

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire



Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences vétérinaires

# Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de Docteur

en

Médecine vétérinaire

**THEME**

## Etude bibliographique de l'aspergillose aviaire

**Présenté par :**

Mr KASSAS Mustapha Amir  
Mr KHIDER Islam

Soutenu à huis clos, le 10/12/2020 devant le jury :

Pr KHELEF Djamel	Professeur (ENSV), Alger	Président
Dr SALHI Omar	MCA (ISV), Blida	Examinateur
Dr MESSAÏ Chafik Redha	MCA (ENSV), Alger	Promoteur

Année universitaire

2019-2020

## *Déclaration sur l'honneur*

*Nous, soussignés Monsieur KASSAS Mustapha Amir et monsieur KHIDER Islam, déclarons être pleinement conscients que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, nous nous engageons à citer toutes les sources que nous avons utilisées pour écrire ce mémoire.*

*Signature*

Two handwritten signatures in blue ink. The signature on the left is more stylized and abstract, while the signature on the right is more legible and appears to be 'K. Khider'.

## *Dédicace*

Je dédie ce modeste travail en signe de reconnaissance aux personnes les plus chères de ma vie, qui m'ont soutenu durant toute ma période d'étude, avec tous leurs conseils, et leur patience.

À mes très chers parents *ALI* et *NABILA* pour leurs sacrifices et leur soutien durant toute ma vie, rien ne saurait exprimer mon respect et mon amour éternel.

À mes adorables petites sœurs *CAMELIA & IMANE*, vous m'avez toujours soutenu et encouragé, vous êtes les meilleures sœurs au monde.

À toute ma famille hommes, femmes et enfants.

Au meilleur binôme du monde : *ISLEM*, le plus gentil et le plus compréhensif ainsi qu'à toute sa famille.

À mes amis les plus respectueux : *ZAKI*, *FOUAD*, et *RHYAD*, qui m'ont accompagné durant mon cursus.

À tous ceux qui m'ont supporté dans les moments les plus durs et qui ont également su partager ma joie dans les meilleurs moments.

À tous ceux à qui ma réussite tient à cœur À vous tous je vous dis merci, et je vous dédie ce travail.

A tous mes camarades et ceux que j'ai oublié...

À mon promoteur *Dr MESSAI*,

à qui je dois toute la gratitude et le respect

À mes enseignants, mon profond respect.

AMIR.

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail en signe de reconnaissance aux personnes les plus chères de ma vie, qui m'ont soutenu durant toute ma période d'étude, avec tous leurs conseils, et leur patience.*

## *À mes chers parents Djamel, Fatiha*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

## *À mes chers et adorables frères et sœurs*

*À mon grand frère **Billel**, et à ma grande sœur **Fatima**, je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous, puisse l'amour et la fraternité nous unis à jamais.*

*À ma sœur **Asma**, tu m'as toujours soutenue et encouragé tu es la meilleure sœur au monde.*

*À mon petit frère **Mouloud**, et mes petites sœurs **Farah** et **Salsabil** que j'aime profondément.*

*À mes grands-mères, et à la mémoire de **babassidou** que ce travail soit l'expression de vos vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières.*

*À mon petit ange **Ayham**, que dieu te procure une vie pleine de santé, bonheur et réussite.*

*À mon binôme **Amir** ainsi que toute sa famille,*

*C'était un honneur de réaliser ce travail avec toi.*

## *À mes intimes,*

***Kheiro, Fouad, Salah Eddine, Kamel, Aymen, Zaki, Rhyad, Mourad**, merci vous êtes les meilleurs.*

***Bouchra, Marwa, Wissal, Soumiya, Warda, Batoul** merci pour vos soutiens.*

*À mon promoteur, **MESSAI** qui m'a guidé et éclairé de ses conseils tout au long de ce projet.*

*À tous ceux qui m'ont supporté dans les moments les plus durs et qui ont également su partager ma joie dans les meilleurs moments. A tous ceux à qui ma réussite tient à cœur, à vous tous je vous dis merci, et je vous dédie ce modeste travail.*

*A tous mes camarades et ceux que j'ai oublié.*

**ISLEM**

## Remerciements

Nous remercions en premier lieu, *Dieu* le clément et miséricordieux, qui par sa grâce, nous a permis de réaliser ce modeste travail.

Nous remercions sincèrement *Pr KHELEF*, l'enseignant et la personne, pour avoir accepté de présider notre jury, qu'il trouve en ce modeste travail l'expression de notre profond respect.

À *Dr SALHI*, qui a accepté d'examiner ce travail, à qui nous devons toute notre gratitude.

On adresse nos remerciements à notre promoteur *Dr MESSAI*, pour avoir dirigé notre présent travail, pour ses encouragements et son sourire rassurant. Qu'il veuille bien recevoir ici l'hommage de notre profond respect.

Nous tenons à remercier tous le personnel de l'ENSV, pour leur aide et leur patience, et surtout les responsables du service de la bibliothèque.

Amicalement, nous remercions tous les étudiants de la promotion 2015, pour leur présence et soutien.

Que soit associé à ces remerciements, l'ensemble du corps enseignant de l'ENSV qui nous a accompagné dans notre cursus de 5 ans. Ainsi à toute personne qui nous a aidé à effectuer ce travail.

Merci.

## Résumé

L'Aspergillose est une infection fongique causée par certaines formes de champignons pathogènes, le plus fréquent est *Aspergillus fumigatus*. Elle affecte principalement les volailles.

L'objectif de cette étude est de mieux connaître cette maladie, des recherches bibliographiques ont été effectuées sur tout ce qui concerne cette infection, un premier chapitre parle sur la mycologie générale et les principales moisissures et champignons ensuite un deuxième chapitre aborde *Aspergillus Fumigatus*, et son importance économique et sanitaire au sein des élevages avicoles ainsi le cycle évolutif, pathogénie, signes cliniques et lésions, diagnostic de l'aspergillose.

Enfin un troisième chapitre qui entame les antifongiques et les résistances aux antifongiques ainsi que toutes les molécules utilisées et leur mode d'action et aussi leur résistance.

Mots clés : l'Aspergillose aviaire ; *Aspergillus fumigatus* ; antifongiques

## Abstract :

Aspergillosis is a fungal infection caused by certain forms of pathogenic fungi, the most common being *Aspergillus fumigatus*. It mainly affects poultry.

The objective of this study is to better understand this disease, bibliographical research has been carried out on everything related to this infection, a first chapter discusses the general mycology and the main moulds and fungi then a second chapter discusses *Aspergillus Fumigatus*, and its economic and sanitary importance in poultry farms and the evolutionary cycle, pathogenesis, clinical signs and lesions, diagnosis of aspergillosis.

Finally, a third chapter which discusses antifungals and resistance to antifungals as well as all the molecules used and their mode of action and also their resistance.

Key words: Aspergillosis; *Aspergillus fumigatus*; antifungals

## الملخص

داء الأسبرجيلوس هو عبارة عن عدوى فطرية ناتجة عن بعض الفطريات، والأكثر شيوعاً هو الأسبرجيلوس فوميجاتوس. وهو يؤثر أساساً على الدواجن.

