

Étude clinique et biologique des allergies à *Geotrichum candidum*

P. GUMOWSKI, J.-P. GIRARD *

RESUME

L'observation fréquente de *Geotrichum candidum* dans les selles de patients allergiques nous a incités à entreprendre une étude clinique et biologique de l'antigénicité de cet agent. 38 patients ont été étudiés, soit 6 avec troubles gastro-intestinaux, 25 urticaires chroniques et 7 asthmes et rhinites. La sélection a été faite sur la base de la présence de troubles gastro-intestinaux et de tests cutanés immédiats positifs. Des tests de provocation orale, sous-cutanée, respiratoire et nasale ont permis de confirmer, avec une bonne vraisemblance, la responsabilité étiologique de *Geotrichum*. Parmi les autres tests pratiqués, le test d'hémagglutination et le test de transformation lymphocytaire peuvent apporter une aide, quoique relative, au diagnostic. Un traitement de désensibilisation avec l'extrait antigénique de *Geotrichum* a été entrepris chez 19 patients dont 12 avec d'excellents résultats. Cette étude préliminaire démontre la réalité, relativement fréquente des allergies à *Geotrichum candidum* et suggère que, particulièrement dans les urticaires chroniques, cet agent étiologique devrait être recherché, plus systématiquement lorsque les critères de sélection mentionnés dans ce travail sont observés.

SUMMARY

Clinical and laboratory study of allergies to *Geotrichum candidum*. — The frequent observation of *Geotrichum candidum* in the stools of allergic patients led us to undertake a clinical and laboratory study of the antigenicity of this agent. 38 patients were studied, including 6 with gastrointestinal disorders, 25 with chronic urticaria and 7 with asthma and rhinitis. The selection of the patients was based on the presence of gastro-intestinal disturbances and positive immediate skin tests. Oral, sub-cutaneous, respiratory and nasal provocation tests were able to confirm, with a high degree of certainty, the aetiological responsibility of *Geotrichum*. Amongst the other tests performed, the haemagglutination test and the lymphocyte transformation test may be of assistance, even if only relative, in the diagnosis. Desensitisation treatment with an antigenic extract of *Geotrichum* was performed in 19 patients and excellent results were obtained in 12 of them. This preliminary study demonstrates the relatively frequent reality of allergy to *Geotrichum candidum* and suggests that, particularly in cases of chronic urticaria, the presence of this aetiological agent should be investigated, especially when the criteria of selection mentioned in this paper are observed.

Geotrichum candidum est une levure dimorphique très ubiquitaire qui est présente naturellement dans le sol, les fruits, les légumes, ainsi que les produits laitiers.

Ce champignon est fréquemment présent dans la cavité buccale et l'intestin de sujets sains. Dans une étude portant sur 314 spécimens de selles, provenant de sujets en bonne santé, Schnoor [1] a réussi à cultiver *Geotrichum* dans 29 p. cent des échantillons. Il s'agit donc d'un de ces champignons opportunistes que l'on va retrouver fréquemment chez des patients présentant des maladies débilitantes, dont le diabète, les leucoses, lymphomes et autres cancers. Les traitements prolongés aux corticostéroïdes, substances antimotiques et antibiotiques favorisent la prolifé-

ration de cette levure [2]. Dans de telles maladies, des formes orales, intestinales et particulièrement broncho-pulmonaires ont été décrites.

D'autres infections mycotiques, telles que l'aspergillose ou la candidose peuvent être associées à des manifestations d'hypersensibilité. Des observations de ce type concernant *Geotrichum* sont rares [3, 4]. Des cas isolés d'asthme ont été publiés par Bell [5] et Ross et coll. [6]. Dans la publication de ce dernier auteur, le patient présentait un test cutané immédiat fortement positif à un extrait antigénique de *Geotrichum*, ainsi qu'un titre élevé d'anticorps agglutinants, ceci pendant la durée de la maladie. La recherche de *Candida albicans* dans les selles des patients en investigation, particulièrement dans les urti-

* Département de Médecine, Division d'Immunologie et d'Allergologie, Hôpital Cantonal Universitaire, Genève.

Tirés à part : Dr J.P. Girard, Département de Médecine, Division d'Immunologie et d'Allergologie, Hôpital Cantonal Universitaire, 24, rue Micheli-du-Crest, 1211 GENEVE 4.

Reçu le 5 septembre 1984. Accepté le 10 juin 1985.

caires chroniques, est une pratique courante dans notre laboratoire. Ce faisant, *Geotrichum* a été retrouvé fréquemment [7]. Cette observation nous a incités à rechercher une relation causale entre cette levure et l'étiologie de l'asthme ou de l'urticaire chronique.

