

Evaluation prospective d'un nouveau kit ELISA pour la détection des IgG anti-*Aspergillus* dans le diagnostic des aspergilloses pulmonaires chroniques et allergiques

Dumollard C.^{1*}, Bailly S.^{1,2,3}, Perriot S.¹, Brenier-Pinchart M.P.^{1,4}, Saint-Raymond C.⁵, Camara B.⁵, Gagneux J.P.⁶, Persat F.⁷, Valot S.⁸, Grenouillet F.⁹, Pelloux H.^{1,4}, Pinel C.¹, Cornet M.^{1,10}.

¹Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Institut de Biologie et Pathologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France; ²U823, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France; ³UMR 1137-IAME Team 5-DeSCID, Inserm/Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité University, Paris, France; ⁴UMR 5163 CNRS, Université Grenoble Alpes, Saint Martin d'Hères, France; ⁵Clinique Universitaire de Pneumologie, CHU Grenoble, Grenoble, France; ⁶Université Joseph Fourier, Grenoble, France; ⁷Mycologie, Hôpital Universitaire de Rennes, Rennes, France; ⁸Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France; ⁹Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital du Bocage, Dijon, France; ¹⁰Laboratoire TIMC-IMAG-TheREx, UMR 5525 CNRS-UJF, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France.
*cdumollard@chu-grenoble.fr

Introduction et objectifs

Les IgG anti-*Aspergillus* sont d'importants biomarqueurs pour le diagnostic des aspergilloses pulmonaires chroniques (APC) et des aspergilloses broncho-pulmonaires allergiques (ABPA).

Cette étude, prospective et multicentrique, évalue les performances d'un nouveau kit ELISA (Bordier affinity products) et le compare aux kits ELISA Bio-Rad et Virion\Serion et à une technique de référence : l'immunoélectrophorèse (IEP) du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Grenoble.

Ce kit Bordier est innovant par sa composition antigénique : il associe à la fois des antigènes somatiques et métaboliques (antigènes « maison » du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Grenoble) avec des antigènes recombinants d'*A. fumigatus* (chymotrypsine et mitogilline).

Matériel et méthodes

Etude prospective multicentrique (Grenoble, Rennes, Dijon, Lyon, Besançon).

436 sérums provenant de 352 patients, incluant 136 APC, 94 ABPA et 206 contrôles ont été testés.

Répartition des sérums

•206 contrôles :

- 192 témoins
- 14 colonisés

•230 malades :

- 23 aspergillome simple
- 78 APCC ou APCF
- 35 APCN
- 94 ABPA

Tests statistiques

Les sensibilités et spécificités des différentes techniques ont été calculées, en considérant d'une part les résultats équivoques comme positifs et d'autre part comme négatifs. Les résultats sont évalués avec le test Q de Cochran suivi d'un test de McNemar avec un ajustement de Holm.

Les courbes ROC ont été tracées pour les 2 kits ELISA présentant les meilleures performances; ces kits ont été ensuite comparés à l'IEP.

Critères de classification des patients (d'après Denning et Stevens)

	Groupe\Critères	Clinique	Imagerie	Preuve d' <i>Aspergillus</i> spp.
CONTRÔLES	Témoins	Symptômes respiratoires sans pathologie aspergillaire		
	Colonisés			Isolement d' <i>Aspergillus</i> spp. dans un prélèvement respiratoire à 2 reprises
MALADES	Aspergillome simple	Pas d'AEG	« grelot » stable 3 mois	Culture positive Ou histologie Ou précipitines anti- <i>Aspergillus</i>
	APCC / APCF	AEG, hémoptysies progression ≥ 3 mois	≥ 1 cavité avec progression ≥ 3 mois APCF: fibrose destructrice	Culture positive Ou histologie Ou précipitines anti- <i>Aspergillus</i>
	APCN	ID modérée, AEG, hémoptysies avec progression ≥ 1 mois	cavités, nodules, progressant ≥ 1 mois	Culture positive Ou histologie Ou précipitines anti- <i>Aspergillus</i> Ou Ag <i>Aspergillus</i> positif dans le sérum
	ABPA		Altération fonctions respiratoires + IgE anti- <i>Aspergillus</i> + IgE totales (>1000 UI/ml) ou Altération fonctions respiratoires + IgE anti- <i>Aspergillus</i> + IgE totales (>500 UI/ml) + anomalies à l'imagerie ou culture positive ou précipitines anti- <i>Aspergillus</i>	

