



# Phénotype clinique et réponses humorales intestinales de patients déficitaires en IgA

Jehane Fadlallah

## ► To cite this version:

Jehane Fadlallah. Phénotype clinique et réponses humorales intestinales de patients déficitaires en IgA. Médecine humaine et pathologie. 2014. dumas-01121758

**HAL Id: dumas-01121758**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01121758>**

Submitted on 2 Mar 2015

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est 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 toute poursuite pénale.

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES  
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2014

N°184

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE  
DOCTEUR EN MÉDECINE

Phénotype clinique et réponses humorales intestinales  
de patients déficitaires en IgA

Présentée et soutenue publiquement  
le 17 octobre 2014

Par

**FADLALLAH, Jehane**  
Née le 9 août 1984 à Paris (75)

Dirigée par Mme Le Professeur Fieschi, Claire

Jury :

M. Le Professeur Amoura, Zahir ..... Président  
M. Le Professeur Gorochov, Guy ..... Membre  
M. Le Docteur Mathian, Alexis ..... Membre



Except where otherwise noted, this work is licensed under  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

## Remerciements

Je remercie les membres de mon jury de me faire l'honneur d'évaluer mon travail, et surtout de m'avoir formée, conseillée et épaulée pendant ce long parcours (et ça vient de commencer...), et plus particulièrement:

- Pr Claire Fieschi, pour ta passion contagieuse de la médecine, ton esprit critique et ludique, et aussi pour tes qualités humaines, merci de donner l'exemple à suivre!

- Pr Zahir Amoura, pour m'avoir encouragée dans la voie de la médecine interne, m'avoir formée, avoir été là depuis le début et tout au long, et enfin pour me faire l'honneur de m'accueillir dans ton équipe.

- Pr Guy Gorochov, pour m'avoir accueillie dans ton équipe, formée en sciences, m'avoir appris la rigueur et l'honnêteté scientifiques, et merci aussi pour tes qualités humaines.

- Dr Alexis Mathian, que j'ai connu quand j'étais externe en DCEM2, tu fais partie des personnes qui m'ont beaucoup appris et qui m'ont donné envie de faire ce métier.

Je remercie évidemment mes parents, sans qui je ne serai jamais arrivée là, à qui je dédie ce travail, qui est aussi un peu le leur finalement. Je remercie mes frères, Serge et Bruno, de rendre la fraternité si joyeuse et indispensable.

Je remercie tous les internes et chefs qui m'ont formée, et plus particulièrement merci aux équipes d'immuno-hématologie du Pr Ferman, de médecine interne du Pr Amoura, et d'immunologie clinique du Pr Oksenhendler. Merci à Mr Oksenhendler de m'accueillir dans son service.

A mes collègues de laboratoire actuels et passés, merci de m'avoir accueillie très chaleureusement, de m'avoir guidée dans mes premiers pas, et aussi de me supporter quotidiennement depuis 2 ans (la moitié est passée!)

*Last but not least, merci à tous mes amis, évidemment!*

Aux amis de toujours, sur qui je peux compter inconditionnellement, ils se reconnaîtront....

A Maria et Ramzi : toutes ces années ont été un plaisir à vos côtés, ça a rendu ces études faciles et drôles, merci d'être là!

A mes co-internes et amis, dans l'ordre chronologique: Margot, Anne-Claire, Cécile, Marion, Romain J., Adrien, Sandrine, Marjorie, Mouna, Romain L. et Hélène, j'ai adoré mon internat grâce à vous!

A mes co-galériens et amis de M2, Hélène, Pierre, Benjamin et Philippe avec une dédicace spéciale à Jean-Marc!

Au quatuor infernal du vendredi soir

# Table des matières

|                                                                                                                                                              |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>                                                                                                                           | <b>4</b>  |
| <b>I – INTRODUCTION.....</b>                                                                                                                                 | <b>5</b>  |
| <b>II - MATERIELS ET METHODES .....</b>                                                                                                                      | <b>12</b> |
| A. PATIENTS ET TEMOINS.....                                                                                                                                  | 12        |
| B. SEPARATION DES CELLULES MONONUCLEES DU SANG PERIPHERIQUE (CMSP) ET DU PLASMA                                                                              | 12        |
| C. SELLES ET SEPARATION DES BACTERIES .....                                                                                                                  | 12        |
| D. DOSAGE PONDERAL DES IGG, IGA ET IGM PAR NEPHELEMETRIE ET DOSAGE<br>D'IMMUNOABSORPTION PAR ENZYME LIEE (ELISA).....                                        | 13        |
| E. DETECTION DES IG SECRETOIRES PRESENTES A LA SURFACE BACTERIENNE.....                                                                                      | 13        |
| F. ANALYSES STATISTIQUES .....                                                                                                                               | 13        |
| <b>III - RESULTATS.....</b>                                                                                                                                  | <b>14</b> |
| A. CARACTERISTIQUES CLINIQUES DE LA COHORTE .....                                                                                                            | 14        |
| 1- <i>Caractéristiques démographiques.....</i>                                                                                                               | 14        |
| 2- <i>Le déficit en IgA isolé ou associé à un DICV se complique d'infections récurrentes et entraîne<br/>une surconsommation d'antibiotiques.....</i>        | 15        |
| 3- <i>Le déficit en IgA sélectif s'accompagne de manifestations auto-immunes spécifiques d'organe<br/>et le DICV de lymphoprolifération polyclonale.....</i> | 16        |
| 4- <i>La moitié des patients a une symptomatologie digestive chronique et des lésions<br/>inflammatoires du tube digestif.....</i>                           | 18        |
| 5- <i>Les patients qui ont un DICV sont tous substitués par immunoglobulines polyvalentes.....</i>                                                           | 19        |
| B - ANALYSE DES REPONSES HUMORALES INTESTINALES.....                                                                                                         | 20        |
| 1- <i>Les patients présentent un taux d'IgM sérique inférieur aux témoins.....</i>                                                                           | 20        |
| 2- <i>L'absence d'IgA sérique est associée à un déficit en IgA sécrétoire et à la présence d'IgM<br/>intra-luminales en cas de dIgAs .....</i>               | 20        |
| <b>IV - DISCUSSION .....</b>                                                                                                                                 | <b>22</b> |
| <b>V- CONCLUSIONS.....</b>                                                                                                                                   | <b>27</b> |
| <b>VI – REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>                                                                                                                 | <b>28</b> |

## Liste des abréviations

- BAFF-R : B-cell activating factor receptor
- BD : Becton Dickinson
- BSA : Bovine serum albumine
- CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité
- CMSP: Cellules mononucléées sanguines périphériques
- DICV : Déficit immunitaire commun variable
- dIgA : Déficit en IgA
- ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay
- FAb: Fragment anigen binding
- FACS :Fluorescence-activated cell sorting
- Fc : Fragment Cristallisable
- HRP : Péroxydase de Raifort
- ICOS : Inducible T-cell Costimulator
- IL-21: Interleukine 21
- Ig : Immunoglobulines
- NaDC : Désoxycholate de sodium
- PBS : Phosphate buffer saline
- pIgR: récepteur aux Ig polymériques
- PFA : Paraformaldéhyde
- SVF : Serum de veau fœtal
- TACI :Transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor
- TMB : 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine
- Tubes ACD : Tubes acide citrate dextrose

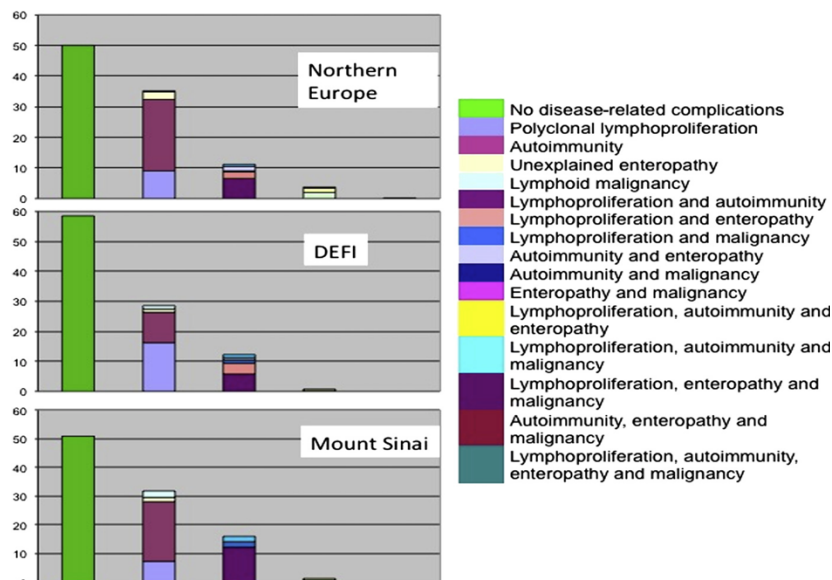
## I – Introduction

Les déficits immunitaires primitifs chez l'homme regroupent un ensemble de pathologies touchant l'immunité innée et adaptative qui peuvent se révéler à tout âge et ce depuis les premiers mois de la vie [1, 2]. Ce travail porte exclusivement sur les défauts primitifs de production d'immunoglobulines, et plus particulièrement, les défauts de production d'IgA. Les deux principales pathologies y aboutissant sont le déficit immunitaire commun variable (DICV) et le déficit sélectif en IgA (dIgAs). Ce travail décrit les manifestations cliniques des patients, et tente de comprendre par quel biais l'absence d'IgA pourrait être à l'origine des complications observées.

Le déficit immunitaire commun variable est une pathologie rare, dont la prévalence dans la population caucasienne est estimée à 1/25000 [3]. Il constitue néanmoins le déficit immunitaire humoral *symptomatique* de l'adulte le plus fréquent [4]. Ce diagnostic est habituellement porté entre l'âge de 20 et 40 ans mais peut se révéler avant 20 ans dans 20% des cas [5].

Il se caractérise par un défaut *primitif* de production en immunoglobulines (Ig) et une altération de l'immunité humorale protectrice. Les critères de définition du DICV sont [1, 6] (i) une diminution du taux sérique d'IgG ( $\text{IgG} < 6 \text{ g/L}$  ou inférieur à 2 déviations standard de la moyenne pour l'âge), associé à un déficit en IgA dans plus de 50% des cas et à des taux variables d'IgM [7], (ii) à partir de l'âge de 4 ans, (iii), en l'absence de déficit *primitif* connu de la différenciation et/ou de la fonction lymphocytaire B ou *secondaire* (thérapeutique / lymphoprolifération maligne dans les deux ans suivant le diagnostic) associé à (iv) une altération de la qualité (titre insuffisant) et/ou de la durée ( $< 6 \text{ mois}$ ) des réponses post vaccinales.

Ce défaut de production d'anticorps se traduit cliniquement par de nombreuses complications ainsi que par une morbi-mortalité élevée [8]. On distingue ainsi 5 phénotypes cliniques [4, 9, 10] : (i) les infections bactériennes récurrentes (*95 % des patients*) qui s'associent chez la moitié d'entre eux à (ii) des manifestations auto-immunes (25% des patients, principalement des cytopénies), (iii) une lymphoprolifération polyclonale (incluant les granulomatoses sans agent infectieux identifié chez 9% des patients, les pneumopathies infiltratives diffuses, les adénomégalias chroniques, et l'hyperplasie nodulaire régénérative du foie), (iv) une entéropathie (lésions inflammatoires du tube digestif non infectieuses et non auto-immunes, identifiée chez 15% des patients), (v) une lymphoprolifération maligne (10% des patients) (*Figure A*).