MATERIEL ET METHODE

Préparation du matériel antigénique

Geotrichum a été isolé des selles de patients avec urticaire chronique.

Un milieu synthétique, non antigénique, composé d'acides aminés, de vitamines et d'albumine humaine a été développé dans ce laboratoire, les colonies ont été récoltées, les spores et hyphes traités par ultrasonication. Ce matériel a été dialysé pendant 3 jours et le dialysat a été solubilisé en milieu salin isotonique, à la concentration de 1 % de protéines.

Ce matériel stérilisé a été utilisé pour les tests cutanés, les tests de provocation bronchique et nasale, les tests d'hémagglutination et de double diffusion en gélose.

Sélection des patients

Dans ce rapport préliminaire, 38 cas ont été étudiés, inclus 6 patients présentant une symptomatologie exclusivement gastro-intestinale, 25 patients avec une urticaire chronique et/ou un oedème de Quincke et 7 cas d'asthme avec ou sans rhinite. Sur ce total de 38 cas, 34 étaient certainement des patients atopiques.

La sélection a été pratiquée en fonction des critères suivants :

- présence de problèmes gastro-intestinaux isolés (gastrites, surtout post-prandiales, fréquemment associées à des aliments connus du patient, lourdeur et douleurs de la région hépato-vésiculaire, également associées à certains aliments, tendance aux diarrhées post-prandiales, symptômes de côlon irritable) ou associées à d'autres manifestations allergiques ;

- un test cutané immédiat à l'extrait antigénique de *Geotrichum* d'au moins 10 mm de diamètre ;

- présence de *Geotrichum* dans les selles.

Les corrélations cliniques ont été établies sur la base des critères suivants :

- au moyen des tests de provocation ;

- par la disparition des problèmes cliniques, suite à un traitement antimycotique (Nystatine, 500 000 U 3 ×/jour, pendant 8 jours).

Enfin, dans quelques cas, un traitement de désensibilisation a été entrepris au moyen des extraits antigéniques de *Geotrichum candidum*.

Tests cutanés

Pendant une période de 16 mois, 160 patients ont été testés au moyen de l'extrait antigénique. Sont demeurés négatifs 104 patients présentant des problèmes cliniques comparables à ceux de cette étude. Ont été retenus pour cette dernière, 38 patients présentant un test cutané positif ($\varnothing \geq 10$ mm) à une concentration de 100 µg/ml et par ailleurs obéissant aux critères mentionnés ci-dessus.

A noter que les tests cutanés ont été également pratiqués chez 50 personnes non-allergiques. Trois réponses positives ont été obtenues, dans tous les cas d'un diamètre inférieur à 10 mm.

Tests de provocation

Ces tests ont été pratiqués selon une méthodologie décrite récemment [8, 9]. L'antigène a été utilisé à des concentrations variant de 50-500 µg/ml. Dans quelques cas, des tests de provocation sous-cutanée ont été pratiqués avec une concentration antigénique de 200 µg/ml, ceci particulièrement pour confirmer un diagnostic d'urticaire ou d'oedème de Quincke chronique.

Ces tests ont été pratiqués de la manière suivante : à l'insu du patient, 3 antigènes ont été choisis pour les provocations sous-cutanées, dont *Geotrichum candidum*. Lorsqu'une réaction positive a été obtenue avec ce dernier, c'est-à-dire une reproduction des symptômes présentés par le patient, ceci en l'espace de 12 heures après le test, une seconde provocation a été pratiquée. Le résultat a été considéré comme positif lorsqu'une réaction identique a été observée.

Tests d'hémagglutination

Il s'agit d'une technique classique d'hémagglutination utilisant des érythrocytes de moutons traités à l'acide tannique et sensibilisés au moyen d'une solution antigénique contenant 500 µg/ml de protéines. La spécificité de la méthode a été testée au moyen de la technique d'inhibition de l'hémagglutination. La dernière dilution du sérum donnant lieu à une agglutination visible à l'œil nu était considérée comme le titre d'anticorps.

Double précipitation en gélose

La classique technique de précipitation en gélose selon Ouchterlony a été utilisée. Quatre dilutions de l'antigène ont été mises en présence du sérum à tester, ceci afin de mettre en évidence un rapport antigène-anticorps optimal. Un antisérum préparé chez le lapin a été utilisé comme sérum de référence aussi bien pour cette technique que pour le test d'hémagglutination.

