



**HAL**  
open science

# Flore fongique du pelage des animaux de compagnie, reflet de la contamination par des champignons d'importance médicale

Célénie Endelin

► **To cite this version:**

Célénie Endelin. Flore fongique du pelage des animaux de compagnie, reflet de la contamination par des champignons d'importance médicale. Sciences du Vivant [q-bio]. 2024. dumas-04873710

**HAL Id: dumas-04873710**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04873710v1>**

Submitted on 8 Jan 2025

**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.

**FLORE FONGIQUE DU PELAGE DES ANIMAUX DE  
COMPAGNIE, REFLET DE LA CONTAMINATION  
PAR DES CHAMPIGNONS D'IMPORTANCE  
MÉDICALE**

**THÈSE**

pour l'obtention du diplôme d'état de

**DOCTEUR VÉTÉRINAIRE**

présentée et soutenue publiquement devant

l'UFR de Médecine de l'Université de Nantes

le 24/10/2024

par

**Célinie Françoise Andrée Claire ENDELIN**

Sous la direction de

**Nicolas SOETART**

Président du Jury : Monsieur Jacques GUILLOT, *EBVS spécialiste en Parasitologie vétérinaire, Professeur de Parasitologie et Mycologie - Oniris VetAgroBio Nantes*

Membres du Jury : Monsieur Nicolas SOETART, *DMV, PhD, dip. ECVCP, DU Mycologie Médicale LabOniris - Oniris VetAgroBio Nantes*

Monsieur Jérôme ABADIE, *DVM, PhD, Dip. ECVP, Histologie et Anatomie Pathologique - Oniris VetAgroBio Nantes*

Membres invités : Madame Anne-Cécile NORMAND, *Ingénieur de recherche hospitalier, Laboratoire de Parasitologie et Mycologie - Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris*

Monsieur Arnaud JABET, *Laboratoire de Parasitologie et Mycologie - Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris*



<b>Département BPSA Biologie, Pathologie et Sciences de l'Aliment</b>		
Responsable : Emmanuel JAFFRES – Adjointe : Frédérique NGUYEN		
Pharmacologie et Toxicologie	Jean-Claude DESFONTIS (Pr) Yassine MALLEM (Pr) Hervé POULIQUEN (Pr)	Antoine ROSTANG (MC) Meg-Anne MORICEAU (MC Stagiaire) Martine KAMMERER (Pr émérite) Marc GOGNY (Pr émérite)
Physiologie fonctionnelle, cellulaire et moléculaire	Jean-Marie BACH (Pr) Lionel MARTIGNAT (Pr)	Julie HERVE (Pr) Grégoire MIGNOT (MC)
Histologie et anatomie pathologique	Marie-Anne COLLE (Pr) Jérôme ABADIE (MC) Florian CHOCTEAU (MC stagiaire)	Laetitia JAILLARDON (MC) Frédérique NGUYEN (MC) Pierre CORDIER (CERC)
Biochimie alimentaire industrielle	Carole PROST (Pr) Joëlle GRUA (MC)	Clément CATANEO (MC) Alix KHALIL (MC) Laurent LE THUAUT (MC)
Microbiotech	Hervé PREVOST (Pr) Géraldine BOUE (MC) Nabila HADDAD (MC HDR) Emmanuel JAFFRES (MC HDR)	Mathilde MOSSER (MC) Boris MISERY (MC) Raouf TAREB (MC) Judith LORANT (MC stagiaire)
PACENV = VET1	Eléonore BOUGUYON (PRAG) Nicolas BROSSAUD (PRAG)	Charlotte MOCQUARD (PRAG) Aurore CALVEL (PRAG)
<b>Département SAESP Santé des Animaux d'Élevage et Santé Publique</b>		
Responsable : Raphaël GUATTEO – Adjoint : Jean-Michel CAPPELIER		
Élevage, nutrition et santé des animaux domestiques	Nathalie BAREILLE (Pr) François BEAUDEAU (Pr) Christine FOURICHON (Pr)	Juan Manuel ARIZA CHACON (MC) Ségolène CALVEZ (Pr) Aurélien MADOUASSE (MC HDR) Nora NAVARRO-GONZALES (MC)
Infectiologie	Alain CHAUVIN (Pr) Emmanuelle MOREAU (Pr) Nathalie RUVOEN-CLOUET (Pr) Pauline MAISONNASSE (CERC)	Albert AGOULON (MC) Suzanne BASTIAN (MC HDR) Léa LOISEL (AERC) Kenny OBERLE (MC) Nadine RAVINET (MC)
Médecine des animaux d'élevage	Catherine BELLOC (Pr) Raphaël GUATTEO (Pr) Anne RELUN (MC) Aurore BOISHARDY (CERC)	Sébastien ASSIE (MC) Isabelle BREYTON (MC) Mily LEBLANC MARIDOR (MC) Maud ROUAULT (AERC)
Hygiène et qualité des aliments	Jean-Michel CAPPELIER (Pr) Louis DELAUNAY (MC) Bruno LE BIZEC (Pr)	Sofia STRUBBIA (MC) Marie-France PILET (Pr)

<b>Département DSC Sciences cliniques</b>		
<b>Responsable : Olivier GAUTHIER – Adjoint : Marion FUSELLIER</b>		
Anatomie comparée	Eric BETTI (MC) Claude GUINTARD (MC)	
Pathologie chirurgicale et anesthésiologie	Eric AGUADO (Pr) Olivier GAUTHIER (Pr) Eric GOYENVALLE (Pr)	Pierre MAITRE (MC) Caroline TESSIER (MC) Claire DEFOURMSTRAUX (MC)
Dermatologie, parasitologie des carnivores et des équidés, mycologie	Jacques GUILLOT (Pr) Emmanuel BENSIGNOR (Pr Ass) Vincent BRUET (MC)	Sabrina VIEU (AERC) Maria Dolores SANCHEZ (CERC)
Médecine interne, imagerie médicale et législation professionnelle vétérinaire	Anne COUROUCE (Pr) Jack-Yves DESCHAMPS (Pr) Françoise ROUX (Pr) Juan HERNANDEZ-RODRIGUEZ (Pr Ass) Nora BOUHSINA (MC)	Nicolas CHOUIN (MC) Amandine DRUT (MC) Marion FUSELLIER-TESSON (Pr) Catherine IBISCH (MC HDR) Aurélia LEROUX (MC) Odile SENECAT (MC)
Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Jean-François BRUYAS (Pr) François FIENI (Pr)	Djemil BENCHARIF (Pr) Lamia BRIAND (Pr)
<b>Département GPA Génie des procédés alimentaires</b>		
<b>Responsable : Vanessa JURY – Adjointe : Cyril TOUBLANC</b>		
Lionel BOILLEREAUX (Pr) Sébastien CURET-PLOQUIN (Pr) Marie DE LAMBALLERIE (Pr) Francine FAYOLLE (Pr) Michel HAVET (Pr)	Alain LEBAIL (Pr) Olivier ROUAUD (Pr) Kévin CROUVISIER-URION (MC) Vanessa JURY (Pr) Emilie KORBEL (MC)	Jean-Yves MONTEAU (MC HDR) Eve-Anne NORWOOD (MC) Raphaël PORYLES (MC) Laurence POTTIER (MC) Cyril TOUBLANC (MC)
PAC-ING	Cyril Gaillard (PCEA)	
<b>Département MSC Management, statistiques et communication</b>		
<b>Responsable : Jean-Michel GALIHARRET – Adjointe : Sibylle DUCHAINE</b>		
Mathématiques, statistiques, informatique	Chantal THORIN (Pr Ag) Evelyne VIGNEAU (Pr) Jean-Michel GALIHARRET(MC)	Véronique CARIOU (Pr) Benjamin MAHIEU (MC) Michel SEMENOU (MC)
Economie, gestion, législation	Jean-Marc FERRANDI (Pr) Pascal BARILLOT (MC) Ibrahima BARRY (MC) Florence BEAUGRAND (MC) Franck INSGNARES (IE)	Sibylle DUCHAINE (MC) Sonia MAHJOUB (MC) Samira ROUSSELIERE (MC) Christophe PAPINEAU (Ens. Cont.)
Langues et communication	Marc BRIDOU (PLPA) David GUYLER (Ens. Cont.) Nathalie GOODENOUGH (PCEA) Patricia JOSSE (Ens. Cont.)	Shaun MEEHAN (Ens. Cont.) Linda MORRIS (PCEA) Ian NICHOLSON (ENS. Cont.)

## Formations Techniciens supérieurs

Responsable : Laurence FRERET

<p>Laurence FRERET (PCEA)          Françoise BRICHET (IAE)          Christophe CARON (PLPA)          Virginie MAGIN (Ens.cont.)</p>
---

Pr Ag : Professeur Agrégé, Pr : Professeur, MC : Maître de Conférence, MCC : MC contractuel,  
 PLPA : Professeur Lycée Professionnel Agricole, PCEA : Professeur Certifié Enseignement Agricole,  
 HDR : Habilité à Diriger des Recherches, CERC : Chargé d'Enseignement et de Recherche Contractuel, Ens.

La reproduction d'extraits de cette thèse est autorisée avec mention de la source. Toute reproduction partielle doit être fidèle au texte utilisé. Cette thèse devra donc être citée en incluant les éléments bibliographiques suivants :

- Nom et prénom de l'auteur : Céliénie ENDEIN
- Année de soutenance : 2024
- Titre de la thèse : Flore fongique du pelage des animaux de compagnie, reflet de la contamination par des champignons d'importance médicale
- Intitulé du diplôme : Thèse de doctorat vétérinaire
- Université de soutenance : Faculté de Médecine de Nantes
- Ecole de Soutenance : Oniris – VetAgroBio : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique
- Nombre de pages : 118 p.

## REMERCIEMENTS

Le jury

---

A **M. Guillot** et **M. Soetart**, pour la proposition de ce sujet de thèse et vos relectures rapides et complètes.

A **M. Soetart**, pour votre aide dans la sélection de toutes ces moquettes et notamment pour m'avoir fourni ces interminables tableaux mensuels très longs à charger... Merci pour vos réponses à toutes mes questions et votre relecture assidue.

A **M. Guillot**, pour avoir effectué les transports de champignons jusqu'à Paris. Merci pour vos conseils mycologiques et vos corrections.

A **M. Abadie**, pour avoir accepté de composer ce jury.

A **Mme Normand**, pour vos explications sur la spectrométrie de masse et vos conseils d'utilisation des données. Bon courage pour la fin de l'étude !

A toute l'équipe de **LabOniris**, pour m'avoir mis de côté les moquettes qui prennent beaucoup de place et pour votre accueil toujours sympathique.



## Table des matières

### REMERCIEMENTS

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations et des sigles

### INTRODUCTION

### PARTIE 1 – CONTEXTE SCIENTIFIQUE

A. GENERALITES, MISE EN ÉVIDENCE ET IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS .....	17
a. Généralités sur les champignons.....	17
b. Mise en culture.....	18
c. Techniques d'identification fongique .....	18
i. Aspect macroscopique et microscopique.....	18
ii. Identification moléculaire .....	19
iii. Spectrométrie de masse (MALDI-ToF).....	19
B. <i>RHIZOPUS ARRHIZUS</i> .....	20
a. Eléments de classification.....	20
b. Morphologie.....	22
c. Biologie.....	23
d. Pouvoir pathogène des Mucorales .....	23
i. Physiopathologie.....	23
ii. Résistance et traitements.....	25
iii. Mucormycose chez l'Homme .....	26
iv. Mucormycose chez les animaux .....	30
e. Mise en évidence des Mucorales .....	33
i. Mise en évidence dans l'environnement.....	33
ii. Mise en évidence chez les patients .....	34
C. PRÉSENTATION D'AUTRES ESPÈCES FONGIQUES D'IMPORTANCE MÉDICALE.....	35
a. <i>Alternaria alternata</i> .....	35
i. Eléments de classification.....	35
ii. Morphologie.....	35
iii. Ecologie .....	36
iv. Pouvoir pathogène .....	36

v.	Signes cliniques .....	37
b.	<i>Aspergillus fumigatus</i> .....	37
i.	Eléments de classification.....	37
ii.	Morphologie.....	37
iii.	Ecologie .....	38
iv.	Pouvoir pathogène .....	38
v.	Signes cliniques .....	38
D.	UTILISATION DES ANIMAUX COMME SENTINELLES ET DÉMONSTRATION INDIRECTE DE L'EXPOSITION DE L'HOMME .....	41
a.	Définition .....	41
b.	Critères de choix d'une sentinelle.....	42
c.	Utilisation des animaux de production .....	43
i.	Pour la santé animale .....	43
ii.	Pour la santé publique.....	43
d.	Utilisation des animaux de la faune locale et sauvage.....	44
e.	Utilisation des animaux de compagnie .....	44
i.	Surveillance des contaminants environnementaux .....	45
ii.	Surveillance des agents pathogènes zoonotiques.....	46
A.	INTRODUCTION ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE .....	49
B.	MATERIEL ET METHODES.....	49
a.	Prélèvements .....	49
b.	Sélection des moquettes .....	50
i.	Choix du nombre de moquettes .....	50
ii.	Description du tirage aléatoire .....	52
iii.	Sélection physique à LabOniris .....	54
c.	Mise en culture.....	55
d.	Identification par spectrométrie de masse MALDI-ToF .....	56
i.	Prélèvement du champignon.....	56
ii.	Extraction protéique.....	56
iii.	Spectrométrie de masse MALDI-ToF .....	57
iv.	Acquisition du spectre.....	59
v.	Analyse du spectre .....	59
vi.	Identification .....	59
e.	Statistiques .....	60

i.	Comparaison de la détection des espèces fongiques entre les régions .....	60
ii.	Comparaison des moquettes issues de chats et de chiens .....	60
iii.	Comparaison de la détection des espèces fongiques entre les mois .....	61
C.	RÉSULTATS .....	62
a.	Genres fongiques identifiés.....	62
i.	Représentativité des différents champignons.....	62
ii.	Cas particulier de certaines espèces pathogènes .....	64
iii.	Comparaison du portage entre les chats et les chiens .....	65
iv.	Comparaison du portage selon les mois.....	67
b.	<i>Rhizopus arrhizus</i> .....	69
i.	Origine des prélèvements.....	70
ii.	Répartition spatiale .....	71
iii.	Répartition temporelle .....	76
c.	<i>Alternaria alternata</i> .....	78
i.	Origine des prélèvements.....	79
ii.	Répartition spatiale .....	80
iii.	Répartition temporelle .....	85
d.	<i>Aspergillus fumigatus</i> .....	87
i.	Origine des prélèvements.....	88
ii.	Répartition spatiale .....	89
iii.	Répartition temporelle .....	95
A.	À propos des méthodes .....	99
a.	Distribution temporelle .....	99
b.	Effectif .....	99
c.	Mise en culture et identification des espèces fongiques .....	99
B.	À propos des résultats .....	100
a.	Contaminations .....	100
b.	Comparaison du portage des chats et de celui des chiens.....	100
c.	Répartition spatiale .....	101
d.	Répartition temporelle .....	104

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Effectif de moquettes classées par espèce, par région et par mois

Tableau 2 : Représentativité des genres de champignons pathogènes

Tableau 3 : Représentativité des genres de champignons pathogènes sur les moquettes issues de chats

Tableau 4 : Représentativité des genres de champignons pathogènes sur les moquettes issues de chiens

Tableau 5 : Positivité des moquettes selon le mois de prélèvement

Tableau 6 : Représentativité des genres de champignons pathogènes sur les moquettes issues de chats et de chiens selon le mois de prélèvement

Tableau 7: Nombre de moquettes revenues positives à *R. arrhizus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les espèces canines et félines

Tableau 8 : Tableau de contingence de détection de *R. arrhizus* selon l'espèce d'origine de la moquette

Tableau 9 : Tableau de contingence de détection de *R. arrhizus* selon les régions

Tableau 10 : Tableau de contingence de détection de *R. arrhizus* selon le mois d'origine de la moquette

Tableau 11 : Nombre de moquettes revenues positives à *A. alternata* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les espèces canines et félines

Tableau 12 : Tableau de contingence de détection de *A. alternata* selon l'espèce d'origine de la moquette

Tableau 13 : Tableau de contingence de détection de *A. alternata* selon les régions

Tableau 14 : Tableau de contingence de détection de *A. alternata* selon le mois d'origine de la moquette

Tableau 15 : Nombre de moquettes revenues positives à *Aspergillus fumigatus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les espèces canines et félines

Tableau 16 : Tableau de contingence de détection de *A. fumigatus* selon l'espèce d'origine de la moquette

Tableau 17 : Tableau de contingence de détection de *A. fumigatus* selon les régions

Tableau 18 : Tableau de contingence de détection de *A. fumigatus* selon le mois d'origine de la moquette

## Liste des figures

Figure 1 [1] : Arbre phylogénétique de l'ordre des Mucorales

Figure 2 [2] : (a) Culture sur Sabouraud de *Rhizopus arrhizus*

(b) Columelles de *R. arrhizus*

(c) Sporocystes de *R. arrhizus*, avec les sporocystophores et rhizoïdes

Figure 3 [2]: A gauche : culture sur Sabouraud de *Alternaria alternata*

A droite : chaîne ramifiée avec des conidies multicellulaires

Figure 4 [2] : *Aspergillus fumigatus* : (a) aspect sur culture Sabouraud et (b) morphologie de la tête conidienne

Figure 5 : Procédure d'utilisation de moquettes pour le diagnostic de dermatophytose

(a) carré de moquette vierge ; (b) prélèvement chez un chat ; (c) envoi à LabOniris

(source : LabOniris)

Figure 6 : Nombre de moquettes issues de chiens reçues par mois et par région en France métropolitaine entre juin 2022 et mai 2023 (source : LabOniris)

Figure 7 : Nombre de moquettes issues de chats reçues par mois et par région en France métropolitaine entre juin 2022 et mai 2023 (source : LabOniris)

Figure 8 : Schéma des étapes de l'extraction protéique

Figure 9 [3] : Description de la technologie MALDI-ToF et des différentes étapes

Figure 10 [4] : Principe de fonctionnement de la technologie MALDI-Tof

Figure 11 : Comparaison de la détection des principaux genres dermatophytes entre le LabOniris et l'hôpital de la Pitié Salpêtrière

Figure 12 : Nombre de moquettes issues de chats revenues positives à *R. arrhizus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Figure 13 : Répartition spatiale de *R. arrhizus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats

Figure 14 : Nombre de moquettes issues de chiens revenues positives à *R. arrhizus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Figure 15 : Répartition spatiale de *R. arrhizus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chiens

Figure 16 : Nombre de moquettes issues de chats et de chiens revenues positives à *R. arrhizus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Figure 17 : Répartition spatiale de *R. arrhizus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Figure 18 : Répartition temporelle et taux de détection de *R. arrhizus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Figure 19 : Nombre de moquettes issues de chats revenues positives à *A. alternata* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Figure 20 : Répartition spatiale de *A. alternata* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats

Figure 21 : Nombre de moquettes issues de chiens revenues positives à *A. alternata* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Figure 22 : Répartition spatiale de *A. alternata* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chiens

Figure 23 : Nombre de moquettes issues de chats et de chiens revenues positives à *A. alternata* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Figure 24 : Répartition spatiale de *A. alternata* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Figure 25 : Répartition temporelle et taux de détection de *A. alternata* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Figure 26 : Nombre de moquettes issues de chats revenues positives à *A. fumigatus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Figure 27 : Répartition spatiale de *A. fumigatus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats

Figure 28 : Nombre de moquettes issues de chiens revenues positives à *A. fumigatus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Figure 29 : Répartition spatiale de *A. fumigatus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chiens

Figure 30 : Nombre de moquettes issues de chats et de chiens revenues positives à *A. fumigatus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Figure 31 : Répartition spatiale de *A. fumigatus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Figure 32 : Répartition temporelle et taux de détection de *A. fumigatus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

## Liste des abréviations et des sigles

ABPA : *Allergic BronchoPulmonary Aspergillosis* = Aspergillose Bronchopulmonaire Allergique

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

BLAST : *Basic Local Alignment Search Tool* = Outil de recherche d'alignement local de base

Cellules NK : *Cellules Natural Killer* = Cellules tueuses naturelles

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CPA : *Chronic Pulmonary Aspergillosis* = Aspergillose Pulmonaire Chronique

DDT : DichloroDiphénylTrichloroéthane

ECG : Electrocardiogramme

ELISA : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* = Test d'Immuno-absorption Enzymatique

GPS : *Global Positioning System* = Système de Positionnement Mondial

GRP78 : *Glucose-Regulated Protein 78 kDa* = Protéine Régulée par le Glucose de 78 kilo dalton

H5N1 : Hémagglutinine 5 Neuraminidase 1, Souche hautement pathogène A du virus Influenza aviaire

IC : Intervalle de Confiance

IgA - IgE - IgG : Immunoglobulines A - E - G

IPA : *Invasive Pulmonary Aspergillosis* = Aspergillose invasive pulmonaire

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

IUIS : *International Union of Immunological Societies* = Union Internationale des Sociétés d'Immunologie

MALDI-ToF : *Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionisation - Time of Flight* = Désorption / Ionisation Laser Assistée par Matrice - à Temps de Vol

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OR : *Odds Ratio* = Rapport de cote

PCB : PolyChloroBiphényles

PCR : *Polymerase Chain Reaction* = Réaction de polymérase en chaîne

PET scan : *Emission Positons Tomography* = Tomographie par Émission de Positons

pH : Potentiel Hydrogène

SDA : Sabouraud Dextrose Agar

SDRP : Syndrome Dysgénésique et Respiratoire du Porc

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

## INTRODUCTION

La flore fongique du pelage des animaux est riche et témoigne de l'environnement dans lequel ils évoluent. L'étude du pelage des animaux de compagnie, qui partagent le même environnement que leur propriétaire et servent ainsi de sentinelles, est donc un témoin indirect de l'exposition potentielle de l'Homme aux champignons environnementaux. Or, la connaissance de la répartition spatiale et temporelle de ces champignons est nécessaire pour mieux appréhender leur écologie et leur pouvoir pathogène. Cela permet de mieux prévenir la contamination humaine par ces champignons, d'autant plus que certains d'entre eux sont à l'origine de pathologies graves, parfois même mortelles chez certains patients.

C'est le cas de *Rhizopus arrhizus*, qui est un champignon à l'origine de mucormycoses, infections fongiques répandues mondialement, et qui cause à lui seul la mort de plus de 10 000 personnes chaque année. Différentes études ont ainsi appréhendé l'écologie de *R. arrhizus* en se penchant sur les cas de mucormycose, qui reflètent sa distribution géographique et temporelle. Une saisonnalité a ainsi été remarquée dans des études cliniques s'étendant du Proche à l'Extrême Orient (Liban, Israël, Iran, Inde et Japon), où la majorité des cas de mucormycose sont décrits entre l'été et l'automne. Le Dr Arnaud Jabet a confirmé [5], l'existence d'une certaine saisonnalité de *R. arrhizus*, en lien avec le nombre de cas de mucormycose observés dans plusieurs hôpitaux français. De même, toujours selon Arnaud Jabet, une répartition géographique de *R. arrhizus* semble se profiler au regard de la variation géographique des cas de mucormycoses qui lui sont imputés. En revanche, peu d'études se sont véritablement penchées sur la distribution de ce champignon dans son environnement, ni sur le rapport existant entre l'écologie de *R. arrhizus* et son isolement clinique.

L'étude du pelage des animaux, au travers de moquettes dermatologiques destinées au diagnostic vétérinaire de teigne, a ainsi un intérêt pour comprendre l'écologie de *R. arrhizus*, et notamment s'il existe une régionalité dans son écologie.

Grâce à l'utilisation de la spectrométrie de masse, nous avons pu mettre en évidence une riche flore fongique au sein du pelage des animaux de compagnie, avec l'identification de *R. arrhizus*, mais également d'autres espèces d'intérêt médical certain. Une ouverture de cette étude à deux autres espèces fongiques a par conséquent eu lieu, avec l'inclusion d'*Alternaria alternata* et d'*Aspergillus fumigatus*, toutes deux à l'origine de maladies respiratoires pouvant être sévères voire mortelles.

Cette thèse a donc permis l'identification d'espèces fongiques au sein du pelage des animaux de compagnie, qui servent de sentinelles à l'exposition environnementale, dans le but de caractériser l'écologie de ces dernières, et notamment leur répartition spatiale en France métropolitaine entre juillet et octobre 2023.



## PARTIE 1 – CONTEXTE SCIENTIFIQUE

Cette première partie présente les méthodes pour mettre en évidence et identifier les espèces fongiques. Par la suite, les caractéristiques du champignon *Rhizopus arrhizus* seront exposées en détail. Les autres champignons d'intérêt médical, *Alternaria alternata* et *Aspergillus fumigatus*, qui ont été identifiés grâce à la spectrométrie de masse, seront également présentés mais de manière plus succincte. Puis, dans un dernier temps, divers exemples mettant en lumière l'utilisation des animaux comme sentinelles dans un intérêt médical seront développés.

## **A. GENERALITES, MISE EN ÉVIDENCE ET IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS**

### **a. Généralités sur les champignons**

Les champignons sont des organismes eucaryotes du règne Fungi, dépourvus de chlorophylle, formés d'un réseau de filaments et se reproduisant à l'aide de spores. Ils rassemblent une grande diversité d'espèces allant des micro-organismes, aux levures unicellulaires, moisissures pluricellulaires et jusqu'aux champignons dotés d'un pied classiquement retrouvés dans les bois [2,6,7]. Une grande diversité est également retrouvée dans leur mode de vie et dans les relations entretenues avec leur hôte, qu'il soit animal ou végétal : symbiose (association mutualiste), biotrophie (nutrition des tissus de l'hôte grâce à des structures spécialisées et en influant l'immunité de l'hôte), nécrotrophie (nutrition par destruction des tissus de l'hôte) et saprotrophie (nutrition des tissus organiques morts).

Pour être à l'origine d'infections invasives chez l'Homme, les champignons doivent être capables de se développer à une température de 37°C, d'atteindre les tissus de l'hôte en pénétrant et en s'y diffusant, d'obtenir des nutriments à partir des tissus et enfin de résister au système immunitaire bien développé de l'hôte [8]. Pour toutes ces raisons, les infections fongiques invasives humaines restent rares en comparaison aux autres infections décrites au cours de l'Histoire et les patients immunodéprimés ou présentant des facteurs favorisants sont les plus atteints. Ainsi, parmi les 1,5 millions d'espèces fongiques, seules quelques centaines sont capables d'infections chez l'Homme [8,9] et elles sont issues des quatre divisions suivantes : Zygomycètes, Entomophthorales, Ascomycètes et Basidiomycètes. En particulier, les espèces saprotrophes telles que *Rhizopus* (Zygomycètes) et *Aspergillus* (Ascomycètes), ainsi que les espèces nécrotrophes végétales telles que les *Alternaria* (Ascomycètes) sont à l'origine d'infections chez l'Homme [2,8].

## **b. Mise en culture**

Afin de détecter la présence de champignons, une mise en culture est nécessaire. Le milieu de culture le plus utilisé pour les espèces fongiques est le milieu Sabouraud Dextrose Agar (SDA), qui se trouve à un pH acide de 5,6 et est composé de dextrose fournissant une source d'énergie et de carbone, de peptone, une enzyme digestive fournissant du nitrogène et des vitamines, et d'agar permettant la rigidification du milieu [10]. Des molécules antibiotiques, telles que le chloramphénicol et la gentamicine agissant à pH acide, peuvent être ajoutées au milieu afin d'inhiber la croissance bactérienne et de favoriser la détection fongique [10–14]. Une mise en culture à température variant de 25 à 39°C pendant plusieurs jours est recommandée. La température idéale (25-30°C, 33-37°C, 39°C) et le nombre de jours, allant de 3 à 30 jours, varient selon les champignons recherchés et selon les auteurs [10–13,15,16]. Les cultures servent à la détection macro et microscopique des champignons, ainsi qu'à la réalisation ultérieure d'identification moléculaire comme la spectrométrie de masse. Le matériel obtenu peut également être fixé au formol et inclus en paraffine pour un diagnostic histologique ultérieur [17]. En revanche, la mise en culture peut être faussée par des contaminations extérieures ou par la croissance de certaines espèces inhibant le développement des champignons recherchés [14,18].

## **c. Techniques d'identification fongique**

### **i. Aspect macroscopique et microscopique**

A l'issue de la mise en culture, une colonie identifiable macroscopiquement peut s'être développée. Chaque espèce fongique possède en effet des caractéristiques morphologiques qui lui sont propres, en termes de couleur, de forme, d'aspect et de conditions de croissance (durée, température) [2]. Lors de l'examen histologique, les structures fongiques sont mises en évidence grâce à des colorations particulières, telles que la coloration à l'acide périodique Schiff ou à la méthénamine-argent de Grocott [15,19,20]. Les caractéristiques morphologiques qui sont à prendre en compte et peuvent mener à l'identification fongique sont notamment : la disposition, la forme et la taille des sporocystes, des conidies et des rhizoïdes dans le cas des Zygomycètes (comme *Rhizopus*) [2]. La présence d'inflammation permet de contribuer aux hypothèses, mais peut en revanche être absente chez les patients immunodéprimés [15,21,22].

## ii. Identification moléculaire

Les outils de biologie moléculaire permettent la détection d'une grande diversité d'agents fongiques et se révèlent particulièrement utiles pour l'identification de champignons dépourvus de caractéristiques morphologiques distinctives, tout en étant utilisables précocement et de façon reproductible. Ces méthodes sont principalement utilisées pour compléter les méthodes conventionnelles et de nombreuses recherches sont en cours afin de les comparer et de les démocratiser [1,2,18,23].

Les techniques basées sur la PCR (Polymerase Chain Reaction) peuvent être utilisées pour identifier les agents fongiques fixés au formol et inclus en paraffine [1,17]. Les cibles amplifiées sont en effet spécifiques à l'espèce et permettent un diagnostic précis. Pour l'identification des Mucorales par exemple, les gènes codant pour les protéines CotH, qui sont retrouvées universellement dans l'enveloppe des spores chez ces champignons, sont utilisés comme cible et permettent une détection des Mucorales comme *Rhizopus* dans le sérum, le liquide broncho-alvéolaire ou l'urine, pour une approche moins invasive [1,18].

La PCR est une technique plus sensible que la culture car elle permet la détection d'ADN fongique même si la culture revient négative. La PCR quantitative en temps réel ciblant deux ARNr a ainsi été utilisée pour comparer l'identification des agents Mucorales et *Aspergillus* et a montré une sensibilité allant de 65 à 75% et une spécificité allant de 82 à 97% [13,17,23], se révélant donc utile au diagnostic de ces deux affections. En revanche, tout comme les études microscopiques, cette méthode ne permet pas de faire la différence entre les cellules fongiques vivantes et mortes, ce qui peut mener à de faux positifs [13].

## iii. Spectrométrie de masse (MALDI-ToF)

La spectrométrie de masse par désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI-ToF) est de plus en plus utilisée pour la détection et l'identification des espèces fongiques. Cette méthode, qui sera explicitée dans la partie Matériels et Méthodes, se base sur les modifications du spectre protéique qui est caractéristique de chaque espèce. En revanche, cette technique est limitée par la bibliothèque disponible qui ne recense pas toutes les espèces et rend difficile l'identification des espèces nouvelles ou non répertoriées dans la base. De plus, le signal protéique des champignons filamenteux est très influencé par son phénotype divers et varie selon l'âge et les stades de développement. Les bases de données peuvent donc fausser l'identification fongique en n'incluant pas toutes les empreintes de spectrométrie de masse d'un même champignon [2,3,13].

## **B. RHIZOPUS ARRHZUS**

### **a. Eléments de classification**

*Rhizopus arrhizus* est un champignon appartenant à l'ancienne classe polyphylétique des Zygomycètes [zygos = joug en grec, faisant référence au zygospore résultant de la fusion de deux gamétanges]. Trois ordres sont prédominants et semblent liés aux infections zygomycotiques, appelées zygomycoses, chez l'homme et l'animal : les Entomophthorales, les Mucorales et les Mortierellales.

L'ordre des Mucorales est l'ordre le plus important des Zygomycètes. En effet, 27 espèces des 11 genres *Actinomucor*, *Apophysomyces*, *Cokeromyces*, *Cunninghamella*, *Lichtheimia*, *Mucor*, *Mycotypha*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Saksenaea* et *Syncephalastrum* provoquent des infections chez l'homme, appelées mucormycoses. Ces espèces pathogènes, écrites en rouge sur l'arbre phylogénétique ci-dessous ([Figure 1](#)), représentent 7 des 14 branches familiales de l'ordre des Mucorales [1,24].