**Figure A : Phénotypes cliniques présentés par les patients DICV**

*Chapel H et al, JACI, 2012*

Les patients de 3 cohortes différentes sont regroupés selon leur phénotype et sont représentés en pourcentage du nombre total de patients : Infections isolées (1ère colonne), Lymphoprolifération polyclonale ou Enteropathie ou Auto-immunité (2<sup>ème</sup> colonne), association de deux phénotypes (3<sup>ème</sup> colonne) et association de trois phénotypes (4<sup>ème</sup> colonne).

La physiopathologie du DICV est encore mal élucidée, en partie car cette affection est très hétérogène et regroupe probablement plusieurs pathologies différentes comme le montre la diversité des présentations cliniques ; par conséquent, le diagnostic de DICV est un diagnostic d'exclusion. Il existe des formes familiales de DICV [11], et on retrouve des anomalies de l'immunité humorale chez des parents au premier degré [12]; de plus, la consanguinité dans cette pathologie aggrave le phénotype [13] : ces éléments suggèrent un caractère héréditaire. Dans 10% des cas, des anomalies génétiques sont mises en évidence et touchent principalement les gènes impliqués dans la maturation, la fonction et la survie lymphocytaire B : lorsqu'une mutation est retrouvée, le diagnostic de DICV est exclu. On distingue les mutations touchant les gènes codant pour des protéines de co-stimulation (déficits en CD19 [14], CD21 [15], CD81 [16] à la surface lymphocytaire B et en ICOS [17] à la surface lymphocytaire T), des récepteurs de facteurs de survie cellulaire (TACI [18], BAFF-récepteur [19]). Au plan phénotypique, les anomalies sont variables avec une lymphopénie B non systématique, et un déficit portant sur les lymphocytes B mémoire commutés (CD19+CD27+IgD-) [20].

L'instauration d'un traitement par substitution en immunoglobulines purifiées dépend de la fréquence et/ou de la gravité des infections présentées par le patient. La dose de substitution initiale de 0,4 à 0,6 g/kg/mois est à adapter au contrôle de la symptomatologie plus qu'à l'objectif de dosage résiduel [21]. Cette thérapeutique a prouvé son efficacité dans le contrôle des infections respiratoires, dans l'amélioration de la qualité de vie, et dans l'allongement de l'espérance de vie [8, 9]. En revanche, son efficacité n'a pas formellement été démontrée pour les autres infections [22], en particulier digestives. De plus, la substitution

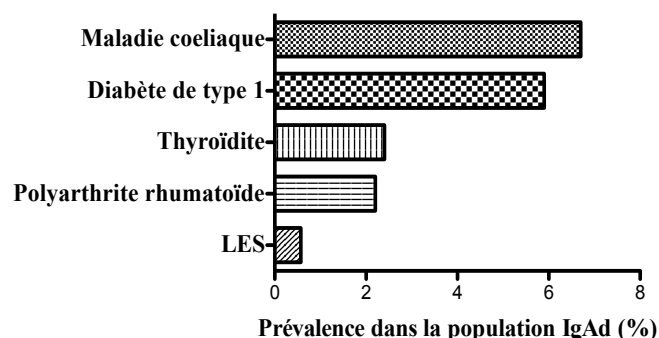
en Ig n'a pas montré de bénéfice dans les complications non infectieuses (hormis les cytopénies auto-immunes).

Le déficit sélectif en IgA (dIgAs) est plus fréquent que le DICV mais moins symptomatique. Ces deux pathologies semblent s'inscrire dans un continuum clinique et biologique étant donné que les dIgAs peuvent évoluer vers le DICV, et qu'on retrouve une surreprésentation de déficits sélectifs en IgA chez les apparentés de patients atteints de DICV [23, 24]. Le dIgAs est défini par (i) un taux *sérique* d'IgA inférieur à 0,07 g/L, (ii) sans autre déficit associé et sans étiologie retrouvée, (iii) chez un patient âgé de plus de 4 ans [6]. Il est important de ne pas méconnaître l'association déficit en IgA- déficit en IgG2 qui semble prédisposer aux infections pulmonaires graves [25]. En outre, les données de la littérature concernant le déficit partiel en IgA sont limitées et les séries pédiatriques suggèrent que le déficit partiel est transitoire et ne converge pas vers le déficit complet [26].

On estime que le dIgAs serait asymptomatique dans 70 % des cas [27], expliquant le fait que sa prévalence soit mal évaluée. Il semblerait cependant que cette pathologie soit plus fréquente chez les caucasiens avec une prévalence estimée à 1/219 donneurs de sang canadiens en 2010, 1/163 donneurs espagnols en 1997, 1/3230 donneurs chinois en 2010, 1/14840 donneurs japonais en 1986 [27, 28]. Cependant, le caractère peu symptomatique de ce déficit immunitaire est débattu, et des études cas-témoins récentes démontrent que plus de 80% des patients présentent une morbi-mortalité plus élevée que la population saine contrôle (*y compris les individus diagnostiqués fortuitement*) [29, 30] et que 70% des patients sont symptomatiques après 20 ans d'évolution [31, 32].

Les manifestations observées dans le dIgA sélectif sont (i) les infections récurrentes, (ii) les manifestations auto-immunes et (iii) une symptomatologie digestive non systématiquement infectieuse. Dans les séries récentes de patients, 30 à 40% ont un passé d'épisodes infectieux récurrents lors de l'inclusion, et plus de 70% ont des infections après 20 ans d'évolution, d'autant plus qu'il existe un déficit en sous classe d'IgG associé [32]. Les sites infectieux les plus fréquemment impliqués sont le carrefour oro-pharyngé et le poumon, et les germes documentés sont bactériens (*S.pneumoniae*, *H.influenzae*) [29]. Les infections digestives, notamment à *Giardia duodenalis*, ont été classiquement décrites [33] mais on ne retrouve pas cette association dans les études récentes. De manière intéressante, le déficit en IgA s'associe à une forte incidence de maladies auto-immunes (20 à 30% des cas selon les séries), principalement spécifiques d'organes. Il s'agit de la maladie coeliaque, des pathologies thyroïdiennes auto-immunes, du diabète de type 1, du lupus érythémateux systémique (LES) et de la polyarthrite rhumatoïde (*Figure B*). On retrouve dans la littérature

des cas isolés d'association à la maladie de Biermer, au vitiligo et aux cytopénies auto-immunes[34].

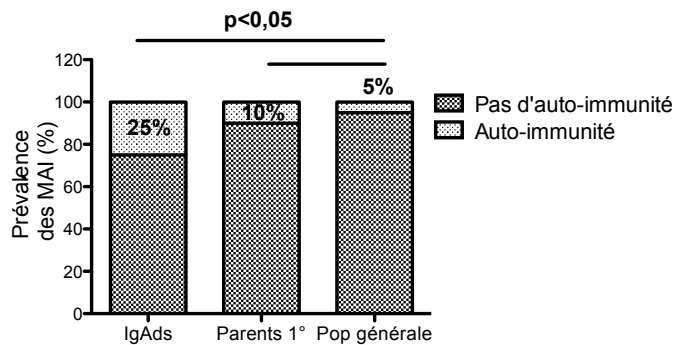


*Figure B : Spectre des maladies auto-immunes statistiquement associées au déficit sélectif en IgA, selon Ludvingsson et al, Journal of Clinical Immunology, 2014, étude épidémiologique cas-témoins portant sur 2100 patients appariés à 18653 témoins*

Inversement, on retrouve un déficit en IgA chez 1 : 60 patient atteint de maladie de Basedow, 1 : 77 patient lupique, 1 : 115 patient diabétique de type I, 1 : 180 patient présentant une maladie coeliaque en moyenne (revue de la littérature reprenant les études majeures sur le sujet [35]). L'association entre les manifestations auto-immunes et le déficit en IgA n'est pas expliquée à l'heure actuelle.

Les hypothèses émises sont :

- (i) une étiologie commune aux deux pathologies : en effet, on observe une agrégation familiale de maladies auto-immunes chez les patients et leurs apparentés au premier degré [36] (*Figure C*) et une association forte à certains allèles du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et en particulier à l'haplotype HLA-A1, B8, DR3, DQ2 [28] (45% chez les patients vs 16% dans la population générale), haplotype qui prédispose aussi au lupus erythémateux systémique (LES), à la maladie de Basedow, au diabète de type 1 et à la maladie coeliaque [37] ;
- (ii) l'auto-immunité comme conséquence de l'absence d'IgA : de récentes études proposent que l'IgA sérique monomérique exerce un effet inhibiteur de l'inflammation après liaison avec son récepteur Fc, le CD89, expliquant l'auto-immunité présentée par ces patients [38] ;
- (iii) l'auto-immunité comme conséquence d'une rupture de l'homéostasie lymphocytaire B, et enfin
- (iv) l'hypothèse de réponses inappropriées dirigées contre le soi, induites par des agents microbiens, dont la translocation est facilitée par l'absence d'IgA.



**Figure C : Prévalence des maladies auto-immunes dans une cohorte de patients dIgA et chez leurs apparentés au premier degré,** selon Jorgensen et al, *Journal of Clinical Immunology*, 2009, étude comparative menée chez 43 patients et 269 parents au premier degré

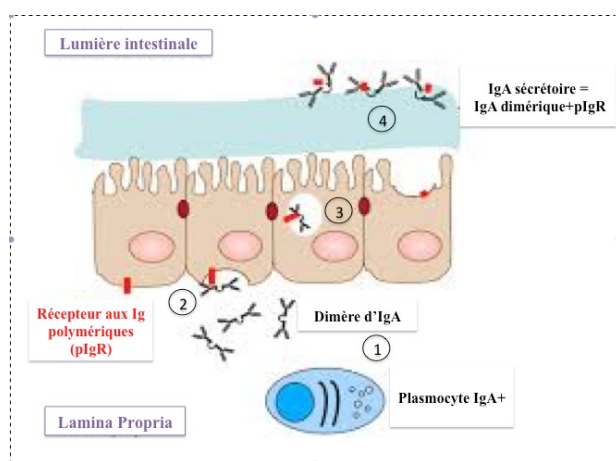
La physiopathologie est, comme le DICV, encore incomplètement comprise ; sur le plan génétique, les patients ne présentent pas de mutations des régions constantes  $Ca1$  et  $Ca2$  [27] et on retrouve, comme dans le DICV, des mutations du gène codant TACI sans corrélation reproductible avec le phénotype clinique [18]. Sur le plan cellulaire, peu de données existent sur le phénotype des lymphocytes circulants, mais il semblerait qu'il existe un déséquilibre dans les sous populations lymphocytaires B (défaut en cellules B mémoires commutées  $CD27^+IgD^-$ , et un défaut en plasmablastes  $CD38^{+++}$ ,  $IgM^+$  ou  $IgM^-$  [39]) chez les patients symptomatiques, comme dans le DICV. De plus, plusieurs articles décrivent des altérations dans le réseau cytokinique impliqué dans la commutation de classe vers l'IgA et notamment l'IL-21, dont l'injection pourrait *ex vivo* restaurer l'expression d'IgA à la surface des lymphocytes B des patients [40].