TABLEAU I. — Allergie à *Geotrichum candidum*. Ensemble des paramètres biologiques et cliniques étudiés.

Tests	Problèmes intestinaux et digestifs isolés (6 cas)	Urticaire + œdème de Quincke (25 cas)	Asthme et rhinite (7 cas)
Tests cutanés *	6/6	25/25	7/7
Ac. hémagglutinants	6/6	11/25	3/7
Ac. précipitants	1/6	1/25	0/7
Stimulation lymphocytaire	4/6	11/25	5/7
<i>Geotrichum</i> ds/selles	6/6	25/25	6/7
Tests de provocation	3/6	16/25	7/7
Test thérapeutique	3/6	7/25	1/7
Désensibilisation	4/6	13/25	2/7
IgE sérique	4/6	16/25	4/7
Autres symptômes	2/6	17/25	5/7

* Les réponses semi-tardives et différées (24-48 h) ne sont pas comptabilisées ici.

Test de transformation lymphoblastique

Les lymphomonocytes des patients ont été séparés du sang complet (20 ml) sur Ficoll-Isopaque. Les cultures ont été pratiquées en micropuits (Microplates Falcon, Los Angeles). 3×10^5 cellules ont été mises dans chaque puits, en présence de RPMI (Difco lab. Bâle) et de 20 % de sérum humain (pool-AB-). L'antigène (200 µg/ml a été ajouté dans la moitié des puits. Après 4 jours de culture dans un incubateur à CO₂ (37° C), ³H-thymidine (NEN, Dreieichenhain, Allemagne), 1,0 mCi/10⁶ cellules a été ajoutée. Après 16 heures supplémentaires d'incubation, les cellules ont été récoltées, lavées et l'activité mesurée sur un compteur à scintillation liquide, type Packard. Un index d'activité de $\geq 1,5$ a été considéré comme positif.

Mesure des IgE sériques

La technique Prist (Pharmacia, Uppsala, Suède) a été utilisée.

RESULTATS

Le tableau I donne les résultats d'ensemble des investigations portant sur un total de 38 patients.

Comme l'indique ce tableau, dans tous les cas, les tests cutanés immédiats étaient positifs. A noter que des tests cutanés semi-tardifs et tardifs ont été observés dans près du tiers des cas. Il est probable que, comme c'est le cas pour *Candida albicans*, la réponse tardive correspond à un état immunitaire de protection.

Comme indiqué précédemment, les tests cutanés sont rarement positifs dans une population non allergique. Chez les patients allergiques, en revanche, le pourcentage de tests positifs observés est proche de 30 p. cent.

Les tests d'hémagglutination sont très souvent positifs lors de problèmes gastro-intestinaux isolés (anticorps IgG). En revanche, ces anticorps sont présents dans moins de la moitié des autres cas cliniques. Dans une population témoin, comprenant 50 sujets non allergiques, un test d'hémagglutination positif n'a été observé qu'une seule fois. Les anticorps précipitants n'ont été retrouvés que dans 2 cas, sans qu'il ait été possible de leur accorder une signification particulière.

Un pourcentage élevé de stimulations lymphocytaires positives a été observé. Cette fréquence élevée de stimulations lymphocytaires semble assez caractéristique des porteurs de *Geotrichum*. En effet, dans une série contrôle de sujets allergiques, non porteurs de *Geotrichum*, portant sur 50 sujets, une réponse lymphocytaire positive n'a été observée que 2 fois.

Les tests de provocation ont été fréquemment positifs (cf. tableau I). Ceci a été observé dans tous les cas de rhinite avec asthme. A noter qu'une chute du VEMS d'au moins 20 p. cent, après inhalation de l'antigène, devait être obtenue pour que le test de provocation soit admis comme positif. Nous n'avons pas pratiqué ce test chez des sujets sains. En revanche, celui-ci est demeuré négatif chez 20 sujets avec asthme et test cutané positif et 20 autres cas d'asthme avec test cutané négatif. Dans les cas de problèmes digestifs isolés, 3 tests de provocation ont été clairement positifs. Enfin, 16 des 25 cas d'urticaire et oedèmes de Quincke chroniques présentaient des tests de provocation positifs, dont 4 par voie orale et 12 par voie sous-cutanée. Les doses utilisées par voie orale ont varié de 200 à 500 µg, et celles utilisées pour la provocation sous-cutanée de 50 à 200 µg. Les 9 cas d'urticaire et 3 cas de problèmes digestifs qui n'ont pas répondu clairement au test de provocation ont reçu un traitement d'épreuve à la Nystatine ($3 \times 500\,000$ U) pendant 10 jours. Dans

TABLEAU II. — Allergie à *Geotrichum candidum*.
Résultats des désensibilisations.