*Rhizopus arrhizus* (anciennement appelé *R. oryzae*) est la principale espèce responsable de mucormycoses chez l'Homme. Il s'agit de la Mucorale la plus répandue mondialement, suivie des espèces de *Lichtheimia*, *Apophysomyces*, *Rhizomucor*, *Mucor* et *Cunninghamella* [25].

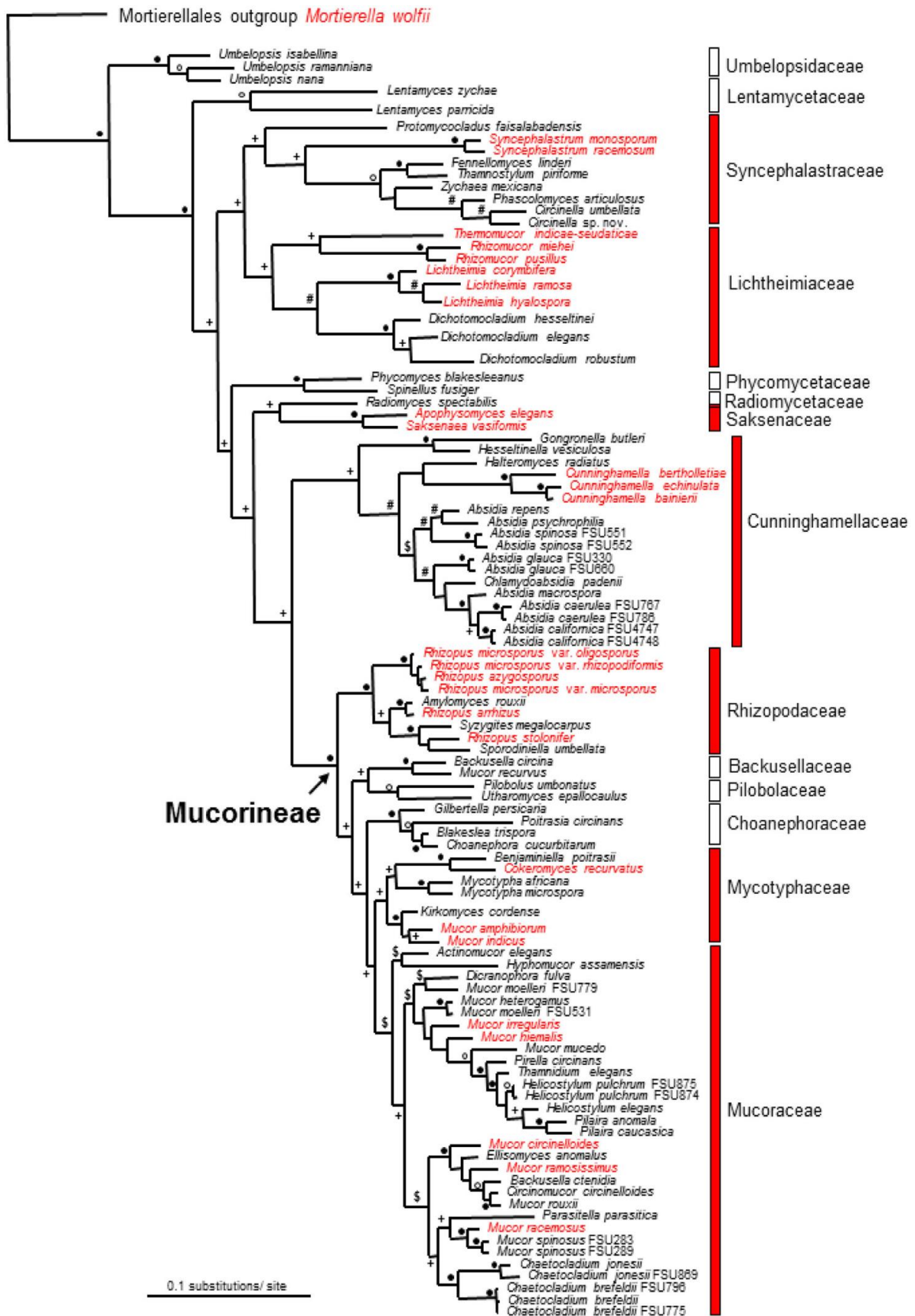


Figure 1 : Arbre phylogénétique de l'ordre des Mucorales [1]  
En rouge, se trouvent les espèces pathogènes à l'origine de mucormycoses

## b. Morphologie

Les Mucorales sont des champignons présentant un thalle bien développé formé de filaments rampants, les stolons, sur lesquels se développent des filaments dressés, les sporocystophores. Les stolons peuvent, ou non, être pourvus de rhizoïdes [24].

Morphologiquement (Figure 2), les Mucorales se présentent sous la forme d'hyphes en forme de rubans larges, non septés ou peu cloisonnés, de diamètre irrégulier (6 à 20  $\mu\text{m}$ ). Leurs colonies ont une pigmentation grisâtre à noirâtre selon l'ampleur de la sporulation. En coupe transversale, les filaments ont un aspect kystique [2,24,25]. À l'exception des genres *Cokeromyces*, *Cunninghamella*, *Mycotypha* et *Syncephalastrum*, tous les genres de l'ordre des Mucorales forment des sporocystes multi-spores. Les formes et la taille des spores et des sporocystes ainsi que la morphologie de la colonie sont typiques de chaque espèce et sont donc utilisées pour la nomenclature et la reconnaissance inter-espèce [1].

*Rhizopus arrhizus* présente des filaments rampants à rhizoïdes et unis par des stolons, sur lesquels des sporocystophores mesurant jusqu'à 1500  $\mu\text{m}$  de longueur, non cloisonnés et peu ramifiés, naissent isolément ou en groupes à partir d'un "nœud". Ses sporocystes sont globuleux et à columelle sphérique volumineuse. Après déhiscence du sporocyste, une collerette basale persiste. Les spores sont globuleuses à ellipsoïdes, unicellulaires, brunes et mesurant jusqu'à 8  $\mu\text{m}$  de longueur. Ses colonies se développent rapidement et couvrent les milieux de culture avec un matériel dense blanchâtre évoluant vers le gris au cours de la sporulation [2,24].



Figure 2 : (a) Culture sur Sabouraud de *Rhizopus arrhizus*  
(b) Columelles de *R. arrhizus*  
(c) Sporocystes de *R. arrhizus*, avec les sporocystophores et rhizoïdes [2]

## c. Biologie

Les Mucorales sont des moisissures blanches, très répandues et formant un groupe hétérogène de saprobiontes ubiquitaires, généralement présents dans le sol, le compost, les excréments d'animaux, les légumes en décomposition, les débris agricoles ou toute autre matière organique. On les trouve également en association avec les plantes, les champignons, les animaux, et les humains en tant qu'agents pathogènes opportunistes. Beaucoup sont des composants cosmopolites de la biosphère, omniprésents dans toutes les zones climatiques de la Terre [1,12,24]. En effet, des espèces de Mucorales ont été retrouvées dans des environnements tout aussi variés que extrêmes : au niveau de sols de l'Antarctique, de sols géothermiques, mais également au Brésil ou en Inde [11]. 89,1% des 2188 échantillons de sol indiens étaient positifs aux Mucorales, avec *R. arrhizus* et *Lichtheimia* spp étant les espèces les plus répandues. Des résultats similaires ont été obtenus en France [11] où des Mucorales ont été retrouvées dans 22% de 170 échantillons de différents types de sol. Les deux espèces principales étaient *R. arrhizus* et *M. circinelloides*, suivies de *R. microsporus*, *L. corymbifera* et *C. bertholletiae*. Ces Mucorales ont été le plus fréquemment isolées dans les sols de plates-bandes (38%), puis de champs cultivés (31%), de champs non cultivés (19%) et de forêts (10%). Le type de sol et sa composition sont donc des paramètres jouant certainement sur le développement de Mucorales mais aucune étude en faveur n'a été réalisée à notre connaissance.

Le sol n'est en revanche pas la seule source de Mucorales et leur répartition dans ces autres sources peut différer.

D'autre part, il est inconnu si un lien existe entre la répartition de ces espèces pathogènes dans l'environnement et la répartition des cas de mucormycose en médecine humaine.

## d. Pouvoir pathogène des Mucorales

### i. Physiopathologie

#### 1. Réponse immunitaire

Les spores sont le meilleur moyen de propagation des Mucorales et la voie de contamination majeure des mucormycoses se fait par inhalation des spores dispersées dans l'air [1,20,25].

Après l'entrée des spores au sein de l'organisme, la réponse immunitaire, et notamment l'immunité innée, intervient rapidement par inhibition de la germination des spores et inhibition de la croissance des hyphes [20]. En effet, lors d'inhalation, les macrophages alvéolaires bronchiques constituent les premières défenses de l'organisme [1] et leur activation permet la production de cytokines pro-inflammatoires et la restriction de fer dans un but antimicrobien [16]. Lors d'atteinte cutanée, une infiltration leucocytaire est mise en place en moins de 20



minutes, et 24h après inoculation intradermique la population de macrophages est fortement augmentée au point d'inoculation [20]. Les cellules Natural Killer (NK) interviennent également dans la protection du système immunitaire par reconnaissance puis lésion des hyphes de *R. arrhizus* [26]. En revanche, aucune reconnaissance des conidies (spores dormantes) par les cellules NK n'a été décrite [1,26].

## 2. Mécanismes d'échappement

Des mécanismes d'échappement du système immunitaire ont néanmoins été identifiés chez *Rhizopus* spp. Il s'agit notamment de l'induction d'une immunodépression, de leur survie au sein des phagocytes, des propriétés de leur paroi et de la protéine CotH, la régulation positive du récepteur cellulaire GRP78 (*Glucose Regulated Protein* de 78-kDa), ou encore la séquestration de fer pour leur développement [16].

Une immunodépression est remarquée lors d'infection par *Rhizopus*. En effet, consécutivement à la reconnaissance par les cellules NK des hyphes de *R. arrhizus*, ces derniers exercent des effets immunosuppresseurs par diminution de la sécrétion de l'interféron gamma, à l'origine d'une diminution de l'activité macrophagique et leucocytaire et d'une baisse d'activité des NK [1,26].

Une persistance de *Rhizopus* dans les macrophages a été observée chez des souris. En effet, après infection de souris par différents agents fongiques à atteinte respiratoire, un afflux important de cellules phagocytaires est observé avec phagocytose des champignons par des neutrophiles, des monocytes et majoritairement des macrophages alvéolaires dans le cas d'une infection à *R. arrhizus*. Or, 10 jours post-infection, contrairement à *Aspergillus fumigatus*, les conidies de *R. arrhizus* sont toujours retrouvées et sont toujours viables au sein des macrophages alvéolaires pulmonaires [27]. Ces conidies stoppent en effet la maturation du phagosome, qui est l'organite formé après la phagocytose, ce qui permet la survie intraphagocyte de *R. arrhizus*.

Le fer est un élément important dans la pathogénèse des Mucorales et explique notamment la prédisposition de certains individus aux mucormycoses. Il s'agit d'un élément nécessaire à la croissance cellulaire de l'organisme et il se trouve principalement sous une forme liée à des protéines de transport (transferrine, ferritine et lactoferrine) [16]. *Rhizopus arrhizus* nécessite également le fer pour son développement et l'obtient grâce à des sidérophores (chélateur du fer) et à des perméases à haute affinité qui assurent l'absorption et le transport du fer [11,16,20]. Cette assimilation est activée lorsque la concentration en fer libre est faible, ce qui permet à *R. arrhizus* d'optimiser l'absorption de fer même à de faibles concentrations. C'est un facteur de virulence crucial car le retrait de ce système réduit la virulence, entraîne des défauts de

croissance et provoque une apoptose chez le champignon [11,16,27]. De même, lors d'hémodialyse, les patients diabétiques reçoivent un traitement à base d'un chélateur de fer, la déféroxamine, qui est également utilisé comme sidérophore par *R. arrhizus*. De récentes études révèlent que ces patients sont nettement plus susceptibles de développer une mucormycose, ce qui témoigne de l'importance du fer dans la croissance de *R. arrhizus* [16,28].

D'autre part, dans des conditions de pH faible, comme lors de diabète acidocétosique, le fer ferrique Fe<sup>3+</sup> se retrouve libéré dans le sérum [20,28]. Or *R. arrhizus* possède une enzyme réductase de corps cétonique qui permet son développement malgré l'état acide [16] et il est donc capable d'utiliser le fer libéré pour sa propre croissance malgré l'acidité du milieu.

La protéine CotH est une protéine kinase de l'enveloppe des spores exprimée pendant la sporulation, qui perturbe et endommage les cellules immunitaires. Cette protéine est également le ligand spécifique des Mucorales pour le récepteur GRP78 [1,16], qui est connu pour être en lien avec la prolifération de cancers, maladies inflammatoires, invasions virales ou fongiques [1]. Le récepteur GRP78 participe à l'invasion des Mucorales dans les cellules endothéliales.

Avec les fortes concentrations de fer et de glucose chez les hôtes atteints de diabète acidocétosique, l'expression de GRP78 à la surface des cellules endothéliales se trouve augmentée, en particulier dans le cerveau, les poumons et les sinus [1,16,29]. La protéine de l'enveloppe des spores CotH voit également sa capacité d'invasion des cellules endothéliales augmentée [16]. Par conséquent, l'hyperglycémie associée à la libération de fer dans un contexte de microenvironnement acide favorisent les interactions entre le récepteur GRP78 et son ligand CotH, à l'origine de l'invasion et de l'endocytose de *R. arrhizus*. Avec cet état diabétique, une dissémination fongique et des dégâts causés aux cellules sont donc favorisés [1,16,29].

## **ii. Résistance et traitements**

Le traitement de la mucormycose constitue un véritable défi puisque les agents étiologiques sont résistants à la majorité des traitements antifongiques disponibles et que de multiples sites d'infection sont possibles chez l'hôte. De plus, alors que les Mucorales ont longtemps été considérées comme un groupe homogène concernant leur sensibilité antifongique, on sait dorénavant qu'il existe entre chaque taxon un profil spécifique de réponse aux antifongiques, concordant avec la divergence phylogénétique existant entre les Mucorales. La rapidité de diagnostic, et notamment avant l'évolution de la maladie en forme disséminée, la recherche de prédispositions sous-jacentes, la correction des facteurs de risque tels qu'une hyperglycémie ou une acidocétose et le choix d'une thérapie antifongique adaptée sont les quatre facteurs critiques pour espérer une bonne guérison de la maladie [1,20,28,30].

Les recommandations thérapeutiques sont la réalisation d'un débridement chirurgical, permettant l'élimination de tissus ou organes infectés, associée à un traitement antifongique (amphotéricine B, isavuconazole et posaconazole) et à la correction des conditions prédisposantes [1,16,30,31].

### **iii. Mucormycose chez l'Homme**

#### **1. Prévalence et incidence mondiales**

Il existe une différence dans la prévalence des facteurs de risque, maladie sous-jacente et les agents de la mucormycose entre les pays asiatiques et les pays occidentalisés. Le diabète est par exemple le facteur de risque le plus important en Asie : en Inde entre 2000 et 2004 par exemple, le diabète incontrôlé est la comorbidité la plus fréquente dans 74% des cas, tandis qu'en Europe centrale le diabète était impliqué dans 17% des cas et dans 32% des cas dans une étude réalisée en France entre 2005 et 2007. En Europe et aux Etats-Unis, les greffes et hémopathies sont les facteurs de risque les plus fréquents. [20,25,32,33].

L'incidence de mucormycose est en augmentation mondialement avec une hausse très marquée chez les patients souffrant de diabète mellitus non maîtrisé en Inde et en Chine. De même en France, entre 1997 et 2006, 531 cas de mucormycose ont été déclarés dans la base de données française hospitalière avec une incidence de la mucormycose associée au diabète qui a augmenté de 9% par an [1,25].

Or, la hausse de la prévalence du diabète est estimée de 366 millions à 2011 à 522 millions en 2030 mondialement. La Chine atteindrait le podium avec une augmentation estimée de 90 millions en 2011 à 129,7 millions en 2030, suivie par l'Inde (61,3 millions à 101,2 millions sur ces mêmes dates) et par les Etats-Unis (23,7 millions à 29,6 millions). Une augmentation similaire a été envisagée au Brésil, Japon, Mexique, Egypte et Indonésie. Avec une telle augmentation de la prévalence du diabète au sein de la population mondiale, une augmentation du nombre de cas de mucormycose est également prédite [25].

Aux États-Unis, le taux de la maladie est passé de 0,12 à 0,16 pour 10 000 patients entre janvier 2005 et juin 2014. En Inde, l'incidence de la mucormycose est 70 fois supérieure au taux total de mucormycose dans le monde, avec environ 0,14 cas pour 1 000 habitants de janvier 2010 à décembre 2014 [1].

Or, le manque de surveillance de la maladie dans le monde entrave l'estimation du nombre de cas de mucormycose et nécessite l'établissement d'un lien étroit entre les agences de santé publique de surveillance et les médecins diagnostiquant les mucormycoses.

## 2. Comorbidités et facteurs prédisposants

Les mucormycoses sont les troisièmes infections fongiques les plus répandues, après les candidoses et les aspergilloses. Cette infection menace principalement les patients immunodéprimés.

Certaines comorbidités sont classiquement présentes lors de mucormycose. La méta-analyse portant sur les 851 cas de mucormycoses décrits entre 2000 à 2017 a ainsi révélé que le diabète correspond à la première comorbidité avec 40% d'individus diabétiques dont 20% en état d'acidocétose. Les hémopathies malignes représentent la deuxième comorbidité la plus fréquente avec 32% des cas, suivie des transplantations de moelle osseuse ou d'organes (notamment les reins) dans 14% des cas.

Des facteurs prédisposants correspondant à une immunodépression sont également identifiés : usage de corticostéroïdes dans 33% des cas, neutropénie dans 20% des cas et chimiothérapie dans 18% des cas. Tout traumatisme peut aussi être considéré comme facteur prédisposant avec 20% des patients ayant subi récemment un accident, une chirurgie ou des injections répétées [32,33].

Le lien entre mucormycose et diabète sucré a été étudié dans la méta-analyse de Roden [20,32]. Le diabète de type 2 est ainsi le diabète le plus fréquemment associé à la mucormycose, et le diagnostic de mucormycose a même révélé un diabète de type 2 jusque-là non diagnostiqué dans 43% des cas d'acidocétose. Un risque huit fois plus élevé de mucormycose a aussi été identifié lors de transplantation d'organes ou d'hémopathie maligne chez des patients atteints de diabète.

## 3. Taux de mortalité

Les taux de mortalité varient grandement selon la littérature, dû notamment au manque de surveillance et de suivi des cas de mucormycose. Ce taux de mortalité et de morbidité varie néanmoins en fonction de l'organe affecté par l'infection, de l'espèce fongique en cause et de l'état médical du patient.

Les patients souffrant d'infections des sinus présentent 46% de mortalité, tandis que ce taux s'élève respectivement à 76% et 96% lors de mucormycose pulmonaire et disséminée. Pour les patients subissant une greffe de cellules souches et d'organes, les chances de survie sont meilleures, avec des taux de mortalité de respectivement 8% et 2% [1]. Selon une autre source, le taux de survie est identique (entre 45 et 60 %) entre les patients diabétiques atteints de mucormycose pulmonaire, ceux ayant eu une greffe d'organe, et ceux sans maladie sous-jacente, tandis qu'il est plus faible (25%) chez les patients ayant une hémopathie maligne [20].

#### 4. Espèces identifiées

Plusieurs espèces de champignons sont responsables de mucormycoses. Deux méta-analyses ont étudié les cas décrits de mucormycoses, respectivement de 1940 à 2003 [32] et de 2000 à 2017 [33], répertoriant ainsi chacune 929 et 851 cas et aboutissant aux mêmes résultats quant aux espèces identifiées lors de mucormycose. Ainsi, 24 espèces différentes de Mucorales ont été identifiées dans la moitié des cultures [33] avec le genre *Rhizopus* retrouvé le plus fréquemment dans 48% des cas. Plus particulièrement, parmi le genre *Rhizopus*, *R. arrhizus* était identifié dans 33% des cas, suivi de *Rhizopus microsporus* dans 15% et d'espèces non spécifiées dans 49%. Ont également été retrouvés les genres *Mucor* dans 14%, *Lichtheimia* dans 13%, *Apophysomyces* dans 8% et *Cunninghamella* dans 7% des cas [33].

Les infections rhino-orbito-cérébrales sont le plus fréquemment causées par *Rhizopus*, avec des fréquences allant de 30% [1] à 35% [33]. Cette atteinte sinusale est par ailleurs le site préférentiel chez les patients diabétiques [20].

*Rhizopus* est également le genre pathogène le plus impliqué lors de mucormycose cutanée et nosocomiale dans respectivement 82% et 43% des cas [34].

#### 5. Signes cliniques

Les mucormycoses peuvent provoquer une grande diversité de signes cliniques chez l'Homme, selon leurs voies d'entrée et de diffusion. Les atteintes les plus couramment retrouvées sont, dans l'ordre décroissant, les atteintes rhino-orbito-cérébrales, pulmonaires, cutanées, gastro-intestinales, disséminées et rénales dans de rares cas.

Lors de mucormycose rhino-orbito-cérébrale, l'infection concerne le rhinopharynx, les yeux et le cerveau.

- "Rhino" : les signes cliniques correspondent à une atteinte des voies sinusales et nasales caractérisée par une obstruction et une congestion nasale, une respiration bruyante, une sinusite associée à de la fièvre légère, des maux de tête, une hyposmie voire une anosmie [20]. Des symptômes buccaux peuvent également être retrouvés avec une odontalgie, des lésions noires à l'intérieur de la bouche, des escarres du palais et des douleurs maxillaires. Un gonflement unilatéral du visage peut aussi être présent [1,20].

- "Orbito" : les manifestations ophtalmiques se caractérisent généralement par une cellulite périorbitaire, une exophtalmie, une nécrose de la paupière et une ptose palpébrale. Certains patients présentent également une perte de vision, unilatérale ou bilatérale [20,35].

- "Cérébrale" : l'invasion du système nerveux central peut se manifester par des convulsions, un coma, une paralysie des nerfs crâniens ou même de l'hémiplégie. Certaines

présentations cliniques atypiques avec une paralysie du nerf facial causée par l'extension de l'infection dans la fosse infratemporale ont également été rapportées [20].

Un examen minutieux des voies nasales, des cornets nasaux et du palais doit être réalisé en cas de toute escarre nécrotique pouvant témoigner d'une mucormycose. Ces escarres noires sont des indicateurs de maladie rapidement invasive [20].

Lors d'atteinte pulmonaire, les signes cliniques ne sont pas spécifiques. La présentation clinique peut être aiguë, en moins de 30 jours, ou subaiguë [20]. De fortes douleurs thoraciques sont ressenties, associées à de la dyspnée, de la toux, de la fièvre et de l'hémoptysie [1,20]. Les Mucorales peuvent envahir les vaisseaux pulmonaires et provoquer des lésions vasculaires distantes, notamment des thrombi [20].

Lors d'atteinte cutanée, des infections locales caractérisées par la présence d'ulcères, d'érythèmes et de gonflements sont observées [1,20]. Une extension dans les tissus voisins est possible, sous forme de lésions érythémateuses, nécrotiques ou ulcéreuses qui peuvent évoluer en cellulite nécrosante, voire en ostéomyélite [20].

Les lésions cutanées peuvent se développer en faveur de plaies préexistantes, telles que des abrasions, des coupures, des brûlures ou des morsures. Un cas de mucormycose cutanée a ainsi été décrit [36], après une morsure de chien chez une femme de 50 ans, qui présentait par ailleurs du diabète sucré insulino-dépendant et de l'hypertension. La plaie de morsure présente sur le dos de la main a évolué vers un nodule drainant puis en escarre, associé au développement de moisissures et de bactéries.

D'autre part, les mucormycoses cutanées peuvent survenir à la suite d'interventions chirurgicales. Ainsi, dans une étude de 2012 recensant les cas de mucormycoses nosocomiales entre 1970 et 2008 [34], sur les 169 cas étudiés, 57% présentaient une rupture de la barrière cutanée. Dans 56% de ces cas, la mucormycose s'est développée après une opération chirurgicale et 81% des patients immunocompétents ayant développé une mucormycose nosocomiale avaient subi une intervention chirurgicale.

Des cas de mucormycose cutanée ont également été recensés après des actes de soin avec l'utilisation de matériel infecté [34] comme des bandages adhésifs, des sacs de stomies, des abaisse-langues en bois, des cathéters intraveineux, intra-artériels ou vésicaux. Des cas anecdotiques ont eu lieu après des injections intramusculaires de corticostéroïdes, de vitamines ou d'anticoagulants. L'utilisation d'appareils infectés tels que des glucomètres utilisés lors de diabète, des électrodes d'ECG, des patchs cutanés pour des tests d'hypersensibilité, des poches à urine adhésive, ou encore des sondes de température a aussi été incriminée. Ainsi, la présence de mucormycose cutanée chez ces patients devrait inciter à des investigations plus approfondies, en particulier lorsque le site d'infection est localisé sous des dispositifs adhésifs ou en contact avec des cathéters ou des drains.

Les mucormycoses gastro-intestinales sont peu fréquentes chez les adultes et sont plus souvent retrouvées chez les nouveaux nés prématurés [34].

Seules 10% des mucormycoses nosocomiales recensées intéressaient ainsi le système digestif, avec une plus forte atteinte des nouveau-nés prématurés, avec 24% des cas contre 4% pour un nourrisson né à terme. 29% des cas de mucormycose gastro-intestinale nosocomiale touchaient un adulte non immunodéprimé admis en unité de soins intensifs [34]. D'autre part, même si la nourriture consommée par les patients fortement immunodéprimés est contrôlée, des sporangiospores de Mucorales ont été retrouvées dans des aliments destinés aux patients d'unités d'hématologie. Ainsi, toute mucormycose gastro-intestinale primaire confirmée doit donner lieu à des investigations microbiologiques des médicaments ou nourritures administrés au patient.

Les signes cliniques présents sont peu spécifiques comme des nausées, des vomissements, des saignements gastro-intestinaux ou de fortes douleurs abdominales [1,20].

Les mucormycoses disséminées surviennent chez des patients souffrant de multiples complications médicales. Il est donc compliqué voire impossible de distinguer l'expression clinique de la mucormycose des autres maladies infectieuses [1,20].

Quelques rares cas de mucormycose rénale ont été décrits, avec une présentation sous forme d'infection rénale [1,20], ou à la suite d'une greffe de rein et d'un rejet aigu du greffon [34].

#### **iv. Mucormycose chez les animaux**

Les mucormycoses sont des infections rares chez les animaux. Quelques rares cas sporadiques sont décrits dans la littérature, notamment chez le chien [22,37]. Le cas d'une vache a également été décrit en 1986 [38]. Différentes voies de diffusion y sont décrites et illustrent la diversité d'expression des mucormycoses.

##### **1. Signes cliniques**

Sur les quatre cas, les signes d'appel étaient ainsi très distincts : l'un des chiens, un berger allemand de 2 ans, est en effet présenté pour épistaxis unilatérale, jetage muco-purulent évoluant depuis 10 jours et douleur à la palpation de la région nasale [37]. Les deux autres chiens, des caniches de 10 ans et 1 an [22], sont présentés respectivement pour anorexie, apathie, ataxie évoluant vers un décubitus latéral et pour anorexie, apathie, diarrhée, dyspnée mixte, crépitations à l'auscultation pulmonaire et douleurs abdominales. La vache, Prim'Holstein de 10 ans [38], est présentée pour anorexie et œdème sous-mandibulaire.

## 2. Diagnostic clinique et nécropsique

Les diagnostics de mucormycose à *R. arrhizus* ont pu être établis grâce à des examens complémentaires dans le premier cas [37] et post-mortem à l'autopsie dans les trois autres cas [22,38].

En effet, chez le berger allemand présenté pour épistaxis [37], des examens d'imagerie (radiographie, rhinoscopie) ont tout d'abord été réalisés révélant une destruction des cornets nasaux, ce qui a motivé la réalisation d'un rinçage nasal pour observation directe sous microscope et mise en culture. Un diagnostic définitif a été établi avec la visualisation d'hyphes de *R. arrhizus*.

Après autopsie des deux caniches et analyse des échantillons [22], des plages multifocales nécrotiques sont retrouvées, associées à de l'infiltration inflammatoire pyogranulomateuse ou neutrophilique localisées à différents organes. Des hyphes larges, typiques de plusieurs espèces fongiques sont observés au microscope, associés à des vascularites et des thrombi. Pour obtenir un diagnostic définitif quant à l'espèce fongique en cause, de l'immunohistochimie en utilisant un anticorps monoclonal spécifique de *R. arrhizus* a été utilisée et a montré un marquage important des hyphes pour ce champignon.

Quant à la vache, [38], sont retrouvés à l'autopsie une infiltration neutrophilique associée à la présence d'hyphes dans les thrombi et les parois vasculaires. Aucune analyse mycologique n'a été entreprise, mais la morphologie des champignons, avec des hyphes non septés, de 4 à 12 µm de diamètre, à ramifications irrégulières, a conduit au diagnostic de mucormycose.

## 3. Modes de contamination

Plusieurs voies d'entrée et de dissémination de *R. arrhizus* sont possibles. Chez le berger allemand [37], les lésions localisées aux cavités nasales suggèrent que la porte d'entrée était la voie respiratoire. Il s'agirait de la même voie d'entrée, chez le caniche présentant des lésions pulmonaires [22], avec néanmoins une inhalation profonde des spores et dissémination hématogène secondaire vers le cœur et le cerveau, à l'origine d'une atteinte multi-organique. La propagation à plusieurs organes, comme observée dans ce cas, survient généralement chez les animaux présentant une atteinte pulmonaire primaire. L'invasion du cerveau par les champignons Mucorales se produit principalement via les voies hématogènes ou nasales ; les infections primaires touchant rarement le cerveau. Enfin, dans le cas du caniche présentant des troubles digestifs [22], il est probable que la porte d'entrée soit orale via une ingestion de l'agent puis absorption gastrique, causant les lésions transmurales de la paroi de l'estomac retrouvées à l'autopsie.



#### 4. Comorbidités et facteurs prédisposants

Tout comme chez les humains, les mucormycoses sont des infections opportunistes se développant notamment en faveur d'immunodépression, dans un contexte de traumatisme, de grande brûlure ou de diabète sucré. Le berger allemand [37] ne présentait aucunes anomalies aux examens sanguins (biochimiques, numération formule sanguine) et urinaires pouvant expliquer un diabète sucré ou une immunodépression. En revanche, l'épisode de traumatisme crânien associé à de l'épistaxis 2 mois auparavant pourrait apparaître comme un facteur favorisant au développement d'une mucormycose nasale à *R. arrhizus*. D'autre part, il est rapporté que les chiens de race berger allemand présentent une diminution de certains facteurs génétiques tels que les IgA sériques, ce qui s'avérerait être dans ce cas, un autre facteur prédisposant au développement d'infections fongiques nasales [37].

De même, à l'autopsie du caniche atteint d'une forme respiratoire de mucormycose [22], des plages multifocales de démyélinisation et d'inclusions éosinophiliques intranucléaires aux cellules épandymaires ont été retrouvées au sein du cortex temporal. Il s'agit de lésions compatibles à une infection par le virus de la maladie de Carré. Or, ce virus compromet les réponses immunitaires humorales et cellulaires par une destruction des lymphocytes ce qui cause une leucopénie et favorise alors une infection opportuniste par *R. arrhizus*.

Le dernier individu, atteint d'une forme digestive de mucormycose [22], était sous traitement anti-inflammatoire stéroïdien (dexaméthasone 0,4 mg/kg pendant 6 jours) et antibiotique (doxycycline 8 mg/kg pendant 8 jours). L'utilisation de glucocorticoïdes, qui suppriment l'activité des lymphocytes T helper 1 et 2, et l'utilisation d'antibiotiques, qui induisent une modification de la flore gastrique, aboutissent de même à une immunodépression rendant l'hôte sensible aux infections opportunistes telles que les mucormycoses.

La vache présentait quant à elle une péricardite traumatique chronique [38], au vu des lésions retrouvées à l'autopsie, qui pourrait être un facteur prédisposant au développement de mucormycose.

Les mucormycoses à *R. arrhizus* sont donc des pathologies rares et mortelles chez le chien, avec des manifestations cliniques variées, aiguës et progressives. Ces infections peuvent se caractériser notamment par une atteinte nasale, ou gastro-hépatique et sont parfois associées à une immunodépression. Les mucormycoses devraient donc être incluses dans le diagnostic différentiel des maladies se manifestant par des signes neurologiques, pulmonaires, digestifs et par du jetage chronique.

