TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS 6

LISTE DES FIGURES 7

LISTE DES TABLEAUX 9

LISTE DES ANNEXES 10

INTRODUCTION 11

Première partie : Les levures *Malassezia*

1. Histoire de la taxinomie du genre *Malassezia* 15

2. Classification des levures *Malassezia* 16

3. Caractéristiques du genre *Malassezia* 17

3.1 Reproduction 17

3.2 Structure de la paroi des levures *Malassezia* 18

3.3 Filamentation 19

3.4 Croissance et nutrition 19

4. Les différentes espèces de *Malassezia* 21

4.1 Espèces lipo-dépendantes 21

M. furfur 21

M. sympodialis 21

M. globosa 22

M. obtusa 22

M. restrica 22

M. slooffiae 22

Autres espèces 23

4.2 Espèce non lipo-dépendante 23

Caractéristiques culturales 23

Morphologie cellulaire 25

5. Portage cutané de levures *Malassezia* chez le chien sain 28

6. Pouvoir pathogène des *Malassezia* 29

6.1 Zymogène 29
6.2 Lipases 29
6.3 Lipoxygénases 29
6.4 Autres 29

7. Défenses de l'hôte et réponse immunitaire vis-à-vis des levures *Malassezia* 30

7.1 La peau : barrière naturelle entre l'hôte et les levures *Malassezia* 30
7.2 Réponse immunitaire vis-à-vis des levures *Malassezia* 31
a. Non spécifique 31
b. Spécifique 31

8. Dermatite à *Malassezia* chez le chien 33

9. Facteurs favorisants de la dermatite à *Malassezia* 35

10. Dermatite à *Malassezia* chez les autres espèces 36

10.1 Chez le chat 36
10.2 Chez les autres espèces 37

11. Diagnostic d'une dermatite à *Malassezia* 37

12. Traitements actuels de la dermatite à *Malassezia* chez le chien 39

12.1 Les différentes options thérapeutiques chez le chien 39
a. Traitements systémiques 40
Dérivés azolés systémiques 40
Allylamines : terbinafine 41
b. Traitements topiques 42
Dérivés azolés topiques 42
Chlorhexidine 43
Autres traitements topiques 43

12.2 Efficacité des différentes options thérapeutiques 46
a. Principes de la médecine factuelle 46
b. Contrôle par la médecine factuelle de l'efficacité des différentes options

thérapeutiques pour la dermatite à *Malassezia* chez le chien..... 46

Deuxième partie : Évaluation de l'efficacité d'un shampooing dans le cadre du traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien

1. Objectif..... 51

2. Protocole..... 51
2.1 Critères d'inclusion..... 51
2.2 Critères d'exclusion..... 51
2.3 Critères évalués..... 52
2.4 Protocole thérapeutique..... 54
2.5 Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole..... 54

3. Résultats..... 55
3.1 Profil type à J0..... 55
3.2 Évolution des paramètres et étude statistique..... 58
a. Évolution du prurit..... 58
b. Évolution des lésions dermatologiques..... 59
c. Évolution des résultats de la mise en culture..... 62
d. Évolution de la cytologie..... 64
3.3 Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole..... 65
3.4 Satisfaction des propriétaires..... 65

4. Discussion..... 66
4.1 Protocole..... 66
a. Absence de groupe témoin..... 66
b. Faible nombre de cas inclus dans le protocole..... 66
c. Absentéisme à J30..... 66
d. Critères d'exclusion de l'étude..... 67
e. Fréquence d'utilisation du shampooing..... 67
f. Évaluation du prurit par les propriétaires..... 67

g. Score cytologique et sa sensibilité 67
h. Paramètre supplémentaire à évaluer 68
i. Durée du protocole 69
j. Identification de l'espèce de *Malassezia* à la mise en culture 69
k. Chiens guéris/ non guéris à la fin du protocole 69

4.2 Résultats 69
a. Efficacité du shampooing 69
b. Prédisposition des races inclues dans l'étude 70
c. Âge des chiens 70
d. Causes sous-jacentes 70
e. Chiens guéris/ non guéris à la fin du protocole 71
f. Corrélation cytologie/ mise en culture 72
g. Innocuité du shampooing 72

Troisième partie : Comparaison de trois modalités thérapeutiques pour le traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien

1. Objectif 77

2. Matériel et méthodes 77

2.1 Critères d'inclusion 77
2.2 Critères d'exclusion 77
2.3 Critères évalués 78
2.4 Groupes et traitements 79
2.5 Protocole thérapeutique 79
2.6 Suivis à J20 et J40 80
2.7 Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole 80
2.8 Analyse statistique 80

3. Résultats 81

3.1 Profil type 81
a. Chiens inclus et caractéristiques 81
b. Lésions 81
c. Étude statistique des caractéristiques des chiens inclus 83

3.2 Évolution du prurit, des lésions et de l'examen cytologique 83
a. Lors de la première visite (J0) 83
b. Évolution du score de prurit 84
c. Évolution de la clinique 87
d. Évolution de l'examen cytologique 92

3.3 Chien guéris / non guéris à la fin du protocole 96

3.4 Effets secondaires 97

4. Discussion 97

4.1 Protocole 97
a. Critères d'inclusion 97
b. Critères d'exclusion 97
c. Prescription d'un anti-parasitaire externe 97
d. Évaluation du prurit 98
e. Score cytologique 98
f. Absence de culture mycologique 98
g. Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole 98

4.2 Résultats 98
a. Comparaison de l'efficacité des différents traitements 98
b. Prédisposition des races 99
c. Lésions cutanées 99
d. Causes sous-jacentes de la dermatite à *Malassezia* 100
e. Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole 101
f. Effets secondaires 101

CONCLUSION 103

BIBLIOGRAPHIE 105

ANNEXES 111

LISTE DES ABRÉVIATIONS

EBVM : Evidence Based Veterinary Medicine

CHUVA : Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort

Eryth. : Érythème

Lich. : Lichénification

Excor. : Excoriation

Alop. : Alopécie

EKS : État kérato-séborrhéique

DHPP : Dermatite d'hypersensibilité aux piqûres de puces

SC : Syndrome de Cushing

ND : Non déterminé

WHWT : West Highland White Terrier

F : Femelle

M : Mâle

L : Localisé

G : Généralisé

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Aspect des levures Malassezia en bourgeonnement (ici *M. pachydermatis*) au microscope optique 17

Figure 2 : Aspect de *Malassezia pachydermatis* au microscope électronique à transmission 19

Figures 3 et 4 : Aspect macroscopique de colonies de *Malassezia* après 7 jours de culture à 32° sur milieu de Dixon 24

Figure 5 : Aspect de *Malassezia pachydermatis* au microscope optique 25

Figures 6 et 7 : Érythème et alopécie en régions péri-orale, nasale et dans le conduit auditif externe chez un Pitt-Bull de 10 ans atteint de dermatite à *Malassezia* 33

Figure 8 : Érythème des espaces inter-digités chez un Pitt-Bull de 10 ans présentant une dermatite à *Malassezia* généralisée 34

Figures 9 et 10 : Érythème, alopécie et lichénification chez un WHWT de 8 ans présentant une dermatite à *Malassezia* généralisée 34

Figure 11 : Document rempli par les propriétaires pour l'évaluation du prurit de leur chien, avec la correspondance quantitative en face 53

Figure 12 : Répartition de l'âge des animaux conservés pour l'analyse des données 56

Figure 13 : Fréquence des différentes lésions au sein de la population étudiée à J0 56

Figure 14 : Érythème, alopécie, EKS et lichénification à J0 sur l'abdomen d'un Shi-Tzu de 10 ans 57

Figure 15 : Alopécie, érythème et lichénification à J0 sur les membres postérieurs et l'aine d'un WHWT de 8 ans 57

Figure 16 : Évolution individuelle des pourcentages de prurit entre J0 et J30 58

Figure 17 : Évolution individuelle des scores MalDESI entre J0 et J30 59

Figures 18 et 19 : Alopécie, érythème et papules sur l'abdomen d'un Fox Terrier atteint de dermatite à *Malassezia* à J0 (Gauche). Régression de l'érythème, diminution des papules à J30 (Droite) 60

Figures 20 et 21: État kérato-séborrhéique sur le périnée d'un Cocker à J0 (Gauche). Régression de l'état kérato-séborrhéique à J30 (Droite) 60

Rapport-Gratuit.com

Figures 22 et 23 : Érythème et alopécie sévères sur l'abdomen d'un Shi Tzu à J0 (Gauche). Régression de l'érythème et début de repousse des poils à J30 (Droite) 61

Figure 24 : Régression des différentes lésions entre J0 et J30 chez les 14 cas cumulés 62

Figure 25 : Évolution individuelle du nombre de colonies cumulées sur les 3 sites entre J0 et J30 63

Figure 26 : Nombre de colonies après mise en culture par site corporel, cumulé sur les 14 chiens 64

Figure 27 : Document remis aux propriétaires pour l'évaluation du prurit de leur chien 79

Figure 28 : Évolution des scores de prurit du groupe A 85

Figure 29 : Évolution des scores de prurit du groupe B 85

Figure 30 : Évolution des scores de prurit du groupe C 86

Figure 31 : Évolution des scores cliniques du groupe A 88

Figure 32 : Évolution des scores cliniques du groupe B 88

Figure 33 : Évolution des scores cliniques du groupe C 89

Figures 34 et 35 : Érythème et état kérato-séborrhéique sur l'antérieur d'un WHWT appartenant au groupe B à J0 (Gauche). Régression des lésions après 20 jours de traitement topique (Droite) 90

Figures 36 et 37 : Érythème et état kérato-séborrhéique sur la face d'un Bouledogue appartenant au groupe C à J0 (Gauche). Régression des lésions après 20 jours de traitement topique + systémique (Droite) 90

Figures 38 et 39 : Alopécie, érythème et lichénification sur l'antérieur d'un WHWT appartenant au groupe C à J0 (Gauche). Régression des lésions après 20 jours de traitement topique + systémique (Droite) 91

Figure 40 : Évolution des scores cytologiques du groupe A 92

Figure 41 : Évolution des scores cytologiques du groupe B 92

Figure 42 : Évolution des scores cytologiques du groupe C 93

Figure 43 : Nombre de chiens par groupe présentant à J40 un score cytologique différent de zéro 94

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques morphologiques des colonies et des cellules de 13 espèces de *Malassezia* 26

Tableau 2 : Principales molécules et spécialités vétérinaires utilisables en France pour traiter la dermatite à *Malassezia* (traitements auriculaires exclus) 45

Tableau 3 : Caractéristiques des chiens conservés pour l'exploitation finale des données 55

Tableau 4 : Évolution des minimum, maximum, médiane et moyenne des scores de prurit entre J0 et J30 58

Tableau 5 : Évolution des minimum, maximum, médiane et moyenne des scores MalDESI entre J0 et J30..... 61

Tableau 6 : Évolution des minimum, maximum, médiane et moyenne des nombres de colonies entre J0 et J30..... 64

Tableau 7 : Nombre de guérisons et échecs cliniques et mycologiques à J30 65

Tableau 8 : Nombre minimum de levures devant être mises en évidence à la cytologie dans la littérature pour diagnostiquer une dermatite à *Malassezia*..... 68

Tableau 9 : Causes favorisant la dermatite à *Malassezia* chez les chiens de l'étude..... 71

Tableau 10 : Caractéristiques des chiens inclus dans l'étude, en fonction du groupe attribué.82

Tableau 11 : Moyennes (et médianes) d'âge des différents groupes 83

Tableau 12 : Moyennes et médianes des différents scores pour chaque groupe à J0 84

Tableau 13 : Médianes et pourcentages d'amélioration des médianes des scores de prurit entre J0-J20 et J0-J40 86

Tableau 14 : Médianes et pourcentages d'amélioration des médianes des scores cliniques entre J0-J20 et J0-J40 89

Tableau 15 : Médianes (et moyennes) des scores cytologiques des différents groupes à J0, J20, J40 94

Tableau 16 : Différences significatives d'efficacité des différents traitements au bout de 40 jours 95

Tableau 17 : Nombre de cas considérés comme guéris et non guéris de la dermatite à *Malassezia* dans chaque groupe après 40 jours de traitement..... 96

Tableau 18 : Causes primaires de la dermatite à *Malassezia* chez les chiens de l'étude..... 100

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

ANNEXES

Annexe 1 : Composition des principaux milieux de culture pour l'isolation des levures *Malassezia* 111

Annexe 2 : Fiches individuelles du protocole Maladec 112

Annexe 3 : Résultats bruts de l'étude sur le shampooing chlorhexidine 2% et miconazole 2% 116

Annexe 4 : Résultats bruts de l'étude comparant le shampooing, le kétoconazole et l'association des 2 traitements 118

INTRODUCTION

Des levures correspondant à la description des *Malassezia* ont été trouvées sur la peau humaine dès 1846, mais la dermatite canine à *Malassezia* n'a été décrite pour la première fois qu'en 1983 par Dufait (DUFAIT (1983), CHEN et HILL (2005)).

Ces levures appartiennent aux microflores cutanée et muqueuse de nombreux vertébrés homéothermes. On les retrouve communément chez les chiens sains dans le conduit auditif externe, sur les lèvres, les plis axillaires, les espaces interdigités, les muqueuses anales et vaginales notamment. Sous l'effet de facteurs prédisposants et/ou déclenchants, ces levures peuvent se multiplier et être à l'origine d'une dermatite prurigineuse, érythémateuse, kératoséborrhéique, localisée ou généralisée. L'espèce *Malassezia pachydermatis* est la plus fréquemment incriminée chez le chien.

L'objectif de cette thèse est de présenter les connaissances actuelles sur les levures *Malassezia* chez le chien, notamment sur leur traitement en cas de dermatite à *Malassezia* et de rapporter les résultats de deux études cliniques évaluant différents traitements actuellement utilisés contre cette affection.

La première partie effectue donc un point sur les différentes espèces de *Malassezia* et leurs caractéristiques, le portage chez le chien, les facteurs prédisposants, les lésions lors de la mise en place de la dermatite et les différentes options thérapeutiques chez le chien.

La deuxième partie se propose d'évaluer sur l'espace de trente jours les améliorations cliniques et mycologiques chez des chiens présentés en consultation au Centre Hospitalier Vétérinaire d'Alfort avec une dermatite à *Malassezia* et traités avec un shampooing comportant du miconazole et de la chlorhexidine.

Enfin, la dernière partie se propose de comparer l'efficacité du même shampooing à celle d'un traitement systémique à base de kétoconazole sur quarante jours chez des chiens atteints d'une dermatite à *Malassezia* et présentés à la consultation du Dr Bensignor.

PREMIÈRE PARTIE : Les levures

Malassezia

1. Histoire de la taxinomie du genre *Malassezia*

Depuis leur découverte en 1846, la nomenclature des levures classées dans le genre *Malassezia* a été controversée et modifiée à de nombreuses reprises (BOEKHOUT *et al*. (2010), ASHBEE *et al.* (2002), CHEN et HILL (2005), GUILLOT (1993)).

Les levures ont été observées pour la première fois en 1846 par Eichstedt sur des humains atteints de *pityriasis versicolor*, c'est-à-dire présentant des tâches irrégulières, squameuses de couleurs variables et disséminées essentiellement sur le tronc (CHEN et HILL (2005)).
Elles ont été classées comme une nouvelle espèce de dermatophyte par Robin en 1853 du fait de la présence de longs filaments fongiques (=hyphes) associés aux levures. Il les a alors nommées *Microsporum furfur*, puis Baillon les a renommées ***Malassezia furfur*** en 1889.

Malassez en 1874 a décrit des cellules de forme ovoïde sans hyphe à partir de pellicules provenant de cuir chevelu de personnes présentant un *pityriasis capitis*, c'est-à-dire une desquamation sèche du cuir chevelu et ces organismes ont été nommés *Pityrosporum malassezii* en 1904 par Sabouraud. Ils ont ensuite été renommés ***Pityrosporum ovale*** par Castellani et Chambers en 1913.

La découverte de *Malassezia pachydermatis* s'est faite en 1925 par Weidman à partir d'écailles d'un rhinocéros atteint de dermatite exfoliative (GUILLOT et BOND (1999)). Sa croissance était possible sur un milieu ordinaire, sans supplémentation lipidique. Du fait de sa ressemblance avec *Pityrosporum ovale* mais de sa plus petite taille, Weidman a proposé de la nommer ***Pitysporum pachydermatis***.

En 1951, Gordon a mis en culture des organismes de forme circulaire provenant d'humains atteints de *pityriasis versicolor* qu'il a nommés ***Pityrosporum orbiculare***.
En 1955, il a découvert des levures en forme de bouteille à partir d'un prélèvement sur une otite externe de chien, qu'il a reliées au genre *Pityrosporum* du fait de leur forme et de leur bourgeonnement caractéristique. Celles-ci avaient la particularité de ne pas nécessiter de supplémentation lipidique pour leur croissance. Il les a qualifié de ***Pityrosporum canis***.

Il a été découvert par la suite que les *Pityrosporum canis* étaient semblables à ceux découverts par Weidman sur les rhinocéros (*Pityrosporum pachydermatis*) et en 1970 tous les *Pitysporum* capables de se développer sans supplémentation lipidique ont été regroupés sous la nomenclature ***P. pachydermatis***.
Après l'unification des deux genres *Malassezia* et *Pityrosporum* en 1986 grâce aux outils de biologie moléculaire (GUILLOT (1993), DESORMEAUX (2002), BOEKHOUT *et al*. (2010)), le nom ***Malassezia pachydermatis*** a été adopté pour cette levure.

En ce qui concerne les autres levures, la capacité de *Pityrosporum orbiculare* et *ovale* à produire un hyphe a été montrée dans les années 1970. Ceci a conduit à la suspicion que les levures *Malassezia* (forme filamenteuse) et *Pityrosporum* (forme levure) représentaient en fait différents stades du cycle des *Malassezia*. Les différentes nomenclatures ont alors fusionnées en une seule : ***Malassezia furfur***, incluant *Pityrosporum orbiculare, Pityrosporum ovale et Malassezia furfur.*

En 1989, GUÉHO et MEYER (1989) confirment, par réassociation chromosomique entre souches différentes supérieure à 85%, l'équivalence des 2 espèces *P. ovale* et *P. orbiculare*.

Progressivement et grâce aux outils de la biologie moléculaire, d'autres espèces viendront compléter le genre *Malassezia* dans les années 1990, comme *M. sympodialis*, *obtusa*, *restricta*, *globosa* et *slooffiae*, que nous verrons par la suite.

2. Classification des levures *Malassezia*

Les levures *Malassezia* appartiennent au règne des Champignons, c'est-à-dire à un ensemble d'êtres vivants Eucaryotes, immobiles et hétérotrophes.
Le règne des Champignons est scindé en deux divisions selon le type de reproduction, sexuée ou asexuée (CHERMETTE *et al.* (1993), DESORMEAUX (2002), TANE (2006)) :
- les « champignons parfaits » dont la reproduction est sexuée et qui comprennent les Zygomycètes, les Mastigomycètes, les Ascomycètes et les Basidiomycètes
- les « champignons imparfaits » dont la reproduction est asexuée et qui sont artificiellement rassemblés dans le phylum des Deutéromycètes. Ce phylum englobe un ensemble très hétérogène de champignons d'espèces à qui l'on n'attribue pas de reproduction sexuée.

Les *Malassezia* appartiennent donc au groupe des **« champignons imparfaits »** (CHERMETTE *et al.* (1993)).

Ces levures appartiennent à l'ordre des **Blastomycètes** et à la famille des **Cryptococcacées**, c'est-à-dire à un groupe de champignons unicellulaires de type levure se reproduisant presque exclusivement par bourgeonnement de blastospores, bien que certains puissent former du pseudo-mycélium, voire un vrai mycélium.

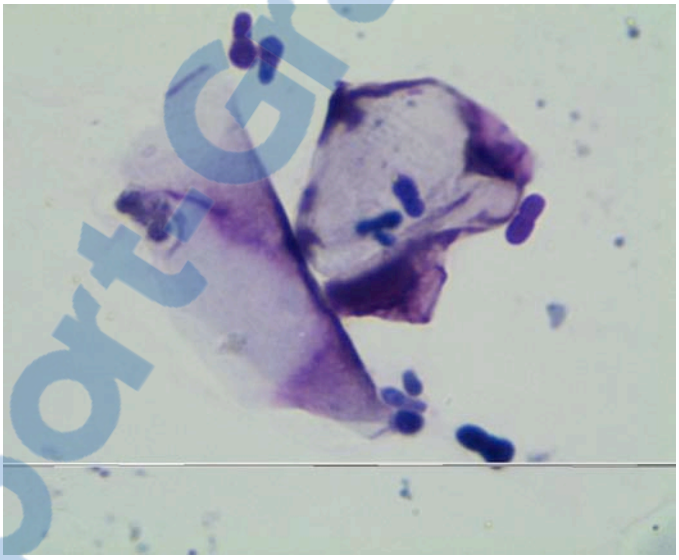
Par ailleurs, les levures *Malassezia* n'ont pas d'arthrospores, ne fermentent pas les sucres, n'ont pas de capsule ni de pigments caroténoïdes visibles et sont lipophiles, ce qui les distingue des autres genres de la famille des Cryptococcacées.

3. Caractéristiques du genre *Malassezia*

3.1 Reproduction

Comme évoqué précédemment, la reproduction de ces levures est asexuée : elle se fait par bourgeonnement unipolaire (sauf pour une espèce du genre qui est capable de bourgeonner de façon sympodiale, *M. sympodialis*) de façon répétitive, donnant leur forme caractéristique « de bouteille de Perrier » ou « d'empreinte de pas » aux *Malassezia* (figure 1). Au cours de ce processus de scission, les cellules mères et filles sont d'abord séparées par un septum, puis la cellule fille se sépare par fission, laissant un bourrelet cicatriciel par laquelle les autres cellules filles émergeront (ASHBEE (2002), DESORMEAUX (2002)).

Figure 1 : Aspect des levures *Malassezia* en bourgeonnement (ici *M. pachydermatis*) au microscope optique. (Grossissement x 100, huile à immersion, prélèvement cutané par écouvillonnage) (ENVA)



Rapport-Gratuit.com

3.2 Structure de la paroi des levures *Malassezia*

Au microscope électronique à transmission, la structure de la paroi du genre *Malassezia* est caractéristique : elle est épaisse par rapport aux autres levures (environ 0,12 µm et jusqu'à 0,25µm) et est multilamellaire (BOEKHOUT *et al.* (2010)). Elle représente entre 26 et 37% du volume cellulaire. Une telle paroi n'est connue que pour ce genre du monde fongique.

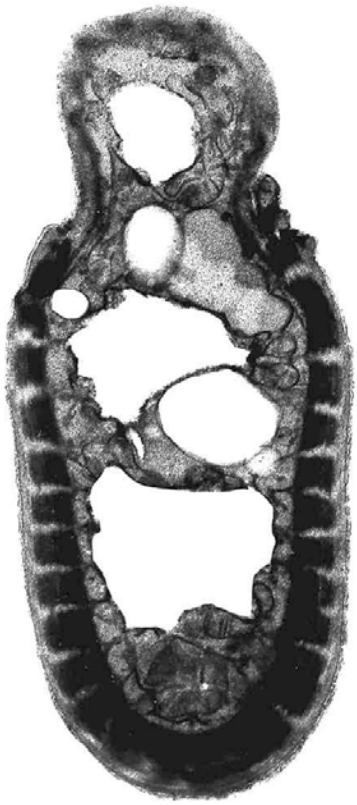
Trois couches séparent les *Malassezia* du milieu extérieur (BEN SALAH *et al.* (2010), BOEKHOUT *et al.* (2010), ASHBEE *et al.* (2002)) :
-**la couche lamellaire externe**, lipidique, dont la structure varie selon les lipides présents dans le milieu extérieur. Cette couche pourrait jouer un rôle dans le processus d'adhésion de la levure, de par son hydrophobie.

-la paroi cellulaire, multilamellaire**,** formant une structure unique dans le règne des champignons. Il y a deux couches principales séparées par une zone intermédiaire, chacune des couches principales étant plurilamellée. Elles est composée de 70% de glucides, 10% de protéines, 15 à 20% de lipides et de faibles quantités d'azote et de sulfure. La couche interne de cette paroi montre des invaginations en spirale adhérant fortement à la membrane plasmique.

-la membrane plasmique, couche la plus interne, présente une invagination hélicoïdale inclinée d'environ 45° par rapport à l'axe de la levure et prend un aspect festonné. Elle adhère fortement à la couche interne de la paroi.

Son aspect est visible sur la figure 2.

Figure 2 : Aspect de *Malassezia pachydermatis* au microscope électronique à transmission (Institut Pasteur de Paris)



3.3 Filamentation

Certaines levures du genre sont capables d'exister à la fois sous la forme de levures, forme la plus couramment mise en évidence sur une peau saine, ou sous une forme filamenteuse. Il s'agit en fait d'un pseudo-mycélium qui prend la forme de filaments courts et trapus d'un diamètre de 3 µm pour une longueur dépassant rarement les 15 µm.

Il n'est pas facile d'obtenir la forme filamenteuse à la mise culture, sauf pour *M. furfur* qui en produit spontanément.

Ces hyphes joueraient un rôle pathogène en médecine humaine : 100% des levures prélevés à partir de lésions de *pytiriasis versicolor* seraient sous leur forme filamenteuse (BOEKHOUT *et al.* (2010)).

3.4 Croissance et nutrition

Toutes les espèces de *Malassezia* ont besoin d'une source externe de lipides pour leur croissance. Ceci a été montré pour la première fois à partir de *P. ovale* en 1963 par SHIFRINE et MARR (1963).
On distingue ainsi classiquement deux groupes de levures *Malassezia* :

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

-les levures lipodépendantes, qui ne se développent qu'en présence d'acides gras à longues chaînes (C12 à C24) et qui nécessitent des milieux de culture supplémentés en différents acides gras tels que l'acide oléique, l'acide arachidique, l'acide palmitique ou l'acide stéarique ;
-les levures non lipodépendantes, qui peuvent se développer à partir d'acides gras à courtes chaînes (moins de 12 atomes de carbone), qui sont présents en quantité suffisante dans les milieux de culture usuels (HUANG et LITTLE (1993)).
Par ailleurs, ces lipides seraient un facteur de virulence car la paroi riche en lipides des *Malassezia* les protégerait de la phagocytose et son caractère hydrophobe pourrait être un des mécanismes d'adhésion aux cellules hôtes (BOEKHOUT *et al.* (2010)).
Les *Malassezia* ne nécessitent pas de vitamines ou d'électrolytes. La méthionine constitue leur source de sulfure principale mais elles peuvent aussi utiliser la cystine ou la cystéine.
Elles sont incapables de fermenter les sucres.

Le pH optimum pour la croissance des levures serait de 7,5. Le pH de la peau des canidés varie de 6,2 à 8,6 avec une moyenne de 7, 52, ce qui correspond tout à fait aux conditions de croissance des levures (MASON *et al.* (1996)).
Leur température optimale de croissance est de 32-37°C. La mise en culture se fait classiquement à 37°, ce qui correspond à la température du conduit auditif externe du chien (DESORMEAUX (2002)). Au delà de 41°C, les différentes espèces recensées ne se développent plus.

Les *Malassezia* poussent en milieu aérobie mais sont également capables de se développer dans des conditions microaérophiles ou anaérobies pendant une durée limitée pour cette dernière et avec une croissance faible (ASHBEE *et al.* (2002)).
Une concentration de 5 à 10% de CO2 augmente de manière significative la fréquence d'isolation de *Malassezia pachydermatis* mais uniquement sur un milieu de Sabouraud (BOND et LLOYD (1996 c)).

Milieux de culture
Leur culture peut être obtenue sur différents milieux, en fonction des espèces (BEN SALAH *et al.* (2010)):

-le **milieu de Sabouraud** : il permet l'isolement de *M. pachydermatis.*

-le **milieu de Dixon modifié** : il favorise la croissance de toutes les espèces du genre *Malassezia* et leur procure des caractères morphologiques et physiologiques pouvant faciliter leur identification (BOEKHOUT *et al.* (2010), CABANES *et al.* (2007)). C'est aussi le milieu le mieux adapté au comptage des colonies, du fait de sa couleur foncée. Par exemple dans l'étude de BOND et LLOYD (1996 c), les auteurs ont trouvé que le comptage de *M. pachydermatis* au bout de 3 jours de culture sur 5 milieux différents était plus aisé sur ce milieu, car les colonies étaient bien distinguables les unes des autres et des contaminants.

-le **milieu de Leeming et Notman modifié** : il est utilisé principalement pour augmenter la biomasse des levures et maintenir des espèces en culture.

La composition des ces milieux figure en annexe 1.

4. Les différentes espèces de *Malassezia*

Quatorze espèces de levures *Malassezia* sont actuellement inclues dans le genre. Treize sont lipodépendantes : *M. dermatis, M. furfur, M. sympodialis, M. globosa, M. obtusa, M. restricta, M. japonica, M. nana, M. slooffiae, M. equina, M. caprae, M. yamatoensis, M. cuniculi* et une non-lipodépendante : *M. pachydermatis.*

4.1 Espèces lipodépendantes

Celles-ci sont incapables de synthétiser les acides gras à longues chaînes nécessaires à leur membrane cellulaire. Elles doivent donc utiliser des lipides à longue chaîne de l'environnement, d'où la nécessité d'un milieu de culture supplémenté en acides gras, tels que l'acide oléique (huile d'olive), l'acide arachidonique, l'acide palmitique ou l'acide stéarique (DESORMEAUX (2002)).

Malassezia furfur

Première espèce lipodépendante découverte (par Robin en 1853), *Malassezia furfur* est une espèce faisant partie de la flore commensale de l'homme. Elle peut aussi se comporter en agent pathogène et être agent de *pityriasis versicolor*, *pityriasis capitis*, de dermatite séborrhéique et de folliculite. Elle a pu être occasionnellement mise en évidence chez des chats, chiens, chevaux atteints ou non d'otite externe (CRESPO *et al.* (2002), BOEKHOUT *et al.* (2010)).

Son dimorphisme a été à l'origine de la longue distinction entre *Pityrosporum orbiculare* (forme sphérique) *et Pityrosporum ovale* (forme ovale), aujourd'hui regroupées sous le nom *M. furfur*.

En effet, on peut trouver cette levure sous deux formes : la forme ovale, large et cylindrique qui fait 1,5-4,5 x 2,0-6,5 µm et la forme sphérique qui fait 2,5 à 4,5 µm de diamètre.

Le bourgeonnement se fait à partir d'une base plus ou moins large. Des pseudohyphes peuvent prendre naissance en n'importe quel point de la paroi cellulaire : généralement courts, ils ont un diamètre compris entre 2,5 et 4,0 µm et sont très rarement ramifiés (GUILLOT (1993)).

Après 7 jours de culture à 32°C sur milieu de Dixon, on retrouve des colonies plates ou avec une petite élévation centrale, plutôt opaques et ternes, lisses et de texture molle ou friable.

Elles tolèrent des températures plus élevées que les autres *Malassezia* et peuvent croître jusqu'à 41°C (GUÉHO *et al.* (1996), BOEKHOUT *et al.* (2010)).

Malassezia sympodialis

Malassezia sympodialis, découverte en 1990 par SIMMONS et GUÉHO (1990) est la troisième espèce acceptée dans le genre, un siècle après *M. furfur*. Elle a été trouvée pour la première fois dans le conduit auditif d'un homme sain.

