

RECHERCHE DES ANTICORPS PRÉCIPITANTS DANS L'ALLERGIE A EPHESTIA KUEHNIELLA

Par

G. CABANIEU, J.-H. BEZIAN, G. MORICHAU-BEAUCHANT, A. CAPBERN
et R. PAUTRIZEL

(Bordeaux)

La mise en évidence d'anticorps précipitants au cours de certaines affections de nature allergique éveille actuellement un intérêt croissant, bien que leur signification physiopathologique ne soit vraisemblablement pas univoque. A la lumière de travaux récents, il apparaît qu'une place doit être réservée, dans le domaine de l'allergie pulmonaire, à une hypersensibilité semi-retardée se rapprochant du phénomène d'Arthus, liée à la présence de précipitines sériques de nature IgG.

Nous avons été amenés à rechercher de telles précipitines dans le sérum de malades asthmatiques qui, par leur profession (boulangers, ouvriers de meunerie, cultivateurs), sont au contact d'un insecte parasite de la farine, *Ephestia kuehniella*, malades chez lesquels la fréquence de la positivité des tests cutanés vis-à-vis d'un extrait antigénique de cet insecte a été reconnue [1].

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. SÉRUMS DES MALADES.

Les malades ont été répartis en trois groupes :

- 33 malades qui avaient été en contact avec la farine (boulangers, cultivateurs, ouvriers de meunerie) et présentaient des tests cutanés positifs à l'extrait d'*Ephestia* (extrait allergénique Hollister-Stier) ;
- 10 sujets normaux à tests négatifs mais ayant été en contact avec la farine ;
- 20 malades asthmatiques n'ayant jamais été en contact avec *Ephestia* et ne réagissant pas avec l'extrait allergénique.

2. EXTRAIT ANTIGÉNIQUE.

Un extrait antigénique d'*Ephestia kuehniella* a été préparé à partir d'insectes adultes entiers.

Les *Ephestias* sont lavés pour éliminer la farine qui pourrait les souiller, puis séchés et broyés à basse température (— 70 °C) par des billes d'acier suivant le principe décrit par BJORKLUND [2] (appareil Cytolator).

Le produit est humidifié à l'eau physiologique, puis le broyage est complété par passage sous forte pression (4 tonnes) dans une « French pressure Cell » (Aminco Instrument).

L'antigène est extrait par macération de la suspension obtenue dans une solution phénolée (solution de Coca) 24 heures à + 4 °C avec agitation, puis ultracentrifugation à 100 000 g.

Le surnageant est enfin concentré, soit par lyophilisation, soit par passage sur membrane de Collodion (membrane Sartorius) de façon à obtenir une concentration protéique de l'ordre de 10 mg par ml (dosage de l'azote par microméthode Khjeldall). L'extrait antigénique est conservé à — 25 °C.

3. MÉTHODES UTILISÉES.

a) Les différentes fractions de l'extrait d'*Ephestia* que nous avons isolé ont été étudiées :

— par disc-électrophorèse en gel de polyacrylamide dans une chambre Acrylofor (Pleuger France), tampon Tris-glycine pH = 8,5 (méthode décrite par BLOEMENDAL [3] ;

— par analyse immuno-électrophorétique avec migration de l'antigène et révélation immunologique par des immun-sérums expérimentaux obtenus en immunisant des lapins avec l'extrait antigénique associé à de l'adjuvant de Freund complet.

b) La présence d'anticorps précipitants dans le sérum des malades a été recherchée :

— par diffusion double en milieu gélifié, technique d'OUCHTERLONY, en gel d'agar à 1,5 p. cent (spécial Agar Noble Difco), tampon véronal-borate pH = 8,6 ;

— par analyse immuno-électrophorétique selon la microméthode de Scheidegger en gel d'agar à 2 p. cent, tampon véronal-borate pH = 8,6.

Certaines plaques ont été traitées par rhéophorèse de façon à accentuer la précipitation suivant la méthode de VAN OSS et BRONSON [4].

c) Les dosages de complément et d'immunoglobulines ont été réalisés par immunodiffusion radiale simple en milieu gélifié (technique de Fahey).

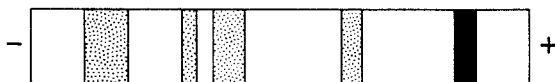
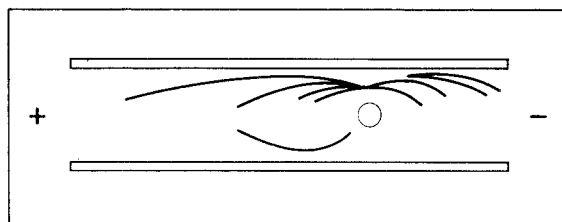
Dans le cas des IgE et des IgD, en raison du taux très faible de ces immunoglobulines dans le sérum, il a été nécessaire de faire appel au marquage isotopique, selon la technique de radio-immunodiffusion décrite par ROWE [5].

