ELISA par rapport à la double diffusion (seuil de positivité, nombre d'arcs > 1) en fonction de la valeur de l'index retenue comme seuil de positivité.

l'index en fonction du nombre d'arcs (fig. 5) et de l'intensité (fig. 6) sont similaires à celles observées pour la double diffusion. Pour une valeur seuil de l'ELISA à 30 et un nombre d'arcs supérieur à 1 la sensibilité de l'ELISA est de 100 p. cent (5/5) et la spécificité de 93,8 p. cent (278/403). Les valeurs de l'index en fonction de l'intensité sont de 15 (0-113) et 41 (0-202) pour des intensités respectivement de 1 et plus de 1 en immunoelectrophorèse.

Parmi les 157 dossiers documentés cliniquement, on a observé en double diffusion : aucun arc pour 134 sérums, 1 arc pour 18 sérums, 2 arcs pour 4 sérums et 3 arcs pour 1 sérum. En prenant comme seuil de positivité un index ELISA à 30 et un nombre d'arcs > 1 on observe une discordance entre les résultats pour 14 patients (tableau II).

Les deux patients ayant 2 arcs en DDO et un index ELISA < 30 avaient tous les deux des

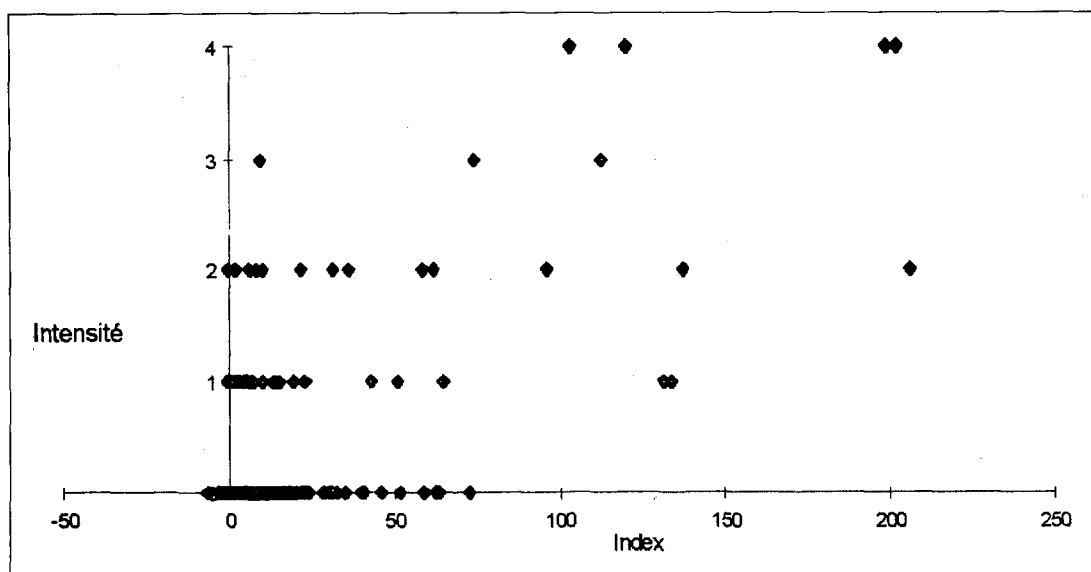


Fig. 3. – Valeur de l'index ELISA en fonction de l'intensité des arcs de précipitation obtenus en double diffusion.

