

Allergie professionnelle du boulanger à l'alpha-amylase fongique

N. BERMEJO *, Y. MARIA **, J.L. GUEANT *,
D.A. MONERET-VAUTRIN **

RÉSUMÉ

L'alpha-amylase fongique est un améliorant des farines. Son rôle d'allergène professionnel est connu. A propos d'une observation, les auteurs mettent en évidence les IgE spécifiques par technique radio-immunologique et confirment l'implication de cet allergène dans l'asthme par test de provocation bronchique. La spécificité des anticorps pour l'alpha-amylase fongique est attestée par la négativité du prick-test à l'alpha-amylase bactérienne.

SUMMARY

Baker's occupational allergy to alpha-amylase. — Fungal alpha-amylase is used in bakery as a flavor-improving additive. The occupational feature of this allergen is known. The following case report attests the presence of seric specific anti-amylase IgE, thanks to a radio immuno assay (RIA) in which the amylase extract was covalently coupled to sepharose. The part played by alpha-amylase in asthma was evidenced by bronchial challenge. Negativity to skin tests performed with the bacterial alpha-amylase favours the hypothesis of different antigenic epitopes varying with the origin of the enzymes, with no cross sensitization.

L'asthme allergique du boulanger (allergie professionnelle) est relativement courant : 21 p. cent des boulangers exposés à la farine présentent un asthme professionnel [7]. La plupart sont des atopiques souffrant de polysensibilisation. Toutefois, il faut prêter attention à d'autres allergènes professionnels et on connaît la fréquence des réactions asthmatiques aux enzymes protéolytiques [4]. Cette observation témoigne d'une sensibilisation à l'alpha-amylase d'origine aspergillaire, enzyme glycolytique utilisée en panification.

OBSERVATION

Le patient, âgé de 26 ans, travaille dans une boulangerie depuis 7 ans. Il a présenté à l'adolescence une conjonctivite pollinique graduellement disparue. Depuis un an, il souffre d'une rhinite et d'un asthme dont les symptômes culminent 2 heures après le début du travail. Il a observé que des réactions particulièrement nettes, oculaires, nasales et bronchiques surviennent à la manipulation de sacs d'une farine contenant un additif (alpha-amylase). La disparition des symptômes lors de l'arrêt de travail (vacances ou autres) documente de façon classique ce cas d'asthme professionnel.

* Service de Biochimie Médicale (Pr J.P. Nicolas), Unité INSERM 308, CHU de Brabois, Vandœuvre-lès-Nancy.

** Service de Médecine D, Immunologie clinique et Allergologie (Pr J.P. Grilliat, Pr D.A. Moneret-Vautrin), CHU de Brabois, Vandœuvre-lès-Nancy.

Tirés à part : Pr D.A. Moneret-Vautrin, Service de Médecine D, Immunologie clinique et Allergologie, CHU de Brabois, 54511 VANDŒUVRE-LES-NANCY.

Reçu le 23 avril 1990. Accepté le 5 octobre 1990.

ETUDE PARACLINIQUE

Les pricks-tests pratiqués avec les extraits Stalergènes sont évalués par rapport au témoin positif au phosphate de codéine 9 p. cent (test positif si le diamètre est supérieur de 50 p. cent à celui de la codéine). Les pricks sont positifs aux pollens de graminées, farine de blé, de maïs, d'orge et d'avoine. Aucune sensibilisation n'est mise en évidence pour les acariens principaux (*Dermatophagoïdes ptérynyssinus*, *D. farinae*), les acariens de stockage, l'extrait d'Ephestia et les 4 groupes de moisissures (Pasteur). Un test à *Aspergillus mix.* est négatif.

Deux alpha-amylases sont testées : l'alpha-amylase d'origine bactérienne (Maxilase) est négative. L'alpha-amylase d'origine Aspergillaire (*Aspergillus oryzae*, Laboratoire Sigma) est violemment positive de 100 mg/ml à 1 mg/ml. Ces concentrations sont négatives chez 5 sujets contrôles non atopiques et 5 atopiques.

Le taux d'IgE est élevé à 1 997 KUI/l avec des RAST de classe 4 pour la farine de seigle, de classe 3 (10,75 PRU/ml pour la farine de blé, et de classe 4 (> 52,5 PRU/ml) pour le pollen de dactyle.