RÉSULTATS

1. L'ANTIGÈNE.

L'électrophorèse en gel de polyacrylamide a permis de mettre en évidence 5 fractions. La bande la plus importante, en position anodique rapide, présente une coloration brune en relation avec la présence d'un pigment (fig. 1).

L'analyse immuno-électrophorétique a confirmé l'hétérogénéité de l'extrait antigénique, les immun-sérums expérimentaux révélant au moins 7 fractions distinctes (fig. 2).

FIG. 1. — Electrophorèse en gel d'acrylamide de l'antigène *Ephestia*.FIG. 2. — A.I.E. de l'antigène *Ephestia*.

Migration de l'antigène *Ephestia* et révélation par :

- en haut : sérum de malade à précipitines.
- en bas : sérum de lapin immunisé.

2. RECHERCHE DES ANTICORPS PRÉCIPITANTS.

La technique d'OUCHTERLONY a fait apparaître un trait de précipitation avec environ la moitié des sérums de malades sensibilisés à l'*Ephestia*. Deux sérums de sujets à tests négatifs mais ayant été au contact avec l'allergène ont également précipité. Tous les autres sérums sont négatifs (tableau I).

TABLEAU I

PRÉSENCE DE PRÉCIPITINES DANS LE SÉRUM DES MALADES EN FONCTION DU RÉSULTAT DES TESTS CUTANÉS A L'*EPHESTIA* ET DU CONTACT AVEC CET ALLERGÈNE.

MALADES	NOMBRE DE SÉRUMS	RECHERCHE DES PRÉCIPITINES
{ Tests + Contact +	33 sérums	16 positifs
{ Tests — Contact +	10 sérums	2 positifs
{ Tests — Contact —	20 sérums	0 positif

Il faut signaler la fréquence et l'intensité des traits de précipitation chez les sujets ayant subi une désensibilisation par l'extrait allergénique Hollister-Stier (tableau II).

TABLEAU II

PRÉSENCE DE PRÉCIPITINES EN FONCTION DE LA DÉSENSIBILISATION A *Ephestia*.

INTENSITÉ DE LA PRÉCIPITATION	NOMBRE DE SÉRUMS	MALADES DÉSENSIBILISÉS	MALADES NON DÉSENSIBILISÉS
+++	1	1	0
++	4	3	1
+	11	5	6

En analyse immuno-électrophorétique avec migration de l'antigène et révélation par le sérum de malades, le trait de précipitation apparaît en position anodique et correspond à une fraction de l'antigène moins rapide que la fraction pigmentée (fig. 2).

SPÉCIFICITÉ DES RÉACTIONS DE PRÉCIPITATION.

La spécificité de ces réactions de précipitation a été testée avec divers autres antigènes : bactériens, fongiques, végétaux, parasitaires, etc. En particulier, il n'a pas été observé de précipitines vis-à-vis d'un extrait de farine purifié.

Il faut noter la fréquence de traits de précipitations disparaissant après lavage correspondant à une fraction lente de l'antigène *Ephestia*. Dans ces précipités non immunologiques sont impliqués soit l'albumine, soit une globuline sérique du groupe α_1 .

MÉTHODE D'OUCHTERLONY.

La méthode d'Ouchterlony, avec utilisation de sérums monospécifiques, a prouvé la non-identité des anticorps précipitants avec les IgA, IgM, IgD et IgE. Les analyses immuno-électrophorétiques avec migration du sérum de malade et révélation par l'antigène *Ephestia* ont permis de situer la fraction précipitante sérique dans la partie rapide de l'IgG.

DOSAGE DU COMPLÉMENT ET DES IMMUNOGLOBULINES.

Les méthodes d'immunodiffusion n'ont pas révélé de variations interprétables du taux des IgG, IgA, IgM et IgD, ainsi que de la fraction $\beta_1A-\beta_1C$ (correspondant à C'3).

Par contre, chez les sujets sensibilisés à l'*Ephestia*, les IgE ont un taux considérablement élevé par rapport à la normale (tableau III).

DISCUSSION

Nous avons donc mis en évidence des anticorps précipitants chez des malades asthmatiques présentant des tests cutanés positifs vis-à-vis d'un extrait d'*Ephestia kuehniella*, insecte parasite de la farine.