## e. Mise en évidence des Mucorales

### i. Mise en évidence dans l'environnement

Une origine environnementale n'est pas exclue dans certaines mucormycoses, notamment lors d'atteinte cutanée. De graves infections se sont en effet développées chez l'Homme consécutivement à des catastrophes naturelles telles qu'une tornade, un tsunami ou encore une éruption volcanique [11,33] Or, la technique optimale pour mettre en évidence les Mucorales dans l'environnement et notamment dans le sol est inconnue car peu d'études se sont intéressées à la prévalence de ces champignons dans l'environnement.

En 1992, il était conseillé d'ajouter des antibiotiques au milieu de culture afin d'inhiber le développement bactérien et de favoriser le développement mucorale. L'incubation se faisait entre 37 et 45°C pendant 1 à 4 jours sur le milieu Sabouraud [12].

Plus récemment, une étude française [11] s'est penchée sur la présence des Mucorales dans les sols français et a comparé l'utilisation de différents milieux, supplémentés ou non, pour la mise en évidence de Mucorales :

Pour cela, un milieu supplémenté en voriconazole a été utilisé avec succès, car la plupart des Mucorales y sont résistants avec des CMI > 2 µg/ml. L'utilisation de cet antifongique à large spectre a ainsi permis d'inhiber une croissance fongique et cela a permis d'améliorer le taux d'obtention de Mucorales en comparaison aux autres milieux non supplémentés de l'étude, tels que Sabouraud dextrose agar.

A partir de ces cultures, une identification phénotypique microscopique a été réalisée, suivie d'une identification moléculaire. Pour cette dernière, l'espaceur transcrit interne de l'ADN ribosomal a été amplifié et séquencé. Ces séquences ont été soumises à des recherches BLAST à l'aide du site GenBank afin d'identifier l'espèce pathogène correspondante. Cette technique s'avère donc efficace pour récupérer et identifier les espèces de Mucorales du sol.

D'autres études avaient également obtenu de bons résultats lors de l'utilisation de milieux supplémentés avec du bénomyl et du kétoconazole, qui inhibent respectivement la prolifération d'ascomycètes et de basidiomycètes [11]. Ainsi, l'ajout d'antibiotique ou d'antifongique auxquelles sont résistantes les espèces de Mucorales, favorise la culture et la mise en évidence de *R. arrhizus*.

## **ii. Mise en évidence chez les patients**

L'un des diagnostics différentiels les plus courants de la mucormycose est l'aspergillose, car les deux infections fongiques ont de nombreux points communs symptomatiques [20]. Or, dû au manque de sensibilité des zygomycètes à un certain nombre d'antifongiques, le traitement approprié diffère entre l'aspergillose et la mucormycose. Une identification fongique précise et rapide est donc essentielle.

La présence de signes cliniques compatibles avec une mucormycose, ainsi que de facteurs prédisposants de l'hôte (comorbidités comme le diabète par exemple) mènent à une suspicion forte de mucormycose. Des examens complémentaires sont alors nécessaires pour aboutir à un diagnostic de mucormycose. Cela passe par différents examens complémentaires [15,18,20,39] : examens d'imagerie (radiographie, scanner, IRM), mise en culture, microscopie, histologie, spectrométrie de masse, PCR, ou encore l'utilisation d'anticorps monoclonal [40].

## C. PRÉSENTATION D'AUTRES ESPÈCES FONGIQUES D'IMPORTANCE MÉDICALE

Les champignons sont la troisième cause la plus fréquente des maladies respiratoires allergiques de type I (médiée par les anticorps IgE) après les pollens et les acariens ; et 80 genres fongiques en sont à l'origine [41–43].

L'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et l'IUIS (Union Internationale des Sociétés d'Immunologie) ont dressé une nomenclature des allergènes où 120 protéines allergènes fongiques sont retrouvées, provenant de 31 espèces fongiques différentes, dont 12 issues de *Alternaria alternata* et 39 de *Aspergillus fumigatus* [44]. Les Ascomycètes (genres *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* principalement), Basidiomycètes (*Malassezia*) et Zygomycètes (*Rhizopus*) sont ainsi les champignons les plus incriminés dans ces réactions allergiques, qui peuvent se manifester par des rhinite allergique, rhino-sinusite, asthme allergique ou encore dermatite atopique [41,42].

### a. *Alternaria alternata*

*Alternaria alternata* est considérée comme l'une des sources aéroallergènes la plus importante en provoquant une forte sensibilisation, en particulier dans la région méditerranéenne. La sensibilisation à cette espèce est ainsi décrite comme un facteur de risque à la gravité de l'asthme [42].

#### i. Éléments de classification

*Alternaria alternata* appartient au groupe des Ascomycètes, classe des Dothideomycetes, Ordre des Pleosporales et famille des Pleosporaceae, au sein de laquelle sont entre autres retrouvés les genre *Alternaria*, *Macrospora*, *Pleospora*, *Stemphylium*... Le genre *Alternaria* comporte 44 espèces établies, dont *Alternaria alternata* qui est la plus représentée [45].

#### ii. Morphologie

Les colonies se développent très vite et sont de couleurs grises à noires du fait de la mélanine. Leur apparence ([Figure 3](#)) est rendue cotonneuse par la présence de nombreux hyphes septés qui forment des conidiophores parfois ramifiés, courts ou allongés. Les conidies sont multicellulaires, de forme ovoïde à ellipsoïde, plutôt coniques à parois lisses ou verruqueuses et pouvant former des chaînes [2,41].



Figure 3 : A gauche : culture sur Sabouraud de *Alternaria alternata*  
 A droite : chaîne ramifiée avec des conidies multicellulaires [2]

### iii. Ecologie

*Alternaria alternata* est un champignon méso-hygrophile, c'est-à-dire que sa croissance et la production de mycotoxines sont optimales dans des milieux avec une humidité élevée, entre 84 et 89% voire 97%. Il supporte des températures allant de 2 à 32°C, avec un optimum à 20°C, ce qui explique que ce champignon soit retrouvé en intérieur tout comme en extérieur. La sporulation a lieu entre mai et novembre, avec une incidence plus élevée en été et en automne [41,43,46]. Une étude polonaise a démontré que les spores de *Alternaria alternata* sont présentes dans l'air pendant 70% des jours de l'année. Le climat, le paysage, les pratiques agricoles ainsi que l'humidité influencent sa répartition selon les régions, avec une forte présence dans les zones d'agriculture intensive et les zones avec des aérosols (élevages de volailles par exemple) [41,47].

### iv. Pouvoir pathogène

*Alternaria alternata* est un champignon nécrotrophe, c'est-à-dire qu'il se nourrit par lyse des tissus de l'hôte [8]. Cette espèce excrète des allergènes. Ce sont des antigènes IgE de faible poids moléculaire, normalement non pathogènes mais qui sont à l'origine de réaction d'hypersensibilité chez les hôtes sensibilisés. Ces allergènes fongiques disposent d'une fonction d'hydrolyse permettant le passage d'autres allergènes au travers de la couche épithéliale. Chez *Alternaria alternata*, 12 allergènes ont été identifiés et "Alt a 1" est l'allergène majeur en cause, avec 80% de patients allergiques qui y sont sensibilisés [41-44].

## v. Signes cliniques

Chez les personnes sensibilisées, *Alternaria alternata* est principalement à l'origine d'asthme allergique, mais également de pneumonie d'hypersensibilité, d'oculomyose, d'infection cutanée, d'onychomycose... Cela s'exprime pour des concentrations en spores dans l'air ambiant supérieures à 100 spores/m<sup>3</sup>. Les fragments fongiques sont également responsables d'une libération importante d'allergènes et notamment d'Alt a 1. Les symptômes peuvent être confondus avec ceux d'une allergie au pollen ou aux animaux d'autant plus que les conditions saisonnières sont similaires et que les allergènes sont retrouvés à la fois dans des milieux intérieurs et extérieurs [41].

## b. *Aspergillus fumigatus*

### i. Éléments de classification

*Aspergillus fumigatus* appartient au groupe des Ascomycètes, qui rassemble les champignons à mycélium cloisonné avec une reproduction sexuée, à l'ordre des Eurotiales, famille Trichocomaceae et genre *Aspergillus*. Au sein de ce genre, plus de 300 espèces ont été décrites et sont réparties en 6 sections selon des critères morphologiques : Clavati, Circumdati, Flavi, Fumigati, Nigri et Usti. La section Fumigati regroupe 33 espèces dont *Aspergillus fumigatus* qui est l'espèce la plus pathogène chez l'Homme [48].

### ii. Morphologie

Les colonies formées par *Aspergillus fumigatus* sont de couleur bleu à vert avec un dense manteau gazonneux composé de conidies. Les têtes conidiennes mesurent jusqu'à 400 µm de longueur et portent des conidiophores se terminant par une vésicule en forme de massue sur laquelle émergent les conidies (Figure 4). Ces dernières, de forme globuleuse et de couleur verte, mesurent entre 2,5 et 3 µm de diamètre [2,49].

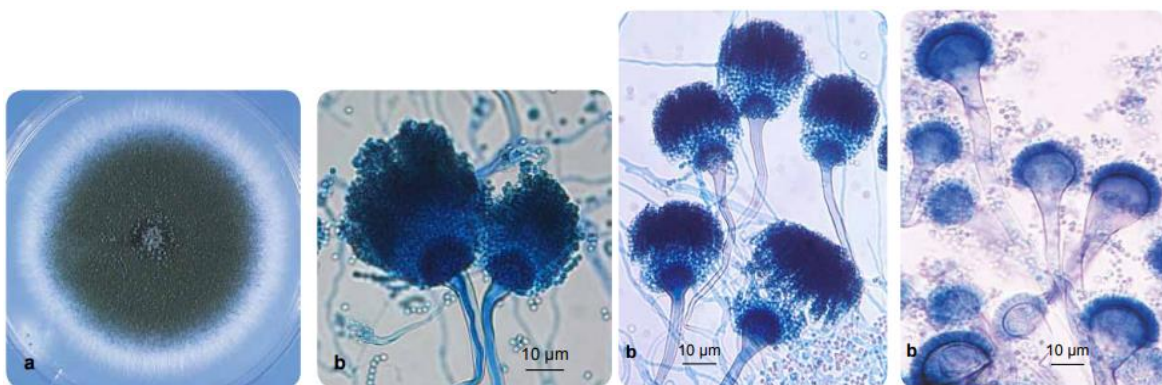


Figure 4 : *Aspergillus fumigatus* : (a) aspect sur culture Sabouraud et (b) morphologie de la tête conidienne [2]

### iii. Ecologie

*Aspergillus fumigatus* est un champignon à vie mycélienne végétative et saprotrophe, c'est-à-dire qu'il obtient la matière organique par libération d'enzymes dans son milieu. On le retrouve dans le sol, sur des matières organiques en décomposition comme le compost, mais aussi dans l'air. Il se développe dans une large gamme de température allant de 25 à plus de 37°C et une large gamme de pH, ce qui explique qu'il soit retrouvé mondialement [49,50].

### iv. Pouvoir pathogène

La dispersion par l'air en milieux intérieurs et extérieurs d'*Aspergillus fumigatus* est supérieure aux autres espèces fongiques grâce à ses conidies hydrophobes et permet l'inhalation d'entre 100 et 1000 conidies chaque jour par les hôtes. Certaines de ces conidies vont atteindre les alvéoles pulmonaires où elles seront éliminées chez les hôtes immunocompétents, grâce aux cils des cellules épithéliales et grâce aux macrophages alvéolaires. En revanche, chez les individus immunodéprimés, avec des lésions pulmonaires ou présentant des facteurs favorisants, une infection invasive peut se développer avec la germination des hyphes, aussi appelés tubes germinatifs, en 4 à 6 heures. *Aspergillus fumigatus* présente l'un des taux de croissance les plus rapides des espèces fongiques. Ses hyphes sont intégrés dans une matrice extracellulaire composée notamment de glycosaminoglycane, de mélanine et de protéines qui vont en effet favoriser l'infection en apportant des composants organiques utiles au métabolisme fongique. Tout comme *R. arrhizus*, *Aspergillus fumigatus* présente un système sidérophore permettant une absorption maximale de fer nécessaire à son développement. De même, ce champignon dispose de plusieurs mécanismes d'évasion du système immunitaire, similaires à ceux de *R. arrhizus*, comme sa présence au sein du phagosome qui sera à l'origine d'une nécrose des macrophages alvéolaires [50].

### v. Signes cliniques

L'inhalation de conidies aéroportées d'*Aspergillus fumigatus*, peut être à l'origine d'infection pulmonaire, notamment chez les hôtes présentant des facteurs favorisants, un terrain allergique ou des maladies pulmonaires préexistantes, mais les conidies peuvent également être détruites par le système immunitaire. L'isolement de ce champignon est donc fréquent lors de cultures de liquides broncho-alvéolaires chez des patients asymptomatiques, sans facteurs prédisposants ni signes d'infection invasive ou d'allergie. *Aspergillus fumigatus* est à l'origine de plusieurs types de maladies, qui varient selon les signes cliniques [49,50].

### 1. Aspergillose Pulmonaire Chronique (CPA)

Chez les patients immunocompétents sont majoritairement retrouvées des formes d'infection pulmonaire chronique et non invasive appelées Aspergillose Pulmonaire Chronique (CPA). Les aspergillomes, correspondant à des boules fongiques composées de mycélium, cellules inflammatoires, fibrine, mucus et épithélium, sont très fortement caractéristiques de ce type d'infection et sont visualisables aux radiographies et scanner thoraciques, sous la forme d'une masse ronde et solide localisée dans les champs pulmonaires supérieurs. Cette atteinte peut évoluer vers une forme fibrosante si aucun traitement n'est mis en place, caractérisée par une destruction fibreuse des lobes pulmonaires et une perte de la fonction pulmonaire [49,51]. Cliniquement, les patients présentent une toux productive, une perte de poids et de la fatigue témoignant de l'inflammation chronique, une dyspnée et de l'hémoptysie. L'infection concomitante à la tuberculose est décrite comme un facteur favorisant au développement de CPA [49].

### 2. Aspergillose Bronchopulmonaire Allergique (ABPA)

Cette forme d'aspergillose se développe chez des individus allergiques, asthmatiques, voire atteints de mucoviscidose, à la suite d'une sensibilisation aux allergènes d'*Aspergillus fumigatus* (33). Cliniquement, cette hypersensibilité se manifeste par de la toux chronique, des crachats contenant du mucus et des bouchons bruns chez 31 à 69% des patients, des douleurs thoraciques ainsi que des épisodes de respiration sifflante, des malaises et de la fièvre. Des infiltrats pulmonaires sont présents, pouvant évoluer vers une bronchectasie et un collapsus pulmonaire [49,52].

Mondialement, plus de 4 millions de personnes seraient atteintes d'ABPA, mais cette affection est fortement sous-diagnostiquée selon ces chercheurs indiens, qui recommandent la recherche d'*Aspergillus fumigatus* chez tous les patients asthmatiques [52]. La mesure du taux sérique en anticorps IgE d'*A. fumigatus* est alors recommandée, tout comme un test cutané aux antigènes d'*A. fumigatus* ou des examens d'imagerie mettant en évidence les remaniements pulmonaires [49].

### 3. Aspergillose Invasive Pulmonaire (IPA)

Une forme pulmonaire et nécrosante d'aspergillose est retrouvée chez les patients immunodéprimés ou très affaiblis (souffrant de diabète sucré, VIH, maladie pulmonaire obstructive, malnutrition, alcoolisme, sous corticothérapie, radiothérapie, receveurs de greffes de cellules souches hématopoïétiques...) et se nomme aspergillose invasive pulmonaire (IPA) [51]. Elle est à l'origine d'un taux de mortalité important par décès infectieux, atteignant 40 à



60% chez les patients souffrant d'hémopathie maligne et plus de 70% chez les receveurs de transplantations pulmonaires [49,50,53]. Plusieurs foyers nosocomiaux d'IPA ont ainsi été signalés au cours des trente dernières années [49]. Cette maladie doit être suspectée lors d'atteinte respiratoire chez des patients sensibles ne présentant pas de réponse aux antibiotiques.

## D. UTILISATION DES ANIMAUX COMME SENTINELLES ET DÉMONSTRATION INDIRECTE DE L'EXPOSITION DE L'HOMME

La surveillance sentinelle est adoptée comme technique de surveillance face à des dangers épidémiologiques. Un tel système de surveillance est en effet connu depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle où les canaris servaient de marqueurs précoce d'intoxication au monoxyde de carbone dans les mines de charbon et agissaient comme sentinelle de la mauvaise qualité de l'air pour garantir la sécurité des mineurs [54]. Cet exemple illustre l'utilité des animaux comme biomoniteur pour évaluer les risques pour la santé humaine face à l'exposition à des dangers environnementaux [55,56].

Nous avons, de la même façon, utilisé les animaux de compagnie comme sentinelles pour surveiller les conditions environnementales et notamment fongiques via l'étude de leurs poils.

### a. Définition

Les sentinelles sont définies comme des sous-unités restreintes d'une population dans une zone géographique connue et dont les paramètres sont mesurés à plusieurs reprises [57]. Par la surveillance de ces animaux sentinelles, une accumulation de données sur l'occurrence des maladies au sein des populations animales est possible et permet une surveillance indirecte et précoce de la santé humaine [55]. En effet, ces systèmes apportent de nombreuses informations extrapolables à la médecine humaine telles que l'identification d'émergence, les évolutions d'incidence d'une maladie temporellement et spatialement ainsi que les facteurs de risque de la population cible. L'efficacité des programmes d'intervention ou de médecine préventive peut également être testée, analysée et interprétée [55].

Ces unités sentinelles peuvent être incidentelles ou intentionnelles, simples ou complexes [55]:

- Les sentinelles sont dites **incidentelles** lorsque leur présence dans la zone spécifique de maladie n'est pas volontaire, tels que les animaux utilisant la même source d'eau contaminée que les propriétaires ou ceux évoluant dans le même environnement contaminé que les propriétaires. Au contraire, elles sont dites **intentionnelles** lorsqu'elles sont introduites volontairement dans la zone étudiée pour évaluer les risques et la prévalence d'une maladie comme lors d'expérimentation avec l'exposition d'animaux immunologiquement naïfs à l'agent pathogène étudié [55].
- D'autre part, les sentinelles peuvent être des entités **simples** lorsque le résultat est obtenu relativement facilement à l'aide d'un rapport d'autopsie ou comme dans le cas du canari révélateur de la qualité de l'air par exemple. Les sentinelles peuvent également être plus **complexes** lorsque plusieurs paramètres rentrent en compte dans l'obtention de résultats,

comme lors de combinaison de différents animaux ou espèces placés à la fois intentionnellement ou incidemment, ou encore lorsque le diagnostic est davantage poussé, via du séquençage ADN ou l'utilisation de données de phylogénétique par exemple. Les évolutions technologiques notamment du GPS et des communications facilitées ont grandement permis le développement des systèmes de sentinelles complexes qui sont aujourd'hui majoritaires et permettent l'étude d'animaux sentinelles à grande échelle [55].

## **b. Critères de choix d'une sentinelle**

Pour assurer une fiabilité du système de surveillance sentinelle, des critères précis sont nécessaires à la fois dans le choix des espèces animales sentinelles, de la zone à surveiller ou encore du choix de diagnostic et d'interprétation des résultats.

Les animaux sentinelles doivent en effet remplir plusieurs caractéristiques particulières [55] :

- Ils doivent être particulièrement sensibles à la maladie d'intérêt, avec une expression clinique permettant une détection précoce.
- Les signes cliniques doivent être détectables, d'expression égale à celles des espèces cibles voire plus marquée, mais pas nécessairement identiques aux signes des espèces cibles.
- La réponse clinique ou immunologique développée doit être mesurable rapidement et facilement [55,58]. La séroconversion est ainsi une donnée très utile pour le suivi de la transmission entre sentinelles.
- Ils doivent idéalement présenter un faible risque zoonotique pour les personnes les manipulant.
- Ils ne doivent pas participer à la dissémination de l'agent pathogène, notamment dans le cas de sentinelles intentionnelles [59].

Le choix d'**emplacement** de la surveillance est primordial pour éviter l'obtention de résultats erronés et pour utiliser les ressources de façon optimale. Par exemple, certaines zones géographiques seront davantage adaptées à l'étude précoce de l'émergence des maladies, tandis que d'autres serviront pour l'étude des transmissions et des tendances de la même maladie. De même, la zone étudiée doit correspondre à la niche écologique du vecteur, sans quoi les résultats négatifs obtenus peuvent faussement indiquer un faible risque de maladie. Un groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses et de santé publique de la Faculté de médecine vétérinaire de Saint-Hyacinthe au Canada, a ainsi dressé une liste de critères et un plan d'action pour l'élection du site de surveillance des animaux sentinelles, notamment lorsque l'ensemble du territoire d'incidence de la maladie ne peut être étudié et qu'une restriction de taille de l'échantillon de sentinelles est effectuée [57]. Leurs guidelines reposent sur plusieurs étapes successives :

- L'étude des données antérieures, afin d'inclure les emplacements déjà utilisés si les objectifs des études passées correspondent aux objectifs de la surveillance sentinelle en développement
- L'étude des risques de la maladie, via différents indicateurs et mesures du risque dans les cas décrits en médecine humaine ou vétérinaire, pour définir les zones à surveiller de façon prioritaire
- L'étude de l'environnement et de ses niches écologiques, pour déterminer le cycle de transmission vectorielle
- L'étude de la population humaine et de ses caractéristiques
- La répartition des sites afin d'assurer une équité des différentes unités sentinelles
- La logistique correspond au dernier niveau lorsqu'une sélection entre plusieurs sites égaux est nécessaire

### **c. Utilisation des animaux de production**

#### **i. Pour la santé animale**

Dans les systèmes de production, les animaux servent de sentinelles pour leur propre espèce. En effet, les animaux non vaccinés et immunologiquement naïfs, en étant mélangés à des animaux vaccinés, peuvent servir de sentinelles pour détecter l'agent au sein de la population. Ainsi, les vétérinaires porcins suivent la circulation du virus SDRP (Syndrome dysgénésique et respiratoire du porc) par l'introduction accidentelle d'animaux sentinelles séronégatifs dans une population de porcs vaccinés [55]. Une séroconversion au contact des autres animaux traduit une transmission active au sein de la population. Des mesures sanitaires précoces et la vaccination d'autres cheptels peuvent alors être mises en place.

#### **ii. Pour la santé publique**

Les animaux de production servent également de sentinelles dans un but sanitaire par surveillance des maladies zoonotiques. L'écologie et la dissémination du virus pathogène Influenza responsable de la grippe aviaire H5N1 sont ainsi suivies grâce à l'utilisation de poulets comme sentinelles [55]. En revanche, cette espèce ne remplit pas tous les critères de la sentinelle idéale car les poulets sont des réservoirs pour les souches faiblement et hautement pathogènes et présentent un risque de transmission zoonotique. Les porcs sont également sensibles et développent une réponse sérologique mais de même le risque zoonotique est trop élevé. Ces deux espèces servent donc de sentinelles accidentelles pour suivre la transmission une fois le virus installé mais ne sont pas utilisées en première intention. D'autres animaux sensibles, notamment le gibier d'eau de la faune sauvage locale tel que les canards, sont ainsi

de meilleures sentinelles étant donné leur moins grande proximité avec l'Homme, et leur meilleur contact avec les oiseaux migrateurs, reflétant alors davantage la transmission de nouvelles souches.

#### **d. Utilisation des animaux de la faune locale et sauvage**

Ainsi, en partageant les mêmes ressources en air, en eau et en terre, les animaux de la faune locale et sauvage servent de sentinelle face à des agents pathogènes viraux, mais ils sont également des biomarqueurs de la contamination environnementale dans le sol, l'air, les plantes et l'eau. En effet, les processus biochimiques face aux toxiques environnementaux peuvent être similaires chez les animaux de la faune sauvage et chez l'Homme. Le suivi de ces animaux fournit donc des informations sur le type, la quantité et la biodisponibilité de ces contaminants et l'étude des signes cliniques développés informe sur les maladies potentiellement rencontrées chez l'Homme. Les vers de terre fournissent par exemple des informations sur les contaminants présents dans le sol [56], et de même aux Etats-Unis et au Canada, l'observation des oiseaux, des mammifères, des poissons et des amphibiens de la région a permis la mise en évidence de la contamination des grands lacs par les polluants organiques persistants DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane), PCB (polychlorobiphényles) et dioxine [55,60].

Les mollusques filtreurs, les poissons, ou les mammifères qui se nourrissent à partir de ressources aquatiques, comme les phoques et les dauphins, sont des espèces sentinelles du milieu marin [56].

#### **e. Utilisation des animaux de compagnie**

Les animaux de compagnie partagent le même environnement que leurs propriétaires : le même air, la même eau, souvent le même logement, et voyagent même avec eux. En cela, ils reflètent la santé de leurs propriétaires et ils sont donc des sentinelles intéressantes, d'autant plus que leur durée de vie physiologiquement faible comparée à celle de l'Homme permet une détection précoce de certains dangers dont la longue période de latence peut rendre les études compliquées dans l'espèce humaine [55]. De plus, beaucoup d'infections bactériennes, virales, parasitaires ou fongiques affectent à la fois les humains et les animaux, avec parfois le développement de signes cliniques similaires et une transmission possible de l'animal vers l'Homme lors de maladie zoonotique. Grâce aux différences de doses infectantes et de réponses immunologiques, certaines maladies infectieuses sont détectables chez les animaux bien avant l'expression de signes cliniques chez les humains, ce qui rend l'utilisation des animaux de compagnie comme sentinelles très intéressante [55].

A noter tout de même, que les animaux de compagnie ne disposent pas nécessairement des facteurs prédisposants que l'on sait être impliqués dans l'épidémiologie de certaines maladies humaines, notamment le tabagisme, la consommation d'alcool et de caféine, la sédentarité et une classe sociale inférieure [55]. Par conséquent, les animaux de compagnie sentinelles ne permettront que l'étude stricte des paramètres du milieu et des agents pathogènes zoonotiques.

## **i. Surveillance des contaminants environnementaux**

### **1. Nourriture**

La nourriture animale pouvant être déviée de la nourriture humaine, les animaux permettent le suivi lors de contamination. Ainsi, aux Etats-Unis en 2007, chats et chiens ont servi de sentinelles accidentelles lors d'une contamination alimentaire majeure, où du gluten de blé a été contaminé à la mélanine [55]. Après l'émergence de nombreux cas d'insuffisance rénale aiguë chez les chats et chiens domestiques, des rappels de produits ont eu lieu sur les marques de petfood. Les cochons et poulets destinés à la consommation humaine ayant également ingéré ce produit, cette découverte a permis une surveillance accrue de l'approvisionnement alimentaire humain, ce qui a très certainement permis d'éviter des cas d'intoxication humaine. Les vétérinaires apparaissent donc comme des acteurs majeurs dans la mise en garde, lors de l'émergence brutale et inhabituelle de maladies.

### **2. Perturbateurs endocriniens**

De nombreux polluants de l'environnement ont des effets sur l'appareil reproducteur et la fertilité des individus. On les nomme perturbateurs endocriniens. Avec la stérilisation chirurgicale communément pratiquée dans les espèces canines et félines, de nombreux tissus reproducteurs sont rendus disponibles à l'étude et peuvent informer sur l'effet des perturbateurs endocriniens présent dans l'environnement de l'Homme. De même, le sperme canin est facilement récoltable, et informatif [56].

### **3. Plomb**

Le plomb est un toxique, qui évolue à bas bruit et le diagnostic est souvent établi tardivement chez l'Homme. Or, le même mécanisme biologique est impliqué et la même augmentation sérologique similaire est mise en évidence lors d'intoxication chez l'Homme et chez l'animal, permettant leur utilisation comme sentinelle [61]. Ainsi, grâce à la découverte d'intoxication au plomb chez des animaux d'un foyer, les enfants vivant dans la même maison ont pu être examinés et mis sous traitement précocement, avant l'apparition de signes cliniques [62]. L'espèce canine, ayant un comportement proche du sol et exploratoire similaire à celui des

enfants, est l'espèce qui semble être la plus appropriée pour servir de sentinelle dans le suivi de la contamination au plomb.

#### 4. Bioterrorisme et chimioterrorisme

Face aux menaces terroristes biologiques et chimiques potentielles, l'utilisation d'animaux sentinelles a été proposée comme système d'alarme et de détection précoce des attaques terroristes. De nombreux agents biologiques pouvant servir d'arme terroriste sont ainsi répertoriés, comme le charbon, la brucellose, la peste, les métaux lourds, les composés cyanurés, la dioxine...[55]. Les vétérinaires sont alors des acteurs majeurs dans la détection des tendances à large échelle d'intoxication chez les animaux.

##### ii. **Surveillance des agents pathogènes zoonotiques**

De nombreux exemples de maladies variées illustrent l'utilisation des animaux de compagnie comme sentinelle pour la médecine humaine, mais la complexité des systèmes de sentinelle ne rend pas un même protocole applicable dans tous les contextes. Un réseau national de surveillance sentinelle a été développé au Canada pour la surveillance de la maladie de Lyme, ayant permis le passage de 144 cas signalés en 2009 à de plus de 3000 cas en 2021 [55,63].

Différentes techniques sont utilisées pour le diagnostic et le suivi des maladies étudiées.

##### 1. Expression clinique

Tout d'abord, l'expression clinique peut être l'un des marqueurs étudiés dans la surveillance. Ainsi, dans la maladie des griffes du chat due à *Bartonella henselae*, les chats sont généralement asymptomatiques. En revanche, les chiens développent des signes cliniques similaires à ceux présents chez l'Homme comme une endocardite [55]. Pour ce critère, l'espèce canine semble donc être une meilleure sentinelle que l'espèce féline.

##### 2. Sérosurveillance

D'autres techniques permettent une surveillance de l'infection et de la transmission. La sérosurveillance notamment, permet de suivre précocement la transmission par séroconversion. La détection des IgG par immunofluorescence est ainsi utilisée dans la surveillance de la maladie des griffes du chat dans différentes populations de chats au Chili et permet une comparaison de l'activité des différents foyers [64].

Cette méthode a été primordiale dans la surveillance de la peste à Madagascar [58]. En effet, cette maladie zoonotique due à *Yersinia pestis* transmise par les puces et les rongeurs, se caractérise par des cycles épizootiques avec des périodes de mort des rongeurs et des périodes de latence avec peu d'expressions cliniques. Cela rend les systèmes de surveillance passive, avec réalisation de sérologies sur les rongeurs, peu efficaces, car les analyses sérologiques ne sont réalisées que sur les individus survivants, soit résistants soit nouvellement nés, encore indemnes et sensibles. Or, les chiens peuvent également contracter la maladie par ingestion de proies infectées ou par piqûres de puces infectées, mais ils développent une forme de faible gravité non mortelle avec des anticorps persistant plusieurs mois. Les sentinelles canines sont donc plus informatives de la circulation active de l'infection à *Yersinia pestis*, d'autant plus que les chiens de Madagascar vivent en liberté dans les rues. Ainsi, aucune corrélation entre les séroprévalences des chiens et des rongeurs n'est retrouvée par comparaison de la séropositivité dans la même zone. Cela prouve l'intérêt d'utiliser l'espèce canine comme animal sentinelle plutôt que d'axer la surveillance sur le réservoir où le nombre de faux négatifs est dans ce cas plus important.

Ainsi, dans cette étude, la réalisation de tests sérologiques à un instant t et le suivi sérologique par rééchantillonnage chez le chien a permis d'évaluer la séroconversion témoignant d'une transmission locale récente. De même, le passage de chiens positifs à négatifs s'explique par une absence de production d'anticorps en raison d'une faible exposition à l'agent *Yersinia pestis*. Cette surveillance a donc été utile pour détecter la circulation de *Yersinia pestis* avant l'émergence de cas humains. La surveillance de la séroconversion (notamment chez les jeunes chiens entre les saisons de peste humaine) a permis d'identifier les zones les plus à risques d'épidémie [58].

La maladie des griffes du chat peut finalement aussi être étudiée par culture de sang félin et recherche de bacilles témoignant de l'infection à *Bartonella henselae* [64].

A travers de cet exemple, on se rend compte que la sérosurveillance d'une même maladie peut être réalisée de manières très variées et ainsi s'adapter aux particularités de chaque région à surveiller.



## PARTIE 2 - ETUDE PERSONNELLE

## A. INTRODUCTION ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Les animaux domestiques, en partageant le même environnement que l'Homme, pourraient servir de sentinelles pour de nombreux champignons ubiquitaires pathogènes dans l'espèce humaine mais dont les particularités géographiques et saisonnières sont peu connues. Les spores des champignons peuvent en effet être retrouvées sur leur pelage et témoigner d'un portage et ainsi d'une présence du champignon d'intérêt dans le milieu de vie de l'animal.