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة المزيد من المعلومات حول هذا المرض ، وقد أجريت بحوث ببيولوجيا جغرافية حول كل ما يتعلق بهذا المرض ، فصل أول يتحدث عن علم الفطريات العامة والقوالب والفطريات ، ثم فصل ثان يتحدث عن الأسبرجيلوس فوميجاتوس، وأهميتها الاقتصادية والصحية داخل مزارع الدواجن، فضلاً عن دورة التطور، والأمراض، والأعراض السريرية ، وتشخيص المرض

وأخيراً فصل ثالث يؤثر على مقاومة مضادات الفطريات ومضادات الفطريات بالإضافة إلى جميع الجزيئات المستخدمة و أيضاً طريقة العمل و المقاومة

الكلمات المفتاحية : الأسبرجيلوس ; الأسبرجيلوس فوميجاتوس ; مضادات الفطريات

## LISTE DES FIGURES

**Figure 1** : Classification générale des champignons. (CHABASSE, 2001)

**Figure 2** : Classification des Zygomycètes (HERBRECHT et al, 1999)

**Figure 3** : Classification des Deutéromycètes (CONTET-AUDONNEAU et al, 1998)

**Figure 4** : Otis tarda (Chudy, 2008)

**Figure 5** : Corvus monedula( Hamilton, 2007)

**Figure 6** : Hiérarchisation des 23 maladies les plus importantes chez les volailles, (l'ANSES, 2012)

**Figure7**: Facteurs influençant la qualité de la litière et l'apparition de la maladie

**Figure8** : Œufs infectés par A.fumigatus. (American Association of avian Pathologists)

**Figure 9** : Aspect macroscopique de la membrane chorioallantoïdienne d'oeufsembryonnés, infectés au 10ème jour d'incubation avec  $10^2$  conidies d'Aspergillus fumigatus (JACOBSEN et al, 2010)

**Figure 10** : Récapitulatif des différents mécanismes impliqués dans la pathogénie de l'aspergillose des oiseaux (Rhiliouch Julia, Paris, 2013)

**Figure 11**: Forme aiguë de l'aspergillose, pneumonie fibrino-séreuse, exsudat fibrineux coagulé obturant la trachée et les bronches, près de la bifurcation (I DINEV-Ceva Santé Animale)

**Figure 12**: Aspergillose (pneumonie des couvoirs). Difficultés respiratoires (dyspnée) (I DINEV-Ceva Santé Animale)

**Figure 13**: Aspergillose pulmonaire. Multiples nodules denses de couleur gris blanchâtre ou jaunâtre. (I DINEV-Ceva Santé Animale)

**Figure 14 & 15**: Nodules aspergillaires caséux dans les sacs aériens. (LDA22 LABORATOIRE DE DÉVELOPPEMENT ET D'ANALYSES, HJ BARNES)

**Figure 16** : Conidie d'aspergillus spp. (Coloration bleu de méthylène x300) (AAAP : American Association of avianPathologists)

**Figure 17** : L'aspergillose peut être confirmée par l'examen microscopique des lésions.

Spores (flèche a) et hyphes (flèche b) de la moisissure. (I DINEV-Ceva Santé Animale)

**Figure 18 :** Nodules aspergillaires sur les poumons de dinde (**KUNKLE, 2003**) (d'après **Peckman**)

**Figure 19 :** Lésion diffuse d'aspergillose chez un goéland argenté (*Larus argentatus*) Poumons et sacs aériens recouverts d'un matériel caséux blanchâtre avec de la moisissure grisâtre, suggérant une sporulation fongique. (**CACCIUTTOLO et al, 2009**)

**Figure 20 :** Lésion osseuse et médullaire, section longitudinale d'une colonne vertébrale de poulets. Ostéite au niveau du corps vertébral associée à une compression médullaire (**VAN VEEN et al, 1999**)

**Figure 21 :** Methode du drapeau, (**Najoui Salah Eddine, CHU OUJDA, 2017**)

**Figure 22:** Critères d'identification des principales espèces d'aspergillus (**CHERMETTE , BUSSIERAS , 1993**)

**Figure 23 : A, B** Coloration Hématéine-Eosine-Safran (HES) (A) et à l'acide périodique Schiff (PAS) (B) de coupes histologiques de poumons de dindonneaux. Les filaments fongiques apparaissent en rose (A) ou en mauve (B), (**Melloul, 2015**)

**Figure 24 :** Structure imidazole (**OEHHA, 2011**)

**Figure 25 :** structure Triazole (**OEHHA, 2011**)

**Figure 26 :** Dérivés azolés - Antifongiques (**VAN BAMBEKE, 2011-2012**)

**Figure 27 :** Mécanisme d'action des azolés - Advances in synthetic approach to and antifungal activity of triazoles (**DENIS B, 2010**)



## **LISTE DES TABLEAUX**

**Tableau 1** : espèces aviaires chez lesquelles des cas d'aspergillose sont fréquemment observés (d'après **CHERMETTE, BUSSIERAS, 1993 ; JONES, OROSZ, 2000 ; REDIG, 1993**).

**Tableau 2** : posologies des molécules les plus fréquemment utilisées pour le traitement de l'aspergillose aviaire (posologies pour *Psittacus erithacus erithacus*) (**OROSZ, 2000**)

## LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

\$ : Dollar Américain

% : Pourcent

< : Inferieur

> : Supérieur

° C: Degré Celsius

ABC: ATP Binding Cassette

ADN : L'acide désoxyribonucléique

AI: Aspergillose Invasive

ALB1: albino 1

ARP1: aspergillus reddish pink 1

ATP: Adénosine-Triphosphate

C.albicans: Candida albicans

CAM: Chorioallantoic membrane (Membrane Chorioallantoidienne)

CGRA : Le gène qui code pour la protéine qui détermine la virulence de l'aspergillus fumigatus

cm: centimètre

CMI: Concentration minimale inhibitrice

CO<sub>2</sub> : Dioxyde de carbone

EPAF: Effet post antifongique

EPPH: Effet de premier passage hépatique

g: Gramme

GMQ: Gain moyen quotidien

h: Heure

HES : Hémateine Eosine Safran

KDa : Kilo Dalton

Kg : Kilogramme

KOH: Hydroxyde de potassium

L: litre

m<sup>2</sup>: mètre carré

MFS: Major Facilitator Superfamily

mg: milligramme

min: Minutes

mL: Millilitre

mm: Millimètre

NH<sub>3</sub>: Gaz de l'ammoniac

OH: Hydroxyle

PAS: Periodic Acid Schiff (Acide Périodique Schiff)

pH: Potentiel hydrogène

PI : Post Infection

spp : Est une abréviation qui signifie "plusieurs espèces"

α: alpha

μm: micromètre

## SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
<b>❖ PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>• CHAPITRE 1 : MYCOLOGIE GENERALE</b>	
1- INTRODUCTION.....	2
2- DEFINITIONS, CHAMPIGNONS, ET MYCOSES.....	2
3-POUVOIR PATHOGENE.....	2
4-CLASSIFICATION DES CHAMPIGNONS D'INTERET GENERAL.....	3
5-TAXONOMIE.....	3
5-1- Les Mastigomycotina.....	4
5-2- Les zygomycotina.....	4
5-3- Les Ascomycotina.....	5
5-4- Les Basidiomycotina.....	5
5-5- Les Deuteromycotina (champignons imparfaits ou Fungiimperfecti).....	6
6- PRINCIPALES MOISSURES D'INTERET MEDICAL.....	7
6-1- Les mucorales.....	7
6-2- Les Aspergillus.....	7
6-3- Les autres mucenidés ou hyalohyphomycètes.....	7
6-4- Les dematiés (ou phaeohyphomycètes et les coelomycètes).....	8
<b>• CHAPITRE 2 : ASPERGILLOSE AVIAIRE</b>	
1- INTRODUCTION.....	9
2- HISTORIQUE.....	9
3- DEFINITION.....	10
4- IMPORTANCE ECONOMIQUE ET SANITAIRE.....	10

4-1- Economique .....	10
4-2- Sanitaire .....	11
5- ETIOLOGIE .....	12
6- EPIDEMIOLOGIE .....	12
6-1- Facteurs prédisposants .....	12
6-1-1- Espèces affectées .....	12
6-1-2- Age .....	13
6-1-3- Etat de santé .....	13
6-1-4- Thérapeutiques .....	13
6-2- Facteurs favorisants .....	14
6-2-1- Température .....	14
6-2-2- Densité .....	14
6-2-3- Humidité .....	14
6-2-4- Ventilation .....	14
6-3- Facteurs de virulence .....	16
6-3-1- Facteurs physiques .....	16
6-3-1-1- Adhésines .....	16
6-3-1-2- Pigments des spores .....	17
6-3-1-3- Enzymes .....	17
7- SOURCE ET MODE DE CONTAMINATION .....	17
7-1- Source de contamination .....	17
7-2- Mode de contamination .....	18
7-2-1- Voie aérienne .....	18
7-2-2- Voie transcoquillère .....	19