Sur le plan thérapeutique, il n'existe pas de traitement spécifique de cette pathologie. Les maladies auto-immunes sont traitées de manière identique qu'en l'absence de déficit en IgA. Les complications infectieuses ne sont pas accessibles à la substitution étant donné l'absence d'IgA dans les préparations d'Ig polyvalentes, et sont traitées par antibiothérapie visant les germes encapsulés.

Pour comprendre les manifestations cliniques observées chez les patients déficitaires en IgA, et éventuellement établir un lien de causalité, il est important de connaître les propriétés de cette immunoglobuline. Elles sont encore à l'heure actuelle incomplètement comprises et font l'objet de nombreuses recherches. Chez l'homme, l'IgA présente deux isotypes, l'IgA1 et l'IgA2, qui diffèrent dans la structure de leur zone charnière, plus courte et plus hydrophobe pour l'IgA2, ce qui lui confère une résistance à la protéolyse bactérienne. Elle peut se retrouver sous forme monomérique ou multimérique. Dans le compartiment sanguin, l'isotype prédominant est l'IgA1 (ratio de 1:10), retrouvé sous forme monomérique, et représentant en quantité la deuxième Ig après l'IgG. Le rôle de l'IgA sérique reste à l'heure actuelle mal élucidé ; des articles récents suggèrent qu'elle induit une action inhibitrice des

mécanismes inflammatoires lorsqu'elle se lie à ses récepteurs Fc sous forme monomérique, et qu'elle aurait une activité immunorégulatrice par ce biais[41].

L'IgA se trouve principalement dans les muqueuses, notamment digestive, où l'isotype prédominant est l'IgA2 (colon) [42]. Elle est sécrétée par les plasmocytes des plaques de Peyer, des îlots lymphoïdes isolés de la sous muqueuse et des ganglions mésentériques de manière T dépendante et indépendante, sous forme majoritairement dimérique [43] ; les monomères d'IgA sont liés par leurs fragments Fc par une chaîne de liaison « J » et passent du pôle basal au pôle apical des cellules épithéliales par transcytose à travers le récepteur aux Ig polymériques (pIgR), qui s'enroule autour du dimère pendant le passage et constitue la pièce sécrétoire dans la lumière de l'intestin [27] : on parle alors d'IgA sécrétoire (*Figure D*). La présence du pIgR est nécessaire à la translocation de l'IgA et de l'IgM dans la lumière intestinale : dans le modèle murin de déficit en pIgR, on ne retrouve pas d'Ig dans la lumière intestinale [44]. De plus l'IgA sécrétoire présente une glycosylation différente des autres Ig, notamment par le biais de la pièce sécrétoire, qui lui attribuerait des sites de liaison aux antigènes indépendants de la région Fab [42, 45]. Les réponses IgA sont induites par la flore intestinale (microbiote intestinal), attribuant à cette Ig un rôle important à l'interface muqueuse.



**Figure D : Schéma de transcytose de l'IgA à travers les cellules épithéliales intestinales**

- 1- Les plasmocytes de la lamina propria sécrètent l'IgA sous forme dimérique (reliées par la chaîne J)
- 2- Le dimère d'IgA se lie au pIgR situé au pôle basal de l'entérocyte par la chaîne J
- 3- Le complexe formé est endocyté et traverse le cytoplasme de l'entérocyte
- 4- Le complexe est sécrété au pôle apical de l'entérocyte dans la lumière intestinale et constitue ainsi l'IgA sécrétoire

La définition du microbiote intestinal chez l'homme est en constante évolution grâce aux nouvelles technologies. Les dernières données de la littérature évaluent le nombre de bactéries contenues dans l'intestin humain à  $10^{14}$  mais le microbiote comporte un nombre limité de genres ( $n=50$ ), et un nombre d'espèces à définir avec les nouvelles techniques de métagénomique (séquençage haut débit des gènes bactériens) [46]. De plus, la composition microbienne est influencée par l'alimentation et les événements pouvant engendrer une

inflammation digestive; elle est instable pendant l'enfance mais à partir de l'adolescence, et en l'absence de changement majeur de l'alimentation et de l'état inflammatoire local, le microbiote se stabilise. Enfin, les mêmes genres bactériens sont retrouvés dans des populations d'ethnie différente [46]. Ces données montrent que nous abritons plus de bactéries que nous avons de cellules eucaryotes, ce qui implique que le microbiote intestinal est considéré comme un organe à part entière [47] [48]. Les interactions hôte/microbiote intestinal font l'objet de nombreuses études, et les progrès dans la description qualitative et quantitative du microbiote intestinal [49] ont permis d'affiner notre compréhension de ces interactions et leur implication dans plusieurs pathologies humaines (obésité, diabète de type 2, polyarthrite rhumatoïde)[48-51]. Il s'agit d'une relation réciproque et mutualiste entre l'hôte (tissu épithélial/système immunitaire local) et sa flore digestive commensale; le microbiote confère à l'hôte des avantages métaboliques, une protection contre les agents pathogènes par compétition pour les ressources, et un rôle trophique sur l'épithélium. Sur le plan immunologique, il est nécessaire au développement du système lymphoïde muqueux et pourrait induire, ou protéger de certaines pathologies auto-immunes (modèles murins de transfert de maladie par le microbiote ou guérison d'une maladie par déplétion du microbiote ou transfert d'un microbiote sain). En échange, l'hôte confère aux bactéries une niche écologique stable et finement régulée, permettant leur survie. L'adéquation entre l'hôte et le microbiote intestinal définit l'état d'homéostasie, et sa rupture définit l'état de dysbiose. La régulation de l'homéostasie est complexe et incomplètement comprise à l'heure actuelle ; il semble néanmoins que le système immunitaire muqueux y joue un rôle prépondérant. En effet, l'interface muqueuse, très riche en structures lymphoïdes secondaires et tertiaires est confrontée en permanence à une charge bactérienne intense ( $10^{12}$  bactéries/cm<sup>3</sup>). Les réponses immunitaires innées et adaptatives locales doivent être modulées en permanence pour trouver un juste milieu entre un état inflammatoire permanent et une permissivité de la barrière. L'exclusion immunologique est un moyen de confiner le microbiote intestinal au sein de la lumière et de minimiser les contacts avec l'épithélium. L'IgA joue un rôle important dans ce mécanisme en renforçant la barrière de mucus d'une part et en neutralisant par opsonisation certaines bactéries intra-luminales d'autre part. Chez la souris, l'absence d'IgA sécrétoire est un modèle de dysbiose intestinale, et s'associe à une auto-immunité périphérique, ainsi qu'une hypertrophie des organes lymphoïdes [52, 53].

Ce travail a pour but de décrire les caractéristiques cliniques des patients déficitaires en IgA dans un premier temps, et de comprendre par quel biais les symptômes présentés peuvent être imputés à l'absence d'IgA. Dans cette optique, nous nous intéresserons particulièrement aux complications digestives de ces patients et nous étudierons les

interactions locales entre anticorps et microbiote intestinal à l'état physiologique et dans le contexte du déficit en IgA.

## **II - Matériels et méthodes**

### **A. Patients et témoins**

Les patients (n=25) présentant un déficit complet en IgA (sélectif ou DICV) ont été recrutés dans les services de Médecine Interne de la Pitié Salpêtrière (Pr Amoura, Centre National de référence des maladies systémiques) et d'Immunologie Clinique de l'hôpital Saint Louis (Pr Oksenhendler, cohorte nationale DEFI). Les données cliniques, biologiques et anatomopathologiques ont été recueillies exhaustivement et le sang et les selles des patients ont été récoltés. Par ailleurs, les selles et le sang de 35 témoins ont été collectés afin de réaliser une étude cas-témoins. Les selles et le sang de chaque patient ou témoin ont été prélevés de manière synchrone (72h d'intervalle maximum) à distance de toute antibiothérapie (>3 mois). Les consentements oraux et écrits de tous les patients ont été recueillis. L'étude a été validée par le comité de protection des personnes de la Pitié-Salpêtrière.

### **B. Séparation des cellules mononuclées du sang périphérique (CMSP) et du plasma**

Le sang a été prélevé et récolté en tubes ACD (30 mL au total) (BD-Vacutainer). Les CMSP ont été obtenues après séparation des cellules sanguines par Ficoll (milieu de séparation des lymphocytes, Eurobio, centrifugeuse Eppendorf 5810 R, rotor A-4-81) et le surnageant a été prélevé à titre de plasma. Après récolte de l'anneau et lavage (milieu RPMI 1640, SVF 10%, glutamine 1%) les CMSP sont conservées dans l'azote liquide. Les échantillons de plasma ont été congelés immédiatement à -80° C.

### **C. Selles et séparation des bactéries**

Les selles sont récoltées dans un dispositif contenant une bande anaéroculte humidifiée (Mikrobiologie) permettant de conserver les matières fécales dans un environnement anaérobie de l'émission jusqu'au traitement. Les selles sont échantillonnées dans une chambre contenant une atmosphère pauvre en oxygène puis congelées immédiatement et conservées à -80°C.

*Séparation des bactéries en chambre de Freter:* 2,3 g de selles congelées ont été resuspendues et homogénéisées dans une solution de PBS 1X-sodium de désoxycholate 0,03% (Na-DC) (Eurobio) afin d'obtenir une solution homogène finale de 7,35 mL. Puis, 1 mL de cette solution a été prélevé et centrifugé deux fois (21000 g, 10 min) : le surnageant obtenu constitue les eaux fécales et est immédiatement congelé à -80°C. Les 6 mL restants de

solution bactérienne sont dilués dans 18 mL de PBS 1X-Nycodenz 60%-Na-DC 0,03% (densité de 1,23) puis chargés sous un gradient continu de Nycodenz afin de garder les bactéries en anaérobiose. L'anneau bactérien est récupéré après centrifugation (9000 rpm, 45 min, + 4°C) (ultracentrifugeuse Beckman, swinging rotor SW28). Enfin, les bactéries sont resuspendues dans une solution de PBS 1X-glycérol 10% à une concentration bactérienne finale à  $10^{10}$ /mL puis congelées dans l'azote liquide et conservées à -80°C.

#### **D. Dosage pondéral des IgG, IgA et IgM par néphélométrie et dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (ELISA)**

Le dosage pondéral des Ig sériques a été réalisé par néphélométrie après décomplémentation des échantillons de plasma (56°C, 30 min). Le dosage des Ig fécales a été réalisé par ELISA aux dilutions suivantes : en IgA 1/5 et 1/40 pour les patients et 1/600 et 1/1 200 pour les témoins, en IgG 1/120 et 1/360 pour les patients et 1/5 et 1/40 pour les témoins, en IgM 1/400 et 1/1 200 pour les patients et 1/50 et 1/150 pour les témoins (Human Ig ELISA Quantification Set, Bethyl Laboratories). La détection a été réalisée par anticorps conjugués à l'enzyme horseradish peroxydase (HRP) et révélée par le 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) (Rockland) et lues à 450 nm (Multiscan Ex Thermofisher Scientific Saint Herblain).