Résultats

Performances

(A)	Equivoques	Bordier	Bio-Rad	Virion\Serion	pvalue*
Résultats équivoques (%)		2.8	6.7	10.1	
Se (%)	Positif [†]	97.0 [94.7 ; 99.2]	91.7 [88.2 ; 95.3]	86.1 [81.6 ; 90.1]	<.01
	Négatif [‡]	94.8 [91.9 ; 97.7]	83.0 [78.2 ; 87.9]	74.3 [68.7 ; 80.0]	<.01
Sp (%)	Positif [†]	90.3 [86.2 ; 94.3]	91.3 [87.4 ; 95.1]	81.5 [76.3 ; 86.9]	<.01
	Négatif [‡]	93.7 [90.4 ; 97.0]	95.6 [92.8 ; 98.4]	89.8 [85.7 ; 93.9]	0.03
Index de Youden [†]	Positif [†]	0.873	0.830	0.676	
	Négatif [‡]	0.885	0.786	0.641	

(B)	Equivoques	Bordier	Bio-Rad	IEP	pvalue*
Se (%)	Positif [†]	97.7 [95.8 ; 99.7]	93.2 [89.8 ; 96.5]	89.1 [85.0 ; 93.2]	<.01
	Négatif [‡]	95.4 [92.7 ; 98.2]	84.1 [79.3 ; 88.9]	77.3 [71.7 ; 82.8]	<.01
Sp (%)	Positif [†]	71.2 [59.6 ; 82.7]	76.3 [65.4 ; 87.1]	84.7 [75.6 ; 93.9]	0.14
	Négatif [‡]	81.4 [71.4 ; 91.3]	86.4 [77.7 ; 95.2]	96.6 [92.0 ; 100.0]	0.02
Index de Youden [†]	Positif [†]	0.689	0.695	0.738	
	Négatif [‡]	0.768	0.705	0.739	

Se: Sensibilité Sp: Spécificité

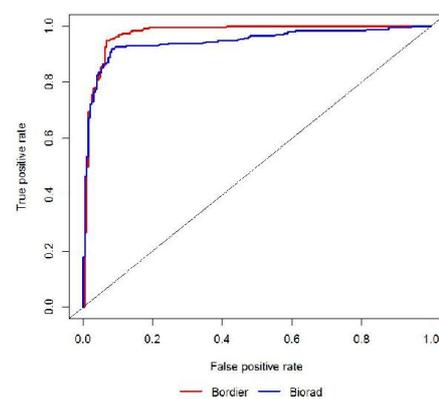
[†]Test Q de Cochran Q test

[‡]Résultats équivoques sont considérés comme positifs

[§]Résultats équivoques sont considérés comme négatifs

[†]Index de Youden = Sensibilité + Spécificité - 1

Courbes ROC



Les sensibilités et spécificités sont respectivement de 97% et 90.3% pour Bordier ; 91.7% et 91.3% pour Bio-Rad et 86.1% et 81.5% pour Virion/Serion. Une analyse de McNemar confirme la sensibilité supérieure de Bordier par rapport à Bio-Rad ($p<0.01$) et Serion ($p=0.04$). Les ELISA Bordier et Bio-Rad ont montré des spécificités comparables ($p=0.8$), qui sont supérieures à celle de Serion ($p=0.02$ pour chaque test). Dans une analyse secondaire incluant 279 sérums et comparant Bordier et Bio-Rad à l'IEP « maison », la sensibilité de Bordier reste supérieure à celle de Bio-Rad et à celle de l'IEP (97.7%, 93.2% et 89.1% respectivement, $p=0.03$ et $p<0.01$). L'IEP a montré une spécificité de 96.6% qui n'est pas significativement supérieure à celle de Bio-Rad (86.4%; $p=0.07$) mais supérieure à celle de Bordier (81.4%; $p=0.03$).

Discussion

Ce kit Bordier présente d'excellentes performances (Se=97%; Sp=90%; AUC=0.979) comparativement aux autres kits ELISA actuellement commercialisés. La classification des patients colonisés n'est pas consensuelle et reste actuellement controversée.

Conclusion

L'association d'antigènes recombinants avec des antigènes somatiques et métaboliques dans un même ELISA (Bordier) aboutit à un excellent compromis entre sensibilité et spécificité, conduisant à un test performant pour le diagnostic des aspergilloses chroniques et allergiques.

Bibliographie

Denning DW *et al.*, Clin Infect Dis 2003; Smith NL, Denning DW, Eur Respir J 2011; Stevens DA *et al.*, Clin Infect Dis 2003; Sarfati J *et al.*, Diagn Microbiol Infect Dis 2006; Weig M *et al.*, J Clin Microbiol 2001.

Remerciements

Dr Nicolas Beyls (Bordier affinity products)

CHU de GRENOBLE
CHU des Alpes