<b>8- PATHOGENIE</b> .....	<b>22</b>
<b>9- ASPECT CLINIQUE</b> .....	<b>24</b>
<b>9-1- L'spergillose aigue</b> .....	<b>24</b>
<b>9-2- L'aspergillose chronique</b> .....	<b>25</b>
<b>10- ASPECT LESIONNEL</b> .....	<b>25</b>
<b>10-1- Lésions macroscopiques</b> .....	<b>25</b>
<b>10-2- Aspect microscopique</b> .....	<b>27</b>
<b>11- DIAGNOSTIC</b> .....	<b>28</b>
<b>11-1- Diagnostic clinique</b> .....	<b>28</b>
<b>11-2- Diagnostic lésionnel</b> .....	<b>28</b>
<b>11-3- Diagnostic différentiel</b> .....	<b>31</b>
<b>11-4-Diagnostic de laboratoire</b> .....	<b>31</b>
<b>11-4-1- Isolement et identification</b> .....	<b>31</b>
<b>11-4-2- Coloration</b> .....	<b>32</b>
<b>11-4-3- Identification</b> .....	<b>33</b>
<b>11-4-4- Préparation histopathologique</b> .....	<b>34</b>
<b>12- TRAITEMENT</b> .....	<b>34</b>
<b>13- PROPHYLAXIE</b> .....	<b>37</b>
• <b>CHAPITRE 3 : ANTIFONGIQUES ET LES RESISTANCES AUX         ANTIFONGIQUES</b>	
<b>1- INTRODUCTION</b> .....	<b>39</b>
<b>2- LES MOLECULES</b> .....	<b>39</b>
<b>2-1- Les azolés</b> .....	<b>39</b>
<b>2-1-1- Structures</b> .....	<b>39</b>

<b>2-2- Les autres classes d'antifongiques</b> .....	<b>41</b>
<b>2-2-1- Les polyènes</b> .....	<b>41</b>
<b>2-2-2- Echinocandines</b> .....	<b>41</b>
<b>2-2-3- La caspofungine</b> .....	<b>42</b>
<b>2-2-4- Les fluoro-pyrimidines</b> .....	<b>42</b>
<b>2-2-5- Les allylamines</b> .....	<b>42</b>
<b>3-MODE D'ACTION</b> .....	<b>42</b>
<b>4- MODE DE RESISTANCE</b> .....	<b>44</b>
<b>4-1- Système d'efflux</b> .....	<b>44</b>
<b>4-2- Superproduction de la cible CYP51 codée par le gène ERG11</b> .....	<b>45</b>
<b>4-3- Modification de la cible : Diminution de l'affinité pour l'azolé</b> .....	<b>45</b>
<b>4-4- Blocage de la voie de biosynthèse de l'ergostérol</b> .....	<b>45</b>
<b>4-5- Autres formes de résistances</b> .....	<b>45</b>
<b>5- CONCLUSION</b> .....	<b>45</b>

## **INTRODUCTION**



L'Aspergillose aviaire est une maladie fongique qui touche essentiellement le poulet et la dinde, elle est causée par un champignon opportuniste du genre *Aspergillus*, elle est responsable d'une perte de production considérable (**ADJOU, 2009**).

Depuis les années 80, la consommation mondiale de viande de volailles a subi une forte progression, car elle constitue une source non négligeable de protéines animales à moindre prix. Il s'agit de la deuxième viande consommée dans le monde, et d'ici 2030, la position de la viande blanche devrait se consolider pour prendre la première place à terme (**Sergent, 2007**).

Malheureusement, la maîtrise de cette discipline en Algérie reste encore insuffisante surtout au niveau du volet pathologique dans lequel l'aspergillose aviaire parmi d'autres pathologies constitue un obstacle patent freinant son épanouissement.

Ce travail est divisé en trois chapitres distincts qui ont pour objectif de présenter cette affection et d'évaluer son importance au sein des élevages avicoles.

Dans le premier chapitre :

Nous avons abordé la mycologie générale, les principales moisissures et champignons et les classer selon leur règne, phylum, classe, famille et genre.

Dans le deuxième chapitre :

Nous avons parlé du champignon *Aspergillus Fumigatus*, et son importance économique et sanitaire au sein des élevages avicoles et surtout, expliquer les facteurs qui, au cœur même des élevages de volaille favorisent le développement de cet agent pathogène, et aussi les principaux modes de contamination.

Le dernier chapitre :

A été consacré exclusivement aux antifongiques, les molécules utilisées et leur mode d'action, ainsi que leurs résistances.

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **CHAPITRE 1 : MYCOLOGIE GENERALE**



### 1- INTRODUCTION

Les champignons ont plus d'un intérêt pour la médecine. Le fait que certains gros champignons soient toxiques est connu depuis l'Antiquité. En revanche, le rôle des champignons microscopiques en pathologie est une connaissance récente. Le but exact de la mycologie parasitaire est d'étudier tous les champignons qui peuvent vivre aux dépens d'autres animaux et plantes, que ce soit dans tout leur cycle évolutif, ou dans le cas des champignons saprophytes, par exemple, pour trouver des conditions de vie favorables dans l'organisme. **(BRUMPT, 1949)**

### 2- DEFINITIONS, CHAMPIGNONS ET MYCOSES

Les champignons (mycètes) sont des eucaryotes uni ou multicellulaires, incluant des espèces macroscopiques et d'autres microscopiques filamenteuses ou levuriforme. Dans le monde entier, ils jouent un rôle essentiel dans le recyclage de la matière organique en absorbant l'énergie des sources externes de carbone (hétérotrophes). Les grandes moisissures sont visibles à l'œil nu à cause de leurs carpophores (organes génitaux) dans le sol à certaines saisons et ne sont généralement pas un vecteur d'infections fongiques. Par contre, les micromycètes peuvent être la source d'infections humaines parfois terribles **(BADILLET et al, 1987)**.

Dans certains cas, celle-ci devient visible dans notre environnement, c'est ce qu'on appelle communément la «moisissure», véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères, recouvrant divers substrats (fruits ou plantes pourris). , Vieux murs, papier peint, etc.), et capables de produire en masse des spores extraordinaires. L'interaction entre les champignons et les espèces animales et végétales va du saprophytisme au parasitisme, en passant parfois par le commensalisme, ou encore participent à des phénomènes symbiotiques. Elle peut co-évoluer avec les plantes d'une part, et les animaux, d'autre part **(BADILLET et al, 1987)**.

### 3- POUVOIR PATHOGENE

La pathogénicité des champignons peut s'exprimer de plusieurs manières: la production de toxines, qui peuvent être à l'origine d'une intoxication alimentaire (mycotoxicose), en raison de l'accumulation de ces toxines dans les plantes et de la consommation humaine ou animale. Le développement des champignons chez l'homme ou l'animal est différent (colonisation, invasion, dissémination). Ce parasitisme est à l'origine d'une maladie appelée infection à levures (produite par des champignons) **(CHABASSE et al, 2002)**.