A la lumière des travaux récents [6], il semble que la signification des précipitines dans la pathogénie des syndromes allergiques pulmonaires soit extrêmement

TABLEAU III

TAUX DES IMMUNOGLOBULINES ET DU COMPLÉMENT CHEZ LES ASTHMATIQUES SENSIBILISÉS A EPHESTIA, LES ASTHMATIQUES NON SENSIBILISÉS A CET ALLERGÈNE ET CHEZ LES SUJETS NORMAUX AYANT SEULEMENT ÉTÉ EN CONTACT AVEC LA FARINE.

MALADES	TAUX DES IMMUNOGLOBULINES					COMPLÉMENT (C'3)
	IgG (mg/ml)	IgA (mg/ml)	IgM (mg/ml)	IgD (μg/ml)	IgE (ng/ml)	β1A-β1C (mg/ml)
Asthmatiques sensibilisés à Ephestia Test + Contact +	12,4	2,94	1,05	54	1 512	0,95
Asthmatiques Test — Contact —	11,8	3,29	1,07	49	1 440	0,92
Sujets normaux Test — Contact +	10,9	2,40	1,15	53	245	0,97

variable, parfois simple épiphénomène, parfois agents essentiels des lésions et de leurs manifestations cliniques (poumon du fermier, aspergillose type Hinson-Pepys, maladie des éleveurs d'oiseaux, etc.).

Dans les cas où un processus d'hypersensibilité semi-retardée se rapprochant du phénomène expérimental d'Arthus peut être invoqué, la symptomatologie clinique présente fréquemment un caractère assez tardif par rapport à l'exposition au pneumallergène et les tests cutanés provoquent souvent une réaction double, à la fois immédiate et semi-retardée de 4 à 6 heures.

Une étude approfondie des dossiers, portant notamment sur l'âge, le sexe, le type et l'ancienneté de l'asthme, le métier, le résultat des tests, le traitement et l'éventualité d'une désensibilisation, ne nous a pas permis de mettre en évidence le caractère retardé ou semi-retardé de cette sensibilité, tant à l'occasion des tests de provocation effectués par l'un d'entre nous, que lors de l'exploration cutanée elle-même.

De plus nous avons observé des précipitines chez deux sujets ayant été simplement en contact avec l'allergène mais ne présentant aucun syndrome allergique. L'existence de précipitines vis-à-vis d'*Ephestia kuehniella* dans le sérum de certains asthmatiques ne nous semble donc pas jouer un rôle prépondérant dans la physiopathologie des manifestations qu'ils présentent.

La plupart de nos malades sont des atopiques, tant par leurs antécédents héréditaires que par leur polysensibilisation vis-à-vis d'allergènes très divers : poussière de maison, plumes, *Candida*... Le taux très élevé des IgE, tout à fait comparable à celui observé chez les autres asthmatiques, confirme l'hypothèse d'un mécanisme d'hypersensibilité de type immédiat, avec participation d'anticorps cytophiles de nature IgE.

Cependant, il est logique de penser que, chez des sujets asthmatiques inhalant des particules animales très fortement antigéniques, dans des bronches qui sont le siège d'une inflammation parfois intense, soient produits, à côté des réagines allergiques, d'autres types d'anticorps, en particulier précipitants.

Toute injection nouvelle de l'antigène au cours de tentatives de désensibilisation ne peut alors que contribuer à augmenter le taux de ces anticorps. Ainsi s'expliquerait que nous ayons trouvé avec une relative fréquence des traits de précipitation d'intensité marquée chez ces malades ayant subi une tentative de désensibilisation à l'extrait d'*Ephestia*.

Il est à souligner par contre que l'évolution clinique ne nous a paru pratiquement jamais enrayée par ce traitement, les malades à précipitines se présentant comme porteurs d'asthmes graves tendant à devenir corticodépendants.

Il reste donc, en ce genre d'affection comme dans les autres maladies avec précipitines, à préciser la signification exacte de ces anticorps, à suivre leur cinétique de formation, leur évolution afin de pouvoir élucider leur rôle exact : simple phénomène, anticorps bloquants ou véritables responsables d'une allergie semi-retardée.

CONCLUSION

A l'occasion de l'enquête étiologique de certaines allergies professionnelles chez des sujets asthmatiques au contact de la farine ou des céréales (ouvriers agricoles, ouvriers de meunerie, boulangers...), un antigène de l'insecte *Ephestia kuehniella* a pu être isolé.

