

SOMMAIRE

INDEX DES FIGURES	3
INDEX DES TABLEAUX	4
I. INTRODUCTION.....	5
II. PRESENTATION DE L'ASPERGILLOSE DES CARNIVORES DOMESTIQUES.....	6
A. Champignons du genre <i>Aspergillus</i>	6
1. Eléments de Mycologie.....	6
2. Pouvoir pathogène.....	10
B. Epidémiologie	10
C. Principaux symptômes	11
1. Chez le chien	12
2. Chez le chat	15
3. Chez l'homme	16
D. Diagnostic de l'aspergillose rhinosinusale des carnivores domestiques.....	17
1. Diagnostic différentiel.....	18
a) Tumeurs.....	18
b) Affections dentaires.....	18
c) Corps étrangers.....	19
d) Autres rhinites fongiques	19
e) Traumatismes	20
f) Rhinites parasitaires	20
g) Rhinites bactériennes.....	21
h) Rhinites virales.....	21
i) Rhinites allergiques.....	22
j) Rhinite destructive idiopathique.....	22
k) Rhinites déclenchées à la suite de régurgitations ou de vomissements.....	22
2. Rappels anatomiques.....	23
3. Examen radiographique.....	28
4. Examen rhinoscopique	31
5. Examen tomodensitométrique.....	33
6. Examen mycologique.....	35
7. Tests sérologiques	36
E. Traitement	36
1. Traitements systémiques	36
2. Traitements locaux	37
III. ASPERGILLOSE ET SEROLOGIE.....	39
A. Sérologie et médecine humaine.....	39
1. Méthodes de détection d'anticorps anti- <i>Aspergillus</i>	39
a) Electrosynérèse ou immunoprécipitation	39
b) Hémagglutination	41
c) Immunofluorescence indirecte	42
d) Fixation du complément.....	43
e) Immuno-empreinte ou Western blot	43

f) ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) recherche anticorps ou ELISA indirect.....	44
2. Méthodes de détection d'antigènes aspergillaires.....	45
a) Antigènes aspergillaires	45
b) Test ELISA Platelia®.....	46
c) Technique d'agglutination de billes de latex.....	47
3. Méthode PCR (Polymerase Chain Reaction).....	49
B. Sérologie et médecine vétérinaire	50
1. Les méthodes de détection d'anticorps anti- <i>Aspergillus</i>	50
2. Les méthodes de détection des antigènes aspergillaires.....	50
IV. ETUDE PERSONNELLE.....	51
A. Objectifs	51
B. Matériels.....	52
C. Méthode : Détection d'antigènes par le test ELISA Platelia®.....	53
1. Principe.....	53
2. Détails de la procédure	53
a) Traitement des sérums.....	53
b) Réaction immuno-enzymatique.....	54
3. Interprétation des résultats	55
a) Détermination de la valeur seuil (VS).....	55
b) Calcul d'un index (I) pour chaque sérum testé	55
c) Validation de l'essai	56
d) Interprétation des résultats	56
D. Résultats	56
E. Discussion	68
V. CONCLUSION.....	71
VI. BIBLIOGRAPHIE	72

INDEX DES FIGURES

- Figure 1: Cycle des champignons du phylum des Ascomycètes.
- Figure 2: Structure microscopique des têtes aspergillaires.
- Figure 3: Ulcérations de la truffe et jetage chez un chien souffrant d'aspergillose rhinosinusale.
- Figure 4: Radiographies d'un chat ayant développé une forme pulmonaire d'aspergillose.
- Figure 5: Radiographie d'un aspergillome à localisation pulmonaire chez un homme.
- Figure 6: Anatomie simplifiée des cavités nasosinuales chez le chien.
- Figure 7: Anatomie des cavités nasales et des sinus du chat.
- Figure 8: Anatomie des cavités nasales et des sinus du chien.
- Figure 9: Coupe sagittale de la tête du chien d'après Barone.
- Figure 10: Radiographies de cavités nasales de chien : aspect normal et aspect chez un chien atteint d'aspergillose rhinosinusale.
- Figure 11: Radiographie de cavités nasales de chat atteint d'aspergillose.
- Figure 12: Vue rostro-caudale de sinus d'un chien atteint d'aspergillose rhinosinusale.
- Figure 13: Aspect d'une cavité nasale normale à l'examen rhinoscopique.
- Figure 14: Aspect d'une cavité nasale lors d'aspergillose à l'examen rhinoscopique.
- Figure 15: Images d'examen tomодensitométrique chez un chien sain et un chien atteint d'aspergillose rhinosinusale.
- Figure 16: Examen direct du jetage d'un chien atteint d'aspergillose rhinosinusale.
Des filaments mycéliens ainsi qu'une tête aspergillaire sont mis en évidence.
- Figure 17: Mise en évidence d'arcs de précipitation lors d'une électrosynérèse positive.
- Figure 18: Illustration de la lecture et de l'interprétation lors d'hémagglutination.
- Figure 19: Illustration d'une bandelette de tests d'immunoempreinte.
- Figure 20: Structure du galactomannane.
- Figure 21: Illustration du kit Platelia® après dépôt de la solution d'arrêt.

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1: Critères d'identification des principales espèces d'*Aspergillus*.

Tableau 2: Pourcentage de chiens atteints d'aspergillose rhino-sinusale en fonction des symptômes observés selon Sharp *et coll.* sur un échantillon de 50 chiens atteints d'aspergillose rhinosinusale.

Tableau 3: Diagnostic différentiel des rhinosinusites chroniques des carnivores et examens complémentaires à mettre en œuvre pour leur diagnostic.

Tableau 4: Détection d'antigènes aspergillaires circulants.

Tableau 5 : Résultats des examens des animaux du groupe A (aspergillose confirmée).

Tableau 6 : Comparaison des résultats des 2 tests sérologiques dans le groupe A

Tableau 7 : Résultats des examens des animaux du groupe B (aspergillose probable).

Tableau 8 : Comparaison des résultats des 2 tests sérologiques dans la groupe B.

Tableau 9 : Suivi de chiens par le dosage du galactomannane par la méthode ELISA Platelia®.

Tableau 10 : Résultats des examens des animaux du groupe Témoin.

Tableau 11 : Sensibilité et spécificité du test ELISA Platelia® dans notre étude.

Tableau 12 : Sensibilités et spécificités des différents tests sérologiques et PCR.

I. INTRODUCTION

L'aspergillose rhinosinusale des carnivores domestiques est une affection entrant dans le diagnostic différentiel des rhinites chroniques. Le principal agent responsable est *Aspergillus fumigatus*.

Le diagnostic de cette mycose est toujours difficile pour le clinicien et plusieurs examens complémentaires sont nécessaires pour le confirmer. L'examen tomodensitométrique demeure une référence pour le clinicien lors de récurrence de rhinite malgré les traitements précédents. Toutefois la faible disponibilité et le coût de cet examen sont ses deux principaux inconvénients. La mise en œuvre de tests sérologiques pour le diagnostic et le suivi de l'affection pourrait répondre, selon leur efficacité, à ce problème.

Le propos de ce travail de thèse est de décrire l'aspergillose rhinosinusale chez le chien et chez le chat, et d'étudier plus particulièrement les examens sérologiques disponibles en médecine humaine et vétérinaire. Une étude prospective nous a permis d'apprécier la valeur d'un test sérologique utilisé en routine en médecine humaine : le test ELISA Platelia® permettant le dosage de l'antigène galactomannane d'*Aspergillus fumigatus*.

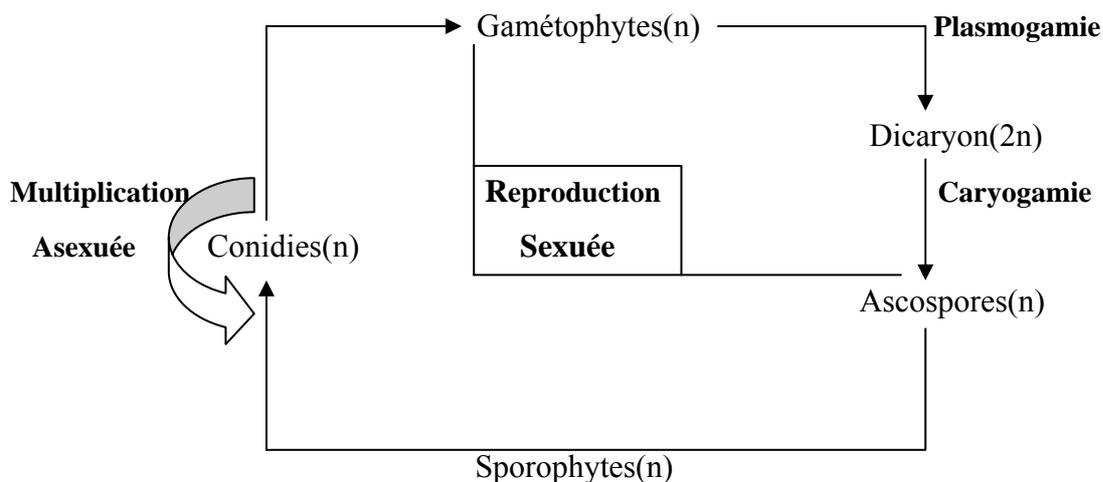
II. PRESENTATION DE L'ASPERGILLOSE DES CARNIVORES DOMESTIQUES

A. CHAMPIGNONS DU GENRE *ASPERGILLUS*

1. Eléments de Mycologie

Les champignons du genre *Aspergillus* appartiennent à la classe des Ascomycètes. Ce phylum a pour caractéristiques que l'ensemble de ses représentants présentent des filaments mycéliens cloisonnés (les septums sont incomplets et percés d'un orifice simple), une absence de zoïdes (spores mobiles), une multiplication sexuée avec formation d'ascospores internes et une multiplication asexuée (figure 1).

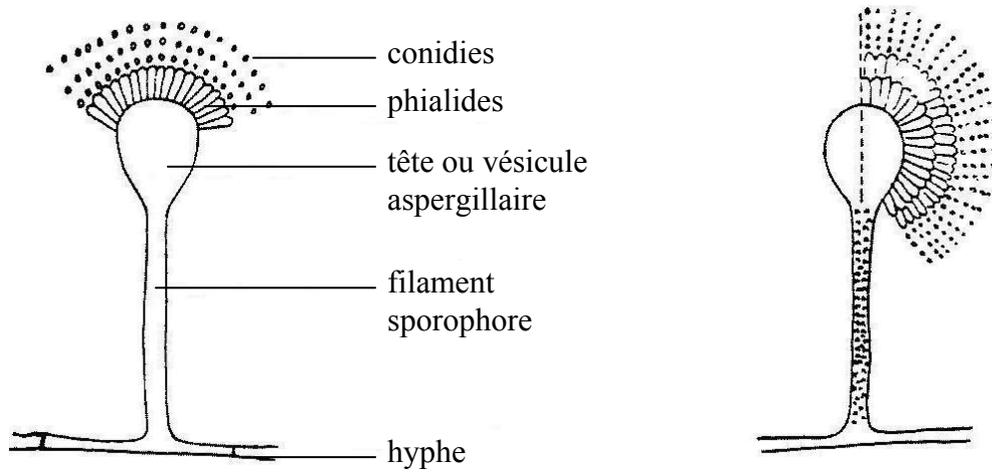
Figure 1 : Cycle des champignons du phylum des Ascomycètes (10 Chermette 1993).



Ces champignons filamenteux du groupe des Eurotiacées possèdent des asques contenues dans des ascocarpes de type cleistothèces. La reproduction asexuée se fait par phialides donnant des phialoconidies.

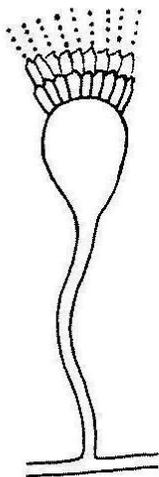
La structure microscopique des *Aspergillus* est caractéristique (figure 2). L'extrémité des filaments mycéliens se renfle sous forme d'une vésicule qui porte les cellules conidiogènes ou phialides produisant les spores ou conidies unicellulaires. Ces spores sont produites en grande quantité, chaque tête aspergillaire pouvant relarguer jusqu'à 10 000 spores qui peuvent conserver leur viabilité sur des surfaces pendant plusieurs mois voire plusieurs années.

Figure 2 : Structure microscopique des têtes aspergillaires des principales espèces du genre *Aspergillus* (17 Euzeby 1992).

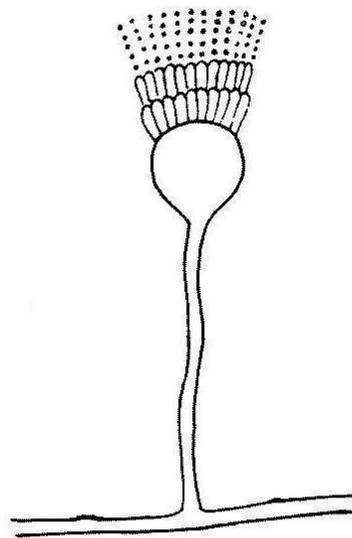


Aspergillus fumigatus

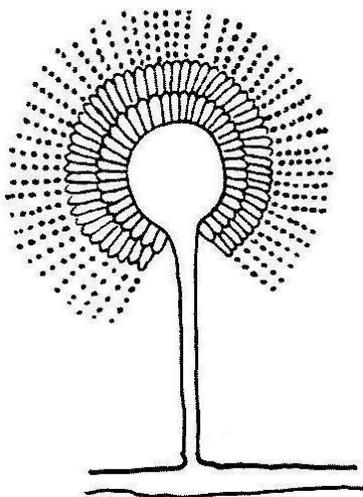
Aspergillus flavus



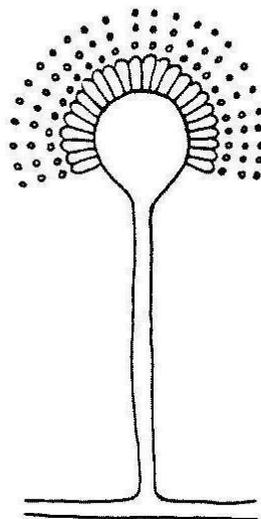
Aspergillus nidulans



Aspergillus terreus



Aspergillus niger



Aspergillus glaucus

D'après Euzeby 1992

Le genre *Aspergillus* est composé de plus de 300 espèces mais la majorité des cas d'aspergillose humaine ou animale est due à *Aspergillus fumigatus* (10 Chermette 1993).

Tous sont des champignons ubiquistes dans l'environnement, vivant en saprobiose dans le sol, au niveau de la rhizosphère mais aussi à la surface du sol sur les végétaux en voie de décomposition ou les débris organiques (3 Bodey 1989). Ils se retrouvent également dans les épices (13 De Bock 1989), les plantes vertes, les fleurs séchées, dans le foin ou le compost. Leur rôle dans le recyclage du carbone et de l'azote est essentiel. *Aspergillus fumigatus* a également été isolée à partir du pelage du chien (8bis Cabanes 1996).

D'autres espèces sont isolées à partir de lésions d'aspergillose mais beaucoup plus rarement : *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. terreus* ou *A. deflexus*. Ces deux dernières espèces semblent d'ailleurs plus particulièrement responsables d'une forme d'aspergillose disséminée observée le plus souvent chez le Berger Allemand (21 Gelatt 1991 ; 39 King 1995 ; 54 Pastor 1993 ; 73 Thomas 1999).

Les critères d'identification spécifique sont essentiellement basés sur les caractères morphologiques et physiologiques des différents champignons (tableau 1).

Tableau 1 : Critères d'identification des principales espèces d'*Aspergillus* (17 Euzeby 1992)

Espèces	Aspect macroscopique		Aspect microscopique
	Croissance	Colonies	
<i>A. fumigatus</i>	Très rapide : 48 heures T° optimale : 40°C	Planes, parfois plissées, aérées, cotonneuses. Blanchâtres, vert puis gris noirâtre. Revers incolore jaunâtre puis brun foncé à rougeâtre.	Tête conidienne avec une colonne compacte de spores. Conidiophore court 300 µm, lisse, incolore. Vésicule renflée sans limite nette avec le conidiophore. Conidies globuleuses, échinulées, vertes.
<i>A. flavus</i>	Rapide : 3 à 4 jours T° optimale : 25 à 37 °C	En tapis granuleux, broussailleux. Vert jaunâtre puis vert foncé. Revers : jaunâtre à brun.	Conidiophore rugueux long 400 à 1000 µm. Vésicule volumineuse en dôme irrégulier. Chaînes conidiennes en groupes, rayonnantes. Conidies jaunes vertes, échinulées globuleuses.
<i>A. niger</i>	Rapide : 3 à 4 jours T° optimale : 25 à 37 °C	Planes, granuleuses puis broussailleuses. Brun foncé, noirâtre ou brun violacé. Revers incolore ou jaune vif.	Vésicule volumineuse. Masse conidienne s'ouvrant en colonnes divergentes. Conidies rugueuses, brun sombre puis noir.
<i>A. nidulans</i>	Lente : 1 à 2 semaines T° optimale : 25 à 37 °C	Planes, veloutées puis granuleuses. Vert cresson foncé. Revers incolore à rose ou rouge pourpre fonçant avec l'âge.	Colonnes de spores très courtes 60 µm, sinueux, lisse, brunâtre. Vésicule hémisphérique, petite.
<i>A. terreus</i>	T° optimale : 25 à 37 °C	Veloutées ou floconneuses, surface plane ou parcourue de sillons rayonnants à bords fins et irréguliers. Cannelle à brun. Revers : jaune terne ou brun.	Conidiophore lisse 100 à 250 µm.

2. Pouvoir pathogène

Différents éléments peuvent expliquer le pouvoir pathogène d'*Aspergillus fumigatus* : cette espèce est thermophile (sa température maximale de développement est de 55°C avec cependant un optimum autour de 40°C), ses conidies de très petite taille (diamètre de 2 à 5 µm) mises en suspension dans l'air sont facilement inhalées et pénètrent profondément dans l'appareil respiratoire des mammifères (jusqu'aux alvéoles pulmonaires).

D'autre part, *A. fumigatus* produit de nombreuses mycotoxines. L'une d'entre elles, appelée gliotoxine, a des propriétés immunosuppressives et nécrotiques par inhibition de la phagocytose macrophagique et induction apoptotique. La diminution de l'immunité au niveau local est induite par un blocage des lymphocytes B et T, ce qui favorise encore la diffusion du champignon au niveau des cavités nasales (57 Russo 2000). D'autres métabolites ont des effets délétères sur l'efficacité de l'appareil mucociliaires des voies respiratoires, prolongeant le contact entre les spores et l'épithélium (32 Hoston 1995).

Enfin, ce champignon possède un tropisme pour les vaisseaux sanguins, à l'origine de thromboses et d'ischémies locales expliquant les lésions et la possibilité de dissémination de la mycose.

B. EPIDEMIOLOGIE

Les spores aspergillaires représentent 2 à 5% des isolements de moisissures dans l'atmosphère et leur densité peut être estimée entre 1 et 15 spores par mètre cube d'air (3 Bodey 1989). Leur répartition est ubiquiste.

Les aspergilloses sont des affections opportunistes qui surviennent sporadiquement sur des animaux sains. Aucune contagion n'est décrite entre animaux ou des animaux à l'homme.

Toutefois le rôle d'*A. fumigatus* dans l'aspergillose invasive chez l'homme incite à la plus grande prudence lorsque les propriétaires de chiens atteints sont immunodéprimés (30 Hennet 1993).

L'aspergillose invasive est une des principales causes de mortalité des patients admis dans les services d'hématologie. L'incidence moyenne est comprise entre 5 et 25% des patients leucémiques et entre 5 et 10% pour des patients ayant subi une greffe de moëlle. En cas de transplantation cardiaque, elle atteint 19 à 26%. L'incidence de l'aspergillose invasive en cas

de Syndrome d'ImmunoDéfiance Acquis (SIDA) est en augmentation constante et pourrait atteindre 12% (41 Latge 1999).

La survenue de cas groupés dans certains services hospitaliers a souvent été attribuée à une mise en suspension d'un grand nombre de spores au cours de travaux de construction ou de rénovation intra ou juxta-hospitaliers (53 Opal 1986 ; 55 Perraud 1985 ; 67 Sherertz 1987).