### 4- CLASSIFICATION DES CHAMPIGNONS D'INTERET GENERAL

Le règne des champignons est composé de diverses divisions, qui sont subdivisés en plusieurs classes. Il s'agit notamment des ordres qui réunissent les familles. Le suffixe "*mycotina*" est attribué aux divisions, et "*mycètes*" est attribué pour les classes. Le suffixe "*ale*" est utilisé pour spécifier les ordres, "*aceae*" est utilisé pour les familles et enfin "*adeae*" est utilisé pour les sous-familles. Une famille est composée de genres qui englobent des espèces, et celles-ci peuvent être subdivisées en variétés. Le nom de chaque champignon suit la nomenclature binomiale (genre et espèce) énoncée par Carl Von Linné au 18ème siècle. (CHABASSE, 2001). L'identification des champignons est de nature morphologique. Les micromycètes peuvent parfois apparaître sous différentes formes:

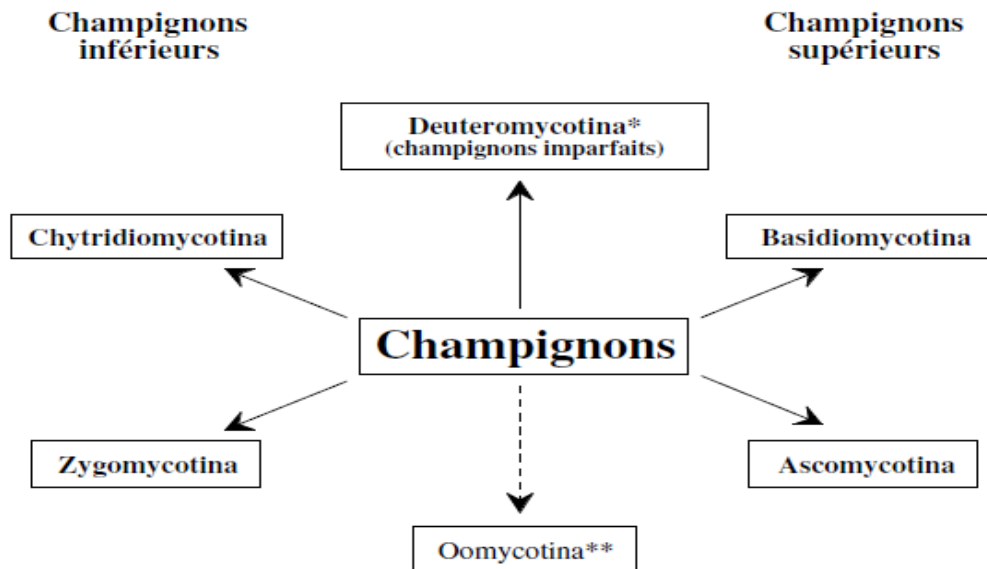
- Une forme sexuée ou téléomorphe,
- Une forme asexuée ou anamorphe,

#### **Remarque:**

Lorsque plusieurs aspects de la forme asexuée coexistent, on parle de synanamorphes. Lorsque des espèces fongiques existent dans la même culture sous des formes sexuées et asexuées, on parle d'holomorphe. En pratique, lorsqu'un champignon est trouvé en culture, il portera le nom de la forme isolée. S'il existe deux formes (anamorphe et téléomorphe) en même temps, le nom de la forme sexuée sera sélectionné en premier. (CAMPBELL et al, 1996)

### 5- TAXONOMIE

La classification de Hawksworth, Sutton et Ainsworth (1970) modifiée par Kwon Chung et Bennett (1992), puis par de Hoog (1995), est la plus utilisée actuellement (**Figure 1**).



**Figure 1** : Classification générale des champignons.

\* Champignons connus seulement par leur stade asexué, en attente de classification.

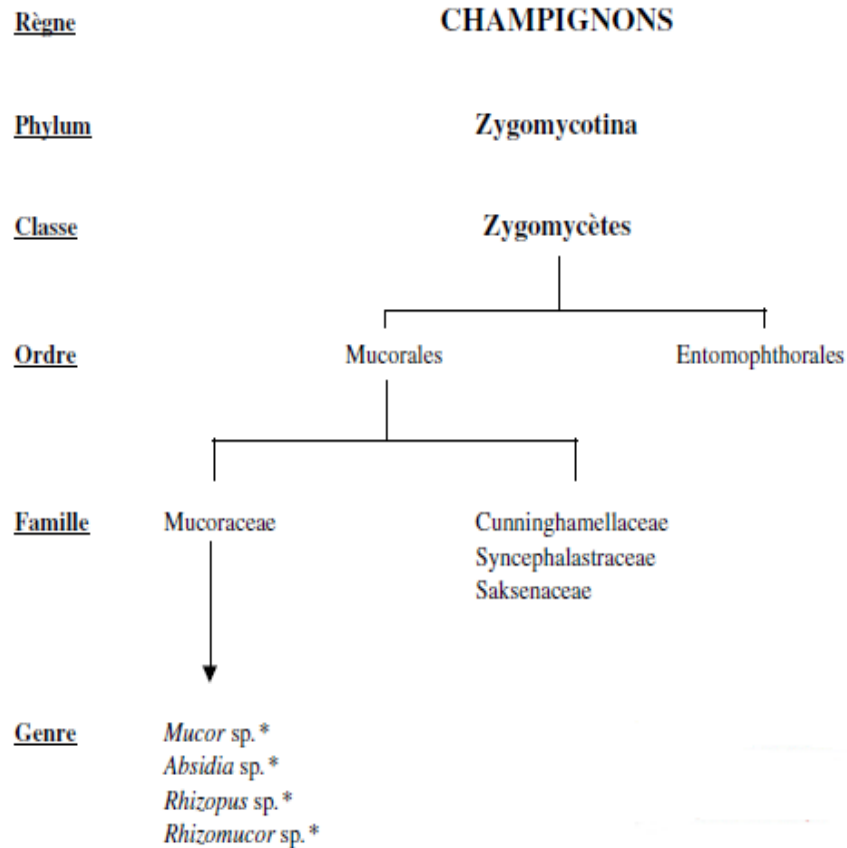
\*\* Actuellement les espèces issues de cette division ne sont plus classées parmi les champignons vrais (CHABASSE, 2001)

### 5-1- Les mastigomycotina

Les *mastigomycotina* rarement impliqués dans la pathologie humaine, sont divisés en deux classes : les *Chytridiomycètes* et les *Oomycètes*.

### 5-2- Les zygomycotina

Cette division est caractérisée par la production de spores sexueées appelées zygospores, qui contiennent de nombreux agents pathogènes: les Mucorales, agents des mucormycoses et les Entomophthorales, agents des entomophthoromycoses (**Figure 2**). Ces derniers, avec les *Mastigomycotina*, sont considérés comme des champignons de qualité inférieure. Leurs deux caractéristiques sont différentes des autres champignons dits "supérieurs" (*Ascomycotina* et *Basidiomycotina*): le mycélium végétatif est plus large, souvent dilaté, peu ou pas cloisonné et la reproduction asexuée est dite endogène.



**Figure 2** : Classification des Zygomycètes.  
(HERBRECHT et al, 1999)

### 5-3- Les ascomycotina

Pathogènes pour l'homme (levure ascorporées, champignons filamenteux, comme *Aspergillus*, dermatophytes, etc.), les spores produites par reproduction sexuée (appelées ascospores) sont produites de manière endogène dans des sacs appelés asques. Ces asques, qui sont généralement octosporés, seront libres ou produits dans un organe protecteur de forme variable appelé fruit ascocarpe (SAINT-GERMAIN et al, 1996)