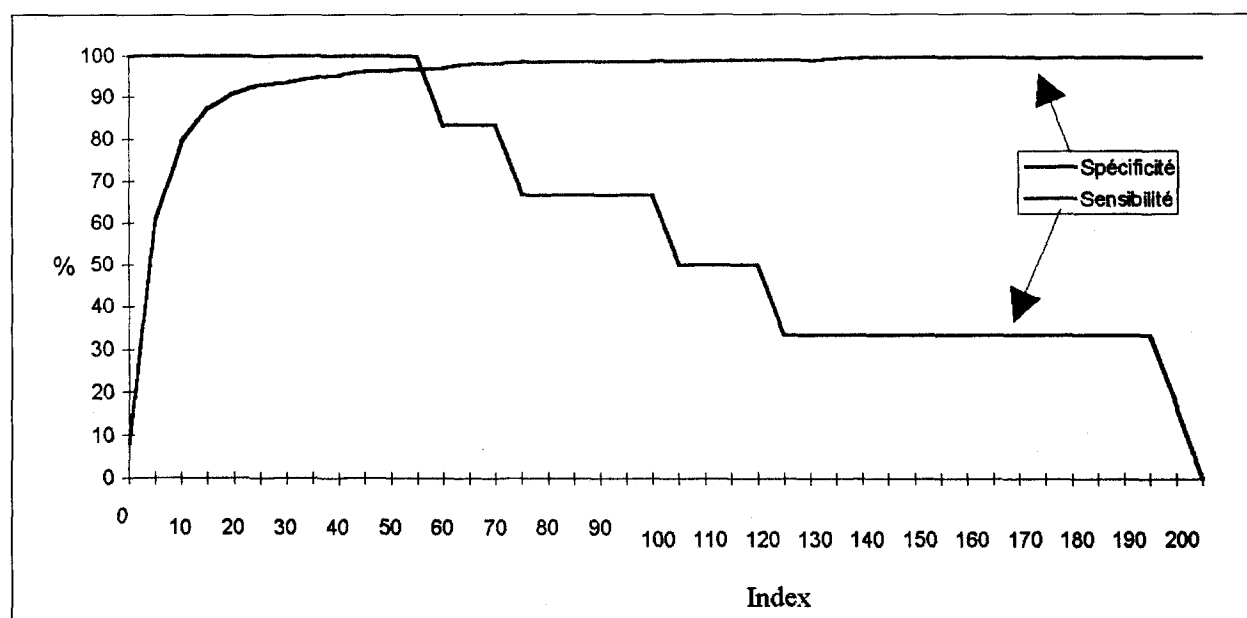


Fig. 4. – Sensibilité et spécificité de l'ELISA par rapport à l'immunoélectrophorèse (seuil de positivité : nombre d'arcs > 1), en fonction de la valeur de l'index retenue comme seuil de positivité.

signes cliniques et radiographiques évocateurs d'AAE et un seul d'entre eux avait une exposition au foin moisi. L'autre avait un index ELISA < 10.

Neuf patients (3-11) ayant un index ELISA ≥ 30 n'avaient aucun arc ni en double diffusion ni en immunoélectrophorèse. 7 d'entre eux avaient une exposition certaine au foin moisi, 3 des symptômes cliniques, 5 un aspect réticulo-nodulaire à

la radiographie pulmonaire, 4 une capacité pulmonaire totale diminuée, 3 une histologie compatible avec une AAE. Par contre, 5 avaient une histologie normale. Le score median était de 7 (extrêmes 4-12). 3 autres patients (12-14) ayant un index ELISA ≥ 30 avaient 1 arc de précipitines à l'une des 2 méthodes DDO ou IME. L'un de ces patients avait un score à 9, les autres à 5. Tous étaient exposés au foin moisi.