Les chiens appartenant aux races dolichocéphales sont particulièrement réceptifs et sensibles. La complexité anatomique, la longueur des cavités nasales et leur rôle de filtre de l'air inhalé, un traumatisme de ces cavités ou un déficit immunitaire sont des causes favorisantes reconnues, tandis que des aspergilloses nasales associées à des processus cancéreux ne sont qu'exceptionnellement rapportées. Un comportement exploratoire fouisseur augmente aussi les risques (75 Trumel 2001).

Les individus de type mésocéphaliques sont également exposés à cette affection tandis que les brachycéphales semblent plus rarement atteints (57 Russo 1985).

Par ailleurs, Bray (4 Bray 1999) rapporte que 77% des chiens atteints d'aspergillose sont de jeunes adultes de moins de 8 ans.

Il n'existe pas de prédisposition sexuelle.

L'aspergillose chez le chat n'est que rarement décrite. En 1984, la littérature ne rapportait que 9 cas (22 Goodall 1984). Sur ces 9 animaux, 7 étaient atteints de panleucopénie féline, de leucopénie ou d'aplasie médullaire. L'aspergillose était secondaire à la baisse d'immunité.

L'utilisation prolongée d'antibiotiques (par inhibition de la compétition normale au sein de la flore des cavités nasales) ou de corticoïdes sont, comme chez le chien, des facteurs prédisposants.

Les quelques cas recensés sont ceux de chats européens, persans ou siamois, âgés de 2 à 12 ans. L'aspergillose pulmonaire semble plus fréquente que la forme rhinosinusale.

C. PRINCIPAUX SYMPTOMES

Les formes cliniques et localisations sont très variables, malgré une prédilection pour l'appareil respiratoire. La prédominance de telle ou telle forme clinique se fera en fonction de l'hôte.

1. Chez le chien

Chez les carnivores domestiques et notamment chez le chien, la rhinosinusite aspergillaire est la forme d'aspergillose la plus fréquente, avec *Aspergillus fumigatus* comme responsable habituel (51 Mortellaro 1989, 78 Willis 1999). Cette affection représente 12 à 34% des maladies rhinosinuses chroniques du chien (9 Chanoit 1999).

Les symptômes sont ceux de toute atteinte des cavités nasales (processus tumoraux, infectieux, inflammatoires) (72 Tasker 1999). Les éléments essentiels à retenir du tableau clinique sont :

- Un jetage nasal chronique séreux au départ puis muco-purulent avec des filets de sang, abondant le plus souvent, uni ou bilatéral (figure 3).
- Des éternuements.
- Des accès d'épistaxis peuvent faire suite aux éternuements ; la muqueuse enflammée étant fragilisée. Une épistaxis spontanée, importante et difficile à contrôler orientera plutôt vers un trouble de la coagulation (11 Collas 1996).
- Une déformation de la face ou une douleur à sa manipulation, non constante peuvent être recherchées (44 Lecoindre 1993, 75 Trumel 2001).
- Une ulcération caractéristique de la truffe marquant le sillon d'écoulement du jetage, rencontrée dans 50% des cas, est sans doute provoquée par la gliotoxine sécrétée par *Aspergillus fumigatus*. Bien que non pathognomonique, ce signe d'éveil est important à prendre en compte (4 Bray 1999, 30 Hennes 1993).
- Une hyperkératose de la truffe.
- Un abattement, une dysorexie peuvent être également décrits par les propriétaires.

Selon les présentations, certains symptômes sont plus fréquents que d'autres (tableau 2).

Tableau 2 : Pourcentage de chiens atteints d'aspergillose rhino-sinusale en fonction des symptômes observés selon Sharp et coll. (64 Sharp 1991) sur un échantillon de 50 chiens atteints d'aspergillose rhinosinusale.

Symptômes observés	Pourcentage de chiens atteints
Jetage nasal abondant	91%
Douleur nasale	85%
Ulcération des narines	77%
Jetage purulent hémorragique	76%
Ostéomyélite du sinus frontal induisant une douleur à la palpation	65%
Epistaxis	63%
Jetage nasal bilatéral	52%
Jetage nasal unilatéral	48%
Jetage mucopurulent	24%
Jetage nasal clair	9%
Chémosis	7%

Figure 3 : Ulcérations de la truffe et jetage chez deux chiens souffrant d'aspergillose rhinosinusale (cliché : the *Aspergillus* web site : <http://www.aspergillus.man.ac.uk>)



Une forme disséminée d'aspergillose est également rencontrée chez le chien, de race Berger Allemand principalement. Le diagnostic est souvent post-mortem.

Aspergillus terreus et *Aspergillus deflexus* sont les agents les plus fréquemment isolés. La pathogénie de cette forme particulière d'aspergillose canine est aujourd'hui inconnue (73 Thomas 1999).

La voie d'entrée respiratoire est controversée car certains animaux ne présentent aucune lésion de l'appareil respiratoire lors de l'examen nécropsique. Une atteinte par voie gastrointestinale ou percutanée est envisagée (54 Pastor 1993).

Les symptômes sont fonction des organes atteints : déficit neurologique par ostéolyse de vertèbres avec atteinte de la moelle épinière, insuffisance rénale, hépatique, uvéite, endocardite, myocardite. Des nodules fongiques ont également été retrouvés au niveau de la rate ou des nœuds lymphatiques mésentériques (35 Kahler 1990, 39 King 1995, 54 Pastor 1993, 73 Thomas 1999).

Des symptômes généraux sont associés : abattement, anorexie, amaigrissement, vomissements ou hyperthermie.

La forme disséminée n'a jamais été décrite en France.

2. Chez le chat

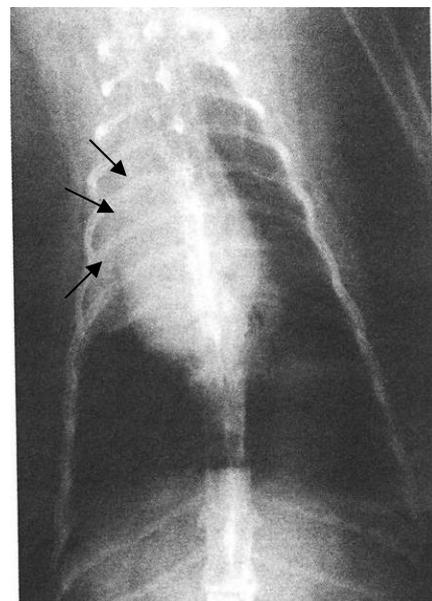
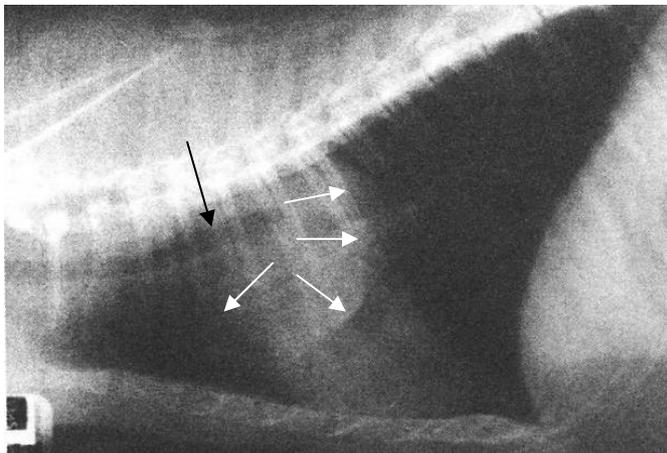
L'aspergillose chez le chat n'est que très rarement décrite. Les 9 premiers cas rapportés dans la littérature évoquaient des envahissements intestinaux (2 cas), pulmonaires (4 cas), intestinaux et pulmonaires (2 cas) ou encore des formes d'aspergillose rhinosinusale semblables à celles observées chez le chien (2 cas) (22 Goodall 1984). Le diagnostic était alors souvent histologique et post-mortem. Les méthodes diagnostiques classiques (examens radiographiques, tomodensitométriques, sérologiques) ne furent employées dans cette espèce qu'en 1982 (22 Goodall 1984).

Lors de forme rhinosinusale, les symptômes les plus fréquents sont, comme chez le chien, un jetage nasal mucopurulent, des éternuements, une épistaxis et un épiphora. Un envahissement local des globes oculaires est parfois décrit provoquant une uvéite antérieure. Les formes disséminées sont plus fréquentes que chez le chien, les localisations sont alors principalement digestives, pulmonaires (74 Tomsa 2003, figure 4) ou vésicales (26 Harkin 2003), les symptômes sont ceux de pneumonies, d'entérites chroniques ou de cystites (26 Harkin 2003) ;

Figure 4 : Radiographies d'un chat ayant développé une forme pulmonaire d'aspergillose (cliché : 26 Harkin 2003).

Vue de profil : opacification pulmonaire (flèches blanches) à la base du cœur et déviation dorsale de la trachée (flèche noire).

Vue de face : opacification pulmonaire localisée à l'hémithorax droit (flèche noire).



3. Chez l'homme

- Aspergillose invasive

L'aspergillose invasive est la forme la plus fréquente chez les patients immunodéprimés. C'est une infection d'expression clinique variable souvent fatale, à point de départ pulmonaire. Le tableau clinique est celui d'une pneumopathie aiguë infectieuse résistant aux antibiotiques. Les symptômes apparaissent vers le 15^{ème} jour post-greffe de moëlle chez le leucémique neutropénique, et entre le 2^{ème} et le 6^{ème} mois après la greffe lorsqu'il s'agit d'un autre organe. La fièvre supérieure à 38-38,5°C est quasi constante. La toux est sèche, quelquefois accompagnée d'une expectoration hémoptoïque. La dyspnée est précoce, accompagnée de douleurs thoraciques intenses, en rapport avec la diffusion des lésions parenchymateuses. La mort peut survenir par insuffisance respiratoire aiguë, hémoptysie ou apparition d'une forme disséminée dans 20 à 30% des cas touchant le cerveau (10 à 18 %), le cœur, le foie, la peau (5%), les os et le tube digestif (3 Bodey 1989).

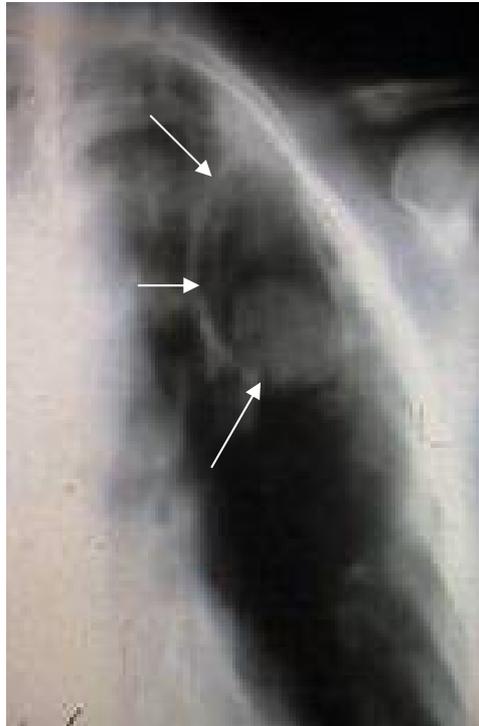
Les sinus constituent le deuxième foyer à partir duquel *Aspergillus fumigatus* peut envahir les tissus avoisinants. Il existe alors des douleurs locales avec obstruction nasale et rhinorrhée.

L'examen tomodensitométrique met en évidence une opacité sinusienne et orbitaire, des destructions osseuses. Cette pathologie doit être recherchée et traitée avant tout traitement chimiothérapique agressif.

- Aspergillomes et autres formes localisées

Le champignon peut se développer dans une cavité pulmonaire préformée : ancienne caverne tuberculeuse, abcès, cancer excavé, bulle d'emphysème, dilatation des bronches, kyste aérien, ce développement étant favorisé par l'absence des défenses macrophagiques (figure 5). Une réaction épithéliale ou fibreuse de la paroi apparaît progressivement. La toux et l'hémoptysie sont les symptômes les plus fréquents. L'hémoptysie est due à une hypervascularisation de la paroi des cavités et la sécrétion par le champignon d'une toxine fibrinolytique.

Figure 5 : Radiographie d'un aspergillome (flèches blanches) à localisation pulmonaire chez un homme (cliché : www.medecinotropical.free.fr/champignon.html).



Les cas faisant l'objet de l'étude de la 3^{ème} partie ne concernent que des carnivores domestiques atteints ou suspects d'aspergillose rhinosinusale.

D. DIAGNOSTIC DE L'ASPERGILLOSE RHINOSINUSALE DES CARNIVORES DOMESTIQUES

Le diagnostic d'une aspergillose rhinosinusale ne peut être fondé sur les seuls signes cliniques.

Malgré le caractère très évocateur de l'ulcération des ailes du nez et des caractéristiques du jetage, des examens complémentaires sont toujours nécessaires.

1. Diagnostic différentiel

Par ordre d'importance décroissant :

a) Tumeurs

Les processus tumoraux et l'aspergillose rhinosinusale ont les tableaux cliniques les plus proches. Les tumeur nasales représentent environ 1% des tumeurs chez le chien. Elles concernent essentiellement les cavités nasales et sont encore plus rares chez le chat. Les chiens atteints ont de 9 à 11 ans en moyenne (8 à 11 ans pour les chats). Les races dolichocéphaliques et mésocéphaliques de grande et moyenne tailles sont plus fréquemment atteintes que les races brachycéphaliques. Chez le chat, il y a peu d'informations sur les prédispositions raciales.

La majorité de ces tumeurs sont malignes (80 à 91% selon les études) (11 Collas 1996). Les 2/3 sont des épithélioma ou des adénocarcinomes, 1/3 est représenté par les fibrosarcomes, chondrosarcomes, ostéosarcomes, mastocytomes, lymphosarcomes (plus fréquents chez le chat que chez le chien). Les métastases sont tardives.

Les tumeurs bénignes sont essentiellement des adénomes.

Si les radiographies permettent de visualiser les lésions et d'éliminer l'éventualité de métastases pulmonaires, seul l'examen tomodensitométrique permet de connaître l'extension réelle de la tumeur. La rhinoscopie permet de visualiser directement la tumeur et également de réaliser une biopsie sous contrôle visuel. En effet l'histologie est l'examen de choix pour diagnostiquer une tumeur et en déterminer le type, permettant d'établir un pronostic.

b) Affections dentaires

L'incidence des rhinites chroniques liées à des affections dentaires est variable selon les auteurs. Elle semble plus grande chez le chien que chez le chat.

Les principales causes sont les maladies périodontales et endodontiques, moins fréquemment les migrations de racines ou de dents dans la cavité nasale. Une maladie périodontale non traitée aboutit à la formation de poches gingivales profondes qui atteignent la cavité nasale ou le sinus maxillaire, et sont à l'origine de fistules oronasales et secondairement d'une rhinite ou sinusite chronique. L'affection dentaire la plus fréquemment responsable de rhinite est

l'abcès de la prémolaire n°4 (carie ou fracture dentaire surinfectée) par extension au sinus maxillaire adjacent.

Le diagnostic repose sur un examen soigné de la cavité buccale, facilité si l'animal est anesthésié.

c) Corps étrangers

La plupart des corps étrangers sont d'origine végétale (épillets de graminée, épine, brindille...) et sont simplement inhalés par les narines pour aller se loger à l'intérieur de la cavité nasale. D'autres peuvent passer par des fistules palatines, ou bien par le nasopharynx comme c'est parfois le cas d'os ou de morceaux de bois.

L'arrivée d'un corps étranger est souvent soudaine et s'accompagne d'éternuements persistants, de mouvements de tête ; l'animal se frotte le museau avec les antérieurs. Le jetage est quasiment toujours unilatéral car un seul corps étranger va se loger dans une cavité nasale. Le corps étranger peut être expulsé naturellement, lors d'un éternuement, et laisser une inflammation modérée pendant 2 à 3 jours. En revanche, les éternuements et le jetage persistent quand le corps étranger est retenu. Une épistaxis peut apparaître du fait d'un traumatisme vasculaire ou par le fait d'éternuements paroxystiques. Avec la chronicité, le jetage d'abord mucopurulent devient franchement purulent suite à la surinfection bactérienne secondaire.

Le diagnostic repose sur la rhinoscopie qui permet la visualisation puis l'extraction de ce corps étranger.

d) Autres rhinites fongiques

Aspergillus fumigatus est le champignon le plus fréquemment responsable de rhinites fongiques chez les carnivores domestiques; mais on rencontre également :

- *Penicillium* sp. qui provoque les mêmes symptômes qu'*Aspergillus fumigatus* (11 Collas 1996 ; 20 Garcia 2001).
- *Rhinosporidium seeberi*, chez le chien, provoquant l'apparition de petits polypes rougeâtres (18 Evans 1979).

- *Prototheca wickerhamii* et *zopfii* (algues unicellulaires), isolés chez le chien et le chat, provoquent le développement de plaques indurées érythémateuses ou de nodules non douloureux dans des localisations variables dont une rhinosinusale (10 Chermette 1993).

- *Alternaria alternata* et *Pythium insidiosum*, isolés chez le chat, donnent les mêmes symptômes qu'*Aspergillus fumigatus* (11 Collas 1996).

- La levure *Cryptococcus neoformans*, chez le chat le plus souvent, provoque d'importantes destructions osseuses pouvant modifier le faciès (10 Chermette 1993 ; 11 Collas 1996).

La démarche diagnostique est la même que pour une rhinite due à *Aspergillus fumigatus*.

e) Traumatismes

Les traumatismes touchant les cavités nasales et sinusales sont dus, souvent, à des accidents de la voie publique, des coups de pied de gros animaux ou à la chute d'objets lourds. Le recueil des commémoratifs est très important.

Ils se traduisent cliniquement par de l'épistaxis, des déformations de la face (déplacement des os nasaux ou maxillaires), des difficultés respiratoires (présence de caillots de sang et d'un œdème dans les cavités nasales) et de l'emphysème sous-cutané. Une infection bactérienne secondaire peut venir compliquer le tableau clinique et une nécrose des cornets nasaux peut apparaître à long terme.

La radiographie reste le moyen diagnostique de choix pour distinguer fractures des os de la face et aspergillose.

f) Rhinites parasitaires

Les rhinites d'origine parasitaire sont très rares (8 Bussièras 1991).

Linguatula serrata, arthropode crustacé des voies respiratoires supérieures, est responsable d'une rhinite sévère s'accompagnant d'une toux, de violents éternuements et d'une épistaxis. L'état général de l'animal peut être sévèrement atteint. Le diagnostic se fait essentiellement par la recherche d'œufs dans le jetage nasal par une technique de flottaison.

Pneumonyssoides caninum, est un acarien responsable d'une rhinite modérée et transitoire. La visualisation des parasites peut se faire lors de rhinoscopie. Mais il s'agit le plus souvent d'une découverte d'autopsie.

L'épistaxis entre dans le tableau clinique de la leishmaniose, de l'ehrlichiose ou de l'infestation par les ankylostomes (*Ancylostoma caninum*).

g) Rhinites bactériennes

Les rhinites bactériennes sont quasiment toujours secondaires et sont dues à la contamination par des bactéries opportunistes d'un terrain fragilisé (par une aspergillose par exemple): streptocoques, staphylocoques, ou des bactéries Gram négatif comme *Pseudomonas* et *Escherichia coli* ont pu être isolées.

Néanmoins *Bordetella bronchiseptica* et *Pasteurella multocida* sont primitivement pathogènes. Le jetage est typiquement purulent.

h) Rhinites virales

Les rhinites virales sont rares chez le chien. Elles ont un caractère aigu et transitoire mais prédisposent les cavités nasales à des surinfections fongiques ou bactériennes. Les virus responsables sont des Adenovirus, des Herpès virus, des Reovirus, des Parainfluenza virus ainsi que le Paramyxovirus responsable de la maladie de Carré. L'appareil respiratoire profond est aussi généralement atteint.