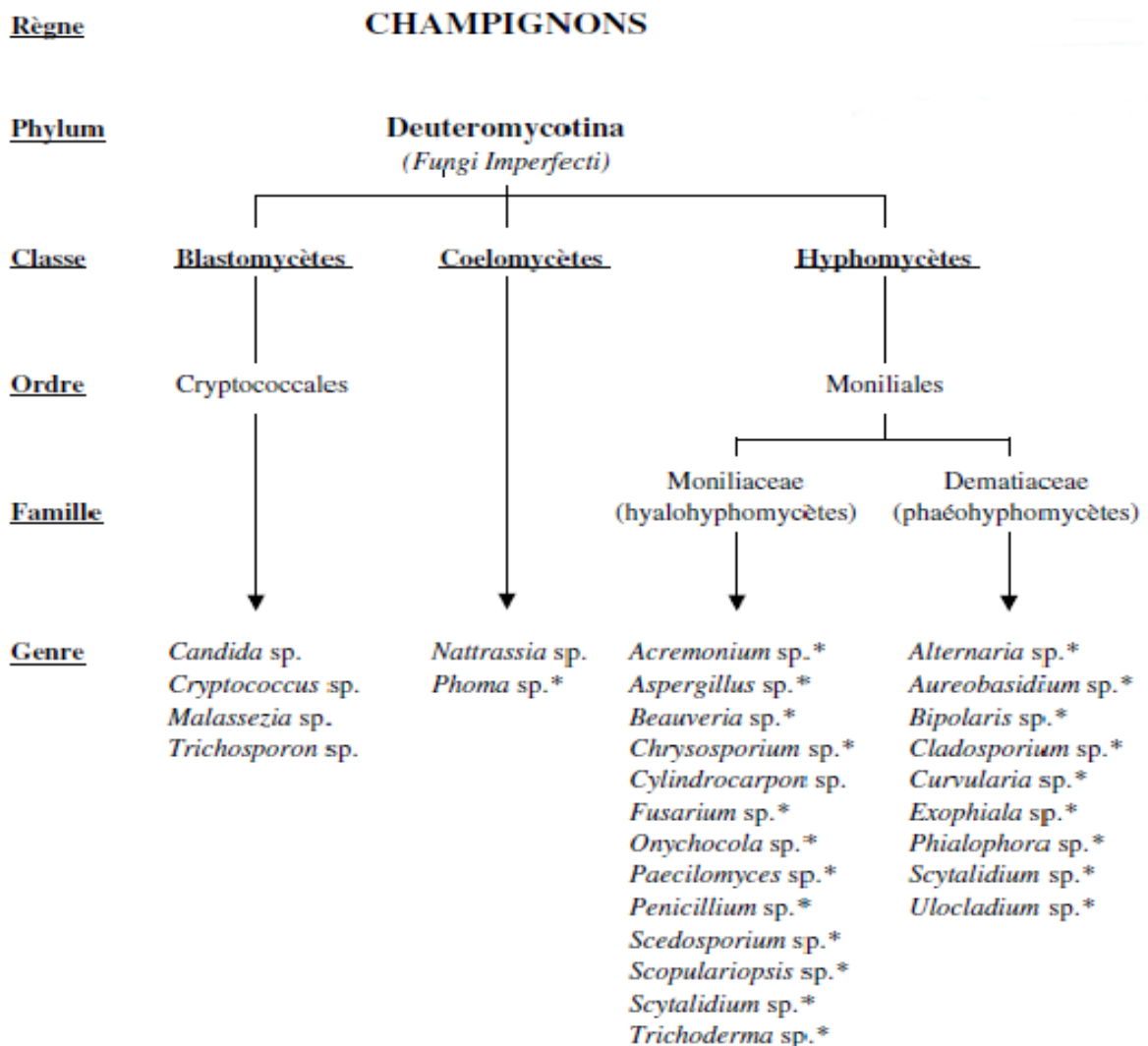
### 5-4- Les basidiomycotina

Ils se caractérisent par la production de spores sexuées (appelées basidiospores) formées par bourgeonnement au sommet de cellules allongées, les basides. La plupart des basidiomycètes sont des saprophytes environnementaux ou parfois des phytopathogènes, mais ils sont rarement impliqués dans la pathologie humaine (SAINT-GERMAIN et al, 1996)



5-5- Les deuteromycotina (champignons imparfaits ou *fungi imperfecti*)

Dans cette division, ces espèces d'intérêt médical sont les plus importantes. Cet ensemble est très hétérogène et couvre toutes les espèces qui se reproduisent de manière asexuée. Sur la base des dernières données de microscopie électronique et de biologie moléculaire, grâce à la comparaison des séquences d'ADN ribosomique, une relation forte peut être établie avec de nombreux ascomycètes ou basidiomycètes. En fait, il est utile de maintenir cette division car de nombreuses espèces n'expriment pas leur reproduction sexuée en culture.



**Figure 3** : Classification des Deutéromycètes.

Seuls les genres marqués d'un astérisque seront abordés dans cet ouvrage.

(CONTET-AUDONNEAU et al, 1998)





## 6- PRINCIPALES MOISSURES D'INTERET MEDICAL

Cette partie résume les principaux genres et types de moisissures qui peuvent être incriminés au cours du processus pathologique et seront résolus successivement:

- *les Mucorales*
- *les Aspergillus*
- *les autres Mucédinés, les Dématiés et les Coelomycètes*

(KWON-CHUNG et al, 1992)

### 6-1- Les mucorales

Ce sont des champignons très répandus dans le monde. Saprophytes du sol où ils se nourrissent à partir de végétaux, des céréales ou des excréments, ils contaminent fréquemment les denrées alimentaires (fruits, légumes, ...). Certaines espèces sont pathogènes de plantes.

Genres présentés :

*Absidiasp, Mucor sp, Rhizomucorsp...* (FINGEROTH et al, 1999)

### 6-2- Les aspergillus

Les *Aspergillus* sont des champignons cosmopolites, très répandus dans le milieu extérieur, ubiquistes : on les rencontre aussi bien en milieu rural (silos à grains, foin, paille...) qu'en milieu urbain, et aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des habitations (poussières accumulées derrière les meubles, conduits d'aération, plantes en pots, ...).

Quelques espèces présentées :

*Aspergillus fumigatus, Aspergillus flavus, Aspergillus niger...* (MORIN, 1994)

### 6-3- les autres mucenides ou hyalohyphomycetes

Les spores des champignons sont dispersées à partir de leur habitat naturel grâce au vent, et sont présentés dans l'air de façon permanente.

Genres et espèces présentés :

*Acremoniumsp. (A. strictum), Fusariumsp, Penicillium sp...* (GUARRO, 1992)



**6-4- Les dematies (ou *phaeohyphomycetes* et les *coelomycetes*)**

Ce sont des moisissures issues du sol, de la terre ou de végétaux en phase de décomposition. Ils sont parfois parasites de plantes et d'autres sont de véritables opportunistes chez l'homme.

Ils ont en commun la capacité de produire des pigments de type mélanine qui imprègne la paroi des filaments, ce qui traduit l'aspect foncé ou noir des colonies en culture et des filaments dans les tissus parasités.

- Genres et espèces présentés :

*Aureobasidium pullulans*, *Bipolaris* sp., *Cladosporium* sp... (DIXON et al, 1991)

## **CHAPITRE 2 : ASPERGILLOSE AVIAIRE**



### 1- INTRODUCTION

Les maladies fongiques ont une très grande importance chez la volaille, elles interviennent par deux mécanismes différents : invasion des organes et lésions tissulaires ou bien par production de toxines dans l'aliment qui, après ingestion, provoquent une toxicose chez l'animal (**ADJOU et BRUGERE-PICOUX, 2015**).

Alors que l'aspergillose invasive reste une infection rare chez les mammifères, les oiseaux y'sont particulièrement susceptibles. Cette mycose est une cause majeure de morbidité et de mortalité chez l'espèce aviaire aussi bien chez les animaux sauvages en liberté, que chez les animaux sauvages en captivité (**Fulleringer, Guillot et al, 2003**).

### 2- HISTORIQUE

L'aspergillose a été décrite pour la première fois par Mayer en 1815, qui a observé l'infection dans les sacs aériens et les poumons d'un choucas des tours (*Corvus monedula*). La description d'*A.fumigatus* a été faite par Frésenius en 1863 pour la première fois dans le poumon d'une outarde barbue (*Otis tarda*). L'espèce *A. fumigatus* est la cause principale d'aspergillose aviaire (95% des cas) mais aussi, d'autres espèces sont incriminées, notamment, *A. flavus*. Toutes les espèces d'oiseaux, sauvages ou domestiques, jeunes ou âgés, immunocompétentes ou immunodéprimées, devraient a priori être considérées comme potentiellement réceptifs et sensibles aux infections à *Aspergillus* (**Tell, 2005 ; Thomas et al, 2007 ; Arné et al, 2011 ; Olias et al, 2011**).