Après 7 jours de culture à 32°C, on observe des colonies plates ou avec une légère élévation centrale, lisses et brillantes, de couleur crème à chamois, d'environ 5 mm de diamètre.

Les cellules font 1,5-2,5 x 2,5-6,0 µm de taille et sont ovoïdes à sphériques. Elles sont donc de petite taille par rapport aux autres espèces (HIRAI *et al.* (2004)). La base du bourgeon est plus étroite que la cellule mère mais les cellules mère et fille sont de même largeur.

Elle tire son nom de sa capacité à réaliser un bourgeonnement sympodial, c'est-à-dire que deux bourgeons se forment en même temps, à partir d'une base étroite.
On la retrouve classiquement sur la peau humaine.

Malassezia globosa
Décrite en 1996 à partir de lésions de *pityriasis versicolor* par GUÉHO *et al.* (1996), elle tire son nom de sa forme très arrondie et caractéristique. Sa conservation *in vitro* est assez difficile (BOEKHOUT *et al.* (2010)).
Après 7 jours de culture à 32°C, les colonies font 3-4 mm de diamètre, et paraissent rugueuses, ternes et fragiles.
Les cellules sont sphériques, de 2,5 à 8,0 µm de diamètre. Leur base de bourgeonnement est étroite et elles présentent un bourrelet cicatriciel moins marqué que chez les autres espèces, ce qui est une caractéristique stable de l'espèce, contrairement à *M. furfur* dont la morphologie est assez variable.
Des pseudo-hyphes sont souvent présents et prennent pour origine la base du bourgeon.

Malassezia obtusa
Cette levure a été découverte en 1996 et décrite par GUÉHO *et al.* (1996), à partir de la peau de l'Homme. Elle tient son nom de son apex arrondi. Sa culture est relativement difficile.
Après 7 jours de culture à 32°C, les colonies sont convexes, lisses et plates, d'environ 4 mm de diamètre, brillantes ou ternes et collantes au toucher.
Les cellules sont de taille importante par rapport aux autres espèces de *Malassezia* :1,5-2,0 x 4,0-6,0 µm. La base d'émergence des cellules filles est large. De pseudo-hyphes peuvent se former depuis tout point de la cellule mère (BOEKHOUT *et al.* (2010)).

Malassezia restricta
Cette levure a été découverte en 1996 par GUÉHO *et al.* (1996) à partir de la peau d'un homme sain. Elle tire son nom de sa très forte lipodépendance et donc de sa croissance limitée *in vitro*.
Après 7 jours de culture à 32°C sur milieu de Dixon, les colonies sont petites, de 3 mm de diamètre en moyenne, plates, ternes, couleur crème à chamois. Elles sont fermes et fragiles au toucher.
La taille des cellules est de 1,5-2,0 x 2,5-4,0 µm et elles sont de forme ovoïde à sphérique.
Leur base de bourgeonnement est relativement étroite (BOEKHOUT *et al.* (2010)).

Malassezia slooffiae
Cette levure a été découverte en 1996 par GUÉHO *et al.* (1996) à partir d'un conduit auditif de porc. Sa culture *in vitro* est assez aisée.
Après 7 jours de croissance à 32°C sur milieu de Dixon, les colonies sont plates, de 3-4 mm de diamètre, brillantes et de couleur crème à chamois, avec un aspect rugueux et des sillons périphériques.
Les levures appartenant à l'espèce *M. slooffiae* se présentent sous la forme de cellules courtes, cylindriques avec un bourgeon formé sur une base large et elles ont une taille de 1,0-2,0 x 1,5-4,0 µm (BOEKHOUT *et al.* (2010)).

Autres espèces
L'équipe de Sugita *et al.* a isolé trois nouvelles espèces récemment: ***Malassezia dermatis*** en 2002 à partir de la peau de japonais atteints de dermatite atopique (SUGITA *et al.* (2002)), ***Malassezia japonica*** en 2003 à partir de la peau d'une japonaise en bonne santé (SUGITA *et al*. (2003)) et ***Malassezia yamatoensis*** en 2004 à partir de la peau d'un japonais atteint de dermatite séborrhéique (SUGITA *et al.* (2004)). Leurs caractéristiques morphologiques sont présentées dans le tableau 1.

Malassezia nana a été découverte en 2004 par HIRAI *et al.* (2004) sur un chat de 6 mois au Japon présentant une otite externe. Elle présente une morphologie proche de celles de *M. sympodialis* et de *M. dermatis*. L'épithète *nana* (féminin de "nain") a été donnée compte tenu de la petite taille des cellules (moins de 3 µm). Après 7 jours de culture à 32°C, les colonies font 1,5-2 mm de diamètre, sont de couleur crème, convexes et lisses. Les cellules sont ovoïdes à sphériques et ont une taille de 3,0-4,0 x 2,0-3,0 µm. La croissance de *M. nana* ne se fait plus au delà de 37°C.

Enfin, ***M. caprae*** et ***M. equina*** ont été découvertes en 2006 par CABANES *et al.* (2007), à partir de la peau de chèvres et de chevaux sains (en région anale). Incapables de croître sans supplémentation lipidique, au bout de 7 jours de croissance à 32°C sur milieu de Dixon modifié, elles forment de petites colonies de 1-2 mm de diamètre pour les premières et 2-3 mm pour la deuxième. A 40°C, leur croissance ne se fait plus et à 37°C leur croissance est faible, ce qui les distingue de la plupart des autres espèces lipodépendantes du genre.
M. caprae est de forme ovalaire à sphérique, avec une taille de 2,5-4 x 2,2-3,5 µm alors que *M. equina* est plutôt ovoïde et de taille similaire, 3,0-4,5 x 2,2-3,5 µm. Aucune forme filamenteuse n'a été mise en évidence à ce jour.

Enfin, ***Malassezia cuniculi*** a été découverte en 2011 par CABANES *et al.* à partir de la peau de lapin. Il s'agit de la dernière espèce découverte du genre, à ce jour.

4.2 <u>Espèce non lipodépendante</u>

La seule espèce non lipodépendante connue à ce jour est ***M. pachydermatis*****.**
Elle a été découverte en 1925 sur un rhinocéros captif souffrant d'une dermatite exfoliative généralisée, par Weidman. Gustafson a mis en évidence le rôle de cette levure dans l'otite externe du chien en 1955 (GUILLOT et BOND (1999)).
Elle est l'espèce de *Malassezia* la plus souvent mise en évidence chez le chien (CAFARCHIA *et al.* (2005)).
Elle est rarement retrouvée sur la peau humaine mais a été associée avec certains cas de septicémie fongique chez des nouveaux-nés (CHANG *et al.* (1998)).

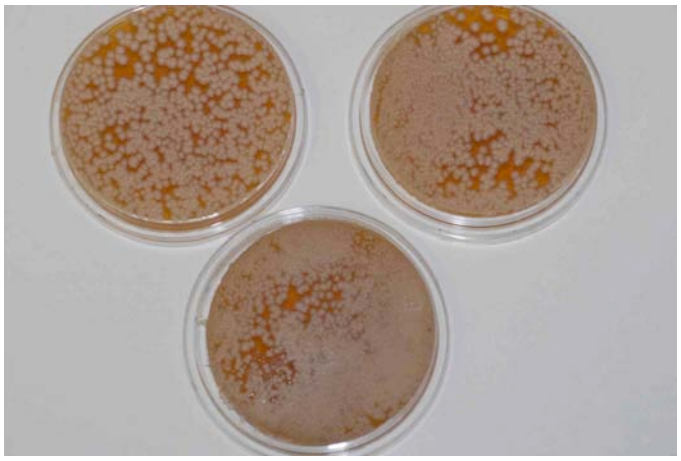
<u>Caractéristiques culturales</u>

La culture de *M. pachydermatis* est plus aisée que les autres espèces du genre car elle ne nécessite que la présence d'acides gras à courte chaîne (moins de 12 atomes de carbone), déjà

présents dans les milieux de culture usuels (HUANG et LITTLE (1993)). Elle est lipophile mais non lipidodépendante. MASUDA *et al.* (2000) ont montré que les *M. pachydermatis* issues de conduits auditifs de chiens étaient capables d'utiliser les acides gras du milieu (acides oléique et linoléique) et que leur croissance était plus rapide dans ce cas.

La croissance de *M. pachydermatis* est optimale pour des températures comprises entre 32 et 37°C et peut se faire jusqu'à 40°C. Après 72 heures de culture à 32°C, la pousse donne des colonies rondes, de 4-5 mm de diamètre, en dômes, de couleur crème qui deviennent brunâtres en vieillissant (figures 3 et 4). Leur texture est lisse et friable (GUÉHO *et al.* (1996)).

Figures 3 et 4 : Aspect macroscopique de colonies de *Malassezia* après 7 jours de culture à 32° sur milieu de Dixon (Service de parasitologie, ENVA)



Les cellules sont petites et ovoïdes, et ont une taille de 2-3 x 4-5 µm. Les bourgeons se forment sur une base large, la plus large du genre et laissent un proéminent bourrelet cicatriciel.

HUANG et LITTLE (1993) ont rapporté des colonies qualifiées de grande taille (3 mm de diamètre après 72h d'incubation) et d'autres, plus difficile à cultiver sur milieu de Sabouraud dextrose agar et moins fréquentes, de petite taille (1 mm de diamètre après 72h d'incubation), à partir de prélèvements effectués au niveau des oreilles et de la peau de chiens atteints. La confusion de ces dernières avec des espèces lipidodépendantes est aisée.
Ces deux types de colonies possèdent une composition en acides gras différente et leurs différences phénotypiques seraient ainsi la conséquence d'une différence de composition lipidique du milieu d'origine. Les souches à larges colonies contiennent les acides palmitiques, stéarique, oléique et linoléique tandis que les petites contiennent les acides myristique, palmitique, stéarique, linoléique (en moins grande quantité) et cinq autres acides gras non identifiés.

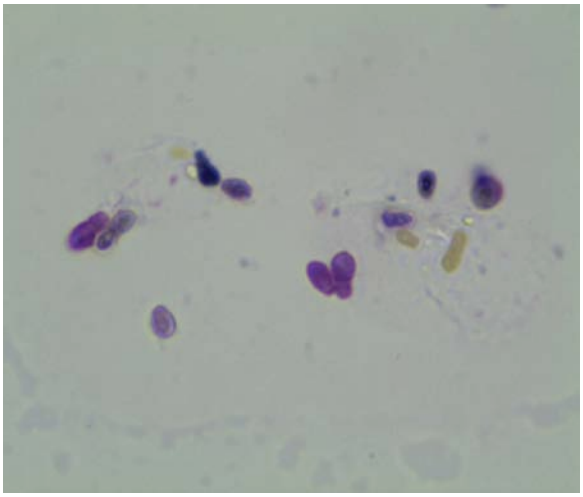
Une étude de GUILLOT *et al.* (1997) a permis d'isoler à partir de 100 animaux 7 types de séquences de l'ARN ribosomal de *M. pachydermatis*, nommés de Ia à Ig. Les levures isolées

chez le chien sont Ia, Id et Ie. Cette étude a aussi montré qu'il était possible de trouver chez un même chien deux types séquentiels simultanément. La souche Id correspond au phénotype des petites colonies (<2mm) et croît avec difficulté sur un milieu de Sabouraud. Ia et Ie correspondent au phénotype des colonies de grande taille (>2mm) et croissent facilement sur un milieu de Sabouraud.

Morphologie cellulaire

La cellule est ovalaire à cylindrique et a une taille de 2,0-2,5 x 4,0-5,0 µm (figure 5).
Le site d'émergence de la cellule fille est le plus large du genre et le bourrelet cicatriciel est bien visible. La base du bourgeon a une largeur de 0,9-1,1 µm, alors que celle des espèces lipodépendantes est généralement de 0,5 à 0,7 µm (GUÉHO *et al.* (1996), DESORMEAUX (2002)).

Figure 5 : Aspect de *Malassezia pachydermatis* au microscope optique (grossissement x100, huile à immersion) (ENVA)



La capacité de *M. pachydermatis* à émettre des filaments est incertaine, même si FAERGEMANN et BERNANDER (1981) rapportent de petits filaments dans des conditions micro-aérobiques en 1981.

Les caractéristiques de ces différentes levures sont regroupées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques morphologiques des colonies et des cellules de 13 espèces de *Malassezia* (d'après BOEKHOUT *et al.* (2010), GUEHO *et al.* (1996), CABANES *et al.* (2007))

Espèce	*M. furfur*	*M. sympodialis*	*M. pachydermatis*	*M. globosa*	*M. slooffiae*	*M. restricta*	*M. obtusa*
Morphologie des colonies (après 7j d'incubation sur milieu de Dixon)	Plat ou avec une petite élévation centrale, plutôt opaque et terne, de texture molle ou friable	Plat, lisse, brillant	Convexe, lisse, friable. Les jeunes colonies sont souvent non adhérentes au milieu de culture	Rugueux, aspect grossier, brillant ou terne	Brillant, texture grossière, rugueuse, avec de fins sillons	Plat, terne, lisse	Lisse, plat, collant
Couleur des colonies	Crème	Crème à chamois	Jaune pâle à crème	Crème à chamois	Crème à chamois	Crème	Crème
Forme des levures	Ronde, ovalaire à cylindrique	Ovalaire à sphérique	Ellipsoïdale à cylindrique	Sphérique	Cylindrique	Sphérique à ovale	Cylindrique
Taille des levures	Formes ovales: 1,5-4,5 x 2,0-6,5 µm, formes sphériques : 2,5 à 4,5 µm de diamètre	1,5-2,5 x 2,5-6 µm	2-3 x 4-5 µm	2,5 à 8 µm de diamètre	1-2 x 1,5-4 µm	1,5-2µm sur 2,5-4µm	1,5-2 x 4-6 µm
Type de bourgeonnement	Bourgeonnement à base large. Pseudo-hyphes possibles chez certaines souches et conditions de cultures	Bourgeon présentant une base plus étroite que la cellule mère, largeur de la cellule fille identique à la largeur de la base, possibilité de bourgeonnement sympodial	Site d'émergence des cellules filles le plus large des espèces *Malassezia*, bourrelet cicatriciel bien visible. La base du bourgeon atteint une largeur de 0,9-1,1 µm.	Bourgeonnement à base étroite, bourrelet cicatriciel peu marqué, parfois de courts filaments à la base du bourgeonnement	Bourgeons formés à partir d'une base large	Base de bourgeonnement assez étroite	Base large

Espèce	*M. nana*	*M. dermatis*	*M. japonica*	*M. yamatoensis*	*M. caprae*	*M. equina*
Morphologie des colonies (après 7j d'incubation sur milieu de Dixon)	Convexe, lisse, brillant à terne	Plat ou avec une petite élévation centrale, brillant à terne	Plat, présence de fins sillons, marges ondulées, terne	Brillant, lisse, marges ondulées	Lisse, brillant à terne, modérement convexe	Brillant à terne, sillons, marges repliées
Couleur des colonies	Crème à chamois	Jaune pâle à blanc	Crème à chamois	Jaune pâle à crème	Blanc à crème	Crème
Forme des levures	Sphérique à ovale	Ovale à ellipsoïdale	Cylindrique	Ovale à cylindrique	Ovale à rhomboïde	Ovale à ellipsoïdale
Taille des levures	3-4 x 2-3 µm	3,8-4,8 x 2,5-3,2 µm	3-3,5 x 2-2,5µm	3-4 x 2,4-3 µm	2,5-4 x 2,2-3,5 µm	3-4,5 x 2,2-3,5µm
Type de bourgeonnement	Base étroite	Bourgeonnement sympodial possible, base large	Base large	Base large	Base étroite à modérément large	Base étroite

Rapport-Gratuit.com

5. Portage cutané de levures *Malassezia* chez le chien sain

Le portage cutané de levures *Malassezia* chez le chien a été souvent étudié.

Dans une étude de GUILLOT *et al.* (1994) sur 356 mammifères dont la plupart présentaient une peau saine, 34% des animaux testés (domestiques et sauvages) et 66% des chiens testés (peau et conduit auditif) étaient porteurs de levures *Malassezia*. Chez ces derniers, la seule levure isolée fut *M. pachydermatis*. D'autres études ont mis les *Malassezia* en évidence à une beaucoup plus grande fréquence, par exemple chez 95% des chiens sains dans l'étude de KENNIS *et al.* (1996). Les levures *Malassezia* font donc partie de la flore commensale du chien.

En ce qui concerne les sites de portage, elles ont pu être isolées chez le chien sain à partir de la peau (plus précisément la région péri-orale, des espaces interdigités et de la région axillaire), des conduits auditifs externes et des muqueuses anales et vaginales notamment (GUILLOT *et al.* (1994), BOND *et al.* (1995 a), CAFARCHIA *et al.* (2005), KENNIS *et al.* (1996)). Par exemple, dans l'étude de BOND *et al.* (1995 a), le portage cutané et muqueux de *Malassezia* a été étudié chez 20 chiens sains : le portage anal a été mis en évidence chez la moitié d'entre eux. Leur présence dans le conduit auditif externe, lèvre inférieure, cavités nasales et espaces interdigités a pu aussi être mise en évidence mais de façon moins fréquente et en faibles quantités. Il est possible que le portage muqueux soit à l'origine d'une dissémination cutanée, lors de la toilette par exemple.

Ceci n'est pas en accord avec l'étude de KENNIS *et al.* (1996) qui montre que le menton est le site avec le plus grand nombre de *Malassezia* à la mise en culture et qu'il existe une très grande variabilité dans le nombre de *Malassezia* en fonction du site corporel. La région axillaire est dans cette étude le site avec le plus faible portage.

Dans l'étude de CAFARCHIA *et al.* (2005), 60,6% des chiens sains testés présentaient au moins une des zones prélevées (péri-oculaire, péri-orale, région dorsale du cou, péri-anale, inguinale, interdigité et conduit auditif externe) positive pour la présence de *Malassezia* et les régions les plus fréquemment touchées étaient la muqueuse anale et la région péri-orale. La région inguinale était la moins touchée. L'importance de cette étude réside dans le fait que des espèces de *Malassezia* lipodépendantes ont pu être mises en évidence chez le chien sain.

Ainsi, les levures *Malassezia* font partie de la flore commensale du chien et le portage semble abondant au niveau de la muqueuse anale et de la région péri-orale. *M. pachydermatis* est la levure retrouvée le plus fréquemment. Des levures lipodépendantes sont très rarement isolées et en faible nombre.

Le Basset Hound, race prédisposée à la dermatite à *Malassezia*, constitue un cas particulier. Les portages asymptomatiques cutané (en région axillaire notamment) et muqueux (nasal, buccal, vulvaire et prépucial) sont plus fréquents et en plus grandes quantités que chez les autres races, sauf pour la muqueuse anale, d'après l'étude de BOND et LLOYD (1997).

6. Pouvoir pathogène des levures *Malassezia*

Tous les facteurs de virulence des levures *Malassezia* n'ont pas été découverts à ce jour. Elles sont capables de libérer plusieurs enzymes, contribuant à la mise en place des lésions cutanées.

6.1 Zymogène

Une pro-enzyme inactive, le zymogène est présente dans la paroi cellulaire et est capable d'activer le complément. Ceci pourrait provoquer des modifications au niveau du *stratum corneum* et la perte de l'intégrité de la barrière cutanée, augmentant à la fois l'humidité à la surface de la peau, ce qui est favorable à la prolifération des levures et exposant le système immunitaire plus intensément aux antigènes des *Malassezia*, conduisant à de l'inflammation et à des réactions d'hypersensibilité.

6.2 Lipases

Les *Malassezia* sont aussi capables de produire des lipases.
Les lipases affectent la composition du sébum et produisent la plupart des acides gras libres à la surface de la peau, en hydrolysant des triglycérides. Ces acides gras inhibent la croissance des autres micro-organismes et jouent en faveur de la prolifération des *Malassezia*.
Les lipases auraient un rôle tout particulier dans la mise en place de l'état kérato-séborrhéique qui accompagne fréquemment la dermatite à *Malassezia* (MASON *et al.* (1996)).

Les phospholipases en particulier, endommagent les membranes des cellules épithéliales de l'hôte et contribuent à l'apparition des lésions cutanées. L'étude de CAFARCHIA et OTRANTO (2004) a montré qu'un fort pourcentage de souches de *M. pachydermatis* (93,9%) isolées à partir de sites lésionnels de chiens présentant une dermatite produisaient des phospholipases, contrairement à 41,4% des souches isolées sur la peau saine du même chien et seulement 10,6% de celles isolées depuis des chiens sains. Ceci est en accord avec l'étude de CAFARCHIA *et al.* (2008).
Elles provoqueraient la libération d'acide arachidonique par les cellules épithéliales, qui contribuerait à l'inflammation cutanée (BEN SALAH *et al.* (2010)).

6.3 Lipoperoxygénases

Les levures secrètent également une enzyme lipoperoxygénase capable d'oxyder les acides gras insaturés libres ou estérifiés, le squalène et le cholestérol.
Les lipoperoxydes qui en résultent peuvent endommager la membrane cellulaire (BEN SALAH *et al.* (2010)).
Leur présence en quantité augmentée a été montrée chez l'homme sur des zones lésionnelles de patients atteints de *pityriasis versicolor*, mais pas sur les zones saines (BOEKHOUT *et al.* (2010)).

6.4 Autres

Les levures *Malassezia* produisent des protéases, qui exciteraient les terminaisons nerveuses et seraient en partie responsables du prurit (GUAGUERE et PRELAUD (1996)).
Enfin, elles peuvent produire aussi des gamma-lactones volatiles, responsables de l'odeur caractéristique lors de leur prolifération et de l'acide azelaïque, inhibiteur compétitif de la tyrosinase, enzyme impliquée dans le synthèse de mélanine (BOEKHOUT *et al.* (2010), CAFARCHIA et OTRANTO (2004)).

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

7. Défense de l'hôte et réponse immunitaire vis-à-vis des levures *Malassezia*

7.1 La peau : barrière naturelle entre l'hôte et les levures *Malassezia*

La peau constitue la principale barrière protectrice entre l'organisme et les attaques de l'environnement, notamment les parasites et les micro-organismes.

Elle est composée d'un macro (principalement composé par les poils) et d'un micro-environnement (épithélium, espaces inter-cellulaires et follicules pileux).
Le micro-environnement cutané est un espace finement régulé. Pour maintenir une population constante à sa surface, ceci nécessite un équilibre entre les caractéristiques physiques (l'humidité et la température par exemple), chimiques (pH) et immunologiques. Tout ceci permet d'empêcher la prolifération d'agents pathogènes par compétition pour les nutriments et l'espace disponibles (MASON *et al.* (1996)). Ainsi, tout déséquilibre à la surface de la peau peut être favorable à la prolifération de micro-organismes dont les levures *Malassezia*.

La colonisation de la peau par les *Malassezia* débute tout d'abord par l'adhérence des levures aux cellules du *stratum corneum*. L'adhérence des *Malassezia* aux cornéocytes canins a été montrée par BOND *et al.* (1996 b) : ils ont d'ailleurs montré que l'adhérence des levures aux cornéocytes de Basset Hounds sains (race prédisposée à la dermatite à *Malassezia*) était supérieure à celle de Setters sains et qu'elle était plus faible chez les Basset Hounds atteints. Cependant, aucune étude n'a montré si l'adhésion était plus forte lors de dermatite à *Malassezia* chez les races non prédisposées.
Le *stratum corneum* étant sans cesse en renouvellement par kératinisation des cellules épidermiques, ceci permet par une action mécanique d'assurer une protection efficace contre les affections fongiques superficielles. Son renouvellement par désquamation est d'autant plus important lors d'inflammation.

Lors d'une agression, la peau répond par une activation de la réponse immunitaire et une augmentation de son épaisseur en activant la prolifération des cellules de la couche basale : ceci conduit à une inflammation et à une hyperplasie cutanées, et même à long terme à une hyperkératose voire à une lichénification.
Une hyperplasie cutanée modérée a pu être mise en évidence chez des chiens sains suite à l'application d'une suspension de *M. pachydermatis* sur des sites cutanés, dans une étude de BOND *et al.* (2004). Cependant le mécanisme à son origine n'est pas complètement élucidé à ce jour.
Deux mécanismes ont été proposés pour expliquer cette réponse cutanée proliférative lors de dermatite à *Malassezia* (CHEN et HILL (2005)):
- soit un effet **direct** des *Malassezia,* qui sécrètent des protéines mimant des facteurs de croissance ou interagissent directement avec les kératinocytes, induisant leur prolifération ;
- soit un effet **indirect**, via une stimulation de la réponse immunitaire ou via l'inflammation induite pas les traumas auto-infligés provoqués par les pathologies sous-jacentes associées aux dermatites à *Malassezia*.

7.2 Réponse immunitaire vis-à-vis des levures *Malassezia*

a. Non spécifique

Les cellules phagocytaires et notamment les neutrophiles jouent un rôle important dans la réponse immunitaire non spécifique provoquée par les micro-organismes. Ceci se vérifie par le grand nombre d'affections fongiques chez les patients neutropéniques.
Cependant, seules des informations *in vitro* sont disponibles sur la phagocytose des *Malassezia* à ce jour : chez l'homme, après 2h d'internalisation, seules 5% des *Malassezia* sont tuées, mais ce pourcentage passe à 23% si ces cellules sont prétraitées avec du kétoconazole. Ainsi, la capacité des neutrophiles à phagocyter les *Malassezia* semble limitée (ASHBEE *et al.* (2002)).

Le complément, un ensemble de 30 protéines, est un autre acteur important de la réponse immunitaire non spécifique. Son activation favorise l'opsonisation et la phagocytose des pathogènes, ainsi que l'inflammation. La capacité des *Malassezia* à activer le complément a été démontrée en médecine humaine. Cette activation du complément résulte en la production de molécules exerçant un chimiotactisme sur les neutrophiles et permet de les attirer localement pour qu'ils exercent leur phagocytose (ASHBEE *et al.* (2002)).

b. Spécifique

La littérature s'accorde sur le fait que les réponses immunitaires cellulaires et humorales ont toutes deux leur importance pour protéger la peau d'une infection microbienne (BOND *et al.* (1998)).
Cependant, il semble que la réponse cellulaire constitue un des mécanismes principaux de défense lors de mycose superficielle. En médecine humaine, la relation entre faiblesse de la réponse immunitaire cellulaire et mycose superficielle n'est plus à démontrer (ASHBEE *et al.* (2002)).

Il a été proposé par CHEN et HILL (2005), en s'appuyant sur l'exemple d'autres micro-organismes, que le mécanisme par lequel les *Malassezia* stimulent le système immunitaire soit le suivant : les levures, au contact de la peau libèrent des antigènes qui la traversent et qui sont capturés par une cellule présentatrice d'antigènes. Celle-ci migre aux nœuds lymphatiques régionaux et présente alors l'antigène à un lymphocyte T :
- l'activation d'un lymphocyte T auxilliaire 1 aboutit à la libération par un lymphocyte B d'IgG, dont l'action précise reste à déterminer : ils pourraient stimuler la réponse immunitaire, activer le complément et provoquer une inflammation épidermique ou n'avoir aucun effet propre. ;
- l'activation simultanée des lymphocytes T auxilliaires 2 stimule les lymphocytes B et leur transformation en plasmocytes. Ceux-ci secrètent notamment des IgE qui se lient aux mastocytes et provoquent leur dégranulation qui est à l'origine d'une réaction d'hypersensibilité de type I et d'inflammation. Mais ils pourraient aussi se lier aux cellules de Langerhans de la peau et activer leur capture et la présentation antigénique.
Les deux mécanismes pourraient se produire en même temps.

Par ailleurs, plusieurs études chez l'homme tendent à montrer que les levures *Malassezia* peuvent pénétrer au travers de la barrière épidermique et libérer leurs antigènes au sein même de la peau.

La réponse humorale

Une étude de BOND *et al.* (1998) a montré que les chiens atteints de dermatite à *Malassezia* (de n'importe quelle race) ont une élévation des IgA et des IgG sériques spécifiques des levures *M. pachydermatis*. Certains développent une dermatite chronique à *Malassezia*. Ceci semble être la preuve qu'une élévation des taux d'IgG et d'IgA, donc de la réponse humorale ne protège pas de la dermatite à *Malassezia*.
Cette étude a par ailleurs montré que la concentration en IgA des Basset Hounds séborrhéiques, sains et des chiens atteints d'autres races était supérieure à celle des chiens sains, ce qui est en faveur du fait qu'une déficience en IgA n'est pas à l'origine de la mise en place d'une dermatite à *Malassezia.*

Par ailleurs, il semble y avoir un lien entre les levures *Malassezia* et la dermatite atopique :
MORRIS *et al.* (1998) ont montré que des extraits de *M. pachydermatis* étaient capables d'induire une réaction d'hypersensibilité de type 1 chez des chiens atopiques, ce qui est en faveur d'un rôle direct des *Malassezia* dans la pathogénie de la dermatite atopique.
Par la suite, l'étude de FARVER *et al.* (2005) a montré que c'étaient les IgE spécifiques de *Malassezia* qui avaient le rôle principal dans la réaction d'hypersensibilité des chiens atopiques atteints de dermatite à *Malassezia*.
Enfin, l'étude de NUTALL et HALLIWELL (2001) a montré que les chiens atteints de dermatite atopique présentaient des concentrations en IgE et en IgG spécifiques de *Malassezia* plus importantes que les chiens sains, indépendamment du fait qu'ils présentent une dermatite à *Malassezia* ou non.

En médecine humaine, il est connu que la majorité des individus ont des anticorps anti-*Malassezia*, dès le très jeune âge.

La réponse cellulaire

L'étude de BOND *et al.* (1998) a montré que la réponse cellulaire des Basset Hounds atteints de dermatite à *Malassezia* était plus faible que celle de chiens sains d'autres races stimulés *in vitro* avec des antigènes de la levure. Les lymphocytes des Basset Hounds atteints étaient donc moins sensibles aux antigènes des *Malassezia,* ce qui pourrait être une cause ou une conséquence du développement de la dermatite à *Malassezia*.
De plus, l'étude a permis de montrer que les Basset Hounds sains présentaient au contraire une réponse cellulaire augmentée par rapport aux chiens sains d'autres races, ce qui semble être une adaptation lors d'une stimulation antigénique modérée par les *Malassezia* pour éviter leur prolifération excessive.
Par ailleurs, une étude de MORRIS *et al.* (2002) a permis de démontrer que la réponse cellulaire (et humorale) lors de contact avec *M. pachydermatis* contribuait à la pathogénèse de la dermatite atopique chez le chien et donc qu'en arrivant à moduler la réponse immunitaire provoquée par les levures *Malassezia,* on pourrait jouer en même temps sur les lésions cutanées caractéristiques d'un chien atteint de dermatite atopique

8. Dermatite à *Malassezia* chez le chien

La dermatite à *Malassezia* est observée chez des chiens de tout âge et sexe, avec tout de même une tendance pour les animaux plutôt jeunes, de 1 à 5 ans selon l'étude NARDONI *et al*. (2004).
La dermatite débute souvent au cours de l'été ou pendant les mois les plus humides, ce qui correspond aussi au moment où se déclarent la plupart des allergies.