Chez le chat, des rhinites non traitées ou mal traitées en phase aiguë peuvent évoluer chroniquement. Elles font suite au « coryza » dû au virus de la rhinotrachéite féline (VRF) et/ou du calicivirus félin. 80% des chats atteints par le VRF sont des porteurs chroniques. Le VRF provoque une nécrose de la muqueuse pituitaire et une ostéolyse des cornets nasaux. Les tissus nécrotiques s'accumulent dans la cavité nasale, se surinfectent rapidement et donnent lieu à un jetage chronique purulent, à des ronflements accompagnés ou non de dyspnée.

i) Rhinites allergiques

Les rhinites allergiques demeurent rares chez les carnivores. Elles se manifestent la plupart du temps chez des chiens atopiques, présentant une dermatose prurigineuse, une conjonctivite ou une otite. Le jetage a un caractère aigu et un aspect séreux.

j) Rhinite destructive idiopathique

La rhinite destructive idiopathique est responsable de signes cliniques et radiologiques proches de ceux observés lors d'aspergillose mais chez des animaux pour lesquels la sérologie et la mise en culture des prélèvements se révèlent négatives. L'examen rhinoscopique ne révèle pas la présence de plaques fongiques.

k) Rhinites déclenchées à la suite de régurgitations ou de vomissements

Lors de régurgitations ou de vomissements, le passage d'aliments dans les cavités nasales peut provoquer une inflammation locale et déclencher un jetage. La rhinite a un caractère aigu.

Le tableau 3 récapitule les examens complémentaires utiles pour le diagnostic différentiel de l'aspergillose rhinosinusale des carnivores.

Tableau 3 : Diagnostic différentiel de quelques rhinosinusites chroniques des carnivores et examens complémentaires à mettre en œuvre pour leur diagnostic.

Diagnostic différentiel de l'aspergillose	Examens complémentaires conseillés
Tumeurs	Radiographie, rhinoscopie-histologie, examen tomodensitométrie
Affections dentaires	Examen clinique sous anesthésie générale, radiographie
Corps étrangers	Rhinoscopie, scanner
Rhinites fongiques	Sérologie, radiographie, rhinoscopie-histologie-cytologie-culture, examen tomodensitométrie
Traumatismes	Radiographie, examen tomodensitométrie
Leishmaniose	Sérologie
Ehrlichiose (<i>Ehrlichia canis</i>)	Sérologie
Rhinite idiopathique	Rhinoscopie-histologie

L'examen clinique ne suffit donc pas à poser un diagnostic. La succession des examens complémentaires dans le temps ne se fait pas sans un ordre réfléchi, leur caractère invasif, leur coût doivent être pris en compte.

2. Rappels anatomiques

Les cavité nasales s'étendent des narines au nasopharynx. Une lame osseuse les protège : elle est formée de l'os nasal en région dorsale, du palais dur en région ventrale et des os maxillaires latéralement.

Elle est divisée en deux portions symétriques séparées dans le plan sagittal par une fine cloison verticale osseuse en région caudale et cartilagineuse en région rostrale : le septum nasal (27 Harvey 1979), qui repose ventralement sur le vomer (figure 6).

L'intérieur de chaque cavité est occupé par un fin réseau de lamelles osseuses enroulées sur elles-mêmes : les cornets nasaux. Les cornets délimitent des espaces libres où circule l'air : les méats.

Les cornets nasaux sont répartis en trois masses distinctes : cornets ventraux, moyens et dorsaux. Les cornets ventraux ou maxilloturbinaux s'attachent sur la face médiane de l'os maxillaire, s'étendent de la 1^{ère} à la 3^{ème} prémolaire et occupent la partie antérieure des cavités nasales. Les cornets moyens ou ethmoturbinaux s'attachent à l'os ethmoïdal.

Ils sont divisés en cornets ectoturbinaux et endoturbinaux. Les endoturbinaux et la portion caudale des ectoturbinaux occupent la région postérieure des cavités nasales (figure 8).

Les cornets nasaux servent à augmenter la surface de contact air/muqueuse et jouent un rôle important dans la filtration, l'humidification et le réchauffement de l'air. Les cornets ventraux et dorsaux sont recouverts d'un épithélium glandulaire cilié richement vascularisé et innervé, formant la zone respiratoire.

Les cavités nasales du chien et du chat présentent quelques différences : chez le chat les zones d'insertion des cornets maxillaires et ethmoïdaux sont plus distantes l'une de l'autre, les volutes de l'ethmoïde sont plus développées, l'orbite occupe une plus grande place dans le squelette du crâne.

Le chien possède des sinus maxillaires et frontaux considérés comme des diverticules des cavités nasales. Sinusites et rhinites sont intimement liées. Les sinus frontaux sont de taille très variable selon l'âge et la race de l'animal. Ils sont divisés chez le chien en trois compartiments : rostral, médial et latéral, chacun s'ouvrant par un étroit ostium dans la région de l'ethmoïde (figure 9). Dans les races dolichocéphales, le compartiment latéral est large, il est beaucoup réduit chez les brachycéphales. Dans certaines races à brachycéphalie très prononcée, le sinus frontal peut être absent. Le sinus maxillaire est plutôt considéré comme un récessus que comme un véritable sinus.

Le chat a des sinus frontaux et sphénoïdes mais pas de sinus maxillaire (figure 7). Ses sinus frontaux ne sont pas compartimentés et s'ouvrent dans les cavités nasales par un étroit pertuis. Ils sont situés entre les orbites et séparés l'un de l'autre par une fine cloison osseuse. Leur taille varie avec l'âge : chez le chaton ils sont très réduits et leur trépanation expose à des risques de lésions du cerveau. L'épithélium qui les tapisse est plus fin que chez le chien . Chez les chats très brachycéphales (Persan), le sinus frontal est pratiquement absent.

Figure 6 : Anatomie simplifiée des cavités nasosinusales chez le chien (11 Collas 1996).

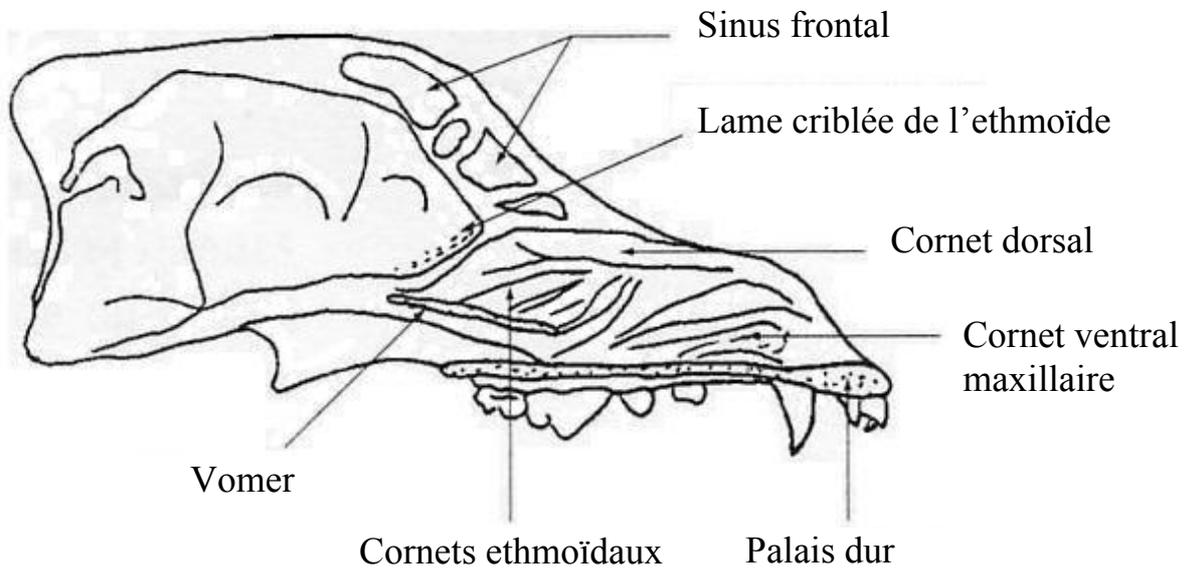


Figure 7 : Anatomie des cavités nasales et des sinus du chat (31 Hennet 1993).

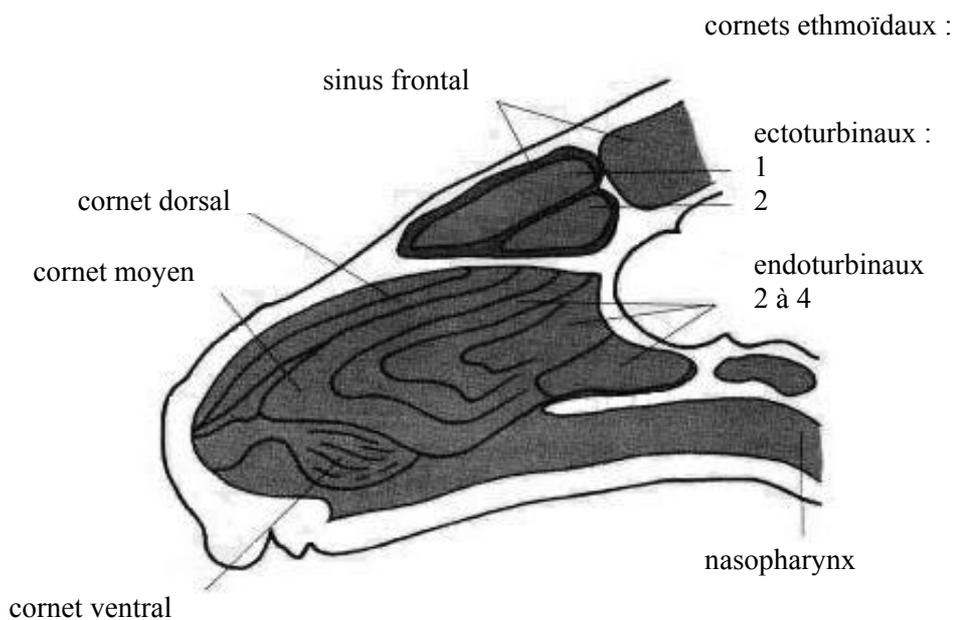


Figure 8 : Anatomie des cavités nasales et des sinus du chien (31 Hennet 1993).

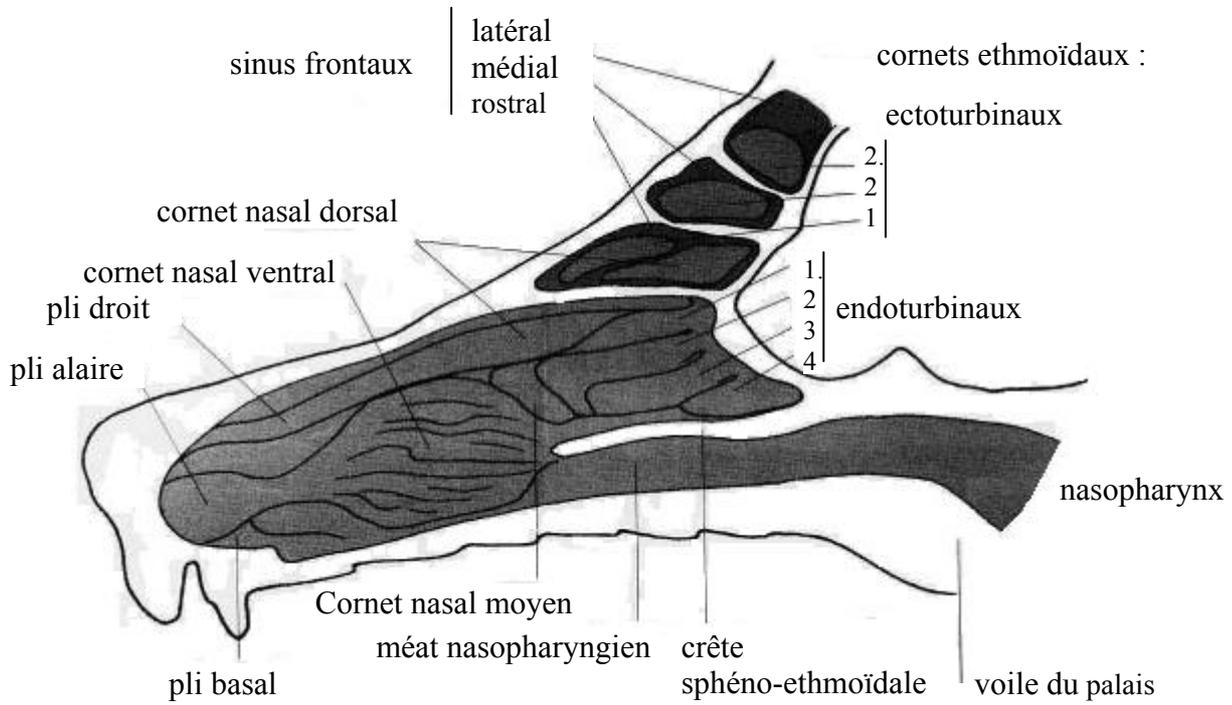
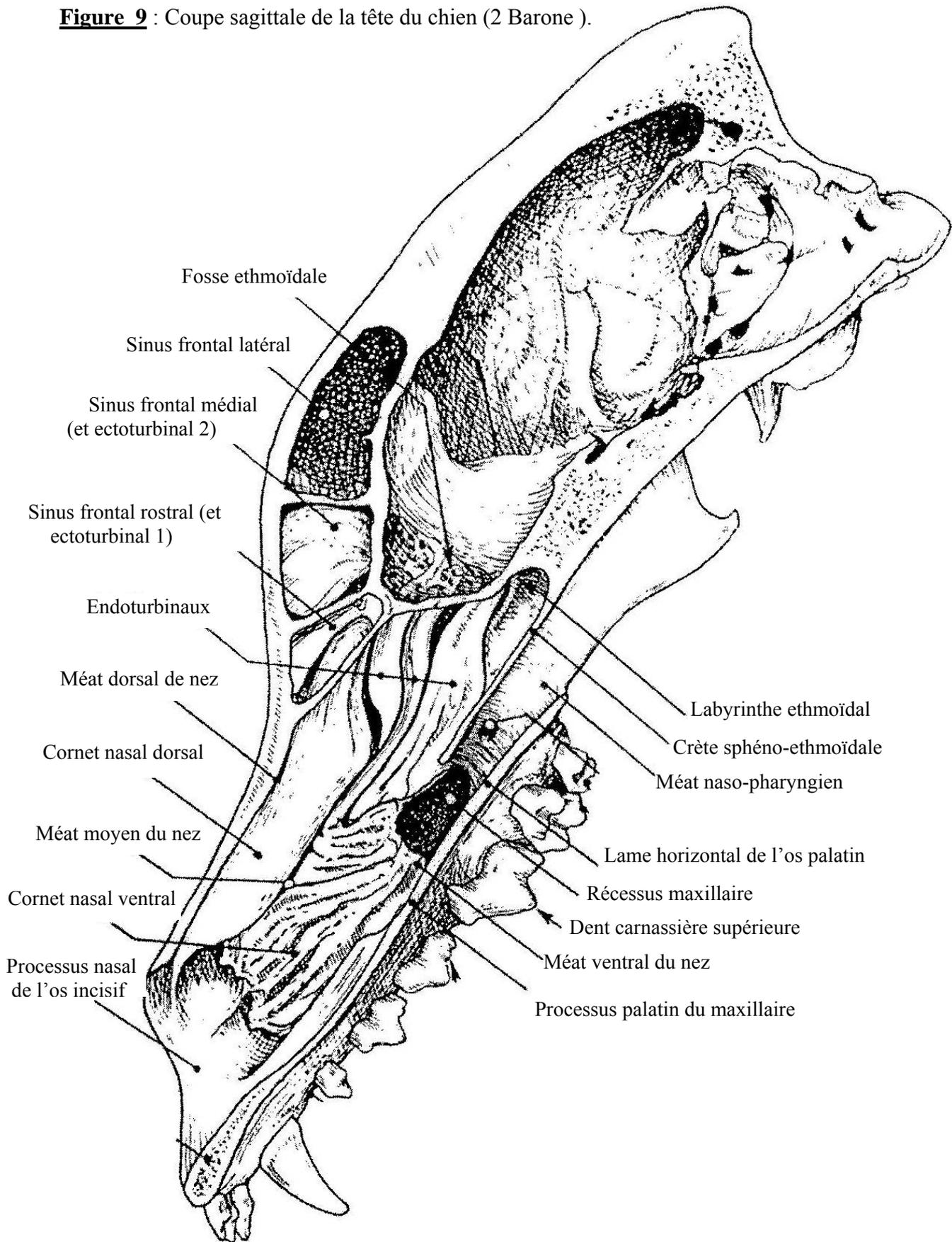


Figure 9 : Coupe sagittale de la tête du chien (2 Barone).



3. Examen radiographique

La prise des clichés radiographiques doit être réalisée avant tout autre examen qui pourrait en compromettre l'interprétation (la rhinoscopie ou les écouvillonnages provoquent des saignements).

Pour être utiles, ces clichés doivent être faits sous anesthésie générale, l'animal étant parfaitement positionné. Ils doivent être d'excellente qualité : écrans et films à haute définition (type mammographie par exemple), le kilovoltage sera bas mais suffisant pour une bonne pénétration, le temps de pose sera élevé : le cliché doit être très contrasté.

Les incidences les plus performantes sont la projection ventrodorsale bouche ouverte (ou dorsoventrale avec film intraoral) pour obtenir l'ensemble des cavités nasales et la projection rostrocaudale pour les sinus frontaux (figures 10,11,12).

On peut réaliser une projection latérale mais les cavités nasales droite et gauche se superposent. Des incidences obliques sont utiles pour une bonne visualisation des racines des dents.

Lors d'aspergillose rhinosinusale, les signes les plus fréquents sont une augmentation de radiotransparence due à une destruction des cornets nasaux et ethmoïdaux associée à une augmentation de radio-opacité due à une accumulation de fluides (figures 10,11,12), à des aspergillomes (boules fongiques), principalement dans les parties caudales des cavités nasales.

Figure 10 : Radiographies de cavités nasales de chien.

A gauche : cavités nasales d'un chien sain, film en position extra-buccale et incidence ventro-dorsale (cliché : unité de radiologie ENVVA).

A droite : cavités nasales d'un chien atteint d'aspergillose rhinosinusale, film en position extra-buccale et incidence ventro-dorsale. Destruction des cornets nasaux formant une plage radiotransparente (flèche noire) du côté gauche de l'animal (cliché : animalsurgeons.com/ec06.html).

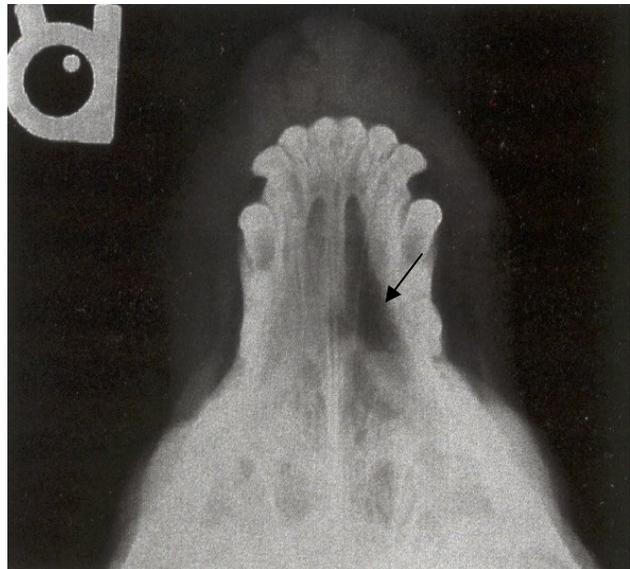
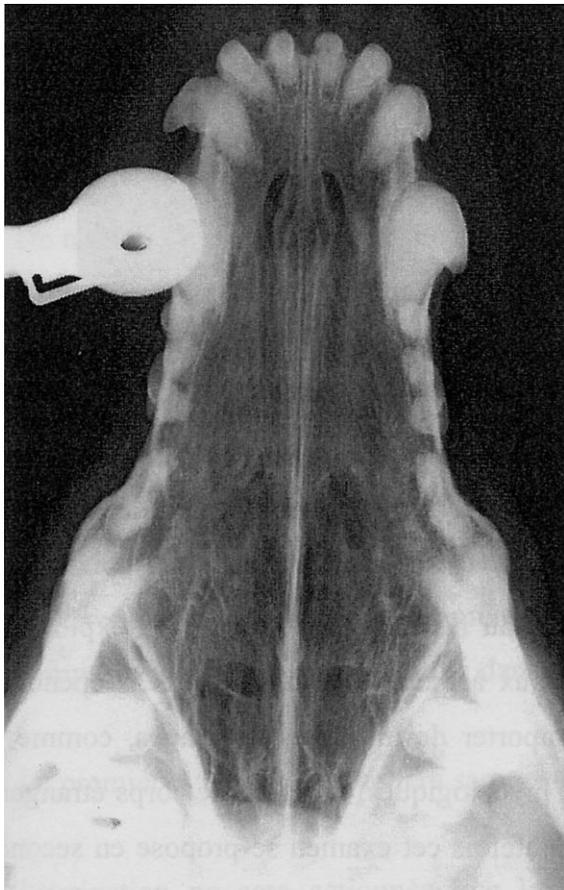


Figure 11 : Radiographie de cavités nasales d'un chat atteint d'aspergillose rhinosinusale. Film en position extra-buccale et incidence ventrodorsale. Destruction de cornets nasaux formant une plage radiotransparente (flèche noire) du côté droit de l'animal (cliché : 22 Goodall 1984).