Le test à la carbamylcholine montre une hyper-réactivité bronchique à la dose seuil de 800 µg de carbamylcholine.

Des tests de provocation bronchique ont été pratiqués par manipulation de farine contenant l'alpha-amylase, ainsi que par nébulisation pendant 3 minutes d'une solution d'alpha-amylase aspergillaire à 1 mg/ml en sérum salin. On observe une diminution immédiate du VEMS de 26 p. cent, et de 62 p. cent après nébulisation (sans modification après nébulisation de sérum salin). Il n'y a pas de réaction semi-tardive.

groupements époxyranes du gel Epoxy-Sépharose 6 B, en incubant 8 ml de gel avec 8 ml d'une solution d'amylase fongique à une concentration de 2 mg de protéines/ml pendant toute une nuit à 36 °C sous agitation. Après lavage, une première incubation de 50 µl de gel avec 50 µl de sérum du patient pendant 3 heures, permet la formation du complexe IgE anti-amylase/amylase. Une deuxième incubation avec 50 µl d'anti-IgE-I¹²⁵ met en évidence le complexe protéine/IgE spécifique.

La quantité de radioactivité mesurée par un compteur gamma est directement proportionnelle à la concentration d'IgE anti-amylase fixées sur le gel. Le résultat est exprimé en pourcentage de fixation de la radioactivité sur la phase solide. Le test a été effectué en double aveugle, pour le patient et pour 10 témoins non atopiques non allergiques.

La fixation non spécifique des IgE anti-amylase sur le gel était testée en utilisant comme phase solide un gel de Sépharose-éthanolamine, au lieu du gel Sépharose-amylase. La fixation non spécifique des anti-IgE-I¹²⁵ était étudiée en substituant au sérum du patient ou des témoins du tampon phosphate.

La liaison non spécifique des IgE sur le support Sépharose-éthanolamine est estimée à $0,6 \pm 0,20$ p. cent. Le pourcentage de radioactivité fixée, pour les sérums contrôles, vis-à-vis de l'amylase Sigma et de l'amylase commerciale est de $2,38 \pm 0,73$ p. cent, et $1,91 \pm 0,62$ p. cent respectivement. La limite supérieure de la normale est estimée respectivement à 3,8 et 3,2 p. cent. Les résultats obtenus avec le sérum du patient montrent un pourcentage de radioactivité liée de 20,1 et 16,8 p. cent respectivement (fig. 1).

Un RAST à l'alpha-amylase (Pharmacia, Uppsala, Suède) a été réalisé, le résultat est également positif : 4,32 PRU/ml.

ETUDE RADIO-IMMUNOLOGIQUE

Les IgE spécifiques anti-amylase présentes dans le sérum ont été identifiées à l'aide d'un test radio-immunologique, en couplant de façon covalente l'amylase sur le gel Epoxy-Sépharose 6 B (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Suède). Deux extraits différents d'amylase aspergillaire ont été utilisés : l'extrait A du laboratoire Sigma Chemicals (Saint-Louis, Missouri, USA) et l'extrait B obtenu par le laboratoire Giste Brocades (Seclin, France), qui commercialise l'enzyme ajoutée à la farine.

Le principe de ce test radio-immunologique est le suivant : l'amylase fongique est couplée sur les

DISCUSSION

La possibilité de réaction asthmatique à des enzymes protéolytiques telles que des extraits pancréatiques, la trypsine, la broméline, la flavias-tase, la papaïne et la pepsine, est bien connue [3]. On a également mis en évidence, rapidement dès l'exposition des travailleurs aux enzymes protéolytiques de *Bacillus subtilis* (utilisées pour les poudres de lessive), la possibilité d'asthme professionnel. D'autres cas ont été décrits dans l'industrie pharmaceutique ou agro-alimentaire, comme l'allergie à la pepsine, utilisée au Canada comme additif à certaines liqueurs, fromages et céréales [4]. En 1979 apparaît le premier rapport

d'allergie à l'alpha-amylase [5, 6], complété ultérieurement par les publications de Baur et Birnbaum [1, 2].

L'alpha-amylase est utilisée en paneterie comme améliorant des farines, à la concentration de 3 g à 15 g d'alpha-amylase pour 100 kg de farine. Son utilisation est légale depuis le 7 avril 1983. Elle doit être d'origine fongique (*Aspergillus oryzae* et *Aspergillus niger*). Elle stimule la croissance de *saccharomyces minor* en fournissant des substrats carbo-hydrates à partir de l'hydrolyse de l'amidon. Le levage de la pâte est alors facilité. Elle participe également à la couleur et au goût.