La dermatite à *Malassezia* peut-être localisée ou généralisée à l'ensemble du corps.
En cas de dermatite localisée, les lésions concernent fréquemment les plis cutanés c'est-à-dire les plis axillaires, inguinaux, interdigités et unguéaux, ainsi que la face, en particulier la peau péri-oculaire et péri-orale, la face ventrale du cou et la région péri-anale (figure 6). Ces zones ont souvent une humidité relative supérieure à celle de la ligne du dos par exemple et donc présentent un micro-environnement favorable à la prolifération des levures.
Les levures *Malassezia* sont aussi à l'origine d'otites érythémato-cérumineuses (SCOTT *et al.* (2001)) (figure 7).
Dans l'étude de CAFARCHIA *et al*. (2005), la zone périorale et le conduit auditif externe étaient les zones d'où les plus grandes populations de *Malassezia* ont été isolées.

Figures 6 et 7 : Erythème et alopécie en régions péri-orale, nasale et dans le conduit auditif externe chez un Pitt-Bull de 10 ans atteint de dermatite à *Malassezia* (ENVA)

La clinique chez le chien est assez peu spécifique lors de dermatite à *Malassezia* : elle se manifeste toujours par un prurit moyen à intense et constitue un des signes majeurs de la pathologie. L'érythème est la seule lésion primaire retrouvée (figure 8). On a couramment des lésions secondaires telles qu'une alopécie régionale ou généralisée, un état kérato-séborrhéique (présence de squames, texture de la peau et des poils graisseuse à cireuse et d'une couleur jaunâtre à chamois), des excoriations (conséquence du prurit) et de l'hyperpigmentation ou de la lichénification (figures 9 et 10), ces dernières témoignant de la chronicité de la dermatite.

Dans les cas généralisés, une forte odeur de rance est fréquemment rapportée avec parfois une dyscoloration pilaire ou unguéale (roussissement).

Figure 8 : Erythème des espaces inter-digités chez un Pitt-Bull de 10 ans présentant une dermatite à *Malassezia* généralisée (ENVA)

Figures 9 et 10 : Erythème, alopécie et lichénification chez un West Highland White Terrier. de 8 ans présentant une dermatite à *Malassezia* généralisée (ENVA)

9. Facteurs favorisants de la dermatite à *Malassezia*

Lors de la mise en évidence d'une dermatite à *Malassezia* chez un chien, il est nécessaire de chercher la présence de facteurs favorisants ou de pathologies systémiques concomitantes. En effet, plus de 70% des chiens atteints ont une cause sous-jacente (SCOTT *et al.* (2001), GUAGUERE et PRELAUD (1996), MAULDIN *et al.* (1997)).
L'humidité excessive, la macération et l'irritation chronique (au niveau des plis de la peau par exemple), l'excès de sécrétions sébacées et/ou cérumineuses ainsi que certains troubles de la cornéogénèse retrouvés par exemple en cas de dermatite séborrhéique favorisent la prolifération des *Malassezia*. Le microenvironnement cutané est donc très important pour réguler les populations de levures *Malassezia* (MATOUSEK et CAMPBELL (2002)).

Différentes affections cutanées ou systémiques primaires peuvent être à l'origine d'une fragilisation de la barrière cutanée. La présence d'une dermatose allergique telle qu'une allergie alimentaire, dermatite atopique canine, hypersensibilité aux piqûres de puces, allergie de contact, responsables d'une inflammation cutanée ou une dysendocrinie (hypercorticisme, hypothyroïdie, diabète sucré) responsables d'une altération du système immunitaire sont des facteurs prédisposants (NARDONI *et al.* (2004), MORRIS (1999)).
L'emploi de certains médicaments, notamment des corticoïdes ou antibiotiques tels que l'enrofloxacine pourraient aussi favoriser la colonisation cutanée (PLANT *et al.* (1992), MAULDIN *et al.* (1997)).
La présence de cérumen en excès dans le conduit auditif est un facteur prédisposant aux otites à *Malassezia* (MASUDA *et al.* (2000)).

De plus, de nombreux chiens avec une prolifération cutanée de *Malassezia* présentent aussi une prolifération cutanée de *Staphylococcus intermedius* (BOND *et al.* (1996 a), MAULDIN *et al.* (1997)).

Liés à la race

Bien qu'elle se rencontre chez toutes les races, chez les deux sexes et à tout âge, certaines races semblent prédisposées à la dermatite à *Malassezia* : les West Highland White Terrier, Basset Hounds, Daschund, Cocker, Shi-Tzu et Setter anglais ont un portage chronique de *Malassezia pachydermatis* supérieur aux chiens sains de d'autres races (PLANT *et al.* (1992), BENSIGNOR *et al.* (2002), BOND et LLOYD (1997), BOND *et al.* (1996 a), MATOUSEK et CAMPBELL (2002), MAULDIN *et al.* (1997), SCOTT *et al.* (2001)).
Par exemple, une étude de BOND et LLOYD (1997) a montré que le portage chronique de *Malassezia* au niveau de la peau et des muqueuses de Basset Hounds sains était significativement plus important que chez des chiens sains d'autres races.
Dans le cas du West Highland White Terrier, une dysplasie épidermique congénitale a été décrite par SCOTT et MILLER (1989), qui via un désordre héréditaire de la kératinisation, autoriserait la prolifération des *Malassezia*, entre 2 et 6 mois d'âge. Les traitements antifongiques permettent une atténuation des symptômes mais les rechutes sont fréquentes. Une étude de NETT *et al.* (2001) remet en cause le fait que cette dysplasie soit congénitale et suggère qu'elle est plutôt le résultat d'une réaction inflammatoire ou d'hypersensibilité à l'infection par les *Malassezia* ou le résultat de traumatismes auto-infligés. La résolution de la

dermatite à *Malassezia* a permis la disparition de l'inflammation et de la dysplasie épidermique à la fois.

En plus des races précédentes présentant un portage chronique des levures plus important, les Berger Allemand, Boxer, Chihuahua, Cavalier King Charles, Beagle, Setter Anglais, Caniches, Bouledogues anglais et français, Shar Pei semblent être aussi prédisposés à la dermatite à *Malassezia* selon la littérature (MATOUSEK et CAMPBELL (2002), SCOTT *et al.* (2001), PLANT *et al.* (1992), MAULDIN *et al.* (1997)).
Ces prédispositions raciales ne sont pas encore bien expliquées à ce jour : elles pourraient provenir d'un défaut des défenses immunologiques non spécifiques de la peau (PLANT *et al.* (1992), BOND *et al.* (1996 a)), de différences raciales de physiologie cutanée (composition en lipides, pH…) ou être le reflet d'une prédisposition héréditaire pour certaines pathologies primaires à la dermatite à *Malassezia* (par exemple un syndrome de Cushing pour le Caniche ou une dermatite atopique pour les Bouledogues). SCOTT *et al.* (2001) considèrent que la plupart des races atteintes sont des races prédisposées à certaines dermatoses, notamment la dermatite atopique : les Shar Pei, Terriers (WHWT notamment), Basset Hounds, Boxers, Bergers Allemands, Retrievers et Cockers.

10. Dermatite à *Malassezia* chez les autres espèces

10.1 Chez le chat

La dermatite à *Malassezia* se rencontre beaucoup moins fréquemment chez le chat que chez le chien.
La symptomatologie est assez similaire à celle du chien: prurit, érythème, excoriations, état kérato-séborrhéique et lichénification sont couramment observés (CHEN et HILL (2005)). Elle doit donc être tout particulièrement suspectée lors d'un état kérato-séborrhéique avec présence de débris croûteux brunâtres, de dépôts gras ou de manchons pilaires de couleur sombre, comme chez le chien.

Les zones préférentielles sont les conduits auditifs, l'anus, les bourrelets unguéaux, les plis inguinaux et la région axillaire. On peut les mettre en évidence chez des animaux sains en petite quantité. Sur la face, une prolifération fongique est particulièrement recherchée lors d'intertrigo ou de séborrhée idiopathique faciale chez le Persan, lors de lésions du menton ou de chéilite (LEGRAS (2011)).
Les levures *Malassezia* sont également recherchées lors d'otites externe ou encore de lésions des bourrelets unguéaux (CRESPO *et al.* (2002)).

Huit espèces de *Malassezia* ont pu être mises en évidence chez le chat : *M. furfur, M. sympodialis, M. globosa, M. obtusa, M. restricta, M. slooffiae, M. nana et M. pachydermatis* (LEGRAS (2011)).

Longtemps considérée uniquement comme un marqueur de maladies systémiques telles qu'un processus tumoral (adénocarcinome du pancréas exocrine, thymome), une infection virale (FIV, FeLV) ou une dysendocrinie telle qu'un diabète ou une hyperthyroïdie, il est reconnu actuellement que la dermatite à *Malassezia* est également associée à des dermatites allergiques, tout comme chez le chien (ORDEIX *et al.* (2007), LEGRAS (2011)).

Un portage sain peut-être retrouvé comme chez le chien, avec notamment l'anus comme zone de prédilection, principalement chez des chats à pelage « modifié ». En effet, certaines races félines avec un pelage particulier telles que les Rex Devon, Sphynx, Donskoy, Peterbald ont un portage cutané de *Malassezia* naturellement plus important que des chats à pelage classique. La densité de population de levures étant plus importante, la multiplication de ces éléments fongiques est susceptible d'aggraver des lésions dermatologiques plus rapidement et plus intensément que chez un chat à pelage « classique ».
La difficulté principale dans le diagnostic de la dermatite à *Malassezia* chez le chat provient du fait que l'on observe rarement les levures à l'examen cytologique et donc que son diagnostic est souvent une découverte fortuite, lors de la recherche d'une dermatophytose par exemple (LEGRAS (2011)).

10.2 Chez les autres espèces

Les levures *Malassezia* ont pu être mises en évidence chez une grande variété de mammifères et d'oiseaux.

L'espèce *M. pachydermatis* a été découverte la première fois sur un rhinocéros indien (GUILLOT et BOND (1999)). Elle est fréquemment retrouvée chez des carnivores domestiques ou sauvages, incluant les ours, furets, renards, chats (GUILLOT *et al.* (1994), ORDEIX *et al.* 2007). Elle a aussi pu être mise en évidence chez des chevaux, oiseaux, cochons, chèvres, primates, phoques, rhinocéros…(GUILLOT et BOND (1999), BAUWENS *et al.* (1996), GUILLOT *et al.* (1994), GUILLOT *et al.* (1998), PIN (2004), GUILLOT *et al.* (1995)).

Cependant chez les chevaux et les ruminants, on retrouve beaucoup plus fréquemment des levures *Malassezia* lipodépendantes que *M. pachydermatis* d'après l'étude de CRESPO *et al.* (2002) : sur 112 animaux (chevaux, chèvres, moutons et vaches), des *Malassezia* ont pu être mises en évidence sur 60% des chevaux, 28% des moutons, 44% des chèvres et 12% des vaches, et ces levures étaient beaucoup plus souvent des espèces lipodépendantes telles que *M. sympodialis, M. globosa, M. restricta, M. furfur, M. slooffiae* ou *M. obtusa*.

11. Diagnostic d'une dermatite à *Malassezia*

Les critères nécessaires pour établir un diagnostic de dermatite à *Malassezia* chez le chien ne sont pas clairement établis.
Il a été proposé que le diagnostic soit posé en présence d'un chien avec une population de *Malassezia* élevée sur une peau lésionnelle et qui répond cliniquement et cytologiquement à une thérapie antifongique appropriée (BOND et LLOYD (1997)).
Il existe différentes techniques pour mettre en évidence cette population élevée de levures.

Quelle que soit la technique utilisée, étant donné que les levures *Malassezia* font partie de la flore commensale du chien, il peut être normal d'en trouver un faible nombre sur la peau d'un animal sain.

Cytologie

Le diagnostic est en pratique le plus souvent cytologique en raison de la rapidité, de l'efficacité et du faible coût de cette méthode.
Selon la zone à prélever sur le corps de l'animal, plusieurs techniques sont utilisées : raclage, calque cutané par apposition de lame, écouvillonnage ou application d'un morceau de bande adhésive transparente (scotch test).
Sur des lésions d'aspect sec, un scotch-test ou un raclage cutané seront préférés. De plus, le scotch-test est utile sur des zones difficiles à atteindre comme par exemple les espaces interdigités (KENNIS *et al.* (1996)). Il consiste à apposer un morceau de scotch sur une zone lésionnelle et à le retirer d'un coup sec, plusieurs fois jusqu'à ce que le scotch ne colle plus.
L'écouvillonage est classiquement utilisé en cas d'otite mais peut aussi être pratique lors de lésions dans les espaces interdigités.

Une étude par BENSIGNOR *et al.* (1999) a été effectuée afin de définir les avantages et les inconvénients de chaque technique cytologique pour la mise en évidence des *Malassezia*. D'après cette étude, les lames par raclage seraient plus difficiles à observer en raison de la grande quantité de débris ; la coloration est plus difficile à effectuer sur la bande adhésive, les levures prenant moins bien le colorant ; l'écouvillonnage serait moins sensible que les techniques précédentes et donc à réserver pour les lésions auriculaires.
La technique qui semblait la plus fiable est le scotch-test car elle est simple à utiliser et qu'elle a permis de mettre en évidence un plus grand nombre de levures par champ, comparé aux autres techniques. Ceci s'explique potentiellement par le fait qu'elle récupère des levures plus fortement attachées au *stratum corneum* comparé aux autres techniques.

Chaque prélèvement est ensuite coloré (les colorations rapides Diff-Quick® conviennent parfaitement) puis observé au microscope en utilisant successivement les grossissements 40 puis 100 (huile à immersion). *Malassezia pachydermatis* est facilement reconnue par son aspect typique : cellule à bourgeonnement unilatéral, à base large lui conférant un aspect « en empreinte de pas » de 2 à 5 µm de long.

Le nombre limite au delà duquel la présence des levures devient pathogène est difficile à définir. La pratique courante est de considérer qu'il y a dermatite à *Malassezia* chez un chien si l'animal présente des signes cliniques compatibles et qu'on met en évidence au microscope au moins une levure par champ. Cependant, selon les études récentes sur le sujet, les critères cytologiques pour poser le diagnostic de dermatite à *Malassezia* varient d'environ 0,7 à plus de 5 levures par champ : il n'y a donc pas de consensus.
CAFARCHIA *et al.* (2005) ont considéré qu'il y avait dermatite à *Malassezia* s'il y avait au moins 1 levure par champ, au grossissement 40. Cette étude a d'ailleurs permis de montrer la bonne spécificité de la cytologie en comparant avec la mise en culture (spécificité=96,2%) ; cependant le nombre de faux-négatifs était assez important (sensibilité=30%) . Ceci est en accord avec l'étude de KENNIS *et al.* (1996) où 95% des chiens atteints étaient positifs à la mise en culture et seulement 74% à la cytologie.
Ainsi en cas de forte suspicion et de cytologie négative, faire une mise en culture pour vérifier les résultats de l'examen direct semble utile.

Mise en culture

Trois méthodes sont décrites pour la mise en culture des levures *Malassezia* : l'application de boîtes de contact, de moquettes stériles sur la peau ou un écouvillonnage.
Cette mise en culture n'est souvent pas indispensable au diagnostic car la cytologie est souvent très positive. Cependant, elle peut être utile pour identifier l'espèce à laquelle on est confrontée ou pour confirmer une forte suspicion en cas de cytologie négative, comme décrit précédemment.
Selon BENSIGNOR *et al.* (1999), le mise en culture reste la technique de référence car elle permet une appréciation quantitative ou semi-quantitative des populations présentes et l'identification de l'espèce en cause. Mais elle est relativement onéreuse, ne permet qu'un résultat différé et nécessite le recours à un laboratoire spécialisé.
L'obtention de quelques colonies à partir d'un animal ne veut pas dire qu'il est atteint ; la clinique et la cytologie restent indispensables pour poser le diagnostic. L'étude de CAFARCHIA *et al.* (2005) a établi que le nombre de colonies nécessaire pour considérer qu'il y a effectivement dermatite à *Malassezia* était d'environ 70.
Rappelons que seule *M. pachydermatis* peut être mise en culture sur milieu de Sabouraud seul.

Histologie

Une biopsie cutanée peut être effectuée pour analyse histologique dans le but d'identifier les levures et la cause sous-jacente.
Les levures *Malassezia* sont généralement localisées dans le *stratum corneum* chez le chien et sont parfois trouvées dans l'infundibulum folliculaire. En raison de la perte fréquente d'une partie du *stratum corneum* lors de la biopsie, l'analyse histologique n'est pas très sensible comparée aux autres techniques et est peu utilisée pour le diagnostic de la dermatite à *Malassezia.*

12. Traitements actuels de la dermatite à *Malassezia* chez le chien

12.1 Les différentes options thérapeutiques chez le chien

Il n'existe pas de consensus actuellement sur le traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien. Le traitement peut être topique, systémique ou associer les deux modes d'administration. Le choix de la voie doit se faire en fonction de la sévérité de la dermatite et de la capacité des propriétaires à effectuer correctement le traitement.

Les pratiques courantes sont un traitement systémique à base de kétoconazole (BENSIGNOR (2001), GUILLOT *et al.* (2003), ROSALES *et al.* (2005)) ou d'itraconazole (BENSIGNOR (2006)), associé ou non à un traitement topique à base de chlorhexidine (MAYNARD *et al.* (2011), BOND *et al.* (1995 b)), ou de miconazole (MAYNARD *et al.* (2011), BOND *et al.* (1995 b)).

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

a. Traitement systémique

Le choix d'un traitement systémique se fait lors d'atteintes généralisées ou de formes résistantes aux topiques : les produits utilisables sont des dérivés azolés tels que le kétoconazole, l'itraconazole ou des allylamines telles que la terbinafine. Les agents systémiques les plus couramment utilisés sont les azolés.

Dérivés azolés systémiques

Les dérivés azolés sont à l'origine d'une inhibition de synthèse de l'ergostérol, constituant essentiel de la membrane plasmique des champignons. Le dérivé azolé se fixe sur le cytochrome P450, dont dépend l'enzyme mitochondriale impliquée dans la synthèse de l'ergostérol. Une diminution de la synthèse d'ergostérol survient, la structure membranaire se trouve modifiée et la perméabilité cellulaire n'est plus assurée. Les azolés inhibent aussi la synthèse de triglycérides, de phospholipides, de la chitine et d'enzymes oxydatives et péroxydatives.

- Kétoconazole

Il a la particularité de posséder des propriétés anti-inflammatoires via l'inhibition de la 5-lipooxygénases impliquée dans la synthèse des leucotriènes.

Il est commercialisé en médecine vétérinaire, depuis plus de 30 ans, avec comme indication le traitement des dermatophytoses chez le chien (Kétofungol®, laboratoires Janssen-Cilag). Il est également utilisé classiquement pour le traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien, mais les protocoles varient en fonction des publications : 5 à 10 mg/kg, en une ou deux prises quotidiennes (ROSALES *et al.* (2005), GUILLOT *et al.* (2003), BENSIGNOR (2001), SCOTT *et al.* (2001), BENSIGNOR (2006), NEGRE *et al.* (2008)) pour une durée de 3 à 4 semaines.

L'utilisation du kétoconazole n'est pas toujours dénuée d'effets secondaires : environ 10-15% des animaux traités avec du kétoconazole présentent des effets secondaires (SCOTT *et al.* (2001), MAYER *et al.* (2008)). Anorexie, abattement, vomissements, diarrhée, prurit ont été obtenus à des posologies allant de 2,6 à 33,4 mg/kg avec une moyenne de 11,2 mg/kg dans une étude rétrospective de MAYER *et al.* (2008) portant sur 632 chiens. Ainsi les effets secondaires les plus classiquement rencontrés sont gastro-intestinaux ; son administration en même temps que le repas est conseillée. Une diminution de la dose de kétoconazole suffit généralement à arrêter les symptômes.
Une hépatotoxicité peut aussi être rencontrée en médecine humaine mais en médecine vétérinaire, elle n'est décrite qu'expérimentalement sur des Beagles à des doses supérieures ou égales à 40mg/kg. Un suivi des paramètres hépatiques peut ainsi être judicieux lors de prescription de kétoconazole.
Une tératogénécité a aussi été décrite.

- Itraconazole

Il s'agit d'un antifongique triazolé utilisé en médecine humaine contre différentes affections fongiques et contre la dermatophytose chez le chat. Il semble être mieux toléré chez le chien que le kétoconazole : les effets secondaires sont plus rares.

Le débat sur laquelle des deux molécules, itraconazole ou kétoconazole est la plus active, est controversé. L'étude de BENSIGNOR (2006) a comparé l'efficacité des 2 molécules respectivement à des posologies de 5 mg/kg 2 fois par semaine et 10 mg/kg/j pendant trois semaines. Il n'y avait pas de différence significative pour les différents paramètres étudiés, ce qui semble être en faveur du fait qu'une thérapie pulsée à base d'itraconazole est aussi efficace qu'une administration quotidienne de kétoconazole. Ceci est aussi en accord avec l'étude de PINCHBECK *et al.* (2002) qui a conclu que l'administration d'itraconazole à 5mg/kg *per os* 2 jours consécutifs par semaine pendant 3 semaines procurait un traitement satisfaisant de la dermatite à *Malassezia* chez le chien.
Cette thérapie pulsée permet entre autres de diminuer le coût du traitement et de limiter la survenue éventuelle d'effets secondaires.

Chez l'homme, l'itraconazole et le kétoconazole sont distribués via les glandes sébacées: après arrêt du traitement, le principe actif est présent encore 12 jours.
Dans un étude *in vitro*, *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. slooffiae*, *M. pachydermatis*, *M. globosa*, *M. obtusa* and *M. restricta* étaient toutes très sensibles à l'itraconazole et au kétoconazole (GUPTA *et al.* (2000)).

L'efficacité de nouveaux dérivés azolés tels que le pozaconazole et le voriconazole a été mise en évidence récemment mais ils restent très coûteux et ne sont pas encore utilisés dans le milieu vétérinaire.

Allylamines : terbinafine

La terbinafine agit au début de la chaîne des stérols, rendant la membrane des levures poreuse. Elle est utilisée contre les dermatophytoses, les candidoses cutanées, les onychomycoses, sous forme de traitement systémique ou topique.
Le principal avantage de cette molécule résulte en son innocuité chez l'homme. Aucune toxicité fœtale ou tératogénécité n'a été rapportée chez le chien. De plus, elle continue d'avoir un effet clinique après arrêt du traitement, due à des persistances résiduelles dans les tissus (GUPTA *et al.* (1994)). L'étude de GUILLOT *et al.* (2003) a montré que la terbinafine (30 mg/kg/j pendant 3 semaines) permet de réduire significativement les populations de levures *Malassezia* à la surface de la peau du chien, mais de façon moins efficace que le groupe traité avec le kétoconazole.
Des études *in vitro* ont montré l'efficacité de la terbinafine contre toutes les espèces de *Malassezia* (GUPTA *et al.* (2000)).
Elle pourrait ainsi constituer une alternative thérapeutique chez des animaux ayant présenté des effets secondaires au kétoconazole ou à l'itraconazole.

b. Traitement topique

Les traitements topiques sont en général adaptés plutôt aux lésions locales mais parfois aussi aux dermatites généralisées, en fonction de la formulation du traitement.

Avant de prescrire un traitement topique, le vétérinaire doit prendre en compte la taille de l'animal, son type de pelage, son comportement ainsi que la motivation et la fiabilité du propriétaire.

Plusieurs types de conditionnements peuvent être prescrits : shampooing, lotion, spray, crème (SCOTT *et al.* (2001)), comme on peut le voir dans le tableau 2.

Les crèmes antifongiques, sprays ou lotions s'appliquent plutôt lors de dermatite très localisée, comme par exemple dans un pli cutané. Cependant, il n'est pas toujours évident d'appliquer correctement sur la peau le principe actif, hormis lorsque l'alopécie est majeure.

Les shampooings présentent plusieurs avantages : ils ont une action mécanique qui n'est pas à négliger (élimination des squames, nettoyage de la peau avec des kératorégulateurs comme la phytosphingosine, le lactate d'ammonium, le gluconate de zinc...) et ils permettent de traiter des lésions multifocales ou généralisées. Le parallèle peut être fait avec les shampooings anti-pelliculaires chez l'homme qui contiennent un kératolytique, un antifongique et des agents antiprurigineux.
Il est conseillé de brosser l'animal avant le shampooing et même de réaliser un shampooing uniquement kératolytique au préalable sur un animal qui présente un état kérato-séborrhéique prononcé.
Si le shampooing est correctement réalisé par le propriétaire, il semble la plus intéressante des options topiques. On préconise classiquement une application bi à tri-hebdomadaire, qui peut être maintenue à une plus faible fréquence après la guérison clinique de l'animal pour éviter les récidives (MAYNARD *et al.* (2011)).

Dérivés azolés topiques : miconazole, énilconazole, climbazole

Le miconazole possède une activité antifongique à spectre très large recouvrant les dermatophytes, les levures ainsi qu'une activité antibactérienne dirigée contre les bactéries Gram positives à forte concentration (DROMIGNY (1979)).
L'énilconazole est un antimycosique de synthèse chimiquement apparenté au miconazole avec une activité fongicide en plus d'une certaine activité antibactérienne.
Le climbazole est un antifongique à large spectre, dont l'efficacité contre *Malassezia pachydermatis* a été montrée *in vitro* (SCHMIDT 1997).
Leur tolérance est bonne.

Tout comme les dérivés azolés systémiques, ils se fixent sur le cytochrome P450 des levures et inhibent la synthèse de l'ergostérol, de triglycérides, de phospholipides, de la chitine et d'enzymes oxydatives et péroxydatives. Toutes ces modifications perturbent de nombreuses fonctions de la membrane cellulaire, conduisant à une accumulation de peroxyde d'hydrogène qui asphyxie la levure (CARLOTTI et LAFFORT-DASSOT (1996 a)).

Chlorhexidine

La chlorhexidine est un antiseptique à large spectre d'action, c'est-à-dire une molécule ayant la propriété d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et qui appartient à la famille des biguanides. Elle a donc une activité bactéricide (CARLOTTI et MAFFART (1996 b)).
Son mode d'action repose sur l'interaction de ses deux groupements biguanides avec les phospholipides des membranes cellulaires : elle agit donc en altérant les protéines des membranes bactériennes, augmentant leur perméabilité et en produisant des fuites du contenu cellulaire.
Son absorption par la cellule est concentration–dépendante. A faible concentration, les molécules de faible poids moléculaire (ions phosphore et potassium) s'échappent, ce qui est responsable d'un effet bactériostatique. A forte concentration, les protéines et les acides nucléiques précipitent, induisant un effet bactéricide.
Elle est plus active sur les germes Gram positifs que sur les Gram négatifs.
Elle possède aussi un effet fongistatique à une concentration minimale de 1%, mais une concentration comprise entre 2 et 4% semble nécessaire pour être efficace contre les levures *Malassezia.*
L'efficacité d'un shampooing à base de chlorexhidine 3% a été montrée récemment dans l'étude de MAYNARD *et al.* (2011) sur des chiens atteints de dermatite à *Malassezia,* en comparaison avec un shampooing à base de chlorexhidine 2% et de miconazole 2% : il n'y avait pas de différence significative dans l'efficacité de ces deux traitements topiques que ce soit des points de vues du prurit, clinique ou cytologique.

Utilisée uniquement en topique, la chlorhexidine est toxique pour l'oreille moyenne. Son utilisation prolongée peut être à l'origine d'effets secondaires indésirables tels qu'une sensibilisation (eczéma chez l'homme) ou un déssèchement cutané.
Les protéines et les matières organiques diminuent son activité. L'utilisation concomitante d'un savon neutralise son activité. Au contraire, l'association avec l'alcool et les ammoniums quaternaires potentialise son activité.

Elle est utilisée en médecine vétérinaire à des concentrations différentes pour la préparation des champs opératoires, l'antisepsie des plaies, certains pansements et sous forme de shampooings, à la fois pour son activité antifongique lors de dermatophytose ou de dermatite à *Malassezia* et antiseptique par exemple lors de pyodermites.

Autres traitements topiques

- Peroxyde de benzoyle

Le peroxyde de benzoyle est une susbstance oxydante, exclusivement utilisée comme topique cutané. Son activité principale est anti-bactérienne mais il présente aussi des activités antiséborrhéique, kératolytique, cicatrisante et antifongique. Ce composé a un effet prouvé sur *Malassezia furfur* chez l'Homme. Chez le chien, il peut provoquer une toxicité de contact, se manifestant principalement par de l'érythème et du prurit (FOULQUIE (1986)).

- Chlorure de benzalkonium

Appartenant à la famille des ammoniums quaternaires, il possède une activité bactéricide via une dissociation des lipides de la membrane cellulaire, mais a aussi une action sur ces certains virus, champignons ou protozoaires. Sa toxicité est faible. Son efficacité, via un spray associant aussi du menthol et de l'hamamélis a été démontrée récemment sur les pododermatites à *Malassezia* chez le chien (CARLOTTI et REME (2004)).

- Piroctone olamine

Elle appartient à la famille des hydroxy-pyridones. Elle possède des propriétés antifongiques mais également antibactériennes et montre d'excellentes capacités de diffusion dans la kératine. La piroctone olamine entre dans la composition de certains shampooings n'ayant pas d'Autorisation de Mise sur le Marché mais qui revendiquent toutefois une activité antifongique. Elle possède par ailleurs une très faible toxicité.

- Povidone iodée

Il s'agit d'un antiseptique cutané, qui possède toutes les propriétés antimycosiques et antiseptiques de l'iode sans provoquer les réactions secondaires de la teinture d'iode. Elle est active sur les formes sporulées des bactéries et champignons.

- Sulfure de sélénium

Ce composé possède un effet anti-mycosique qui s'exerce au niveau de l'épiderme et de l'épithélium folliculaire et entrainerait une diminution de l'adhérence cornéocytaire et donc une élimination des champignons de la couche cornée.
Son efficacité relative a été montrée dans une étude BOND *et al.* (1995 b).

- Hinokitiol

Elle est issue de l'huile de certains conifères et possède une activité antibactérienne (spectre large Gram + et Gram -) et antifongique. Elle a aussi des propriétés anti-inflammatoires grâce à ses capacités de chélation des ions métalliques, ions nécessaires à certaines enzymes impliquées dans les phénomènes inflammatoires, comme les métalloprotéases et les lipo-oxygénases.

Tableau 2 : Principales molécules et spécialités vétérinaires utilisables en France pour traiter la dermatite à *Malassezia* (traitements auriculaires exclus)

Famille	Principe actif	Nom déposé	Voie d'administration
Dérivés azolés	Enilconazole	Imaveral®	Solution cutanée
	Itraconazole	Itrafungol®	Solution orale
	Kétoconazole	Ketofungol®	Comprimés oraux
	Miconazole	Malaseb®	Shampooing
	Climbazole	Douxo Pyo®	Shampooing
Antiseptiques	Chlorhexidine	Douxo Chlorhexidine®	Solution cutanée
		Chlorhex 3%®	Shampooing
		Malaseb®	
	Peroxyde de benzoyle	Paxcutol®	Suspension cutanée
	Chlorure de benzalkonium	Dermacool®	Solution cutanée
	Polyvidone iodée	Vétédine solution®	Solution cutanée
Autres	Piroctone olamine	Sebolytic®	Shampooing
	Hinokitiol	Douxo calm®	Shampooing

Les traitements locaux sont préférés aux traitements systémiques pour les thérapies à long terme.

L'association d'un traitement systémique et d'un traitement topique procure les meilleurs résultats. Une amélioration significative est souvent remarquée au bout de 7 jours lors d'une combinaison des deux, alors qu'un traitement systémique seul procure une amélioration en 7 à 14 jours. Le traitement topique seul met souvent plus de 14 jours à agir (SCOTT *et al.* (2001)).