Lors d'une étude précédente, *R. arrhizus* a pu être mis en évidence de façon fortuite sur des carrés de moquettes frottés sur le pelage d'animaux domestiques et réalisés initialement pour une recherche de dermatophytose. D'autre part, dans un précédent mémoire rédigé par le Dr Arnaud Jabet [5] en partenariat avec l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière à Paris, une certaine saisonnalité des infections à *R. arrhizus* a été démontrée, avec davantage de cas de mucormycoses décrits en août et en septembre.

Ce travail de thèse consiste à explorer l'hypothèse selon laquelle les chats et chiens de compagnie, en partageant le même milieu de vie que leurs propriétaires, peuvent être utilisés comme sentinelles de la présence de champignons pathogènes d'importance médicale comme *R. arrhizus* mais également *Alternaria alternata* et *Aspergillus fumigatus*. Il consistera en particulier à préciser leurs niches écologiques et leur éventuelle saisonnalité.

## B. MATERIEL ET METHODES

### a. Prélèvements

Lors de suspicion clinique de teigne et pour le suivi après initiation d'un traitement antifongique, les vétérinaires envoient au laboratoire LabOniris situé sur le site de l'École nationale vétérinaire de Nantes, Oniris VetAgroBio (44), des carrés de moquettes (Figure 5) préalablement frottés sur les lésions et le pelage des animaux. Ils sont enveloppés dans du papier aluminium et glissés dans un sachet plastique pour assurer la biosécurité et la conservation des spores. Chaque moquette reçue à LabOniris est identifiée par un numéro d'identification à 8 chiffres qui est inscrit sur le papier aluminium avec l'espèce de l'animal. Les moquettes sont toutes répertoriées dans un fichier informatique avec des données concernant l'animal, le propriétaire, l'adresse d'origine et le vétérinaire traitant. Les résultats après culture (sur milieu Sabouraud Chloramphénicol Actidione et Borreli) y sont renseignés et transmis au vétérinaire. Ces résultats peuvent être "négatif" si aucun agent de la teigne n'est retrouvé (d'autres espèces fongiques dites « contaminant » peuvent se développer, elles ne sont pas identifiées) ou "positif" si au contraire un dermatophyte est identifié après culture. Lors

d'un résultat "positif", le dénombrement des colonies est effectué pour estimer la charge fongique.



**Figure 5** : Procédure d'utilisation de moquettes pour le diagnostic de dermatophytose  
(a) carré de moquette vierge ; (b) prélèvement chez un chat ; (c) envoi à LabOniris  
(source : LabOniris)

Le large territoire drainé par LabOniris permet d'avoir accès à des prélèvements représentatifs de la France métropolitaine. L'étude des espèces fongiques présentes sur ces moquettes a eu lieu en deux étapes avec tout d'abord un échantillonnage représentatif des moquettes à LabOniris puis un envoi à Paris pour une identification exhaustive des espèces fongiques présentes, grâce à la collaboration avec le service de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière.

## **b. Sélection des moquettes**

Le choix des animaux domestiques comme sentinelles pour l'étude du portage de champignons implique le respect de certains critères.

### **i. Choix du nombre de moquettes**

La première étape était de déterminer le nombre de moquettes à mettre en culture mensuellement, de telle sorte qu'une égalité entre chaque région métropolitaine soit respectée et ce pour tous les mois de l'année.

Pour cela, nous nous sommes intéressés au nombre de moquettes reçues les années précédentes à LabOniris. Ci-dessous sont représentés les nombres moyen, minimum et maximum de moquettes reçues par région et par mois entre juin 2022 et mai 2023 provenant de chiens ou de chats. Pour les prélèvements issus de chiens (**Figure 6**), la région des Hauts de France suivie de la région Centre Val de Loire et de la région Bourgogne Franche Comté sont celles avec le plus petit nombre moyen de moquettes avec respectivement 13,8 ; 15 et 16,2 moquettes

envoyées par mois à LabOniris. Pour les prélèvements issus de chats (Figure 7), il s'agit de la région Bourgogne Franche Comté avec 33,4 moquettes envoyées par mois en moyenne.

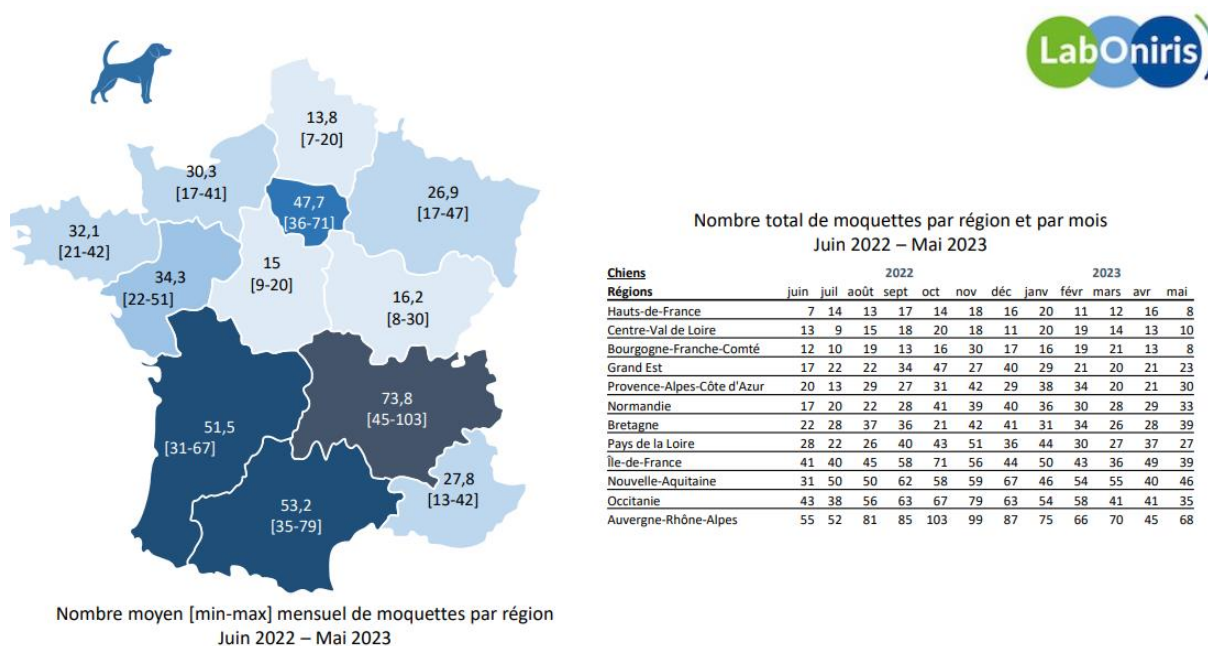


Figure 6 : Nombre de moquettes issues de chiens reçues par mois et par région en France métropolitaine entre juin 2022 et mai 2023 (source : LabOniris)

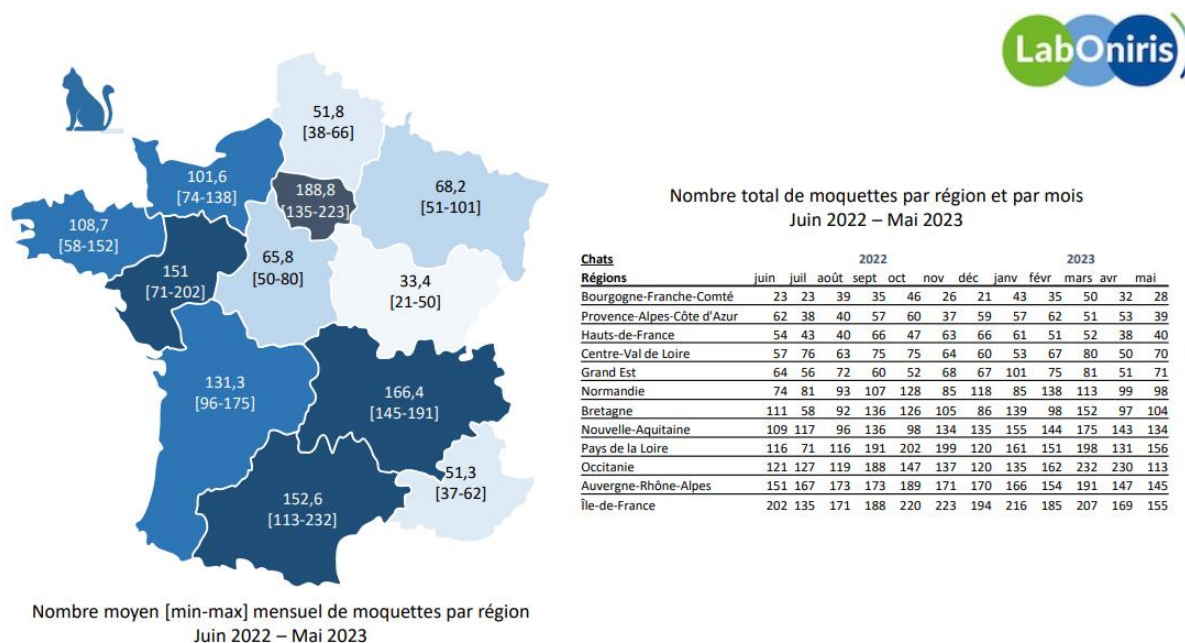


Figure 7 : Nombre de moquettes issues de chats reçues par mois et par région en France métropolitaine entre juin 2022 et mai 2023 (source : LabOniris)

Les données limitantes semblent donc particulièrement concerner l'espèce canine avec l'envoi sur certains mois de moins de 10 moquettes depuis les régions des Hauts de France, Centre Val de Loire et Bourgogne Franche Comté. Cela est en revanche compensé au sein de l'espèce féline avec un nombre minimal ne descendant pas en dessous des 20 moquettes (21 au

minimum en décembre 2022 en Bourgogne Franche Comté). D'autre part, l'hétérogénéité entre les régions est remarquable, avec par exemple 11 moquettes canines de la région Centre Val de Loire reçues en décembre 2022 contre 87 de la région Auvergne Rhône Alpes pour le même mois. Cette hétérogénéité peut notamment être imputée à la grande variabilité de taille et de population entre les 12 nouvelles régions françaises. Il a donc été décidé de travailler par la suite avec les 22 anciennes régions françaises présentes avant 2016 pour plus de cohérence territoriale.

L'activité diagnostique du secteur mycologie de LabOniris étant croissante ces dernières années, nous avons ainsi fixé, dans la mesure du possible, à un nombre de 20 moquettes par mois et par région, soit 10 chats et 10 chiens par mois et par région. Si moins de 10 moquettes sont reçues pour l'une des espèces, le manque est compensé dans la mesure du possible avec l'autre espèce pour se rapprocher des 20 moquettes mensuelles (par exemple s'il n'y a que 7 moquettes de chien, 13 moquettes de chat seront sélectionnées). Les seuls animaux exclus de l'étude sont ceux ayant subi un traitement antifongique. Tous les autres animaux (positifs ou non aux dermatophytes, vie intérieure ou extérieure, voyages ou non) sont inclus pour limiter les biais.

## **ii. Description du tirage aléatoire**

Environ mille moquettes sont reçues chaque mois à LabOniris et elles ont toutes été conservées du 1er juillet 2023 au 31 janvier 2024 pour notre étude. Une fois le nombre de moquettes à choisir établi, la sélection de 10 moquettes de chats et de chiens par région et par mois a eu lieu pendant 6 mois. De même pour éviter tout biais, cette sélection a été réalisée aléatoirement avec le logiciel Excel, dont les étapes sont détaillées ci-dessous.

### **1. Classement par région**

La première étape de la sélection consiste à classer chaque moquette dans sa région d'origine, en utilisant les 22 anciennes régions françaises. Pour cela, une feuille "Région" est créée sur le tableur Excel, dans laquelle les fourchettes des départements sont associées à chaque région.

*Par exemple, dans la région "Alsace", se trouvent les départements du Bas-Rhin (67) et du Haut-Rhin (68). Les codes postaux supérieurs ou égaux à 67000 et strictement inférieurs à 69000 sont donc inclus dans la région "Alsace". De même, dans la région "Auvergne", se trouvent les départements de l'Allier (03), du Cantal (15), de la Haute-Loire (43) et du Puy de Dôme (63). Les codes postaux supérieurs ou égaux à 03000 et strictement inférieurs à 04000, ceux supérieurs ou égaux à 15000 et strictement inférieurs à 16000, ceux supérieurs ou égaux à 43000 et strictement inférieurs à 44000, ainsi que ceux supérieurs ou égaux à 63000 et strictement inférieurs à 64000 sont inclus dans la région "Auvergne".*

Ainsi, 6 documents Excel sont créés, un pour chaque mois de Juillet 2023 à Janvier 2024. Pour chacun de ces documents, une première feuille recense toutes les moquettes du mois, puis la feuille “Région” est ajoutée et enfin une feuille Excel est créée pour chaque région.

Un premier filtre est réalisé selon le code postal grâce à l’outil “Données” : seules les moquettes dont le département se situe dans les fourchettes voulues sur la feuille “Région” sont sélectionnées, permettant d’obtenir pour chaque région toutes les moquettes correspondantes. Puis grâce à l’outil “Trier”, les moquettes sont classées par numéro d’identification croissant avec les moquettes canines au début de la feuille, suivies par les moquettes félines et enfin les moquettes d’espèce non identifiée qui ne seront par la suite pas utilisées.

## 2. Elimination des moquettes issues d’animaux traités par antifongiques

De nombreuses moquettes reçues à Laboniris sont utilisées pour évaluer la guérison après traitement fongique chez des animaux préalablement testés positifs à la teigne. Ces moquettes ne nous intéressent pas dans cette étude et sont donc exclues car le traitement antifongique peut inhiber le développement de toutes les espèces fongiques (dont *R. arrhizus*) et ainsi biaiser les résultats après culture.

## 3. Tirage aléatoire

Le tirage aléatoire décrit ci-dessous est réalisé avec l’exemple du mois de Juillet 2023 pour la région Alsace. La même procédure est reproduite de la même manière pour toutes les régions de chaque mois.

La troisième étape consiste à choisir aléatoirement 10 moquettes parmi les moquettes canines et félines. Pour cela, la fonction ALEA est utilisée sur toutes les moquettes, hormis celles précédemment exclues correspondant aux animaux traités. A chaque moquette, la fonction ALEA attribue un nombre réel aléatoire compris entre 0 et 1, qui change à chaque action sur Excel. Ensuite, à l’aide de la fonction RANG, à chaque nombre réel précédemment envoyé par ALEA est attribué un classement par ordre croissant.

Les moquettes canines et félines correspondant aux numéros 1 à 10 sont isolées grâce à la fonction RECHERCHEV, qui à partir de ces numéros renvoie le numéro d’identification de la moquette.

Ainsi sont obtenus les 20 numéros d’identification des moquettes provenant d’Alsace sélectionnées pour le mois de Juillet 2023.

Dans la pratique, 13 moquettes, et non 10, sont en réalité tirées afin d’avoir une marge au cas où certaines seraient en mauvais état et non utilisables ou en cas d’impossibilité à retrouver certains prélèvements.

### iii. Sélection physique à LabOniris

Une fois les 20 numéros d'identification tirés au sort, il convient de vérifier le résultat après culture pour connaître le lieu de stockage de la moquette, soit parmi les négatifs, soit parmi les positifs. Pour ce faire, les résultats sont rajoutés manuellement depuis le document principal regroupant toutes les données du mois. La positivité, l'espèce mycologique et le nombre de colonies retrouvées après culture sont nécessaires. En effet, à LabOniris, les moquettes négatives, habituellement jetées, ont été conservées pour l'étude et classées par mois, toutes régions confondues et par numéro d'identification croissant. Quant aux moquettes positives, elles sont conservées dans des sachets plastiques selon l'espèce de dermatophyte isolée et selon le nombre de colonies (rares colonies ou nombreuses à très nombreuses colonies). En moyenne 6 sachets différents de chacun 60 moquettes sont utilisés par mois pour regrouper les moquettes positives.

Au maximum 20 moquettes par mois et par région (soit 440 maximum par mois) sont envoyées à l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, avec dans la mesure du possible 10 chiens et 10 chats (Tableau 1). Dans la réalité, certaines régions ont un effectif réduit ne permettant pas une équité entre les moquettes canines et félines. Dans ce cas, il est privilégié d'atteindre 20 moquettes quelle que soit la répartition inter-espèce : par exemple 17 moquettes provenant de chiens et 3 de chats ont été étudiées pour la région Lorraine au mois de de Juillet 2023 (Tableau 1, ligne n°14). De même, après élimination des moquettes dont les animaux ont été traités par des antifongiques, certaines régions se retrouvent avec moins de 20 moquettes toutes espèces confondues, ce qui peut fausser les résultats dans certains cas. Les régions Champagne-Ardenne, Franche Comté, Limousin, Lorraine et Nord sont ainsi sous-représentées sur plusieurs des mois étudiés, avec un nombre de moquettes inférieur à 15, voire inférieur à 7 pour la région Limousin.

Au total, 1520 moquettes ont été envoyées à l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière pour analyse, dont 733 provenant de chats et 787 provenant de chiens.

**Tableau 1** : Effectif de moquettes classées par espèce, par région et par mois

Mois Régions	Moquettes provenant de chats				Moquettes provenant de chiens				Nombre total de moquettes			
	7	8	9	10	7	8	9	10	7	8	9	10
1	10	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	20
2	10	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	20
3	9	10	7	10	9	9	13	10	18	19	20	20
4	10	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	20
5	10	7	9	10	10	12	11	10	20	19	20	20
6	10	11	10	10	10	8	10	10	20	19	20	20
7	10	10	10	10	10	9	10	10	20	19	20	20
8	11	8	3	3	3	5	8	5	<b>14</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>8</b>
9	6	8	5	10	7	9	6	10	<b>13</b>	17	<b>11</b>	20
10	10	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	20
11	10	8	10	10	10	9	10	10	20	17	20	20
12	10	10	10	10	8	10	10	10	18	20	20	20
13	4	1	3	0	1	2	3	2	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>2</b>
14	17	7	12	9	3	6	3	11	20	<b>13</b>	<b>15</b>	20
15	10	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	20
16	12	10	12	9	8	3	8	7	20	<b>13</b>	20	16
17	10	10	10	10	9	10	10	10	19	20	20	20
18	8	12	9	12	11	6	11	5	19	18	20	17
19	12	14	10	10	7	6	10	10	19	20	20	20
20	10	9	10	10	10	10	10	10	20	19	20	20
21	10	10	10	10	10	10	10	10	20	20	20	20

Régions : 1= Alsace / 2 = Aquitaine / 3 = Auvergne / 4 = Basse-Normandie / 5 = Bourgogne / 6 = Bretagne / 7 = Centre / 8 = Champagne-Ardenne / 9 = Franche Comté / 10 = Haute Normandie / 11 = Île de France / 12 = Languedoc / 13 = Limousin / 14 = Lorraine / 15 = Midi Pyrénées / 16 = Nord / 17 = Pays de la Loire / 18 = Picardie / 19 = Poitou / 20 = Provence / 21 = Rhône Alpes  
Mois : 07 = Juillet / 08 = Août / 09 = Septembre / 10 = Octobre

### c. Mise en culture

Les moquettes reçues à l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière sont tout d'abord mises en culture afin de procéder à un prélèvement pour identification des champignons présents. Pour cela, chaque moquette est tamponnée sur une gélose Sabouraud Chloramphénicol Gentamicine (Sabouraud GC) et est mise à incuber pendant une semaine à 30°C.



## **d. Identification par spectrométrie de masse MALDI-ToF**

A partir d'une culture fongique, différentes méthodes, plus ou moins rapides et efficaces, peuvent être mises en œuvre pour l'identification des espèces fongiques présentes. La spectrométrie de masse par MALDI-ToF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight) est une méthode qui fonctionne par séparation des protéines selon leur masse et permet l'obtention d'une empreinte protéique caractéristique de chaque espèce fongique. Il s'agit de la technique utilisée dans notre étude. C'est une méthode facile, simple d'utilisation et rapide qui permet une identification fiable des micro-organismes bactériens, viraux et fongiques (levures et filamenteux), grâce à la lecture de leur empreinte protéique et à la comparaison à une banque d'empreintes protéiques.

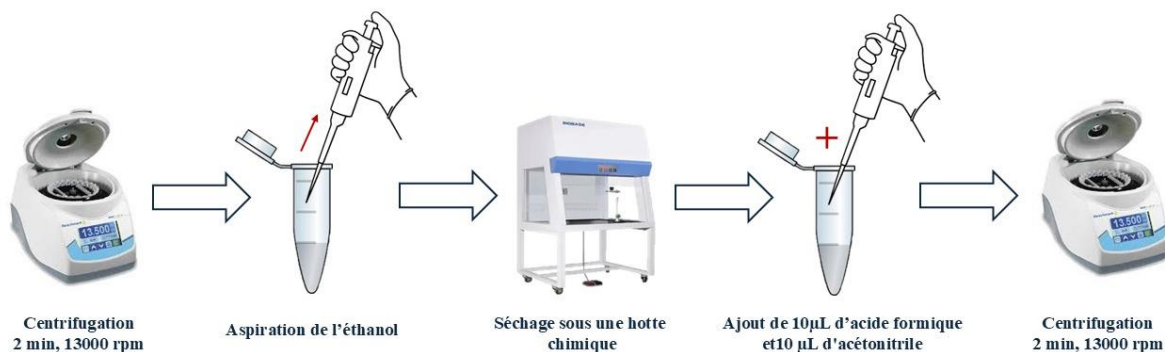
### **i. Prélèvement du champignon**

A l'issue d'une semaine de culture, le champignon est prélevé à la surface de la colonie par grattage à l'aide d'une lame de scalpel stérile. Le prélèvement est alors introduit dans un mélange composé de 900  $\mu\text{L}$  d'éthanol absolu et 300  $\mu\text{L}$  d'eau pure. La suspension obtenue est centrifugée 10 minutes à 13000 rpm avant extraction protéique pour identification fongique.

### **ii. Extraction protéique**

Une extraction longue a été pratiquée sur chaque colonie, afin d'obtenir à partir d'échantillons fongiques, les isolats de protéines correspondant. Les étapes réalisées sont les suivantes (Figure 8) :

1. Après centrifugation, l'éthanol dans lequel baigne le prélèvement est aspiré à l'aide d'une pipette.
2. Le culot est séché à l'air libre sous une hotte chimique.
3. 10 $\mu\text{L}$  d'acide formique à 70% est ajouté dans le tube afin de lyser les parois fongiques et libérer le contenu.
4. 10  $\mu\text{L}$  d'acétonitrile à 100% est ajouté pour solubiliser et stabiliser le mélange.
5. Le tube est de nouveau centrifugé 2 minutes à 13000 rpm.
6. L'analyte est ainsi obtenu et prêt à passer dans le MALDI-ToF.



**Figure 8** : Schéma des étapes de l'extraction protéique

### iii. Spectrométrie de masse MALDI-ToF

L'appareil de spectrométrie MALDI-ToF utilisé ici est le Microflex, de la marque Bruker. Différentes étapes sont nécessaires à l'obtention d'un spectre (**Figure 9**) [3,4,65,66] :

#### 1. Dépôt et mélange à la matrice

La première étape consiste à déposer 1 µL de l'échantillon obtenu au terme de l'extraction sur une plaque métallique, puis à le recouvrir par 1 µL d'une matrice HCCA (alpha-cyano-4-hydroxycinnamique) photosensible avec lequel il cristallise sous l'effet de l'évaporation. Cette matrice permet de protéger l'analyte de l'énergie du laser et elle évite l'agrégation des molécules analysées.

Cette étape est la plus délicate du protocole. En effet, toute modification des paramètres (méthode d'extraction, conditions de culture, nature du dépôt...) peut influencer la cristallisation de la matrice et diminuer l'ionisation des molécules. De même, un excès d'échantillon, un mauvais dépôt ou une contamination des échantillons voisins peuvent altérer la qualité du spectre et rendre l'identification difficile. La standardisation du protocole est donc majeure pour assurer une répétabilité des acquisitions [65].

#### 2. Impact laser

Lors de la seconde étape, la plaque est introduite dans le spectromètre de masse et est soumise à l'action d'un rayon laser. Le laser irradie le dépôt par impulsions, ce qui provoque l'excitation des molécules de la matrice, la désorption, l'ionisation et une transformation de l'analyte en ions gazeux de masses différentes par transfert de charges.

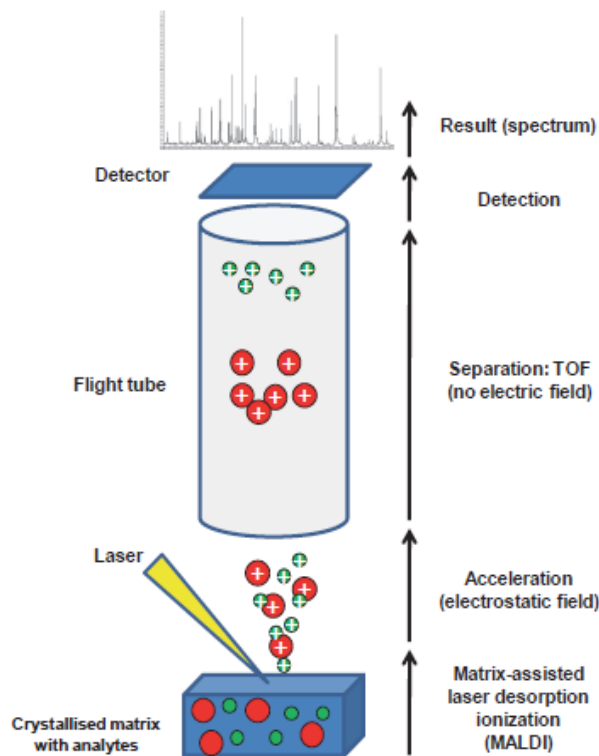


Figure 9 [3] : Description de la technologie MALDI-ToF et des différentes étapes

### 3. Zone d'accélération

Au sein de cette zone, sous l'action d'un champ électrique, les ions ainsi formés vont être mis en mouvement.

### 4. Zone de vol libre de champ

Dans le tube à temps de vol, les ions sont séparés selon leur rapport masse sur charge ( $m/z$ ) : plus la masse des ions est faible, plus les ions se déplacent vite et atteignent en premier l'extrémité du tube, correspondant au détecteur.

### 5. Détecteur

La masse des ions est obtenue par mesure de la différence de temps mis par chaque ion entre l'impact laser et l'arrivée jusqu'au détecteur.

### 6. Conversion informatique

La somme des ions analysés va former un spectre de masse caractéristique de l'échantillon (Figure 10), avec en abscisse le rapport masse sur charge  $m/z$  et en ordonnée l'intensité relative du signal. L'intensité des pics est proportionnelle au nombre d'ions détectés à un temps donné. Un spectre de bonne qualité a une ligne de base la plus proche possible de zéro, un nombre maximal de pics et des pics à base étroite et d'intensité élevée.

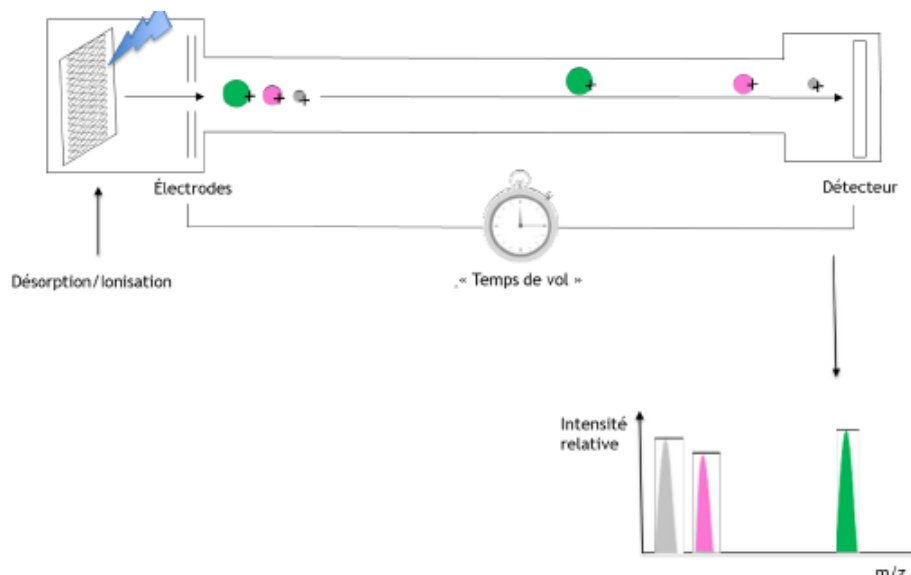


Figure 10 [4] : Principe de fonctionnement de la technologie MALDI-ToF

#### iv. Acquisition du spectre

Quarante tirs de laser sont réalisés afin d'acquérir un spectre. Les différentes acquisitions sont additionnées entre elles pour représenter toute la diversité fongique. La ligne de base est retirée, le spectre est lissé et les pics sont sélectionnés en fonction de leur intensité afin d'obtenir un spectre exploitable et facilement lisible.

#### v. Analyse du spectre

Une fois le spectre d'une moquette obtenu, les pics et leur intensité sont comparés aux pics de référence pour obtenir un pourcentage de similarité.

Il existe plusieurs bases de données qui rassemblent des empreintes protéiques de divers organismes mais toutes ne disposent pas de beaucoup de références sur les champignons. L'application MSI a donc été créée en 2020, après 3 ans de travail, pour référencer un maximum d'empreintes protéiques fongiques [66]. En 2021 par exemple, MSI disposait de 1279 références fongiques, contre 114 pour l'application NIH et 152 pour MBT-mold. C'est la base de données en ligne MSI qui a été utilisée pour identifier les différents spectres obtenus avec l'appareil MALDI-ToF Microflex.

#### vi. Identification

Les spectres obtenus sont placés sur l'application et comparés à la base de données. Un seuil d'identification a été placé à 20% et pour toute similarité supérieure à 20%, l'identification est validée.

## e. Statistiques

### i. Comparaison de la détection des espèces fongiques entre les régions

Grâce au logiciel d'analyse statistique R, les tests de Fisher et du Chi-carré ont été utilisés pour comparer la prévalence de moquettes positives pour une espèce fongique donnée entre les différentes régions métropolitaines françaises étudiées et afin de déterminer si les deux variables (détection et région) sont indépendantes.

Pour cela, un tableau de contingence est créé pour chaque espèce fongique avec les régions en lignes et les cellules du tableau indiquant le nombre de moquettes positives dans chaque région. Le test du Chi-carré renvoie trois résultats : le X-squared qui correspond à la différence entre les fréquences observées et les fréquences attendues sous l'hypothèse nulle d'indépendance, le degré de liberté du test et la p-value, correspondant à la probabilité d'obtenir une statistique aussi extrême que celle observée si l'hypothèse nulle est vraie. Si la p-value est inférieure à 0,05, l'hypothèse  $H_0$  selon laquelle les variables sont indépendantes est rejetée. Ce test nécessite une taille d'échantillon suffisante : pour des effectifs inférieurs à 5, ce qui est notre cas ici, le test du Chi-carré peut ne pas être approprié et le test exact de Fisher qui renvoie la p-value est plus adapté.

Les deux tests ont donc été réalisés afin de comparer leurs résultats.

### ii. Comparaison des moquettes issues de chats et de chiens

Le test de Fisher a été utilisé pour comparer la prévalence de moquettes positives pour une espèce fongique donnée selon l'espèce d'origine des moquettes (chat ou chien) et afin de déterminer si les deux variables (détection et espèce animale) sont indépendantes.

Pour cela, un tableau de contingence est créé pour chaque espèce fongique, indiquant le nombre de moquettes positives selon l'espèce dont elles sont issues.

Le test de Fisher renvoie la p-value, le odds ratio (OR) et son intervalle de confiance (IC) à 95%.

- L'odds ratio mesure la force de l'association entre les deux variables catégoriques. Si OR vaut 1, cela signifie qu'il n'y a pas d'association entre les deux variables et donc que les chances de détection de l'espèce fongique sont égales peu importe l'origine animale des moquettes. Si OR est supérieur ou inférieur à 1, cela signifie que l'évènement (détection fongique) est respectivement plus probable dans le premier (moquettes de chats) ou dans le second groupe (moquettes de chiens).
- L'intervalle de confiance à 95% indique la plage dans laquelle nous pouvons être confiants à 95% que la vraie valeur de l'OR se trouve. Si l'IC à 95% comprend 1, cela

signifie que l'OR n'est pas statistiquement significatif à 95% de confiance et que cela peut être dû au hasard. Si l'IC ne comprend pas 1, l'OR est statistiquement significatif et donc il existe une association entre les variables et c'est peu probable que ce soit dû au hasard.

- Si la p-value est inférieure à 0,05, l'hypothèse  $H_0$  selon laquelle les variables sont indépendantes est rejetée.