#### **E. Détection des Ig sécrétoires présentes à la surface bactérienne**

Une fraction de  $10^7$  bactéries est prélevée et fixée dans du paraformaldéhyde 4% (PFA) (Electron Microscopy Science) en condition anaérobie et lavée dans du tampon PBS 1X-BSA 2%-Sodium azide 0,02% (Sigma Aldrich) puis centrifugée (5200 g, 10 min, +4°C) (centrifugeuse Heraeus Sepatec, Rotor 3757). Les bactéries sont resuspendues dans le tampon précédent et distribuées dans des puits de plaques 96 puits à fond conique et incubées (20 min dans le noir) avec le mélange d'anticorps suivants : âne anti-IgM-PE humaine (1/268, 709-116-073, Jackson Laboratories), chèvre anti-IgA-FITC humaine (1/800, 109-095-011, Jackson Laboratories), chèvre anti-IgG-A647 humaine (1/800, 109-605-098, Jackson Laboratories). L'acquisition est réalisée sur le cytomètre en flux FACS Canto II Becton Dickinson (BD) après lavage des bactéries.

#### **F. Analyses Statistiques**

Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel Graph Pad Prism version 5. Les tests de Mann Whitney, de Kruskal Wallis avec analyse post test de Dunns, de Fisher et de Spearman ont été réalisés pour comparer les groupes et effectuer les corrélations.

### III - Résultats

#### A. Caractéristiques cliniques de la cohorte

##### 1 - Caractéristiques démographiques

25 patients déficitaires en IgA (n=13 déficits sélectifs en IgA et n=12 patients DICV) ainsi que 35 témoins sains ont été inclus. Un témoin a été exclu de l'analyse en raison d'un déficit en IgA partiel. Les groupes sont comparables en terme de sexe, de BMI, d'origine ethnique, mais le sous groupe DICV présente une médiane d'âge supérieure aux dIgA sélectifs et aux témoins (47 vs 36,5 vs 32,9 ans,  $p=0,05$ ). L'âge au diagnostic de la maladie dans les sous groupes dIgA sélectifs et DICV sont comparables, mais la durée d'évolution est supérieure dans le groupe DICV (10 vs 2 ans,  $p=0,0029$ ). En outre, 4 patients dIgA sélectifs présentent un déficit en sous classes associé: IgG4+IgG2 (n=2) et IgG4 seulement (n=2) (*Tableau 1*).

**Tableau 1: Caractéristiques démographiques de la cohorte**

|                                        | Témoins sains       | Patients dIgAs | Patients DICV | Valeur P      |
|----------------------------------------|---------------------|----------------|---------------|---------------|
|                                        | n (%)               | n (%)          | n (%)         |               |
| <b>Nombre d'individus</b>              | 34                  | 13             | 12            |               |
| <b>Age median</b>                      | 32,9 (23-61) *      | 36,5 (23-63)   | 47 (26-70) *  | <b>0,05</b>   |
| <b>Sexe Ratio F: H</b>                 | 1:1                 | 2:1            | 1:1           |               |
| <b>IMC</b>                             | 21, 9 (18,7 – 33,9) | 22 (19,8-28,3) | ND            |               |
| <b>Origine Ethnique</b>                |                     |                |               |               |
| Caucasienne                            | 23 (68)             | 12 (92)        | 8 (66)        | NS            |
| Afrique du Nord                        | 4 (11)              | 1 (8)          | 4 (34)        |               |
| Africaine                              | 1 (3)               | 0              | 0             |               |
| Moyen Orient                           | 4 (11)              | 0              | 0             |               |
| Asiatique                              | 2 (5)               | 0              | 0             |               |
| <b>Age au diagnostic</b>               | -                   | 28,5 (13-62)   | 23 (12-46)    | NS            |
| <b>Durée d'évolution de la maladie</b> | -                   | 2 (1-24)       | 10 (2-53)     | <b>0,0029</b> |
| <b>Déficit en sous-classes</b>         | -                   | 4              | -             |               |
| IgG2+IgG4                              |                     | 2              |               |               |
| IgG4                                   |                     | 2              |               |               |

Valeurs p calculées par un test exact de Fisher

## 2- Le déficit en IgA isolé ou associé à un DICV se complique d'infections récurrentes et entraîne une surconsommation d'antibiotiques

Les patients présentent des infections récurrentes des muqueuses dans 85% des cas de dIgA sélectif vs 100% des cas de DICV ( $p=0,48$ ). Les sites infectieux les plus fréquemment retrouvés sont la sphère ORL et les infections pulmonaires, notamment dans le DICV (69% vs 100%,  $p=0,0957$ ). Les patientes ont des infections vaginales à répétition (37% dIgAs vs 16% DICV), et les infections digestives sont les moins fréquentes (15% dIgAs vs 25% DICV). Les infections ORL et pulmonaires ne sont pas documentées, et les infections vaginales sont fongiques à l'exception d'une patiente qui présente des infections répétées à *Gardnerella vaginalis* (résultats non montrés). Les germes digestifs retrouvés sont classiquement décrits dans le DICV et le dIgA sélectif et un seul patient a un antécédent d'infection à *Giardia duodenalis*. Par ailleurs, 70% des patients présentant un dIgA sélectif reçoivent au moins un traitement antibiotique par an, et 75% des patients DICV reçoivent une antibioprophylaxie au long cours (Tableau 2).

**Tableau 2: Complications infectieuses de la cohorte**

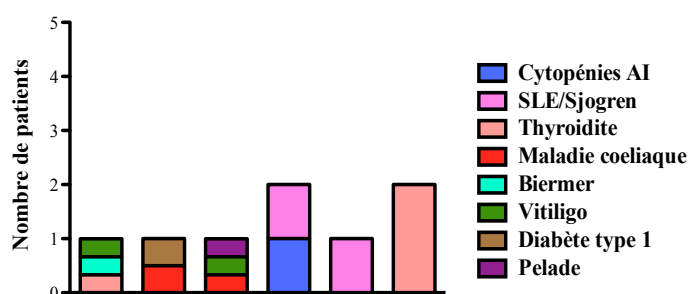
|                                    | Patients dIgAs<br>n=13<br>n (%) | Patients DICV<br>n=12<br>n (%) | Valeur P      |
|------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------|
| <b>Infections</b>                  | <b>11 (85)</b>                  | <b>12 (100)</b>                | 0,48          |
| ORL/Pulmonaire récurrentes*        | 9 (69)                          | 12 (100)                       | 0,0957        |
| Digestif                           | 2 (15)                          | 3 (25)                         | 0,63          |
| Vaginal                            | 3/8 (37)                        | 1/6 (16)                       | 0,6           |
| <b>Germes digestifs documentés</b> |                                 |                                |               |
| <i>Giardia duodenalis</i>          | 0                               | 1                              |               |
| <i>Campylobacter jejuni</i>        | 0                               | 1                              |               |
| <i>Salmonella</i>                  | 1                               | 1                              |               |
| <i>Clostridium spp</i>             | 0                               | 1                              |               |
| <i>Helicobacter pylori</i>         | 1                               | 2                              |               |
| <b>Utilisation d'antibiotiques</b> |                                 |                                |               |
| <1/an                              | 4 (31)                          | 5 (42)                         | 1             |
| 1-3/an                             | 4 (31)                          | 6 (50)                         | 0,42          |
| ≥4/an                              | 5 (38)                          | 1 (8)                          | 0,17          |
| <b>Antibioprophylaxie</b>          | <b>2 (15)</b>                   | <b>9 (75)</b>                  | <b>0,0048</b> |

\* >3 infections dans l'année précédant le recueil, valeurs p calculées par un test de Fisher

### 3- Le déficit en IgA sélectif s'accompagne de manifestations auto-immunes spécifiques d'organe et le DICV de lymphoprolifération polyclonale

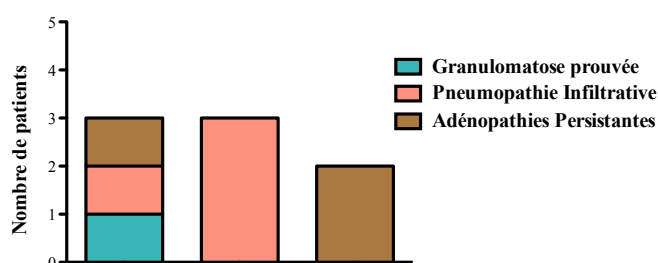
8/13 (61%) patients dIgA sélectif ont une maladie auto-immune (*Tableau 3*) dont 3/8 (37,5%) ont au moins 2 maladies auto-immunes (*Figure 1*). Les auto-anticorps circulants sont retrouvés chez 7/8 de ces patients, et aucun n'a d'auto-anticorps isolés sans maladie (résultats non montrés). 4/12 (33%) patients DICV ont une manifestation auto-immune, 3/4 ont une cytopénie auto-immune isolée (menant à la splénectomie dans 2 cas) et une seule patiente a un lupus érythémateux systémique.

En excluant les cytopénies isolées, les patients dIgA sélectifs ont significativement plus de maladies auto-immunes que les patients DICV (61% vs 12%,  $p=0,0306$ ). En revanche, les patients DICV ont significativement plus de lymphoprolifération polyclonale que les patients dIgAs (66% vs 12%,  $p=0,0138$ ); chez les patients qui ont un DICV, 3/8 ont une granulomatose systémique prouvée avec une atteinte pulmonaire et ganglionnaire, 3/8 ont une pneumopathie infiltrative isolée, et 2/8 ont des adénopathies et une splénomégalie persistantes inexpliquées (*Figure 2*). Deux patientes dIgA sélectif présentent une lymphoprolifération polyclonale : (i) une pneumopathie infiltrative associée à des adénomégalies persistantes dans un cas et (ii) des poussées récurrentes d'érythème noueux d'étiologie indéterminée dans l'autre.



**Figure 1: Maladies auto-immunes présentées par les patients dIgA sélectif**

8/13 patients présentent une maladie auto-immune et sont regroupés sur le graphe ci-contre en fonction des maladies présentées.



**Figure 2: Atteintes lymphoprolifératives polyclonales présentées par les patients DICV**

Le DICV se complique chez 8/12 patients d'une lymphoprolifération polyclonale. La granulomatose est prouvée dans 3 cas, et se manifeste par une atteinte pulmonaire et ganglionnaire.