L'analogie avec d'autres affections respiratoires dites à « précipitines » a fait rechercher la présence d'anticorps précipitants à cet insecte. Leur mise en évidence a été réalisée dans plus de la moitié des cas explorés. La quasi-totalité d'entre eux présentaient par ailleurs des tests cutanés immédiats fortement positifs à l'antigène d'*Ephestia*.

Il semblerait que ces formes comptent parmi les plus graves du lot des allergies à l'*Ephestia*. Toutefois elles ne paraissent pas présenter le tableau clinique caractéristique que d'aucuns ont voulu décrire dans les maladies dites à « précipitines ».

L'échec des tentatives de désensibilisation à l'*Ephestia* et l'augmentation du taux des anticorps précipitants qu'elles entraînent fréquemment font poser à la fois le problème du rôle de ces anticorps et celui de l'indication de la désensibilisation en leur présence, dans ce cas précis et à propos d'antigènes similaires.

[Service de Médecine et Maladies Allergiques (Pr Agr. G. CABANIEU), Pavillon IV, Hôpital Xavier-Arnoz, 33-Bordeaux-Pessac].

[Service de Pneumo-Phthisiologie, (Pr G. BEAUCHANT), Hôpital de la Milletterie, 86-Poitiers].

[I.N.S.E.R.M., Unité de Recherches sur l'Immunologie des Affection Parasitaires (Pr R. PAUTRIZEL), Domaine de Carrière, rue Camille-Saint-Saëns, 33-Bordeaux].

RÉSUMÉ

A l'occasion de l'enquête étiologique de certaines allergies professionnelles chez des sujets asthmatiques au contact de la farine ou des céréales (ouvriers agricoles, ouvriers de meunerie, boulangers...), un antigène de l'insecte *Ephestia kuehniella*, a pu être isolé.

L'analogie avec d'autres affections respiratoires dites à « précipitines » a fait rechercher la présence d'anticorps précipitants à cet insecte. Leur mise en évidence a été réalisée dans plus de la moitié des cas explorés. La quasi-totalité d'entre eux présentaient par ailleurs, des tests cutanés immédiats, fortement positifs à l'antigène d'Ephestia.

Il semblerait que ces formes comptent parmi les plus graves du lot des allergies à l'Ephestia. Toutefois, elles ne paraissent pas présenter le tableau clinique caractéristique que d'aucuns ont voulu décrire dans les maladies dites à « précipitines ».

L'échec des tentatives de désensibilisation à l'Ephestia et l'augmentation du taux des anticorps précipitants qu'elles entraînent fréquemment, font poser à la fois le problème du rôle de ces anticorps et celui de l'indication de la désensibilisation en leur présence, dans ce cas précis et à propos d'antigènes similaires.

SUMMARY

RESEARCH INTO PRECIPITATING ANTIBODIES
IN ALLERGIC REACTIONS TO EPHESTIA KUEHNIELLA

During etiological research into certain professional allergies in patients suffering from asthma when in contact with flour or cereals (farm workers, millers, bakers...) an antigen of the insect *Ephestia kuehniella* was isolated.

The analogy with other respiratory disorders labelled « precipitin » disorders led to the discovery of the presence of precipitating antibodies of this insect. They were found to be present in more than half the cases investigated. By far the greater number of them gave immediate skin tests which showed strong positive reaction to the Ephestia antigen.

It would appear that these forms are among the most serious of the batch of Ephestia allergies. However, they do not give the typical clinical picture that some have tried to describe in diseases labelled « precipitin diseases ».

The failure of attempts to desensitize the patients to Ephestia and the increase in the level of precipitating antibodies which it frequently involves, pose two problems : that of the part played by these antibodies and that of the indication of desensitization in their presence in this particular case and in connection with similar antigens.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] MORICHAU-BEAUCHANT G., VINOT G. — Allergie à l'Ephestia. *Presse méd.*, 1958, 83, 1872-1874.
- [2] BJORKLUND D. — *Int. Arch. Allergy*, 1958, 12, 241-261.
- [3] BLOEMENDAL H. — *Zone electrophoresis in blocks and columns*. Monograph. Amsterdam, Elsevier, 1963.
- [4] VAN OSS C.J., BRONSON P. M. — Immunoelectrophoresis. *Immunochemistry*, 1969, 6, 775-778.
- [5] ROWE D. S. — Radioactive single radial diffusion : a method for increasing the sensitivity of immunochemical quantitation of proteins in agar. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 1969, 40, 4, 613.
- [6] PEPYS J. — *Hypersensitivity diseases of the lungs due to fungi and organic dusts*. Basel, Karger, 1969.