### **iii. Comparaison de la détection des espèces fongiques entre les mois**

Les valeurs obtenues étant non nulles et supérieure à 5, le test du Chi-carré est utilisé. Un tableau de contingence avec les mois en colonnes et la détection ou l'absence de détection en lignes est créé pour chaque espèce fongique. Le X-squared obtenu sur le logiciel R mesure l'écart entre les valeurs observées dans le tableau de contingence et les valeurs attendues si les variables sont indépendantes. Le degré de liberté est ici égal à 3. La p-value indique la probabilité que les différences observées dans la détection entre les mois soient dues au hasard. Selon le résultat de la p-value, l'hypothèse nulle sera ou non rejetée

## C. RÉSULTATS

Les moquettes des mois de juillet, août, septembre et octobre 2023, soit 1520 moquettes, ont été analysées avec une mise en culture pendant une semaine, suivie du passage au MALDI-ToF. Parmi ces moquettes, 57 n'ont pas pu être analysées à la suite de problèmes de contaminations des locaux. Parmi les 1463 moquettes analysées, 363 n'ont pas conduit au développement de colonies fongiques après la mise en culture ; 5 ont abouti à des colonies qui se sont développées très lentement et n'ont pas pu être analysées et 1095 ont permis la culture puis l'identification de nombreuses espèces fongiques.

Grâce à la spectrométrie de masse, 52 genres fongiques différents ont été identifiés. Parmi eux, se trouvent des genres de champignons environnementaux non pathogènes et des genres de champignons pathogènes en médecine humaine dont *Rhizopus*, essentiellement représenté par l'espèce *R. arrhizus*.

A l'issue de ces résultats, il nous a paru pertinent de ne pas limiter notre étude à la seule espèce *R. arrhizus*. Notre étude a donc été étendue à l'utilisation des animaux sentinelles pour caractériser le portage de l'ensemble des champignons d'intérêt médical identifiés fréquemment au MALDI-ToF.

### a. Genres fongiques identifiés

#### i. Représentativité des différents champignons

Parmi les 52 genres identifiés se trouvent des champignons qui ne sont pas reconnus comme des pathogènes majeurs dont voici la liste :

*Acrophialophora*, *Albifimbria*, *Apiospora*, *Arthrographis*, *Bipolaris*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Clonostachys*, *Collariella*, *Coniochaeta*, *Curvularia*, *Didymella*, *Epicoccum*, *Hypoxylon*, *Lecythophora*, *Metarhizium*, *Microascus*, *Nigrospora*, *Paraconiothyrium*, *Periconia*, *Phoma*, *Psathyrella*, *Pseudohumicola*, *Pseudopithomyces*, *Pseudothielavia*, *Pyrenophora*, *Ramophialophora*, *Rhodotorula*, *Scopulariopsis*, *Sordaria*, *Torula*, *Trichoderma*, *Ustilago*, *Wickerhamomyces*, *Zalaria* ainsi que quelques genres non identifiés.

D'autres genres de champignons ont aussi été identifiés (Tableau 2). Il s'agit de :

*Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Fusarium*, *Hormographiella*, *Microsporium*, *Mucor*, *Nannizzia*, *Penicillium*, *Purpureocillium*, *Rhizopus*, *Scedosporium*, *Talaromyces*, *Trichophyton*.

Certains de ces genres sont très représentés dans la flore fongique et sont classiquement retrouvés sur le pelage des animaux. Ils forment des complexes d'espèces pathogènes ou non.

Ainsi, le genre *Aspergillus* peut être divisé en plusieurs espèces dont l'intérêt médical varie : *Aspergillus aspergillus*, *A. candidi*, *A. circumdati*, *A. clavati*, *A. flavi*, *A. flavipedes*, *A. fumigati*, *A. nidulantes*, *A. nigri*, *A. terrei*, *A. unguis*, *A. usti*, *A. versicolores*. De même pour le genre *Fusarium* avec *Fusarium incarnatum* et *F. oxysporum* ; le genre *Penicillium* avec *Penicillium aspergilloides*, *P. canescentia*, *P. chrysogena*, *P. citrina*, *P. exilicaulis*, *P. fasciculata*, *P. lanata-divaricata*, *P. penicillium*, *P. robsamsonia*, *P. roquefortorum*, *P. sclerotiora*, *P. turbata* et le genre *Talaromyces* avec *Talaromyces islandici* et *T. talaromyces*.

Tableau 2 : Représentativité des genres de champignons pathogènes

GENRE	Nombre de moquettes positives	Taux par rapport à l'ensemble des moquettes analysées (n = 1463)	Taux par rapport aux moquettes analysées par spectrométrie (n = 1095)
<i>Alternaria</i>	485	33,15%	44,29%
<i>Aspergillus</i>	521	35,61%	47,58%
<i>Aureobasidium</i>	10	0,68%	0,91%
<i>Candida</i>	2	0,14%	0,18%
<i>Fusarium</i>	18	1,23%	1,64%
<i>Hormographiella</i>	5	0,34%	0,46%
<i>Microsporium</i>	148	10,12%	13,52%
<i>Mucor</i>	13	0,89%	1,19%
<i>Nannizzia</i>	21	1,44%	1,92%
<i>Penicillium</i>	146	9,98%	13,33%
<i>Purpureocillium</i>	5	0,34%	0,46%
<i>Rhizopus</i>	70	4,78%	6,39%
<i>Scedosporium</i>	2	0,14%	0,18%
<i>Talaromyces</i>	10	0,68%	0,91%
<i>Trichophyton</i>	51	3,49%	4,66%



## ii. Cas particulier de certaines espèces pathogènes

Le pouvoir pathogène de ces genres varie entre chaque espèce. Nous avons choisi de nous intéresser particulièrement à *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus* et *Rhizopus arrhizus* qui sont des espèces d'intérêt médical majeur et qui ont d'autre part été identifiées fréquemment par spectrométrie.

*A. alternata*, identifié sur 243 moquettes différentes, est le champignon le plus fréquemment identifié parmi toutes les moquettes analysées. *A. fumigatus* est identifié sur 121 moquettes et *R. arrhizus* sur 70 moquettes.

D'autres genres ou espèces fongiques pathogènes ont été identifiés mais moins fréquemment, et n'ont pas été inclus dans ce travail : *Penicillium chrysogenum*, les dermatophytes *Microsporum*, *Trichophyton* et *Nannizzia*, *Fusarium oxysporum*, *Hormographiella*, *Mucor*, *Purpureocillium* et *Talaromyces*.

Les dermatophytes en particulier, ont été détectés à la fois à LabOniris par microscopie et à l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière par spectrométrie de masse. Les moquettes envoyées à la Pitié-Salpêtrière avaient ainsi déjà été analysées pour déterminer la présence des genres *Microsporum* et *Trichophyton* qui sont les genres les plus fréquemment retrouvés parmi les dermatophytes. Des concordances dans la détection de ces genres ont été observées entre les identifications faites par les deux laboratoires, mais également des discordances (Figure 11). Le taux de concordance est de 35%.

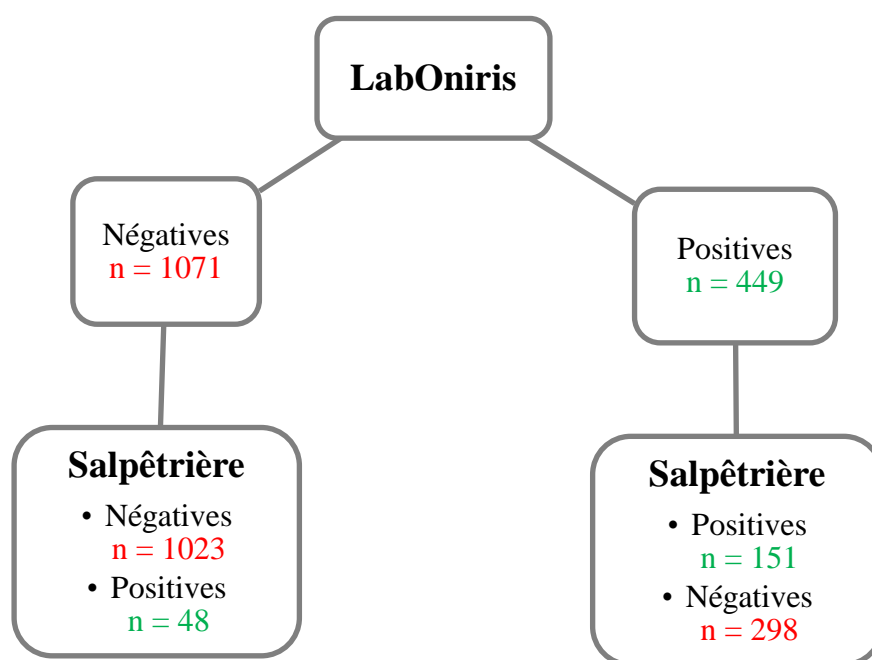


Figure 11 : Comparaison de la détection des principaux genres dermatophytes entre le LabOniris et l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière

En effet, parmi les 1520 moquettes envoyées pour analyse à la Pitié-Salpêtrière, 449 étaient positives à LabOniris, tandis que 199 l'ont été au MALDI-Tof à l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière. Certaines de ces moquettes ont été détectées positives avec les deux méthodes (n=151), tandis que d'autres ont été détectées positives uniquement à LabOniris (n=298) ou uniquement avec le MALDI-Tof (n=48).

### iii. Comparaison du portage entre les chats et les chiens

Parmi les 1520 moquettes étudiées, 787 proviennent de chats et 733 proviennent de chiens. Les Tableaux 3 et 4 précisent le nombre de prélèvements positifs pour les principaux genres de champignons pathogènes selon l'espèce d'origine des moquettes.

Tableau 3 : Représentativité des genres de champignons pathogènes sur les moquettes issues de chats

GENRE	Nombre de moquettes positives	Taux par rapport à l'ensemble des moquettes issues de chats (n = 787)
<i>Alternaria</i>	201	25,54%
<i>Aspergillus</i>	280	35,58%
<i>Aureobasidium</i>	4	0,51%
<i>Candida</i>	1	0,13%
<i>Fusarium</i>	6	0,76%
<i>Hormographiella</i>	1	0,13%
<i>Microsporium</i>	106	13,47%
<i>Mucor</i>	7	0,89%
<i>Nannizzia</i>	1	0,13%
<i>Penicillium</i>	87	11,05%
<i>Purpureocillium</i>	1	0,13%
<i>Rhizopus</i>	54	6,86%
<i>Scedosporium</i>	0	0,00%
<i>Talaromyces</i>	5	0,64%
<i>Trichophyton</i>	33	4,19%

Tableau 4 : Représentativité des genres de champignons pathogènes sur les moquettes issues de chiens

GENRE	Nombre de moquettes positives	Taux par rapport à l'ensemble des moquettes issues de chiens (n = 733)
<i>Alternaria</i>	284	38,74%
<i>Aspergillus</i>	241	32,88%
<i>Aureobasidium</i>	6	0,82%
<i>Candida</i>	1	0,14%
<i>Fusarium</i>	12	1,64%
<i>Hormographiella</i>	4	0,55%
<i>Microsporum</i>	42	5,73%
<i>Mucor</i>	6	0,82%
<i>Nannizzia</i>	20	2,73%
<i>Penicillium</i>	59	8,05%
<i>Purpureocillium</i>	4	0,55%
<i>Rhizopus</i>	16	2,18%
<i>Scedosporium</i>	2	0,27%
<i>Talaromyces</i>	5	0,68%
<i>Trichophyton</i>	18	2,46%

Certains genres fongiques sont retrouvés dans les mêmes proportions selon que les moquettes proviennent de chats ou de chiens comme *Candida*, *Mucor*, *Talaromyces*. Au contraire, certains genres semblent plus détectés sur les moquettes provenant de chats comme *Microsporum*, *Penicillium*, *Rhizopus* et *Trichophyton* ou de chiens : *Alternaria*, *Fusarium* et *Nannizzia*.

#### iv. Comparaison du portage selon les mois

Le nombre de prélèvements positifs à des genres fongiques varie selon les mois. Le tableau 5 recense le nombre de moquettes positives à des genres fongiques et aux principaux genres pathogènes en particulier (c'est-à-dire les genres retrouvés dans les tableaux précédents : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Fusarium*, *Hormographiella*, *Microsporum*, *Mucor*, *Nannizzia*, *Penicillium*, *Purpureocillium*, *Rhizopus*, *Scedosporium*, *Talaromyces*, *Trichophyton*).

Tableau 5 : Positivité des moquettes selon le mois de prélèvement

MOIS	Positivité à un genre fongique	Positivité à un genre fongique pathogène	Taux de positivité à un genre pathogène par rapport à tous les genres fongiques
Juillet	855	341	40 %
Août	832	355	43%
Septembre	925	376	41%
Octobre	1216	435	36%
<b>TOTAL</b>	<b>3828</b>	<b>1507</b>	<b>39%</b>

Parmi les quatre mois étudiés, le mois d'octobre est le mois présentant le plus de genres fongiques détectés avec 1216 moquettes positives, suivi des mois de septembre (n=925), de juillet (n=855) et d'août (n=832). De la même manière, davantage de genres d'espèces fongiques dites pathogènes sont détectés en octobre avec 435 moquettes positives pour au moins un genre pathogène.

En revanche, proportionnellement à tous les genres fongiques détectés, qu'ils soient pathogènes ou non, les genres pathogènes sont le plus souvent détectés en août (avec 43% des moquettes positives à au moins un genre pathogène), puis en septembre (41% des cas), en juillet (40%) et dans une moindre mesure en octobre (36%).

Par conséquent, le mois d'octobre est le mois le plus propice à la détection de champignons et principalement à des genres environnementaux non pathogènes (54% des genres détectés sont non pathogènes), tandis que moins de champignons sont détectés au mois d'août mais avec une détection en plus grande proportion de genres pathogènes. Les mois de septembre et de juillet sont intermédiaires, autant sur le nombre de moquettes positives que sur le taux de détection de genres pathogènes.

La détection de ces principaux genres pathogènes est détaillée dans le Tableau 6 selon le mois d'origine des moquettes.

**Tableau 6** : Représentativité des genres de champignons pathogènes sur les moquettes issues de chats et de chiens selon le mois de prélèvement

GENRE	Nombre de moquettes positives			
	Juillet	Août	Septembre	Octobre
<i>Alternaria</i>	133	93	130	129
<i>Aspergillus</i>	85	173	117	146
<i>Aureobasidium</i>	4	2	1	3
<i>Candida</i>	0	1	0	1
<i>Fusarium</i>	1	0	8	9
<i>Hormographiella</i>	2	0	1	2
<i>Microsporium</i>	39	15	37	57
<i>Mucor</i>	3	3	2	5
<i>Nannizzia</i>	2	2	10	7
<i>Penicillium</i>	45	26	43	32
<i>Purpureocillium</i>	3	1	1	0
<i>Rhizopus</i>	9	26	13	22
<i>Scedosporium</i>	0	1	1	0
<i>Talaromyces</i>	8	0	1	1
<i>Trichophyton</i>	7	12	11	21
<b>TOTAL</b>	<b>341</b>	<b>355</b>	<b>376</b>	<b>435</b>

## b. *Rhizopus arrhizus*

*Rhizopus arrhizus* est l'unique espèce du genre *Rhizopus* qui a été identifiée par spectrométrie. Sur les 1463 moquettes analysées par spectrométrie, 70 sont positives à *R. arrhizus* (Tableau 7), soit 4,8%.

Tableau 7 : Nombre de moquettes revenues positives à *R. arrhizus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les espèces canines et félines

Région	Chat				Chien			
	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Juillet	Août	Septembre	Octobre
Alsace	1			1			1	
Aquitaine			1	1				
Auvergne		1		2				1
Basse Normandie	2							
Bourgogne		1	4	1				2
Bretagne			1					
Centre		3				1	2	1
Champagne Ardenne		2						
Franche Comté		1						
Haute Normandie		2						
Ile de France		6				2	1	
Languedoc	1							
Limousin	1							
Lorraine	1							
Midi Pyrénées	1	1	1	4				1
Nord		2		1			1	
Pays de la Loire		2		2				1
Picardie				0				0
Poitou	1	0	1	2		0		
Provence	1		0			1	0	
Rhône Alpes		1		1				1

## i. Origine des prélèvements

Parmi les 787 moquettes issues de chats, 54 moquettes sont revenues positives à *R. arrhizus*, soit 6,9%.

Parmi les 733 moquettes issues de chiens, 16 moquettes sont revenues positives à *R. arrhizus*, soit 2,2%.

Un tableau de contingence (Tableau 8) est réalisé afin de déterminer si un lien peut être établi entre la détection de l'espèce *R. arrhizus* et l'espèce animale de provenance de la moquette.

Tableau 8 : Tableau de contingence de détection de *R. arrhizus* selon l'espèce d'origine de la moquette

	Moquettes provenant de chats	Moquettes provenant de chiens	Total
Détection de <i>R. arrhizus</i>	54	16	70
Absence de détection	733	717	1450
Total	787	733	1520

Avec le test exact de Chi<sup>2</sup>, **p-value = 7,827. 10<sup>-5</sup>**, est bien en-dessous du seuil de 0,05, ce qui signifie que l'association entre l'espèce animale et la détection de *R. arrhizus* est hautement significative. Par conséquent, il existe une association forte et significative entre l'espèce animale et la détection de *R. arrhizus*.

**Les moquettes provenant de chats sont significativement et plus susceptibles de contenir *R. arrhizus* par rapport aux moquettes provenant de chiens.**

## ii. Répartition spatiale

Pour décrire la détection de l'espèce fongique *R. arrhizus* selon les régions, le tableau de contingence (Tableau 9) utilisé est le suivant :

Tableau 9 : Tableau de contingence de détection de *R. arrhizus* selon les régions

Région	Détection	Absence de détection	Pourcentage de moquettes positives
Alsace	3	77	4%
Aquitaine	2	78	3%
Auvergne	4	73	5%
Basse Normandie	2	78	3%
Bourgogne	8	71	10%
Bretagne	1	78	1%
Centre	7	72	9%
Champagne-Ardenne	2	44	4%
Franche Comté	1	60	2%
Haute Normandie	2	78	3%
Ile de France	9	68	12%
Languedoc	1	77	1%
Limousin	1	15	6%
Lorraine	1	67	1%
Midi Pyrénées	8	72	10%
Nord	4	65	6%
Pays de la Loire	5	74	6%
Picardie	0	74	0%
Poitou	4	75	5%
Provence	2	77	3%
Rhône Alpes	3	77	4%

De nombreuses cellules contenant une valeur inférieure ou égale à 5, le test du Chi-carré n'est pas valide. Grâce au le test de Fisher avec simulation Monte-Carlo, la **p-value** obtenue est égale à **0,0133**, ce qui indique une association statistiquement significative entre la région et la détection de *R. arrhizus*.



Des histogrammes sont réalisés ainsi que des figures cartographiques à l'aide de l'outil Géodes de Santé Publique France [67], afin de représenter les répartitions régionales de l'identification de *R. arrhizus*.

Sur les moquettes issues de chats, *R. arrhizus* est identifié (Figure 12) :

- 6 et 7 fois dans les régions Midi-Pyrénées, Bourgogne et Ile de France, soit sur 15 à 18% des moquettes de ces régions
- 4 fois dans les régions Pays de la Loire et Poitou, soit sur 8 à 10% des moquettes
- 3 fois dans les régions Auvergne, Centre et Nord, soit sur 6 à 9% des moquettes
- 2 fois dans les régions Alsace, Aquitaine, Basse-Normandie, Haute-Normandie, Rhône Alpes, soit sur 5% des moquettes. *R. arrhizus* est également détecté.
- 1 fois dans les régions Franche Comté, Bretagne, Languedoc, Lorraine, Provence, soit sur 2 à 4% des moquettes
- Aucune fois en Picardie
- *R. arrhizus* est également détecté 2 fois en Champagne-Ardenne, ce qui représente 8% des moquettes de cette région et 1 fois dans la région Limousin, ce qui représente 12,5% des moquettes de cette région

Ainsi, avec ces prélèvements, *R. arrhizus* est détecté plus de 3 fois en quatre mois, soit au moins une fois par mois, dans 24% du territoire.

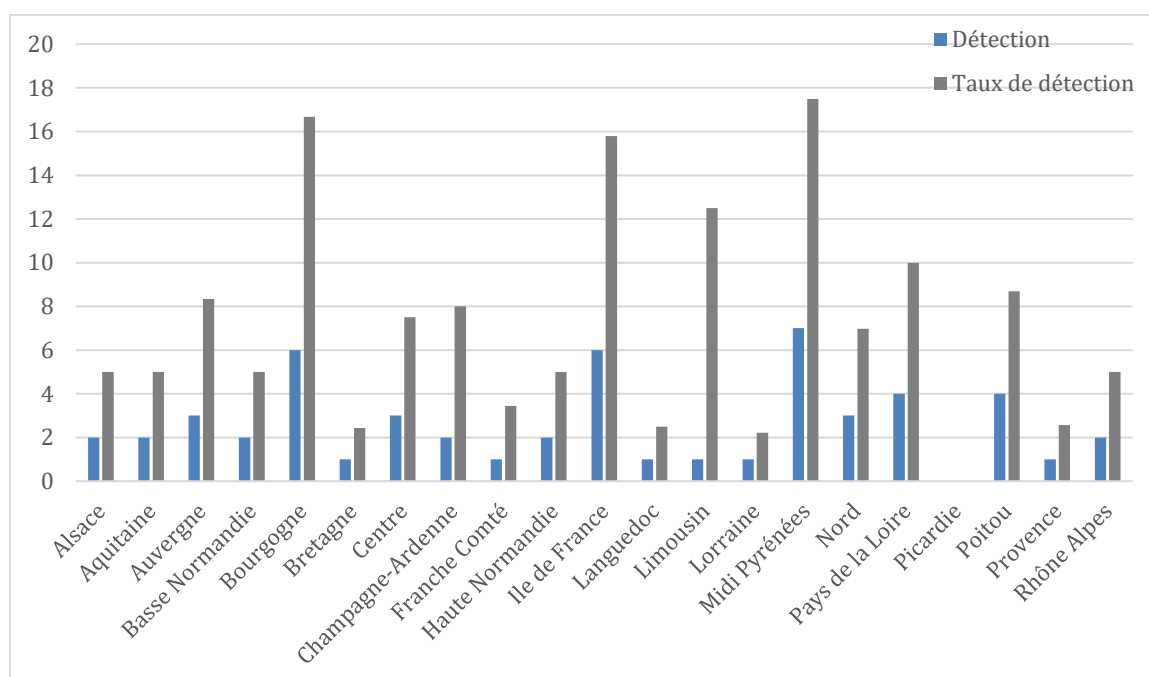


Figure 12 : Nombre de moquettes issues de chats revenues positives à *R. arrhizus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Spatialement (Figure 13), aucune tendance majeure ne semble se dégager. La détection de *R. arrhizus* paraît plus élevée dans les régions centrales à ouest (Ile de France, Bourgogne, Centre Auvergne, Poitou, Limousin, Pays de la Loire). Les régions frontalières du sud, de l'est et du nord, hormis Midi Pyrénées et Champagne-Ardenne, semblent moins propices à la détection de *R. arrhizus*.

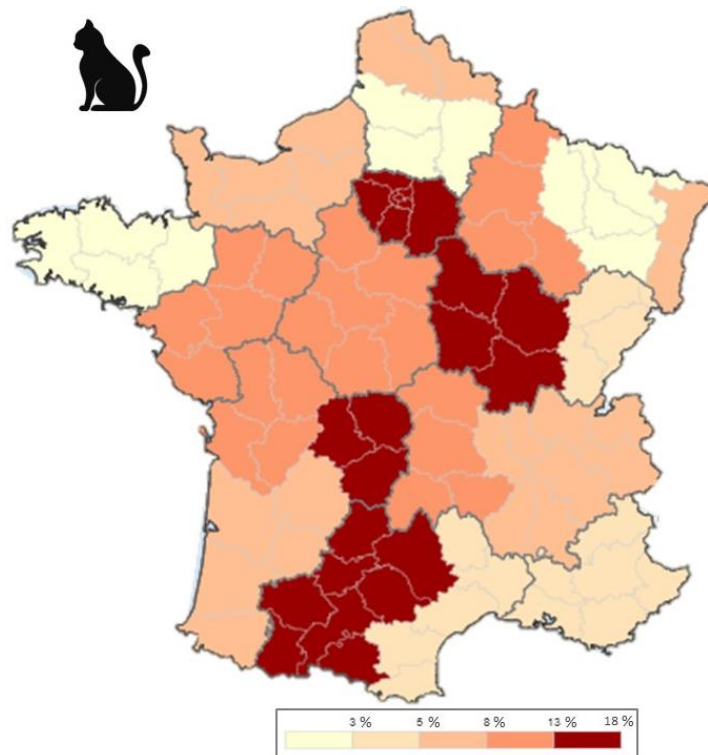
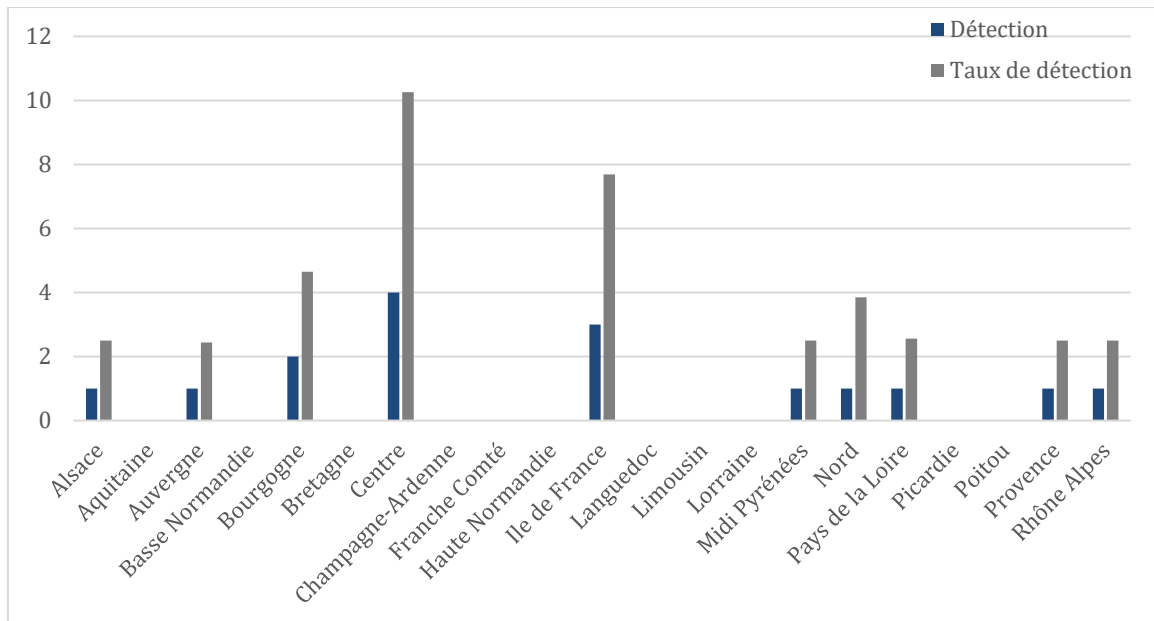


Figure 13 : Répartition spatiale de *R. arrhizus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats

Sur les moquettes issues de chiens (Figure 14), *R. arrhizus* est identifié :

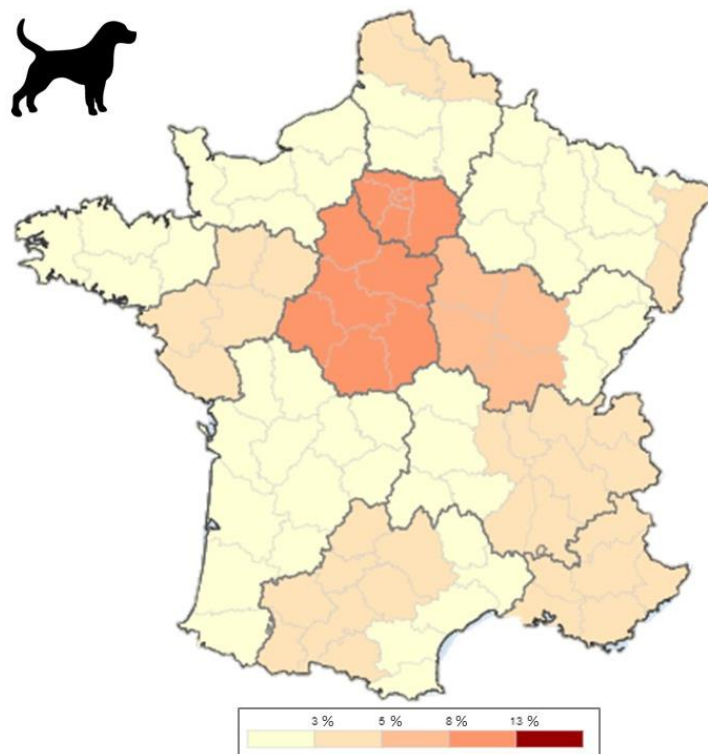
- 4 fois dans la région Centre, soit sur 10,3% des moquettes
- 3 fois dans la région Ile de France, soit sur 7,7% des moquettes
- 2 fois dans la région Bourgogne, soit sur 4,7% des moquettes
- 1 fois dans les régions Alsace, Auvergne, Midi Pyrénées, Pays de la Loire, Provence, Rhône Alpes, soit sur 2 à 3% des moquettes. *R. arrhizus* est également détecté 1 fois dans la région Nord, ce qui représente 3,8% des moquettes de cette région
- Aucune fois en Aquitaine, Basse-Normandie, Bretagne, Champagne-Ardenne, Franche Comté, Haute Normandie, Languedoc, Limousin, Lorraine, Picardie et Poitou

Ainsi, avec ces prélèvements, *R. arrhizus* est détecté plus de 3 fois en quatre mois, soit au moins une fois par mois, dans 4,8% du territoire.



**Figure 14** : Nombre de moquettes issues de chiens revenues positives à *R. arrhizus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Spatialement (**Figure 15**), la détection de *R. arrhizus* est plus importante mais reste peu élevée dans les régions centrales du pays : Île de France, Centre et Bourgogne. Cette détection est limitée à moins de 2 identifications en quatre mois dans toutes les autres régions qui correspondent à toutes les régions frontalières ainsi qu’aux régions Limousin et Auvergne.



**Figure 15** : Répartition spatiale de *R. arrhizus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chiens

Ainsi, pour les moquettes issues des deux espèces confondues (Figure 16), l'espèce *R. arrhizus* est identifiée en plus grandes proportions sur les moquettes issues des régions Ile de France, Bourgogne, Midi Pyrénées et Centre. Elle y est détectée plus de 7 fois, soit sur 9 à 12% des moquettes de ces régions. Elle est détectée entre 3 et 5 fois, soit sur 4 à 6% des moquettes des régions Alsace, Auvergne, Nord, Pays de la Loire, Poitou et Rhône Alpes. Elle est également détectée dans ces proportions sur les moquettes issues du Limousin et de Champagne-Ardenne (respectivement 6% et 4%), mais le nombre absolu de moquettes positives est inférieur à 3 en raison du faible effectif. Enfin, elle est détectée moins de 3 fois sur les moquettes issues des neuf régions restantes, soit un taux de positivité des moquettes inférieur ou égal à 3%. Elle n'est notamment jamais détectée en Picardie.