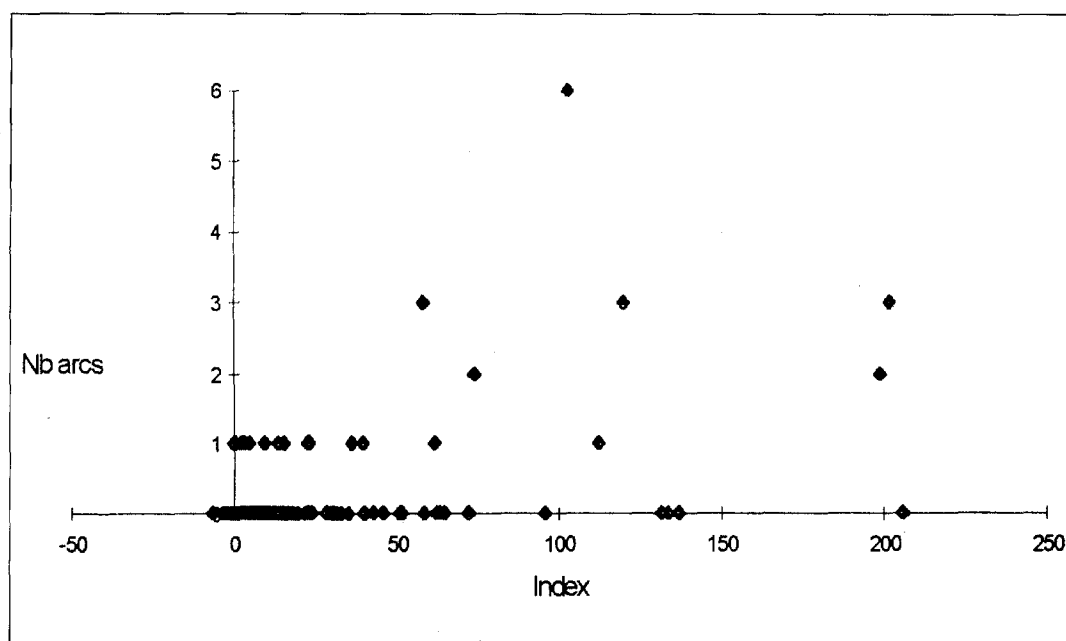


Fig. 5. - Valeur de l'index en fonction du nombre d'arcs de précipitation obtenus en immunoélectrophorèse.

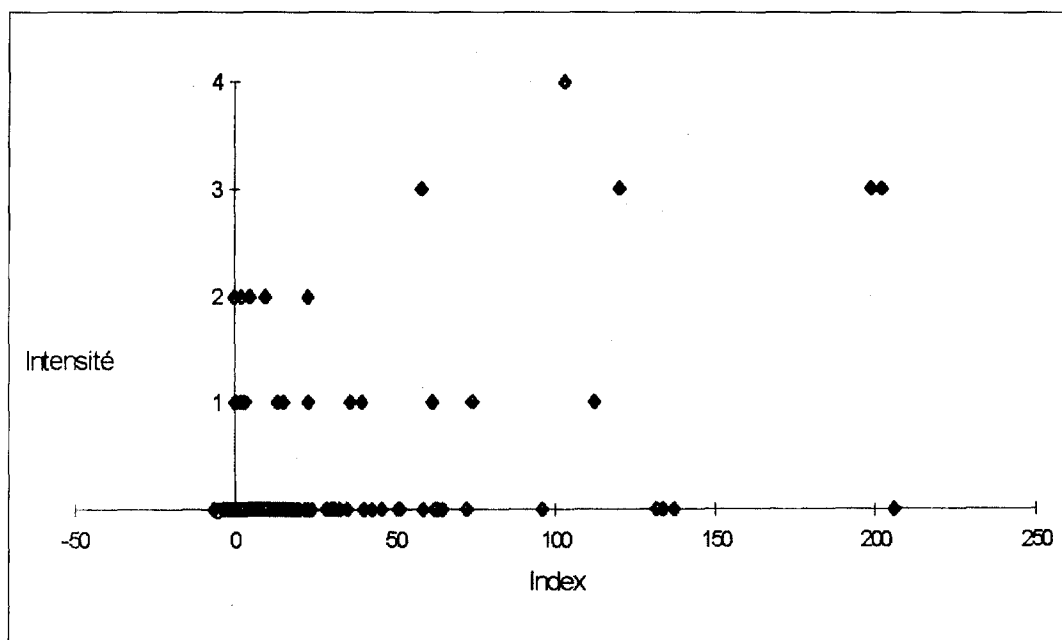


Fig. 6. - Valeur de l'index ELISA en fonction de l'intensité des arcs de précipitation obtenus en immunoélectrophorèse.

En immunoélectrophorèse, chez ces 157 patients, 147 n'avaient aucun arc, 8 un arc et 1 deux arcs. Les sérums de 14 patients présentaient des résultats discordants entre l'ELISA et l'IME avec un index ELISA ≥ 30 . Parmi eux, on retrouve les patients 3-14. Les patients 15 et 16 avaient 2 arcs en DDO ; tous les deux étaient exposés au foin moisi et avaient des scores cliniques respec-

tivement à 10 et 12 le patient 16 ayant une histologie compatible avec une AAE.

Les 25 patients ayant un index ELISA compris entre 10 et 30 et ayant moins de 2 arcs en double diffusion ont tous moins de 2 arcs en IME sauf 1. Le score médian était de 7 (extrêmes 4-11). Parmi eux, 18 ont une exposition certaine au foin moisi et 4 une exposition douteuse.