**Tableau 3: Complications dysimmunitaires de la cohorte**

|                                              | Patients dIgAs | Patients DICV | Valeur P      |
|----------------------------------------------|----------------|---------------|---------------|
|                                              | n=13           | n=12          |               |
|                                              | n (%)          | n (%)         |               |
| <b>Manifestations auto-immunes</b>           | <b>8 (61)</b>  | <b>4 (33)</b> | 0,26          |
| Cytopénies auto-immunes                      | 2 (25)         | 4 (100)       |               |
| LES/Sjögren                                  | 3 (37)         | 1 (25)        |               |
| Hashimoto                                    | 3 (37)         | 0             |               |
| Maladie Coeliaque                            | 2 (25)         | 0             |               |
| Maladie de Biermer                           | 1 (12,5)       | 0             |               |
| Vitiligo                                     | 2 (25)         | 0             |               |
| Diabète de type 1                            | 1 (12,5)       | 0             |               |
| <b>Maladies auto-immunes hors cytopénies</b> | <b>8 (61)</b>  | <b>1 (12)</b> | <b>0,0306</b> |
| <b>Lymphoprolifération polyclonale</b>       | <b>2 (15)</b>  | <b>8 (66)</b> | <b>0,0138</b> |
| Adenopathies/Splenomégalie                   | 1              | 5 (62)        |               |
| PID                                          | 1              | 5 (62)        |               |
| Granulomatose prouvée                        | 1              | 3 (50)        |               |
| <b>Auto-immunité biologique</b>              | <b>7 (54)</b>  | <b>3 (25)</b> |               |
| Anti-nucléaires                              | 3/7            | 1/2           |               |
| Anti DNAn et/ou Anti ECT                     | 5/6            | 1/2           |               |
| ACL                                          | 2/3            | 0             |               |
| Anti Tg et Anti TPO                          | 2/5            | 0             |               |
| Anti GAD                                     | 1/1            | 0             |               |
| Anti Transglutaminase                        | 1/2            | 0             |               |
| Coombs                                       | 0              | 2/4           |               |

LES: lupus érythémateux systémique, PID : pneumopathie infiltrative diffuse, DNAn : DNA natifs, ECT : anti antigènes nucléaires solubles, ACL : anti cardiolipines, Tg: thyroglobuline, TPO : thyroperoxydase, GAD : anti glutamate décarboxylase ; valeurs p calculées par un test de Fisher

#### 4- La moitié des patients a une symptomatologie digestive chronique et des lésions inflammatoires du tube digestif

6 (46%) patients dIgA sélectif ont une diarrhée chronique avec une seule suspicion d'entéropathie exsudative, explorée par une endoscopie digestive, tandis que 9 (75 %) patients DICV ont une diarrhée chronique ( $p=0,22$ ) avec suspicion d'entéropathie exsudative dans 3/9 (33%) cas. La suspicion d'exsudation est basée sur l'association d'une hypoalbuminémie à la diarrhée chronique sans autre cause retrouvée, et chez les DICV, à la nécessité d'augmenter les doses d'Ig substitutives pour obtenir un dosage résiduel correct. Les résultats anatomopathologiques des biopsies digestives sont pathologiques dans 100% des cas dans les deux groupes et retrouvent des anomalies étagées et diverses.

Dans le sous groupe dIgA sélectif, 50% ( $n=3$ ) des patients ont une atteinte digestive haute, en lien avec une maladie auto-immune ( $n=1$  maladie de Biermer et  $n=2$  maladies coeliaques), 2 patients ont une inflammation du chorion étagée et un patient présente une hyperplasie folliculaire lymphoïde iléale isolée. Dans le groupe DICV, 66% ( $n=4$ ) des patients ont une atteinte inflammatoire étagée, et 33% ( $n=2$ ) une hyperplasie lymphoïde folliculaire iléo-colique isolée.

**Tableau 4 : Complications digestives de la cohorte**

|                                               | <b>Patients dIgAs</b> | <b>Patients DICV</b> | <b>P</b> |
|-----------------------------------------------|-----------------------|----------------------|----------|
|                                               | <b>n=13</b>           | <b>n=12</b>          |          |
|                                               | <b>n (%)</b>          | <b>n (%)</b>         |          |
| <b>Diarrhée Chronique</b>                     | <b>6 (46)</b>         | <b>9 (75)</b>        | 0,22     |
| <b>Suspicion d'exsudation</b>                 | <b>1/6 (16)</b>       | <b>3/9 (33)</b>      |          |
| <b>Documentation microbiologique positive</b> | <b>0</b>              | <b>0</b>             |          |
| <b>Réalisation d'une endoscopie</b>           | <b>8 (61)</b>         | <b>6 (50)</b>        |          |
| <b>Anatomopathologie</b>                      |                       |                      |          |
| Gastrite inflammatoire                        | 1                     | 1                    |          |
| Duodénite Inflammatoire                       | 1                     | 3                    |          |
| Iléite inflammatoire                          | 2                     | 3                    |          |
| Colite Inflammatoire                          | 2                     | 3                    |          |
| Atrophie fundique                             | 2                     | 2                    |          |
| Métaplasie intestinale complète               | 2                     | 1                    |          |
| Atrophie villositaire duodénale               | 2                     | 1                    |          |
| Hyperplasie Lymphoïde Folliculaire            | 1                     | 2                    |          |

## 5- Les patients qui ont un DICV sont tous substitués par immunoglobulines polyvalentes

12 (100%) patients DICV sont substitués par Ig polyvalentes, dont 5 (40%) par voie sous cutanée et 7 (60%) par voie IV à une posologie médiane de 0,5g/kg/mois dans les deux cas. Aucun patient présentant un dIgA sélectif n'est substitué par Ig polyvalentes; 3 patients reçoivent une bithérapie par corticothérapie à faible dose et hydroxychloroquine (400mg/j) associé à du méthotrexate (20mg/semaine) dans un cas dans le traitement de manifestations cutané-articulaires du LES (*Tableau 5*).

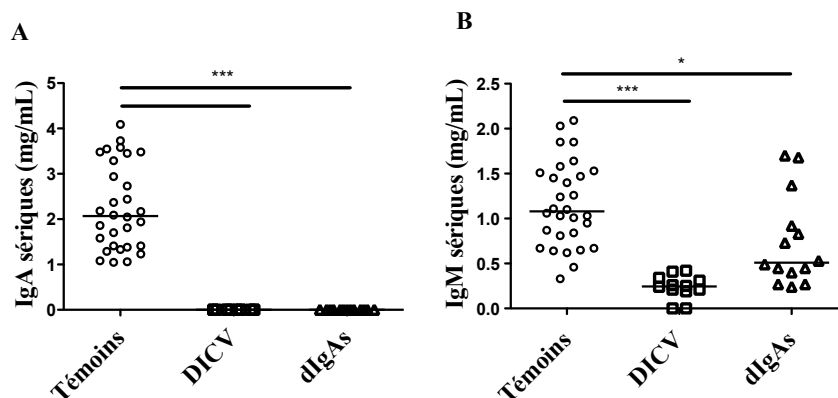
**Tableau 5: Traitements immunomodulateurs**

|                           | <b>Patients dIgAs</b> | <b>Patients DICV</b> |
|---------------------------|-----------------------|----------------------|
|                           | <b>n=13</b>           | <b>n=12</b>          |
|                           | <b>n (%)</b>          | <b>n (%)</b>         |
| <b>Substitution en Ig</b> | <b>0</b>              | <b>12 (100)</b>      |
| Voie SC                   |                       | 5 (40)               |
| Dose médiane (g/kg/mois)  |                       | 0,5 (0,3 – 1,1)      |
| Voie IV                   |                       | 7 (60)               |
| Dose médiane (g/kg/cycle) |                       | 0,5 (0,3-0,8)        |
| <b>Corticothérapie</b>    | <b>3</b>              | <b>1</b>             |
| Dose médiane (mg/j)       | 10 (5-15)             | 5                    |
| <b>Méthotrexate</b>       | <b>1</b>              | <b>1</b>             |
| <b>Hydroxychloroquine</b> | <b>3</b>              | <b>1</b>             |

## B - Analyse des réponses humorales intestinales

### 1- Les patients présentent un taux d'IgM sérique inférieur aux témoins

Le diagnostic biologique de déficit complet en IgA a été vérifié à plusieurs reprises (*Figure 3A*). Le taux médian d'IgM sérique est significativement diminué dans le sous groupe dIgAs (0,49 [0,24-1,7] vs 1 [0,33-2] mg/mL,  $p=0,05$ ) en restant dans les normes du laboratoire; ce résultat est retrouvé dans le sous groupe DICV (0,21 [0-0,42] vs 1 [0,33-2] mg/mL,  $p=0,0001$ ) où les taux sont par contre pathologiques (*Figure 3B*). Les taux d'IgG sont similaires dans le sous groupe dIgAs et dans le groupe témoin, et sont inférieurs dans le groupe DICV ( $p=0,007$ , résultats non montrés).

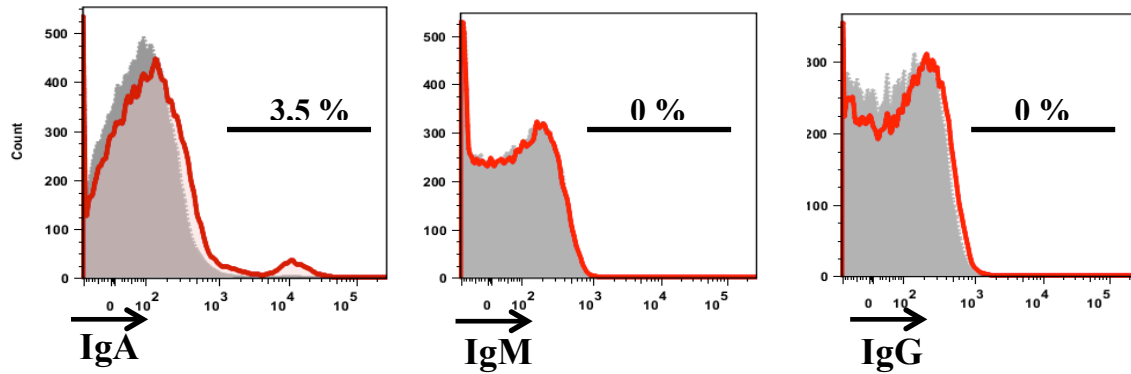


**Figure 3: Dosage pondéral des immunoglobulines sériques IgA (A) et IgM (B) par néphéléométrie**

Dosages réalisés chez  $n=31$  témoins,  $n=12$  DICV et  $n=13$  dIgAs; les barres horizontales représentent les médianes. Les trois groupes sont comparés par un test de Kruskal Wallis associé à une analyse post test de Dunns; \*:  $p = 0,05$  et \*\*\*:  $p < 0,0001$

### 2- L'absence d'IgA sérique est associée à un déficit en IgA sécrétoire et à la présence d'IgM intra-luminales en cas de dIgAs

Pour étudier l'interaction entre les Ig sécrétoires et le microbiote intestinal autologue, nous avons mis au point une technique de détection des Ig à la surface du microbiote entier par cytométrie en flux, qui consiste à incuber les microbiotes entiers purifiés par gradient de Nycodenz avec des anticorps secondaires anti-immunoglobulines couplés à un flurochrome et à les révéler par cytométrie en flux (*Figure 4*).