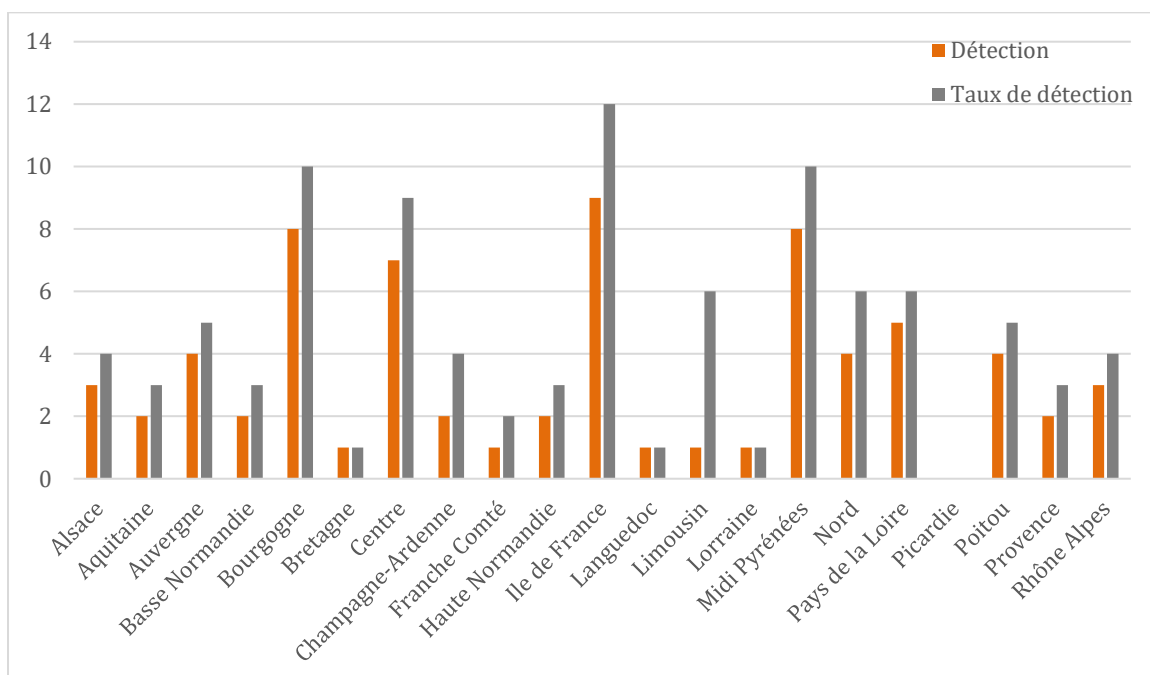
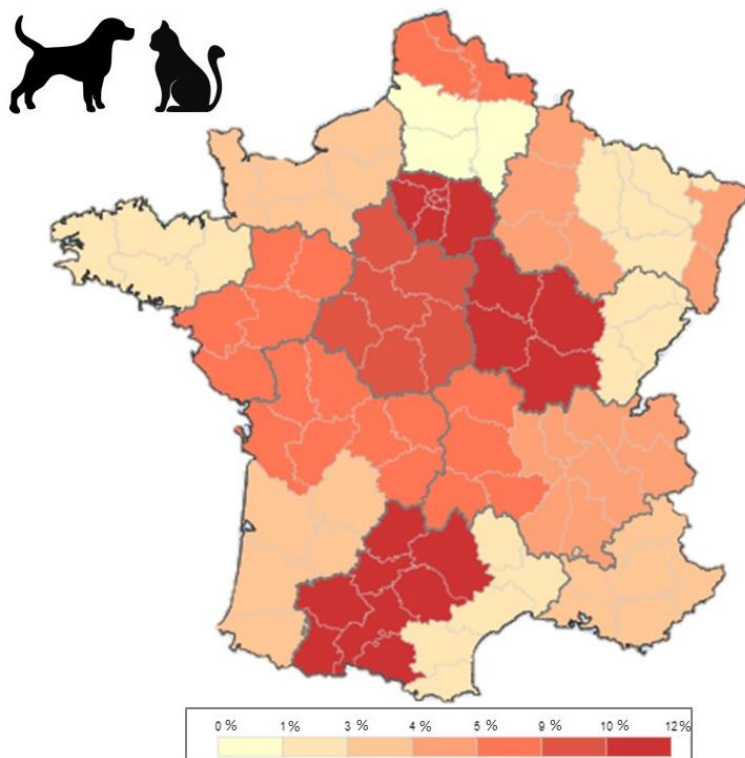


Figure 16 : Nombre de moquettes issues de chats et de chiens revenues positives à *R. arrhizus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Géographiquement (Figure 17), il est plus difficile d'émettre des hypothèses quant aux tendances spatiales où *R. arrhizus* est davantage identifiée. Elle semble davantage détectée dans les régions centrales à ouest du pays (Ile de France, Bourgogne, Centre, Pays de la Loire, Limousin, Poitou, Auvergne) mais également dans quelques régions frontalières du sud (Midi Pyrénées) et du nord (Nord).



**Figure 17** : Répartition spatiale de *R. arrhizus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Les régions **Ile de France** et **Bourgogne** sont donc des régions où est fortement détecté *R. arrhizus* à la fois sur les moquettes issues de chats et de chiens en comparaison aux autres régions, tandis que le taux d'identification élevé en Midi Pyrénées concerne plutôt les moquettes provenant de chats et le taux élevé en région Centre concerne plutôt les moquettes provenant de chiens.

### iii. Répartition temporelle

Afin de déterminer si la détection de *R. arrhizus* dépend du mois d'origine de la moquette, le tableau de contingence suivant (**Tableau 10**) est utilisé.

**Tableau 10** : Tableau de contingence de détection de *R. arrhizus* selon le mois d'origine de la moquette

	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Total
Détection de <i>R. arrhizus</i>	9	26	13	22	70
Absence de détection	376	343	370	361	1450
Total	385	369	383	383	1520
Pourcentage de moquettes positives	2,3 %	7 %	3,4 %	5,7 %	4,6 %

Avec le test du chi-carré, **p-value = 0,007664**. Le nombre de moquettes sur lesquelles sont identifiées *R. arrhizus* varie donc significativement selon les mois sur notre période d'étude. La proportion de moquettes positives est plus élevée en août et en octobre, par comparaison au taux moyen de positivité de 4,6% sur ces quatre mois.

Parmi les moquettes provenant de chats (Figure 18), *R. arrhizus* est identifié plus fréquemment, par ordre décroissant, aux mois d'août, octobre, juillet et septembre.

Parmi les moquettes provenant de chiens, la répartition temporelle est différente avec des identifications plus élevées en octobre, septembre et août, dans l'ordre décroissant. Aucun champignon n'a été détecté sur les moquettes du mois de juillet.

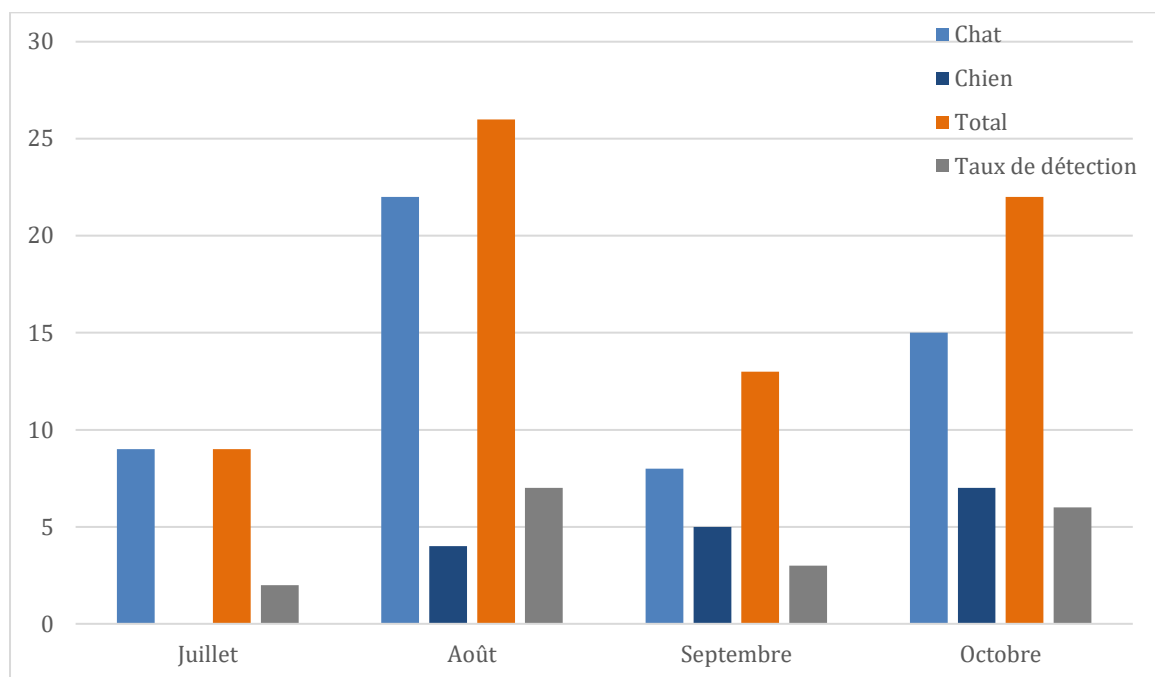


Figure 18 : Répartition temporelle et taux de détection de *R. arrhizus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Pour les moquettes issues des deux espèces, le mois d'**août** semble donc être le plus favorable à l'identification de *Rhizopus arrhizus* en comparaison notamment au mois de juillet et de septembre, notamment grâce à une forte détection de cette espèce sur les moquettes issues de chats. Le mois d'**octobre** est également propice à la détection de l'espèce fongique, avec une identification plus importante sur les moquettes issues de chiens qu'au mois d'août. Pour ces deux mois, plus de 20 détections de *Rhizopus arrhizus* ont ainsi eu lieu sur les moquettes provenant de chats et de chiens de France métropolitaine.

### c. *Alternaria alternata*

Plusieurs espèces du genre *Alternaria* ont été identifiées par spectrométrie. Il s'agit du second genre le plus identifié dans cette étude, avec 485 moquettes positives sur 1463, soit 33,2%.

*Alternaria alternata* est l'espèce majoritairement identifiée au sein de ce genre, avec 243 moquettes positives pour cette espèce parmi les 485 (Tableau 11), soit 50,1%. Ainsi, sur les 1463 moquettes étudiées, cette espèce est retrouvée dans 16,6% des cas.

**Tableau 11** : Nombre de moquettes revenues positives à *A. alternata* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les espèces canines et félines

Région	Chat				Chien			
	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Juillet	Août	Septembre	Octobre
Alsace	3	3	2	2	1	3	4	3
Aquitaine		2	3	2	1	4	2	5
Auvergne	1		3		1	3	6	4
Basse Normandie			1	1	1	1	2	
Bourgogne	1	1	1	2	1	1	4	4
Bretagne		3	1	5	1		2	9
Centre		2	2		3	2	3	2
Champagne Ardenne		3				1	2	
Franche Comté		1	1	2		1		8
Haute Normandie	1		1	1			1	1
Ile de France					1		1	1
Languedoc	4		4		5		2	
Limousin								
Lorraine	3		2					
Midi Pyrénées	2	1	2	2	2	2	1	2
Nord	2		1		1		1	
Pays de la Loire		2		3	1		1	
Picardie	3		1	0	1		1	0
Poitou	3	0		1		0	2	4
Provence	3	3	0	2	4	1	0	7
Rhône Alpes	4		1	3	3	4	1	4

## i. Origine des prélèvements

Chez les chiens, 284 moquettes sont revenues positives au genre *Alternaria* spp dont 140 positives à *Alternaria alternata*, soit 49,3%. Cette espèce représente 9,6% des moquettes étudiées.

Chez les chats, 201 moquettes sont revenues positives au genre *Alternaria* spp dont 103 positives à *Alternaria alternata*, soit 51%. Cette espèce représente 7% des moquettes étudiées. L'isolement de l'espèce *Alternaria alternata* au sein du genre est donc qualitativement similaire pour les deux espèces canines et félines avec une proportion de 50 +/- 1 %. En revanche, cette espèce est qualitativement plus fréquemment retrouvée dans l'espèce canine (9,6%) que dans l'espèce féline (7%).

Un test statistique utilisant le tableau de contingence suivant (Tableau 12) est réalisé afin de vérifier si la détection de *A. alternata* dépend effectivement de l'espèce canine ou féline.

Tableau 12 : Tableau de contingence de détection de *A. alternata* selon l'espèce d'origine de la moquette

	Moquettes provenant de chats	Moquettes provenant de chiens	Total
Détection de <i>A. alternata</i>	103	140	243
Absence de détection	684	593	1277
Total	787	733	1520

Avec le test de  $\chi^2$ , **p-value = 0,001774**, bien en-dessous du seuil de 0,05, ce qui signifie que l'association entre l'espèce animale et la détection de *R. arrhizus* est statistiquement significative.

**Par conséquent, il existe une association significative entre l'espèce d'origine de la moquette (chat ou chien) et la probabilité de détection de *A. alternata*. Les moquettes provenant de chats sont moins susceptibles d'être positives à *A. alternata* que les moquettes provenant de chiens.**



## ii. Répartition spatiale

Afin de déterminer si un lien existe entre la détection de *A. alternata* et les régions de provenance des moquettes, un test statistique utilisant un tableau de contingence (Tableau 13) est réalisé.

Tableau 13 : Tableau de contingence de détection de *A. alternata* selon les régions

Région	Détection	Absence de détection	Pourcentage de moquettes positives
Alsace	21	59	26%
Aquitaine	19	61	24%
Auvergne	18	59	23%
Basse Normandie	6	74	8%
Bourgogne	15	64	19%
Bretagne	21	58	27%
Centre	14	65	18%
Champagne-Ardenne	6	40	13%
Franche Comté	13	48	21%
Haute Normandie	5	75	6%
Ile de France	3	74	4%
Languedoc	15	63	19%
Limousin	0	16	0%
Lorraine	5	63	7%
Midi Pyrénées	14	66	18%
Nord	5	64	7%
Pays de la Loire	7	72	9%
Picardie	6	68	8%
Poitou	10	69	13%
Provence	20	59	25%
Rhône Alpes	20	60	25%

La p-value obtenue avec le test du Chi-carré est égale à  $2,949.10^{-7}$  et est bien inférieure au seuil de significativité de 0,05. **Il existe donc une association significative entre la région et la détection de *A. alternata*.**

Les cellules Haute Normandie, Ile de France, Limousin et Nord contenant une valeur inférieure ou égale à 5, le test de Fisher avec simulation Monte-Carlo est réalisé pour valider nos résultats. La p-value obtenue est égale à  $9,999.10^{-5}$ , ce qui indique également une association statistiquement significative entre la région et la détection de *A. alternata*. Des histogrammes et représentations cartographiques sont réalisés pour illustrer ce résultat.

Sur les moquettes issues de chats, *A. alternata* est identifié (Figure 19) :

- 9 à 10 fois dans les régions Alsace et Bretagne, soit sur 22 à 25% des moquettes
- 7 à 8 fois dans les régions Languedoc, Provence, Rhône Alpes, Aquitaine et Midi Pyrénées, soit sur 18 à 21% des moquettes
- 4 à 5 fois dans les régions Bourgogne, Lorraine, Pays de la Loire, Auvergne, Centre, Franche Comté, Picardie, Poitou, soit sur 9 à 14% des moquettes
- 2 à 3 fois dans les régions Haute Normandie, Nord, Basse Normandie, soit sur 5 à 8% des moquettes
- Aucune fois dans les régions Ile de France et Limousin
- *A. alternata* est également détecté 3 fois en Champagne-Ardenne, ce qui représente 12% des moquettes de cette région

Ainsi, avec ces prélèvements, en quatre mois, *A. alternata* est détecté plus de 6 fois dans 33,5% du territoire et est détecté moins de 4 fois dans 28,5% du territoire étudié.

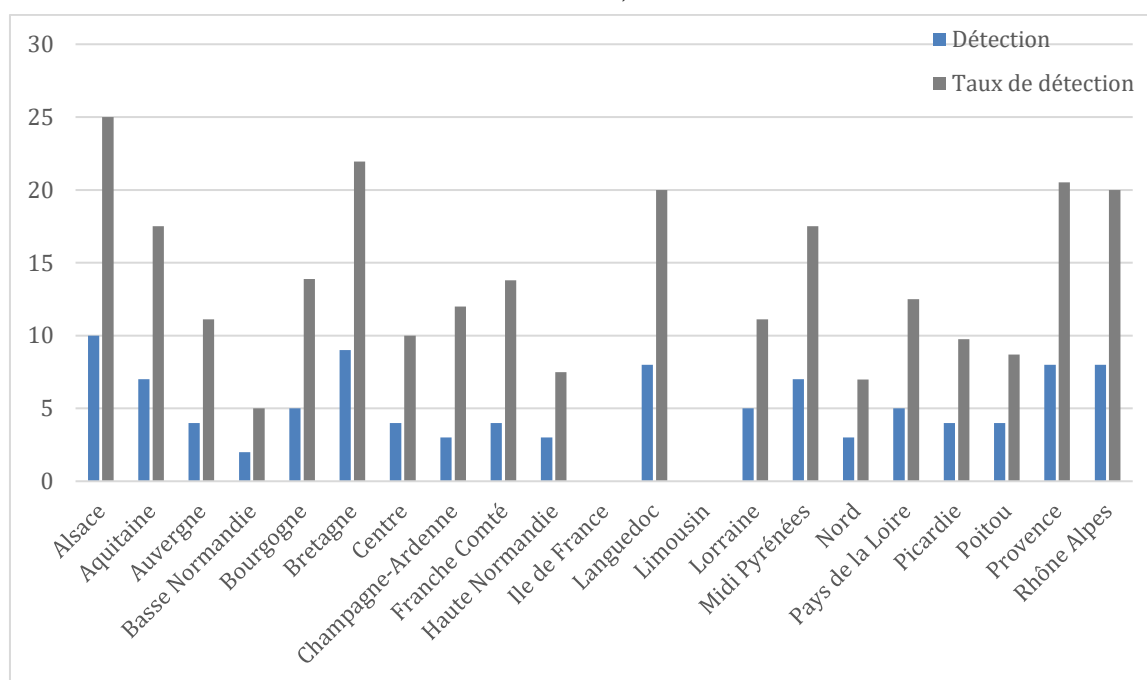
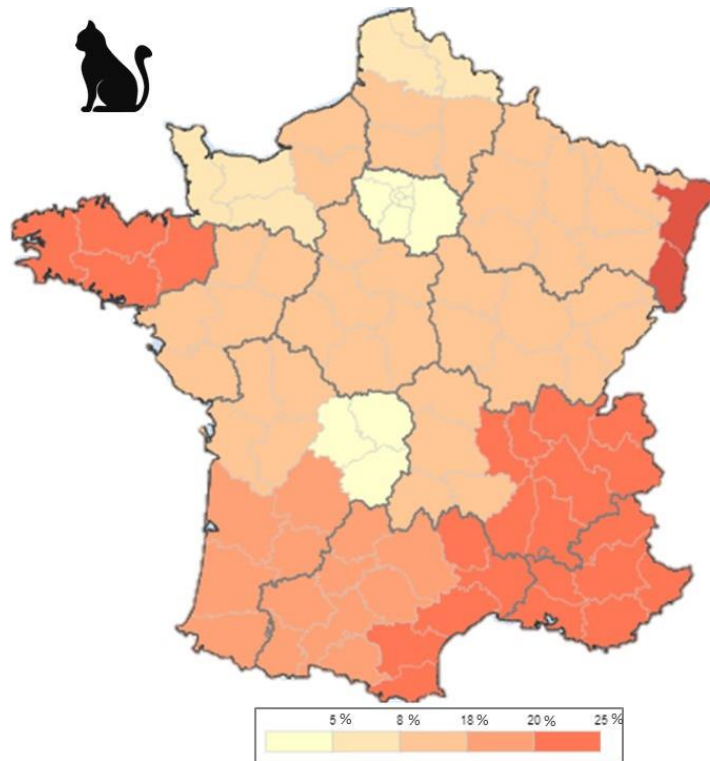


Figure 19 : Nombre de moquettes issues de chats revenues positives à *A. alternata* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Avec la représentation cartographique (Figure 20), la détection de *A. alternata* paraît plus élevée à l'ouest (Bretagne), à l'est (Alsace) et dans le sud de la France (Aquitaine, Midi Pyrénées, Languedoc, Provence, Rhône Alpes), tandis que cette détection est moins importante du centre au nord de la France.



**Figure 20** : Répartition spatiale de *A. alternata* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats

Sur les moquettes issues de chiens, *A. alternata* est identifié (**Figure 21**) :

- 14 fois en Auvergne, soit sur 34% des moquettes
- 12 fois dans les régions Alsace, Aquitaine, Bretagne, Provence et Rhône Alpes, soit sur 27,5 à 32% des moquettes
- 9 à 10 fois dans les régions Bourgogne et Centre, soit sur 23 à 26% des moquettes. *A. alternata* est également détecté 9 fois en Champagne-Ardenne, ce qui représente 28% des moquettes de cette région
- 6 à 7 fois dans les régions Languedoc, Midi Pyrénées et Poitou, soit sur 17,5 à 18,4% des moquettes
- 3 à 4 fois dans les régions Basse Normandie et Ile de France, soit sur 7,5 à 10% des moquettes. *A. alternata* est également détecté 3 fois en Champagne-Ardenne, ce qui représente 14,3% des moquettes de cette région
- 2 fois dans les régions Haute Normandie, Nord, Pays de la Loire et Picardie, soit sur 5 à 7,5% des moquettes
- Aucune fois dans les régions Limousin et Lorraine

Ainsi, avec ces prélèvements, en quatre mois, *A. alternata* est détecté plus de 8 fois dans 42,8% du territoire et est détecté moins de 5 fois dans 42,5% du territoire étudié.

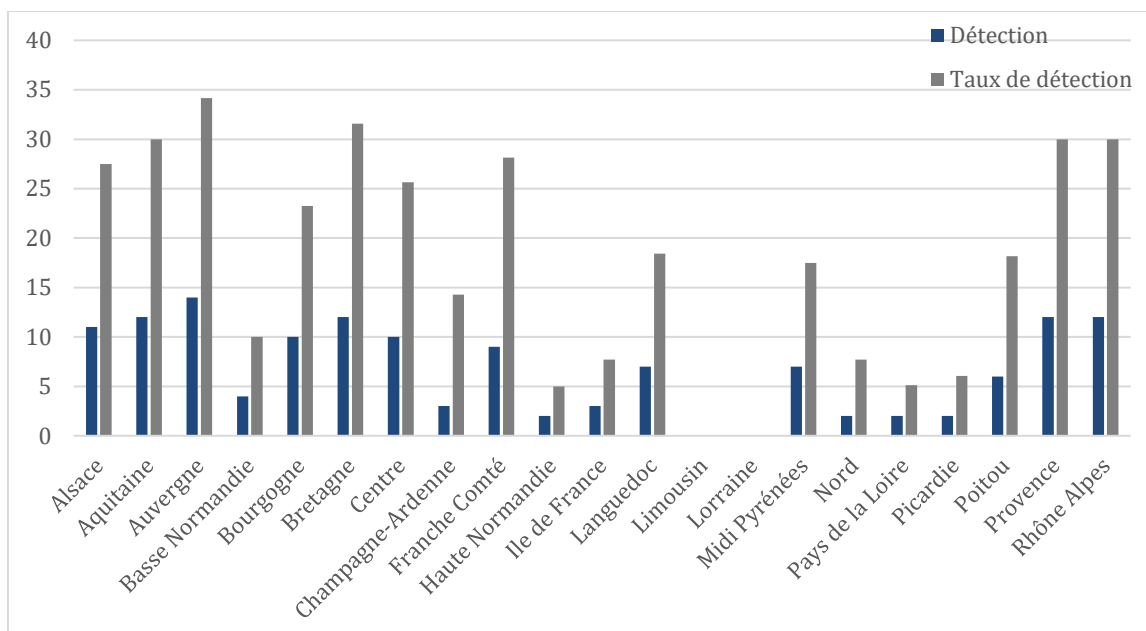


Figure 21 : Nombre de moquettes issues de chiens revenues positives à *A. alternata* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Géographiquement (Figure 22), la détection de *A. alternata* paraît plus élevée au sud et à l'est (Alsace, Champagne-Ardenne, Rhône Alpes, Provence) ainsi que dans le centre du territoire (Centre, Bourgogne, Auvergne). Le taux de détection est aussi élevé en Bretagne et en Aquitaine.

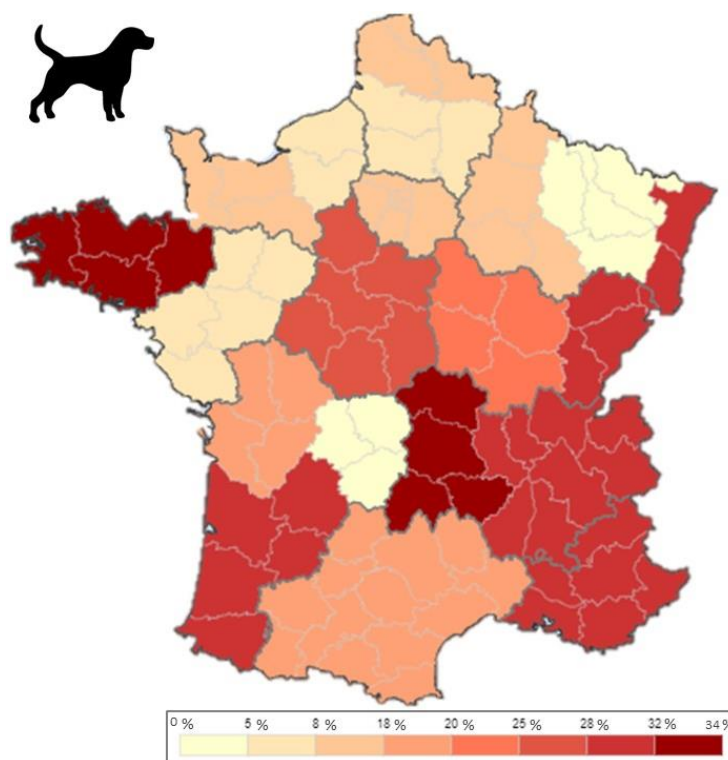


Figure 22 : Répartition spatiale de *A. alternata* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chiens

Ainsi, pour les moquettes issues des deux espèces confondues (Figure 23), *A. alternata* est identifié en plus grande proportion dans les moquettes issues des régions Alsace, Bretagne, Provence, Rhône Alpes ainsi qu'en Aquitaine et Auvergne en moindre mesure. Il est détecté plus de 15 fois, soit sur plus de 23% des moquettes de ces régions. Il est détecté entre 10 et 15 fois, soit sur 13% à 21% des moquettes des régions Bourgogne, Centre, Franche Comté, Languedoc, Midi Pyrénées et Poitou. Il est également détecté sur 13% des moquettes de la région Champagne-Ardenne, ce qui représente 6 moquettes positives au vu du faible effectif. Enfin, il est détecté moins de 7 fois, soit sur moins de 9% des moquettes issues des huit régions restantes. Il n'est notamment jamais détecté sur les moquettes issues de la région Limousin.

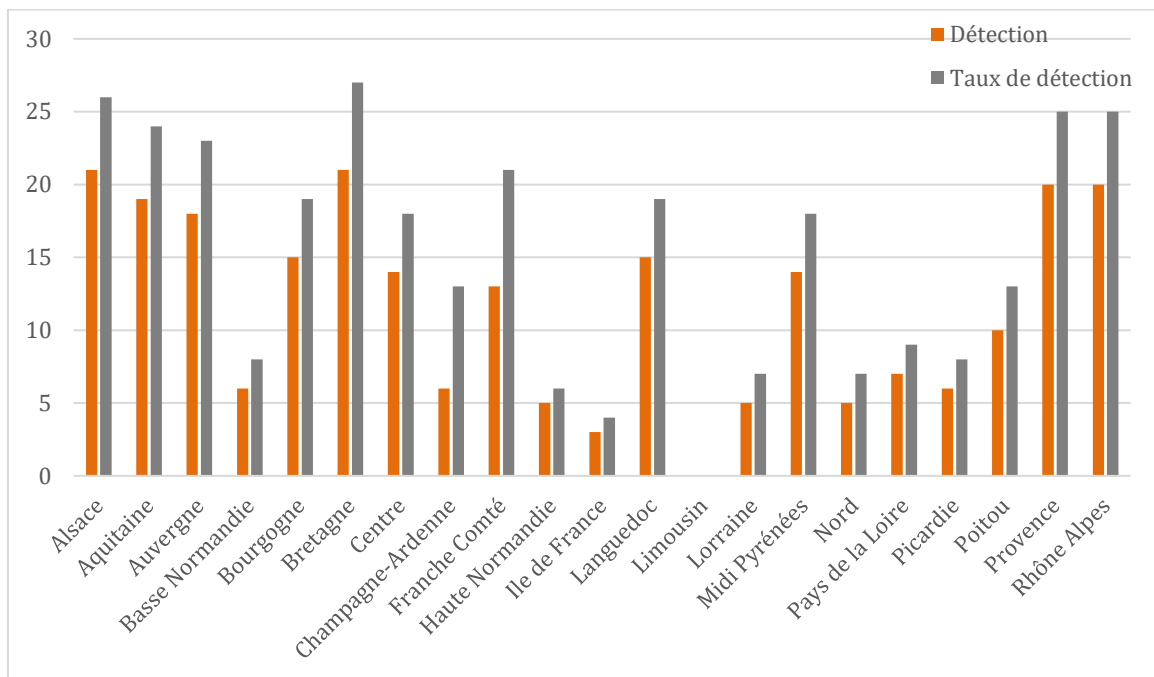
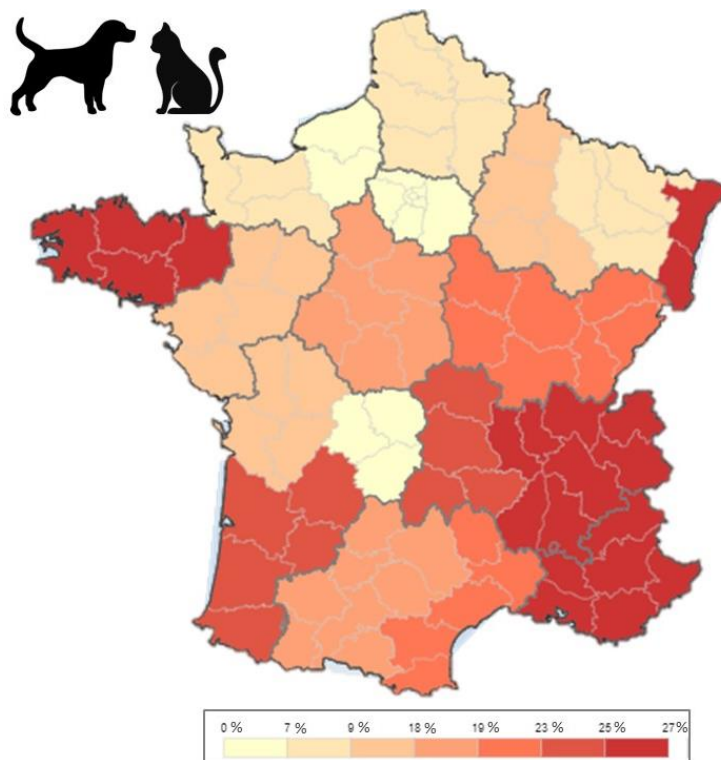


Figure 23 : Nombre de moquettes issues de chats et de chiens revenues positives à *A. alternata* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Spatialement (Figure 24), la détection de *A. alternata* est plus importante du centre au sud-est du territoire avec une identification remarquable dans les régions Bourgogne, Auvergne, Franche Comté, Alsace, Rhône Alpes, Provence et également dans le sud-ouest en Languedoc, et Aquitaine. Isolément, une identification élevée est également retrouvée en Bretagne. Dans les régions du nord et de l'ouest du pays (Bretagne et Aquitaine exclues), ainsi que dans le Limousin, le champignon *A. alternata* est moins identifié.



**Figure 24** : Répartition spatiale de *A. alternata* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Les régions **Bretagne**, **Alsace** et du sud de la France (en particulier **Aquitaine**, **Provence** et **Rhône Alpes**) sont donc des régions où est plus fortement détecté *A. alternata* que dans les autres régions, tandis que le taux d'identification élevé dans les régions du centre du pays (Centre, Bourgogne, Auvergne) concerne plutôt les moquettes provenant de chiens.

### iii. Répartition temporelle

Afin de déterminer si la détection de *A. alternata* dépend du mois d'origine de la moquette, un test statistique utilisant le tableau de contingence suivant (**Tableau 14**) est réalisé.

**Tableau 14** : Tableau de contingence de détection de *A. alternata* selon le mois d'origine de la moquette

	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Total
Détection de <i>A. fumigatus</i>	57	44	62	80	243
Absence de détection	328	325	321	303	1277
Total	385	369	383	383	1520
Pourcentage de moquettes positives	14,8 %	11,9 %	16,2 %	20,9 %	16 %

Avec le test du chi-carré, **p-value = 0,0008117** et X-squared = 11,796. Avec un p-value inférieur au seuil de 0,05, l'hypothèse nulle selon laquelle il n'y a pas de différence dans la détection de *A. alternata* entre les mois est rejetée. **Il est donc probable que cette détection varie de manière significative entre les mois et que ce ne soit pas dû au hasard.**

L'histogramme (Figure 25) révèle que parmi les moquettes provenant de chats, *A. alternata* est identifié dans un ordre de grandeur similaire pour les quatre mois, compris entre 20 et 30. Davantage de champignons sont détectés en juillet et autant sont détectés en septembre et en octobre.

Parmi les moquettes provenant de chiens, la répartition temporelle est différente avec une identification nettement plus élevée en octobre, puis en septembre et des taux proches des moquettes issues de chats en juillet et en août.