Résultats	Symptômes gastro-intestinaux	Urticaire et œdème de Quincke	Asthme et rhinite
Désensibilisation	3	13	3
Bons	2	8	2
Moyens	—	2	1
Abandon	1	3	—

10 de ces 12 cas, une amélioration importante ou une disparition des symptômes a été observée. La durée de cette amélioration a varié de 12 à 45 jours. En aucun de ces cas, une guérison durable n'a été obtenue. A noter que, dans 24 cas seulement, les valeurs des IgE sériques étaient supérieures à 150 U/ml.

Désensibilisation

Comme l'indique le tableau II, celle-ci a été entreprise chez 19 patients, avec un temps d'observation maximal de 24 mois. Les résultats ont été considérés comme très bons chez 12 patients, moyens dans 3 cas et chez les autres patients, le traitement a dû être interrompu en raison d'une intolérance au traitement. Ces traitements n'ont été pratiqués que chez des patients présentant des problèmes respiratoires et cutanés et chez lesquels la notion d'atopie était absolument certaine. Les effets de la désensibilisation ont été appréciés après 6 et 24 mois de traitement.

Le bilan des problèmes cliniques, la consommation de médicaments symptomatiques ont permis d'apprécier l'efficacité du traitement. Des recherches de *Geotrichum* dans les selles des patients suivis pendant ce laps de temps ont été négatives chez 8 d'entre eux. En revanche, les tests cutanés qui ont été refaits dans presque tous les cas n'ont guère varié. Enfin, quatre patients ont été traités au DSCG dont trois avec de bons résultats.

DISCUSSION

Bien que cette étude ne fournisse aucune donnée permettant d'apprécier la fréquence réelle des allergies à *Geotrichum candidum*, notre expérience nous permet d'affirmer que celle-ci est assez élevée et justifie une investigation ad hoc, particulièrement dans les cas d'urticaires chroniques et les asthmes, particulièrement chez des sujets porteurs de la levure, présentant un test cutané immédiat à cet antigène.

Quelles sont les causes qui favorisent la prolifération de *Geotrichum* et subséquemment le déve-

loppement d'une allergie ? 17 de nos patients recevaient assez régulièrement des traitements aux antibiotiques pour des problèmes de sinusites récidivantes, de cystites à répétition ou d'entérites à colibacilles et 5 une corticothérapie orale épisodique pour le traitement de leur asthme. On retrouve ici les causes habituelles du développement de levures opportunistes. Dans aucun de nos cas, un déficit global de l'immunité n'a pu être mis en évidence (résultats non présentés).

Nous avons de bonnes raisons de penser que nos patients ont développé pour la majorité d'entre eux des réactions à médiation IgE. Une confirmation au moyen de RAST est en cours. Toutefois, en raison de la présence fréquente de tests cutanés semi-tardifs et retardés, il est probable que d'autres mécanismes pathogéniques doivent, dans certains cas, être envisagés. La fréquence avec laquelle des anticorps hémagglutinants sont retrouvés suggère une participation de certains IgG aux mécanismes pathogéniques, ceci malgré la rareté de la mise en évidence d'anticorps précipitants (2 cas positifs).

Parmi les éléments de diagnostic qu'il faut considérer, en dehors des tests cutanés, les tests d'hémagglutination et la stimulation lymphocytaire doivent être retenus. La présence de ce type de réponse immunologique démontre que les mécanismes pathogéniques sont probablement plus complexes dans ces cas qu'une simple médiation IgE, comme c'est d'ailleurs souvent le cas pour les levures. Le diagnostic causal de certitude ne peut être obtenu qu'au moyen des tests de provocation, qui doivent être pratiqués lorsqu'il existe un doute dans le diagnostic. Toutefois, sur un plan pratique, c'est la présence d'un test cutané positif et la découverte dans les selles qui doivent susciter des compléments d'investigations [7].

Toutefois, comme le suggèrent différents travaux [1, 7], la présence de *Geotrichum candidum* chez le sujet apparemment en bonne santé est loin d'être exceptionnelle. En revanche, nous ne disposons guère de documents concernant la fréquence des test cutanés positifs. Notre étude, quoique insuffisante sur le plan épidémiologique, suggère une fréquence d'à peu près un tiers de tests positifs. Notons enfin, que la presque totalité de nos patients étaient des atopiques. Jusqu'ici, 50 personnes non-allergiques ont été testées au moyen des tests cutanés, avec 3 résultats positifs. Cette casuistique, bien qu'insuffisante, donne une idée de la fréquence de ce type de réponse.