Selon les rapports, de nombreux oiseaux sont infectés par *Aspergillus*, tels que les poulets, les dindes, les canards, les oies, les autruches, les nandous, les pigeons, les cailles japonaises, les perroquets, les canaris, les manchots, les rapaces et les passereaux (**Converse, 2008; Arné et al, 2011**). Actuellement, il existe environ 190 espèces d'*Aspergillus*. Certains sont liés à l'expression du pouvoir pathogène chez les animaux, les plus courants étant *Aspergillus fumigatus*, et dans une moindre mesure *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus penicillium*, *Aspergillus niger* et *Candida*. (**VAN WAEYENBERGHE et al, 2011**).



**Figure 4 : *Otis tarda***  
(Chudy, 2008)



**Figure 5 : *Corvus monedula*,**  
(Hamilton, 2007)



### 3- DEFINITION

L'aspergillose est une affection parasitaire des volailles ainsi que d'autres oiseaux (perroquets) due à la prolifération anormale et à la production de toxines de moisissures du groupe des *aspergillus*.

Les infestations par *Aspergillus fumigatus* et par *Aspergillus glaucus* sont fréquentes chez les animaux élevés sur des litières mal tenues et dans des locaux mal entretenus (**Guérin et al, 2011**).

### 4- IMPORTANCE ECONOMIQUE ET SANITAIRE

#### 4-1- Economique

L'aspergillose est sans aucun doute la cause des pertes économiques dans l'industrie avicole. Cependant, aucune analyse précise et à grande échelle n'a été réalisée en considérant l'impact global de cette maladie. L'estimation du coût total d'une affection n'est pas chose aisée et nécessite de considérer un certain nombre d'indicateurs. Une première approche consiste à évaluer la réduction des performances et le coût engendré pour mettre en œuvre des mesures de contrôle de la maladie (**PERRY et al, 1999**).

Les infections parasitaires se répercutent majoritairement sur l'ingéré alimentaire et la digestibilité des aliments. Selon les cas, on pourra enregistrer une mortalité précoce (y compris in ovo), une dégradation globale des performances de production, un ralentissement de croissance (dégradation du GMQ) voire une perte de poids, une diminution de la valeur de l'animal (non-valeur économique), une réduction de la valeur marchande des produits (saisie totale ou partielle des carcasses par exemple).

L'impact détaillé de nombreuses maladies affectant le secteur avicole a ainsi été étudié par les économistes (coccidiose notamment) (**WILLIAMS, 1999**).

Ce n'est pas le cas de l'aspergillose. Entre 1983 et 1994, on estime que le travail effectué par (**KUNKLE ,2003**) sur les fermes de l'Iowa à lui seul rapporte 338 000 \$ par an. Dans l'élevage de dindes, les dépenses de santé en 2001 étaient estimées à 1,45 euro / m<sup>2</sup> / lot, dont un tiers était imputable au coût des antibiotiques et un quart au coût des vaccins. Dans l'étude BIDAUD publiée en 2005, 31% des élevages appliquaient systématiquement des antiparasitaires aux dindes, et 16% des éleveurs avaient mis des antibiotiques préventifs dans leur eau potable au départ. (**BIDAUD et al, 2005**).



### 4-2- Sanitaire

L'aspergillose est une maladie infectieuse considérée comme non contagieuse. Elle se traduit de manière classique par une forme aiguë chez le jeune, associée à une importante morbidité et mortalité et par une forme plutôt sporadique et chronique chez l'adulte souvent à mettre en lien avec une immunodépression (BEYTUT et al, 2004). Chez les poussins, la forme aiguë (également connue sous le nom de «pneumonie des couvoirs») entraîne une mortalité importante, atteignant un pic dans les 10 premiers jours de leur existence. Le taux de mortalité varie de 5% à 10%, et peut atteindre 30% à 40% (le dindonneau peut atteindre 70% à 90%). En élevage intensif, de multiples situations peuvent se produire car les volailles élevées dans le troupeau constituent des lots très homogènes (âges similaires) et peuvent être exposées à des sources communes d'infection. Dans ces conditions, la maladie peut prendre alors un caractère épizootique (GUILLOT et CHERMETTE, 2001 ; JENSEN et al, 1997; PLANEL et al, 2001). La flore fongique d'oies reproductrices a été étudiée (à partir de 920 prélèvements, au niveau du cloaque et de la cavité buccale, sur 460 individus) dans des troupeaux polonais. Elle est étroitement corrélée aux conditions de vie de l'animal. Le portage aspergillaire (et notamment *d'A. fumigatus*) était plus fréquent l'hiver dans des bâtiments en bois et le plus souvent dans des troupeaux de petite taille (ZIOLKOWSKA et TOKARZEWSKI, 2007).



Figure 6 : Hiérarchisation des 23 maladies les plus importantes chez les volailles, (l'ANSES, 2012)

5-



Il existe plus de 700 espèces d'*Aspergillus* : *Aspergillus fumigatus* est l'agent pathogène le plus courant dans l'aspergillose, mais *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, et *Aspergillus terreus* peuvent également être séparés par ordre de fréquence décroissante. Ces organismes sont des saprophytes du sol dans le monde entier, ils poussent sous forme de matière organique dans des environnements humides à des températures élevées (> 25 ° C), et ils poussent également dans des couvoirs, œufs embryonnés dont la coquille est endommagée dans les conduits. Ventilation, litière et alimentation. Ils poussent bien sur la plupart des milieux couramment utilisés dans les laboratoires, mais d'autres milieux (comme les milieux Sabouraud) sont plus sélectifs (Adjou et Brugère-Picoux, 2015).

## 6- EPIDEMIOLOGIE

### 6-1- Facteurs prédisposants

#### 6-1-1- Espèces affectées

Tous les oiseaux peuvent développer une aspergillose. Cependant, selon l'espèce, l'acceptation et la sensibilité varieront. Parmi les espèces domestiquées, les dindes et les cailles semblent être particulièrement sensibles. Parmi les oiseaux sauvages et de compagnie, certaines familles sont particulièrement touchées (tableau 1) (CHERMETTE, BUSSIERAS, 1993 ; JONES ; OROSZ, 2000, REDIG, 1993).

**Tableau 1** : espèces aviaires chez lesquelles des cas d'aspergillose sont fréquemment observés (CHERMETTE, BUSSIERAS, 1993 ; JONES ; OROSZ, 2000, REDIG, 1993).

Famille	Nom commun	Nom scientifique
Accipitridés	Autour des palombes	<i>Accipiter gentilis</i>
	Buse à queue rousse	<i>Buteo jamaicensis</i>
	Aigle royal	<i>Aquila chrysaetos</i>
Alcidés	Guillemot de Troil	<i>Uria aalge</i>
Anatidés	Buse pattue	<i>Buteo lagopus</i>
	Pygargue à tête blanche	<i>Haliaeetus leucocephalus</i>
	Eiders	<i>Somateria sp</i>
	Cygne trompette	<i>Cygnus buccinator</i>
	Cygne tuberculé	<i>Cygnus olor</i>
Psittacidés	Amazone à front bleu	<i>Amazona aestiva aestiva</i>
	Perroquet gris d'Afrique	<i>Psittacus erithacus</i>
	cacatoès	<i>Cacatua sp</i>
Strigidés	Mainate religieux	<i>Gracula religiosa</i>



### 6-1-2- Age

Les jeunes sont plus sensibles à la maladie et il semble que les différences de sensibilité interspécifique existe également chez les jeunes oiseaux, en particulier les perroquets gris d'Afrique (*Psittacus erithacus*) (**BOURGEOIS, 1991; CHERMETTE, BUSSIERAS, 1993; VANDERHEYDEN, 1993**). Les adultes sont également atteints d'aspergillose. Il existe une forme particulière chez les dindes adultes, qui se manifeste par un étouffement pour empêcher l'accouplement et une réduction des performances de reproduction (**BOURGEOIS, 1991**).