Le cas étudié survient sur un terrain atopique, mais cette allergie professionnelle peut survenir chez des sujets non atopiques [7]. L'étude extensive de Baur a montré qu'il existe une sensibilisation à l'alpha-amylase chez 2 p. cent des boulangers, mais chez 75 p. cent des boulangers asthmatiques. En France, l'allergie respiratoire à l'alpha-amylase entre dans le cadre des maladies professionnelles numéro 63.

En raison des méthodes d'extraction et du degré de purification, il est improbable que la sensibilisation à l'alpha-amylase aspergillaire soit liée à des constituants de la moisissure elle-même. Comme le sujet ne réagit pas à l'alpha-amylase d'origine bactérienne, la sensibilisation est probablement liée à des épitopes antigéniques particuliers à l'alpha-amylase aspergillaire.

Ce cas permet de souligner la nécessité d'un bilan extensif lorsqu'un asthme professionnel du boulanger est diagnostiqué : une sensibilisation

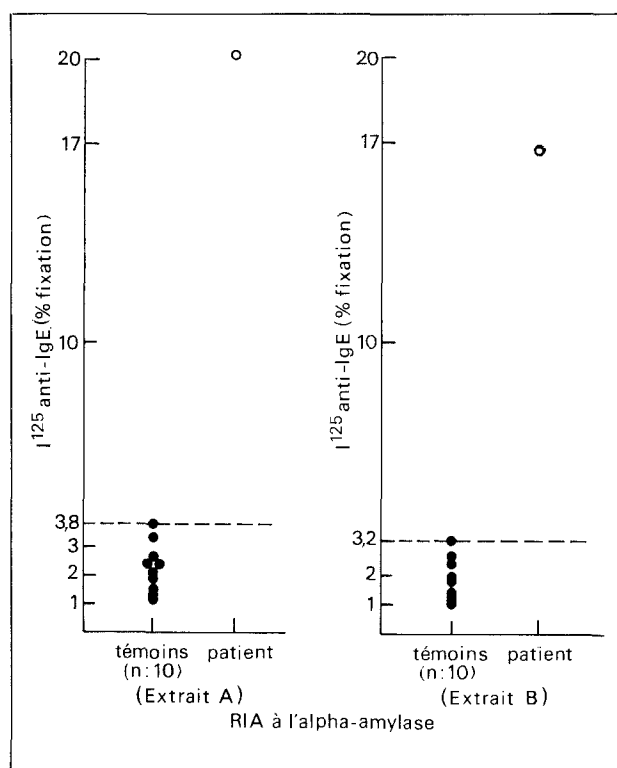


Fig. 1. — RIA à deux extraits d'amylase aspergillaire.

aux farines peut s'accompagner non seulement d'une sensibilisation aux acariens de stockage, mais également d'une sensibilisation aux additifs comme l'alpha-amylase.

REFERENCES

1. Baur X., Fruhmann G., Haug B., Rasche B., Reiher W., Weiss W. — Role of aspergillus amylase in baker's asthma. *Lancet*, 1986, 43.
2. Birnbaum J., Latil F., Vervloet D., Senet M., Charpin J. — Rôle de l'alpha-amylase dans l'asthme du boulanger. *Rev. Fr. Mal. Resp.*, 1988, 5, 519-521.
3. Cartier A., Malo J.L., Mineau L., Dolovich J. — Occupational asthma due to pepsin. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1984, 73, 574-577.
4. Davies R.J., Blainey A.D., Pepys S. — Occupational asthma. In : Middleton E. et al., *Allergy, principles and practice*, pp. 1037-1065. Saint-Louis, Mosby, 1983.
5. Flindt M.L.H. — Variables affecting the outcome of inhalation of enzyme dusts. *Ann. Occup. Hyg.*, 1983, 26, 647-655.
6. Flindt M.L.H. — Allergy to alpha-amylase and papaïn. *Lancet*, 1979, 1407-1408.
7. Pauli G., Bessot J.C., Dietemann-Molard A. — L'asthme professionnel : investigations et principales étiologies. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.*, 1986, 22, 399-425.

■ ■ ■