Un contrôle cytologique et clinique doit être fait au bout d'environ 3 semaines de traitement, avec un contrôle des paramètres hépatiques si du kétoconazole ou de l'itraconazole par voie systémique a été prescrit. Le clinicien doit garder à l'esprit que tant que la cause primaire n'a pas été définie, les rechutes sont probables, mis à part pour les races avec un portage chronique important, telles que le Basset Hound. Ainsi, le traitement de la dermatite doit être mené en parallèle avec la recherche d'une cause primaire.

Les utilisations de traitements topiques réguliers et de traitements systémiques à administration pulsées sont décrites pour limiter les rechutes de la dermatite (GUILLOT *et al.* (1995)).

12.2 Efficacité des différentes options thérapeutiques

NÈGRE *et al.* (2008) ont réalisé un point sur les traitements actuels chez le chien en se basant sur la médecine factuelle.

a. Principes de la médecine factuelle

L'*Evidence Based Veterinary Medicine* (ou médecine factuelle) se définit comme l'utilisation consciencieuse, explicite et judicieuse des meilleures données disponibles pour la prise de décisions concernant les soins à prodiguer à chaque patient, fondée sur l'équilibre entre les preuves scientifiques, l'expérience du clinicien et la volonté des propriétaires, le tout dans le but de traiter l'animal de la façon la plus adaptée (GIGNAC (2011)).
Mettre en relation ces différents paramètres permet de prendre la meilleure décision clinique pour traiter un animal. Aucun de ces paramètres considérés séparément n'est suffisant pour prendre en charge le patient (SCHMIDT (2007)).

La pratique de l'EBVM nécessite de suivre quatre étapes (SCHMIDT (2007), KOCHEVAR et FAJT (2006)):

1. La formulation claire et précise d'une question clinique à partir d'un problème clinique donné
2. La recherche d'articles pertinents sur le sujet dans la littérature
3. L'évaluation systématique de la validité et de l'intérêt des résultats qui sont à la base des décisions cliniques
4. L'intégration de ces preuves dans la pratique médicale courante afin de répondre à la question initiale.

Cette méthode permet tout d'abord de tenir les cliniciens au courant des avancées dans tous les domaines de la médecine vétérinaire. C'est une bonne méthode pour mettre à jour ses connaissances. Elle permet également de faire les choix les plus éclairés pour l'animal présenté en consultation.

b. Contrôle par la médecine factuelle de l'efficacité des différentes options thérapeutiques pour la dermatite à *Malassezia* chez le chien

L'étude de NÈGRE *et al.* (2008) basée sur les principes de la médecine factuelle vétérinaire a permis de faire un point sur les traitements actuels de la dermatite à *Malassezia* chez le chien.

Selon les quatre étapes définies précédemment :

Etape 1 : Le but de cette étude était d'évaluer l'efficacité des différents antifongiques dans le traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien, et quand cela était possible, de formuler des recommandations pour ou contre leur utilisation.

Etape 2 : Les recherches informatiques ont été faites via PubMed MEDLINE®, CABDirect and CONSULTANT. Les volumes de *Advances in Veterinary Dermatology*, les comptes-

rendus des congrès de la Société Européenne de Dermatologie Vétérinaire, du Collège européen de Dermatologie Vétérinaire et ceux de l'académie Américaine de Dermatologie Vétérinaire et du Collège Américaine de Médecine Vétérinaire ont été consultés. Tous les articles et ouvrages de référence traitant des traitements de la dermatite à *Malassezia* ont été parcourus pour trouver des références supplémentaires. Enfin, une requête a été envoyée à la ListeVetderm pour faire part d'études expérimentales récentes non publiées au moment de la rédaction de l'étude.

Etape 3 : Les données soumises à analyse sont le type d'étude, la qualité méthodologique, la qualité d'inclusion des sujets de l'étude, la nature et la durée des traitements, les maladies intercurrentes, l'amélioration clinique et mycologique et les effets secondaires.

Trente-cinq articles dont quinze essais qui répondaient aux critères suivants ont été retenus :

i) études *in vivo*,
ii) incluant au moins cinq chiens,
iii) qui présentent des lésions dermatologiques caractéristiques de la dermatite à *Malassezia.*

Ces quinze essais comprenaient un nombre total de 14 protocoles différents, incluant 4 essais randomisés en double-aveugle et contrôlés (qualité de preuves de grade A), 4 essais contrôlés mais non randomisés et/ou non réalisés en aveugle (grade B), 5 essais non contrôlés (grade C) et 1 étude descriptive (grade D).

Cette étude a permis de conclure que:

- Il y a de **bonnes preuves** pour recommander un **shampooing composé de 2% de miconazole et de 2% de gluconate de chlorhexidine**, effectué deux fois par semaine pendant trois semaines, dans le cadre du traitement de la dermatite à *Malassezia*.
- Lorsque ce traitement topique n'est pas possible, l'utilisation de **kétoconazole** (10mg/kg, une fois par jour pendant 3 semaines) ou d'**itraconazole** (5mg/kg, une fois par jour, 2 jours consécutifs dans la semaine, pendant 3 semaines) peut être recommandée selon des **preuves passables**.
- Les **preuves** sont **insuffisantes** pour recommander l'utilisation de la **terbinafine** ou l'usage de **traitements topiques à base de miconazole, d'énilconazole, de chlorhexidine seule, de piroctone olamine ou de chlorure de benzalconium.**

Rapport-Gratuit.com

DEUXIÈME PARTIE : Évaluation de l'efficacité d'un shampooing contenant du miconazole et de la chlorhexidine dans le cadre du traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Le shampooing Malaseb®, composé de chlorhexidine à 2% et de miconazole à 2% est commercialisé en France depuis 2010. Il possède une autorisation de mise sur le marché pour les traitements de la dermatite séborrhéique associée à *Malassezia pachydermatis et Staphylococcus intermedius* chez le chien et de la dermatophytose due à *Microsporum canis* chez le chat.

1. Objectif

Cet essai, mis en place à partir d'Octobre 2009 au Centre Hospitalier Universitaire d'Alfort sur une période de deux ans, avait pour objectif d'évaluer les efficacités clinique et mycologique d'un shampooing associant la chlorhexidine à 2% et le miconazole à 2%, sur une période de 30 jours, sur des chiens pour lesquels une dermatite à *Malassezia* avait été diagnostiquée.

Le protocole a été conçu et réalisé par l'équipe de dermatologie-parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, qui nous a transmis leurs données brutes pour leur exploitation dans cette thèse.

2. Protocole

2.1 Critères d'inclusion

A été inclus dans le protocole avec l'accord de son propriétaire tout chien sans distinction de race, de sexe ou d'âge présenté à la consultation de dermatologie de l'ENVA et pour lequel une dermatite à *Malassezia* a été diagnostiquée.

Le diagnostic de dermatite à *Malassezia* a reposé sur l'observation conjointe des trois critères suivants :
- la présence d'un prurit chronique et récidivant ;
- la mise en évidence de lésions compatibles avec une dermatite à *Malassezia* : alopécie, érythème, lichénification, excoriations ou état kérato-séborrhéique ;
- la mise en évidence d'au moins une levure *Malassezia* à l'examen microscopique de calques cutanés.

Le diagnostic de dermatite à *Malassezia* a ensuite été confirmé par la mise en culture sur boîtes de contact contenant le milieu de Dixon modifié. Il n'y avait pas de nombre minimum de colonies fongiques pour faire partie du protocole.

2.2 Critères d'exclusion

A été exclus de l'étude tout chien ayant reçu au moins l'un des traitements suivants dans les quinze jours précédant la première consultation à l'ENVA :
- un traitement topique antifongique ou antiseptique ;
- un traitement systémique antifongique ou antibiotique.

2.3 Critères évalués

Les chiens inclus dans l'étude ont été revus en consultation de dermatologie pour un suivi à J30.

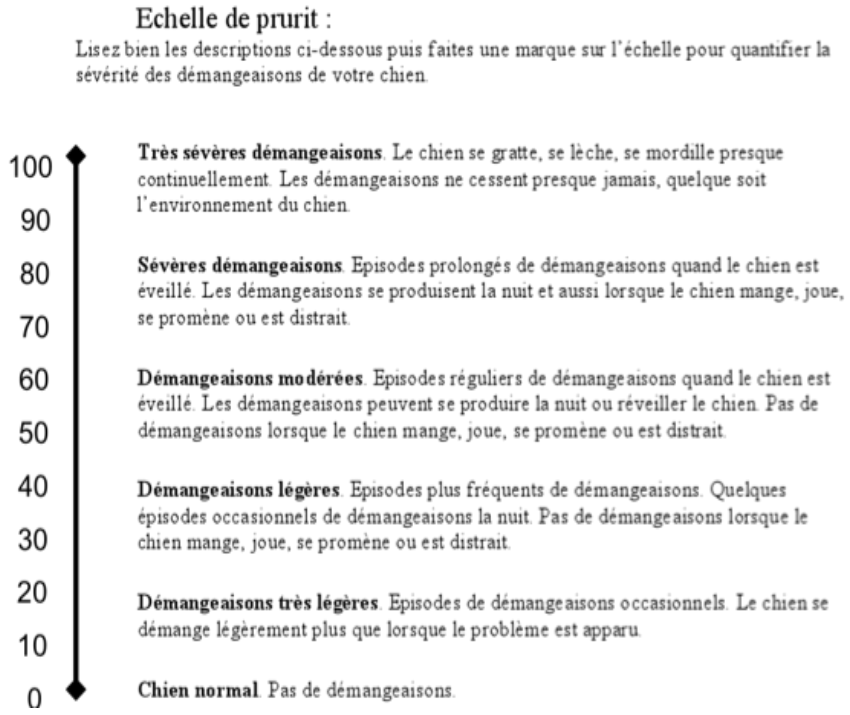
Aux deux visites à J0 et J30, les scores suivants ont été calculés :

- score clinique : remplissage de la grille « MalDESI » (*Malassezia* Dermatitis Extent and Severity Index) spécialement mise en place pour cette étude (annexe 2). Il s'agit d'un score composite basé sur l'évaluation de 5 lésions primaires et secondaires : érythème, lichénification, excoriation, alopécie et état kérato-séborrhéique pour 36 zones « stratégiques » du corps. Chaque critère est noté de 0 (aucun signe) à 4 (atteinte sévère). Le score minimal est donc de 0, le score maximal de 656.

- score de prurit : établi par le propriétaire sur une échelle graduée qualitativement de « chien sans prurit » à « chien avec très sévères démangeaisons ». L'échelle a ensuite été retranscrite en pourcentages pour l'exploitation statistique des données. Les propriétaires ne disposaient donc pas des valeurs chiffrées lors du remplissage de l'échelle pour éviter de les influencer.

Cette échelle qualitative (figure 11) est classiquement utilisée en dermatologie vétérinaire et est inspirée des échelles de douleur utilisées en milieu hospitalier.

Figure 11 : Document rempli par les propriétaires pour l'évaluation du prurit de leur chien, avec la correspondance quantitative en face



Echelle de prurit :

Lisez bien les descriptions ci-dessous puis faites une marque sur l'échelle pour quantifier la sévérité des démangeaisons de votre chien.

100 — **Très sévères démangeaisons**. Le chien se gratte, se lèche, se mordille presque continuellement. Les démangeaisons ne cessent presque jamais, quelque soit l'environnement du chien.

90

80 — **Sévères démangeaisons**. Episodes prolongés de démangeaisons quand le chien est éveillé. Les démangeaisons se produisent la nuit et aussi lorsque le chien mange, joue, se promène ou est distrait.

70

60 — **Démangeaisons modérées**. Episodes réguliers de démangeaisons quand le chien est éveillé. Les démangeaisons peuvent se produire la nuit ou réveiller le chien. Pas de démangeaisons lorsque le chien mange, joue, se promène ou est distrait.

50

40 — **Démangeaisons légères**. Episodes plus fréquents de démangeaisons. Quelques épisodes occasionnels de démangeaisons la nuit. Pas de démangeaisons lorsque le chien mange, joue, se promène ou est distrait.

30

20 — **Démangeaisons très légères**. Episodes de démangeaisons occasionnels. Le chien se démange légèrement plus que lorsque le problème est apparu.

10

0 — **Chien normal**. Pas de démangeaisons.

- **score cytologique** : pour établir ce score, des morceaux de cellophane adhésif ont été apposés sur la peau et retirés d'un coup sec, sur la face ventrale du cou, sur l'abdomen (entre les mamelles L4 chez la femelle, sur la ligne blanche en avant du fourreau chez le mâle), sur le périnée de l'animal et/ou sur un autre site lésionnel si une des régions précédentes n'était pas touchée. Ce geste a été répété trois fois par site avec le même morceau de cellophane pour assurer une quantité suffisante de matériel. Après coloration rapide (RAL) et dépôt sur une lame, la moyenne du nombre de levures sur 10 champs consécutifs a été calculée au microscope (objectif 100 à immersion). Si le nombre de *Malassezia* était trop important pour être compté, le nombre 100 était automatiquement attribué.
La moyenne du site avec le plus grand nombre de *Malassezia* a été relevée.

- **nombre de colonies après mise en culture** : pour établir ce score, des boîtes de contact contenant le milieu de Dixon modifié ont été apposées sur la face ventrale du cou, sur l'abdomen et le périnée. Chaque boîte est appliquée pendant 3 secondes sur la peau puis transmise au laboratoire de Mycologie de l'ENVA pour la mise en culture. A l'issue de 4 jours d'incubation à 32°C, le nombre de colonies de levures *Malassezia* a été compté pour chaque site anatomique. Si le nombre de colonies de *Malassezia* était trop important pour être compté, le nombre 1000 était automatiquement attribué.

Les levures ont été identifiées en fonction de l'aspect des colonies et des cellules. L'identification de l'espèce *M. pachydermatis* a été confirmée par repiquage sur le milieu de Sabouraud, c'est-à-dire sur un milieu dépourvu d'acides gras à longues chaînes, donc ne permettant pas la croissance des espèces lipodépendantes.

2.4 Protocole thérapeutique

Pour tout chien inclus dans l'essai, le shampooing a été appliqué à J1 (lendemain de la première consultation), J4, J8, J11, J15, J22 et J29, soit un total de 7 shampooings. Les modalités d'utilisation du shampooing ont été expliquées à chaque propriétaire :

- Mettre des gants, mouiller entièrement le chien à l'eau tiède puis appliquer le shampooing en plusieurs points et masser le pelage ;
- Utiliser suffisamment de produit pour faire mousser le pelage et la peau ;
- Veiller à appliquer du shampooing autour des lèvres, sous la queue et entre les doigts ;
- Eviter le contact avec les yeux ;
- Laisser agir 10 min en massant puis rincer à l'eau et laisser sécher à l'air libre dans un endroit à l'abri des courants d'air.

Les antiparasitaires externes sont autorisés et prescrits à J0 : sélamectine en spot on (Stronghold®).
Les antifongiques, antibiotiques, antiseptiques et antiprurigineux sont interdits pendant l'étude.
Les solutions auriculaires sont autorisées à condition qu'elles ne soient appliquées que dans le conduit auditif externe.

2.5 Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole

On considère à la fin du protocole comme :

- **guéris « cliniquement »** les chiens présentant à J30 un score clinique inférieur ou égal à 21 et un score de prurit inférieur ou égal à 21%, c'est-à-dire un prurit très léger ou occasionnel. Parmi ceux-ci, certains présentent un score mycologique>70 et représentent un échec mycologique ;
- **guéris « mycologiquement »** les chiens présentant un nombre de colonies à la mise en culture≤70 (d'après CAFARCHIA *et al.* (2005)) sur les 3 sites testés. Parmi ceux-ci, certains présentent un score clinique>21 et/ou un score de prurit>21% et représentent un échec clinique.

3. Résultats

3.1 Profil type à J0

Dix-neuf chiens ont été inclus dans l'étude entre octobre 2009 et octobre 2011.
Parmi ces dix-neuf chiens, cinq n'ont pas été retenus pour l'exploitation finale des données : les chiens n°1, 3 et 4 n'ont pas été revus à J30 et les n°10 et 16 ne présentaient pas de levures *Malassezia* à J0 à la mise en culture des boîtes de contact. Quatorze chiens ont ainsi été retenus ; leurs caractéristiques figurent dans le tableau 3.

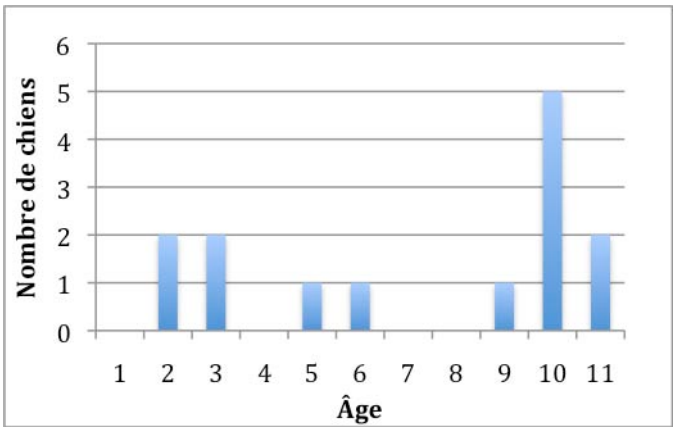
Tableau 3 : Caractéristiques des chiens retenus pour l'exploitation finale des données

N° chien	Race	Age à l'inclusion (années)	Sexe	Types lésionnels
2	Shi Tzu	10	F	EKS, Eryth, Alop, Lich, Excor
5	Shar Pei	2	F	EKS, Eryth, Alop, Lich
6	Shar Pei	3	F	EKS, Eryth, Alop, Lich, Excor
7	Caniche	10	F	EKS, Eryth, Alop, Lich, Excor
8	Pitt-bull	10	M	Eryth, Alop, Lich, Excor
9	Berger Allemand	9	F	EKS, Eryth, Alop, Lich, Excor
11	Shi Tzu	10	F	EKS, Eryth, Alop, Lich
12	Beagle	3	F	EKS, Eryth, Alop
13	Berger Allemand	11	F	EKS, Eryth, Alop, Lich
14	Cocker	6	M	EKS, Eryth, Lich
15	Shi Tzu	10	F	EKS, Eryth, Alop
17	Fox Terrier	11	F	EKS, Eryth, Excor
18	Shi Tzu	5	F	EKS, Eryth, Alop, Lich
19	Shar Pei	2	M	EKS, Eryth, Alop, Excor

EKS= état kérato-séborrhéique, Eryth= érythème, Alop= alopécie, Lich= lichénification, Excor= excoriations.

On compte 3 mâles et 11 femelles. La moyenne d'âge des animaux retenus pour l'exploitation finale des données était de 7 ans et 2 mois, avec des animaux allant de 2 à 11 ans. La répartition des âges est représentée dans la figure 12 :

Figure 12 : Répartition de l'âge des animaux conservés pour l'analyse des données



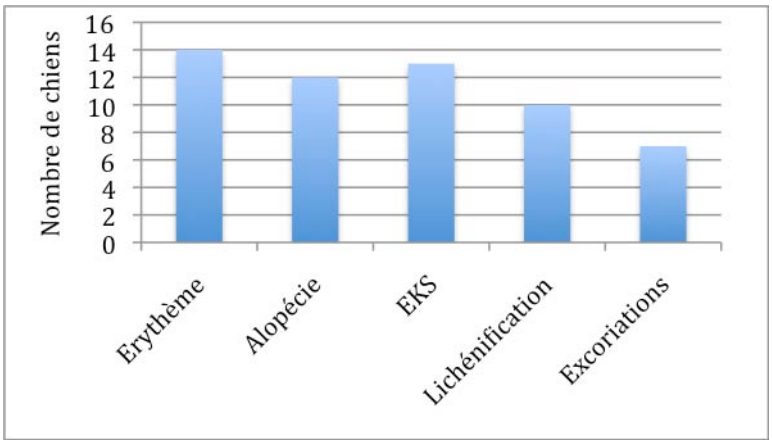
On constate qu'on a un grand nombre d'animaux jeunes (4 chiens d'âge inférieur ou égal à 3 ans) et un grand nombre de chiens âgés (8 chiens d'âge supérieur ou égal à 9 ans).

On compte 4 Shi-tzu, 3 Shar Pei, 2 Bergers Allemands, 1 Caniche, 1 Beagle, 1 Pitt-bull, 1 Fox terrier et 1 Cocker.

La répartition des zones atteintes chez les cas retenus est assez homogène. Les lésions sont présentes principalement au niveau de la face ventrale du cou, de l'abdomen, des aisselles, de l'aine et du périnée.

Un érythème, souvent franc, a été retrouvé chez tous les individus et localisé dans la majorité des cas au moins à l'abdomen et aux grands plis. Les autres lésions fréquemment retrouvées sont un état kérato-séborrhéique (92,9% des cas) et une alopécie (85,7% des cas), plus ou moins généralisés. Les lésions d'excoriation et de lichénification sont retrouvées chez respectivement 50,0% et 71,4% des cas (figure 13). Ces dernières se retrouvent chez les animaux présentant des scores de prurit élevés.

Figure 13 : Fréquence des différentes lésions au sein de la population étudiée à J0



Ces lésions sont visibles sur les figures 14 et 15.

Figure 14 : Érythème, alopécie, EKS et lichénification à J0 sur l'abdomen d'un Shi Tzu de 10 ans (chien n°4) (ENVA)

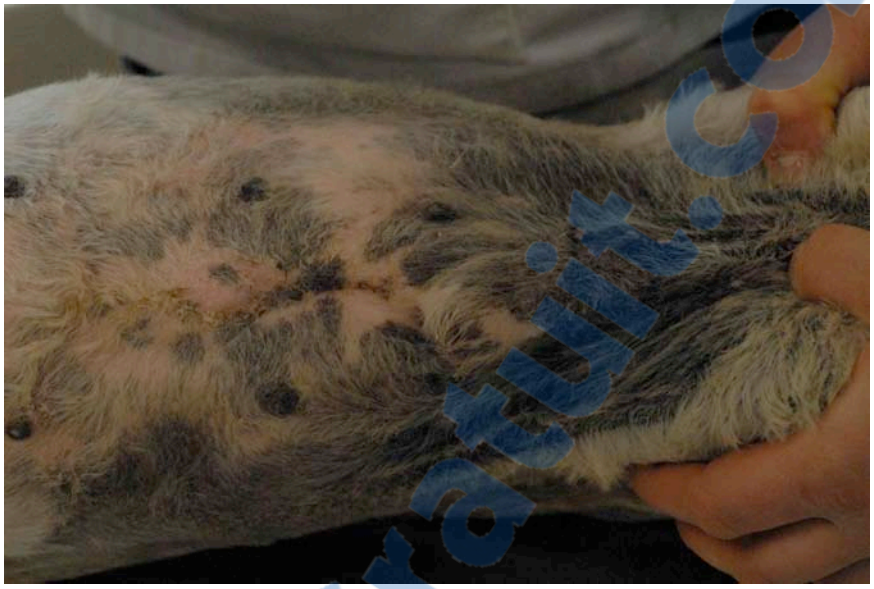


Figure 15 : Alopécie, érythème et lichénification à J0 sur les membres postérieurs et l'aine d'un WHWT de 8 ans (chien n°1) (ENVA)

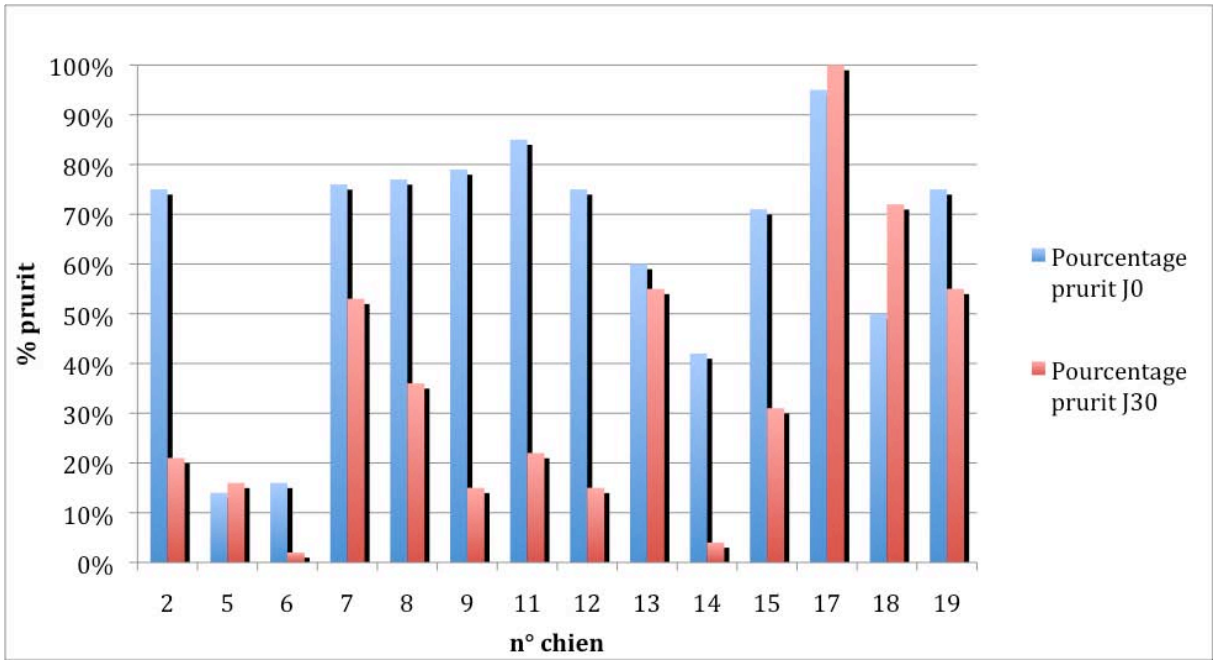
Rapport-Gratuit.com

3.2 Évolution des paramètres et étude statistique

a. Évolution du prurit

Onze chiens sur les quatorze (soit 78,6%) ont présenté une diminution de l'intensité du prurit pendant la période du traitement (figure 16). Le prurit des trois autres (chiens n°5, 17, 18) s'est aggravé selon les propriétaires. Il faut à ce stade rappeler que l'évolution du prurit est effectuée par les propriétaires uniquement, ce qui représente un biais important.

Figure 16 : Évolution individuelle des pourcentages de prurit entre J0 et J30



On constate que plus de la moitié des chiens traités (8/14 chiens) ont une diminution du prurit supérieure à 50% en l'espace d'un mois selon leurs propriétaires.

L'évolution des minimum, maximum, médianes et moyennes entre J0 et J30 sont representées dans le tableau 4. On peut y constater la nette amélioration de la médiane et de la moyenne du prurit.

Tableau 4 : Évolution des minimum, maximum, médianes et moyennes des scores de prurit entre J0 et J30

	Minimum	Maximum	Médiane	Moyenne
Score de prurit J0	14%	95%	75%	64%
Score de prurit J30	2%	100%	27%	36%

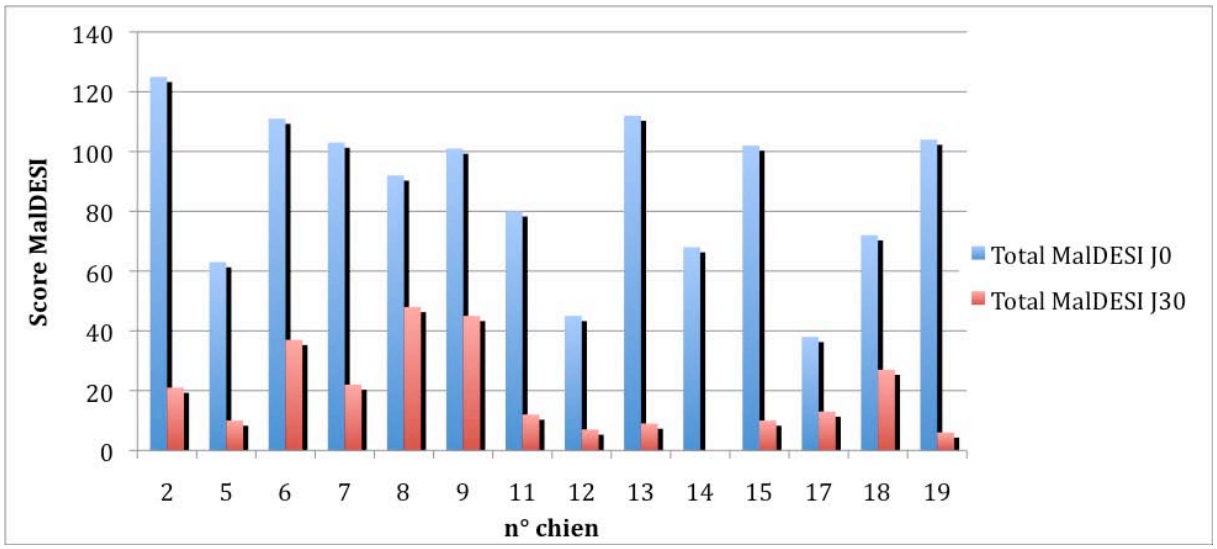
Ainsi à la première consultation, le chien moyen présente un prurit « moderé » à « sévère » si l'on se rapporte à l'échelle de prurit fournie aux propriétaires. Après le traitement, ses démangeaisons sont plutôt « légères ».

b. Évolution des lésions dermatologiques

- Évolution des scores MalDESI

Tous les chiens traités ont présenté une amélioration clinique notable entre J0 et J30, visible grâce à la diminution du score MalDESI (figure 17).

Figure 17 : Évolution individuelle des scores MalDESI entre J0 et J30

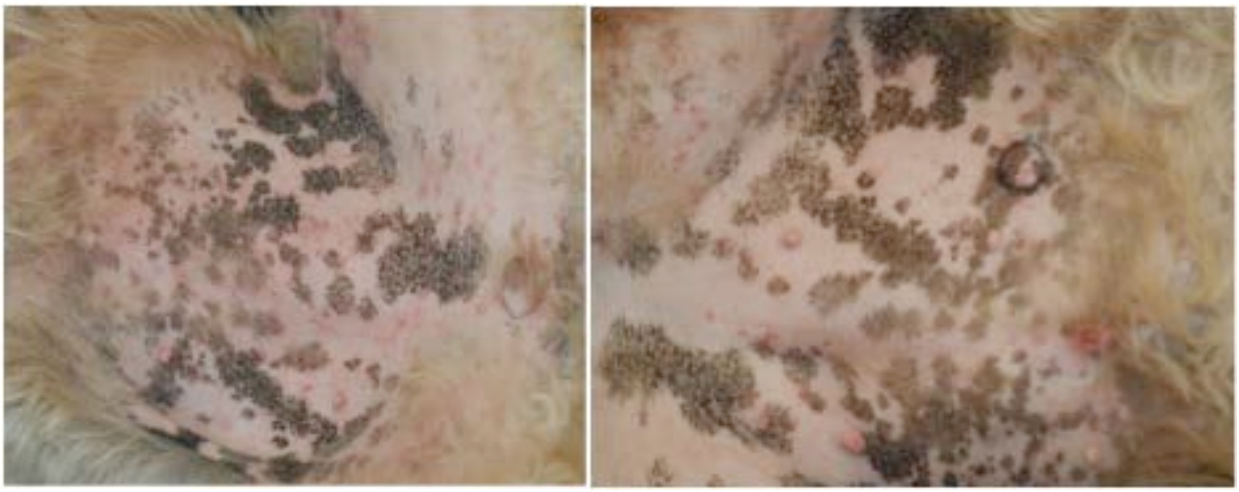


On peut constater que tous les scores individuels ont diminué au moins de moitié en l'espace de 30 jours de traitement. Cinq chiens (soit 36%) ont présenté une amélioration de plus de 81% du score MalDESI pendant le temps de l'étude.