Un des critères de sélection de nos patients était la présence de troubles digestifs mineurs. A cet égard, les test thérapeutiques sont souvent spectaculaires, en éliminant non seulement la réaction allergique à distance, mais aussi les trou-

bles digestifs (ballonnements, digestion lente, côlon irritable, etc.) [10]. Il est donc très probable que ces derniers sont liés à la présence en grande quantité de la levure dans le tube digestif. Plusieurs questions se posent au sujet des mécanismes pathogéniques. Tout d'abord, un déficit global de l'immunité a pu être exclu dans nos cas. Reste une incapacité de l'intestin d'éliminer l'agent mycosique. Chez les patients ayant reçu des traitements antibiotiques par voie orale, on peut incriminer une modification de la flore intestinale saprophyte, dont on sait l'importance pour l'élaboration des mécanismes immunitaires protecteurs au niveau de l'intestin [11, 12]. Dans ce cas, Moneret-Vautrin et Belut [13] suggèrent que la persistance d'une mycose digestive chronique est à mettre en relation avec une carence en IgA locale. Il n'est pas exclu que ce même processus favorise également le développement d'allergies alimentaires, car nous avons fréquemment observé l'association d'une mycose intestinale et d'une intolérance alimentaire [10]. La mesure des anticorps

IgA spécifiques serait dans les cas de mycoses intestinales chroniques du plus haut intérêt.

Enfin, une dernière remarque : chez 21 de nos patients, nous avons noté la présence d'une allergie à un ou plusieurs aliments. Or, celle-ci disparaissait soit à la suite d'une désensibilisation ou d'un test thérapeutique. Cet effet favorisant des allergies alimentaires, bien connu avec les candidoses intestinales, est probablement le résultat d'une perturbation de la perméabilité intestinale, permettant le passage dans la circulation de molécules antigéniques. Ces observations parlent contre la présence d'un déficit immunitaire local persistant, mais suggèrent plutôt une perturbation réversible des défenses locales dont le mécanisme nous échappe encore complètement.

Nous ne pensons pas utile de nous étendre longuement sur les résultats des traitements de désensibilisation, en raison du petit nombre de cas. Une étude en double aveugle, actuellement en cours, permettra, dans un proche avenir, d'avoir une vue plus claire de la validité de ce traitement.

RÉFÉRENCES

1. Schnoor T.G. — The occurrence of monilia in normal stools. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1939, 19, 163.
2. Bendove R.A., Ashe B.L. — Geotrichum septicemia. *Arch. intern. Med.*, 1952, 89, 107.
3. Kunstadter R.H., Pendergrass R.C., Schubert J.H. — Broncho-pulmonary Geotrichosis. *Am. J. med. Sci.*, 1946, 211, 583.
4. Fischbach R., White M.L., Finegold S.M. — Broncho-pulmonary Geotrichosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1973, 108, 1388.
5. Bell D., Brodic J., Henderson A. — A case of pulmonary Geotrichosis. *Br. J. Dis. Chest.*, 1962, 56, 26.
6. Ross J.P., Reid K.D.G., Speiss C.F. — Broncho-pulmonary Geotrichosis with severe asthma. *Br. J. Med.*, 1966, 1, 1400.
7. Carmichael J.W. — Geotrichum candidum. *Mycologie*, 1957, 49, 820.
8. Girard J.P., Horvat L., Didisheim J.C. — Inhalation tests as a routine diagnostic procedure in allergic asthma. *Ann. Allergy*, 1973, 31, 396.
9. Girard J.P., Mauroux M. — Les tests de provocation nasale. Application au diagnostic allergologique. *Rev. fr. allergol.*, 1979, 19, 131.
10. Petitpierre M., Gumowski P., Girard J.P. — Irritable bowel syndrome and hypersensitivity to food. *Ann. Allergy*, 1985, 54, 538.
11. Bazin H. — Secretory immunoglobulins and local immunity. In : *Immunity in parasites diseases*, pp. 185-200. Paris, INSERM, 1977.
12. Moneret-Vautrin D.A. et André Cl. — *Immunopathologie de l'allergie alimentaire et fausses allergies alimentaires*, p. 104. Paris, Masson, 1983.
13. Moneret-Vautrin D.A. et Belut D. — Déficit en IgA intestinales chez les patients porteurs de candidose digestive chronique ou récidivante. *Nouv. Presse méd.*, 1982, 10, 1656.