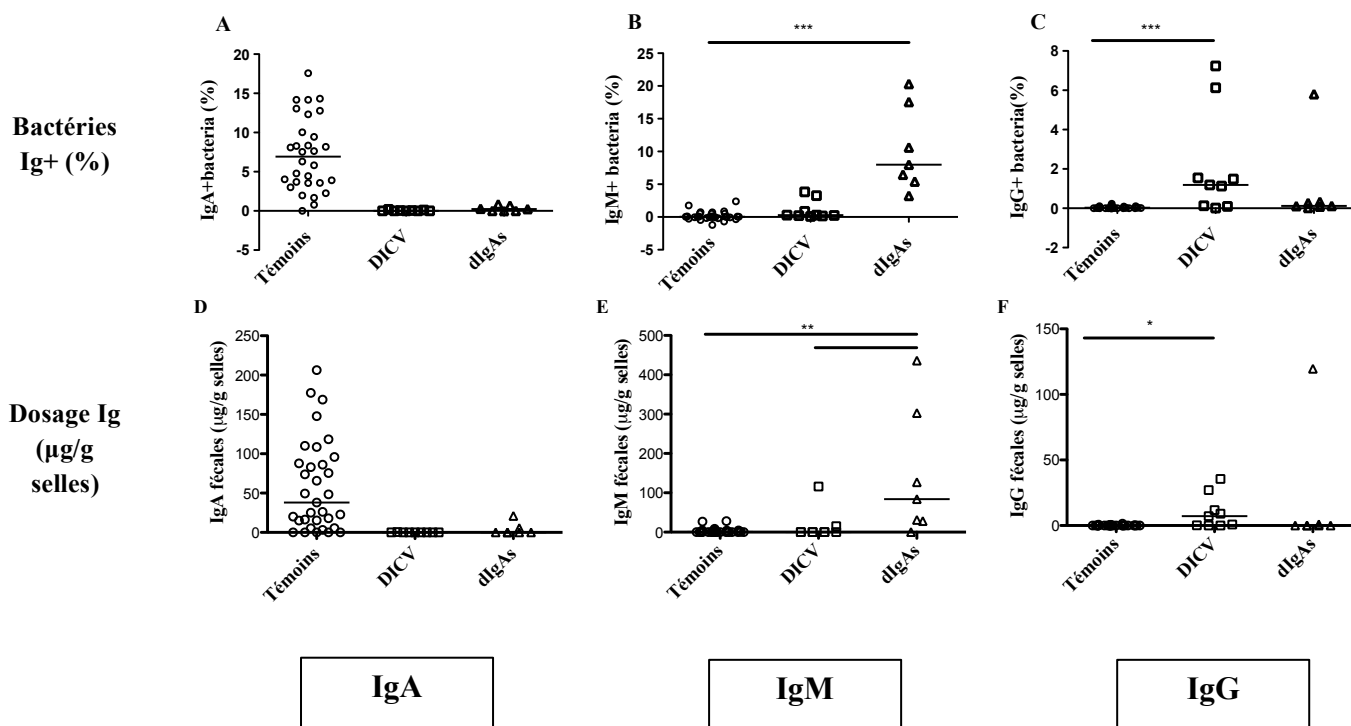


**Figure 4: Définition cytofluorométrique des sous populations microbiennes intestinales opsonisées par les anticorps sécrétoires chez les témoins**

Le microbiote total est purifié par gradient de Nycodenz en condition anaérobie puis immédiatement cryopréservé. Après décongélation, 20 000 bactéries sont analysées après fixation (PFA%) pour détecter la présence d'anticorps de surface appartenant aux isotypes indiqués. Une analyse représentative de plus de 100 échantillons analysés est montrée : la zone grisée représente le contrôle isotypique et le trait rouge le marquage. La proportion de bactéries opsonisées est indiquée.

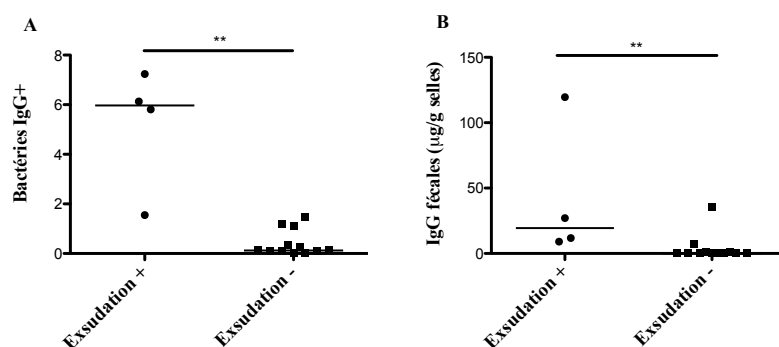
L'étude de ces interactions dans la cohorte a été réalisée et les résultats sont les suivants (Figures 5 et 6) :

- (i) l'isotype opsonisant le microbiote intestinal dans la population saine est l'IgA sécrétoire (6,5 [0,8-17,5] % bactéries IgA+ vs 0,4 [0-2,3] % bactéries IgM+ vs 0 % bactéries IgG+,  $p < 0.0001$ )
- (ii) le déficit en IgA sérique s'associe à un déficit en IgA sécrétoire (0 vs 6,5 [0,8-17,5] % bactéries IgA+,  $p < 0.0001$ )
- (iii) en l'absence d'IgA sécrétoire, on observe qu'une fraction du microbiote intestinal est opsonisée par l'IgM chez tous les patients dIgAs (7,35 [3,2-20,3] % bactéries IgM+ vs 0,4 [0-2,3]%,  $p < 0.0001$ )
- (iv) les dosages d'Ig fécales libres sont superposables aux résultats d'opsonisation bactérienne (Figure 5 D, E, F)
- (v) en cas de suspicion d'entéropathie exsudative (n=4), on retrouve la présence d'IgG dans les selles, opsonisant une fraction du microbiote (Figure 6 : 6 [1,55-7,2] % bactéries IgG+ vs 0,05 [0-1,1] %,  $p = 0,0044$ ) et sous forme libre.



**Figure 5: Analyse comparative de la proportion de microbiote opsonisé et des Ig fécales libres chez les sujets sains et au cours des déficits en IgA**

Les proportions de bactéries intestinales opsonisées par les IgA (A), les IgM (B) et les IgG (C) comme indiqué sont mesurées par cytométrie en flux au sein des groupes témoins (n=33), dIgAs (n=7), DICV (n=9). Les dosages d'Ig libres par ELISA dans les eaux fécales ont été réalisés en parallèle (D, E, F). Les barres horizontales représentent les médianes, les valeurs p ont été calculées par des tests statistiques non paramétriques de Kruskal Wallis avec analyse post test de Dunns. \*: p=0,0228; \*\*: p=0,0021; \*\*\*: p<0,0001.



**Figure 6: Analyse comparative de la proportion de microbiote opsonisé par l'IgG et du dosage des IgG fécales chez les patients en fonction de la suspicion d'exsudation**

Les proportions de bactéries opsonisées par l'IgG (A) et les dosages d'IgG fécales (B) sont comparées entre le groupe de patients présentant une suspicion d'entéropathie exsudative (n=4) et le reste des patients (n=12). Les barres horizontales représentent les médianes. Un test non paramétrique de Mann Whitney a été utilisé pour calculer les valeurs p. \*\*: p=0,0044

## IV - Discussion

Le déficit sélectif en IgA (dIgAs) et le déficit immunitaire commun variable (DICV) sont caractérisés par un défaut primitif de production d'immunoglobulines associé à (i) des infections récurrentes, (ii) des maladies auto-immunes, (iii) des lymphoproliférations bénigne et maligne et (iv) une entéropathie. Le lien de causalité entre l'absence d'IgA et les différentes manifestations cliniques observées n'est pas formellement établi, notamment en ce qui concerne les manifestations auto-immunes, la lymphoprolifération (touchant plus particulièrement les DICV) et l'entéropathie. Le rôle de l'IgA sérique reste débattu mais des études récentes lui attribuent un rôle inhibiteur de l'inflammation dans sa forme monomérique, et dans ce cadre, l'IgA sérique jouerait un rôle dans la régulation de l'auto-immunité. L'IgA sécrétoire, la forme dimérique associée à la pièce sécrétoire, se trouve en abondance dans les muqueuses, et notamment dans la muqueuse digestive. Les modèles murins de déficit en IgA sécrétoire nous ont permis de comprendre que cette immunoglobuline était importante dans le maintien de l'homéostasie entre l'hôte et son microbiote intestinal, car son absence crée la dysbiose et une rupture de la tolérance au microbiote, associée à des signes périphériques d'auto-immunité et une hyperplasie folliculaire de tous les organes lymphoïdes secondaires.

La dysbiose induite par le déficit en IgA sécrétoire n'a jamais été décrite chez l'homme; si elle existe, à l'instar des modèles murins, elle pourrait avoir un impact sur le développement de maladies auto-immunes, de lymphoprolifération ainsi que dans la genèse et l'entretien d'une entéropathie inflammatoire, ce qui pourrait expliquer le phénotype des patients. Les objectifs de ce travail sont (i) de décrire les manifestations cliniques présentées par les patients déficitaires en IgA et (ii) d'étudier le compartiment humoral muqueux chez ces patients en le comparant à celui de témoins sains.

Pour répondre à ces objectifs, une cohorte de 25 patients déficitaires en IgA (n=12 DICV et n=13 dIgA sélectifs) et de 34 témoins appariés en sexe, en origine ethnique, en régime alimentaire a été constituée. [26]. Les patients ont été séparés en deux sous groupes pour l'analyse, déficit en IgA sélectif et DICV (pour que le déficit en IgG et éventuellement en IgM ne soit pas un facteur confondant).

Au plan infectieux, 85% des patients dIgAs et 100% des patients DICV ont présenté des infections ORL et pulmonaires récurrentes et/ou des infections digestives et/ou vaginales. Ces données sont similaires à celles retrouvées dans la littérature pour le DICV [54] et supérieures pour le dIgAs [29]. Cette observation peut être expliquée par plusieurs facteurs:

(i) le biais de recrutement dans des services hospitaliers (mais l'article de *Jorgensen et al* en 2013 montrait qu'il n'y avait pas de différence de complications entre des patients recrutés à l'hôpital vs des patients issus du don de sang [29]), (ii) l'inclusion de 2 patients présentant un déficit combiné en sous-classes associé (IgG2+IgG4): le déficit en IgG2 associé aggrave la susceptibilité aux infections pulmonaires [32] (2/2 patients avec un déficit combiné ont présenté une pneumopathie infectieuse) et (iii) la diminution significative des taux d'IgM sérique : en effet, Micol *et al* suggèrent que les patients ayant des déficits humoraux primitifs avec un taux d'IgM conservé sont moins susceptibles aux infections respiratoires par *Haemophilus influenzae* que les patients qui ont un taux d'IgM diminué. [55] Nous n'observons pas cette corrélation statistique (n=5 patients dIgAs ont des infections respiratoires à répétition avec des taux d'IgM>0,8mg/mL). Par ailleurs, les infections digestives concernent deux patientes dIgAs (une salmonellose et une infection à *H.pylori*) et trois patients DICV (infections itératives à germes multiples). L'occurrence de ces infections a toujours été expliquée par l'absence d'IgA mais *Jorgensen et al* en 2013 montrent que la prévalence des infections digestives n'est pas plus élevée dans le déficit en IgA que dans une population saine contrôle [29]. Dans le DICV en revanche, *Oksenhendler et al* montrent que les DICV avec déficit complet en IgA ont significativement plus d'infections digestives que les DICV sans dIgA [54]. Notons enfin que les patients des deux sous-groupes présentent une surconsommation en antibiotiques, ce qui contribue à altérer la composition de leur microbiote intestinal.