A la fin de l'étude, les mêmes zones étaient atteintes mais de façon moindre (figures 18 à 23).

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Figures 18 et 19 : Alopécie, érythème et papules sur l'abdomen d'un Fox Terrier (chien n°17) atteint de dermatite à *Malassezia* à J0 (Gauche). Régression de l'érythème, diminution des papules à J30 (Droite). (ENVA)



Figures 20 et 21 : État kérato-séborrhéique sur le périnée d'un Cocker (chien n°14) à J0 (Gauche). Régression de l'état kérato-séborrhéique à J30 (Droite). (ENVA)

Figures 22 et 23 : Érythème et alopécie sévères sur l'abdomen d'un Shi Tzu (chien n°18) à J0 (Gauche). Régression de l'érythème et début de repousse des poils à J30 (Droite). (ENVA)

L'évolution des minimum, maximum, médianes et moyennes entre J0 et J30 est indiquée dans le tableau 5. On peut y constater la nette amélioration de la médiane et de la moyenne des scores MalDESI.

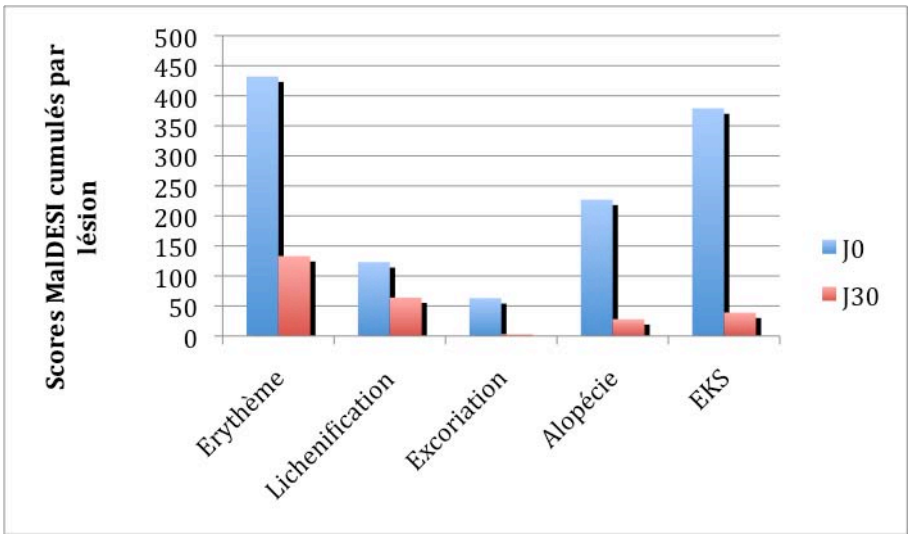
Tableau 5 : Évolution des minimum, maximum, médianes et moyennes des scores MalDESI entre J0 et J30

	Minimum	Maximum	Médiane	Moyenne
Score Maldesi JO	38	125	96 ,5	86,9
Score Maldesi J30	0	48	12,5	19

- Évolution des différentes lésions dermatologiques individuellement

Si l'on s'intéresse aux différentes lésions dermatologiques individuellement, on peut constater que l'amélioration entre J0 et J30 concerne les cinq types de lésions précitées et est supérieure ou égale à 50% pour chacune de celles-ci (figure 24).

Figure 24 : Régression des différentes lésions entre J0 et J30 chez les 14 cas cumulés

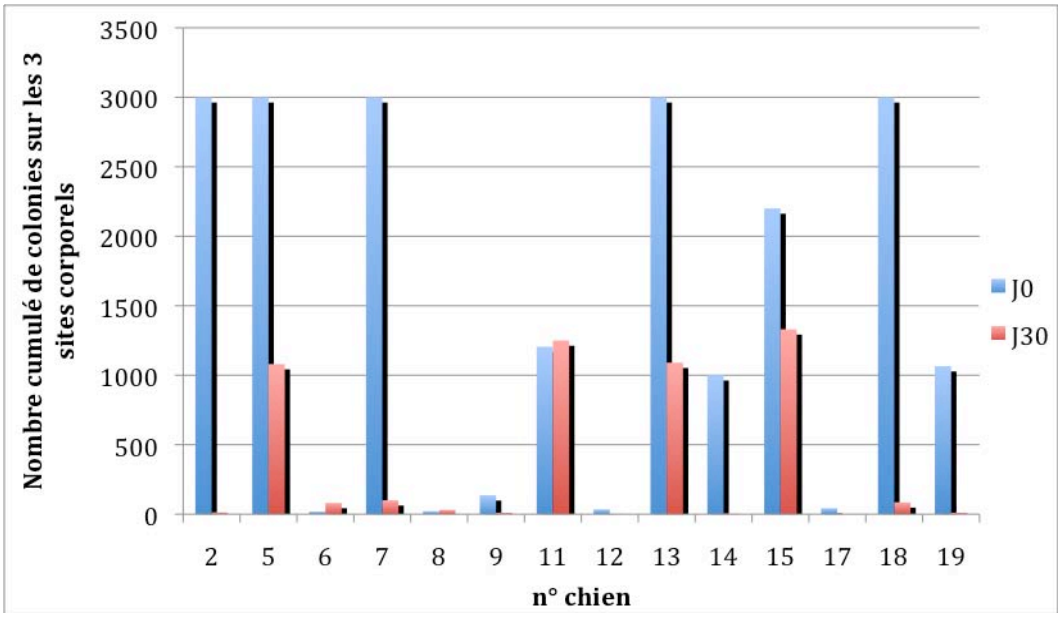


Les excoriations sont presque inexistantes à J30, ce qui est aussi une conséquence de la diminution du prurit associée. La lésion sur laquelle l'application du shampooing semble avoir le moins d'effets est la lichénification qui est un témoin de la chronicité de la dermatose.

c. Évolution des résultats de la mise en culture

Onze chiens (soit 79,0%) ont présenté une nette diminution du nombre total de colonies (cou + abdomen + périnée) entre J0 et J30 à la mise en culture des boîtes de contact (figure 25).

Figure 25 : Évolution individuelle du nombre de colonies cumulées sur les 3 sites entre J0 et J30

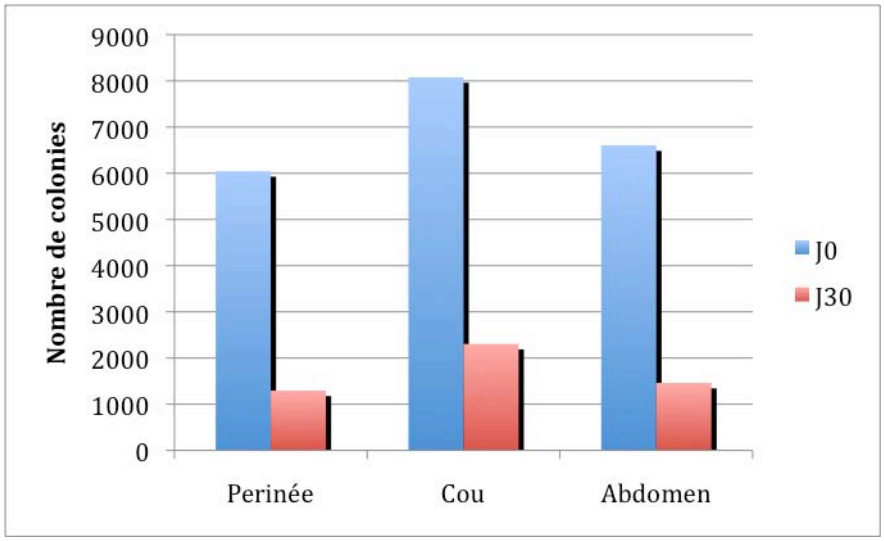


Les trois chiens (n°6, 8 et 11) pour lesquels le nombre de colonies fongiques n'a pas diminué entre J0 et J30 (malgré une nette amélioration des autres paramètres de l'étude) sont différents de ceux pour lesquels le prurit s'est aggravé à J30.

Quatre chiens (n°5, 11, 13 et 15 soit 28,6% des cas) ont toujours à J30 un site avec un nombre de colonies de levures *Malassezia* non quantifiable (au moins 1000 colonies). Pour le chien n°11, il s'agit d'un site différent de celui qui présentait un nombre non quantifiable à J0. Pour les trois autres chiens, il s'agit du même site. Ces sites n'ont donc pas répondu d'un point de vue mycologique au traitement, en supposant que le propriétaire effectuait correctement le shampooing sur la zone en question. Il s'agit pour deux chiens de la face ventrale du cou, et pour les deux autres respectivement de la zone périnéale et de l'abdomen.

En faisant la somme des colonies par site corporel à J0 et à J30 (figure 26), on constate que la région la plus touchée dans notre étude est la face ventrale du cou à J0, mais que les trois sites ont diminué dans les mêmes proportions à J30, c'est-à-dire d'environ 75%, indépendamment de la zone traitée.

Figure 26 : Nombre de colonies après mise en culture par site corporel, cumulé pour les 14 chiens



L'évolution des minimum, maximum, médianes et moyennes entre J0 et J30 est indiquée dans le tableau 6. On peut y constater la nette amélioration de la médiane et de la moyenne du prurit.

Tableau 6 : Évolution des minimum, maximum, médianes et moyennes des nombres de colonies entre J0 et J30

	Minimum	Maximum	Médiane	Moyenne
Nombre de colonies à J0 (somme des 3 sites)	19	3000	1135	1480,3
Nombre de colonies à J30 (somme des 3 sites)	0	1330	56,5	363,5

d. Évolution de la cytologie

En ce qui concerne le nombre de levures *Malassezia* mises en évidence à l'examen direct du calque cutané, tous les chiens présentaient au moins une levure sur l'ensemble des 10 champs microscopiques observés à J0 (condition d'inclusion dans le protocole) sur un des sites examinés.

A J30, seul le chien n°5 présente encore quelques rares levures à la cytologie. Les autres cas n'en présentaient plus sur l'ensemble des sites examinés.

3.3 Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole

On rappelle qu'on considère à J30 comme :

- **guéris « cliniquement »** les chiens présentant à J30 un score clinique inférieur ou égal à 21 et un score de prurit inférieur ou égal à 21%, c'est-à-dire un prurit très léger ou occasionnel ;
- **guéris « mycologiquement »** les chiens présentant un nombre de colonies à la mise en culture inférieur ou égal à 70 (d'après CAFARCHIA *et al.* (2005)) sur les 3 sites testés.

D'après les résultats de l'annexe 3, on a 7 guérisons mycologiques et échecs thérapeutiques, 1 guérison clinique et échec mycologique, 3 guérisons mycologiques et cliniques, 3 échecs mycologiques et cliniques (tableau 7) .

Tableau 7 : Nombre de guérisons et échecs cliniques et mycologiques à J30

	Guérison mycologique et échec clinique	Guérison clinique et échec mycologique	Guérisons clinique et mycologique	Échecs mycologique et clinique
Nombre de chiens à J30	7	1	3	3
N°chien	6,7,8,9,17,18,19	5	2,12,14	11,13,15

Total des échecs mycologiques : 4
Total des échecs cliniques : 10

On constate le nombre élevé d'échecs cliniques selon nos critères à la fin de traitement (71,4%) et le relativement faible nombre d'échecs mycologiques (28,6%).
Il faut préciser que dans les cas des chiens n°5 et 13, sur les trois sites où le nombre de levures était non quantifiable, seul un site était toujours atteint à J30. Par exemple dans le cas du chien n°5, seule la région périnéale est atteinte à J30 ; l'abdomen et le cou sont guéris.

3.4 Satisfaction des propriétaires

Aucun effet secondaire sur un animal n'a été rapporté par les propriétaires.

Deux propriétaires ont rapporté une sécheresse cutanée des mains suivant l'application du shampooing car le port de gants n'avait pas été respecté.

Les propriétaires étaient globalement tous satisfaits du shampooing, notamment en ce qui concerne la rapidité de la diminution du prurit.

4. Discussion

4.1 Protocole

a. Absence de groupe témoin

La faiblesse majeure de cette étude est sans aucun doute l'absence de groupe témoin qui limite l'exploitation statistique des données. Ainsi, on ne peut attribuer avec certitude l'amélioration clinique au seul traitement topique. Une amélioration spontanée reste statistiquement possible. Le protocole a été conçu ainsi en tenant compte du faible nombre de cas de dermatite à *Malassezia* qui consultent par an au CHUVA.

b. Faible nombre de cas inclus dans le protocole

L'autre facteur limitant de l'étude est le faible nombre de cas : seulement dix-neuf cas ont été recrutés en 2 ans de protocole. Ce faible nombre s'explique en partie par le cadre de départ de l'étude qui est assez restrictif (antifongiques, antibiotiques, antiseptiques et antiprurigineux interdits). Ainsi des animaux présentant une pyodermite simultanément à la dermatite à *Malassezia* et nécessitant un traitement antibiotique ont été systématiquement exclus de l'étude. On peut estimer que si le critère « absence de traitement antibiotique » n'avait pas été imposé, il aurait été possible de doubler environ le nombre de cas inclus dans le protocole.

c. Absentéisme à J30

Un problème assez courant dans ce genre d'étude s'est présenté : l'absence de suivi faute de présentation des animaux à la consultation de contrôle. En effet, trois des dix-neuf cas ne se sont pas présentés au suivi, soit 16%. De plus, deux chiens ont été volontairement exclus car ils ne correspondaient pas aux critères du protocole (la mise en culture à J0 n'a révélé aucune colonie fongique). Au total, cinq chiens n'ont pas pu être retenus pour l'analyse finale des données (soit 26%).
Si on compare cette étude à d'autres études similaires, on constate que le taux de perte est légèrement supérieur aux autres. Dans l'étude de MAYNARD *et al*. (2011) qui se propose de comparer l'efficacité de deux shampooings dans le traitement de la dermatite à *Malassezia*, 67 chiens ont été recrutés. Treize chiens (soit 20%) ont été exclus de l'analyse : un pour utilisation d'une bouteille de shampooing périmée, un pour emploi d'un médicament interdit pendant la durée de l'étude, deux pour non présentation au suivi (soit 3%), six pour non respect du protocole et deux pour des raisons administratives.

Il pourrait être utile à la fin de la première consultation de rappeler aux propriétaires qu'ils sont inclus dans une étude clinique et qu'en échange du don du flacon de shampooing, ils s'engagent à se présenter au suivi en ayant respecté le protocole. Un formulaire d'acceptation de participation au protocole pourrait être signé, pour responsabiliser le propriétaire.
Il serait judicieux aussi d'effectuer un rappel téléphonique quelques jours avant la date de la visite de contrôle pour confirmer le rendez-vous, ce qui a depuis lors été mis en place au sein du CHUVA. Si les propriétaires ne comptent pas se présenter au rendez-vous, nous pouvons tout de même obtenir le ressenti global du client et la cause.

d. Critères d'exclusion de l'étude

Il aurait été judicieux d'exclure aussi les animaux ayant reçu par voie systémique des corticoïdes, antihistaminiques et anti-inflammatoires non stéroïdiens, comme dans l'étude de MAYNARD *et al.* (2011). En effet, ces traitements sont susceptibles d'interférer avec la réponse au traitement mis en place. Ces données n'ont pas été recueillies lors de l'inclusion des animaux dans le protocole, compte tenu du faible nombre de chiens atteints qui consultent par an.

e. Fréquence d'utilisation du shampooing

Il n'existe pas de consensus sur la fréquence et la durée d'utilisation du shampooing, cependant les dermatologues recommandent souvent l'application des shampooings topiques deux à trois fois par semaine initialement et d'adapter la fréquence dès la semaine suivante en fonction de la réponse clinique. Par exemple dans l'étude BOND *et al.* (1995 b), le shampooing était utilisé à intervalles de 3 jours pendant 3 semaines.

f. Évaluation du prurit par les propriétaires

L'évaluation du prurit était effectuée par les propriétaires et est donc une donnée assez subjective. Elle ne semblait pas toujours en adéquation avec le prurit que l'on pouvait observer au cours de la consultation ou dont on pouvait deviner l'intensité à la vue des lésions. Mais cette donnée correspond au ressenti du propriétaire et donc plus ou moins indirectement à la satisfaction qu'il éprouve vis à vis du traitement topique.
On peut ainsi s'interroger sur l'augmentation du prurit rapportée par les propriétaires des chiens n°5, 17 et 18. Par exemple, la chienne n°18 présentait à J30 une amélioration non négligeable des scores cliniques, cytologiques et du nombre de colonies après la mise en culture mais le propriétaire se plaignait tout de même de l'absence d'amélioration. Nous nous sommes ainsi questionnés sur la perspicacité de son jugement de l'intensité du prurit, qui était le seul moyen pour lui de marquer dans notre étude son mécontentement donc peut-être une diminution du prurit moins spectaculaire que ce à quoi il s'attendait.

g. Score cytologique et sa sensibilité

Le nombre minimum de levures *Malassezia* choisi pour inclure un animal dans notre protocole était d'au moins une levure sur un des 10 champs observés, ce qui est faible comparé aux critères d'autres études similaires (tableau 8).

Rapport-Gratuit.com

Tableau 8 : Nombre minimum de levures devant être mises en évidence à la cytologie dans la littérature pour diagnostiquer une dermatite à *Malassezia*

Etudes	**Nombre de *Malassezia* par champ pour poser le diagnostic**
Maynard *et al.*, 2011	≥3 levures/champ
Bensignor, 2006	≥5 levures/champ
Cafarchia *et al.* , 2005	5 levures/champ
Rosales *et al.*, 2005	>10 levures sur 15 champs consécutifs soit 0,7 levures/champ
Bensignor, 2001	>3 levures/champ
Plant, 1992	1-3 levures/champ

Cependant, le résultat de l'examen cytologique dépend directement du lieu de prélèvement sur le chien, de la réussite de la fixation au cours de la coloration, de la qualité de la coloration, de l'expérience et du temps passés à chercher des levures *Malassezia* par le manipulateur. Cet examen est donc peu fiable, surtout dans une école vétérinaire où le manipulateur a peu d'expérience et n'est pas le même d'un chien à l'autre.
Ainsi, choisir un faible nombre de levures comme critère d'inclusion dans notre étude était une façon de ne pas exclure trop de cas par excès, tout en sachant que dans le cas où un animal aurait été inclus par erreur (par exemple une levure vue à la cytologie mais appartenant à la flore commensale), la mise en culture par la suite permettait de contrôler le statut de l'animal et éventuellement de l'exclure à ce moment là. C'est ce qui a été le cas par exemple pour les n°10 et 16.

Par ailleurs, un dénombrement exact des levures sur chacune des 3 lames n'a pas été correctement effectué et reporté pour tous les animaux à J0. Ainsi, seuls les critères « au moins une levure sur un des champs » ou « absence de levures sur tous les champs » ont été retenus dans la présente étude. Ceci provient aussi du fait que ce protocole ait été réalisé par des manipulateurs toujours différents et souvent sans expérience, car dans une école vétérinaire. Ce contexte est assez favorable à la perte de certaines données. La relecture systématique de toutes les lames pour dénombrement par les consultants n'était pas réalisable.

h. Paramètre supplémentaire à évaluer

L'odeur de l'animal aurait pu être évaluée mais n'a pas fait partie des paramètres suivis dans ce protocole. Bien que ce soit un marqueur subjectif, l'odeur de rance représente souvent la plainte majeure des propriétaires. Ce marqueur a été déjà été utilisé pour l'évaluation de l'efficacité de traitements topiques de la dermatite à *Malassezia* chez le chien dans l'étude de MAYNARD *et al.* (2011).

i. Durée du protocole

La durée du protocole a été fixée à un mois. A J30, quatre cas avaient toujours un nombre de colonies important après la mise en culture (c'est-à-dire au moins un site lésionnel avec un nombre de colonies *Malassezia* non quantifiable). Comme évoqué précédemment, un traitement topique met en général plus de deux semaines pour commencer à procurer des résultats. Il serait intéressant sur un protocole similaire d'effectuer un suivi à plus long terme pour voir si, avec un traitement uniquement topique, il est possible d'obtenir des cultures négatives ou négligeables sur tous les animaux ou si pour certains, le traitement topique seul ne suffit jamais.
Dans l'étude de MAYNARD *et al.* (2011), la majorité des animaux traités avec un shampooing contenant de la chlorhexidine à 2% et du miconazole à 2% a nécessité 28 jours de traitement seulement pour une guérison cytologique ; il y a eu un seul échec cytologique après 42 jours de traitement parmi les trente-deux chiens. Il n'y a pas eu de mise en culture dans cette étude.

Il pourrait aussi être intéressant aussi d'estimer à quelle fréquence il faudrait poursuivre le traitement pour éviter toute rechute chez des chiens prédisposés aux récidives.

j. Identification de l'espèce de *Malassezia* à la mise en culture

L'identification de l'espèce de *Malassezia* a permis de mettre en évidence uniquement *M. pachydermatis* chez tous les chiens de l'étude. Ceci est en accord avec l'étude de GUILLOT (1993) qui n'a mis en évidence que *M. pachydermatis* à partir de produits de raclages de 10 chiens présentés en consultation de dermatologie avec ou sans dermatite à *Malassezia*.

k. Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole:

Établir un critère quantitatif de colonies pour considérer l'animal comme guéri a posé un problème supplémentaire car 4 chiens (n°6, 8, 12 et 17) inclus dans l'étude ne présentaient pas un nombre de colonies supérieur à 70 à J0. On peut alors se poser la question de la pertinence de leur inclusion dans le protocole. Établir un nombre commun aux 3 sites de prélèvements n'est pas aisé car comme expliqué précédemment, le portage des levures est variable en fonction du site corporel testé (CAFARCHIA *et al.* (2005)).
Tous les chiens en revanche présentaient à J0 un score de prurit ou MalDESI≥21. Cette limite est discutable aussi et a été choisie en fonction des scores à l'inclusion et de leur évolution.

4.2 Résultats

a. Efficacité du shampooing

Cette étude se proposait d'évaluer l'efficacité d'un shampooing pour le traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien. Les lésions, le prurit, la cytologie et le nombre de levures à la mise en culture ont été considérablement améliorés chez la grande majorité des chiens au bout de 30 jours de traitement avec 7 applications de shampooings. L'amélioration

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

des lésions était majeure pour tous ; l'amélioration du prurit a concerné la grande majorité des chiens (11/14 chiens). Cependant, à la fin du protocole, 4 chiens présentaient encore une zone corporelle avec un nombre de colonies non quantifiable à la mise en culture : ainsi, soit le propriétaire n'effectuait pas correctement le shampooing sur cette zone, soit cette zone n'a pas répondu au traitement. La première hypothèse semble valable, étant donné que cette zone est différente pour chacun des quatre chiens et que parfois, il s'agit d'une zone modérément atteinte à J0 qui a proliférée pendant le durée du traitement.

b. Prédisposition des races

Quatre Shi Tzu (28,6%), 3 Shar Pei (21,4%), 2 Bergers Allemands (14,3%), 1 Caniche (7,1%), 1 Beagle (7,1%), 1 Pitt-bull (7,1%), 1 Fox terrier (7,1%) et 1 Cocker (7,1%) ont été retenus pour notre étude.

La littérature s'accorde sur le fait que, parmi les chiens inclus dans notre étude, les Shi Tzu et les Cockers sont des races prédisposées à la dermatite à *Malassezia* (MAULDIN *et al.* (1997), SCOTT *et al.* (2001)). D'autres études ont montré aussi la prédisposition du Beagle, du Berger Allemand ou du Shar Pei (SCOTT *et al.* (2001), MATOUSEK et CAMPBELL (2002), IHRKE (2009)). Par ailleurs, le Caniche est une race prédisposée au syndrome de Cushing, lui-même prédisposant à la dermatite à *Malassezia*.

Une majorité de races reconnues comme prédisposées à la dermatite à *Malassezia* a donc été incluse dans le protocole.

c. Âge des chiens

La dermatite à *Malassezia* est en général diagnostiquée entre 1 et 5 ans chez le chien (NARDONI *et al.* (2004)). La moyenne d'âge dans notre étude est plus élevée (7 ans et 2 mois), ce qui peut être mis en relation avec la présence chez un grand nombre de chiens d'allergies ou de maladies systémiques à l'origine de la prolifération des levures.

d. Causes sous-jacentes de la dermatite à *Malassezia*

La cause sous-jacente autorisant la prolifération des *Malassezia* a pu être déterminée dans 9/14 cas (tableau 9).

Il s'agit essentiellement dans la présente étude de troubles endocriniens ou allergiques.

Tableau 9 : Causes favorisant la dermatite à *Malassezia* chez les chiens de l'étude

Numéro chien et race	Affection sous jacente
N°2 : Shi Tzu	Allergie alimentaire
N°5 : Shar Pei	Mucinose du Shar Pei
N°6 : Shar Pei	Allergie alimentaire
N°7 : Caniche	Syndrome de Cushing
N°8 : Pitt bull	Dermatite atopique
N°9 : Berger Allemand	DHPP
N°11 : Shi Tzu	ND
N°12 : Beagle	ND
N°13 : Berger Allemand	DHPP
N°14 : Cocker	ND
N°15 : Shi Tzu	ND
N°17 : Fox terrier	Allergie alimentaire
N°18 : Shi Tzu	Hypothyroïdie
N° 19 : Shar Pei	ND

ND= non déterminé, DHPP= dermatite par hypersensibilité aux piqûres de puces

Les allergies provoquent une inflammation cutanée responsable de prurit. Ce prurit est à l'origine d'excoriations c'est-à-dire de traumatismes cutanés et donc d'une rupture de la barrière cutanée, favorable à la prolifération des levures.
Les endocrinopathies, quand à elles, sont responsables d'altérations de la barrière lipidique et d'une baisse immunitaire, toutes deux aussi favorables à la prolifération fongique.

Par ailleurs, d'autres facteurs favorisants ont été évoqués dans la littérature, comme un traitement antibiotique ou glucocorticoïde dans les semaines précédentes (PLANT *et al.* (1992)), mais non confirmées. Ce type de facteur favorisant n'a pas été rapporté dans notre étude mais peut potentiellement être la cause sous-jacente, dans les cas où elle n'a pas pu être déterminée.

e. Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole:

Selon les critères établis, à la fin du protocole, il n'y a que 4 échecs mycologiques.
En revanche, il y a 10 échecs cliniques. Ceci peut s'expliquer par le nombre important d'animaux présentant une cause sous-jacente à la dermatite à *Malassezia.* En effet, pour 7 des 10 échecs cliniques, la cause sous jacente avait déjà pu être déterminée avant la fin du protocole. Celles-ci n'ayant pas encore été traitées ou stabilisées pour la plupart, elles peuvent elles-mêmes être responsables de la persistance de lésions cliniques.

De plus, en fonction de la dermatose sous-jacente à l'origine de la prolifération de ces levures, les résultats cliniques attendus après traitement ne sont pas les mêmes. Par exemple, sur un animal atteint d'hypercorticisme, on s'attend à un score clinique et de prurit bien meilleur après traitement que chez un animal atopique par exemple, pour qui la dermatose sous-jacente est elle-même à l'origine de lésions et de prurit.

f. Corrélation cytologie / mise en culture

Pour les chiens où le comptage de *Malassezia* a été correctement reporté, que ce soit à J0 ou à J30, on observe parfois une cytologie et un nombre de colonies à la mise en culture peu en corrélation, c'est-à-dire une cytologie plutôt faible pour un nombre de colonies non quantifiable.
L'hypothèse d'une erreur manipulateur-dépendant à la cytologie reste valable, comme discuté précédemment. Cependant, BENSIGNOR *et al.* (2002) comparent la cytologie par scotch test et la culture avec les boîtes de contact contenant du milieu de Dixon pour évaluer le portage de levures *Malassezia* chez le chien. Ils montrent que dans 11 cas sur 80 (14,0% des cas), la cytologie est négative et la culture positive avec une moyenne de 64,8 colonies (2-100). La culture fongique s'est donc avérée plus sensible que la cytologie pour mettre en évidence les levures. Ce qui est en accord avec l'étude de CAFARCHIA *et al*. (2005) qui a montré la bonne spécificité de la cytologie (96%) et sa faible sensibilité (30%).

Ainsi, selon notre étude et la littérature, la mise en culture reste le moyen le plus sensible pour mettre en évidence la présence d'une dermatite à *Malassezia* et pour suivre son évolution.
L'examen cytologique, ici le scotch test, demeure tout de même un outil spécifique et indispensable lors de la première consultation pour mettre en évidence la présence de levures et donc justifier l'inclusion du cas dans le protocole, en attendant confirmation par la mise en culture. Par ailleurs, BENSIGNOR *et al.* (1999) ont montré que cette technique était la plus reproductible et la plus fiable des techniques cytologiques en cas de dermatite à *Malassezia.*

g. Innocuité du shampooing

Aucun effet secondaire n'a été rapporté dans cette étude. L'innocuité du shampooing a déjà été constatée dans l'étude de MAYNARD *et al.* (2011) à la fréquence de deux shampooings par semaine pendant 3 semaines ou dans celle de BOND *et al.* (1995 b) tous les trois jours pendant trois semaines.

Ainsi, dans cette étude, le shampooing a prouvé qu'il pouvait apporter une amélioration clinique et mycologique marquée en l'espace d'un mois à la fréquence de 2 applications par semaine. Cependant, à la fin du protocole plusieurs chiens présentaient encore des levures en grande quantité sur au moins un site corporel.

Il semble que dans des cas de dermatite à *Malassezia* sévères, le shampooing associant chlorhexidine et miconazole 2% permette de contenir l'évolution des lésions mais pas la guérison complète. Un traitement systémique peut alors être recommandé.

TROISIÈME PARTIE : Comparaison de trois modalités thérapeutiques pour le traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien : traitements topique, systémique et association des deux

Le traitement de la dermatite à *Malassezia* n'est pas un traitement codifié à l'heure actuelle. Comme cité précédemment, l'article de NÈGRE *et al*. (2008) montre que l'on peut recommander avec un bon niveau de preuves l'association miconazole 2% et chlorexhidine 2% sous forme de shampooing, appliquée deux fois par semaine pendant trois semaines. Le kétoconazole quant à lui n'est recommandé qu'avec *un niveau de preuves passables* à 10mg/kg/j pendant trois semaines, d'après cette méta-analyse.

1. Objectif

L'objectif de l'essai réalisé par notre confrère Emmanuel Bensignor a été de comparer l'efficacité du kétoconazole (Kétofungol®) par voie orale à la posologie de 10 mg/kg/j à celle d'un shampooing comportant 2% de chlorhexidine et 2% de miconazole (Malaseb®) et à l'association des deux traitements. Il nous a ensuite transmis ses données brutes pour leur analyse dans cette thèse.

Comme mentionné précédemment, le kétoconazole est un antifongique azolé commercialisé en médecine vétérinaire avec comme indication principale le traitement des dermatophytoses chez le chien (Kétofungol®). Il est également utilisé pour le traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien, hors AMM. Plusieurs essais ont déjà prouvé son efficacité à une dose de 5 à 10 mg/kg/j (BENSIGNOR (2001), BENSIGNOR (2006), NÈGRE *et al.* (2008)).