### 6-1-3- Etat de santé

Les traumatismes et les maladies concomitantes, y compris les mycoplasmes, la tuberculose et la chlamydia, jouent un rôle important dans le développement de l'aspergillose aviaire, en particulier les maladies chroniques, dont l'évolution conduit à un affaiblissement notable de l'organisme et du système immunitaire (**BOURGEOIS, 1991 ; CHERMETTE, BUSSIERAS, 1993 ; GERMAN, 2004**). D'autre part il a été remarqué que les oiseaux mazoutés avaient une forte propension à développer une aspergillose (**JONES, OROSZ, 2000 ; REDIG, 1993**). Une alimentation inadaptée prédispose aussi au développement de la maladie particulièrement chez les Psittacidae (alimentation uniquement à base de graines).

Par conséquent, la carence en vitamine A est à l'origine de l'hypertrophie et de l'hyperkératose des cellules épithéliales, en particulier dans le syrinx, ce qui facilite leur colonisation par *Aspergillus* (**BAUCK, 1994; GERMAN, 2004; PAUGAM, 1999**).

Chez les oiseaux sauvages, le facteur le plus important est le stress (**AGUILAR, REDIG, 1995**). Qu'il soit causé par la capture, le traitement, les conditions d'entretien, les changements de régime alimentaire, le climat et d'autres facteurs, il peut induire une décompression immunitaire, de sorte que *Aspergillus* dans le corps puisse se développer (**AGUILAR, REDIG, 1995 ; BOURGEOIS, 1991 ; CHERMETTE, BUSSIERAS, 1993 ; GERMAN, 2004 ; JONES, OROSZ, 2000**)

### 6-1-4- Thérapeutiques

Une antibiothérapie prolongée ou une corticothérapie favorisent le développement d'une aspergillose. Les traitements de la chlamydophilose à l'aide de tétracyclines sont particulièrement incriminés (**CHERMETTE, BUSSIERAS, 1993, GERMAN, 2004 ; VANDERHEYDEN, 1993**)





### 6-2- Facteurs favorisants

La litière est un élément essentiel qui favorise le développement de l'aspergillose. Elle peut intervenir à deux niveaux: en permettant le développement de parasites et / ou en favorisant l'émergence de maladies qui fragilisent les volailles. Cependant, plusieurs paramètres environnementaux étroitement liés ont un impact direct sur sa qualité:

#### 6-2-1- Température

En effet, une température ambiante insuffisante peut provoquer des troubles digestifs et produire des selles semi-liquides et brillantes responsables d'un croûtage des litières, d'une répartition inégale des animaux, et de salissures du plumage (DEZAT et al, 2011 ; ITAVI, 1997a). Une température chaude quant à elle, favorise le développement du champignon (SAJID et al, 2006).

#### 6-2-2- Densité

La densité animale joue également : production de déjections, dégagement de vapeur d'eau et de CO<sub>2</sub>. Elle devient critique à partir de 21 poulets par m<sup>2</sup> (DEZAT et al, 2011 ; GUERIN et al, 2011 ; ITAVI, 1997a).

#### 6-2-3- Humidité

Si l'humidité est trop élevée, la fermentation des déchets dégagera de l'ammoniac, ce qui paralysera l'escalator mucociliaire et favorisera le développement de maladies respiratoires. En revanche, l'humidité favorise la croissance des champignons (GUERIN et al, 2011; ITAVI, 1997a). L'humidité de la litière est bien sûre dépendante de l'hygrométrie. Par ailleurs, une atmosphère sèche favorise la mise en suspension des poussières et donc des spores d'*A. fumigatus*.

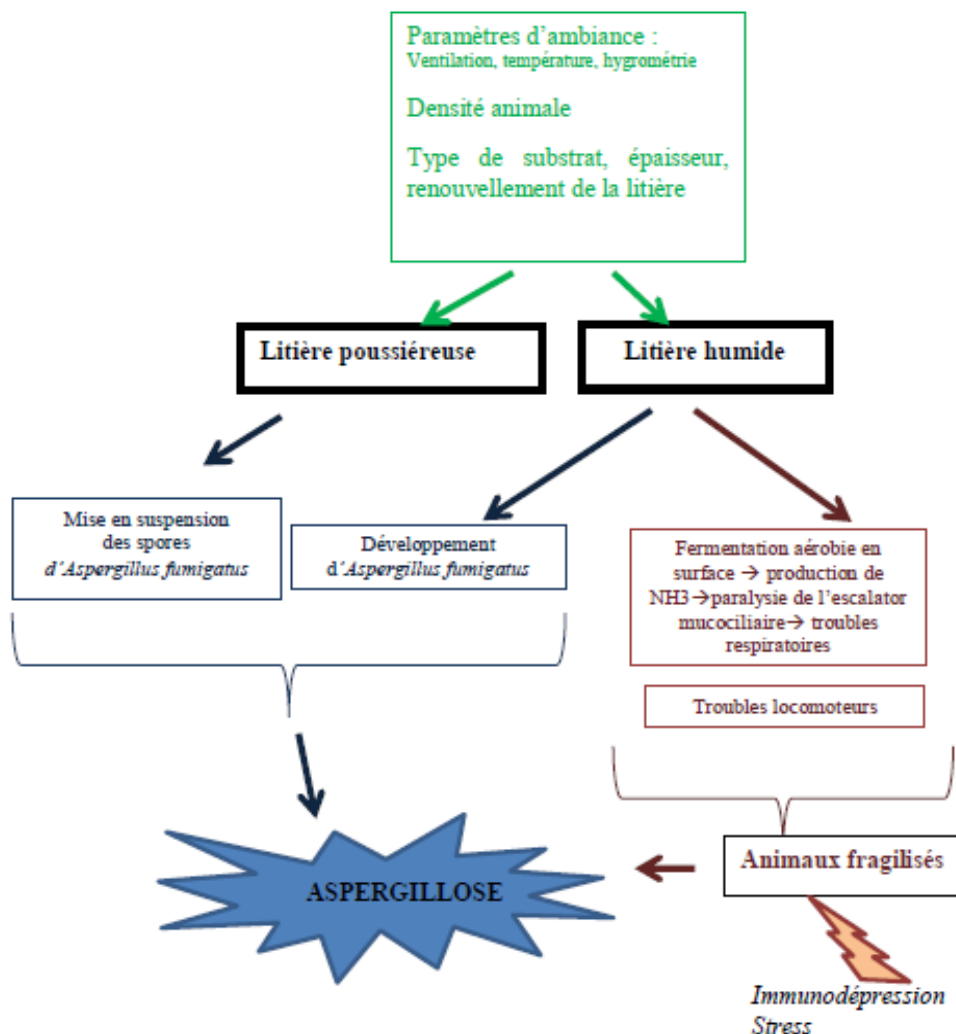
#### 6-2-4- Ventilation

Une litière trop fine va potentialiser la présence de poussières (dont la dispersion sera favorisée par le brassage de l'air) et par suite fragiliser les voies respiratoires supérieures. En revanche une sous ventilation engendre une atmosphère chargée en particules et une mauvaise élimination des gaz (BRUGERE-PICOUX, 1992 ; GUERIN et al, 2011 ; ITAVI, 1997a).

Le choix de la litière (type de substrat choisi) et sa gestion interviennent également. Par exemple si de la paille hachée est utilisée en élevage de dindes, elle aura tendance à se tasser sous le poids des



animaux ce qui accélère sa dégradation (DEZAT et al, 2011 ; ITAVI, 1997a). De plus, une étude a montré qu'un renouvellement de la litière était associé à des cas d'aspergillose (la litière utilisée était de la bagasse) (HUTSON, 1966). Une litière altérée favorise le développement d'agents pathogènes, tels que les oocystes de coccidies avec comme conséquence pour les oiseaux atteints, une diminution du poids vif chez les adultes et une mauvaise croissance chez les jeunes. Des lésions de l'appareil locomoteur et des lésions cutanées vont apparaître (pododermatite avec ulcération engendrant douleur, boiterie, inappétence ou encore ampoule du bréchet) (MARTLAND, 1984 et 1985). Les répercussions économiques se matérialiseront par une augmentation des saisies et des frais vétérinaires (ITAVI, 1997 ; JONES et DAWKINS, 2010).