Au plan immunologique, on observe que 61% des patients dIgAs et que 33 % des patients DICV présentent une manifestation auto-immune, mais en excluant les cytopénies isolées, seule une patiente DICV présente une maladie auto-immune (61 vs 12%, p=0,0306). Cette prévalence de maladies auto-immunes dans le groupe DICV est similaire aux chiffres de la littérature [4, 9], mais supérieure pour les patients dIgAs [29, 34, 56], avec une surreprésentation de lupus érythémateux systémique; cet effet est probablement le reflet de biais de recrutement (centre national de référence des maladies systémiques) et du faible nombre d'effectifs. De plus, 3/8 patients présentent 3 maladies auto-immunes associées, ce qui est superposable aux données de la littérature. En outre, tous les patients présentent des auto-anticorps mais aucun patient ne présente d'auto-anticorps isolé. Par ailleurs, 66% des patients DICV présentent une lymphoprolifération polyclonale avec une granulomatose prouvée dans 3 cas. La corrélation entre lymphoprolifération polyclonale et déficit en IgA dans le DICV a déjà été mise en évidence en 2012 par *Chapel et al* [10] (corrélation statistique, p=0,02). Il est intéressant de noter que deux patients dIgA sélectifs présentent aussi ce phénotype. On peut émettre l'hypothèse que l'absence d'IgA sécrétoire entraîne la translocation d'antigènes

microbiens et alimentaires qui pourraient être à l'origine des réactions granulomateuses et/ou des manifestations auto-immunes à distance, expliquant le phénotype des patients.

Au plan gastro-entérologique, les résultats montrent que 46% des patients dIgAs et 75% des patients DICV présentent une diarrhée chronique, avec une suspicion d'entéropathie exsudative chez 1 patient dIgAs et 3 patients DICV. Tous les patients ont été explorés par endoscopie digestive et l'examen anatomopathologique est anormal dans 100% des cas. Ces chiffres sont plus élevés que les résultats de la littérature [4, 29]. Néanmoins, les manifestations gastro-intestinales des déficits immunitaires humoraux sont multiples, et sembleraient avoir un lien direct avec l'absence d'IgA sécrétoire (corrélation statistique entre l'entéropathie et le DICV avec absence d'IgA [10]). En effet, outre les causes infectieuses de diarrhée chronique décrites dans les déficits humoraux, on observe des atteintes inflammatoires étagées sans agent infectieux retrouvé [57, 58]. Les atteintes décrites sont les suivantes : (i) l'atrophie villositaire duodénale, dont les caractéristiques anatomopathologiques sont similaires à la maladie coeliaque (sans plasmocytes IgA+), lors de laquelle les patients dIgAs uniquement présentent des IgG anti-transglutaminase, qui semble donc médiée par le gluten pour le dIgAs et d'étiopathogénie inconnue dans le DICV (absence d'effet du régime sans gluten), (ii) l'atrophie fundique, ou maladie de Biermer séronégative, plus fréquente dans le DICV et souvent accompagnée de métaplasie intestinale, d'étiologie non élucidée, et nécessitant le même traitement substitutif ainsi que la même surveillance endoscopique (risque d'adénocarcinome gastrique), (iii) les lésions inflammatoires étagées de l'intestin caractérisées par un infiltrat inflammatoire de la muqueuse et de la sous muqueuse sans plasmocytes avec des cryptites, similaires aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et sensibles à un traitement par corticoïdes locaux ; *Ludvingsson et al* [56] ont retrouvé en 2014 que 3,9% de patients dIgAs (cohorte de 2100 patients) présentaient une maladie inflammatoire chronique de l'intestin ; (iv) l'hyperplasie nodulaire lymphoïde qui est plus fréquente dans le DICV et qui donne un aspect macroscopique typique nodulaire et polypoïde pouvant entraîner obstruction et malabsorption et qui se caractérise à l'analyse anatomopathologique par une hyperplasie folliculaire avec présence de nombreux plasmocytes IgM+, et semblerait refléter le défaut de commutation isotypique vers l'IgA. [57-59], (v) la pullulation microbienne décrite dans le DICV et difficile à mettre en évidence, dont le traitement repose sur les cures séquentielles d'antibiothérapie. Toutes ces atteintes semblent refléter la dysbiose intestinale induite par l'absence d'IgA sécrétoire ; néanmoins, dans la littérature, seulement 15 à 30 % des patients présentent une manifestation gastro-intestinale, ce qui peut être expliqué par des mécanismes de compensation et/ou par une sous-estimation de la fréquence de ce phénotype.

Nous avons ensuite cherché à prouver l'absence d'IgA sécrétoire chez les patients et étudier les interactions entre les immunoglobulines sécrétoires et le microbiote intestinal. Pour cela, nous avons mis au point une technique de détection des immunoglobulines à la surface du microbiote par cytométrie en flux ; cette technique n'avait été décrite qu'une fois dans la littérature en 1996 [60] et faisait l'objet de nombreuses limitations techniques. Les résultats montrent que l'absence d'IgA sérique s'associe à l'absence d'IgA sécrétoire sous forme libre ou opsonisante. De plus, l'absence d'IgA sécrétoire mène toujours à la sécrétion d'IgM, quelque soit le phénotype clinique des patients. Ce résultat avait été montré dans les sécrétions nasales et salivaires des patients déficitaires en IgA [61, 62] mais jamais au niveau intestinal, ni par cytométrie en flux. La présence d'IgM sécrétoire a souvent été considérée comme compensatrice, et a contribué au fait que le déficit sélectif en IgA a longtemps été considéré comme asymptomatique. Les mécanismes physiopathologiques expliquant la présence d'IgM sécrétoire dans le déficit en IgA ne sont pas élucidés. On ne retrouve pas d'IgM sécrétoire chez les témoins, ce qui implique que cette immunoglobuline n'est pas co-sécrétée avec l'IgA à l'état physiologique. La présence d'IgM pourrait donc refléter l'incapacité des lymphocytes B à commuter vers l'IgA, induisant leur différenciation en plasmocytes IgM<sup>+</sup> et la transcytose de cette Ig à travers la barrière entérocytaire. L'IgM ne compenserait pas l'IgA au plan fonctionnel, comme le montrent nos résultats, étant donné que 5/7 patients testés sont symptomatiques sur le plan digestif (infections et/ou diarrhée chronique). Par ailleurs, dans les 4 cas de suspicion d'entéropathie exsudative, une partie du microbiote est opsonisée par l'IgG, alors que cette Ig ne se retrouve jamais dans la lumière intestinale à l'état normal (absence de chaîne J). Cette technique de détection des Ig dans les eaux fécales par ELISA et opsonisant le microbiote par cytométrie en flux semble être intéressante dans l'aide au diagnostic des entéropathies exsudatives, l'examen de référence actuel étant la mesure de la clairance de l' $\alpha$ 1-antitrypsine, technique fastidieuse et peu accessible.

## V- Conclusions

Le déficit complet en IgA chez l'homme peut s'inscrire dans le cadre du dIgA sélectif ou dans celui du DICV, qui constituent des déficits humoraux de l'adulte compliqués d'infections muqueuses récurrentes, associés à une haute fréquence de maladies auto-immunes et à une entéropathie. L'IgA contribue à l'exclusion immunologique, et participe activement à la symbiose intestinale chez la souris. Nous décrivons ici les manifestations cliniques de 25 patients ainsi que les interactions entre l'immunité humorale muqueuse et le microbiote intestinal dans la physiologie et en l'absence d'IgA sérique.

Nos résultats retrouvent, sous réserve de biais de recrutement et du nombre faible d'effectifs, que tous les patients sont symptomatiques au plan infectieux et/ou immunologique et/ou intestinal. Plus spécifiquement, il est intéressant de noter que la moitié d'entre eux présentent une diarrhée chronique avec des lésions inflammatoires étagées du tube digestif sans documentation infectieuse, ce qui pourrait refléter la dysbiose intestinale. De plus, le déficit en IgA sérique s'associe au déficit en IgA sécrétoire, et est associé à la sécrétion d'IgM, dans les cas de dIgA sélectif, qui ne semble pas protéger les patients de l'entéropathie inflammatoire. De plus, nous montrons que l'IgG est détectable dans les selles en cas d'entéropathie exsudative.

Nos résultats semblent étayer l'hypothèse selon laquelle l'absence d'IgA sécrétoire entraîne (i) une dysbiose intestinale aggravée par les antibiothérapies itératives, (ii) induisant localement entéropathie inflammatoire et (iii) lymphoprolifération polyclonale ainsi que manifestations auto-immunes à distance, (iv) non contrôlées par la sécrétion d'IgM dans le dIgA sélectif, ni par la substitution en IgG polyvalentes dans le DICV. Cette hypothèse doit être vérifiée en augmentant le nombre de patients, et en réalisant une analyse détaillée de la composition et de la fonction de leur microbiote intestinal global ainsi que des fractions opsonisées par l'IgM.

## VI – Références Bibliographiques

1. Bousfiha, A.A., et al., *A Phenotypic Approach for IUIS PID Classification and Diagnosis: Guidelines for Clinicians at the Bedside*. J Clin Immunol, 2013.
2. Geha, R.S., et al., *Primary immunodeficiency diseases: an update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee*. J Allergy Clin Immunol, 2007. **120**(4): p. 776-94.
3. Cunningham-Rundles, C. and P.J. Maglione, *Common variable immunodeficiency*. J Allergy Clin Immunol, 2012. **129**(5): p. 1425-1426 e3.
4. Chapel, H., et al., *Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes*. Blood, 2008. **112**(2): p. 277-86.
5. Cunningham-Rundles, C., *How I treat common variable immune deficiency*. Blood, 2010. **116**(1): p. 7-15.
6. Al-Herz, W., et al., *Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the international union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency*. Front Immunol, 2011. **2**: p. 54.
7. Cunningham-Rundles, C. and C. Bodian, *Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients*. Clin Immunol, 1999. **92**(1): p. 34-48.
8. Resnick, E.S., et al., *Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades*. Blood, 2012. **119**(7): p. 1650-7.
9. Gathmann, B., et al., *Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency*. J Allergy Clin Immunol, 2014. **134**(1): p. 116-126 e11.
10. Chapel, H., et al., *Confirmation and improvement of criteria for clinical phenotyping in common variable immunodeficiency disorders in replicate cohorts*. J Allergy Clin Immunol, 2012. **130**(5): p. 1197-1198 e9.
11. Vorechovsky, I., et al., *Family and linkage study of selective IgA deficiency and common variable immunodeficiency*. Clin Immunol Immunopathol, 1995. **77**(2): p. 185-92.
12. Aghamohammadi, A., et al., *Alterations in humoral immunity in relatives of patients with common variable immunodeficiency*. J Invest Allergol Clin Immunol, 2008. **18**(4): p. 266-71.
13. Rivoisy, C., et al., *Parental consanguinity is associated with a severe phenotype in common variable immunodeficiency*. J Clin Immunol, 2012. **32**(1): p. 98-105.
14. van Zelm, M.C., et al., *An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene*. N Engl J Med, 2006. **354**(18): p. 1901-12.
15. Thiel, J., et al., *Genetic CD21 deficiency is associated with hypogammaglobulinemia*. J Allergy Clin Immunol, 2012. **129**(3): p. 801-810 e6.
16. van Zelm, M.C., et al., *CD81 gene defect in humans disrupts CD19 complex formation and leads to antibody deficiency*. J Clin Invest, 2010. **120**(4): p. 1265-74.