2. Matériel et méthodes

2.1. Critères d'inclusion

Tout chien, sans distinction de race, de sexe ou d'âge présenté en consultation avec le Dr Bensignor dans un des trois cabinets où il consulte (Paris, Rennes ou Nantes) et pour lequel est diagnostiquée une dermatite à *Malassezia*, est inclus dans le protocole.

Le diagnostic de dermatite à *Malassezia* repose sur l'observation conjointe des deux critères suivants :
- présence de **lésions** compatibles avec une dermatite à *Malassezia* (alopécie, lichénification, hyperpigmentation, érythème, séborrhée, prurit), localisées ou généralisées ;
- présence de levures *Malassezia* en grand nombre à l'examen cytologique sur une zone lésionnelle : **2 levures ou plus par champ** (sur une moyenne de 20 champs).

2.2 Critères d'exclusion

Sont exclus de l'étude les animaux qui présentent :
- des Demodex sur un raclage cutané ;
- une infection bactérienne patente avec mise en évidence d'images de pyodermite à la cytologie ;
- un mauvais état général ;
- un traitement dans les trois semaines précédentes avec un antifongique par voie orale ou un traitement topique dans la semaine précédente ;

Rapport-Gratuit.com

- des lésions localisées uniquement aux conduits auditifs ;

2.3 Critères évalués

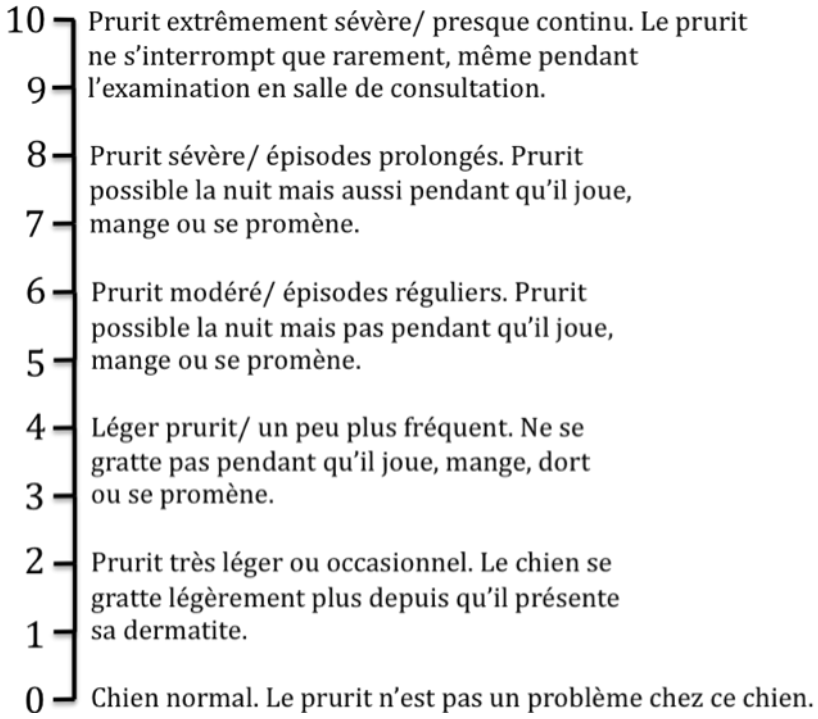
Les chiens inclus dans l'étude sont revus en consultation pour un suivi à J20 et à J40.
Lors de chaque visite (J0, J20 et J40), trois critères sont évalués :

- **évolution clinique** : score composite basé sur la cotation de 5 critères : érythème, lichénification, hyperpigmentation, alopécie, séborrhée sur l'ensemble du corps du chien. Chaque critère est noté de 0 (absence) à 4 (présence importante) avec 1= léger, 2= modéré, 3= important, par le clinicien. La note minimale est donc de 0, maximale de 20.

- **cytologie** : un scotch-test est réalisé en appliquant le morceau de cellophane adhésive sur un zone lésionnelle et en le répétant jusqu'à ce que le scotch ne colle plus. Il était ensuite coloré avec une coloration rapide, Diff-Quick®. L'observation au microscope permet une appréciation semi-quantitative du nombre de levures *Malassezia* sur 20 champs microscopiques consécutifs (au grossissement x400) et d'établir un score cytologique pour chaque animal en faisant la moyenne des 20 champs :
0 = absence de levures,
1 = strictement moins de 2 levures par champ,
2 = de 2 à 5 levures par champ, 5 non inclus,
3 = de 5 à 8 levures par champ, 8 non inclus,
4 = 8 levures ou plus par champ.

- **prurit** : le niveau de prurit est établi par le propriétaire à l'aide d'une échelle analogique visuelle graduée de 0 à 10 (figure 27). Ces derniers reçoivent la consigne d'entourer la valeur entière dont l'explication qualitative correspond le mieux au prurit de leur chien. Cette échelle est inspirée de celle publiée par RYBNICEK *et al.* (2008).

Figure 27 : Document remis aux propriétaires pour l'évaluation du prurit de leur chien (d'après Rybnicek *et al*. (2008))



2.4 Groupes et traitements

Les chiens sont divisés par randomisation en trois groupes :
- **groupe A** : traitement systémique seul avec du kétoconazole (Kétofungol®) à 10mg/kg/j en une prise *per os* pendant les 40 jours du protocole ;

- **groupe B :** traitement topique avec le shampooing contenant du miconazole et de la chlorhexidine deux fois par semaine pendant les 40 jours du protocole ;

- **groupe C** : traitements topique et systémique associés (shampooing deux fois par semaine et Kétofungol® 10mg/kg/j *per os)* pendant les 40 jours du protocole.

2.5 Protocole thérapeutique

Pour les chiens concernés pas l'utilisation du traitement topique (groupes B et C), les modalités d'utilisation du shampooing sont notées sur l'ordonnance :

- Mettre des gants, mouiller entièrement le chien à l'eau puis appliquer le shampooing une première fois en plusieurs points et masser le pelage ;
- Rincer abondamment ;
- Appliquer le shampooing une deuxième fois et bien masser partout en n'oubliant pas les espaces interdigités ;
- Laisser agir 10 min puis rincer à l'eau et laisser sécher à l'air libre dans un endroit à l'abri des courants d'air.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Un traitement antiparasitaire externe est prescrit à chaque groupe à J0 : prescription de fipronil (spot on) à Nantes, de sélamectine (spot on) à Rennes et d'une association imidaclopride et perméthrine (spot on) à Paris.

2.6 Suivis à J20 et J40

Les chiens sont revus après 3 et 6 semaines de traitement. Lors de ces visites, des scores clinique et cytologique sont établis, ainsi qu'un score de prurit par le propriétaire.

2.7 Chien guéris / non guéris à la fin du protocole

On considère à J40 comme :

- **guéris « mycologiquement »** de la dermatite à *Malassezia* les chiens présentant un score cytologique égal à 0 (sur une échelle de 0 à 4). Parmi ceux-ci, certains présentent un score clinique et/ou de prurit insatisfaisant**,** c'est-à-dire un score de prurit>2 et/ou un score clinique>5 et donc sont un échec clinique.
- **guéris « cliniquement »** les chiens présentant un score de prurit≤2 et un score clinique≤5. Parmi ceux-ci certains présentent un score cytologique insatisfaisant, c'est-à-dire différent de 0 et donc sont un échec mycologique.

2.8 Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Epi-info®.

L'âge des animaux et la répartition des sexes dans les différents groupes ont été comparés à J0 (respectivement avec les tests de Wilcoxon et du Chi-2).

Les différents scores à J0 ont été étudiés à l'aide du test de Kruskal-Wallis (une généralisation du test de Wilcoxon-Mann-Whitney à plus de deux échantillons) permettant de comparer les médianes des trois scores simultanément. Le risque α étant fixé à 5%, les médianes sont considérées significativement différentes si $p \leq 0,05$.

L'évolution des scores à J20 et J40 a été étudiée à l'aide du test de Wilcoxon-Mann-Whitney permettant de comparer les médianes de chaque groupe deux à deux. Le risque α étant fixé à 5%, les médianes étaient considérées comme significativement différentes si $p \leq 0,05$.

En ce qui concerne les scores cytologiques, étant donné qu'ils ne prenaient que de 2 valeurs différentes à chaque visite de contrôle (exceptionnellement 3), la comparaison des médianes était inappropriée et leur étude statistique s'est faite par comparaison de pourcentages avec un test du Chi-2 (ou un test de Fisher si l'effectif théorique était inférieur à 5). Lorsqu'il y avait trois valeurs, le score cytologique a été transformé en une variable binaire.

3. Résultats

3.1 Profil type

Trente chiens ont été inclus dans l'essai sur une période de deux ans, et répartis de manière aléatoire par tirage au sort de façon à en avoir 10 par groupe.

a. Chiens inclus et caractéristiques

Huit Bouledogues (26,7%), sept West Highland White Terrier (23,3%), six Shar Pei (20%), cinq Labradors (16,6%), deux Cockers Spaniel (6,7%), et deux Bergers Allemands (6,7%) ont été recrutés, comme on peut le voir dans le tableau 10, dont dix-neuf femelles et onze mâles.
L'âge minimum est 1 an et l'âge maximum est 13 ans (médiane = 3, moyenne = 3 ans et 11 mois).

b. Lésions

On retrouve de l'érythème chez tous les chiens, une alopécie chez 29 chiens (96,7% des cas), une hyperpigmentation chez 27 chiens (90,0% des cas), de la lichénification chez 25 chiens (83,3% des cas) et de la séborrhée chez 16 chiens (53,3% des cas) (tableau 10).
Les lésions sont localisées à une (ou plusieurs) parties du corps dans 9 cas et généralisées dans 21 cas.
La répartition corporelle des lésions pour chaque chien n'était pas disponible.

Tableau 10 : Caractéristiques des chiens inclus dans l'étude, en fonction du groupe attribué (Rappel : groupe A : kétoconazole, groupe B : shampooing miconazole + chlorhexidine, groupe C : association des deux traitements)

Groupe	Numéro	Race	Age (années)	Sexe	Type lésions	Localisé/ Généralisé
A	1	Labrador	3	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper	G
A	2	Shar Pei	5	M	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	G
A	3	Labrador	2	F	Eryth, Alop, Hyper	L
A	4	WHWT	5	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper	G
A	5	Labrador	7	M	Eryth, Lich, Alop, Hyper	G
A	6	WHWT	8	M	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	L
A	7	WHWT	9	M	Eryth, Lich, Alop, Hyper	L
A	8	Cocker spaniel	13	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	G
A	9	Labrador	2	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper	G
A	10	WHWT	3	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	G
B	11	WHWT	1	F	Eryth, Alop, Hyper	G
B	12	WHWT	1	F	Eryth, Alop, EKS	G
B	13	Shar Pei	1	M	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	G
B	14	Shar Pei	2	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	G
B	15	Bouledogue	1	M	Eryth, Lich, Alop, Hyper	G
B	16	Bouledogue	3	M	Eyth, Alop, EKS	L
B	17	Shar Pei	6	F	Eyth, Lich, Alop, Hyper	L
B	18	Shar Pei	2	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper	G
B	19	Bouledogue	1	M	Eyth, Lich, Alop, Hyper, EKS	L
B	20	Bouledogue	3	M	Eryth, EKS	L
C	21	Bouledogue	8	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper	G
C	22	Labrador	4	F	Eyrh, Lich, Alop, Hyper, EKS	G
C	23	Shar Pei	6	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper	G
C	24	WHWT	3	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	G
C	25	Cocker spaniel	5	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	G
C	26	Berger allemand	4	M	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	G
C	27	Berger allemand	2	M	Eryth, Lich, Alop, Hyper	L
C	28	Bouledogue	2	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper	G
C	29	Bouledogue	3	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	G
C	30	Bouledogue	1	F	Eryth, Lich, Alop, Hyper, EKS	L

WHWT=West Highland White Terrier, Eryth=érythème, Lich=lichénification, Alop=alopécie, Hyper=hyperpigmentation, EKS=état kérato-séborrhéique, L=localisé, G=généralisé, F= femelle, M= mâle.

Tous les chiens ont été présentés aux deux suivis en ayant respectés le protocole de l'étude et leurs données ont pu être analysées.

c. Étude statistique des caractéristiques des chiens inclus

- Comparaison des âges des différents groupes

Les médianes des âges des différents groupes ont été comparées grâce au test de Wilcoxon. Leur valeurs figurent dans le tableau 11.
La médiane d'âge chez le **groupe B** est de 1,5 ans (1;3) et est **significativement différente** de celle du **groupe A**= 5 (3;8) (p= 0,006). Celle du **groupe C** est de 3,5 ans (2;5) est n'est **pas significativement différente** de celle du **groupe A** (p=0,237).

Tableau 11 : Moyennes (et médianes) d'âge des différents groupes

	Groupe A	Groupe B	Groupe C
Moyenne (médiane) d'âge en années	5,7 (5)	2,1 (1,5)	3,8 (3,5)

- Comparaison de la répartition des sexes dans les différents groupes

Le pourcentage de femelles chez les animaux du groupe **B** est de 50% et n'est **pas significativement différent** du pourcentage de celles du groupe **A** (60% : p=1,000).
Le pourcentage de femelles chez les animaux du groupe **C** est de 80% et n'est **pas significativement différent** du pourcentage de celles du groupe **A** (60% : p=0,628).

3.2 Évolution du prurit, des lésions et de l'examen cytologique

a. Lors de la première visite (J0)

Les trois groupes présentent des scores élevés à l'inclusion.
Le prurit est marqué dans tous les groupes, avec la note la plus basse égale à 2/10 et la plus élevée à 8/10.
Les scores cliniques à l'inclusion varient de 5 à 16/20.
Les scores cytologiques à l'inclusion révèlent bien tous une prolifération de levures, avec des scores allant de 2 à 4/4, c'est-à-dire une moyenne sur 20 champs consécutifs allant de 2 à plus de 8 levures.

Les moyennes et médianes à J0 en fonction des groupes sont présentées pour les différents paramètres dans le tableau 12.

Tableau 12 : Moyennes et médianes des différents scores pour chaque groupe à J0

		moyenne J0	**médiane J0**
Score clinique (/20)	Groupe A	11	12
	Groupe B	11	11,5
	Groupe C	12,5	13
Score cytologique (/4)	Groupe A	3,4	3
	Groupe B	3,2	3
	Groupe C	3,2	3
Score prurit (/10)	Groupe A	5,7	6
	Groupe B	6,5	6,5
	Groupe C	6,7	7

Étude statistique

Les scores cliniques, cytologiques et de prurit on été comparés entre les groupes à J0 pour vérifier qu'il était possible de suivre leur évolution.

Les médianes des scores de prurit des groupes A=6 (5;7), B=6,5 (6;8) et C=7 (6;8) n'étaient **pas significativement différentes** (p=0,265).

Les médianes des scores cliniques des groupes A=12 (9;12), B=11,5 (9;13) et C=13 (11;14) n'étaient **pas significativement différentes** (p=0,361).

En ce qui concerne le score cytologique, il a été transformé en une variable binaire en regroupant les scores 2 et 3 sous la valeur 0 et le score 4 sous la valeur 1.
Le pourcentage de scores cytologiques égaux à 1 chez les animaux du groupe **B** est de 40% et n'est **pas significativement différent** du pourcentage de ceux du groupe **A** (40% : p=1).
Le pourcentage de scores cytologiques égaux à 1 chez les animaux du groupe **C** est de 40% et n'est **pas significativement différent** du pourcentage de ceux du groupe **A** (40% : p=1).

Bilan : Il n'y avait aucune différence observable à J0 entre les 3 groupes pour les scores cliniques, cytologiques ou de prurit.

b. Évolution du score de prurit

Une amélioration du score de prurit est remarquée pour tous les chiens dès J20, indépendamment du groupe et ce score continue de s'améliorer entre J20 et J40 pour 5 chiens du groupe A, 8 chiens du groupe B et 5 chiens du groupe C.

L'évolution individuelle des scores est présentée dans les figures 28, 29 et 30.

Figure 28 : Évolution des scores de prurit du groupe A (traitement systémique)

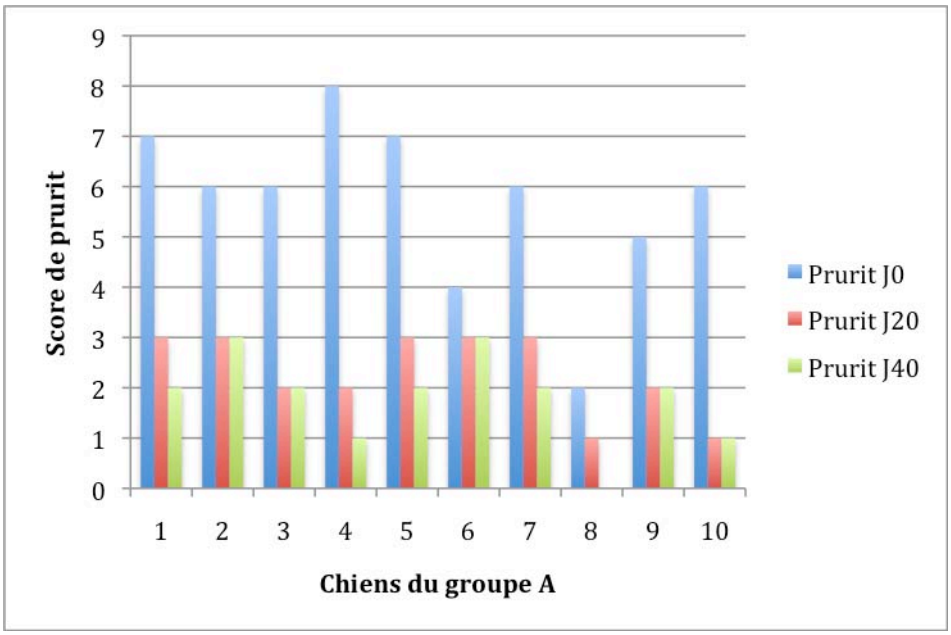


Figure 29 : Évolution des scores de prurit du groupe B (traitement topique)

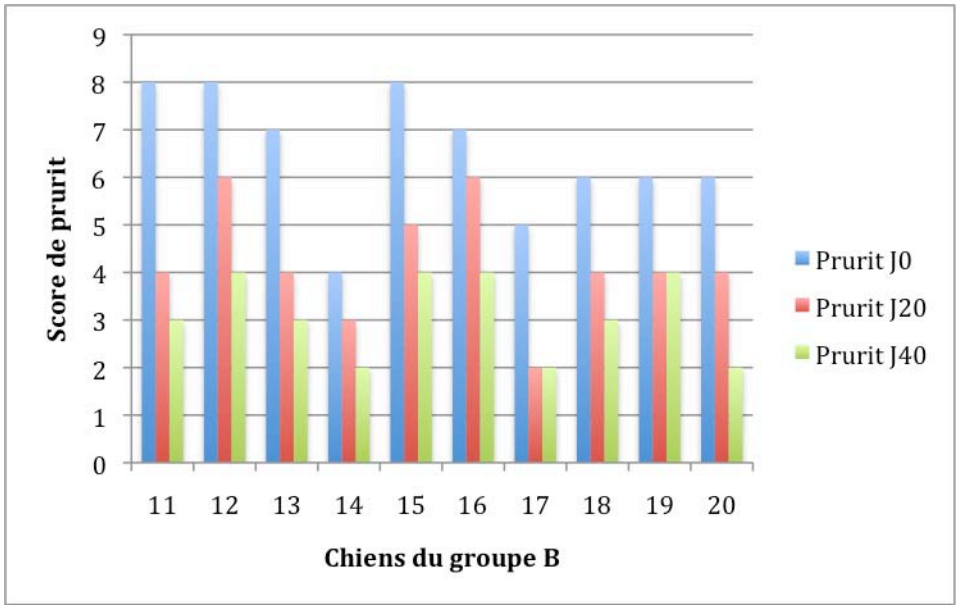
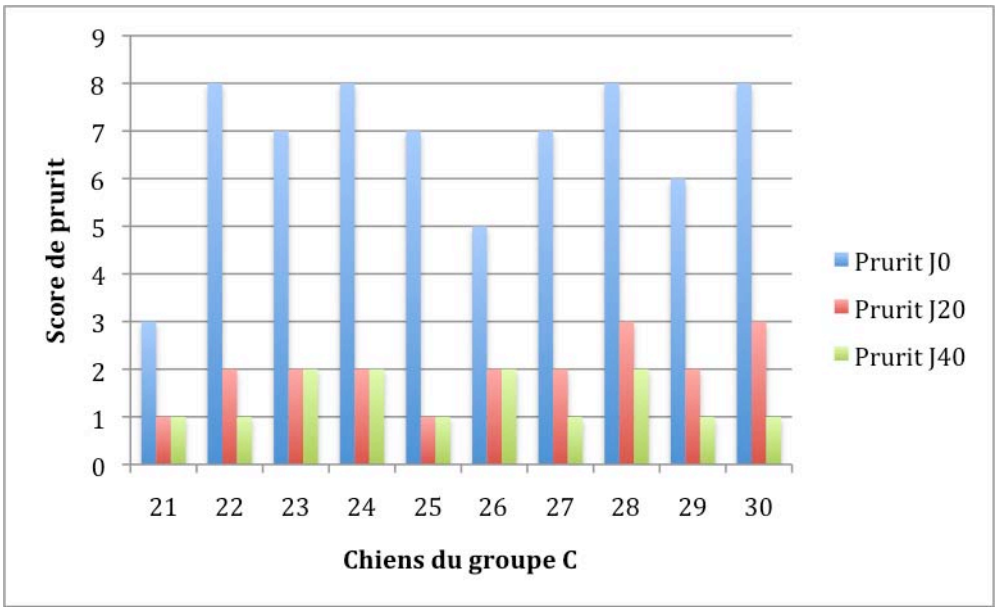


Figure 30 : Évolution des scores de prurit du groupe C (association des 2 traitements)



Un prurit résiduel (>2, c'est-à-dire un prurit léger mais qui n'interrompt pas le chien pendant qu'il joue, mange ou dort) demeure chez 2 chiens du groupe A, 7 chiens du groupe B à J40 mais chez aucun chien du groupe C.

Si l'on s'intéresse aux pourcentages d'amélioration des médianes des 3 groupes, on constate qu'à J40 l'amélioration est supérieure à 50% dans les trois groupes (tableau 13).

Tableau 13 : Médianes et pourcentages d'amélioration des médianes des scores de prurit entre J0-J20 et J0-J40 ((médiane à J0-médiane à JX) / médiane à J0) x 100

	Médiane des scores de prurit à **J0**	Médiane (et pourcentage d'amélioration) à **J20**	Médiane (et pourcentage d'amélioration) à **J40**
Groupe A	6	2,5 (58,3%)	2 (66,7%)
Groupe B	6,5	4 (38,5%)	3 (53,8%)
Groupe C	7	2 (71,4%)	1 (85,7%)

On constate donc que la diminution du prurit est maximale pour l'association des deux traitements (Groupe C) et ce, dès J20. Le shampooing seul a une efficacité sur le prurit inférieure aux deux autres traitements, mais provoque une diminution du prurit tout de même supérieure à 50% en l'espace de 40 jours.

Étude statistique

- À J20, la médiane du score de prurit pour le **groupe B** est de 4 (4;5) et est **significativement différente** de celle du **groupe A**= 2,5 (2;3) (p= 0,001). La médiane du score de prurit pour le **groupe C** est de 2 (2;2) et n'est **pas significativement différente** de celle du **groupe A**= 2,5 (2;3) (p= 0,32).
- À J40, la médiane du score de prurit pour le **groupe B** est de 3 (2;4) et est **significativement différente** de celle du **groupe A**= 2 (1;2) (p= 0,008). La médiane du score de prurit pour le **groupe C** est de 1 (1;2) et n'est **pas significativement différente** de celle du **groupe A**= 2 (1;2) (p=0,188).

Bilan : Le kétoconazole seul procure une meilleure réduction du prurit que le shampooing dans la présente étude. Il n'y a pas de différence significative en ce qui concerne la réduction du prurit entre le kétoconazole seul et l'association des 2 traitements, bien que ce dernier groupe procure de meilleurs résultats individuels.

c. Évolution de la clinique

Les scores cliniques s'améliorent entre J0 et J20 et entre J20 et J40 pour tous les chiens de l'étude (figures 31, 32 et 33).

Rapport-Gratuit.com

Figure 31 : Évolution des scores cliniques du groupe A (kétoconazole)

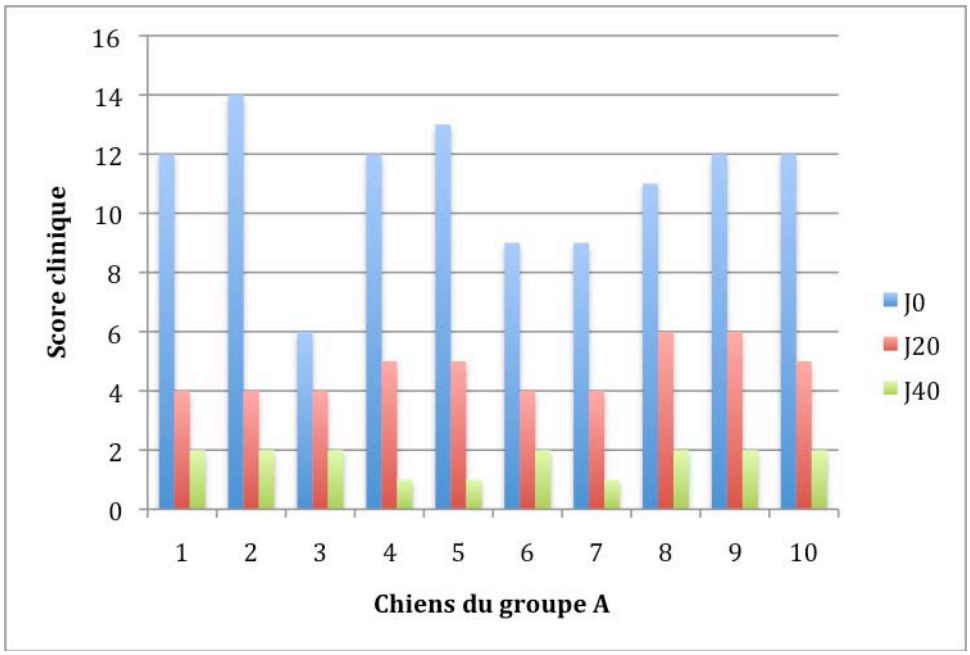


Figure 32 : Évolution des scores cliniques du groupe B (topique)

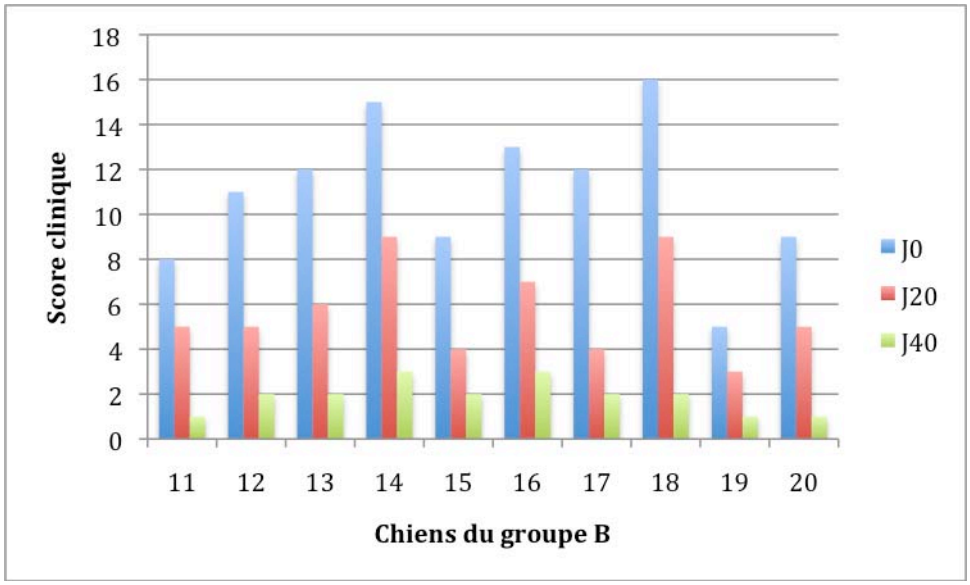
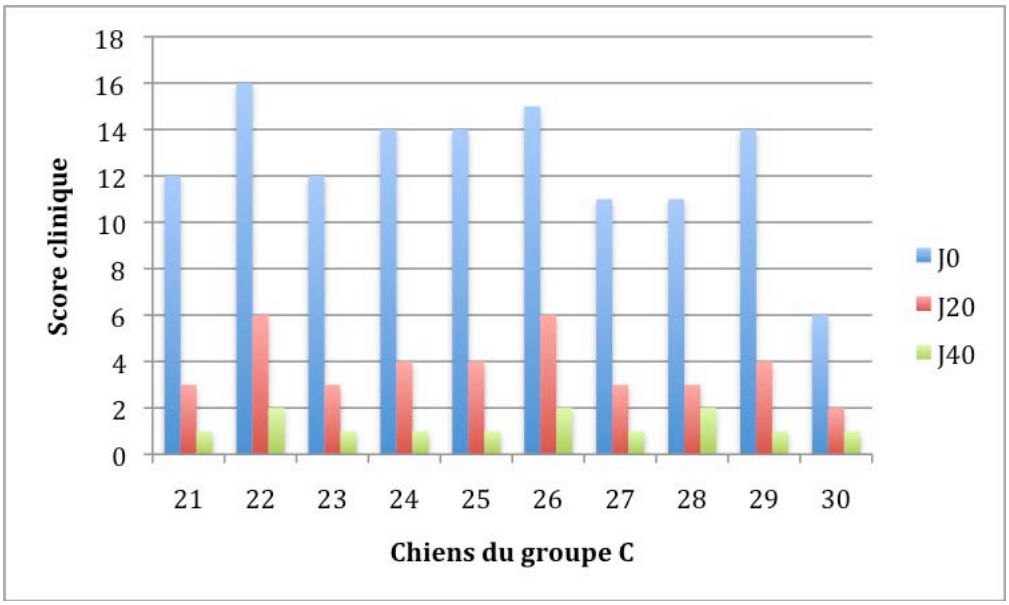


Figure 33 : Évolution des scores cliniques du groupe C (association des 2 traitements)



Aucun chien ne présente un score clinique qualifié d'insatisfaisant à J40, c'est-à-dire qu'ils ont tous un score inférieur à 5/20.

Si l'on s'intéresse aux pourcentages d'amélioration des médianes des 3 groupes, on constate que dès J20, l'amélioration est supérieure à 50% dans les trois groupes. Ces résultats figurent dans le tableau 14.