Tableau II. – Résultats discordants entre ELISA avec un seuil de positivité ≥ 30 et la recherche de précipitines

Patient	Nombre d'arcs		ELISA	Exposition	Histologie	Score
	DDO	IME	Index	Foin ①	ou LBA ②	
1	2	1	7	0	1	4
2	2	1	14	2	ND	12
3	0	0	64	2	0	6
4	0	0	59	2	2	12
5	0	0	30	2	ND	10
6	0	0	40	2	0	7
7	0	0	62	2	0	9
8	0	0	35	2	2	12
9	0	0	31	2	ND	5
10	0	0	33	0	2	7
11	0	0	46	1	0	4
12	1	0	51	2	0	5
13	1	0	43	2	2	9
14	0	1	40	2	0	5
15	2	0	132	2	ND	10
16	2	0	31	2	2	12

① Exposition au foin moisi : Certaine = 2 – Douteuse ou ancienne = 1 – Absente = 0.

② Lavage broncho-alvéolaire ou histologie : 2 = compatible avec AAE – 1 = autre anomalie – 0 = histologie normale – ND = examen non réalisé.

③ Score clinique et paraclinique allant de 0 à 12 (voir matériel et méthodes).

DDO : Double Diffusion d'Ouchterlony – IME : Immunoélectrophorèse.

DISCUSSION

Parmi les actinomycètes thermophiles, *Micropolyspora faeni* est celui qui est le plus souvent responsable de la maladie du poumon de fermier [12]. Des précipitines vis-à-vis des antigènes de *M. faeni* sont retrouvées chez environ 25 p. cent des patients atteints de cette maladie [13]. Dans une étude réalisée dans le Doubs, Dalphin et coll. [5] montre que la prévalence de sujets ayant des précipitines vis-à-vis de *M. faeni* varie en fonction du degré d'exposition au foin, entre 14 p. cent et 27 p. cent en double diffusion et 1 p. cent et 13 p. cent en immunoélectrophorèse. Il montre que cette prévalence varie également en fonction de la symptomatologie de 10 p. cent chez les sujets asymptomatiques à 26 p. cent chez les sujets ayant des symptômes « majeurs ». Ainsi, même si la prévalence de précipitines vis-à-vis de *M. faeni* est inférieure à celle vis-à-vis des extraits de foin, cet antigène offre l'avantage d'une certaine universalité contrairement à ceux extraits du foin qui varient selon la région. Ceci justifie le choix de *M. faeni* pour la mise au point de la technique ELISA.

Dans notre étude, le pourcentage de patients ayant des précipitines vis-à-vis de *M. faeni* est comparable à celui des études précédentes. La comparaison de la méthode ELISA avec la double diffusion et l'immunoélectrophorèse se heurte à une double difficulté, celle de la valeur diagnostique de la présence d'un seul arc de précipitation et celle de la nécessité de définir une valeur seuil de positivité de l'ELISA. En effet, le nombre d'arcs de précipitation n'étant pas un reflet direct du taux d'anticorps spécifiques d'un antigène donné, on ne peut établir une corrélation entre la valeur de l'index et le nombre d'arcs.

La valeur 30 retenue comme seuil pour l'index constitue un compromis entre les valeurs 11 et 52 donnant les valeurs de spécificité et sensibilité optimales par rapport à la DDO et à l'IME. Par rapport aux méthodes traditionnelles, on observe un taux relativement élevé de faux positifs de la méthode ELISA qui pourrait s'expliquer par sa plus grande sensibilité [2, 11].

L'examen des dossiers cliniques montre que les 14 patients, sauf un, ayant un faux positif ELISA ont une exposition au foin moisi et que chez 7 d'entre eux le diagnostic AAE est établi avec certitude sur les arguments cliniques, radiologiques et histologiques.

Comme l'ont montré les auteurs précédents [11], l'ELISA est donc une méthode plus sensible pour détecter l'exposition à l'allergène. Elle peut également s'appliquer à la caractérisation des classes d'immunoglobulines en cause ce qui dans certains cas permet de distinguer les primo expositions des expositions chroniques [7], la cinétique des anticorps permettant de détecter d'éventuelles réexpositions. Dans une pathologie voisine, l'aspergillose bronchopulmonaire allergique, certains auteurs ont montré que la présence de précipitines pouvait être précoce et transitoire [3]. Ainsi, il reste à savoir si la cinétique des anticorps anti-*Micropolyspora faeni* est la même que celle des précipitines. Si ce n'est pas le cas, ces deux méthodes pourraient être complémentaires.

Les réactions sérologiques étant réalisées dans le cadre d'enquêtes sur les maladies professionnelles, l'ELISA pourrait apporter un gain de sensibilité dans la recherche de l'allergène en cause, mais elle pourrait également permettre une meilleure caractérisation des allergènes possibles [14].