17. Warnatz, K., et al., *Human ICOS deficiency abrogates the germinal center reaction and provides a monogenic model for common variable immunodeficiency*. Blood, 2006. **107**(8): p. 3045-52.
18. Castigli, E., et al., *TACI is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency*. Nat Genet, 2005. **37**(8): p. 829-34.
19. Warnatz, K., et al., *B-cell activating factor receptor deficiency is associated with an adult-onset antibody deficiency syndrome in humans*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(33): p. 13945-50.
20. Wehr, C., et al., *The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency*. Blood, 2008. **111**(1): p. 77-85.
21. Lucas, M., et al., *Infection outcomes in patients with common variable immunodeficiency disorders: relationship to immunoglobulin therapy over 22 years*. J Allergy Clin Immunol, 2010. **125**(6): p. 1354-1360 e4.
22. Favre, O., et al., *Intravenous immunoglobulin replacement prevents severe and lower respiratory tract infections, but not upper respiratory tract and non-respiratory infections in common variable immune deficiency*. Allergy, 2005. **60**(3): p. 385-90.
23. Espanol, T., et al., *Development of a common variable immunodeficiency in IgA-deficient patients*. Clin Immunol Immunopathol, 1996. **80**(3 Pt 1): p. 333-5.
24. Aghamohammadi, A., et al., *Progression of selective IgA deficiency to common variable immunodeficiency*. Int Arch Allergy Immunol, 2008. **147**(2): p. 87-92.
25. Oxelius, V.A., et al., *IgG subclasses in selective IgA deficiency: importance of IgG2-IgA deficiency*. N Engl J Med, 1981. **304**(24): p. 1476-7.
26. Plebani, A., et al., *Clinical heterogeneity and reversibility of selective immunoglobulin A deficiency in 80 children*. Lancet, 1986. **1**(8485): p. 829-31.
27. Yel, L., *Selective IgA deficiency*. J Clin Immunol, 2010. **30**(1): p. 10-6.
28. Wang, N. and L. Hammarstrom, *IgA deficiency: what is new?* Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2012. **12**(6): p. 602-8.
29. Jorgensen, G.H., et al., *Clinical symptoms in adults with selective IgA deficiency: a case-control study*. J Clin Immunol, 2013. **33**(4): p. 742-7.
30. Ludvigsson, J.F., M. Neovius, and L. Hammarstrom, *IgA deficiency and mortality: a population-based cohort study*. J Clin Immunol, 2013. **33**(8): p. 1317-24.
31. Koskinen, S., *Long-term follow-up of health in blood donors with primary selective IgA deficiency*. J Clin Immunol, 1996. **16**(3): p. 165-70.
32. Aghamohammadi, A., et al., *IgA deficiency: correlation between clinical and immunological phenotypes*. J Clin Immunol, 2009. **29**(1): p. 130-6.
33. Milano, A.M., L.R. Lawrence, and L. Horowitz, *Nodular lymphoid hyperplasia of the small intestine and colon with giardiasis. A case with borderline serum IgA levels*. Am J Dig Dis, 1971. **16**(8): p. 735-7.

34. Singh, K., C. Chang, and M.E. Gershwin, *IgA deficiency and autoimmunity*. Autoimmun Rev, 2014. **13**(2): p. 163-77.
35. Wang, N., et al., *Selective IgA deficiency in autoimmune diseases*. Mol Med, 2011. **17**(11-12): p. 1383-96.
36. Jorgensen, G.H., et al., *Familial aggregation of IgAD and autoimmunity*. Clin Immunol, 2009. **131**(2): p. 233-9.
37. Price, P., et al., *The genetic basis for the association of the 8.1 ancestral haplotype (A1, B8, DR3) with multiple immunopathological diseases*. Immunol Rev, 1999. **167**: p. 257-74.
38. Ben Mkaddem, S., et al., *Anti-inflammatory role of the IgA Fc receptor (CD89): from autoimmunity to therapeutic perspectives*. Autoimmun Rev, 2013. **12**(6): p. 666-9.
39. Nechvatalova, J., et al., *B-lymphocyte subpopulations in patients with selective IgA deficiency*. J Clin Immunol, 2012. **32**(3): p. 441-8.
40. Borte, S., et al., *Interleukin-21 restores immunoglobulin production ex vivo in patients with common variable immunodeficiency and selective IgA deficiency*. Blood, 2009. **114**(19): p. 4089-98.
41. Jacob, C.M., et al., *Autoimmunity in IgA deficiency: revisiting the role of IgA as a silent housekeeper*. J Clin Immunol, 2008. **28 Suppl 1**: p. S56-61.
42. Pabst, O., *New concepts in the generation and functions of IgA*. Nat Rev Immunol, 2012. **12**(12): p. 821-32.
43. Spencer, J., L.S. Klavinskis, and L.D. Fraser, *The human intestinal IgA response; burning questions*. Front Immunol, 2012. **3**: p. 108.
44. Karlsson, M.R., et al., *Hypersensitivity and oral tolerance in the absence of a secretory immune system*. Allergy, 2010. **65**(5): p. 561-70.
45. Royle, L., et al., *Secretory IgA N- and O-glycans provide a link between the innate and adaptive immune systems*. J Biol Chem, 2003. **278**(22): p. 20140-53.
46. Lepage, P., et al., *A metagenomic insight into our gut's microbiome*. Gut, 2013. **62**(1): p. 146-58.
47. Eberl, G., *A new vision of immunity: homeostasis of the superorganism*. Mucosal Immunol, 2010. **3**(5): p. 450-60.
48. Arumugam, M., et al., *Enterotypes of the human gut microbiome*. Nature, 2011. **473**(7346): p. 174-80.
49. Qin, J., et al., *A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing*. Nature, 2010. **464**(7285): p. 59-65.
50. Ley, R.E., et al., *Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity*. Nature, 2006. **444**(7122): p. 1022-3.
51. Bernard, N.J., *Rheumatoid arthritis: Prevotella copri associated with new-onset untreated RA*. Nat Rev Rheumatol, 2014. **10**(1): p. 2.
52. Kawamoto, S., et al., *The inhibitory receptor PD-1 regulates IgA selection and bacterial composition in the gut*. Science, 2012. **336**(6080): p. 485-9.

53. Suzuki, K., et al., *Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(7): p. 1981-6.
54. Oksenhendler, E., et al., *Infections in 252 patients with common variable immunodeficiency*. Clin Infect Dis, 2008. **46**(10): p. 1547-54.
55. Micol, R., et al., *Protective effect of IgM against colonization of the respiratory tract by nontypeable Haemophilus influenzae in patients with hypogammaglobulinemia*. J Allergy Clin Immunol, 2012. **129**(3): p. 770-7.
56. Ludvigsson, J.F., M. Neovius, and L. Hammarstrom, *Association between IgA deficiency & other autoimmune conditions: a population-based matched cohort study*. J Clin Immunol, 2014. **34**(4): p. 444-51.
57. Agarwal, S. and L. Mayer, *Pathogenesis and treatment of gastrointestinal disease in antibody deficiency syndromes*. J Allergy Clin Immunol, 2009. **124**(4): p. 658-64.
58. Kobrynski, L.J. and L. Mayer, *Diagnosis and treatment of primary immunodeficiency disease in patients with gastrointestinal symptoms*. Clin Immunol, 2011. **139**(3): p. 238-48.
59. Malamut, G., et al., *The enteropathy associated with common variable immunodeficiency: the delineated frontiers with celiac disease*. Am J Gastroenterol, 2010. **105**(10): p. 2262-75.
60. van der Waaij, L.A., et al., *In vivo IgA coating of anaerobic bacteria in human faeces*. Gut, 1996. **38**(3): p. 348-54.
61. Mellander, L., et al., *Secretory antibodies in IgA-deficient and immunosuppressed individuals*. J Clin Immunol, 1986. **6**(4): p. 284-91.
62. Karlsson, G., et al., *Immunohistochemical study of nasal mucosa in patients with common variable immunodeficiency*. Int Arch Allergy Appl Immunol, 1987. **82**(3-4): p. 481-2.

## **Phénotype clinique et réponses humorales intestinales d'une cohorte de patients déficitaires en IgA**

L'absence d'IgA sérique définit le défaut sélectif en IgA (dIgAs) et est retrouvé chez ½ patient au cours du déficit immunitaire commun variable (DICV). Ces deux déficits humoraux primitifs s'accompagnent d'infections muqueuses, de manifestations auto-immunes, d'entéropathie. Les réponses IgA sont majoritairement induites dans les muqueuses digestives et contribuent au maintien de la symbiose entre l'hôte et sa flore digestive (microbiote intestinal). La rupture de cette symbiose peut induire colite inflammatoire, réponses humorales locales et systémiques inappropriées, et troubles métaboliques. Le but de notre étude est de décrire le phénotype clinique des patients déficitaires en IgA (dIgAs et DICV, n=26) et d'étudier leurs réponses humorales intestinales. Nos résultats montrent que 100% des patients DICV et 85% des patients dIgAs ont des infections ORL ou respiratoires récurrentes et/ou digestives et/ou vaginales entraînant une surconsommation d'antibiotiques. De plus, 63% des patients dIgAs ont au moins une maladie auto-immune, et 33% des patients DICV ont une cytopénie auto-immune; 66% des patients DICV ont une lymphoprolifération polyclonale. Par ailleurs, 46% des patients dIgAs et 75% des patients DICV ont une diarrhée chronique avec des anomalies inflammatoires de la muqueuse dans 100% des cas. Les réponses humorales intestinales sont altérées avec absence d'IgA sécrétoire, associée à la présence d'IgM sécrétoire dans 100% des cas de dIgAs. Ces résultats suggèrent que les patients qui ont une absence d'IgA sérique ont tous au moins une complication, et que 50% d'entre eux ont des symptômes évocateurs de dysbiose intestinale possiblement liés à l'absence d'IgA sécrétoire et malgré la sécrétion d'IgM.

Mots clés: déficits immunitaires humoraux primitifs, IgA, microbiote intestinal, dysbiose intestinale, phénotype clinique, réponses humorales intestinales

### **Clinical picture and study of intestinal humoral responses in IgA deficient patients**

Selective IgA deficiency (sIgAd) and common variable immunodeficiency (CVID) lead to lack of seric IgA in all cases for the former and half cases for the latter. Complications associated with these conditions are mucosal infections, auto-immunity and unexplained enteropathy. IgA responses are mainly triggered in intestinal mucosal associated lymphoid tissues and contribute to host/intestinal flora (gut microbiota) homeostasis. Symbiosis disruption, also called dysbiosis, can induce inflammatory bowel disease, inappropriate local and systemic humoral responses, and metabolic troubles. The aim of this study is to describe clinical phenotype of patients lacking seric IgA (sIgAd and CVID, n=26) and to study their intestinal humoral responses. Our results showed that 100% CVID and 85% sIgAd patients had recurrent respiratory tract and/or digestive and/or vaginal infections, leading to antibiotics abuse. Moreover, 63% sIgAd patients had at least one autoimmune condition and 33% CVID patients had an autoimmune cytopenia; Polyclonal lymphoproliferation was found in 66% CVID patients. Interestingly, 46% dIgAs patients and 75% CVID patients had a chronic diarrhea with inflammatory histological features in all cases. Intestinal humoral responses were altered since IgA responses were indeed abolished. In cases of sIgAd, intestinal IgM responses were systematically observed. Our results suggest that all patients have at least one complication, and half of them present with gastrointestinal troubles, suggesting intestinal dysbiosis possibly related to secretory IgA deficiency and despite IgM secretion.

Key words: primary antibody deficiencies, IgA, intestinal microbiota, intestinal dysbiosis, clinical phenotype, intestinal humoral responses

Faculté de médecine René Descartes (Paris 5), 15 rue de l'Ecole de Médecine, 75006, Paris