Tableau 14 : Médiane et pourcentage d'amélioration des médianes des scores cliniques entre J0-J20 et J0-J40 : ((médiane à J0-médiane à JX) / médiane à J0) x 100

	Médiane des scores cliniques à **J0**	Médiane et (amélioration des scores cliniques) à **J20**	Médiane et (amélioration des scores cliniques) à **J40**
Groupe A	12	4,5 (62,5%)	2 (83,3%)
Groupe B	11,5	5 (56,5%)	2 (82,6%)
Groupe C	13	3,5 (73%)	1 (92,3%)

On constate donc que les trois traitements ont procuré une diminution des scores supérieure à 50% dans les 20 premiers jours de traitement et que cette amélioration clinique se poursuit jusqu'à la fin du protocole de façon considérable et dans des proportions équivalentes pour les

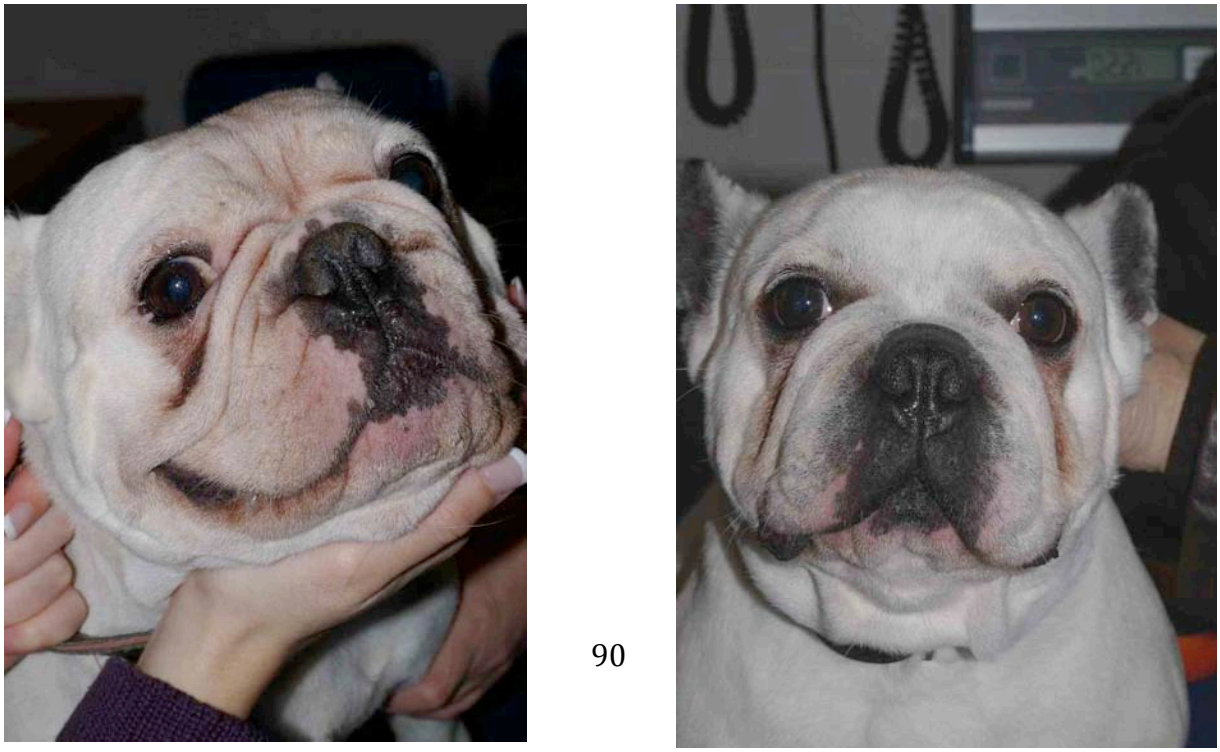
Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

trois traitements. L'association kétoconazole et shampooing procure tout de même des résultats très légèrement meilleurs aux deux autres groupes de traitement.

Les améliorations cliniques en l'espace de 20 jours sont illustrées par les figures 34 à 39.

Figures 34 et 35: Érythème et état kérato-séborrhéique sur l'antérieur d'un WHWT appartenant au groupe B à J0 (Gauche). Régression des lésions après 20 jours de traitement topique (Droite). (Bensignor)

Figures 36 et 37 : Érythème et état kérato-séborrhéique sur la face d'un Bouledogue appartenant au groupe C à J0 (Gauche). Régression des lésions après 20 jours de traitements topique + systémique (Droite). (Bensignor)



Figures 38 et 39: Alopécie, érythème et lichénification sur l'antérieur d'un WHWT appartenant au groupe C à J0 (Gauche). Régression des lésions après 20 jours de traitements topique + systémique (Droite). (Bensignor)

Étude statistique

- A J20, la médiane du score de prurit pour le **groupe B** est de 5 (4;7) et n'est **pas significativement différente** de celle du **groupe A**= 4,5 (4;5) (p=0,289). La médiane du score de prurit pour le **groupe C** est de 3,5 (3;4) et n'est **pas significativement différente** de celle du **groupe A**= 4,5 (4;5) (p= 0,053).
- A J40, la médiane du score de prurit chez le **groupe B** est de 2 (1;2) et n'est **pas significativement différente** de celle du **groupe A**= 2 (1;2) (p= 0,543). La médiane du score de prurit chez le **groupe C** est de 1 (1;2) et n'est **pas significativement différente** de celle du **groupe A**= 2 (1;2) (p= 0,08).

Bilan : Que ce soit à J20 ou à J40, les trois traitements procurent une amélioration clinique similaire et très satisfaisante.

d. Évolution de l'examen cytologique

Une diminution du nombre de levures *Malassezia* est observée pour chaque chien (figures 40, 41, 42) et ce dès J20, sauf pour un chien du groupe B qui ne diminue qu'à J40.

Figure 40 : Évolution des scores cytologiques du groupe A (kétoconazole)

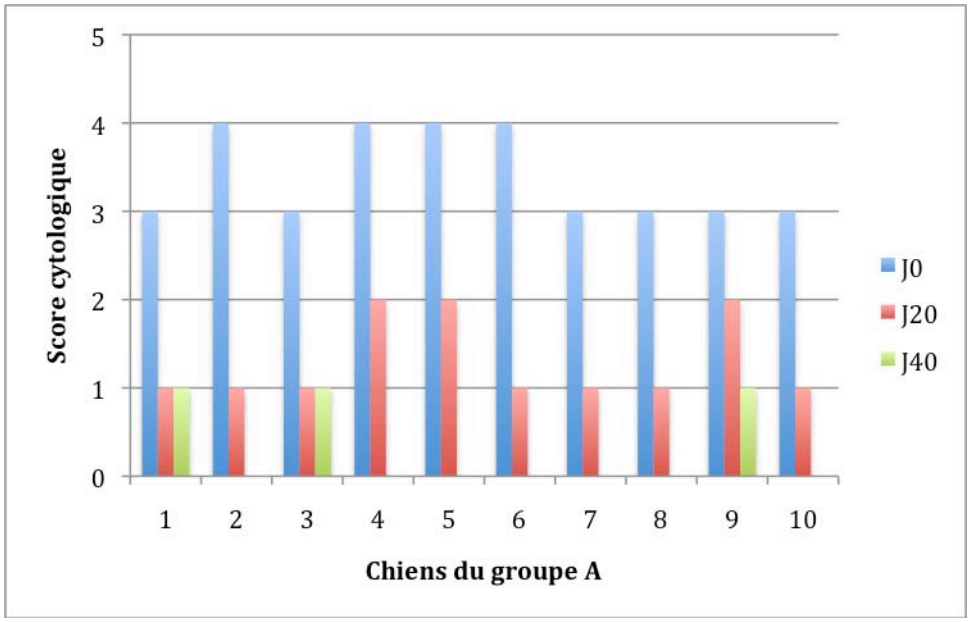


Figure 41 : Évolution des scores cytologiques du groupe B (topique)

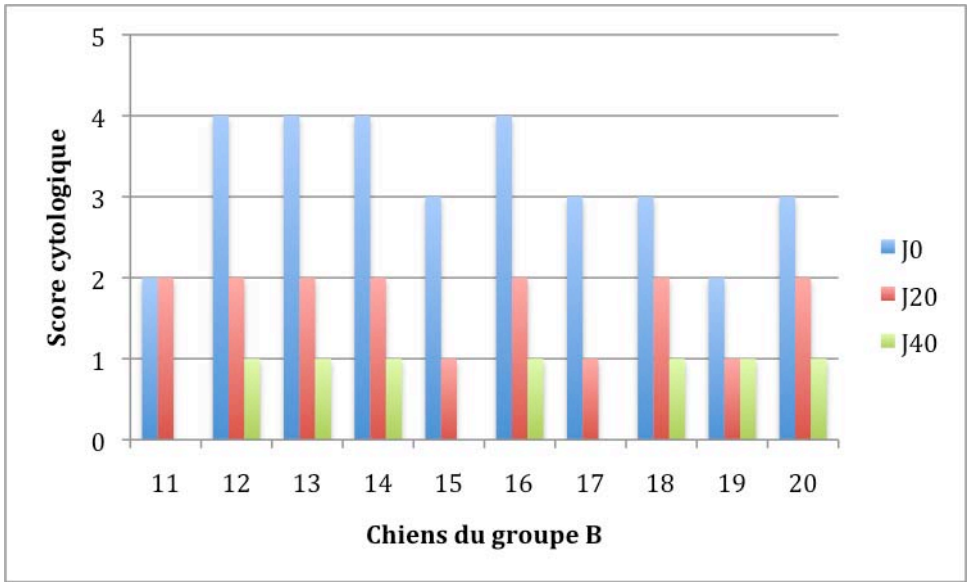
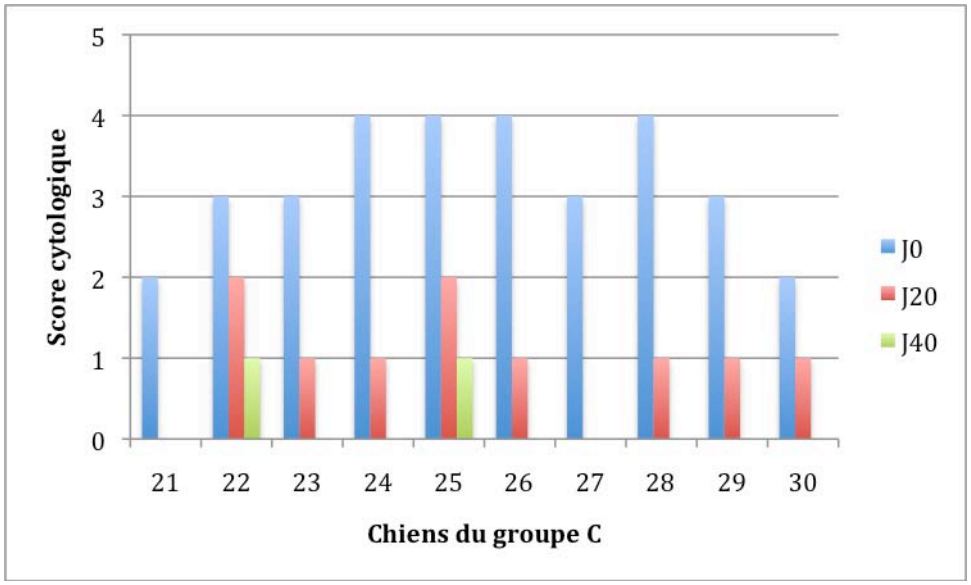


Figure 42 : Évolution des scores cytologiques du groupe C (association des 2 traitements)

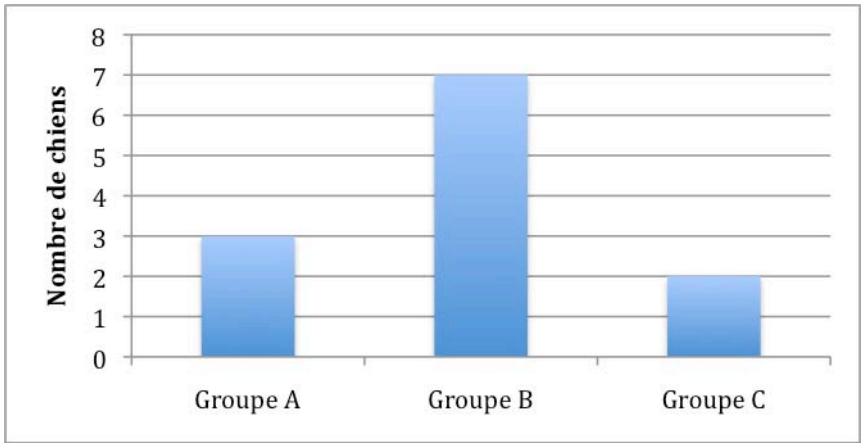


À J20, 2 chiens du groupe C ont déjà un score cytologique nul ; il n'y en a aucun dans les deux autres groupes.
Deux chiens du groupe A et un du groupe B ne présentent pas d'amélioration entre J20 et J40.

À J40, 7 chiens du groupe A, 2 chiens du groupe B et 8 chiens du groupe C présentent un score cytologique égal à zéro, c'est-à-dire qu'il n'y a plus de levures *Malassezia* visibles lors du scotch test. Tous les autres ont un score égal à 1, donc présentent encore des *Malassezia* mais en faible quantité (strictement moins de 2 levures par champ sur une moyenne de 20 champs).

Le groupe avec la réduction du nombre de levures la moins marquée est le groupe B (figure 43) : à J40, il y a plus de la moitié des cas qui présentent encore des *Malassezia* à la cytologie.

Figure 43 : Nombre de chiens par groupe présentant à J40 un score cytologique différent de zéro



Les évolutions des médianes des scores cytologiques des différents groupes sont présentées dans le tableau 15 suivant.

Tableau 15 : Médianes (et moyennes) des scores cytologiques des différents groupes à J0, J20, J40

	Médiane (moyenne) à J0	Médiane (moyenne) à J20	Médiane (moyenne) à J40
Groupe A	3 (3,4)	1 (1,3)	0 (0,3)
Groupe B	3 (3,2)	2 (1,7)	1 (0,7)
Groupe C	3 (3,2)	1 (1)	0 (0,2)

Étude statistique

Après avoir transformé la variable score cytologique en une variable binaire pour le groupe C (les résultats des 2 autres groupes étant déjà binaires), on peut constater grâce à un test du Chi-2 (ou de Fisher quand les effectifs théoriques sont inférieurs à 5) que :

- A **J20**, le pourcentage de scores cytologiques égaux à 2 chez les animaux du groupe **B** est de 70% et n'est **pas significativement différent** du pourcentage de ceux du groupe **A** (30% : p=0,07). Le pourcentage de scores cytologiques égaux à 2 chez le groupe **C** est de 20% et n'est **pas significativement différent** de celui du groupe **A** (30% : p=1,00).

- A **J40**, le pourcentage de scores cytologiques égaux à 1 chez les animaux du groupe **B** était de 70% et n'était **pas significativement différent** du pourcentage de ceux du groupe **A** (30% : p=0,07). Le pourcentage de scores cytologiques égaux à 1 chez le groupe **C** est de 20% et n'est **pas significativement différent** de celui du groupe **A** (30% : p= 1,00).

Bilan : Aucun différence cytologique significative n'a pu être mise en évidence entre les trois traitements à J20 ou à J40 : ils semblent avoir une efficacité cytologique similaire lors de dermatite à *Malassezia* et permettent d'atteindre au bout de 40 jours un score cytologique nul ou quasi nul.

Ainsi, à la fin du traitement seule une différence significative a pu être mise en évidence entre les résultats du prurit du groupe traité avec le kétoconazole et celui traité avec le shampooing. Les autres résultats n'étaient pas significativement différents, comme on peut le voir dans le tableau 16.

Tableau 16 : Différences significatives d'efficacité des différents traitements au bout de 40 jours

Différence significative en 40 jours	**Kétoconazole / shampooing**	**Kétoconazole / kétoconazole + shampooing**
Prurit (médianes)	Oui (p=0,008)	Non (p=0,188)
Clinique (médianes)	Non (p= 0,543)	Non (p=0,08)
Cytologique (%)	Non (p=0,07)	Non (p=1)

3.3 Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole

On rappelle qu'on considère comme :
- **guéris « mycologiquement »** de la dermatite à *Malassezia* les chiens présentant un score cytologique égal à 0 (sur une échelle de 0 à 4). Parmi ceux-ci, certains présentent un score clinique et/ou de prurit insatisfaisant**,** c'est-à-dire un score de prurit>2 et/ou un score clinique>5 et donc sont un échec clinique.
- **guéris « cliniquement »** les chiens présentant un score de prurit≤2 et un score clinique≤5. Parmi ceux-ci certains présentent un score cytologique insatisfaisant, c'est-à-dire différent de 0 et donc sont un échec mycologique.

D'après les résultats de l'annexe 4, on a à J40 14 guérisons mycologiques et cliniques, 6 échecs mycologiques et cliniques, 7 guérisons cliniques et échecs mycologiques et 3 guérisons mycologiques et échecs cliniques. La répartition par groupe est présentée dans le tableau 17.

Tableau 17 : Nombre de cas considérés comme guéris et non guéris de la dermatite à *Malassezia* dans chaque groupe après 40 jours de traitement

	Kétoconazole	**Shampooing**	**Kétoconazole + Shampooing**	**Total**
Guérison clinique et mycologique	5	1	8	14
Échec clinique et mycologique	0	6	0	6
Guérison clinique et échec mycologique	3	2	2	7
Guérison mycologique et échec clinique	2	1	0	3

On constate que le plus grand nombre de guérisons cliniques et mycologiques est obtenu pour le groupe avec l'association des 2 traitements, devant le groupe traité avec le kétoconazole seul.
Le plus grand nombre d'échecs cliniques et mycologiques est obtenu pour le groupe traité avec le shampooing.
Le plus grand nombre de guérisons mycologiques avec échecs cliniques est obtenu pour le kétoconazole seul.

Ainsi le plus grand nombre de guérisons à la fin du protocole est attribué à l'association kétoconazole + shampooing. Le plus faible nombre de guérisons est attribué au shampooing seul.

3.4. Effets secondaires

Aucun effet secondaire n'a été rapporté par les propriétaires pendant la durée de suivi de l'étude.

4. Discussion

4.1 Protocole

a. Critères d'inclusion

Un portage chronique de levures *Malassezia* en grand nombre a été mis en évidence pour certaines races, notamment les Basset Hounds, sans signes cliniques associés (BENSIGNOR *et al.* (2002), BOND et LLOYD (1997)). Ainsi, il semblait nécessaire d'inclure uniquement dans cette étude des animaux présentant à la fois un grand nombre de levures et des lésions dermatologiques compatibles avec une dermatite à *Malassezia.*
Il n'existe pas de consensus sur le nombre de levures minimum pour poser un diagnostic de dermatite à *Malassezia* (NÈGRE *et al.* (2008)). D'une manière générale, on considère que l'observation d'entre 2 et 10 levures par champ selon les races est significatif d'une dermatite à *Malassezia* (NARDONI *et al.* (2004)).
Ici le diagnostic est posé si en plus des lésions, il y a au moins 2 levures par champ sur une moyenne de 20 champs, ce qui est assez semblable aux critères des autres études similaires.

b. Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion de l'étude auraient éventuellement pu être un peu plus sévères : en effet il aurait été judicieux d'exclure aussi les animaux ayant reçu par voie systémique des corticoïdes, anti-histaminiques et anti-inflammatoires non-stéroïdiens. En effet, ces traitements sont susceptibles d'interférer avec la réponse au traitement mis en place.

c. Prescription d'un anti-parasitaire externe

Un traitement anti-parasitaire a été prescrit chez tous les chiens à J0. Il est ainsi possible qu'une certaine part de la diminution du prurit soit attribuable à la disparition de parasites cutanés si ceux-ci n'avaient pas été traités récemment. Il aurait fallu dans l'idéal administrer le traitement anti-parasitaire dans les quinze jours précédent J0 pour que le score de prurit à J0 ne soit pas faussé par d'éventuelles puces ou autres parasites en fonction du produit prescrit.
Il aurait aussi fallu que tous les chiens de l'étude reçoivent le même anti-parasitaire externe, ce qui n'était pas possible en raison de leurs disponibilités respectives dans les différentes structures où exerce le Dr Bensignor.

Rapport-Gratuit.com

d. Évaluation du prurit

L'échelle de prurit utilisée dans cette étude est une échelle analogique graduée visuelle inspirée de celle de RUBNICEK *et al.* (2008), remplie par le propriétaire à chacune de ses visites.
Le prurit est classiquement évalué dans d'autres études similaires par un score uniquement, par exemple allant de 1 (absent) à 6 (sévère) dans l'article de BOND *et al*. (1995), ou de 0 à 3 dans l'article de MAYNARD *et al.* (2011), sans échelle visuelle. L'étude de ROSALES *et al.* (2005) a utilisé une échelle analogue visuelle graduée semblable, allant de 0 (absence de prurit) à 10 (prurit maximal).

e. Score cytologique

Il aurait été préférable d'avoir une échelle plus fine pour le score cytologique dans cette étude, avec notamment un score intermédiaire entre le score 0 = "absence de *Malassezia*" et le score 1= "strictement moins de 2 levures sur une moyenne de 20 champs".

f. Absence de culture mycologique

Il n'y a pas eu de culture mycologique de réalisée dans cette étude pour des raisons de coût et de praticité. Ceci aurait pu permettre de suivre de façon plus précise l'évolution mycologique des différents chiens.

g. Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole

Le fait d'avoir pris « 0 » comme score cytologique pour avoir une « guérison mycologique » se discute. En effet, il peut être normal de trouver chez l'animal sain un faible nombre de *Malassezia* par champ à la cytologie. De considérer qu'il faut une absence totale de levures pour être guéri peut conduire à exclure des cas de guérison par excès.
Le score "1" semble ainsi regrouper certains cas qui méritent d'être classés comme guéris et d'autres comme échec thérapeutique. Par exemple dans l'étude menée par MAYNARD *et al.* (2011), étaient considérés comme guéris les cas avec une moyenne inférieure ou égale à 0,2. L'intérêt d'une échelle cytologique plus fine pourrait se révéler pertinente pour une étude ultérieure.
Les limites de scores clinique et de prurit ont été choisies en fonction des scores à l'inclusion et de leur évolution.

4.2 Résultats

a. Comparaison de l'efficacité des différents traitements

Ceci est donc une étude prospective, randomisée, contrôlée dont le but est d'évaluer et de comparer l'efficacité d'un shampooing à base de chlorhexidine 2% et de miconazole 2% à celle du kétoconazole dans le traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien, puis de comparer l'association des 2 traitements au kétoconazole.

Elle a permis de confirmer que ces trois options thérapeutiques, systémique, topique ou l'association des deux, permettent toutes trois une amélioration clinique et cytologique en 6 semaines, à la fréquence de 2 shampooings par semaine ou 10mg/kg/j de kétoconazole.

Dans cette étude, l'association du topique et du traitement systémique a procuré des résultats discrètement plus satisfaisants que le traitement systémique seul, mais ces différences n'étaient jamais significatives.
Le shampooing seul procurait les moins bons scores, avec des pourcentages d'amélioration des différents paramètres tout de même toujours supérieurs à 50% sur 40 jours de traitement. Son efficacité a été significativement moins importante en ce qui concerne la résolution du prurit par rapport à celle du traitement systémique seul. Les autres résultats n'étaient pas significativement différents de ceux du traitement systémique seul.
Ainsi, le shampooing a un effet bénéfique certain dans le traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien, mais qui semble tout de même moins prononcé que le kétoconazole ou que l'association des deux.

Il est important de préciser que dans la mesure où les sujets du groupe B ont une médiane d'âge significativement différente de la médiane d'âge du groupe A, l'âge peut jouer un rôle de confusion dans l'estimation de l'association causale entre le type de traitement et le paramètre étudié : la clinique, le prurit ou la cytologie.
Ainsi, les associations brutes que l'on observe entre le type de traitement et les différents scores doivent être prises avec précaution dans l'interprétation causale de l'impact d'un traitement par rapport à un autre.

En pratique, lors de dermatite à *Malassezia* modérée ou lorsque le propriétaire fait le souhait d'un traitement topique seul, le shampooing peut être prescrit à la fréquence de deux bains par semaine pour une durée de 40 jours, en prévoyant un contrôle cytologique et clinique, pour décider l'arrêt du traitement ou sa poursuite à une moindre fréquence.

b. Prédisposition des races

Huit Bouledogues (26,7%), sept West Highland White Terrier (23,3%), six Shar Pei(20%), cinq Labradors (16,6%), deux Cockers Spaniel (6,7%), et deux Bergers Allemands (6,7%) ont été inclus dans la présente étude.
Les WHWT, Bouledogues et Shar Pei sont sur-représentés dans cette étude: ils constituent à eux seuls plus de 50% des cas inclus.
Nous avons déjà discuté dans la partie précédente de la prédisposition des Bouledogues, Bergers Allemands, Shar Pei et Cocker. Le WHWT est aussi une race prédisposée selon la littérature (MATOUSEK et CAMPBELL (2002), MAULDIN et *al.* (1997), PLANT *et al.* (1992)).

c. Lésions cutanées

Comme dans d'autres études sur la dermatite à *Malassezia* chez le chien (BENSIGNOR (2001), BENSIGNOR (2006)), les lésions dermatologiques retrouvées sont de l'érythème, alopécie, lichénification, hyperpigmentation et séborrhée. Le prurit était parfois extrêmement sévère (note maximale=8/10) et était retrouvé systématiquement comme l'érythème, preuves toutes deux de la sévérité de l'inflammation cutanée en cas de dermatite à *Malassezia*.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Étant donné qu'il n'existe pas de système standardisé d'évaluation de la dermatite à *Malassezia*, les critères pris en compte étaient ceux qui témoignaient de l'inflammation (érythème et prurit), les désordres kérato-séborrhéiques et les témoins de la chronicité de la dermatite (lichénification, alopécie et hyperpigmentation).

d. Causes sous-jacentes à la dermatite à *Malassezia*

La cause sous-jacente ayant permis le développement de la dermatite à *Malassezia* a pu être déterminée dans la majorité des cas (26/30), comme on le constate dans le tableau 18.
Il s'agit essentiellement de troubles endocriniens ou allergiques.

Tableau 18 : Causes primaires de la dermatite à *Malassezia* chez les chiens de l'étude

Numéro du chien	**Cause sous-jacente**
1	Atopie
2	Atopie
3	ND
4	Atopie
5	Allergie alimentaire
6	ND
7	Atopie
8	SC
9	Atopie
10	Atopie
11	Allergie alimentaire
12	DHPP
13	Atopie
14	ND
15	Allergie alimentaire
16	Atopie
17	DHPP
18	Atopie
19	ND
20	Atopie
21	SC
22	Atopie
23	Atopie
24	DHPP
25	Atopie
26	Atopie
27	Atopie
28	Allergie alimentaire
29	Atopie
30	Atopie

ND=non déterminé, SC= syndrome de Cushing, DHPP= dermatite par hypersensibilité aux piqûres de puces.

Ainsi, la persistance de lésions et/ou de prurit à la fin du traitement, dans les cas où aucune levure n'a été trouvée à la cytologie, peut être due à la dermatose sous-jacente, qui devra être traitée ou stabilisée rapidement pour éviter les récidives de la dermatite à *Malassezia*.

D'autres causes prédisposantes ont été suggérées dans la littérature, comme un traitement antibiotique ou glucocorticoïde dans les semaines précédentes (PLANT *et al.* (1992)), mais non confirmées. Ce genre d'informations n'a pas été récolté dans la présente étude donc peut potentiellement être une cause sous-jacente, dans les cas où elle n'a pas pu être déterminée.

e. Chiens guéris / non guéris à la fin du protocole

Comme évoqué précedemment, le plus grand nombre de guérisons cliniques et mycologiques est obtenu pour le groupe avec l'association des 2 traitements, devant le groupe traité avec le kétoconazole seul. Le plus grand nombre d'échecs cliniques et mycologiques est obtenu pour le groupe traité avec le shampooing. Le plus grand nombre de guérisons mycologiques avec échecs cliniques est obtenu pour le kétoconazole seul.

Tous groupes confondus, il y a eu 9/30 échecs cliniques selon les critères établis. Ce nombre d'échecs peut s'expliquer en partie par le nombre élevé d'animaux avec une cause sous jacente à la dermatite à *Malassezia*, qui n'ayant pas forcément été guérie ou stabilisée, peut elle-même être responsable de la persistance de lésions cliniques.
Par ailleurs, en fonction de la dermatose sous-jacente à l'origine de la prolifération de ces levures, les résultats cliniques attendus après traitement ne sont pas les mêmes. Par exemple, sur un animal atteint d'hypercorticisme, on s'attend à un score clinique et de prurit bien meilleur après traitement que chez un animal atopique par exemple, pour qui la dermatose sous-jacente est elle-même à l'origine de lésions et de prurit.

f. Effets secondaires

Aucun effet secondaire n'a été rapporté dans cette étude.
Certaines études ont déjà mises en évidence des effets secondaires du kétoconazole à la même posologie chez le chien. Trois chiens (/20) de l'étude de BENSIGNOR (2006) ont présentés des symptômes pendant un traitement de trois semaines : vomissements (2), anorexie (1), abattement (1). Dans l'étude de MAYER *et al*. (2008) sur 632 chiens traités avec du kétoconazole à des posologies variant de 2,6 à 33,4 mg/kg, des effets secondaires ont été observés chez 14,6% des chiens (92) et incluaient vomissements (7,1%), anorexie (4,9%), abattement (1,9%), diarrhée (1,1%), prurit (0,6%) et érythème (0,3%). Une hépatotoxicité a même été rapportée dans le traitement de la dermatophytose chez le chien.

Ainsi il paraît judicieux d'employer un traitement topique pour les dermatites à *Malassezia* les moins sévères et de n'envisager l'utilisation d'un traitement systémique qu'en cas d'échec de celui-ci ou de dermatite à *Malassezia* sévère.

CONCLUSION

La dermatite à *Malassezia* chez le chien se manifeste par un prurit intense souvent accompagné par de l'érythème, de l'alopécie, un état kérato-séborrhéique et de la lichénification si la dermatite est chronique.
Les levures *Malassezia*, et en particulier *Malassezia pachydermatis*, appartiennent à la flore commensale du chien. Le mécanisme à l'origine de leur prolifération et donc de la mise en place d'une dermatite à *Malassezia* reste incertain à ce jour. Le seuil minimal à partir duquel traiter un animal n'est pas clairement établi : l'attitude la plus courante est d'administrer un traitement antifongique à un chien présentant des lésions compatibles avec un dermatite à *Malassezia* et chez qui on a pu mettre en évidence à la cytologie (et/ou mise en culture) un grand nombre de levures *Malassezia*.

Différentes options thérapeutiques existent. Les traitements systémiques à base de dérivés azolés tels que le kétoconazole ou l'itraconazole sont les plus couramment utilisés. Les traitements topiques sont aussi fréquemment employés, notamment sous forme de shampooing contenant de la chlorhexidine et du miconazole.

Le shampooing contenant de la chlorhexidine 2% et du miconazole 2% a prouvé son efficacité dans la première étude, aussi bien du point de vue clinique (amélioration des lésions cliniques pour 14/14 chiens et régression du prurit pour 11/14 chiens), à la fréquence de 2 shampooings par semaine pendant un mois. Cependant, son efficacité cytologique n'est pas franche pour tous les chiens de l'étude : 4/14 chiens ont encore un site corporel avec des levures non quantifiables à la mise en culture à la fin du protocole. La présence d'une cause sous-jacente à la dermatite à *Malassezia* a par ailleurs souvent empêché d'obtenir une guérison clinique complète.