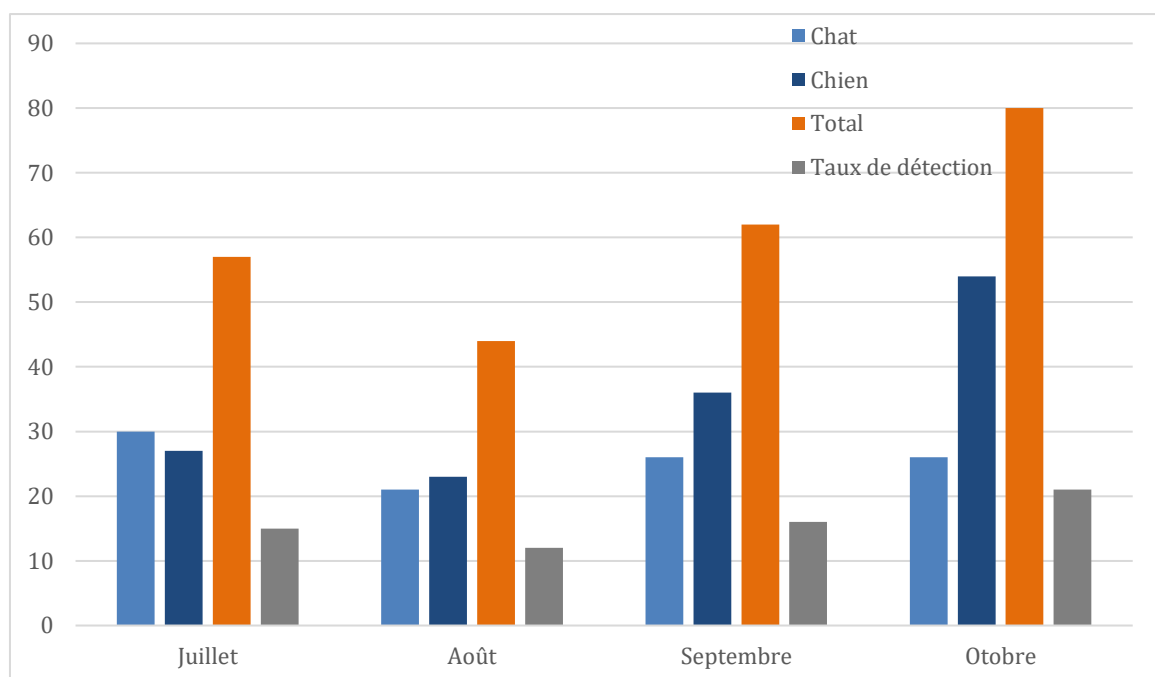


Figure 25 : Répartition temporelle et taux de détection de *A. alternata* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Pour les moquettes issues des deux espèces (Figure 25), la détection de *Alternaria alternata* est possible de juillet à octobre avec l'identification d'au moins 40 champignons par mois. Une forte identification du champignon est remarquable au mois d'**octobre** due à la détection presque doublée sur les moquettes provenant de chiens pour ce même mois.

#### d. *Aspergillus fumigatus*

Plusieurs espèces du genre *Aspergillus* ont été identifiées par spectrométrie. Il s'agit du genre le plus identifié dans cette étude avec 521 moquettes positives sur 1463, soit 35,6%. Parmi ces moquettes, 121 sont porteuses de l'espèce *Aspergillus fumigatus* (Tableau 15), qui est donc retrouvée sur 8,3% des moquettes analysées.

**Tableau 15** : Nombre de moquettes revenues positives à *Aspergillus fumigatus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les espèces canines et félines

Région	Chat				Chien			
	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Juillet	Août	Septembre	Octobre
Alsace			3	2			2	6
Aquitaine			1	2			1	2
Auvergne			1	1	1		1	2
Basse Normandie				1				1
Bourgogne				3				1
Bretagne				7				6
Centre		1		2				1
Champagne Ardenne								
Franche Comté			2					2
Haute Normandie	1				1	1		
Ile de France	1			1				1
Languedoc								
Limousin	1					1		
Lorraine								
Midi Pyrénées		1	1	2		4		3
Nord	1			2				2
Pays de la Loire		1	1	1	1	1		2
Picardie		1	2	0			1	0
Poitou	1	0	8	2		0	9	1
Provence		1	0	3			0	1
Rhône Alpes		2	2	1		2		1



## i. Origine des prélèvements

Chez les chiens, 241 moquettes sont revenues positives au genre *Aspergillus* dont 58 positives à *Aspergillus fumigatus*, soit 24%. Cette espèce représente 4% des moquettes étudiées.

Chez les chats, 280 moquettes sont revenues positives au genre *Aspergillus* dont 63 positives à *Aspergillus fumigatus*, soit 22,5%. Cette espèce représente 4,3% des moquettes étudiées.

L'isolement de l'espèce *Aspergillus fumigatus* au sein du genre est donc qualitativement similaire pour les deux espèces canines et félines avec une proportion à 23,3 +/- 1%. Cette espèce est également qualitativement retrouvée aussi fréquemment dans l'espèce canine (4%) que dans l'espèce féline (4,3%).

Un tableau de contingence (Tableau 16) est utilisé afin de vérifier l'absence d'association entre la détection de *A. fumigatus* et l'espèce canine ou féline d'origine de la moquette.

Tableau 16 : Tableau de contingence de détection de *A. fumigatus* selon l'espèce d'origine de la moquette

	Moquettes provenant de chats	Moquettes provenant de chiens	Total
Détection de <i>A. fumigatus</i>	63	58	121
Absence de détection	724	675	1399
Total	787	733	1520

Avec le test exact de Fisher, **p-value = 1**, non significatif, ce qui signifie qu'il n'y a aucune preuve pour rejeter l'hypothèse nulle de départ. Ainsi, les données ne suggèrent aucune différence significative entre les moquettes provenant de chats et celles provenant de chiens pour la détection de *A. fumigatus*. De plus, l'odds ratio **OR = 1,012686** est très proche de 1. Ainsi, la probabilité de détection fongique est presque égale entre les moquettes provenant de chats et celles provenant de chiens. **IC à 95% = 0,6862664 à 1,4964317** et comprend 1, ce qui signifie que l'odds ratio pourrait être égal à 1 et renforce l'idée que les probabilités de détection de *A. fumigatus* sont similaires entre les deux groupes.

**Par conséquent, il n'existe pas d'association significative entre l'espèce d'origine de la moquette (chat ou chien) et la probabilité de détection de *A. fumigatus*. Les moquettes provenant de chats et de chiens ont effectivement des probabilités similaires de revenir positives à *A. fumigatus*.**

## ii. Répartition spatiale

Afin de déterminer si un lien existe entre la détection de l'espèce fongique *A. fumigatus* et les régions françaises, un tableau de contingence est utilisé (Tableau 17).

Tableau 17 : Tableau de contingence de détection de *A. fumigatus* selon les régions

Région	Détection	Absence de détection	Pourcentage de moquettes positives
Alsace	13	67	16%
Aquitaine	6	74	8%
Auvergne	6	71	8%
Basse Normandie	2	78	3%
Bourgogne	4	75	5%
Bretagne	13	66	16%
Centre	4	75	5%
Champagne-Ardenne	0	46	0%
Franche Comté	4	57	7%
Haute Normandie	3	77	4%
Ile de France	3	74	4%
Languedoc	0	78	0%
Limousin	2	14	13%
Lorraine	0	68	0%
Midi Pyrénées	11	69	14%
Nord	5	64	7%
Pays de la Loire	7	72	9%
Picardie	4	70	5%
Poitou	21	58	27%
Provence	5	74	6%
Rhône Alpes	8	72	10%

Avec le test du Chi-carré, **p-value = 1,108. 10<sup>-5</sup>**, et de même avec le test de Fisher, **p-value = 9,999. 10<sup>-5</sup>**. Les deux tests montrent des p-values très faibles, ce qui confirme l'existence d'une association significative entre la détection de *A. fumigatus* et les régions. Des représentations graphiques et cartographiques sont donc réalisées pour illustrer ce résultat.

Sur les moquettes issues de chats (Figure 26), *A. fumigatus* est identifié :

- 11 fois dans la région Poitou, soit sur 24% des moquettes
- 7 fois dans la région Bretagne, soit sur 17% des moquettes
- 4 à 5 fois dans les régions Alsace, Rhône Alpes, Midi Pyrénées et Provence, soit sur 10 à 12,5% des moquettes
- 3 fois dans les régions Aquitaine, Bourgogne, Centre, Nord, Pays de la Loire et Picardie, soit sur 7 à 8,5% des moquettes
- 2 fois dans les régions Auvergne, Franche Comté et Ile de France, soit sur 5 à 7% des moquettes
- 1 fois dans les régions Basse Normandie et Haute Normandie, soit sur 2,5% des moquettes
- Aucune fois dans les régions Champagne-Ardenne, Languedoc et Lorraine
- *A. fumigatus* est aussi détecté 1 fois dans la région Limousin, ce qui représente 12,5% des moquettes de cette région

Ainsi, avec ces prélèvements, en quatre mois, *A. fumigatus* est détecté plus de 6 fois dans 9,6% du territoire et est détecté moins de 3 fois dans 42% du territoire étudié.

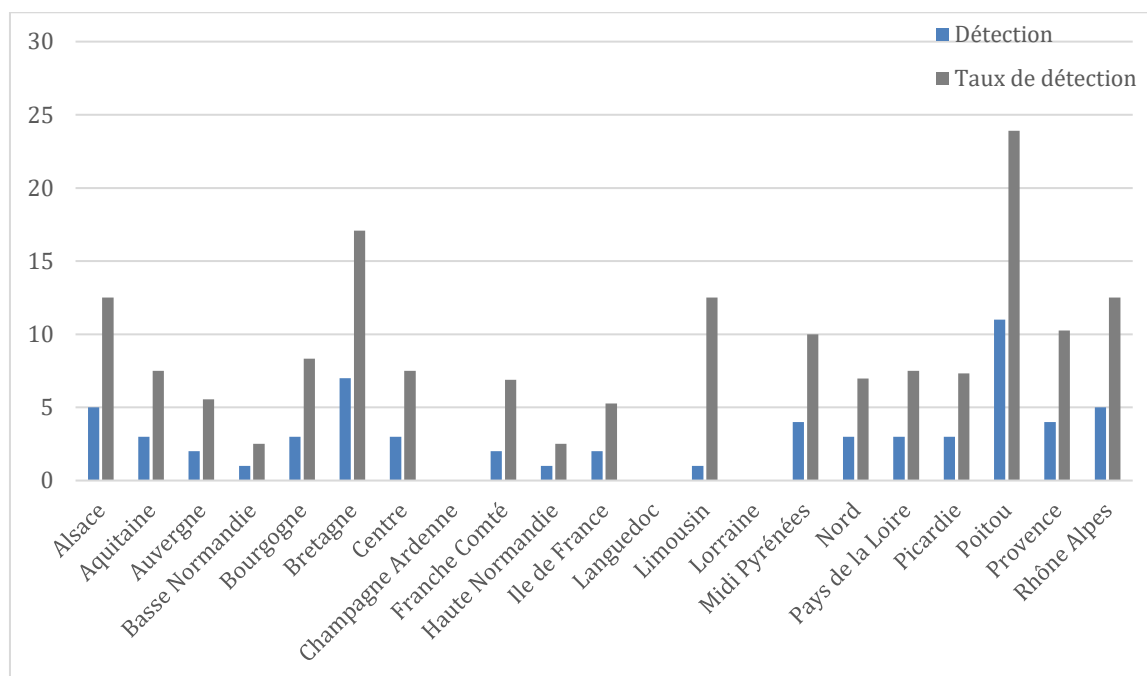
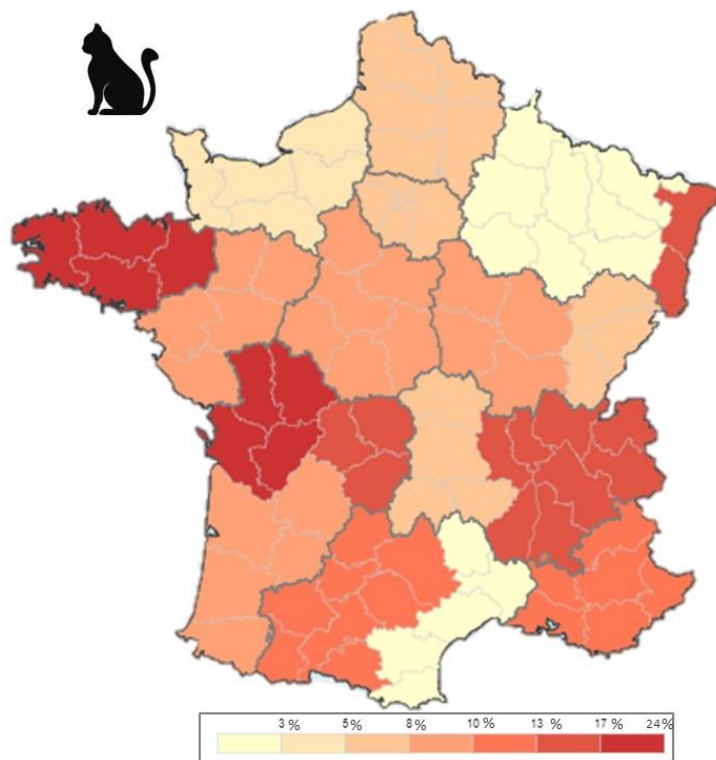


Figure 26 : Nombre de moquettes issues de chats revenues positives à *A. fumigatus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Avec la représentation cartographique (Figure 27), la détection de *A. fumigatus* est plus élevée sur les moquettes provenant de Bretagne, Poitou Charentes, Alsace et Midi Pyrénées. Il est difficile d'établir une tendance géographique car les détections fongiques varient fortement selon chaque région. La détection est en revanche plus faible au nord (Basse et Haute

Normandie) voire nulle au nord-est (Champagne-Ardenne et Lorraine) et dans la région Languedoc.

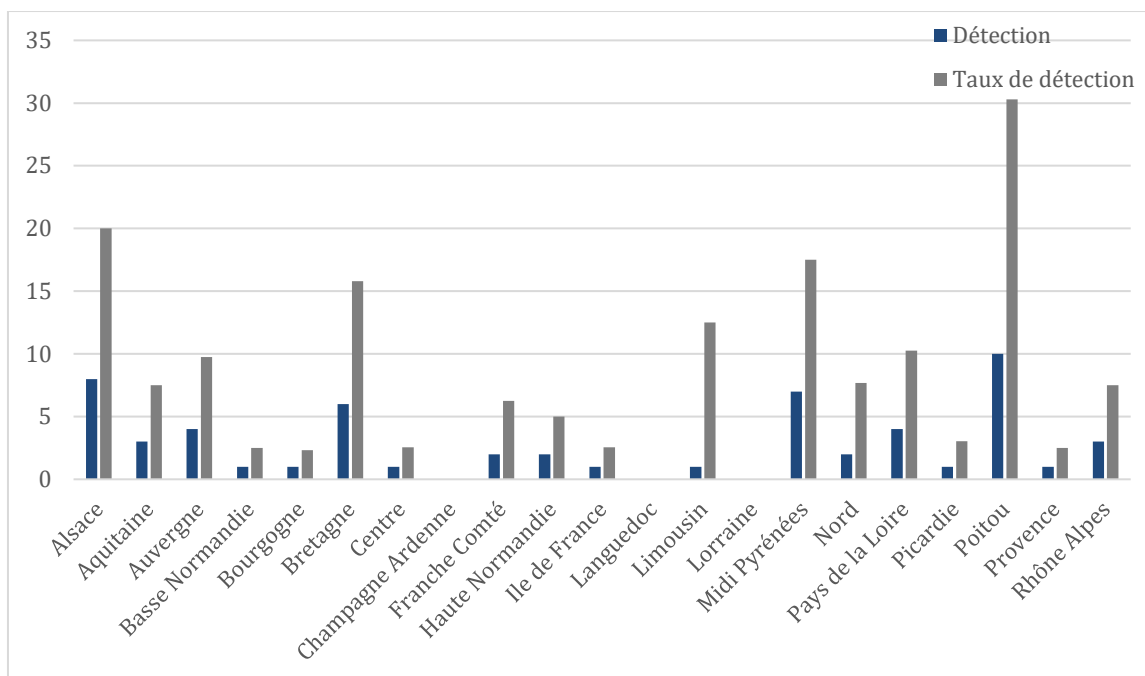


**Figure 27** : Répartition spatiale de *A. fumigatus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats

Sur les moquettes issues de chiens (Figure 28), *A. fumigatus* est identifié :

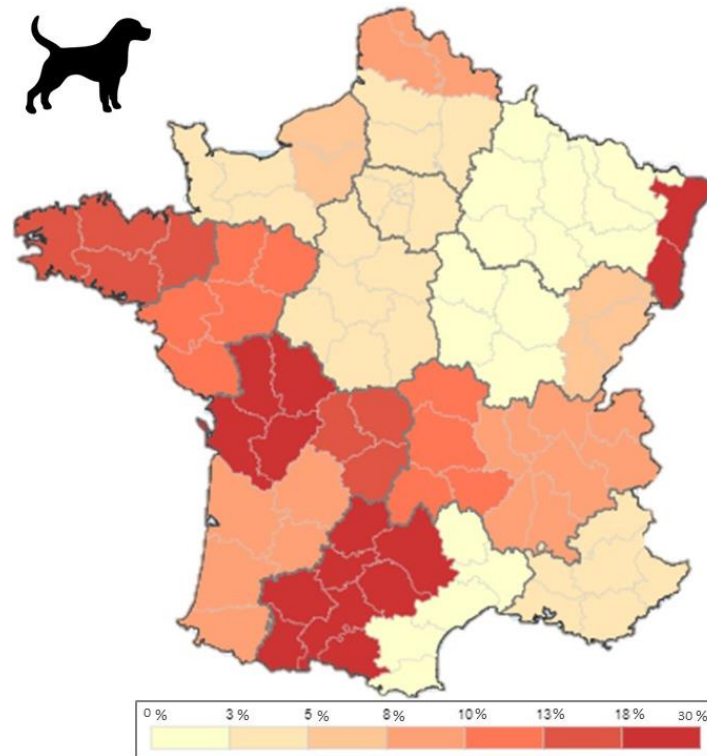
- 10 fois dans la région Poitou, soit sur 30,3% des moquettes
- 8 fois dans la région Alsace, soit sur 20% des moquettes
- 6 à 7 fois dans la région Midi Pyrénées et Bretagne, soit sur 15 à 18% des moquettes
- 3 à 4 fois dans les régions Auvergne, Pays de la Loire, Aquitaine, Nord et Rhône Alpes, soit sur 7 à 11% des moquettes
- 2 fois dans les régions Franche Comté et Haute Normandie, soit sur 5 à 7% des moquettes
- 1 fois dans les régions Basse Normandie, Bourgogne, Centre, Ile de France, Picardie et Provence, soit sur 2 à 3% des moquettes
- Aucune fois dans les régions Champagne-Ardenne, Languedoc et Lorraine
- *A. fumigatus* est aussi détecté 2 fois dans la région Limousin, ce qui représente 12,5% des moquettes de cette région

Ainsi, avec ces prélèvements, en quatre mois, *A. fumigatus* est détecté plus de 5 fois dans 19,1% du territoire et est détecté moins de 3 fois dans 56,5% du territoire étudié.



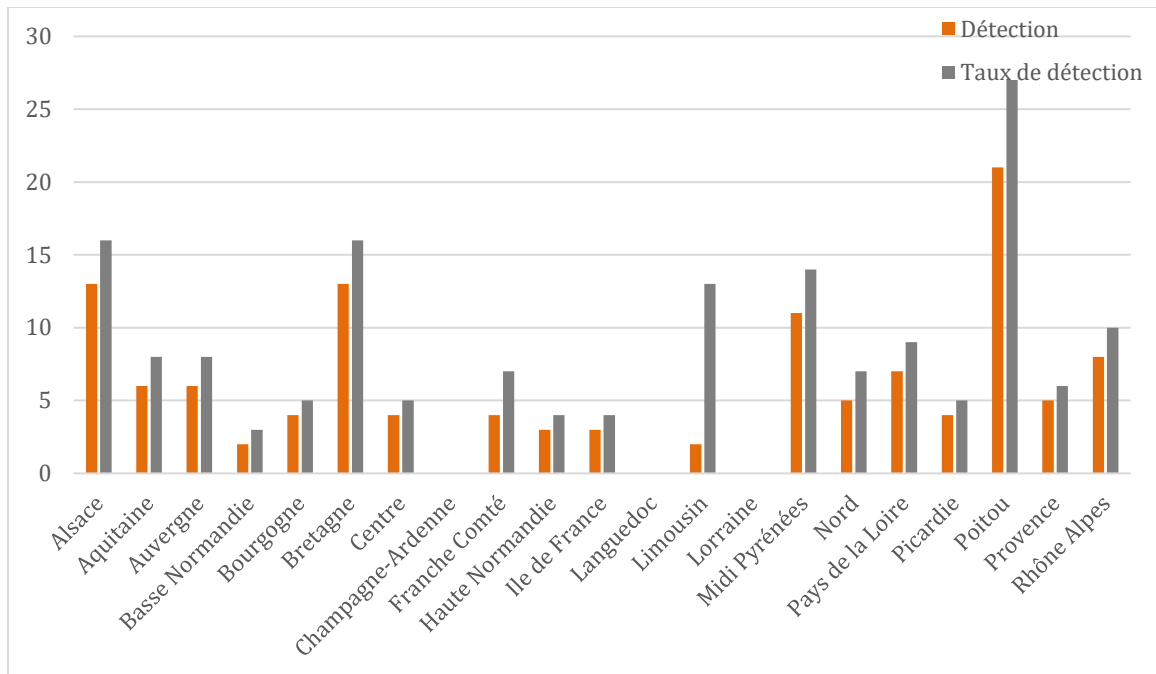
**Figure 28** : Nombre de moquettes issues de chiens revenues positives à *A. fumigatus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Avec la représentation cartographique (**Figure 29**), la détection de *A. fumigatus* paraît plus élevée sur les moquettes provenant de la moitié ouest du territoire (Bretagne, Poitou Charentes, Limousin, Midi Pyrénées, Pays de la Loire). Une détection importante est également retrouvée en Alsace et en Auvergne. La détection est en revanche plus faible dans les régions centrales à nord du pays (Centre, Bourgogne, Ile de France, Basse Normandie, Picardie) voire nulle au nord-est (Champagne-Ardenne et Lorraine) et dans la région Languedoc.



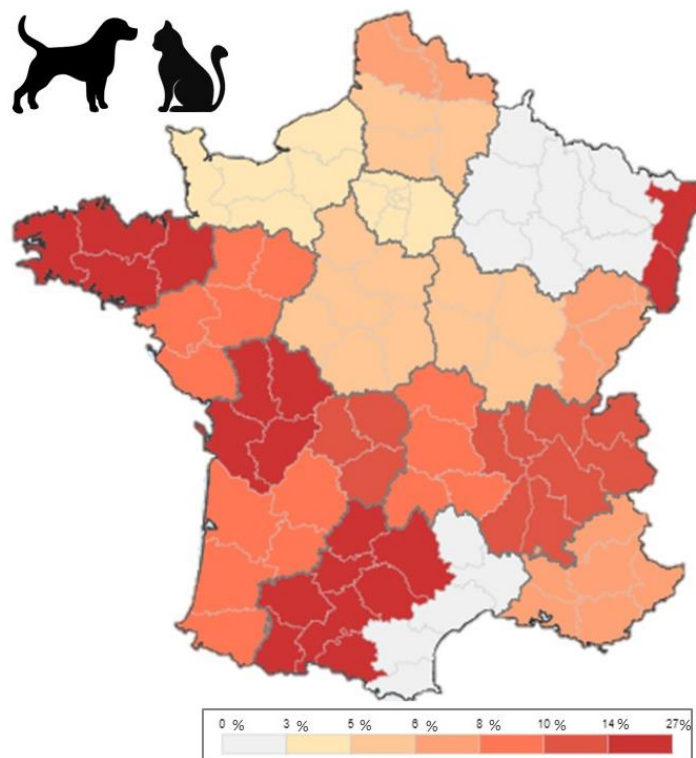
**Figure 29** : Répartition spatiale de *A. fumigatus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chiens

Ainsi, pour les moquettes issues des deux espèces confondues (**Figure 30**), *A. fumigatus* est le plus identifié dans la région Poitou où il est détecté plus de 20 fois, soit 27% des moquettes de cette région. Il est également retrouvé fréquemment dans les moquettes issues des régions Alsace, Bretagne et Midi Pyrénées. Il est détecté plus de 10 fois, soit sur plus de 14% des moquettes de ces régions qui représentent 14% du territoire étudié. Cette espèce est également détecté sur 13% des moquettes de la région Limousin, mais en raison du faible effectif de cette région, le nombre de moquettes positives n'est que de 2. Il est détecté entre 4 et 8 fois, soit sur 6% à 10% des moquettes des régions Rhône Alpes, Pays de la Loire, Aquitaine, Auvergne, Nord, Provence, Bourgogne, Centre, Franche Comté et Picardie soit 48% du territoire étudié. De même que pour la région Limousin, il est détecté sur 7% des moquettes de la région Franche Comté, ce qui représente 4 moquettes positives. Enfin, il est détecté moins de 4 fois dans les cinq régions restantes, soit 24% du territoire étudié. Il n'est notamment jamais détecté sur les moquettes issues des régions Champagne-Ardenne, Languedoc et Lorraine.



**Figure 30** : Nombre de moquettes issues de chats et de chiens revenues positives à *A. fumigatus* et taux de détection selon les régions françaises métropolitaines entre juillet et octobre 2023

Spatialement (**Figure 31**), *A. fumigatus* est davantage détecté sur les moquettes provenant de l'ouest à sud-ouest du pays notamment celles de Bretagne, Poitou Charentes, Midi Pyrénées, Pays de la Loire, Aquitaine et dans la région Limousin si l'on tient compte du pourcentage de moquettes étudiées et non du nombre absolu de moquettes positives. Cette détection est également importante en Alsace et Rhône Alpes. Au contraire, sur les moquettes issues du nord à nord-est du pays, le taux d'identification de cette espèce fongique est plus faible (Normandie, Centre, Ile de France, Bourgogne, Picardie) à nul (Champagne-Ardenne et Lorraine).



**Figure 31** : Répartition spatiale de *A. fumigatus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Les régions **Bretagne, Poitou Charentes, Alsace et Midi Pyrénées** sont donc des régions où est le plus fortement détecté *A. fumigatus* pour les moquettes provenant de chats et de chiens. Pour les deux espèces, ce taux d'identification est également faible à nul dans les mêmes régions : Normandie, Champagne-Ardenne, Lorraine et Languedoc.

### iii. Répartition temporelle

Afin de déterminer si un lien existe entre la détection de *A. fumigatus* et le mois d'origine de la moquette, un test statistique utilisant un tableau de contingence (**Tableau 18**) est réalisé.

**Tableau 18** : Tableau de contingence de détection de *A. fumigatus* selon le mois d'origine de la moquette

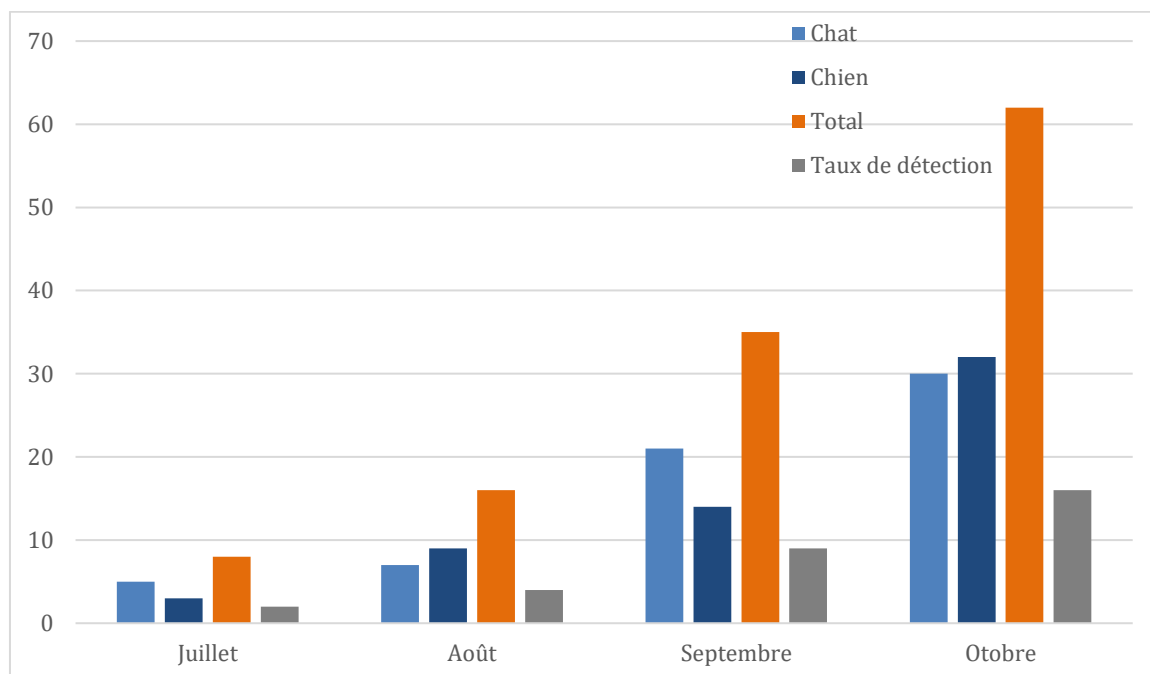
	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Total
Détection de <i>A. fumigatus</i>	8	16	35	62	121
Absence de détection	377	353	348	321	1399
Total	385	369	383	383	1520
Pourcentage de moquettes positives	2,1 %	4,3 %	9,1 %	16,2 %	8 %



Avec le test du chi-carré, **p-value = 03,757. 10<sup>-13</sup>** et X-squared = 60,91. Le p-value extrêmement faible indique que l'association entre le mois et la détection de *A. fumigatus* est hautement significative. L'hypothèse nulle peut être rejetée avec une très grande confiance. **Le mois d'origine de la moquette influe donc sur la détection du champignon *Aspergillus fumigatus***, comme visible sur l'histogramme ci-dessous (Figure 32).

Parmi les moquettes provenant de chats, *A. fumigatus* est beaucoup plus identifié sur les moquettes des mois d'octobre et de septembre (respectivement 30 et 21 moquettes positives). La détection est plus de trois fois inférieure aux mois de juillet et d'août (respectivement 5 et 7 moquettes positives).

Parmi les moquettes provenant de chiens, la répartition temporelle est similaire. Le mois d'octobre est également celui où est le plus détecté *A. fumigatus* (32 moquettes positives), suivi du mois de septembre (15 moquettes positives) et du mois d'août (9 moquettes positives). Au mois de juillet, l'identification est proche de zéro pour les moquettes de cette espèce.



**Figure 32** : Répartition temporelle et taux de détection de *A. fumigatus* dans les régions françaises métropolitaines de juillet à octobre 2023 pour les moquettes provenant de chats et de chiens

Pour les moquettes issues des deux espèces (Figure 32), une forte identification de *A. fumigatus* est remarquable au mois d'**octobre** avec plus de 60 moquettes positives. Cette valeur est également élevée en septembre avec 36 moquettes positives, mais est inférieure à 20 pour les mois d'août et juillet. Cette hausse importante pour les mois d'octobre et septembre est attribuable à la détection élevée du champignon dans les régions Alsace, Bretagne et Poitou avec des pics observés pour ces deux mois-ci.



## PARTIE 3 - DISCUSSION

## A. À propos des méthodes

### a. Distribution temporelle

L'identification de toutes les souches étant très chronophage et fastidieux, des moquettes issues de quatre mois estivaux et automnaux (juillet, août, septembre et octobre) ont été étudiées dans ce travail de thèse. Une analyse étendue sur une à plusieurs années serait intéressante et pertinente pour déterminer l'existence ou non d'une répartition saisonnière dans l'écologie de *Rhizopus arrhizus*, *Alternaria alternata* et *Aspergillus fumigatus*, comme postulées par le Dr Arnaud Jabet [5].