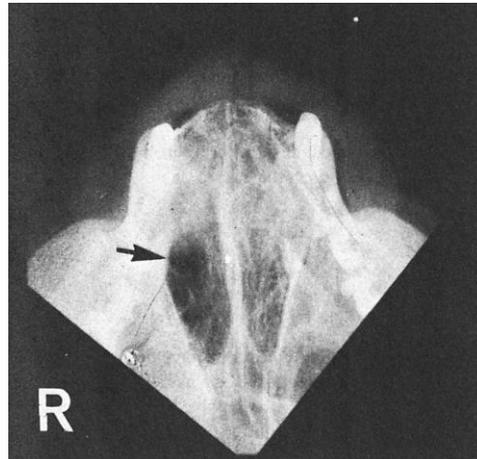
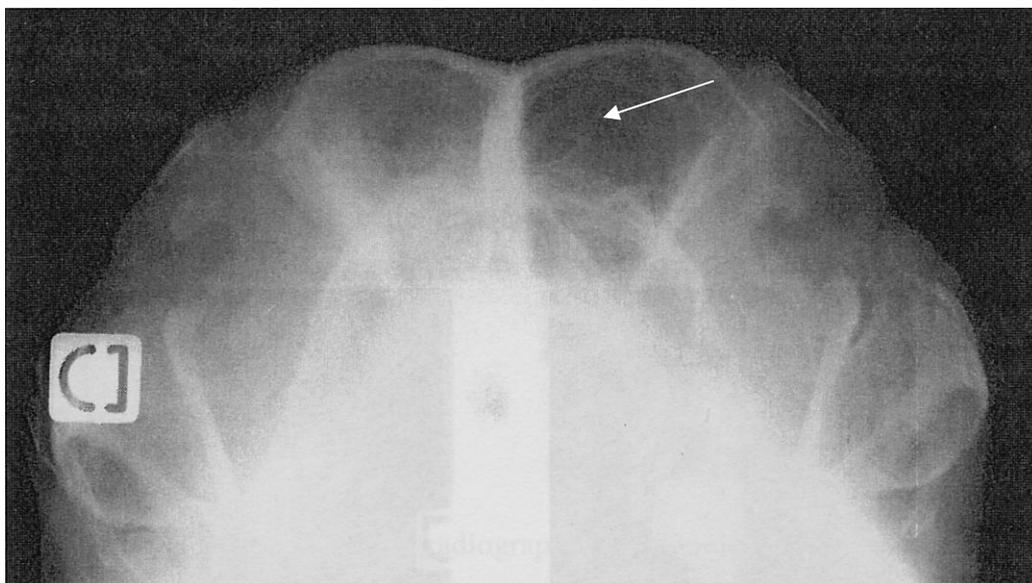


Figure 12 : Vue rostro-caudale de sinus d'un chien atteint d'aspergillose rhinosinusale, la radiotransparence du sinus gauche (flèche blanche) est le signe de l'ostéolyse provoquée par l'affection fongique (cliché : unité de radiologie ENVA).



Le diagnostic différentiel entre processus tumoraux et aspergillose reste toutefois difficile. D'autres examens complémentaires sont donc nécessaires.

4. Examen rhinoscopique

La rhinoscopie est une technique introduite récemment en médecine vétérinaire. Elle a été utilisée initialement chez le cheval (Cook en 1974) puis chez les carnivores domestiques (Norris en 1985).

La rhinoscopie peut être réalisée par deux abords différents : abord rostral par les narines et abord caudal ou buccal, en réclinant le voile du palais.

L'animal est anesthésié avec des barbituriques ou tout autre anesthésique permettant de supprimer le réflexe d'éternuement et le réflexe laryngé et d'assurer une anesthésie profonde.

Des compresses placées autour du larynx complètent ce dispositif, elles permettent de recueillir le sang lors d'hémorragies ou le matériel lors de rinçage. L'animal est intubé.

Cet examen permet la visualisation des cornets et volutes, des méats, de la cloison nasale et du nasopharynx grâce à un endoscope de petit diamètre, et la réalisation de biopsie ou le retrait de corps étrangers.

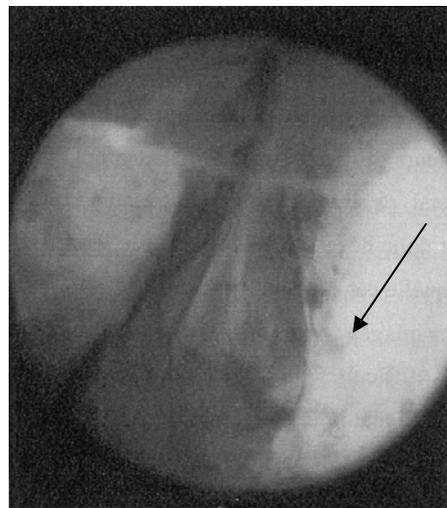
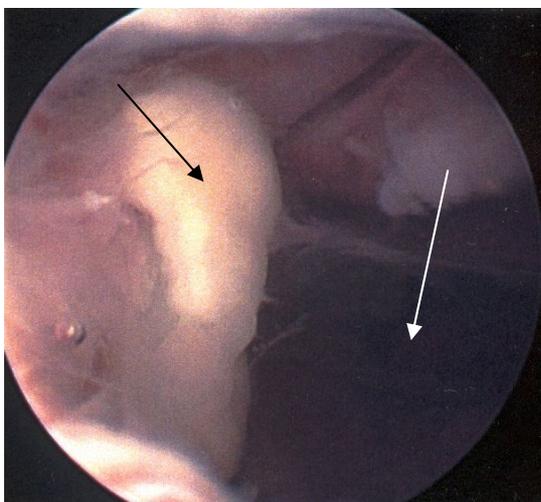
Sur 52 cas de rhinoscopie, les résultats montrent une forte proportion de tumeurs des cavités nasales (36,5%). Viennent ensuite les rhinites (25,1%), les corps étrangers (11,5%), les fistules oronasales sans retentissement endobuccal (5,9%), les synéchies (3,8%), les imperforations choanales (3,8%), l'aspergillose (1,9%) et une nécrose des cornets nasaux (1,9%) (9 Chanoit 1999).

Lors d'aspergillose, les placards fongiques d'aspect jaunâtre-grisâtre, duveteux sont parfois visibles (figure 14). Dans les cas extrêmes, la destruction des cornets nasaux ainsi que du septum transforme la cavité nasale en une unique cavité sans muqueuse remplie d'un exsudat mucopurulent abondant.

Figure 13 : Aspect d'une cavité nasale normale à l'examen rhinoscopique (cliché : service de chirurgie ENVA). Les cavités nasales apparaissent de couleur rosée en partie rostrale et de couleur plus grisâtre en partie ethmoïdale du fait des épithéliums qui les tapissent. Les vaisseaux sanguins apparaissent fins et sinueux.



Figure 14 : Aspect d'une cavité nasale lors d'aspergillose à l'examen rhinoscopique (cliché : site www.animalsurgeons.com/ec06.html à gauche et service chirurgie ENVA à droite). La destruction des cornets nasaux est un signe évocateur d'aspergillose (flèche blanche) ainsi que l'aspect duveteux et surélevé des plaques aspergillaires qui apparaissent de couleur variable (de blanchâtre à verdâtre) (flèches noires).



Les sinus ne sont toutefois pas visualisables par endoscopie ce qui justifie l'emploi de l'examen tomodensitométrique.

5. Examen tomodensitométrique

D'utilisation plus récente en médecine vétérinaire, le scanner constitue certainement l'examen de choix pour le diagnostic de l'aspergillose rhinosinusale (75 Trumel 2001). En réalisant des images en coupes fines, il permet d'observer le contenu de toutes les structures entourées par de l'os. Cet examen permet donc de visualiser les lésions internes mais également d'apprécier leur extension, notamment de vérifier l'intégrité de la lame criblée, barrière protectrice de l'encéphale.

L'examen se fait sur un animal anesthésié.

Les coupes sont faites tous les 6 à 10 mm, de la truffe jusqu'en arrière des sinus frontaux. Les images obtenues sont observées sous 3 fenêtres différentes : une fenêtre osseuse qui permet d'apprécier les structures osseuses, une fenêtre aérienne qui fait apparaître les voies aériennes entre les cornets nasaux et une fenêtre parenchymateuse qui donne une image détaillée des tissus mous. L'utilisation d'un produit de contraste iodé peut être gênante pour l'interprétation des images. Les lésions intranasales présentent en effet des composantes inflammatoires et/ou hémorragiques importantes au niveau desquelles le produit de contraste se fixe et apparaîtra sous forme de vastes zones hyperdenses. L'injection d'un produit de contraste ne doit donc pas être systématique lors d'un examen tomodensitométrique des cavités nasales.

L'examen des images comporte :

- l'examen des structures osseuses limitant les cavités nasosinusales (os palatins, nasaux, maxillaires, frontaux, vomer, ethmoïde, sphénoïde) ;
- l'examen des cornets nasaux qui doivent présenter une architecture symétrique
- la recherche d'une densité anormale (tissulaire et/ou liquidienne) dans les cavités nasales, les sinus frontaux, les sinus maxillaires, les récessus sphénoïdaux, mais aussi dans les régions orbitaires et au niveau du pharynx.

Lors d'aspergillose rhinosinusale, on peut observer (figure 15):

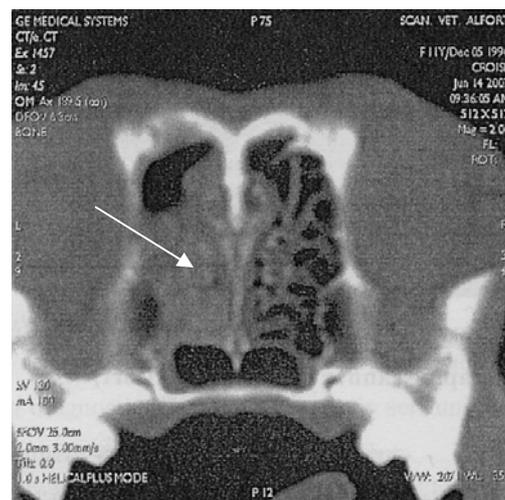
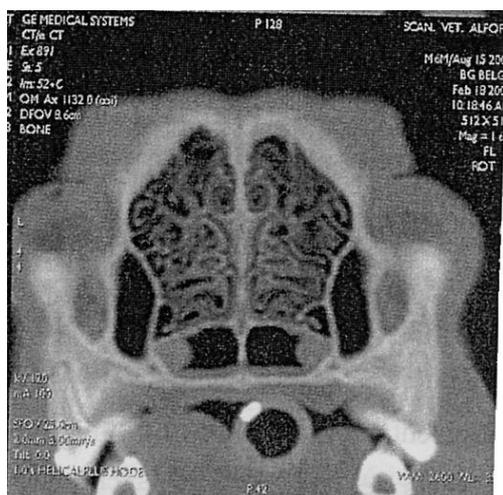
- des lésions uni ou bilatérales selon la durée d'évolution ;
- des lésions localisées principalement aux portions rostrales et moyennes des cavités nasales avec extension possible aux sinus frontaux ;
- des lésions à dominante ostéolytique (cornets et plus rarement partie latérale de l'os maxillaire, des os nasaux, palatins et frontaux) ;
- des zones d'augmentation de densité irrégulièrement disséminées dans les cavités atteintes : elles correspondent à des accumulations de débris tissulaires nécrotiques, de pus, de sang, d'exsudats séreux ;
- une densification partielle, souvent à niveau horizontal, ou totale des sinus frontaux.

Figure 15: Coupes de cavités nasales obtenues par un examen tomodensitométrique

A gauche : coupe de cavités nasales chez un chien sain (cliché : centre de radiothérapie-scanner de Maisons-Alfort).

A droite : coupe de cavités nasales chez un chien atteint d'aspergillose rhinosinusale.

L'image de rhinite agressive montre une densification disséminée sur des cornets nasaux ostéolytiques de la cavité nasale gauche, avec une accumulation de sérosité de ce même côté (flèche blanche). La cavité nasale droite semble intacte (cliché : centre de radiothérapie-scanner de Maisons-Alfort).



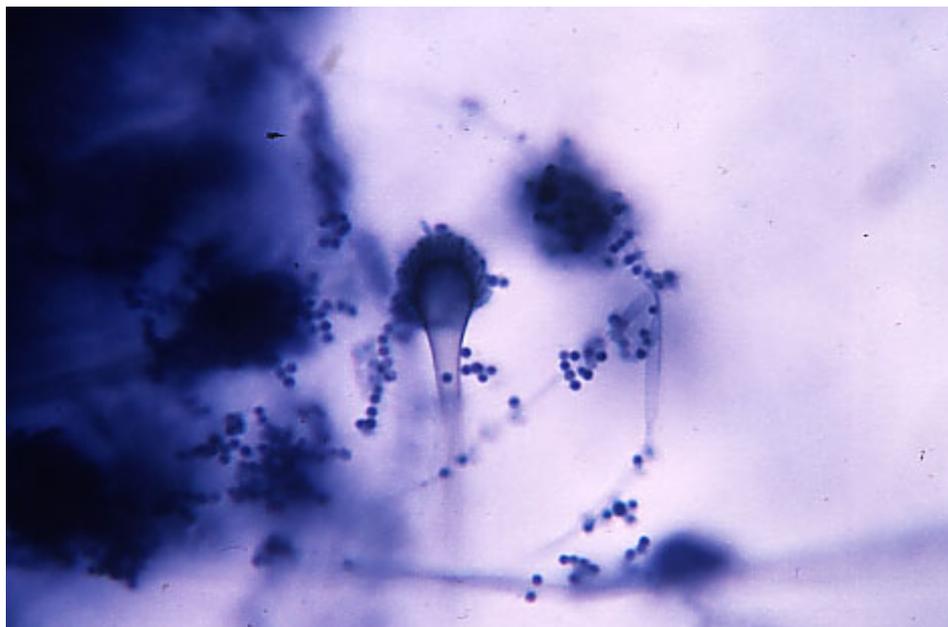
6. Examen mycologique

Une observation directe au microscope peut être réalisée à partir du jetage nasal et peut conduire à la visualisation de filaments mycéliens, associés parfois à des têtes aspergillaires (75 Trumel 2001).

La mise en culture d'un prélèvement (écouvillon nasal réalisé sous anesthésie général, prélèvement histologique pratiqué lors d'une rhinoscopie, jetage (figure 16) obtenu lors d'un rinçage des cavités nasales avant traitement local) peut être utile. Cependant *Aspergillus fumigatus* ou *Penicillium* sp. peuvent être cultivés à partir d'un écouvillonnage des cavités nasales chez 30 à 40% des chiens sains ou atteints de tumeurs des cavités nasales (29 Harvey 1983).

Une culture positive est donc insuffisante pour établir seule le diagnostic d'aspergillose rhinosinusale.

Figure 16 : Examen direct du jetage d'un chien atteint d'aspergillose rhinosinusale. Des filaments mycéliens ainsi qu'une tête aspergillaire sont mis en évidence (grossissement = 400). (Cliché : Service de Parasitologie-Mycologie ENVA)



7. Tests sérologiques

Les tests sérologiques sont détaillés dans la 2^{ème} partie.

Le diagnostic définitif de l'aspergillose repose sur le cumul d'au moins deux examens complémentaires positifs compatibles avec cette affection (trois préférentiellement) (76 Watt 1994).

E. TRAITEMENT

1. Traitements systémiques

Pendant longtemps, le traitement de l'aspergillose des cavités nasales chez le chien a été effectué par voie systémique.

Les dérivés azolés (62 Sharp 1993) sont les plus souvent utilisés.

Le kétoconazole (5mg/kg 2 fois par jour pendant environ 6 semaines) et le thiabendazole (10 à 20mg/kg 2 fois par jour pendant environ 6 semaines) ont donné des résultats satisfaisants dans 50% des cas traités (28 Harvey 1992, 30 Hennes 1993, 65 Sharp 1986). Leur possible toxicité hépatique doit cependant conduire à un suivi rigoureux des animaux traités, notamment les chats qui semblent plus sensibles que les chiens (24 Guillot 1997).

Le fluconazole (5mg/kg) et l'itraconazole (5-10mg/kg), dérivés imidazolés fluorés, ont donné des taux de réussite de l'ordre de 70% (63 Sharp 1991, 66 Sharp 1992).

L'unique présentation contenant de l'itraconazole (Sporanox®) est actuellement réservée à l'usage humain en France. Une spécialité vétérinaire (Itrafungol®) sera disponible fin 2004.

L'amphotéricine B utilisée dans le traitement de l'aspergillose invasive chez l'homme est également utilisable en médecine vétérinaire à la posologie de 0,5mg/kg par injection intraveineuse lente tous les 2 jours jusqu'à atteindre la dose cumulative de 4 à 8 mg/kg du fait de la néphrotoxicité connue de la molécule (à éviter chez le chat).

De récents articles rapporte l'efficacité du traitement par voriconazole en médecine humaine (14 Donnelly 2004) ainsi que de la terbinafine.

2. Traitements locaux

Les traitements locaux ont été longtemps réalisés après mise en place chirurgicale de drains naso-sinusiens (66 Sharp 1992). Des solutions antifongiques sont instillées deux fois par jour pendant 10 jours ; les dérivés iodés (polyvidone iodée) et l'énilconazole ont abouti à des améliorations et à des guérisons. La lourdeur de l'intervention conduit maintenant à préférer une technique de balnéation des cavités nasales par voie naturelle et sans trépanation (75 Trumel 2001).

Cette technique, si elle nécessite aussi une anesthésie générale de l'animal, reste la moins invasive. Il est cependant important de prendre la précaution d'obstruer les choanes et donc occlure complètement le nasopharynx pour séparer hermétiquement la cavité nasosinusale de l'oropharynx et d'éviter ainsi le passage de la solution antifongique dans les voies respiratoires plus profondes ainsi que dans l'œsophage. Pour ce faire, une sonde de Foley est introduite par la bouche puis recourbée dorsalement au palais mou comme décrit par Mathews *et al.* (47 Mathews 1996). Le ballon de la sonde est ensuite gonflé à la jonction du palais dur et du palais mou. Une sécurité supplémentaire est obtenue en plaçant des compresses caudalement au ballon gonflé (75 Trumel 2001).

Deux variantes sont décrites et utilisées avec sensiblement le même taux de réussite : le lavage actif et les bains des cavités nasales.

- Le lavage actif

Il s'agit de placer l'animal en décubitus dorsal dans une inclinaison mettant la truffe de l'animal en position la plus élevée possible.

Ensuite, une tubulure est glissée le long du méat ventral jusqu'à ce qu'elle bloque. Avant l'instillation de la solution antifongique, les cavités nasales sont nettoyées avec une solution de chlorure de sodium (0,9%) pour permettre l'expulsion de toutes les sérosités et amas mucoïdes présents. La solution antifongique (énilconazole 10%, à la posologie de 10 à 15 mg/kg diluée dans 500mL de Ringer Lactate, ou clotrimazole à la posologie de 500 mg à 1g par animal dilué dans du chlorure de sodium 0.9% (75 Trumel 2001)) est alors instillée avec une certaine pression pour permettre un bon remplissage des compartiments les plus éloignés. Un flux se crée alors entre la tubulure et la truffe. Les sérosités obtenues par cette technique sont souvent abondantes malgré le nettoyage préalable. Chaque cavité nasale est ainsi lavée pendant 30 minutes.