CONCLUSION

L'ELISA est intéressante pour sa faisabilité, sa rapidité (gain de 2 à 3 jours par rapport aux méthodes traditionnelles). Cependant elle est plus coûteuse et ne trouve pas d'indication dans les tests vis-à-vis d'allergènes moins fréquemment rencontrés.

RÉFÉRENCES

1. Aiache J.M., Brun J., Jeanneret A. – La recherche et l'identification des allergènes. *R. Sci. Techn. Pharm.*, 1975, 4, 511-521.
2. Bamdad S. – Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for IgG and antibodies in farmer's lung disease. *Clin. Allergy*, 1980, 10, 161-171.
3. Brémont F., Recco P., Linas M.D., Seguela J.P., Dutour G. – Intérêt d'un suivi mycologique et sérologique régulier pour le diagnostic d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique dans la mucoviscidose. *Société Française de Mycologie Médicale*, Novembre 1996, 11 (Abstr.).
4. Dalphin J.C. – Alvéolites allergiques extrinsèques en milieu agricole. *Rev. Prat. (Paris)*, 1992, 42, 1790-1795.
5. Dalphin J.C., Toson B., Monnet E., Pernet D., Dubiez A., Laplante J.J., Aiache J.M., Depierre A. – Farmer's lung precipitins in Doubs (a department of France) : prevalence and diagnostic value. *Allergy*, 1994, 49, 744-750.
6. Edwards J.H. – The Production of Farmer's Lung Antigens. *Med. Lab. Techn.*, 1971, 28, 172-174.
7. Fasani F., Bossi A., Caramia V. – Double diffusion and ELISA for the detection of IgG and IgM antibodies against *Micropolyspora faeni*. *Ann. Allergy*, 1987, 59, 451-454.
8. Faux J.A., Shale D.J., Lane D.J. – Précipitins and specific IgG antibody to *Aspergillus fumigatus* in a chest unit population. *Thorax*, 1992, 47, 48-52.
9. Grabar P., Williams CA. – Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin. *Biochem. Biophys. Acta*, 1953, 10, 193-194.
10. Grillot R. – Examens sero-immunologiques, pp. 299-319. In : *Les Mycoses Humaines : démarche diagnostique*. Paris, Elsevier 1996.
11. Khan Z.U., Richardson M.D., Warnock D.W. – Rapid enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of IgG antibodies against *Micropolyspora faeni* and *Thermoactinomyces vulgaris*. *Clin. Allergy*, 1984, 14, 295-305.
12. Marx J.J., Gray R.L. – Comparison of the enzyme-linked immunosorbent assay and double immunodiffusion test for the detection and quantitation of antibodies in farmer's lung disease. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1982, 70, 109-113.
13. Melinn M., MC Laughlin H. – Farmers lung : a three year survey and comparison of ELISA and CIEP techniques in antibody detection. *Int. J. Med Sci.*, 1989, 158, 173-174.
14. Ojanen T.H., Katila M.L., Mäntyjärvi R.A. – The use of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) in the diagnosis of farmer's lung. *Allergy*, 1980, 35, 537-542.
15. Ouchterlony O. – Antigen antibody reaction in gels. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 1953, 32, 231-240.
16. Reynaud C., Slosman D.O., Polla B.S. – Precipitins in bird breeder's disease : how useful are they ? *Eur. Respir. J.*, 1990, 3, 1155-1161.
17. Richardson M.D., Stublins J.M., Warnock D.W. – Rapid Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for *Aspergillus fumigatus* antibodies. *J. Clin. Pathol.*, 1982, 35, 1134-1137.

ADDENDA

À propos des articles suivants :

- **Immaturité du système immunitaire bronchopulmonaire chez l'enfant**, par H. LEVREY, J.L. CADORÉ, J.F. MORNEX. *Rev. Fr. Allergol.*, 1997, 37 (2), 145-150. Il faut noter que le Docteur Hélène Levrey est titulaire d'une bourse de la Fondation Mérieux et de l'Association pour la Lutte contre les Affections Respiratoires et Métaboliques de l'Enfant.
- **Épidémiologie de l'asthme grave**, par D. CHARPIN, N. BOUAZIZ. *Rev. Fr. Allergol.*, 1997, 37 (3), 297-302. Les auteurs remercient le Laboratoire Glaxo Wellcome pour leur soutien financier.