### b. Effectif

Avec le choix de découpage géographique et de nombre de moquettes, certaines régions apparaissent sous-représentées avec le nombre de moquettes requis non atteint. Cela est dû à un faible effectif dans le nombre de moquettes reçues à Laboniris pour certaines de ces régions, ainsi qu'à nos critères de sélection (pas d'animaux ayant subi un traitement antifongique) qui diminuent le nombre de moquettes à étudier. Pour rappel, il avait été fixé une sélection de 20 moquettes dont 10 chats et 10 chiens par région et par mois, et si cela n'est pas réalisable, le nombre de moquettes devait s'approcher au maximum de 20 moquettes, espèces canines et félines confondues. Malgré cela, les régions Limousin, Champagne-Ardenne, Franche Comté, Lorraine et Nord par exemple ont un effectif de moquettes trop aléatoires et en dessous de ces limites pour certains mois. Pour ces mêmes raisons et son isolement géographique, la région Corse a été exclue de l'étude. Un découpage géographique plus large de la France en quatre ou cinq grandes régions (Sud, Nord, Est, Ouest par exemple) pourrait lever ce problème et permettrait une égalité des régions.

### c. Mise en culture et identification des espèces fongiques

L'outil d'identification MALDI-ToF permet l'identification des espèces fongiques à partir d'une culture. Cette étape est donc primordiale pour mener à la détection d'espèces fongiques. Or, l'identification ayant lieu après 7 jours de culture, certaines des espèces fongiques étudiées peuvent avoir envahi la culture au détriment d'autres espèces et empêchent alors l'identification de ces autres espèces fongiques présentes initialement. *R. arrhizus*, *A. alternata*, ou *A. fumigatus* font partie de ces espèces à l'origine de grandes colonies pouvant masquer la détection d'autres champignons. Cela pourrait expliquer pourquoi certains dermatophytes n'ont pas été identifiés à partir de moquettes dont la primoculture à LabOniris avait permis de

les détecter (Figure 11). Au contraire, le milieu de culture préalable influençant la détection des genres fongiques, cela explique pourquoi des dermatophytes sont identifiées au MALDI-Tof sur certaines moquettes alors qu'ils n'avaient pas été détectés à LabOniris avec un milieu de culture différent.

## **B. À propos des résultats**

### **a. Contaminations**

A la suite d'une contamination au sein du laboratoire de l'unité de parasitologie de l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, certaines moquettes envoyées pour identification par spectrométrie n'ont pas pu être analysées. Ces contaminations ont nécessité le réensemencement des moquettes contaminées. Ainsi, pour le mois d'août, les moquettes issues des régions Midi Pyrénées, Nord, Pays de la Loire, Picardie et Poitou ont été réensemencées pour une nouvelle détection des espèces fongiques. Seules les moquettes issues de la région Poitou n'ont pas permis un réensemencement et une identification concluants. Sur la quasi-totalité des autres moquettes réensemencées, ont été identifiées de nombreuses colonies d'*Aspergillus*, ce qui est assez remarquable en comparaison aux autres résultats. Un pic d'*Aspergillus* ne peut être exclu au mois d'août, mais la validité de ces données peut également être questionnée du fait de la contamination. Les moquettes provenant de la région Provence pour le mois de septembre et celles provenant de Picardie pour le mois d'octobre ont également été contaminées et non réensemencées par manque de temps.

Par conséquent, le taux d'identification des espèces fongiques recherchées est artificiellement diminué dans la région Poitou pour le mois d'août, Provence pour le mois de septembre et Picardie pour le mois d'octobre 2023. Aussi, une contamination par *Aspergillus* sur les moquettes réensemencées d'août ne peut être exclue même si les résultats ne montrent pas de détection significativement plus élevée d'*A. fumigatus* pour ce mois.

### **b. Comparaison du portage des chats et de celui des chiens**

Nos données ont mis en évidence une association significative entre l'espèce animale d'origine de la moquette (chat ou chien) et la probabilité de détection des espèces fongiques *R. arrhizus* et *A. alternata*. Ainsi, *R. arrhizus* est 3,3 fois plus détecté sur les moquettes provenant de chats que de chiens tandis qu'*A. alternata* est statistiquement détecté 1,6 fois plus souvent sur les moquettes provenant de chiens. En revanche, aucune association n'a été détectée pour *A. fumigatus* où la détection est similaire chez les chats et les chiens.

Ces différences entre le portage des chiens et des chats peuvent être imputées à différentes raisons : le mode de vie des chats de notre étude n'a pas été recensé mais on peut supposer qu'une proportion élevée d'entre eux sort en extérieur où un accès à des jardins entretenus ou à la campagne (champs, forêts...) est possible et où ces chats peuvent chasser. Quant aux chiens, ils disposent en général de sorties avec leurs maîtres mais qui vont être davantage restreintes que celles des chats, leur accès aux débris organiques sera notamment réduit. Les chats sont donc plus à même d'être en contact avec l'espèce fongique *R. arrhizus* qui est retrouvée dans le sol, le compost, les excréments d'animaux, les légumes en décomposition et est fréquemment isolée dans les sols de plates-bandes, de champs cultivés ou non, et de forêts [12,24]. Par conséquent, l'exposition plus importante à ce type d'environnement des chats qui sortent peut expliquer que cette espèce fongique soit davantage identifiée sur leur pelage.

En revanche, la détection fongique chez les chats peut être compliquée avec leurs habitudes de toilettage qui masque la flore fongique. On peut ainsi supposer qu'une espèce fongique n'est détectable sur les chats que lorsqu'elle est présente en grande quantité initialement et que le toilettage n'aura pas permis sa complète suppression. *A. alternata* étant retrouvé autant en intérieur qu'en extérieur, à la fois les chiens et les chats sont susceptibles d'être porteurs de ce champignon sur leur pelage. Le toilettage des chats pourrait donc expliquer que cette espèce fongique soit moins retrouvée chez les chats et au contraire davantage détectée sur les moquettes issues de chiens.

Le raisonnement est intermédiaire et similaire pour l'espèce fongique *A. fumigatus*. En effet, il s'agit d'une espèce retrouvée dans le compost, où les chats sortants auront davantage accès que les chiens, et également dans l'air ambiant. Par conséquent, les chats tous comme les chiens sont susceptibles d'être à son contact et les chats légèrement plus. Les pratiques de toilettage diminuant la détection sur le pelage félin, *A. fumigatus* est ainsi autant détecté sur les moquettes provenant des deux espèces.

### **c. Répartition spatiale**

Pour *R. arrhizus*, *A. alternata* et *A. fumigatus*, leur présence est influencée par la région d'origine des moquettes. Ce résultat est en accord avec les conclusions de plusieurs études. Le rapport de l'Anses de 2020 notamment, traitant de l'impact sanitaire de l'exposition aux moisissures présentes dans l'air ambiant [68], a ainsi montré que les conditions météorologiques (humidité et température) et les caractéristiques du sol ont un effet sur la concentration en spores fongiques dans l'air ambiant. De même, dans leur étude française, Mousavi et al [11] ont émis l'hypothèse d'un lien entre la présence des champignons mucorales et la composition et le type de sol sur lequel ils sont détectés. Le climat et le type des sols étant des facteurs différant fortement entre les régions, cela contribue probablement à expliquer les variations obtenues dans la détection des espèces fongiques selon les régions françaises. La

réalisation d'histogrammes et de cartes géographiques colorées a ainsi permis une visualisation de la répartition spatiale de la détection de ces espèces selon la région de provenance des moquettes.

Pour l'espèce fongique *R. arrhizus*, la détection a été la plus importante sur les moquettes provenant des régions d'**Ile de France** et de **Bourgogne**. Les moquettes issues de **Midi Pyrénées** ont aussi permis une détection importante de *R. arrhizus* mais seulement pour les moquettes provenant de chats, tandis qu'il s'agit de la région **Centre** pour celles provenant de chiens. Pour les moquettes issues des régions frontalières, hormis les régions Midi Pyrénées, Pays de la Loire, Poitou et Nord, une détection faible à nulle de ce champignon a été observée. La comparaison aux résultats de l'étude française de Mousavi et al [11] n'est pas évidente car leurs prélèvements n'ont pas concerné toutes les régions de France. Le nombre de prélèvements effectués en Ile de France, Bourgogne, Midi Pyrénées et Centre qui sont les régions où la détection de *R. arrhizus* a été la plus élevée avec nos résultats, étaient respectivement de 3, 6, 0 et 1. Parmi ces prélèvements, 2 sont revenus positifs aux Mucorales en Bourgogne et aucune détection n'a été rapportée dans les autres régions. De nombreux échantillons ont en revanche été prélevés dans les régions Rhône Alpes (n=65), Provence (n=25) et Basse Normandie (n=23) avec un taux de détection des Mucorales de respectivement 29%, 20% et 35%. Dans notre étude, ces régions présentent un taux de détection faible avec 4% des moquettes positives dans la région Rhône Alpes et 3% pour les régions Provence et Basse Normandie.

La généralisation de cette étude avec le prélèvement de sols dans les autres régions et l'isolement de *R. arrhizus* en particulier, pourrait être intéressant pour comparer nos résultats et notamment comparer les méthodes de détection de *R. arrhizus* selon la provenance du pelage des animaux ou du sol.

L'espèce *A. alternata* a été détectée principalement sur les moquettes provenant de **Bretagne**, d'**Alsace** et de régions du sud (**Aquitaine, Provence, Rhône Alpes**). Ce résultat concorde partiellement avec les observations faites en Pologne, Espagne et Portugal [41] qui montrent un développement supérieur de *A. alternata* dans les régions de température élevée comme dans le bassin méditerranéen. Aucune étude préalable ne permet en revanche d'expliquer la détection élevée de *A. alternata* en Bretagne et en Alsace, tout comme dans les régions du centre (**Auvergne, Franche Comté, Centre, Bourgogne**) pour les moquettes issues de chiens. Une très faible détection a au contraire eu lieu pour les moquettes venant du Limousin et des régions du nord.

Quant à l'espèce *A. fumigatus*, elle est majoritairement détectée sur les moquettes provenant de l'ouest (**Bretagne, Poitou Charentes, Midi Pyrénées, Limousin**) et d'**Alsace**. Sa détection est faible à nulle dans les moquettes de régions du nord (Basse Normandie, Haute Normandie, Champagne-Ardenne, Lorraine) et de Languedoc.

Ainsi, quand l'étude porte sur le nombre absolu de moquettes positives, la région Limousin est systématiquement retrouvée parmi les régions où les espèces fongiques sont faiblement détectées. En revanche, quand on s'intéresse au taux de positivité des moquettes, cette région fait partie de celles où les espèces *R. arrhizus* et *A. fumigatus* sont fortement détectées. Cela est dû au très faible effectif de moquettes pour cette région (respectivement 5, 3, 6 et 2 pour les mois de juillet, août, septembre et octobre dans le [Tableau 1](#)). Il serait donc intéressant d'avoir davantage de prélèvements issus cette région pour obtenir des résultats plus représentatifs de la présence fongique sur ce territoire. De même, d'autres régions sont sous-représentées en terme d'effectif de moquettes et les résultats obtenus sont donc moins fiables. Il s'agit notamment des régions Champagne-Ardenne (respectivement 14, 13, 11 et 8 moquettes pour les mois de juillet, août, septembre et octobre dans le [Tableau 1](#)), Lorraine (respectivement 20, 13, 15 et 20 pour les mois de juillet, août, septembre et octobre dans le [Tableau 1](#)) et Nord (respectivement 20, 13, 20 et 16 pour les mois de juillet, août, septembre et octobre dans le [Tableau 1](#)). L'obtention d'un nombre suffisant de moquettes dans ces régions permettrait donc une meilleure comparaison de la répartition spatiale des espèces fongiques étudiées.

A contrario, le nombre de moquettes étant suffisant pour les autres régions, cela permet d'affirmer que la détection d'*A. fumigatus* est effectivement statistiquement inférieure sur les moquettes provenant de Basse Normandie, de Haute Normandie et de Languedoc par exemple.

Ces résultats révèlent une répartition spatiale des espèces fongiques à une échelle régionale. Or, cette répartition spatiale est également visible à une plus faible échelle. Une étude comparant l'air urbain et rural [69] a ainsi observé une concentration en spores fongiques inférieure en zone urbaine avec une concentration 23% supérieure en zone rurale. Cette différence serait notamment due à la présence de forêts, cultures, bétail et de la litière fournissant des substrats au développement fongique. En revanche, les polluants aériens, en induisant une perméabilité des voies aériennes supérieures, causent une sensibilité accrue des patients allergiques aux spores de l'air ambiant. A Porto par exemple, 2.5% de la population est sensibilisée aux spores d'*Alternaria* et 0,8% aux spores de *Aspergillus* [69]. L'exposition aux spores fongiques est un enjeu de santé publique mais leur caractérisation est complexe [68] et dépend de facteurs propres aux champignons, au climat, au type de sol et aux pratiques humaines (agriculture intensive par exemple [41,69]). La poursuite de notre étude en tenant compte des habitudes de chaque animal pourrait donc être pertinente afin de mieux envisager l'impact du lieu et du mode de vie sur la détection d'espèces fongiques sur le pelage des chats et des chiens.



#### d. Répartition temporelle

Notre analyse a mis en évidence une influence significative du mois de prélèvement sur la détection des différentes espèces fongiques étudiées. Ce résultat concorde de nouveau avec le rapport de l'Anses de 2020 [68]. Également, dans une étude comparant les concentrations en spores dans l'air ambiant au Portugal [69], des variations sont notées avec des espèces fongiques présentant des corrélations négatives ou positives aux températures et à l'humidité ambiante. La réalisation d'histogrammes a ainsi permis une visualisation de la répartition temporelle de la détection de ces espèces selon le mois de provenance des moquettes.

La détection de *R. arrhizus* a ainsi été supérieure en **octobre** par rapport aux mois de juillet et septembre, et également en **août** sur les moquettes provenant de chats.

*Alternaria alternata* est également identifié plus fréquemment en **octobre**.

De même pour *A. fumigatus* dont la détection est 3 à 4 fois plus élevée en **octobre** par rapport aux mois de juillet et d'août. La détection de cette espèce est intermédiaire en **septembre**.

Le nombre total de moquettes étudiées par mois varie, avec 385 moquettes en juillet, 349 en août, 363 en septembre et 366 en octobre. Ces différences sont notamment dues aux contaminations qui ont empêché l'analyse de 20 moquettes aux mois d'août et de septembre, ainsi que de 17 moquettes en octobre ; tandis que toutes les moquettes envoyées au mois de juillet ont pu être traitées.

Par conséquent, sur les moquettes canines et félines, ces trois espèces fongiques sont statistiquement détectées plus souvent en octobre. Cela contraste avec les résultats de Arnaud Jabet [1] qui sont en faveur d'une activité plus élevée de *Rhizopus arrhizus* en août et en septembre. La détection de *R. arrhizus* est en effet élevée au mois d'août mais uniquement sur les moquettes provenant de chats, tandis que la détection était faible pour les moquettes provenant de chiens à ce mois. De même, dans plusieurs études, les spores de l'espèce *Alternaria alternata* sont détectables toute l'année mais à des concentrations supérieures pendant la période estivale [68] : de juin à septembre en Pologne et d'août à octobre au Portugal [47,69]. Il s'agirait d'une espèce dont la croissance est corrélée positivement à la température mais négativement à l'humidité [69]. Selon cette étude, on devrait donc s'attendre à une détection plus élevée de *A. alternata* aux mois de juillet, août et septembre en comparaison au mois d'octobre. Or dans notre étude, la détection de cette espèce est effectivement détectable pendant les 4 mois mais le pic de détection sur les moquettes de chiens en octobre n'est pas explicable. Enfin, *Aspergillus fumigatus* est une espèce fongique davantage ubiquitaire, sans variation saisonnière connue en Europe mais qui peut être détectée majoritairement en hiver par

occupation de la niche écologique libérée par les autres espèces fongiques dont la croissance est corrélée négativement avec l'humidité [68–70]. Nos résultats pour cette espèce sont donc concordants avec la littérature qui rapporte des concentrations élevées d'avril à novembre, avec un maximum atteint en octobre ou durant l'hiver [69]. Dans la même logique, une libération de niche écologique est donc attendue aux mois présentant le plus d'humidité. Or, selon le Tableau 5, parmi les quatre mois étudiés, le mois d'octobre est au contraire celui où le plus de moquettes ont été positives à des espèces fongiques (1216 en octobre contre respectivement 925, 855 et 832 en septembre, juillet et août). Il serait donc d'autant plus intéressant pour cette dernière espèce fongique d'obtenir des résultats pour les mois de novembre et de décembre, afin de déterminer si la tendance d'une concentration élevée en hiver se maintient et si une diminution de la détection de l'ensemble des espèces fongiques, correspondant à la libération d'une niche écologique, est observée.

## CONCLUSION

L'étude du pelage des animaux de compagnie par la mise en culture à partir de moquettes puis l'analyse au MALDI-ToF a permis la détection et l'identification de 52 genres et plus de 731 espèces fongiques différentes. Le pelage des chats et des chiens de compagnie présente donc une riche flore fongique témoignant des champignons présents dans l'environnement et par conséquent dans l'environnement des propriétaires de ces animaux. Parmi ces champignons détectés se trouvent des espèces pathogènes chez l'Homme dont *Rhizopus arrhizus*, *Alternaria alternata* et *Aspergillus fumigatus*. En ceci, les animaux de compagnie sont des sentinelles pour l'exposition environnementale des Hommes aux champignons. Les variations régionales et mensuelles observées dans la détection de ces espèces fongiques sur les moquettes issues de chats et de chiens témoignent donc des mêmes variations de ces espèces fongiques dans l'environnement. Certaines tendances se dégagent ainsi, avec une localisation régionale préférentielle variant selon l'espèce fongique (Ile de France, Bourgogne et Centre pour *R. arrhizus* ; Bretagne, Alsace et le sud pour *A. alternata* ; et plutôt Alsace et l'ouest pour *A. fumigatus*). Sur les quatre mois étudiés, de juillet à octobre 2023, une répartition temporelle est également observée avec une détection majorée pour les trois espèces fongiques en octobre.

La poursuite de cette étude sur les autres mois de l'année sera intéressante pour confirmer la régionalité de ces espèces tout au long de l'année et pour déterminer si une répartition saisonnière est présente et reproductible au cours des ans. Ces résultats seront alors utiles en médecine humaine pour aider au diagnostic précoce des mucormycoses, alternarioses ou aspergilloses en connaissant le mode de vie, le lieu de vie et l'époque d'apparition des signes cliniques chez le patient.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Hassan MIA, Voigt K. Pathogenicity patterns of mucormycosis: epidemiology, interaction with immune cells and virulence factors. *Med. Mycol.* 2019 ; 57 : S245–S256.
2. Kidd S, Halliday C, Ellis D. *Descriptions of Medical Fungi*. 4th ed. GB : CABI, 2022 : p.
3. De Carolis E, Vella A, Vaccaro L, *et al.* Application of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2014 ; 8 : 1081–1088.
4. Identification des micro-organismes pathogènes par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF en microbiologie médicale | Planet-Vie n.d. ;.
5. Jabet A. Exploitation épidémiologique de résultats d'identification fongique via l'application MALDI-TOF MSI. n.d. ;.
6. Larousse É. Définitions : champignon - Dictionnaire de français Larousse. n.d. ;.
7. CHAMPIGNON : Définition de CHAMPIGNON n.d. ;.
8. Köhler JR, Hube B, Puccia R, *et al.* Fungi that Infect Humans. *Microbiol. Spectr.* 2017 ; 5 : 5.3.08.
9. Robert VA, Casadevall A. Vertebrate Endothermy Restricts Most Fungi as Potential Pathogens. *J. Infect. Dis.* 2009 ; 200 : 1623–1626.
10. AA Sabouraud Dextrose Agar (SDA) *Massart Santé - Matér. Méd. Lab.* n.d. ;.
11. Mousavi B, Costa JM, Arne P, *et al.* Occurrence and species distribution of pathogenic Mucorales in unselected soil samples from France. *Med. Mycol.* 2018 ; 00 .
12. Cutsem JV, Van Cutsem J. *Mycoses des animaux domestiques*. Paris : Janssen Research Foundation, 1992 : 226 p. p.
13. Moskaluk AE, VandeWoude S. Current Topics in Dermatophyte Classification and Clinical Diagnosis. *Pathogens* 2022 ; 11 : 957.
14. Moriello KA, Coyner K, Paterson S, *et al.* Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats.: Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Vet. Dermatol.* 2017 ; 28 : 266.
15. Skiada A, Lass-Floerl C, Klimko N, *et al.* Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. *Med. Mycol.* 2018 ; 56 : S93–S101.
16. Morales-Franco B, Nava-Villalba M, Medina-Guerrero EO, *et al.* Host-Pathogen Molecular Factors Contribute to the Pathogenesis of *Rhizopus* spp. in Diabetes Mellitus. *Curr. Trop. Med. Rep.* 2021 ; 8 : 6–17.
17. Jiang X, Jiang Y, Ye F. Detection and identification of Mucorales and *Aspergillus* in paraffin-embedded samples by real-time quantitative PCR. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2023 ; 13 : 1082347.

18. Baldin C, Soliman SSM, Jeon HH, *et al.* PCR-Based Approach Targeting Mucorales-Specific Gene Family for Diagnosis of Mucormycosis. *J. Clin. Microbiol.* 2018 ; 56 : e00746-18.
19. Hinsinger J. Les colorations histologiques: colorations de routine et colorations spéciales. n.d. ;.
20. Rammaert B, Lanternier F, Poirée S, *et al.* Diabetes and mucormycosis: A complex interplay. *Diabetes Metab.* 2012 ; 38 : 193–204.
21. Kij K-C, Ch B, Fw C. Diagnostic histopathologique des infections à champignons. n.d. ;.
22. Alves RC, Ferreira JS, Alves AS, *et al.* Systemic and Gastrohepatic Mucormycosis in Dogs. *J. Comp. Pathol.* 2020 ; 175 : 90–94.
23. Almeida C, Cerqueira L. Editorial: Molecular diagnostic methods for bacteria and fungi detection. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2024 ; 14 : 1430630.
24. Bornet J-P. Mycologie médicale comparée. Les mycoses des animaux et leurs relations avec les mycoses de l'homme. Par Jacques Euzéby, Tome I et II, 2e édition, Fondation Marcel Mérieux, Lyon, 1992. *Bull. Académie Vét. Fr.* 1995 ; 148 : 387–388.
25. Prakash H, Chakrabarti A. Global Epidemiology of Mucormycosis. *J. Fungi* 2019 ; 5 : 26.
26. Schmidt S, Tramsen L, Perkhofer S, *et al.* *Rhizopus oryzae* hyphae are damaged by human natural killer (NK) cells, but suppress NK cell mediated immunity. *Immunobiology* 2013 ; 218 : 939–944.
27. Andrianaki AM, Kyrmizi I, Thanopoulou K, *et al.* Iron restriction inside macrophages regulates pulmonary host defense against *Rhizopus* species. *Nat. Commun.* 2018 ; 9 : 3333.
28. Spellberg B, Edwards J, Ibrahim A. Novel Perspectives on Mucormycosis: Pathophysiology, Presentation, and Management. *Clin. Microbiol. Rev.* 2005 ; 18 : 556–569.
29. Liu M, Spellberg B, Phan QT, *et al.* The endothelial cell receptor GRP78 is required for mucormycosis pathogenesis in diabetic mice. *J. Clin. Invest.* 2010 ; 120 : 1914–1924.
30. Dannaoui E. Antifungal resistance in mucorales. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2017 ; 50 : 617–621.
31. Macedo D, Leonardelli F, Dudiuk C, *et al.* Molecular Confirmation of the Linkage between the *Rhizopus oryzae* CYP51A Gene Coding Region and Its Intrinsic Voriconazole and Fluconazole Resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2018 ; 62 : e00224-18.
32. Roden MM, Zaoutis TE, Buchanan WL, *et al.* Epidemiology and Outcome of Zygomycosis: A Review of 929 Reported Cases. *Clin. Infect. Dis.* 2005 ; 41 : 634–653.

33. Jeong W, Keighley C, Wolfe R, *et al.* The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019 ; 25 : 26–34.
34. Rammaert B, Lanternier F, Zahar J-R, *et al.* Healthcare-Associated Mucormycosis. *Clin. Infect. Dis.* 2012 ; 54 : S44–S54.
35. Abdolalizadeh P, Kashkouli MB, Khademi B, *et al.* Diabetic versus non-diabetic rhino-orbito-cerebral mucormycosis. *Mycoses* 2020 ; 63 : 573–578.
36. Zachary D, Chapin K, Binns L, *et al.* Cutaneous Mucormycosis Complicating a Polymicrobial Wound Infection Following a Dog Bite. *Case Rep. Infect. Dis.* 2011 ; 2011 : 1–3.
37. Ghaffari S, Salehi Z. An unusual case of nasal mucormycosis caused by *Rhizopus oryzae* in a German shepherd dog. *Iran. J. Vet. Res.* 2008 ; 9 .
38. Chihaya, Matsukawa, Okada. A case of bovine cerebral mucormycosis. 1986 ;.
39. Scherer E, Iriart X, Bellanger AP, *et al.* Quantitative PCR (qPCR) Detection of Mucorales DNA in Bronchoalveolar Lavage Fluid To Diagnose Pulmonary Mucormycosis. *J. Clin. Microbiol.* 2018 ; 56 : e00289-18.
40. Davies GE, Thornton CR. Development of a Monoclonal Antibody and a Serodiagnostic Lateral-Flow Device Specific to *Rhizopus arrhizus* (Syn. *R. oryzae*), the Principal Global Agent of Mucormycosis in Humans. *J. Fungi* 2022 ; 8 : 756.
41. Abel-Fernández E, Martínez MJ, Galán T, *et al.* Going over Fungal Allergy: *Alternaria alternata* and Its Allergens. *J. Fungi* 2023 ; 9 : 582.
42. Quesada JM. Special Issue: *Alternaria alternata*: Should We Still Consider This Fungus as a Minor Brother in the Etiology of Respiratory Allergy? *J. Fungi* 2022 ; 8 : 796.
43. López Couso VP, Tortajada-Girbés M, Rodríguez Gil D, *et al.* Fungi Sensitization in Spain: Importance of the *Alternaria alternata* Species and Its Major Allergen Alt a 1 in the Allergenicity. *J. Fungi* 2021 ; 7 : 631.
44. Tree View n.d. ;. <https://www.allergen.org/treeview.php>
45. naturelle M national d'Histoire. *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., 1912. *Inventaire Natl. Patrim. Nat.* n.d. ;.
46. Ren P, Ahearn DG, Jr SC. Mycotoxins of *Alternaria alternata* produced on ceiling tiles. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 1998 ; 20 : 53–54.
47. Kasprzyk I, Sulborska A, Nowak M, *et al.* Fluctuation range of the concentration of airborne *Alternaria conidiospores* sampled at different geographical locations in Poland (2010–2011). *Acta Agrobot.* 2013 ; 66 : 65–76.
48. Bennett JW. An overview of the genus *Aspergillus*. 2010 ;.

49. Latgé J-P, Chamilos G. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis in 2019. *Clin. Microbiol. Rev.* 2019 ; 33 : e00140-18.
50. Van De Veerdonk FL, Gresnigt MS, Romani L, *et al.* *Aspergillus fumigatus* morphology and dynamic host interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2017 ; 15 : 661–674.
51. Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, *et al.* Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. *Eur. Respir. J.* 2016 ; 47 : 45–68.
52. Agarwal R, Chakrabarti A, Shah A, *et al.* Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clin. Exp. Allergy* 2013 ; 43 : 850–873.
53. Mortensen KL, Johansen HK, Fuursted K, *et al.* A prospective survey of *Aspergillus* spp. in respiratory tract samples: prevalence, clinical impact and antifungal susceptibility. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2011 ; 30 : 1355–1363.
54. Burton C. Risking Life and Wing: Victorian and Edwardian Conceptions of Coal-Mine Canaries. *Vic. Rev.* 2014 ; 40 : 143–159.
55. Schmidt PL. Companion Animals as Sentinels for Public Health. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2009 ; 39 : 241–250.
56. Sumner RN, Harris IT, Van Der Mescht M, *et al.* The dog as a sentinel species for environmental effects on human fertility. *Reproduction* 2020 ; 159 : R265–R276.
57. Guillot C, Bouchard C, Aenishaenslin C, *et al.* Criteria for selecting sentinel unit locations in a surveillance system for vector-borne disease: A decision tool. *Front. Public Health* 2022 ; 10 : 1003949.
58. Rajerison M, Andrianaivoarimanana V, Ratsitorahina M, *et al.* Field assessment of dog as sentinel animal for plague in endemic foci of Madagascar. *Integr. Zool.* 2021 ; 16 : 886–892.
59. Halliday JEB, Meredith AL, Knobel DL, *et al.* A framework for evaluating animals as sentinels for infectious disease surveillance. *J. R. Soc. Interface* 2007 ; 4 : 973–984.
60. Fox GA. Wildlife as sentinels of human health effects in the Great Lakes--St. Lawrence basin. *Environ. Health Perspect.* 2001 ; 109 : 853–861.
61. Berny PJ, Côté LM, Buck WB. Can household pets be used as reliable monitors of lead exposure to humans? *Sci. Total Environ.* 1995 ; 172 : 163–173.
62. Dowsett R, Shannon M. Childhood plumbism identified after lead poisoning in household pets. *N. Engl. J. Med.* 1994 ; 331 : 1661–1662.
63. Guillot C, Bouchard C, Buhler K, *et al.* Sentinel Surveillance Contributes to Tracking Lyme Disease Spatiotemporal Risk Trends in Southern Quebec, Canada. *Pathogens* 2022 ; 11 : 531.

64. Ferrés G M, Abarca V K, Godoy M P, *et al.* Presencia de Bartonella henselae en gatos: cuantificación del reservorio natural y riesgo de exposición humana de esta zoonosis en Chile. *Rev. Médica Chile* 2005 ; 133 .
65. Carbonnelle É, Nassif X. Utilisation en routine du MALDI-TOF-MS pour l'identification des pathogènes en microbiologie médicale. *médecine/sciences* 2011 ; 27 : 882–888.
66. Normand AC. Innovations Diagnostiques: maldi-tof en infectiologie et entomologie. n.d. ;.
67. Géodes - Santé publique France - Visualiser des données externes n.d. ;.
68. Genet R. Impact sanitaire de l'exposition aux moisissures présentes dans l'air ambiant. *Anses* 2020 ;.
69. Oliveira M, Ribeiro H, Delgado L, *et al.* Outdoor Allergenic Fungal Spores: Comparison Between an Urban and a Rural Area in Northern Portugal. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010 ; 20 .
70. Puhlmann D, Bergmann D, Besier S, *et al.* Analysis of Mould Exposure of Immunosuppressed Patients at a German University Hospital. *Microorganisms* 2023 ; 11 : 2652.



**Célinie ENDELIN**

**TITRE DE LA THESE :** Flore fongique du pelage des animaux de compagnie, reflet de la contamination par des champignons d'importance médicale

Fungal flora in pet coats: a reflection of contamination by fungi of medical importance

**Thèse d'Etat de Docteur Vétérinaire :** Nantes, le 24 Octobre 2024

## **RESUME**

*Rhizopus arrhizus* est un champignon de l'ordre des Mucorales à l'origine d'atteintes variées chez les humains. Son mode de vie est peu connu mais une saisonnalité et une régionalité sont suspectées au vu de l'incidence des infections dans les hôpitaux français. *Alternaria alternata* et *Aspergillus fumigatus* sont deux autres champignons pathogènes chez l'Homme provoquant notamment des infections respiratoires.

L'objectif de cette thèse est d'étudier la répartition spatiale et temporelle de ces champignons afin de mieux caractériser leur écologie.

Pour cela, les chats et chiens ont été utilisés comme animaux « sentinelles » par l'étude de leur pelage témoignant de l'exposition indirecte de l'Homme aux espèces fongiques présentes dans l'environnement.

Des moquettes servant à la détection de dermatophytoses chez les animaux ont été utilisées. Les souches fongiques isolées à partir de 1520 moquettes issues des régions françaises entre juillet et octobre 2023 ont été étudiées par spectrométrie de masse. 52 genres différents de champignons ont été identifiés dont les espèces fongiques pathogènes d'intérêt.

Des tendances temporelles et spatiales concernant la détection de ces espèces fongiques ont été mises en évidence grâce à des histogrammes et des cartes géographiques coloriées.

*R. arrhizus* a été détectée le plus souvent sur les moquettes d'août et d'octobre, en Ile de France et Bourgogne. La détection d'*A. alternata* a été plus importante sur les moquettes de Bretagne, Alsace et du sud-est de la France et en octobre. *A. fumigatus*, est plus souvent détecté en octobre, en Poitou Charentes, Alsace et Bretagne.

La poursuite de cette étude sur le reste de l'année serait intéressante pour déterminer si nos hypothèses sont confirmées ou si des variations sont détectées.

### **MOTS CLES :**

- PELAGE
- ANIMAUX SENTINELLES
- FLORE FONGIQUE
- CHAMPIGNONS PATHOGENES
- MYCOLOGIE
- DERMATOPHYTE
- MEDECINE HUMAINE

**DATE DE SOUTENANCE :** 24 Octobre 2024