Il est important de réaliser ce lavage dans les deux cavités naso-sinuses (même dans le cas d'une affection unilatérale) en commençant par celle semblant saine. D'autre part, le chirurgien apportera une attention particulière à l'extubation de l'animal qui devra se faire ballonnet gonflé pour limiter encore le risque de fausse route.

- Les bains

L'animal est préparé comme précédemment, à la différence qu'il est maintenu en décubitus dorsal à l'horizontal pour commencer. Une tubulure est elle aussi enfoncée le plus profondément possible dans chaque cavité nasale, puis la même solution diluée d'antifongique est instillée jusqu'au reflux par la truffe. Dès lors l'instillation est interrompue et l'animal est laissé dans cette position pendant 20 minutes. Il est alors tourné en décubitus latéral, un nouveau remplissage des deux cavités nasales est réalisé et l'animal est laissé dans cette nouvelle position pendant 20 minutes supplémentaires. L'opération est répétée pour le décubitus ventral et le second décubitus latéral.

Une étude montre qu'à la posologie de 1 g de clotrimazole par bain, la disparition des signes cliniques est obtenue chez 86% des chiens (47 Mathews 1996 ; 48 Mathews 1998).

Le taux de récurrence pour ces deux techniques est sensiblement identique et il est indiqué de répéter ce traitement 4 à 6 semaines après le premier traitement, puis de continuer dès l'apparition des nouveaux symptômes pouvant évoquer une rechute de l'aspergillose rhino-sinusale.

III. ASPERGILLOSE ET SEROLOGIE

Le diagnostic définitif de l'aspergillose rhinosinusale des carnivores domestiques repose sur le cumul d'au moins deux examens complémentaires compatibles avec cette affection. La sérologie est un moyen peu invasif et accessible à tous les praticiens ; ces deux avantages font qu'elle reste un examen de choix dans l'arsenal diagnostique.

Plusieurs méthodes sont employées pour détecter directement ou indirectement la présence du champignon dans le corps de l'individu suspect : soit la recherche indirecte par la mise en évidence d'anticorps sériques anti-*Aspergillus*, soit la recherche directe par la mise en évidence d'antigènes aspergillaires.

A. SEROLOGIE ET MEDECINE HUMAINE

1. Méthodes de détection d'anticorps anti-*Aspergillus*

Ces recherches d'anticorps ne sont utiles que lors d'affections aspergillaires chez des patients immunocompétents.

a) Electrosynérèse ou immunoprécipitation

Cette méthode consiste à faire migrer en sens opposé les antigènes et les anticorps dans un champ électrique. La rencontre des antigènes et des anticorps se visualise par un ou plusieurs arcs de précipitation après coloration du support électrophorétique.

Sur une bande d'acétate de cellulose sont déposés :

-du côté cathodique, les antigènes *d'Aspergillus fumigatus* en une ligne continue dans la largeur de la bande.

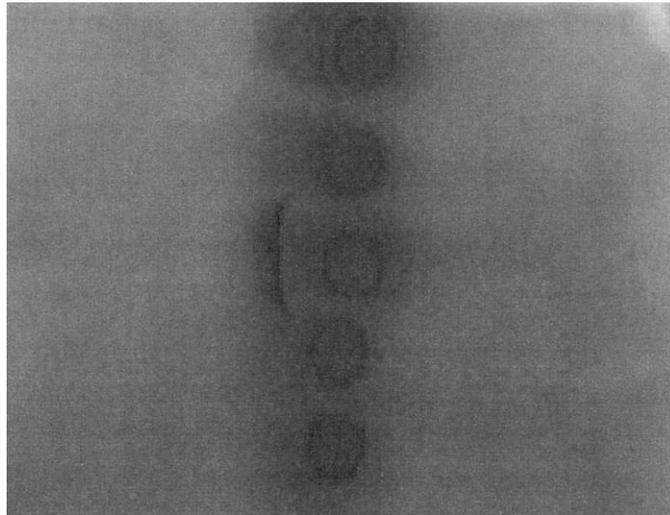
-du côté anodique, le sérum contrôle en une tache au milieu de la bande et, de part et d'autre, les sérums des patients. Ces sérums sont déposés à 2cm de l'antigène.

Au pH du tampon de migration (pH=9), les anticorps de type Ig G éventuellement présents dans les sérums se chargent positivement et migrent donc de l'anode vers la cathode. Après 2 heures de migration à 110 volts, les arcs formés se sont stabilisés. Les bandes sont alors colorées au bleu de Coomassie.

La présence d'anticorps anti-*Aspergillus fumigatus* dans le sérum à tester se manifeste par un arc en continuité avec l'arc obtenu avec le sérum contrôle (figure 17). L'activité chymotrypsique peut alors être recherchée par réaction de diazotation directement sur la bande d'acétate de cellulose par addition de N acétyl DL phénylalanine B naphtylester et de O.dianisidine tétrazotée en présence de diméthylformamide en tampon Tris-HCl 0,05 M pH=7,4. L'arc porteur de l'activité chymotrypsique est coloré en rouge. La mise en évidence d'une activité chymotrypsique permet de poser le diagnostic d'espèce puisque seul *A. fumigatus* la possède.

Les autres espèces d'*Aspergillus* donnent des réactions croisées de groupe avec certains épitopes des antigènes d'*A. fumigatus* déposé. Elles se manifestent par des arcs plus discrets et à une distance de migration différente de celle des arcs d'*A. fumigatus*.

Figure 17 : Mise en évidence d'arcs de précipitation lors d'une électrosynérèse positive (cliché : laboratoire de Parasitologie-Mycologie d'Alfort).



b) Hémagglutination

La présence d'anticorps anti-*Aspergillus* dans le sérum du patient provoque l'agglutination d'hématies de mouton sensibilisées par un antigène aspergillaire.

Dans une plaque à 96 puits à fond en U sont dispensés 50µL (kit Fumouze) :

- des sérums des patients dilués au 1/100, 1/200, 1/400, 1/800.
- du témoin positif dilué au 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200 (de manière à ce que deux dilutions encadrent son titre).
- du témoin négatif dilué au 1/100.

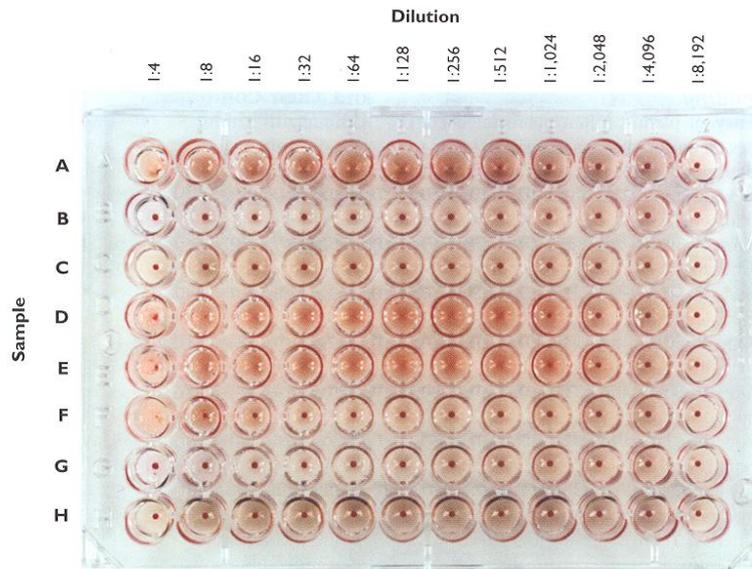
Puis, 16,6µL d'hématies sensibilisées sont ajoutés à ces dilutions. Après agitation douce quelques secondes, la plaque est placée 2 heures minimum en chambre humide.

En plus des témoins positif et négatif traités dans les mêmes conditions que les sérums des patients, d'autres contrôles sont effectués :

- le témoin « hématies » qui vérifie l'absence d'hémagglutination spontanée : à 50µL de tampon sont ajoutés les 16,6µL d'hématies sensibilisées.
- les témoins sérums qui vérifient que les sérums ne contiennent pas de facteurs agglutinants non spécifiques qui agglutineraient alors les hématies non sensibilisées : aux dilutions au 1/50 des sérums des patients et des témoins positif et négatif sont ajoutés 16,6µL d'hématies non sensibilisées.

La présence d'anticorps anti-*Aspergillus fumigatus* se manifeste par un voile d'hématies tapissant le puits. En l'absence de ces anticorps, les hématies sédimentent en un bouton au fond du puits (figure 18). Le seuil de positivité est de 1/400.

Figure 18 : Illustration de la lecture et de l'interprétation lors d'hémagglutination (clicé : www.cvm.umn.edu/.../CVM6201/Njenga_VII.htm).



c) Immunofluorescence indirecte

Le sérum du patient est déposé sur des lames sur lesquelles ont été fixées des coupes de rein de souris infectées par *Aspergillus fumigatus*. Ces lames sont fabriquées au laboratoire. Dans un deuxième temps, est ajoutée une antiglobuline marquée à la fluorescéine qui permet de visualiser les complexes antigènes-anticorps au microscope à fluorescence. L'addition de bleu Evans permet de diminuer la fluorescence non spécifique.

Deux dilutions, 1/200 et 1/400, des sérums des patients et du sérum contrôle positif sont réparties à raison de 50µL par trou sur la lame où ont été fixées les coupes de rein de souris infectées par *Aspergillus fumigatus*.

Après une incubation de 30 minutes à 37°C en atmosphère humide, les lames sont lavées deux fois 5 minutes en tampon PBS. Puis 50µL de conjugué sont dispensés dans chaque trou. Le conjugué est préparé extemporanément par addition de 10µL de fluoline et de 100µL de bleu Evans 0,1% à 1mL de PBS.

Après une nouvelle incubation de 30 minutes à 37°C en atmosphère humide, les lames sont encore lavées deux fois 5 minutes en tampon PBS, rincées à l'eau distillée ; quelques gouttes de glycérine permettent l'adhérence d'une lamelle.

Les lames sont observées au microscope à fluorescence : avec les sérums positifs, des filaments fluorescents sont visualisés sur les lames histologiques. Le seuil de positivité est la dilution 1/400.

d) Fixation du complément

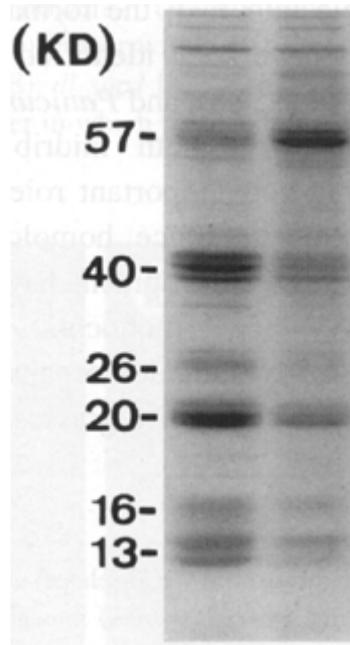
Ce procédé est aujourd'hui rarement utilisé en routine bien qu'il ait été utilisé pour la première fois il y a 50 ans.

Le complément est un ensemble d'une vingtaine de protéines plasmatiques dont les propriétés principales sont d'être activées par des clivages enzymatiques en cascades. La réaction de fixation du complément est une méthode de mise en évidence d'un anticorps par addition au sérum étudié, préalablement « décomplémenté » par la chaleur, de l'antigène correspondant et de complément (habituellement complément de cobaye). Ce dernier se fixe sur le complexe antigène-anticorps et cette fixation est détectée par la perte de son pouvoir hémolytique sur les hématies de mouton préalablement sensibilisées par des anticorps antiglobules rouges de mouton.

e) Immuno-empreinte ou Western blot

Dans un premier temps, les protéines d'*Aspergillus fumigatus* sont séparées par électrophorèse en gel d'agarose. Ces protéines sont transférées par contact sur une feuille de nitrocellulose qui est découpée en bandelettes. Les sérums à tester sont déposés sur les bandelettes (figure 19) ; la révélation de la fixation des anticorps se fait par une technique enzymatique.

Figure 19 : Illustration d'une bandelette de tests d'immunoempreinte (cliché www.gramene.org/.../rgn13/v13p106.html).



f) ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) recherche anticorps ou ELISA indirect

Le sérum pour lequel on cherche à détecter les anticorps anti-*Aspergillus* (appelé ici anticorps1 = Ac1 = anticorps primaire) sont déposés dans un puits où sont adsorbés les antigènes correspondants. Les Ac1 réagissent alors avec ces derniers. Après lavage permettant d'éliminer les anticorps non liés aux antigènes, la présence des anticorps liés aux antigènes est détectée en ajoutant des anticorps secondaire (Ac2) anti-partie constante des Ac1 : cet anticorps est conjugué à une enzyme qui a pour propriété de réagir avec un substrat incolore pour donner un produit de réaction coloré.

L'Ac2 libre est éliminé par lavage et un substrat de l'enzyme est ajouté. La quantité de produit coloré formé au cours de la réaction enzymatique est mesurée par spectrophotométrie.

Contrairement aux malades atteints d'aspergillomes ou de formes allergiques, ceux atteints d'aspergillose invasive sont immunodéprimés. Cet état est volontairement induit dans le cas de greffe, mais peut être la conséquence d'un cancer ou d'une infection par le VIH. Il est donc difficile de détecter le champignon en mettant en évidence la réponse immunitaire qu'il induit

chez ces patients. En effet, leur réponse humorale est faible voire inexistante. C'est pourquoi on a cherché à développer des techniques de détection précoce d'une antigénémie aspergillaire dans le sérum, l'urine et les prélèvements obtenus par lavage trachéo-bronchique.

2. Méthodes de détection d'antigènes aspergillaires

a) Antigènes aspergillaires

On a répertorié une centaine de protéines et de glycoprotéines d'*Aspergillus fumigatus* capables de se lier aux anticorps produits par la réponse immunitaire d'un individu immunocompétent. Ces antigènes ont été étudiés par immuno-empreinte et classés selon leur masse moléculaire.

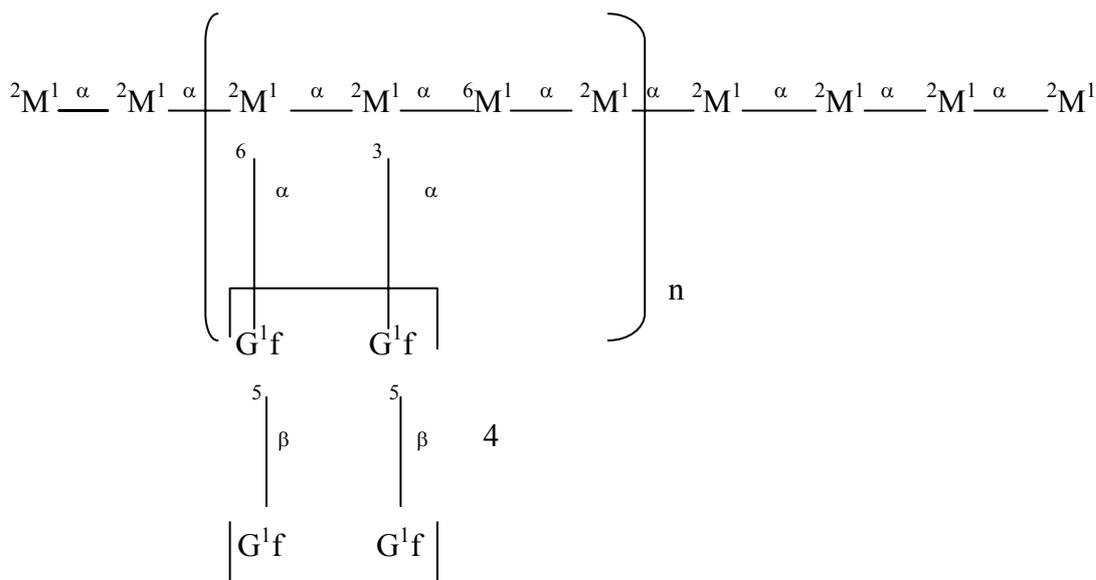
Seuls une dizaine d'entre eux ont pu être caractérisés de façon précise en terme de structure, de fonction et de clonage de leur gène. Aucun de ces antigènes n'a donné d'application diagnostique pratique (41 Latge 1999).

Le $\beta(1-3)$ glucane, composant de la paroi d'*Aspergillus fumigatus* et ASPF1, un antigène de 18kD, ont été détectés dans le sérum pour le premier et dans le couple sérum-urine pour le second, chez des patients atteints d'aspergillose invasive. Le $\beta(1-3)$ glucane n'est pas immunogène. Ce n'est donc pas un antigène, toutefois une méthode colorimétrique a été mise au point pour sa détection. Les faibles quantités détectées et le caractère inconstant de cette détection ont amené les chercheurs à abandonner la détection de celui-ci. La mise en évidence de l'ASPF1 a également été abandonnée (41 Latge 1999 ; 43 Latge 1991).

L'étude du galactomannane (GM) d'*Aspergillus fumigatus* a permis d'importantes avancées dans le développement de méthodes diagnostiques. C'est un polysaccharide, constituant de la paroi de nombreux champignons (le GM est également rencontré chez les *Penicillium*). Il est sécrété durant la phase de croissance active du champignon, au sein d'un complexe composé de protéines et de polysaccharides. Le GM est composé d'une chaîne de mannoses liés en $\alpha(1-2)$ et en $\alpha(1-6)$ dans un rapport de 3 :1. Des tétramères de $\beta(1-5)$ galactofuranes forment la partie antigénique de la molécule. Ceux-ci sont liés aux carbones 3 et 6 d'une paire de $\alpha(1-2)$ mannoses. Ces tétramères sont communs à tous les GM d'*Aspergillus* et de *Penicillium* testés jusqu'à présent. Une molécule de GM contient environ 10 épitopes, ce qui rend possible

la mise au point d'une méthode de détection par double ELISA sandwich. Un tel motif est ainsi répété une dizaine de fois, comme le montre la figure 20. Le rapport galactose / mannose varie de 2 :1 à 1 :2 suivant les souches d'*Aspergillus fumigatus*. On pense aujourd'hui que de nombreuses protéines sont porteuses de cet épitope, mais aucun travail n'a été publié à ce jour sur ce thème (1 Andriole 1993 ; 42 Latge 1994 ; 69 Stynen 1995 ; 70 Stynen 1992)

Figure 20 : Structure du galactomannane (42 Latge 1994).



M : mannane

Gf : galactofuranose

b) Test ELISA Platelia®

Le principe de cette technique est un dosage immuno-enzymatique sur phase solide dite ELISA sandwich direct. Un anticorps monoclonal de type IgM, l'EB-42, reconnaissant les chaînes (1-5)-galactofuranosides du galactomannane, est fixé au fond des cupules de la microplaque. Le même anticorps monoclonal, mais marqué à la peroxydase, est utilisé comme conjugué, révélant d'autres sites permet d'avoir une amplification de la détection.

Les sérums à étudier, ainsi que les témoins, sont traités par une solution afin de libérer l'antigène d'éventuels immun-complexes circulant, puis déposés dans les cupules de la microplaque en présence du conjugué marqué. Pendant les 90 minutes d'incubation, les antigènes présents dans l'échantillon se lient à l'anticorps monoclonal fixé au fond des

cupules et à l'anticorps conjugué marqué à la peroxydase. Les protéines sériques sont éliminées par les lavages pratiqués à la fin de l'incubation. La présence de l'immun-complexe est révélée dans chaque cupule par l'addition d'une solution de révélation enzymatique. Après 30 minutes d'incubation à température du laboratoire, la réaction enzymatique est arrêtée par une solution d'acide sulfurique à la concentration de 4 moles par litre. La densité optique obtenue avec des longueurs d'ondes de 492/620 nm est proportionnelle à la quantité d'antigène aspergillaire. Ainsi, après chaque dosage, une courbe de référence des quantités d'antigènes en fonction de la densité optique est tracée, permettant d'obtenir un titre d'antigène en ng/mL, immédiatement interprétable par le clinicien.

c) Technique d'agglutination de billes de latex

Après un premier temps de traitement des sérums, les antigènes aspergillaires éventuellement présents dans le sérum des patients provoquent l'agglutination directe des particules de latex sensibilisées par un anticorps anti-aspergillaire et plus exactement anti-galactomannane.