La deuxième étude a permis de comparer l'efficacité du kétoconazole à 10mg/kg/j pendant 40 jours à celle du shampooing associant de la chlorhexidine 2% et du miconazole 2% et à l'association des 2 traitements, sur un groupe de 30 chiens. Les résultats les plus satisfaisants ont été obtenus pour le groupe traité avec l'association des 2 traitements, devant le groupe traité avec le kétoconazole seul. Cependant, ces résultats n'étaient pas statistiquement différents donc la supériorité d'un traitement par rapport à l'autre n'a pas pu être prouvée.
Le kétoconazole seul a procuré de meilleurs résultats que le traitement topique mais là encore, seuls les scores de prurit étaient statistiquement différents.

Ainsi, chez un animal présentant une dermatite à *Malassezia* localisée ou peu sévère, le traitement topique avec un shampooing associant la chlorhexidine à 2% et le miconazole à 2% semble être une bonne option. Dans des cas au contraire très sévères, le traitement systémique ou l'association des 2 types de traitement semblent nécessaires.

BIBLIOGRAPHIE

ASHBEE HR, GLYN E, EVANS V (2002). Immunology of Diseases Associated with *Malassezia* Species. *Clin. Microbiol* , **15**, 21-57

BAUWENS L, DE VROEY C, DEMEURICHY W (1996). A case of exfoliative dermatitis in a captive southern white rhinoceros (Ceratotherium simum simum). *Journal of zoo and wildlife medecine*, **27**, 271-274

BEN SALAH I, MAKNI F, CHEIKHROUHOU F, NEJI S, SELLAMI H, AYADI A (2010). Les levures du genre *Malassezia*: pathologie, milieux d'isolement et d'identification. *J. Méd. Mycol.*, **20**, 53-60

BENSIGNOR E, CARLOTTI DN, PIN D (1999). Comparaison de quatre techniques cytologiques pour la mise en évidence de *Malassezia pachydermatis* sur la peau du chien. *Prat. Méd. Anim. Comp.*, **34**, 33-41

BENSIGNOR E (2001). Comparaison de deux posologies de kétoconazole pour le traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien. *Ann. Méd. Vet*., **145**, 311-316

BENSIGNOR E, JANKOWSKI F, SEEWALD W, TOUATI F, DEVILLE M, GUILLOT J (2002). Comparison of two sampling techniques to assess quantity and distribution of *Malassezia* yeasts on the skin of Basset Hounds. *Vet. Derm*., **13**, 237–241

BENSIGNOR E (2006). Oral itraconazole as a pulse therapy for the treatment of canine *Malassezia* dermatitis : a randomized, blinded, comparative trial. *Prat. Med. Chir. Anim. Comp.*, **41**, 69-72

BOEKHOUT T, GUEHO-KELLERMAN E, MAYSER P, VELEGRAKI A (2010). *Malassezia* and the skin, Berlin, Springer, 319p

BOND R , SAIJONMAA-KOULUMIES LEM , LLOYD DH (1995 a). Population sizes and frequency of *Malassezia pachydermatis* at skin and mucosal sites on healthy dogs. *J. Small Anim. Pract.*, **36**, 147-150

BOND R, ROSE JF, ELLIS JW, LLOYD DH (1995 b). Comparison of two shampoos for treatment of *Malassezia pachydermatis* associated seborrheic dermatitis in basset hounds., *J. Small Anim. Pract*, **36**, 99-104

BOND R, FERGUSON EA, CURTIS CF, CRAIG CF, LLOYD DH (1996 a). Factors associated with elevated cutaneous *Malassezia pachydermatis* populations in dogs with pruritic skin disease. *J. Small Anim. Pract,* **37**, 103-107

BOND R., LLOYD DH (1996 b). Factors affecting the adherence of *Malassezia pachydermatis* to canine corneocytes *in vitro*. *Vet. Derm*., **7**, 49-55

BOND R, LLOYD DH (1996 c). Comparison of media and conditions of incubation for the quantitative culture of *Malassezia pachydermatis* from canine skin. *Res. Vet. Sci.*, **61**, 273-274

BOND R, LLOYD DH (1997). Skin and mucosal populations of *Malassezia pachydermatis* in healthy and seborrhoeic Basset Hounds. *Vet. Derm.*, **8**, 101–106

BOND R, ELWOOD CM, LITTLER RM, PINTER L, LLOYD DH (1998). Humoral and cell-mediated responses to *Malassezia pachydematis* in healthy dogs and dogs with *Malassezia* dermatitis. *Vet. Record.*, **143**, 381-384

BOND R, PATTERSON KANE JC, LLOYD DH (2004). Clinical, histopathological and immunological effects of exposure of canine skin to *Malassezia pachydermatis*. *Med. Mycol.*, **42**, 165-175

CABANES JF, THEELEN B, CASTELL G, BOEKHOUT T (2007). Two new lipid-dependent *Malassezia* species from domestic animals. *FEMS Yeast Res.*, **7**, 1064-1076

CABANES FJ, VEGA S, CASTELLA G (2011). *Malassezia cuniculi* sp. nov., a novel yeast species isolated from rabbit skin. *Med. Mycol.*, **49**, 40-48

CAFARCHIA C, OTRANTO D (2004). Association between phospholipase production by *Malassezia pachydermatis* and skin lesions. *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 4868-4869

CAFARCHIA C, GALLO S, ROMITO D, CAPELLI G, CHERMETTE R, GUILLOT J *et al.* (2005). Frequency, body distribution, and population size of *Malassezia* species in healthy dogs and dogs with localized cutaneous lesions. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **17**, 316-322

CAFARCHIA C, GASSER RB, LATROFA MS, PARISI A, CAMPBELL BE, OTRANTO D (2008). Genetic variants of *Malassezia pachydermatis* from canine skin : body distribution and phospholipase activity. *FEMS Yeast Res.* , **8**, 451-459

CARLOTTI DN, LAFFORT-DASSOT C (1996 a). Dermatite à *Malassezia* chez le chien : étude bibliographique et rétrospective de 12 cas généralisés traités par des dérivés azolés. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, **31**, 297-307

CARLOTTI DN, MAFFART P (1996 b). La chlorhexidine, revue bibliographique. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp*, **31**, 553-563

CARLOTTI DN, REME CA (2004). Efficacy of a soothing astringent topical spray for the management of *Malassezia* pododermatis in dogs : a preliminary open-label clinical trial. *In* : Comptes redus du Congrès de la B.S.A.V.A. Birmingham, 1er – 4 Avril 2004, 592

CHANG HJ, MILLER HL, WATKINS N, M.P.H. RN, ARDUINO MJ, ASHFORD DA *et al.* (1998). An epidemic of *Malassezia pachydermatis* in an intensive care nursery associated with colonization of health care workers' dogs. *N. Engl. J. Med.*, **338**, 707-711

CHEN TA, HILL P (2005). The biology of *Malassezia* organisms and their ability to induce immune responses and skin disease. *Vet. Derm.*, **16**, 4-26

CHERMETTE R, BUSSIERAS J (1993). Abrégé de parasitologie vétérinaire : mycologie. École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité pédagogique de Parasitologie. 179p

CRESPO MJ, ABARCA ML, CABANES FJ (2002). Occurrence of *Malassezia spp*. in the external ear canals of dogs and cats with and without otitis externa. *Med. Myco.*, **40**,115-121

DESORMEAUX M (2002). La dermatite à *Malassezia* chez le chien : synthèse bibliographique et étude rétrospective de 61 cas. Thèse Méd. Vét., Lyon, n°206

DROMIGNY E (1979). Essai de traitement des otites externes chez les carnivores domestiques à l'aide d'une préparation à base de miconazole. Thèse Med. Vet., Alfort, n°58

DUFAIT R (1983). *Pitysporum canis* as the cause of canine chronic dermatitis. *Vet. Med. and Small Anim. Clin*., **78**, 1055-1057.

FAERGEMANN J, BERNANDER S (1981). Micro-aerophilic and anaerobic growth of *Pitysporum* species. *Sabouradia*, **19**, 117-121

FARVER K , MORRIS DO, SHOFER F, HUMORAL EB (2005). Measurement of type 1 hypersensitivity reactions to a commercial *Malassezia* allergen. *Vet. Derm*., **16**, 261-268

FOULQUIE JF (1986). Essai du peroxyde de benzoyle dans le cadre d'une clientèle canine. Thèse Med. Vet., Nantes n°12

GIGNAC L (2011). Traitement de la toxocarose larvaire des carnivores domestiques : médecine factuelle. Thèse Med. Vet., Alfort, n°

GUAGUÈRE E, PRELAUD P (1996). Etude restrospective de 54 cas de dermatite à *Malassezia pachydermatis* chez le chien : résultats épidémiologiques, cliniques, cytologiques et histpopathologiques. *Prat Med Chir Anim Comp*, **31**, 309-323

GUÉHO E, MEYER SA (1989). A reevaluation of the genus *Malassezia* by means of genome comparison. *Ant. Van Leeuw*., **55**, 245-251

GUÉHO E, MIDGLEY G, GUILLOT J (1996). The genus *Malassezia* with description of four new species. *Ant. Van Leeuw*., **69**, 337-355

GUILLOT J (1993). Importance du genre *Malassezia* chez les carnivores domestiques. Thèse Méd. Vet., Alfort, n°106

GUILLOT J, CHERMETTE R, GUEHO E (1994). Prévalence du genre *Malassezia* chez les mammifères. *J. Mycol Med.*, **4**, 72-79

GUILLOT J, GUEHO E, CHERMETTE R (1995). Confirmation of the nomenclature status of *Malassezia pachydermatis*. *Ant. Van Leeuw.*, **67**, 173-176

GUILLOT J, GUÉHO E, CHEVRIER G, CHERMETTE R (1997). Epidemiological analysis of *Malassezia pachydermatis* isolates by partial sequencing of the large subunit ribosomal RNA. *Res. Vet. Sci*, **62**, 22-25

GUILLOT J, PETIT T, DEGORCE-RUBIALES F,GUEHO E, CHERMETTE R (1998). Dermatitis caused by *Malassezia pachydermatis* in a california sea lion (zalophus californianis). *Vet. Rec*., **142**, 311-313

GUILLOT J, BOND R (1999). *Malassezia pachydermatis* : a review. *Med. Myco.*, **37**, 295-306

GUILLOT J, BENSIGNOR E, JANKOWSKI F, SEEWALD W, CHERMETTE R, STEFFAN J (2003). Comparative efficacies of oral ketoconazole and terbinafine for reducing *Malassezia* population sizes on the skin of Basset Hounds. *Vet. Derm*, **14**, 153-157

GUPTA AK, SAUDER DN, SHEAR NH (1994). Antifungal agents: an overview, part II. *J. Am. Ac. Derm.*, **30**, 911-933

GUPTA AK, KOHLI Y, LI A, FAERGEMANN J, SUMMERBELL RC (2000). *In vitro* susceptibility of the seven *Malassezia* species to ketoconazole, voriconazole, itraconazole and terbinafine. *Br. J. Dermatol*, **142**, 758-765

HIRAI A, KANO R, MAKIMURA K, DUARTE ER, HAMDAN JS, LACHANCE MA, YAMAGUCHI H, HASEGAWA A (2004). *Malassezia nana* sp. nov., a novel lipid-dependent yeast species isolated from animals, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*., **54**, 623-627

HUANG HP, LITTLE CJL (1993). Effects of fatty acids on the growth and composition of *Malassezia pachydermatis* and their relevance to canine otitis externa. *Res. Vet. Science*, **55**, 119-123

IHRKE PJ (2009). *Malassezia* dermatitis : the other common infectious skin disease. In : Proceeding of the Latin American Veterinary Conference, Lima, Peru, 16-19 Octobre 2009

KENNIS R, ROOSERE, OLIVIER N, WALKER R (1996). Quantity and distribution of *Malassezia* organisms on the skin of clinically normal dogs. *JAVMA*, **208**, 1048 -1051

KOCHEVAR D, FAJT V (2006). Evidence-based decision making in small animal therapeutics. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim Pract.*, **36**, 943-99

LEGRAS A (2011). Les levures du genre *Malassezia* chez le chat. Thèse Méd. Vét., Alfort, n°1464

MASON IA, MASON KV, LLOYD DH (1996). A review of the biology of canine skin with respect to the commensals Staphylococcus intermedins, Demodex canis and *Malassezia pachydermatis*. *Vet. Derm.*, **7**, 119-132

MASUDA A, SUKEGAWA T, MIZUMOTO N, TANI H, MIYAMOTO T, SASAI K *et al.* (2000). Study of lipid in the ear canal in canine otitis externa with *Malassezia pachydermatis* . *J. Vet. Med. Science*., **62** , 1177-1182

MATOUSEK JL, CAMPBELL KL. *Malassezia Dermatitis*. Compendium, Mars 2002, **24**, n°3

MAULDIN EA, SCOTT DW, MILLER WH, SMITH CA (1997). *Malassezia* dermatitis in the dog : a retrospective histopathological and immunopathologival study of 86 cases (1990-95). *Vet. Derm.*, **8**, 191-202

MAYER UK, GLS K, SCHMID M, POWER HT, BETTENAY SV, MUELLER RS (2008). Adverse effects of ketoconazole in dogs – a retrospective study, *Vet. Derm.*, **19**, 199-208

MAYNARD L, REME CA, VIAUD S (2011). Comparison of two shampoos for the treatment of canine *Malassezia* dermatitis : a randomised controled trial. *J. Small. Anim. Pract*., **52**, 566-572

MORRIS DO, OLIVIER NB, ROSSER EJ (1998). Type-1 hypersensitivity reactions to *Malassezia pachydermatis* extracts in atopic dogs. *Am. J. Vet. Res.*, **59**, 836-841

MORRIS DO (1999). *Malassezia* dermatitis and otitis. *Vet Clin. North Am. small Anim. Pract.*, **29,** 1303-1310

MORRIS DO, CLAYTON D, DROBATZ K, FELSBURG P (2002). Response to *Malassezia pachydermatis* by peripherical blood mononuclear cells from clinically normal and atopic dogs. *Am. J. Vet. Res.*, **63**, 358-362

NARDONI S, MANCIANTI F, CORAZZA M, RUM A (2004). Occurrence of *Malassezia* species in healthy and dermatologically diseased dogs. *Mycopathologia*, **157**, 383-388

NÈGRE A, BENSIGNOR E, GUILLOT J (2008). Evidence based veterinary dermatology : a systemic review of intervention for *Malassezia* dermatitis in dogs. *ESVD and ACVD*, **20**, 1-12

NETT CS, REICHLER I, GREST P, HAUSER B, REUSCH CE (2001). Epidermal dysplasia and *Malassezia* infection in two West Highland white terrier siblings : an inherited skin disorder or reaction to severe *Malassezia* infection? *Vet. Derm*., **12**, 285-290

NUTTALL TJ, HALLIWELL RE (2001). Serum antibodies to *Malassezia* yeasts in canine atopic dermatitis. *Vet. Derm.*, **12**, 327-332

ORDEIX LC, GALEOTTI F, SCARAMPELLA F, DEDOLA C, BARDAGI M, ROMANO E *et al.* (2007). *Malassezia spp.* overgrowth in allergic cats. *Vet. Derm.*, **18**, 316-323

PIN D (2004). Seborrhoeic dermatitis in a goat due to *Malassezia pachydermatis*. *Vet. Derm.*, **15**, 53-56

PINCHBECK LR, HILLIER A, KOWALSKI J, KWOCHKA KW (2002). Comparison of pulse administration versus once daily administration of itraconazole for the treatment of *Malassezia pachydermatis* dermatitis and otitis in dogs. *JAVMA*, **12**, 1807-1812

PLANT JD, ROSENKRANTZ WS, GRIFFIN CE (1992). Factors associated with and prevalence of high *Malassezia pachydermatis* numbers on dog skin. *JAVMA*, **201**, 879- 882

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

ROSALES MS, MARSELLA R, KUNKLE G, HARRIS BL,NICKLIN CH, LOPEZ J (2005). Comparison of the efficacy of oral terbinafine and ketoconazole with cephalexin in the treatment of *Malassezia* dermatitis in dogs - a pilot study. *Vet. Derm.*, **16**, 171-176

RYBNICEK J, LAU-GILLARD PJ, HARVEY R, HILL PB (2008). Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. *ESVD and ACVD*, **20**, 115–122

SCHIMDT A (1997). *In vitro* activity of climbazole, clotrimazole and silver-sulphadiazine against isolates of *Malassezia pachydermatis. J. Vet. Med. B*, **44,** 193-197

SCHMIDT P (2007). Evidence-based veterinary medicine : evolution, revolution, or repackaging of veterinary practice? *Vet. Clin. Small Anim.*, **37**, 409-417

SCOTT D, MILLER W (1989). Epidermal dysplasia and *Malassezia pachydermatis* infection in WHWT. *Vet. Derm.*, **1**, 25-36.

SCOTT DW, MILLER WH, GRIFFIN CE. Muller and Kirk's small animal dermatology. 6th ed., Philadelphia, W.B.B Saunders, 2001, **6**, 363-374

SHIFRINE M, MARR AG (1963). The requirement of fatty acids by *Pityrosporum ovale*. *J. gen. Microbiol*, **32**, 263-270

SIMMONS RB et GUÉHO E (1990). A new species of *Malassezia. Mycol.Res*., **94**, 1146-1149

SUGITA T, TAKASHIMA M, SHINIDA T, SUTO H, UNNO T, TSUBOI R *et al*. (2002). New yeast species, *Malassezia dermatis*, isolated from patients with atopic dermatitis. *J. Clin. Microbiol*, **40**, 1363-1367

SUGITA T, TAKASHIMA M, KODAMA M, TSUBOI R, NISHIKAWA A (2003). Description of a new yeast species, *Malassezia japonica*, and its detection in patients with atopic dermatitis and healthy subjects. *J. Clin. Microbiol*, **41**, 4695-4699

SUGITA T, TJIMA M, TAKASHIMA M, AMAYA M, SAITO M, TSUBOI R *et al.* (2004). A new yeast, *Malassezia yamatoensis*, isolated from a patient with seborrheic dermatitis, and its distribution in patients and healthy subjects. *Microbiology and Immunology*, **48**, 579-83

TANE E (2006). Étude in vitro de l'efficacité de la piroctone-olamine sur *Malassezia pachydermatis*. Thèse Méd. Vet., Toulouse n°4129

Annexe 1 : Composition des principaux milieux de culture pour l'isolation des levures *Malassezia* (quantités par litre)
(BEN SALAH *et al.* (2009))

	Milieu Sabouraud dextrose Agar	**Milieu Dixon modifié**	**Milieu de Leeming et Notman modifié**
Peptone bactériologique			10g
Peptone mycologique	10g	6g	
Glucose	20g		5g
Extrait de malt		36g	0,1g
Extrait de levure			0,1g
Ox-bile déshydraté		20g	4g
Glycérol		2ml	1ml
Glycérol monostéarate			0,5g
Tween 40		10ml	
Tween 60			0,5ml
Acide oléique		2g	
Cycloheximide	0,5g	1g	
Chloramphénicol	0,5g	1g	

Annexe 2 : Fiches individuelles du protocole Maladec

Protocole MALADEC

Signalement :

Animal : Nom :

Race :

Age :

Sexe :

N° dossier :

Propriétaire :

Critères d'inclusion :

- Tout chien sans distinction de race, de sexe et d'âge
- Ayant fait l'objet d'un diagnostic de dermatite à *Malassezia* c'est-à-dire conjointement :
  - ayant un prurit chronique ou récidivant
  - ayant un état kérato-séborrhéique
  + mise en évidence d'au moins une levure *Malassezia* à l'examen cytologique de l'ensemble d'un scotch-test

Critère d'exclusion :
Traitement antibiotique systémique ou antifongique (systémique ou topique) ou antiseptique (topique) dans les 15 jours qui précèdent J0.

Annexe 2 : suite

J0 : première consultation

- établissement de la grille MalDESI
- évaluation du prurit par le propriétaire
- photos
- cytologie par calque sur 3 sites obligatoires : cou, périnée, abdomen + un site lésionnel (si différent des 3 précédents) avec comptage de la moyenne des *Malassezia* sur 10 champs
- boîtes de contact pour culture mycologique appliquées 3 secondes (en pressant légèrement) sur les mêmes sites que précédemment (3 ou 4 boîtes au total)

Protocole thérapeutique :
Le propriétaire doit appliquer le shampooing à J1 (le lendemain de la consultation), J4, J8, J11, J15, J22 et J29 (7 shampooings au total)
Antiparasitaires autorisés pendant l'étude,
Antifongiques, antibiotiques, antiseptiques et antiprurigineux interdits pendant l'étude.
Remarque : les solutions auriculaires (quelle que soit leur composition) sont autorisées à condition qu'elles ne soient appliquées que dans le conduit auditif externe.

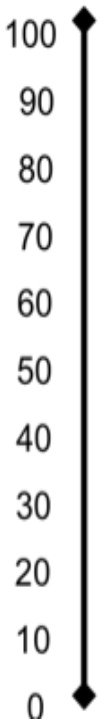
Procédure d'emploi du shampooing : porter des gants, mouiller entièrement le chien à l'eau propre, puis appliquer le shampooing en plusieurs points et massez le pelage. Utiliser suffisamment de produit pour faire mousser le pelage et la peau. Veiller à appliquer du shampooing autour des lèvres, sous la queue et entre les doigts. Le produit est irritant pour les yeux. Eviter le contact avec les yeux. Laisser agir 10 minutes puis rincer à l'eau propre et laisser sécher à l'air libre dans un endroit chaud et à l'abri des courants d'air.

Annexe 2 : suite

J0
Evaluation du prurit par le propriétaire

Echelle de prurit :

Lisez bien les descriptions ci-dessous puis faites une marque sur l'échelle pour quantifier la sévérité des démangeaisons de votre chien.



Très sévères démangeaisons. Le chien se gratte, se lèche, se mordille presque continuellement. Les démangeaisons ne cessent presque jamais, quelque soit l'environnement du chien.

Sévères démangeaisons. Episodes prolongés de démangeaisons quand le chien est éveillé. Les démangeaisons se produisent la nuit et aussi lorsque le chien mange, joue, se promène ou est distrait.

Démangeaisons modérées. Episodes réguliers de démangeaisons quand le chien est éveillé. Les démangeaisons peuvent se produire la nuit ou réveiller le chien. Pas de démangeaisons lorsque le chien mange, joue, se promène ou est distrait.

Démangeaisons légères. Episodes plus fréquents de démangeaisons. Quelques épisodes occasionnels de démangeaisons la nuit. Pas de démangeaisons lorsque le chien mange, joue, se promène ou est distrait.

Démangeaisons très légères. Episodes de démangeaisons occasionnels. Le chien se démange légèrement plus que lorsque le problème est apparu.

Chien normal. Pas de démangeaisons.

Annexe 2 : suite

J0
MalDESI (*Malassezia* Dermatitis Extent and Severity Index)

Zones		Eryth.	Lich.	Excor.	Alop.	EKS	Total
Face	Menton						
	Crâne						
Pavillon de l'oreille (face externe)	Gauche						
	Droite						
Cou	Dorsal						
	Ventral						
Aisselle	Gauche						
	Droite						
Sternum							
Thorax							
Aine	Gauche						
	Droite						
Abdomen							
Lombaire							
Flanc	Gauche						
	Droite						
Membres antérieurs	Gauche						
	Droite						
Main Gauche	Dorsal						
	Ventral						
Main droite	Dorsal						
	Ventral						
Membres postérieurs	Gauche						
	Droite						
Pied Gauche	Dorsal						
	Ventral						
Pied Droit	Dorsal						
	Ventral						
Plis unguéaux	Ant D						
	Ant G						
	Post D						
	Post G						
Péri anal							
Péri génital							
Queue	Ventrale						
	Dorsale						
Total							

Annexe 3 : Résultats bruts de l'étude sur le shampooing chlorhexidine 2% et miconazole 2%

	n°chien	2	5	6	7	8	9	11
	Date J0	07/11/09	13/04/10	15/04/10	15/04/10	15/04/10	27/04/10	30/11/10
JO	Total MalDESI J0	125	63	111	103	92	101	80
	Eryth JO	55	4	31	39	38	10	52
	Lich J0	14	9	6	4	15	21	20
	Excor J0	16	0	4	10	9	12	0
	Alop J0	24	12	31	6	30	26	4
	EKS J0	16	38	39	44	0	32	4
	Prurit J0	75%	14%	16%	76%	77%	79%	85%
	Cytologie	Présence	Présence	Présence	Présence	Présence	Présence	Présence
	Colonies périnée	1000	1000	2	1000	2	13	5
	Colonies cou	1000	1000	0	1000	3	22	1000
	Colonies abdomen	1000	1000	17	1000	17	101	200
J30	Total MalDESI J30	21	10	37	22	48	45	12
	Eryth J30	16	2	6	14	24	19	5
	Lich J30	2	2	16	1	18	20	5
	Excor J30	0	0	0	1	2	0	0
	Alop J30	3	0	2	1	2	4	2
	EKS J30	0	6	13	5	2	2	0
	Prurit J30	21%	16%	2%	53%	36%	15%	22%
	Cytologie	Absence	Présence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	Colonies périnée	7	1000	54	52	6*	3	50
	Colonies cou	4	37	1	7	1*	1	200
	Colonies abdomen	2	43	26	41	25*	7	1000

Annexe 3 : suite

	n°chien	12	13	14	15	17	18	19
	Date J0	15/02/11	01/03/11	03/03/11	08/03/11	19/04/11	19/04/11	22/04/11
JO	Total MalDESI J0	45	112	68	102	38	72	104
	Eryth JO	16	28	28	51	29	28	23
	Lich J0	0	28	4	0	0	2	0
	Excor J0	0	0	0	0	6	0	6
	Alop J0	13	28	0	4	0	20	29
	EKS J0	16	28	36	47	9	24	46
	Prurit J0	75%	60%	42%	71%	95%	50%	75%
	Cytologie	Présence	Présence	Présence	Présence	Présence	Présence	Présence
	Colonies périnée	15	1000	0	1000	2	1000	5
	Colonies cou	13	1000	0	1000	40	1000	1000
	Colonies abdomen	7	1000	1000	200	1	1000	60
J30	Total MalDESI J30	7	9	0	10	13	27	6
	Eryth J30	5	3	0	8	13	13	5
	Lich J30	0	0	0	0	0	0	0
	Excor J30	0	0	0	0	0	0	0
	Alop J30	2	3	0	0	0	8	1
	EKS J30	0	3	0	2	0	6	0
	Prurit J30	15%	55%	4%	31%	100%	72%	55%
	Cytologie:	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
	Colonies périnée	1	20	1	80	0	20	6
	Colonies cou	0	1000	0	1000	0	50	3
	Colonies abdomen	1	70	3	250	0	15	2

Rapport-Gratuit.com

Annexe 4 : Résultats bruts de l'étude comparant le shampooing, le kétofungol et l'association des 2 traitements

		J0			J20			J40		
N°	**Groupe**	**Prurit**	**Score clinique**	**Score cytologique**	**Prurit**	**Score clinique**	**Score cytologique**	**Prurit**	**Score clinique**	**Score cytologique**
1	1	7	12	3	3	4	1	2	2	1
2	1	6	14	4	3	4	1	3	2	0
3	1	6	6	3	2	4	1	2	2	1
4	1	8	12	4	2	5	2	1	1	0
5	1	7	13	4	3	5	2	2	1	0
6	1	4	9	4	3	4	1	3	2	0
7	1	6	9	3	3	4	1	2	1	0
8	1	2	11	3	1	6	1	0	2	0
9	1	5	12	3	2	6	2	2	2	1
10	1	6	12	3	1	5	1	1	2	0
11	2	8	8	2	4	5	2	3	1	1
12	2	8	11	4	6	5	2	4	2	1
13	2	7	12	4	4	6	2	3	2	1
14	2	4	15	4	3	9	2	2	3	1
15	2	8	9	3	5	4	1	4	2	0
16	2	7	13	4	6	7	2	4	3	1
17	2	5	12	3	2	4	1	2	2	0
18	2	6	16	3	4	9	2	3	2	1
19	2	6	5	2	4	3	1	4	1	1
20	2	6	9	3	4	5	2	2	1	1
21	3	3	12	2	1	3	0	1	1	0
22	3	8	16	3	2	6	2	1	2	1
23	3	7	12	3	2	3	1	2	1	0
24	3	8	14	4	2	4	1	2	1	0
25	3	7	14	4	1	4	2	1	1	1
26	3	5	15	4	2	6	1	2	2	0
27	3	7	11	3	2	3	0	1	1	0
28	3	8	11	4	3	3	1	2	2	0
29	3	6	14	3	2	4	1	1	1	0
30	3	8	6	2	3	2	1	1	1	0

TRAITEMENTS DE LA DERMATITE À *MALASSEZIA* CHEZ LE CHIEN

HAHN Harriet

Résumé

Les levures du genre *Malassezia* sont des levures lipophiles qui appartiennent à la flore cutanée de nombreux vertébrés homéothermes et qui peuvent, à la faveur de différentes affections cutanées, devenir des pathogènes opportunistes.

Cette thèse présente les résultats de deux études cliniques qui ont porté sur les modalités de traitement de la dermatite à *Malassezia* chez le chien.
La première étude a porté sur 14 chiens présentés en consultation à l'ENVA et pour lesquels une dermatite à *Malassezia* a été diagnostiquée. Les animaux ont été examinés après un mois de traitement topique (shampooing associant miconazole et chlorhexidine) pour un suivi cytologique, clinique et de prurit. Une nette amélioration des scores cliniques et de prurit a été observée.
Lors de la deuxième étude, l'efficacité du traitement topique a été comparée avec celle d'un traitement systémique à base de kétoconazole, sur 30 chiens examinés par le Dr Emmanuel Bensignor. L'association des deux traitements a procuré de meilleurs résultats que le kétoconazole seul, et ce dernier a procuré de meilleurs résultats que le shampooing seul, pour l'intégralité des paramètres étudiés ; cependant, seuls les scores de prurit entre le kétoconazole et le shampooing étaient significativement différents.

Mots clés : *MALASSEZIA* – DERMATITE – LEVURE - TRAITEMENT – ANTIFONGIQUE - RECHERCHE CLINIQUE – CARNIVORE - CHIEN

Jury :
Président : Pr
Directeur : Pr Guillot
Co-directeur : Dr Bensignor
Assesseur : Dr Perrot

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

TREATMENT OF *MALASSEZIA* DERMATITIS IN DOGS

HAHN Harriet

Summary

Malassezia yeasts are lipophilic yeasts that belong to the cutaneous flora of many warm-blooded vertebrates. These yeasts may become oppotunistic pathogens.

This thesis presents the results of two clinical studies which evaluated different treatment options in dogs with *Malassezia* dermatitis.
The first study enroled 14 dogs presented to the consultation at the National Veterinary School of Maisons-Alfort and for which a *Malassezia* dermatitis was diagnosed. The dogs were seen after a month of topical treatment (with a shampoo associating miconazole and chlorhexidine) for a cytological and clinical check-up. A marked improvement of the clinical scores was observed.
The second study compared the efficacy of a topical treatment and a systemic treatment (ketoconazole), on 30 dogs examined by Dr Bensignor. The association of the two treatments yielded the best results, ahead of those of the ketoconazole alone. The systemic treatment yielded better results than the shampoo alone, for all of the parameters studied; but only the pruritus of the groups treated with ketoconazole and shampoo were significantly different.

Key Words : *MALASSEZIA* – DERMATITIS – YEAST - TREATMENT – ANTIFUNGAL - CLINICAL RESEARCH – CARNIVORE - DOG

Jury:
President: Pr
Director: Pr Guillot
Co-director: Dr Bensignor
Assessor: Dr Perrot