Technique (kit Pastorex *Aspergillus*) :

- 1- traitement des sérums : 300µL du sérum à tester sont déposés dans un tube eppendorf de 1,5mL. 100µL de réactif de traitement sont ajoutés. Après homogénéisation vigoureuse, le tube eppendorf est soumis à ébullition pendant 3 minutes. C'est le surnageant qui est testé. Cette opération permet de dégager les antigènes galactomannanes pour faciliter l'accès des anticorps fixés sur les particules de latex.
- 2- réaction d'agglutination : 40µL de surnageant sont déposés sur une plaque de réaction. 10µL de latex sensibilisé sont ajoutés. Les solutions sont mélangées à l'aide d'un bâtonnet. La plaque est placée sur un agitateur à 160 tours/minutes pendant 5 minutes à température ambiante.

Un témoin positif subit la même réaction d'agglutination.

Une réaction positive se traduit par l'agglutination des particules de latex similaire à celle obtenue avec le témoin positif. Le seuil de positivité annoncé par Pasteur Diagnostics est de 40ng/mL.

Le tableau 4 récapitule les limites de détection des différents tests selon les méthodes et les antigènes utilisés.

Tableau 4 : Détection d'antigènes aspergillaires circulants chez l'homme (d'après 38 Khuong 1994)

Méthode	Nature de l'antigène	Liquide biologique	Limite de détection	Référence
RIA	PS	Sérum	10 ng/mL	Sabetta (58 ; 1985)
RIA/ELISA	GM	Sérum/urine	40 ng/mL	Dupont (15; 1987)
RIA	PS	Sérum		Talbot (71 ; 1987)
ELISA	GP	Sérum	10-20 ng/mL	Le Pape (45 ; 1987)
ELISA	GP	Sérum	100 ng/mL	Wilson (79; 1987)
ELISA	PS	Sérum	1,6 ng/mL	Fujita (19; 1988)
ELISA	GP	Sérum	68 ng/mL	Johnson (34; 1989)
ELISA	GM	Sérum/urine	7-10 ng/mL	Rogers (56 ; 1990)
LA	GM	Sérum	15 ng/mL	Dupont (16 ; 1990)
LA/WB	P	Sérum	1 µg/mL	Burnie (7 ; 1991)
ELISA Platelia®	GM	Sérum	1ng/mL	Kwak(40;2004)

Méthodes LA : agglutination de particules de latex

RIA : radio-immuno-essai

WB : immunoempreinte (Western blot)

Antigènes GM : galactomannane

GP: glycoprotéine

PS : polysaccharide

P : protéine

Les problèmes auxquels se heurtent toutes les techniques de recherche d'antigènes aspergillaires sont :

-d'une part, la formation de complexes immuns sériques qui ne sont pas reconnus par l'anticorps monoclonal du kit car l'anticorps du complexe immun masque certains sites antigéniques et modifie donc l'accessibilité du réactif monoclonal sur l'antigène.

-d'autre part, les décharges d'antigènes aspergillaires dans le sang sont irrégulières et fugaces. C'est la raison pour laquelle cet examen doit être répété pour augmenter ses chances de prélever au moment d'une décharge d'antigènes.

Il semble que le test de détection d'antigènes aspergillaires se positive soit au tout début de l'infection de façon très fugace, soit au terme de l'évolution de l'infection, et pourrait alors représenter un facteur de mauvais pronostic.

3. Méthode PCR (Polymerase Chain Reaction)

Il s'agit d'une réaction enzymatique de réplication in vitro de molécules d'ADN par extension d'amorces oligonucléotidiques spécifiques, complémentaires de la séquence cible.

A partir d'un échantillon complexe et peu abondant, cette technique permet d'obtenir rapidement une quantité importante et exploitable d'un segment précis d'ADN. Le segment d'ADN est recopié à l'identique à chaque étape de PCR et pas le reste du génome.

Ainsi cette méthode permet :

- de cibler un segment d'ADN particulier dans le génome.
- de recopier (d'amplifier) ce segment des millions de fois et de le rendre visible.

Le test peut être effectué sur sérum ou sur prélèvement suite à un lavage bronchoalvéolaire (59 Sanguinetti 2003).

Pour le diagnostic de l'aspergillose invasive humaine, il est intéressant d'associer le test ELISA Platelia® et la PCR (12 Costa 2002).

B. SEROLOGIE ET MEDECINE VETERINAIRE

1. Les méthodes de détection d'anticorps anti-*Aspergillus*

Seules 2 techniques sont couramment utilisées et validées pour la mise en évidence des anticorps sériques. Il s'agit de l'immunofluorescence et de l'électrosynérèse.

2. Les méthodes de détection des antigènes aspergillaires

Actuellement, ces méthodes ne sont pas validées en médecine vétérinaire (26 Harkin 2003). Dans la 3^{ème} partie de cette thèse, la méthode ELISA Platelia® sera appliquée à différents sérums de carnivores domestiques atteints d'aspergillose rhinosinusale et diagnostiqués par d'autres examens complémentaires.

En 2001, Garcia et coll. (19 Garcia 2001) ont testé 46 chiens présentant des lésions d'aspergillose (invasive ou rhinosinusale) par une méthode ELISA de détection d'anticorps anti-*Aspergillus*. Pour 9 animaux, un résultat positif a été obtenu. Ces 9 sérums ont alors été testés par la méthode ELISA Platelia® utilisée dans notre étude.

Pour un animal dont le suivi par la méthode ELISA de détection des anticorps (de positif à négatif) correspond parfaitement à l'évolution clinique (guérison), le test ELISA Platelia® donne un résultat douteux pour le premier prélèvement, négatif pour le deuxième et positif pour le troisième. Cette variabilité dans les résultats est obtenue pour plusieurs autres animaux.

Les résultats obtenus par Garcia et coll. concernant cette technique ne sont donc globalement pas uniformes.

IV. ETUDE PERSONNELLE

A. OBJECTIFS

La recherche d'antigènes aspergillaires solubles dans le sérum tel que le galactomannane apparaît aujourd'hui comme la principale méthode sérologique capable d'améliorer le diagnostic de l'infection en précocité et en spécificité en médecine humaine. Cette méthode est désormais intégrée dans les critères de définition et de classification des aspergilloses invasives humaines.

Le test ELISA Platelia® a été appliqué à des sérums de chiens ou de chats atteints d'aspergilloses rhinosinuales afin de tenter de répondre à différentes questions :

-Les antigènes aspergillaires sont-ils détectables dans les sérums lorsque l'aspergillose est sous une forme rhinosinuale et non invasive ?

-Est-il envisageable d'utiliser le test dans un but diagnostique ? (20 Garcia 2001)

En médecine humaine, il semble que l'utilisation de ce test devrait être limitée à l'usage de patients présentant des signes cliniques d'aspergillose invasive (46 Lombardi 2002). D'autre part, les faux positifs existent notamment chez les nourrissons (un épitope de l'acide lipotéichoïque de *Bifidobacterium* serait commun avec le galactomannane) (20 Garcia 2001 ; 50 Mennink-Kersten 2004 ; 68 Siemann 1998)

-Existe-t-il en médecine vétérinaire le même parallèle qu'en médecine humaine concernant les résultats d'électrosynérèse et ceux d'ELISA Platelia® ; c'est-à-dire : électrosynérèse positive et Platelia® négatif : lors d'aspergillome (parallèle avec la forme rhinosinuale des carnivores domestiques ?) électrosynérèse négative et Platelia® positif : en début d'évolution d'aspergillome (poche incomplètement formée) ou lors de forme très invasive.

-Les résultats des tests ELISA Platelia® aideront-ils les cliniciens vétérinaires dans leurs décisions thérapeutiques (traitements plus ou moins agressifs) (77 Wheat 2003) ?

-Les résultats des tests ELISA Platelia® permettront-ils de juger l'efficacité d'un traitement ; d'effectuer le suivi d'un animal (5 Bretagne 1997) ?

- Les résultats des tests ELISA Platelia® auront-ils un rôle pronostic ? Effet, en médecine humaine, la positivité est souvent corrélée à la mortalité (40 Kwak 2004).

La détection de l'antigène galactomannane chez les bovins par la méthode ELISA Platelia® en 1993 avait permis de mettre en évidence une corrélation entre taux d'antigènes circulants et le niveau d'infestation des organes (33 Jensen 1993).

B. MATERIELS

La collecte des sérums de chiens et chats atteints a été possible par plusieurs voies :

- Disposition d'un stock de sérums d'animaux conservés au laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'ENVA.

- Réutilisation des sérums de la thèse de Pierre-Yves Mulon (52 Mulon 2002) qui a réalisé une première étude sur le diagnostic expérimental de l'aspergillose rhinosinusale du chien. Certains des propriétaires de ces animaux ont pu être recontactés cette année et une nouvelle prise de sang a été effectuée permettant un suivi pour 10 chiens.

- Animaux référés par des vétérinaires au centre de Radiothérapie-Scanner situé sur le site de l'ENVA.

- Animaux référés par des vétérinaires au service de chirurgie de l'ENVA pour traitement d'aspergillose rhinosinusale déjà diagnostiqué.

L'analyse est effectuée sur sérum. Une prise de sang d'environ 10mL a été réalisée soit au niveau d'une veine jugulaire, soit au niveau d'une veine de l'avant-bras sur chaque animal.

Ces prélèvements sont conservés au froid à +4°C puis acheminés dans les plus brefs délais au laboratoire de Parasitologie-Mycologie de l'ENVA pour centrifugation et congélation des sérums en attendant le jour de l'analyse.

Pour chaque patient, d'autres résultats d'examens complémentaires (examen tomodensitométrique, mycologie, électrosynérèse) ont parfois été disponibles ; ils sont alors consignés dans les tableaux de résultats.

C. METHODE : DETECTION D'ANTIGENES PAR LE TEST ELISA PLATELIA®

1. Principe

Platelia® *Aspergillus* est une technique immunoenzymatique de type ELISA sandwich, réalisée en un temps, sur microplaque permettant la détection semi-quantitative de l'antigène circulant galactomannane dans les sérums humains.

L'anticorps monoclonal (Acm) de rat EBA-2, dirigé contre le galactomannane d'*Aspergillus* et caractérisé lors de travaux précédents est utilisé pour :

- sensibiliser les puits de la microplaque et capter l'antigène galactomannane.
- détecter l'antigène fixé à la microplaque sensibilisée (Acm couplé à la peroxydase).

Le test a un seuil de positivité fixé à 1 ng de galactomannane par mL de sérum testé.

La mise en œuvre du test comprend les étapes suivantes :

- 1- Traitement du sérum à la chaleur en présence d'EDTA pour dissocier les complexes et précipiter les protéines sériques pouvant éventuellement interférer lors de la réaction immuno-enzymatique.
- 2- Incubation simultanée du sérum et du conjugué dans les cupules de la microplaque sensibilisées avec l'anticorps monoclonal. En présence d'antigène galactomannane, il se forme un complexe de type Acm-galactomannane-Acm/ peroxydase.
- 3- Révélation, après lavage, des complexes Acm-galactomannane-Acm éventuellement formés, par addition du substrat.
- 4- Lecture de la réaction à 450/620 nm après 30 minutes d'incubation à température ambiante (+18-30°C) et arrêt de la réaction avec de l'acide sulfurique 1,5N.

2. Détails de la procédure

a) Traitement des sérums

Tous les sérums contrôle : négatif, positif et le sérum seuil doivent être traités en même temps que les échantillons des patients de la façon suivante :

Introduire 300µL de sérum à tester dans un tube Eppendorf de 1,5mL.

Ajouter 100µL de la solution de traitement (= solution acide d'EDTA, sans conservateur).

Homogénéiser vigoureusement en vortexant.

Fermer hermétiquement le tube afin de prévenir son ouverture lors du chauffage.

Placer le tube pendant 3 minutes dans un bain-marie, en veillant à bien fermer le couvercle.

Centrifuger à 10 000g (13 000 tours/min) pendant 10 minutes.

Le surnageant est utilisé pour la détection de l'antigène galactomannane.

Une fois le sérum traité, le test doit être réalisé dans la journée.

b) Réaction immuno-enzymatique

Distribuer successivement dans les cupules (en respectant bien l'ordre des réactifs) :

- 50 µL du conjugué (Acm anti-galactomannane marqué à la peroxydase).
- 50 µL du surnageant du sérum traité.

Prévoir (au minimum) : 1 puits pour le sérum de contrôle négatif (R3), 2 puits pour le sérum seuil (R4) et un puits pour le sérum de contrôle positif (R5).

Couvrir la microplaque d'un film adhésif en appuyant bien sur toute la surface pour assurer l'étanchéité.

Incuber la microplaque au bain-marie thermostaté ou dans un incubateur sec de microplaques pendant 90 minutes à 37°C.

Préparer la solution de lavage diluée.

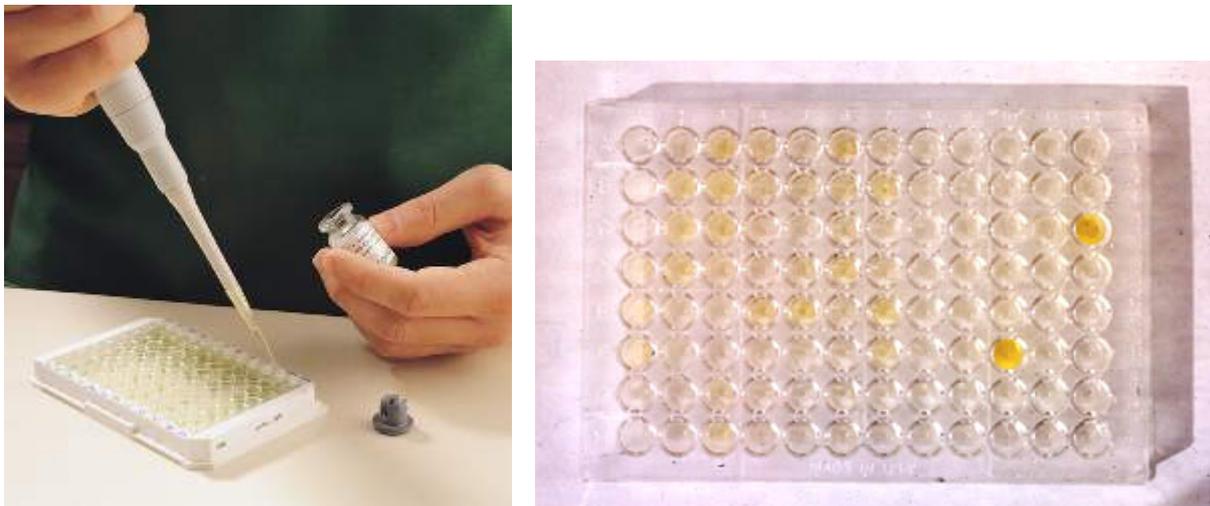
Retirer le film adhésif, aspirer le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés (contenant de l'hypochlorite de sodium) et procéder à 5 lavages. Sécher les barrettes par retournement sur une feuille de papier absorbant et taper légèrement afin d'éliminer la totalité de la solution de lavage.

Préparer la solution de révélation : solution de chromogène dilué au 1/50^{ème} dans du tampon substrat de la peroxydase. En distribuer rapidement, à l'abri de la lumière vive, 200µL dans toutes les cupules. Laisser la réaction se développer dans l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante (+18-30°C). Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.

Arrêter la réaction enzymatique en ajoutant 100µL de la solution d'arrêt (acide sulfurique 1,5N) dans chaque cupule. Adopter la même fréquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation (figure 21).

Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Lire la densité optique à 450/620 nm à l'aide d'un lecteur de plaques, dans les 30 minutes suivant l'arrêt de la réaction (les barrettes devant toujours être conservées à l'abri de la lumière avant la lecture).

Figure 21 : Illustration du kit Platelia® après dépôt de la solution d'arrêt (clichés : www.agdia.com/testing/ et www.apsnet.org/.../PhotosE-H/ELISA.htm)



3. Interprétation des résultats

a) Détermination de la valeur seuil (VS)

La valeur seuil correspond à la moyenne des DO des cupules contenant le sérum seuil (R4).

b) Calcul d'un index (I) pour chaque sérum testé

Calculer pour chaque sérum testé le rapport :

$$I = \text{DO échantillon} / \text{Valeur Seuil}$$

Ce calcul permet de limiter les variations de DO inter-essais et inter-laboratoires dues aux différentes conditions de réalisation de la réaction immuno-enzymatique (température ambiante, modes de lavage...).

c) Validation de l'essai

Utiliser les contrôles sur chaque microplaque pour chaque essai. Pour valider la manipulation les critères suivants doivent être respectés :

- $0,3 \leq VS \leq 0,8$
- index (R5 : contrôle positif) $> 2,0$
- index (R3 : contrôle négatif) $< 0,5$

d) Interprétation des résultats

- index $< 1,0$: sérum « négatif » pour la présence de galactomannane.
- $1,0 \leq \text{index} < 1,5$: sérum « intermédiaire » pour la présence de galactomannane.
- index $\geq 1,5$: sérum « positif » pour la présence du galactomannane.

D. RESULTATS

Nous disposons de 84 prélèvements pour 70 animaux.

Les chiens sont au nombre de 64, dont 37 mâles et 8 femelles (19 de sexes non rapportés).

La race est connue pour 46 d'entre eux : 9 Berger Allemand, 6 Beauceron, 5 Golden Retriever, 3 Labrador, 3 Rottweiler, 3 West Highland White Terrier (Westie), 2 Type Berger, 2 Terre Neuve, 2 Griffon, 1 Doberman, 1 Caniche, 1 Bobtail, 1 Khortals, 1 Epagneul, 1 Léonberg, 1 Colley, 1 Setter Gordon, 1 Dalmatien, 1 Husky et 1 Boxer.

Les chiens sont donc plutôt de type dolichocéphale à mésocéphale, un seul animal type brachycéphale (le boxer) fait partie de l'étude.

Ils sont âgés de 7 mois à 13 ans ; l'âge moyen est de 6,1 ans.

Les chats sont au nombre de 6, dont 4 mâles et 2 femelles. Parmi eux, un chat est de race persane, les autres sont de type européens.

Ils sont âgés de 1,5 à 14 ans ; l'âge moyen est de 9,4 ans.

Les analyses ont été réalisées en 3 fois. Lors de chaque manipulation, les résultats ont été validés par les 3 critères cités précédemment (VS, index R5, index R3).

Les résultats sont présentés en 2 groupes selon que le diagnostic d'aspergillose rhinosinusale est « certain » (groupe A) ou « probable » (groupe B), un lot d'animaux témoins sans signe clinique et dont l'électrosynérèse est négative est également constitué.

Comme exposé précédemment, le diagnostic, en plus des éléments cliniques, repose sur au moins deux examens complémentaires en faveur. Toutefois une étude récente (61 Saunders 2003) valide l'intérêt diagnostique des examens tomodensitométriques pour les affections nasales chroniques chez le chien.

Sa précision est de plus de 90% et sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive, valeur prédictive négative sont supérieurs à 80%. Seule la différenciation entre une aspergillose et une rhinite à corps étranger peut être délicate quand ce corps étranger n'est pas visible.

Le groupe A est constitué de 17 chiens et 1 chat présentant des signes cliniques d'aspergillose rhinosinusale ayant subi un examen tomodensitométrique et dont le résultat s'est révélé positif.

Les résultats sont présentés dans le tableau 5 ; une gradation dans l'étendue des lésions est précisée (60 Saunders 2002) ; cette gradation a été faite d'après les descriptions des radiologues (ostéolyse des os de la face, des cornets nasaux, épaissement au niveau de l'ostium nasosinusal et/ou du sinus frontal, exsudat)

Tableau 5 : Résultats des examens complémentaires pour les animaux du groupe A (aspergillose confirmée).

Code	Race	Age	Sexe	Scanner	Mycologie	Sérologie	
						Recherche d'anticorps (électrosynérèse)	Recherche d'antigènes (indexplatelia)
A1385	Golden	1		D : CE ou début G : -	+	+	- (0,35)
A1117	Beauceron	10	M	D : ++ G : -	-	-	- (0,40)
A1919	Labrador	7	M	D: - G: ++		+	+/- (1,19)
B1629	Doberman		M	D: + G: -		+++	- (0,57)
A1678	Golden	6		D: début G: -	-	+	- (0,64)
A1695	Westie	6	F	D : ++ G : +	-	+	- (0,87)
A1702	Croisé	12	M	+ *	-	+	- (0,68)
B1081	Berger	4	M	D: + G: -	+	++	- (0,54)
B190	Bobtail	7	M	D: + G: -	-	-	+ (1,92)
A1118	Berger all.	7	M	D: - G: ++	+	+	- (0,59)
E690	Golden	2	M	D: débutant G: +++			- (0,57)
E1155	Beauceron	4	M	D : +++ G : +++			- (0,60)
E1250	Rottweiller	5	M	D : +++ G: débutant	+	-	+/- (1,40)
	Caniche	4	M	+ *			- (0,60)

A1677	Berger	10	M	+ *	-	-	- (0,45)
B60	Labrador	5	M	D: ++ G: -		+	+ (4,25)
E1363	Korthals	13	M	D: +++ G: ++			- (0,45)
F116	Chat	1,5	M	+ *		+	- (0,40)

Légendes :

Colonne Sexe :

- M : mâle
- F : femelle

Colonne Scanner :

- D : cavité nasale droite
- G : cavité nasale gauche
- CE : corps étranger
- Début : lésions d'aspergillose débutante
- - : cavité non atteinte
- + : densifications disséminées sur des cornets ou débris de cornets ; le méat nasopharyngé est libre.
- ++ : densifications disséminées sur des cornets ou débris de cornets ; épaissement en cadre du méat nasopharyngé.
- +++ : densifications disséminées sur des cornets nasaux ostéolytiques ; ostéolyse du septum nasal ; épaissement en cadre du méat nasopharyngé et densification des 2 sinus frontaux.
- +* : examen tomodensitométrie concluant à une aspergillose mais dont la description précise n'est pas disponible.

Colonne Mycologie :

- + : culture positive
- - : culture négative
- case vide : examen non réalisé

Colonne Electrosynérèse :

- - : test négatif
- +, ++, +++ : 1, 2 ou 3 arcs de précipitation
- case vide : examen non réalisé

Colonne Index Platelia® :

- - : test négatif (index < 1)
- + : test positif (index > 1,5)
- +/- : résultat intermédiaire (1 < index < 1,5)

Sur les 18 animaux dont le diagnostic d'aspergillose a été établi avec certitude par l'examen tomodensitométrique, 2 ont donné des tests ELISA Platelia® positifs et 2 ont donné des tests ELISA Platelia® intermédiaires.

En comparant les résultats des 2 examens sérologiques, on constate que, lors de test ELISA Platelia® négatif, le résultat de l'électrosynérèse est positif dans 9 cas sur 12 (tableau 6).

Tableau 6 : Comparaison des résultats des 2 tests sérologiques dans le groupe A :

		ELISA Platelia®		Total
		+	-	
Electrosynérèse	+	1	9	10
	-	1	3	4
Total		2	12	14

Le groupe B est constitué de 47 chiens et 5 chats présentant des signes cliniques d'aspergillose rhinosinusale ayant subi un examen sérologique (électrosynérèse) et/ou mycologique ; l'examen tomodensitométrique n'a pas été réalisé pour confirmer le diagnostic. L'ensemble des résultats (test ELISA Platelia® compris) est résumé dans le tableau 7.

Tableau 7 : Résultats des examens complémentaires pour les animaux du groupe B (aspergillose probable).

Code	Race	Age	Sexe	Mycologie	Sérologie	
					Electrosynérèse	Index platelia
A1025	Berger all.	10		+	+	- (0,38)
B845	Griffon	4	F	+	+	- (0,28)
B1229	Croisé	2	M	+	+	+/- (1,09)
B1332	Chien				++++	- (0,82)
B620	Epagneul	2	M	+	+	+/- (1,13)
B179	Beauceron	10	M		+++	+ (2,11)
C7	Rottweiler	7	M	-	+++	+/- (1,03)
E297	Beauceron	4	F		+	- (0,78)
E1085	Léonberg	4	M		+	- (0,65)
Z313	Chien				+	+ (1,81)
Z1106	Berger all.	5	M	+	+	+/- (1,12)
Z1194	Colley	7	M	+	+	- (0,19)
A951	Terre Neuve	8	M	+	+	+/- (1,19)
A909	Labrador	4	M		+	+/- (1,02)
D1000	Berger all.	12	M		-	- (0,99)
E1497	Berger all.	11	M		-	+ (2,10)
E315	Berger all.	8	M	-	-	- (0,41)
Z1320	Chien			-	-	- (0,44)
A961	Rottweiler	4	F	-	-	- (0,59)
A1036	Chien			-	-	- (0,32)
A1641	Berger all.	8	F		-	- (0,69)
A1227	Westie	2	M		-	- (0,21)
A682	Chien			-		- (0,62)
A1780	Chien			-	-	- (0,71)

A1853	Chien					- (0,35)
A595	Chien					- (0,29)
A356	Chien					- (0,31)
A1888	Chien					- (0,73)
A1493	Chien			-	-	+ (1,97)
B2297	Setter gorden	11	M	-	-	- (0,56)
B443	Beauceron	3	M	-	-	- (0,81)
B2023	Dalmatien	5	F		-	+/- (1,08)
A670	Berger all.	4	M		-	- (0,43)
B1065	Berger all.	12	M		-	+ (1,91)
A1812	Westie	6	F	-	-	+ (5,06)
A726	Chien				-	- (0,43)
D280	Chien				-	- (0,96)
D489	Beauceron	10	M		-	- (0,93)
D659	Chien				-	+/- (1,45)
A1539	Chien				-	- (0,72)
A669	Chien				-	+ (1,60)
A1493	Husky	1	M	-	-	+ (1,89)
B1004	Terre Neuve	8	M		-	- (0,81)
C 1258	Croisé griffon	7	M		+	- (0,55) - (0,67)
D551	Golden	1	M		+	+ (2,12)
D1329	Golden	4	M	+	+	+ (3,23)
E97	Boxer	7m	F		+	- (0,60)
	Chat Euro.	14	M	Histo +		- (0,22)
C723	Chat Euro.	10	M			- (0,45)
B1572	Chat Euro.	9	F	-	-	- (0,46)
B694	Chat Euro.	11	M	-	-	+ (2,91)
E311	Chat persan	11	F		-	+ (2,55)

Les légendes sont les mêmes que pour le tableau 5.

Sur les 52 animaux dont le diagnostic d'aspergillose est probable (groupe B), les tests ELISA Platelia® ont donné 12 résultats positifs (dont 2 chats) et 8 résultats intermédiaires.

Sur les 12 Platelia® positifs, 4 ont donné un résultat positif à l'électrosynérèse et 8 un résultat négatif (tableau 8).

Sur les 8 Platelia® intermédiaires, 6 ont donné un résultat positif à l'électrosynérèse et 4 un résultat négatif.

Tableau 8 : Comparaison des résultats des 2 tests sérologiques dans la groupe B.

		ELISA Platelia®		Total
		+	-	
Electrosynérèse	+	4	14	18
	-	8	19	27
Total		12	33	45

En comparant les résultats des 2 examens sérologiques, on constate que, lors de test ELISA Platelia® négatif, le résultat de l'électrosynérèse est positif dans 14 cas sur 33.

Les propriétaires de certains animaux des 2 groupes ont été contactés. Un nouveau prélèvement a été réalisé permettant de suivre l'évolution de l'antigénémie galactomannane au cours du temps.

Les résultats sont consignés dans le tableau 9.

Khortals M né en 1990	Scanner	+	Décembre 2003		Janvier 2004	
	Electrosynérèse	+	↑ - (0,81) : S+		↑ - (0,46) : S+	

Légendes :

- + : examen positif.
- - : examen négatif.
- S + : symptômes évocateurs d'aspergillose.
- S+/- : parfois des épisodes de jetage nasal.
- S- : absence de symptôme évocateur d'aspergillose.

Sur 10 animaux, lors du premier prélèvement 5 présentaient un résultat positif. Sur ces 5 animaux, lors du deuxième prélèvement, seuls 2 présentaient un résultat positif.

Globalement entre le premier et le dernier prélèvement les index de détection de l'antigène galactomannane diminuent dans 7 cas sur 10.

Parallèlement, un lot d'animaux témoins sans symptômes a été constitué et soumis aux différents tests. Les résultats sont rapportés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Résultats des examens des animaux du groupe Témoin.

Races	Age	Sexe	Sérologie	
			Recherche anticorps Electrosynérèse	Recherche antigène Index Platelia®
Bichon	2	M	-	- (0,43)
Boxer	2	F	-	- (0,53)
Bearded Colley	1	F	-	+/- (1,45) + (1,96)
Labrador	2	M	-	- (0,44)
Yorkshire	12	M	-	- (0,53)
Boxer	12	F	-	- (0,49)
Bull terrier	3	F	-	- (0,56)
Berger all.	13	M	-	- (0,24)
Labrador	10	F	-	- (0,62)
Chat Euro.	8	M	-	- (0,76)

Sur 10 animaux, seul un animal a donné un test ELISA Platelia® positif.

Les 80 animaux testés par cette méthode ont permis de déterminer une sensibilité de 20% et une spécificité de 90%, comme l'indique le tableau 11.

Tableau 11 : Sensibilité et spécificité du test ELISA Platelia® dans notre étude.

Dans un premier temps, seuls sont pris en compte les index supérieurs ou égaux à 1,5.

	Groupe A	Groupe témoin	Total
Positif	2	1	3
Négatif	16	9	25
Total	18	10	28

$$Se = 2/18 = 11\%$$

$$Sp = 9/10 = 90\%$$

$$VPP = 2/3 = 67\%$$

$$VPN = 9/25 = 36\%$$

	Groupe B	Groupe témoin	Total
Positif	12	1	13
Négatif	40	9	49
Total	52	10	62

$$Se = 12/52 = 23\%$$

$$Sp = 9/10 = 90\%$$

$$VPP = 12/13 = 92\%$$

$$VPN = 9/49 = 18\%$$

	Groupe A+B	Groupe témoin	Total
Positif	14	1	15
Négatif	56	9	65
Total	70	10	80

$$Se = 14/70 = 20\%$$

$$Sp = 9/10 = 90\%$$

$$VPP = 14/15 = 93\%$$

$$VPN = 9/65 = 14\%$$

Dans certaines études, tous les index supérieurs ou égaux à 1 sont pris en compte :

	Groupe A	Groupe témoin	Total
≥ 1	4	1	5
Négatif	14	9	23
Total	18	10	28

$$Se = 4/18 = 22\%$$

$$Sp = 9/10 = 90\%$$

$$VPP = 4/5 = 80\%$$

$$VPN = 9/23 = 39\%$$

	Groupe B	Groupe témoin	Total
≥ 1	20	1	21
Négatif	32	9	41
Total	52	10	62

$$Se = 20/52 = 38\%$$

$$Sp = 9/10 = 90\%$$

$$VPP = 20/21 = 95\%$$

$$VPN = 9/41 = 22\%$$

	Groupe A+B	Groupe témoin	Total
≥ 1	24	1	25
Négatif	46	9	55
Total	70	10	80

$$Se = 24/70 = 34\%$$

$$Sp = 9/10 = 90\%$$

$$VPP = 24/25 = 96\%$$

$$VPN = 9/55 = 16\%$$

Rappels :

- Sensibilité : aptitude d'un test à fournir une réponse positive chez un individu infecté. Elle s'estime par la proportion d'individus infectés fournissant une réponse positive au test.

- Spécificité : aptitude d'un test à fournir une réponse négative chez un individu indemne. Elle s'estime par la proportion d'individus indemnes donnant une réponse négative au test.

- VPP : valeur prédictive d'un résultat positif : proportion des vrais positifs parmi l'ensemble des réponses positives fournies par un test de dépistage.

- VPN : valeur prédictive d'un résultat négatif : proportion de vrais négatifs parmi l'ensemble des réponses négatives fournies par un test de dépistage.

E. DISCUSSION

L'âge moyen des chiens de l'étude est sensiblement identique aux classes d'âge rencontrées dans la littérature pour cette affection, puisqu'il s'agit de jeunes adultes. Un chien est de type brachycéphale contrairement aux données existantes classiquement (57 Russo 1985).

La classe d'âge des chats recensés est en accord avec les précédentes études. Un chat est de type brachycéphale (race Persan), les autres sont européens (22 Goodall 1984).

Sur les 84 prélèvements qui entrent dans cette étude, 22 ont donné un test ELISA Platelia® positif. L'antigène aspergillaire galactomannane est donc bien détectable dans le sang des carnivores domestiques atteints d'aspergillose sous une forme rhinosinusale et non invasive comme en médecine humaine.

Dans le groupe A (animaux pour lesquels le diagnostic d'aspergillose est certain), il n'a pu être mis en évidence un lien entre la nature des lésions détectables à l'examen tomodensitométrique et la positivité du test ELISA Platelia®. Toutefois dans les 2 cas positifs, les lésions étaient unilatérales et n'étaient pas les plus délabrantes. En effet, *Aspergillus fumigatus* possède un tropisme positif pour les vaisseaux sanguins à l'origine de thromboses et d'ischémies locales. En début d'évolution, la conservation d'un réseau vasculaire intègre permet sans doute la mise en circulation des antigènes.

Un parallèle peut également être fait avec la médecine humaine où la positivité du test est maximale en tout début d'évolution.

Dans ce groupe, la sensibilité n'est que de 11% (22% si le seuil pris en compte est un $\text{index} \geq 1$) contre 81% pour l'homme (77 Wheat 2003), et la valeur prédictive négative est de 36% (39% si le seuil pris en compte est un $\text{index} \geq 1$). La proportion de faux négatifs est donc forte. Ce test sérologique est donc difficilement envisageable dans un but purement diagnostique. Ces résultats confirment ceux de Garcia et coll. en 2001.

Le tableau 12 récapitule les sensibilités et spécificités des différents tests selon les méthodes. Il faut préciser que dans la littérature, la sensibilité des techniques est souvent déterminée à partir de solutions pures d'antigènes aspergillaires ce qui ne rend pas compte des difficultés de détection de ces antigènes dans les solutions complexes que sont les sérums des patients.

Tableau 12 : Sensibilité et spécificité des différents tests sérologiques et PCR :

Les références bibliographiques sont entre parenthèses et font suite au pourcentage.

	Sensibilité (%)		Spécificité (%)	
	Homme	Chien	Homme	Chien
Recherche anticorps				
Electrosynérèse		62,5 (49) 59 (52)		100 (52)
Immunofluorescence indirecte		68,75 (49)		
Immunoempreinte		43,75 (49)		
Elisa indirect		62,5 (49)		92 (52)
Recherche antigènes	Homme	Chien	Homme	Chien
Elisa Platelia®	81 (77)	20 (étude perso)	89 (77)	90 (étude perso)
Billes latex	42 (23)		99 (23)	
PCR	91,7 (6) 79 (36)		81,3 (6) 92 (36)	

Sur les 14 résultats positifs des groupes A et B confondus, 9 donnaient des résultats négatifs par la technique d'électrosynérèse. Devant ces résultats négatifs, deux hypothèses sont envisageables. La première peut être l'absence d'anticorps circulants du fait d'une immunodépression sans savoir si *Aspergillus*, et notamment la gliotoxine produite, est responsable réellement de cette condition, ou si c'est à la faveur d'une telle condition de l'animal que le champignon s'est développé. La seconde hypothèse est commune à tous les test sérologiques, à savoir que même si l'animal est immunocompétent, il se peut que lors d'affection précoce la séroconversion n'est pas encore eu lieu.

Les 2 tests sérologiques sont donc complémentaires, l'un n'exclut pas l'autre.

Dans le groupe d'animaux « suivis », le dosage de l'antigène galactomannane au cours du temps met en évidence une diminution notable de l'index Platelia® pour 7 animaux sur 10 ; diminution liée sans doute à l'impact du traitement spécifique.

Malgré un nombre restreint d'animaux constituant ce lot, le test semble fiable pour juger de l'efficacité d'un traitement pour effectuer le suivi de l'animal ; surtout lorsque le premier prélèvement donne un index Platelia® élevé (>2). Toutefois dans les quelques cas rapportés, la baisse de l'index n'est pas toujours liée à une diminution des symptômes (informations obtenues dans 5 cas sur 10 par conversations téléphoniques avec les propriétaires).

La valeur prédictive positive de 93% (96% si le seuil pris en compte est un $\text{index} \geq 1$) obtenue lors de notre expérience nous incite à croire en la bonne fiabilité de ce test pour cette affection lors de résultats positifs. Toutefois il faut remarquer que le lot témoin n'est constitué que de 10 animaux. L'animal ayant donné un résultat positif au test est un chien au comportement fouisseur très développé malgré un mode de vie urbain.

V. CONCLUSION

Nous avons étudié les dossiers de 70 carnivores domestiques souffrant de rhinite chronique et ayant déjà subi divers examens complémentaires (examen tomodensitométrie, mycologie, test sérologique de détection des anticorps). L'aspergillose rhinosinusale est, dans tous les cas, retenue comme première hypothèse diagnostique.

Cette mycose opportuniste des cavités nasales et des sinus est provoquée par des champignons du genre *Aspergillus* (*Aspergillus fumigatus* en particulier).

Le galactomannane, polysaccharide constituant de la paroi d'*Aspergillus fumigatus* est l'antigène utilisé en routine chez l'homme pour détecter une aspergillose invasive par ELISA (seuil de détection 1ng/mL). Nous avons testé par cette méthode le sérum de ces 70 animaux.

Par ce test, nous avons obtenu 15 réponses positives (25 si l'on considère l'index \geq 1). Nous avons étudié la valeur diagnostique que possède ce test ELISA-Platelia®. La sensibilité et la spécificité sont respectivement de 20 (34 si l'on considère l'index \geq 1) et 90%. Ces valeurs en font donc un mauvais test pour confirmer une aspergillose dans le cas d'images évocatrices de cette pathologie à l'examen tomodensitométrie.

Toutefois, le test semble fiable pour juger de l'efficacité d'un traitement lors de suivi d'un animal. Après traitement spécifique, l'index Platelia® diminue dans 7 cas sur 10 dans notre étude.

Ce test semble d'autant plus fiable pour le suivi que l'index est très élevé lors du premier prélèvement. L'évolution de l'index est alors corrélée aux symptômes. Ce test est donc intéressant pour un nombre assez restreint d'animaux.

La sérologie demeure une piste intéressante de recherche pour effectuer le suivi et pour pourquoi pas prévenir les récurrences en instaurant rapidement la reprise du traitement en cas de hausse de l'index.

VI. BIBLIOGRAPHIE

- 1- ANDRIOLE VT (1993). Infections with *Aspergillus* species. Clin. Infect. Dis., **17**, 481-486.
- 2- BARONE R (1986). La tête osseuse du chien. In : Anatomie comparée des mammifères domestiques. 3^{ème} Ed. Tome 1. Paris, Vigot Frères, 117 –124.
- 3- BODEY G, VARTIVARIAN S (1989). Aspergillosis. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., **8**, 413-437.
- 4- BRAY JP (1999). Persistent nasal discharge. In : DUNN JK. Textbook of Small Animal Medicine. Philadelphia, WB Saunders, 82-86.
- 5- BRETAGNE S, MARMORAT-KHUONG A, KUENTZ M, LATGE JP, BART-DELABESSE E, CORDONNIER C (1997). Serum *Aspergillus* galactomannan antigen testing by sandwich ELISA: practical use in neutropenic patients. J. Infect., **35**, 7-15.
- 6- BUCHHEIDT D, BAUST C, SKLADNY H, *et al* (2001). Detection of *Aspergillus* species in blood and bronchoalveolar lavage samples from immunocompromised patients by means of 2-step polymerase chain reaction: clinical results. Clin. Infect. Dis., **33**, 428-435.
- 7- BURNIE J (1991). Antigen detection in invasive aspergillosis. J. Immunol. Methods, **143**, 187-195.
- 8- BUSSIERAS J, CHERMETTE R (1991). Abrégé de Parasitologie vétérinaire-Fascicule IV-Entomologie. Alfort, Service de parasitologie. 163p.
- 8bis- CABANES FJ, *et al* (1996). Seasonal study of the fungal biota of the fungus of dogs. Mycopathol., 133: 17.
- 9- CHANOIT G, BARDET J-F (1999). Etude rétrospective de 52 cas de rhinoscopie chez le chien et le chat. Prat. Méd. Chir. Anim. Comp., **34**, 499-510.

- 10- CHERMETTE R, BUSSIERAS J (1993). Abrégé de Parasitologie Vétérinaire-Fascicule V-Mycologie. Alfort, Service de Parasitologie, 52p.
- 11- COLLAS G (1996). Pathologie des cavités nasales et sinusales chez le chien et le chat. Prat. Méd. Chir. Anim. Comp., **31**, 479-499.
- 12- COSTA C, COSTA JM, DESTERKE C, BOTTEREL F, CORDONNIER C, BRETAGNE S (2002). Real-time PCR coupled with automated DNA extraction and detection of galactomannan antigen in serum by enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of invasive aspergillosis. J. Clin. Microbiol., **40**, 2224-2227.
- 13- DE BOCK R, GYSSENS I, PETERMANS M, NOLARD N (1989). *Aspergillus* in pepper. Lancet, **II**, 331-332.
- 14- DONNELLY JP, DE PAUW BE (2004). Voriconazole: a new therapeutic agent with an extended spectrum of antifungal activity. Clin. Microbiol. Infect., **10 Suppl. 1**, 107-117.
- 15- DUPONT B, HUBER M, KIM S, BENNET J (1987). Galactomannan antigenemia and antigenuria in aspergillosis: studies in patients and experimental infected rabbits. J. Infect. Dis., **155**, 1-11.
- 16- DUPONT B, IMPROVISI L, PROVOST F (1990). Détection de galactomannane dans les aspergilloses invasives et animales avec un test au latex. Bull. Soc. Fr. Mycol. Med., **XIX**, 35-42.
- 17- EUZEBY J (1992). Pathologie médicale et comparée. Fondation Marcel Mérieux, Tome 1, 194-261.
- 18- EVANS HE, CHRISTENSEN GC (1979). The respiratory apparatus, In Miller's Anatomy of the dog, WB Saunders, Philadelphie, 507-543.
- 19- FUJITA S, MATSUBARA F, MATSUDA T (1988). Demonstration of antigenemia in patients with invasive aspergillosis by biotin-streptavidin enzyme-linked immunosorbent assay. J. Lab. Clin. Med., **112**, 464-470.

- 20- GARCIA ME, CABALLERO J, CRUZADO M, ANDRINO M, GONZALES-CABO JF, BLANCO JL (2001). The value of the determination of anti-*Aspergillus* IgG in the serodiagnosis of canine aspergillosis: comparison with galactomannan detection. *J. Vet. Med. B*, **48**, 743-750.
- 21- GELATT KN, CHRISMAN CL, SAMUELSON DA, SHELL LG, BUERGELT CD (1991). Ocular and systemic aspergillosis in a dog. *J. Am. An. Hosp. Ass.*, **27**, 427-431.
- 22- GOODALL A, LANE JG, WARNOCK DW (1984). The diagnosis and treatment of a case of nasal aspergillosis in a cat. *J. Small Anim. Pract.*, **25**, 627-633.
- 23- GRILLOT R, AMBROISE-THOMAS P (1994). Diagnostic des mycoses profondes. *Rev. Prat.*, **44**, 1193-1197.
- 24- GUILLOT J, CHERMETTE R (1997). Le traitement de mycoses des carnivores domestiques. *Point Vét.*, **28**, 51-61.
- 25- GUILLOT J, SARFATI J, DE BARROS M, CADORE JL, JENSEN HE, CHERMETTE R (1999). Comparative study of serological tests for the diagnosis of equine aspergillosis. *Vet. Rec.*, **145**, 348-349.
- 26- HARKIN KR (2003). Aspergillosis: an overview in dogs and cats. *Vet. Med.*, **98**, 602-618.
- 27- HARVEY CE (1979). The nasal septum of the dog: is it visible radiographically? *Vet. Radiol.*, 1979, **20**, 88-90.
- 28- HARVEY CE (1992). Chronic nasal disease diagnosis and management. Course 8525, School of Veterinary Medicine University of Pennsylvania, Philadelphia, 1-5.
- 29- HARVEY CE, O'BRIEN JA (1983). Nasal aspergillosis-penicillosis. In Kirk RW. *Current Vet. Therapy VIII*. Philadelphia : W.B. Saunders, 236-241.

- 30- HENNET P (1993). Quel est votre diagnostic? Aspergillose chez un Sibérien Husky. Point Vét., **25**, 73-77.
- 31- HENNET P (1993). Conduite à tenir face à un jetage chronique. Point Vét., **25**, 25-35.
- 32- HOSTON MOORE A, HANNA FY (1995). Mycotic osteomyelitis in a dog following nasal aspergillosis. Vet. Rec., **137**, 349-350.
- 33- JENSEN HE, STYNEN D, SARFATI J, LATGE JP (1993). Detection of galactomannan and the 18 kDa Antigen from *Aspergillus fumigatus* in serum and urine from cattle with systemic aspergillosis. J. Vet. Med. B, **40**, 397-48.
- 34- JOHNSON T, KURUP V, RESNICK A, ASH R, FINK J, KALBFKEISH J (1989). Detection of circulating *Aspergillus fumigatus* antigen in bone marrow transplant patients. J. Lab. Clin. Med., **114**, 700-707.
- 35- KAHLER JS, LEACH MW, JANG S, WONG A (1990). Disseminated aspergillosis attributable to *Aspergillus deflexus* in a Springer Spaniel. J. Am. Vet. Med. Ass., **197**, 871-874.
- 36- KAMI M, FUKUI T, OGAWA S *et al* (2001). Use of real-time PCR on blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. Clin. Infect. Dis., **33**, 1504-1512.
- 37- KHAN ZU, RICHARDSON MD, WARNOCK DW, LANE JG (1984). Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the diagnosis of *Aspergillus fumigatus* intranasal infection of the dog. Sabouraudia, **22**, 251-254.
- 38- KHUONG A (1994). Recherche d'antigènes aspergillaires sériques par technique ELISA chez des patients neutropéniques. Thèse doctorat en pharmacie. 73p.
- 39- KING JM (1995). Systemic *Aspergillus terreus* infection in a dog. Vet. Med., **90**, 1134.
- 40- KWAK EJ, HUSAIN S, OBMAN A, MEINKE L, STOUT J, KUSNE S, WAGENER MM, SINGH N (2004). Efficacy of galactomannan antigen in the Platelia *Aspergillus* enzyme

immunoassay for diagnosis of invasive aspergillosis in liver transplant recipients. J. Clin. Microbiol., **42**, 435-438.

41- LATGE JP (1999). *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. Clin. Microb. Rev., **12**, 310-350.

42- LATGE JP, KOBAYASHI H, DEBEAUPUIS JP, DIAQUIN M, SARFATI J, WIERUSZESKI JM, *et al* (1994). Chemical and immunological characterization of the extracellular galactomannan of *Aspergillus fumigatus*. Infect. Immun., **62**, 5424-5433.

43- LATGE JP, MOUTAOUAKIL M, DEBEAUPUIS JP, BOUCHARA JP, HAYNES K, PREVOST MC (1991). The 18-kilodalton antigen secreted by *Aspergillus fumigatus*. Infect. Immun., **59**, 2586-2594.

44- LECOINDRE P (1993). Aspergillose nasale chez un chien. Action Vét., **1248**, 14-16.

45- LE PAPE P, DEUNFF J (1987). Antigène glycoprotéique circulant d'*Aspergillus fumigatus*. Détection dans le sérum de souris par une technique ELISA. Bull. Soc. Fr. Mycol. Med., **XVI**, 169-172.

46- LOMBARDI G, FARINA C, ANDREONI S, D'ANTONIO D, FAGGI E, MANSO E, MAZZONI A (2002). Multicenter evaluation of an enzyme immunoassay (Platelia *Aspergillus*) for the detection of *Aspergillus* antigen in serum. Mycopathologia, **155**, 129-133.

47- MATHEWS KG, KOBLIK PD, RICHARDSON EF, DAVIDSON AP, PAPPAGIANIS D (1996). Computed tomographic assessment of noninvasive intranasal infusions in dogs with fungal rhinitis. Vet. Surg., **25**, 309-319.

48- MATHEWS KG, DAVIDSON AP, KOBLIK PD, RICHARDSON EF, KOMTEBEDDE J, PAPPAGIANIS D *et al* (1998). Comparison of topical administration of clotrimazole through surgically placed versus non surgically placed catheter treatment of nasal aspergillosis in dogs: 60 cases (1990-1996). J. Am. Vet. Med. Ass., **213**, 501-506.

- 49- McKIERNAN BC (1995). Sneezing and nasal discharge, *In*: ETTINGER SJ, FELDMAN EC. Textbook of veterinary internal medicine-diseases of the dog and cat. 4th Ed. Vol 1. Philadelphia, WB Saunders, 79-85.
- 50- MENNINK-KERSTEN MA, KLONT RR, WARRIS A, OP DEN CAMP HJ, VERWEIJ PE (2004). *Bifidobacterium* lipoteichoic acid and false ELISA reactivity in *Aspergillus* antigen detection. *Lancet.*, **363**, 325-327.
- 51- MORTELLARO CM, DELLA FRANCA P, CARETTA G (1989). *Aspergillus fumigatus*, the causative agent of infection of the frontal sinuses and nasal chambers of the dog. *Mycoses*, **32**, 327-335.
- 52- MULON PY (2002). Diagnostic expérimental de l'aspergillose rhinosinusale du chien. Thèse vétérinaire, Alfort.
- 53- OPAL S, ASP A, CANNABY P, MORSE P, BURTON L, HAMMER P (1986). Efficacy of infection control measures during a nosocomial outbreak of disseminated *Aspergillosis* associated with hospital reconstruction. *J. Infect. Dis.*, **153**, 634-637.
- 54- PASTOR J, PUMAROLA M, CUENCA R, LAVIN S (1993). Systemic aspergillosis in a dog. *Vet. Rec.*, **132**, 412-413.
- 55- PERRAUD M, PIENS M, NICOLOYANNIS N, GARIN J, SEPETJAN M (1985). Travaux de démolition et risques d'aspergillose pulmonaire invasive. *Press. Méd.*, **14**, 2195.
- 56- ROGERS T, HAYNES K, BARNES R (1990). Value of antigen detection in predicting invasive pulmonary aspergillosis. *Lancet*, **336**, 1210-1213.
- 57- RUSSO M, LAMB CR, JAKOVLJEVIC S (2000). Distinguishing rhinitis and nasal neoplasia by radiography. *Vet. Radiol. Ultrasound*, **41**, 118-124.
- 58- SABETTA J, MINITER P, ANDRIOLE V (1985). The diagnosis of invasive aspergillosis by an enzyme-linked immunoabsorbent assay for circulating antigen. *J. Infect. Dis.*, **152**, 946-953.

- 59-SANGUINETTI M, POSTERARO B, PAGANO L, PAGLIARI G, FIANCHI L, MELE L, LA SORDA M, FRANCO A, FADDA G (2003). Comparaison of real-time PCR, conventional PCR and galactomannan antigen detection by enzyme-linked immunosorbent assay using bronchoalveolar lavage fluid samples from hematology patients for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 3922-3925.
- 60- SAUNDERS JH, ZONDERLAND JL, CLERCX C, GIELEN I, SNAPS FR, SULLIVAN M, van BREE H, DONDELINGER RF (2002). Computed tomographic findings in 35 dogs with nasal aspergillosis. *Vet. Radiol. Ultrasound*, **46**, 5-9.
- 61- SAUNDERS JH, VAN BREE H, GIELEN I, DE ROOSTER H (2003). Diagnostic value of computed tomography in dogs with chronic nasal disease. *Vet. Radiol. Ultrasound*, **44**, 409-413.
- 62- SHARP NJH (1993). Treatment of nasal aspergillosis with enilconazole. *J. Vet. Intern. Med.*, **7**, 40-43.
- 63- SHARP NJH, HARVEY CE, O'BRIEN JA (1991). Treatment of canine nasal aspergillosis/penicilliosis with fluconazole. *J. Small Anim. Pract.*, **32**, 513-516.
- 64- SHARP NJH, HARVEY CE, SULLIVAN M (1991). Canine nasal aspergillosis and penicilliosis. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, **13**, 41-48.
- 65- SHARP NJH, SULLIVAN M (1986). Treatment of canine nasal aspergillosis with systemic ketoconazole and topical enilconazole. *Vet. Record*, **118**, 560-561.
- 66- SHARP NJH, SULLIVAN M, HARVEY CE (1992). Treatment of canine nasal aspergillosis. *In Practice*, **14**, 27-31.
- 67- SHERERTZ R, BELANI A, KRAMER B (1987). Impact of air filtration on nosocomial *Aspergillus* infections. *Am. J. Med.*, **83**, 709-718.

- 68- SIEMANN M, KOCH-DORFLER M, GAUDE M (1998). False-positive results in premature infants with Platelia *Aspergillus* sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *Mycoses*, **41**, 373-377.
- 69- STYNEN D, GORIS A, SARFATI J, LATGE JP (1995). A new sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay to detect galactofuran in patients with invasive aspergillosis. *J. Clin. Microbiol.*, **33**, 497-500.
- 70- STYNEN D, SARFATI J, GORIS A, PREVOST MC, LESOURD M, KAMPUIS H, *et al* (1992). Rat monoclonal antibodies against *Aspergillus* galactomannan. *Inf. Immun.*, **60**, 2237-2245.
- 71- TALBOT G, WEINER M, GERSON S, PROVENCHER M, HURWITZ S (1987). Serodiagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancy: validation of the *Aspergillus fumigatus* antigen radioimmunoassay. *J. Infect. Dis.*, **155**, 12-27.
- 72- TASKER S, KNOTTENBELT CM, MUNRO EAC, STONEHEWER J, SIMPSON JW, MACKIN AJ (1999). Aetiology and diagnosis of persistent nasal disease in the dog: a retrospective study of 42 cases. *J. Small Anim. Pract.*, **40**, 473-478.
- 73- THOMAS R, HILBE M, WOLFF C, von WERTHERN C, POSPISCHIL A (1999). Three dogs with systemic aspergillosis. *Eur. J. Vet. Pat.*, **5**, 33-36.
- 74- TOMSA K, GLAUS TM, ZIMMER C, GREENE CE (2003). Fungal rhinitis and sinusitis in three cats. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **222**, 1380-1384.
- 75- TRUMEL C, GUILLOT J, VIGUIER E (2001). Aspergilloses et pénicillioses chez le chien. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, **36**, 533-543.
- 76- WATT PR (1994). Diagnosis and treatment of nasal aspergillosis in a Doberman Pinscher. *Aus. Vet. J.*, **24**, 182-185.
- 77- WHEAT L (2003). Rapid diagnosis of invasive aspergillosis by antigen detection. *Transpl. Infect Dis.*, **5**, 158-166.

78- WILLIS AM, MARTIN LC, STILES J (1999). Sino-orbital aspergillosis in a dog. J. Am. Vet. Med. Ass., **214**, 1644-1646.

79- WILSON E, HEARN V, MACKENZIE D (1987). Evaluation of a test to detect circulating *Aspergillus fumigatus* antigen in a survey of immunocomprised patients with proven or suspected invasive disease. J. Med. Vet. Mycol., **25**, 365-374.

RECHERCHE DU GALACTOMANNANE DANS LE SERUM DES CARNIVORES DOMESTIQUES PRESENTANT UNE ASPERGILLOSE RHINO-SINUSALE

NOM et Prénom : LAMY Soline

Résumé : Le diagnostic de l'aspergillose rhinosinusale des carnivores domestiques est toujours difficile pour le clinicien et nécessite généralement plusieurs examens complémentaires.

Le galactomannane, polysaccharide constituant de la paroi d'*Aspergillus fumigatus*, est l'antigène utilisé en routine pour détecter une aspergillose invasive par ELISA en médecine humaine (Platelia® *Aspergillus*).

Nous avons recherché la présence de galactomannane dans le sérum de 70 carnivores domestiques souffrant de rhinites chroniques, dont la première hypothèse diagnostique retenue était une aspergillose rhinosinusale. Notre but était d'évaluer la valeur diagnostique du test ELISA Platelia®, ainsi que son intérêt pour le suivi des patients.

Le groupe A est constitué de 17 chiens et 1 chat ayant subi un examen tomodensitométrique confirmant le diagnostic d'aspergillose rhinosinusale. Deux résultats positifs ont été obtenus par le test ELISA Platelia® (sensibilité de 11% et spécificité de 90%).

Le groupe B est constitué de 47 chiens et 5 chats dont le diagnostic d'aspergillose est probable. Douze résultats positifs ont été obtenus (sensibilité de 23% et spécificité de 90%).

Au vu de ces résultats et avec une valeur prédictive négative pour les groupes A et B confondus de 14%, nous pouvons affirmer que le test ELISA Platelia® n'est pas envisageable dans un but diagnostique.

Parmi les animaux examinés, dix ont pu être testés au moins 2 fois. L'index Platelia® diminue dans 7 cas sur 10 entre 2 prélèvements. Le dosage de l'antigène galactomannane est d'autant mieux corrélé aux symptômes que l'index Platelia® est élevé lors du premier prélèvement. Ce test est donc intéressant dans un nombre assez restreint de cas.

Mots clés : *Aspergillus fumigatus*, galactomannane, ELISA, antigène, chien, chat, sérologie.

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Pr. GUILLOT

Assesseur : Pr. MOISSONNIER

Adresse de l'auteur :

Melle LAMY Soline
16 Quai Fernand Saguet
94700 MAISONS ALFORT
France

THE DETECTION OF GALACTOMANNAN IN SERUM SAMPLES FROM DOMESTIC CARNIVORES WITH RHINOSINUSAL ASPERGILLOSIS

SURNAME, Given name : LAMY Soline

Summary:

The diagnosis of rhinosinus al aspergillosis in domestic carnivores is always difficult for the clinician and generally requires radiographic and/or tomographic examination and laboratory tests.

The galactomannan, constituent polysaccharide of cell wall of *Aspergillus fumigatus*, is the antigen routinely used for the diagnosis of invasive aspergillosis in humans (*Aspergillus* Platelia®)

We tested by ELISA the serum of 70 domestic carnivores suffering from chronic rhinitis. In these animals, a presumptive diagnosis of aspergillosis was retained. Our objective was to evaluate the value of this test for the diagnosis, as well as for the follow-up of the animals.

Group A consists of 17 dogs and 1 cat for which a tomodensitometric examination confirmed the diagnosis of aspergillosis. Two serum samples were positive by ELISA Platelia® (sensitivity = 11% and specificity = 90%).

Group B consists of 47 dogs and 5 cats for which the diagnosis of aspergillosis was probable. Twelve positive results were obtained (sensitivity = 23% and specificity = 90%).

These results clearly indicated that the ELISA Platelia® should not be recommended for the diagnosis of rhinosinus al aspergillosis in domestic carnivores.

Among the animals we examined, a follow-up was possible for ten dogs. The Platelia® index decreased in 7 cases out of 10 during the follow-up. The dosage of the antigen galactomannan was correlated with the symptoms when the Platelia® index was high at the time of the first analysis. The value of the ELISA is thus restricted to a low number of cases.

Keywords: *Aspergillus fumigatus*, galactomannane, ELISA, antigen, dog, cat, serology.

Jury:

Président: Pr.

Director: Pr. GUILLOT

Assessor: Pr. MOISSONNIER

Author's address:

Melle LAMY Soline
16 Quai Fernand Saguet
94700 MAISONS ALFORT
France

LAMY Soline Recherche du galactomannane dans le sérum des carnivores domestiques présentant une aspergillose rhino-sinusale 2004