**Figure7:**

Facteurs influençant la qualité de la litière et l'apparition de la maladie.

(EUZEBY, 2008)



### 6-3- Facteurs de virulence

La faiblesse de l'hôte ou l'immunosuppression ne sont pas suffisantes pour expliquer la pathogénicité d'*A.fumigatus* qui possède également des propriétés physiques et des mécanismes métaboliques qui facilitent la colonisation et la dégradation de diverses substances organiques. Il existe de nombreux types d'*Aspergillus* dans notre environnement, mais la plupart des aspergilloses sont causées par *Aspergillus fumigatus*. Cela signifie-t-il que ce champignon a son propre facteur de virulence? Aujourd'hui encore, la mise en évidence de ces facteurs est généralement basée sur la comparaison de la virulence des souches sauvages avec la virulence des mutants obtenus par mutagenèse dirigée sur des modèles animaux (**Latge, Paris et al, 1994; Latge, 2001**). Cependant, le principal inconvénient de ce modèle est le manque de corrélation avec les maladies humaines, en particulier l'incapacité à induire une AI avec une faible concentration de conidies.

#### 6-3-1- Facteurs physiques

La petite taille des conidies d'*A. fumigatus* (2 à 3  $\mu\text{m}$  de diamètre) est une partie importante de la virulence de ce champignon, car il permet aux conidies de pénétrer profondément dans les voies respiratoires et d'atteindre la zone alvéolaire. De plus, la résistance à la chaleur d'*Aspergillus* facilite leur implantation dans le corps. Ils poussent très bien à 37 ° C, et le groupe le plus thermophile est *A.fumigatus* qui résiste à des températures supérieures à 45 ° C. La capacité des filaments de spores ne peut être ignorée car elle fournit une voie d'échappement aux macrophages. (**Liebmann, Muhleisen et al, 2004**)

##### 6-3-1-1- adhesines

Après inhalation, les spores peuvent se lier aux protéines en circulation ou aux protéines de la matrice extracellulaire de l'hôte par le biais d'une variété de protéines exprimées à la surface de la paroi des spores:

Les protéines hydrophobes, appelées hydrophobine, forment la couche externe de la paroi des spores. Les conidies des souches dans lesquelles le gène codant pour l'une de ces hydrophobines a été inactivé deviennent hydrophiles. (**Thau, Monod et al, 1994**).

La capacité d'adhérer au fibrinogène et à la laminine est limitée aux conidies et aux tubes germinatifs. Les protéines de surface qui peuvent se lier au fibrinogène et à la laminine sont évidemment les mêmes, car le fibrinogène inhibe de manière compétitive l'adhésion



des conidies à la laminine immobilisée (Bouchara, Sanchez et al, 1997; Tronchin, Esnault et al, 1997).

L'adhésion des conidies à la fibronectine est inhibée par un peptide contenant la séquence arginine-glycine-acide aspartique. En revanche, ces peptides n'inhibent pas la fixation des conidies au fibrinogène et à la laminine (Gil, Penalver et al, 1996; Bouchara, Sanchez et al, 1999).

Une protéine de 54-58 kDa également exprimée à la surface des conidies montre une affinité pour le complément (Sturtevant et Latge 1992).

### 6-3-1-2- Pigments des spores

On peut isoler des souches sauvages d'*A. fumigatus* blanches avec des conidies non pigmentées. Ces souches sont moins pathogènes que les souches produisant des conidies bleu-vert. Deux gènes ALB1 et ARP1 codant respectivement pour des enzymes de la voie de synthèse des pigments de la paroi des spores ont été clonés et inactivés par mutagenèse ciblée (Tsai, Chang et al, 1998).

### 6-3-1-3- Enzymes

*Aspergillus fumigatus* sécrète la protéase, la phospholipase, la catalase, la superoxydedismutase et la toxine nucléaire, qui ont été étudiées comme facteurs potentiels de virulence. L'hypothèse principale de la communauté scientifique est que les protéases et les phospholipases permettent initialement aux champignons d'envahir les tissus de l'hôte, et les champignons utilisent la catalase et la superoxydedismutase (intracellulaire ou extracellulaire) afin de neutraliser les radicaux libres du métabolisme oxydatif des phagocytes.

Pour la ribotoxine sécrétée par *Aspergillus fumigatus*, il a été montré que le mutant n'est pas important pour la pathogénicité du champignon (Paris, Monod et al, 1993)

## 7- SOURCE ET MODE DE CONTAMINATION

### 7-1- Source de contamination

L'environnement constitue le réservoir naturel d'*Aspergillus*. Ce pathogène opportuniste peut se développer sur des litières organiques mal entretenues ou des aliments avariés (céréales, fourrage, ensilage, etc.) (ARNE et al, 2011).

Ses caractéristiques biologiques et écologiques expliquent sa présence dans le bâtiment et donc la possible infection des volailles. Plusieurs études ont permis de caractériser et de quantifier les différentes populations fongiques qui composent la mycoflore dans les poulaillers.



(FULLERINGER et al, 2006) ont mis en culture des prélèvements d'air, de litière et d'aliments, issus d'un élevage de dindes en France. Trois champignons filamenteux ont été le plus souvent isolés : *A. fumigatus*, *Absidiacorymbifera* et *A. flavus*.

De plus, il a été démontré que des mycotoxines synthétisées par certaines espèces d'*Aspergillus*, notamment *Aspergillus flavus*, sont présentes dans les aliments pour volailles (FRAGA et al, 2007).

### 7-2- Mode de contamination

#### 7-2-1- Voie aérienne

Nous cherchons, dans cette partie, à mettre en lumière les éléments anatomiques, physiologiques et environnementaux qui permettent d'expliquer ce qui facilite l'infection par *Aspergillus fumigatus* chez les oiseaux.

#### Sur le plan structural :

##### - Concernant les oiseaux :

- Absence d'épiglotte donc entrée plus facile des particules dans la trachée.
- Absence de diaphragme donc reflexe de toux moins efficace pour éliminer les particules.

##### - Concernant *A. fumigatus* :

- L'hydrophobie des conidies favorise leur mise en suspension dans l'air.
- Les particules de diamètre inférieur à 3  $\mu\text{m}$  (soit le diamètre approximatif des conidies d'*A. fumigatus*) peuvent envahir l'appareil respiratoire profond. Les spores empruntent le circuit de l'air inhalé, ce pourquoi les sacs aériens postérieurs sont les premiers infectés. S'ensuit une sédimentation dans le poumon. L'atteinte peut ensuite se généraliser à l'ensemble des sacs aériens. (FEDDE, 1998).

#### Sur le plan fonctionnel :

-Concernant les oiseaux : Moins de macrophages résidents dans le tractus respiratoire donc immunité innée à priori moins efficace (FEDDE, 1998).

- Besoin très important en dioxygène chez les oiseaux par rapport aux mammifères de même poids avec une surface d'échanges gazeux très efficace, favorisant la colonisation par les conidies.



### **-Concernant *A. fumigatus* :**

- Libération de gliotoxine par certaines souches, engendrant chez les oiseaux une nécrose tissulaire et par la suite créant un environnement riche en nutriments pour *Aspergillus*.

### **Sur le plan physiologique :**

- Température corporelle élevée des oiseaux (38 à 45°C) autorisant la germination des conidies puisqu'*A. fumigatus* est thermophile.
- Le sac aérien est un milieu très bien oxygéné, chaud et humide, combinant ainsi des conditions optimales pour le développement de la moisissure.

### **Sur le plan de la conduite d'élevage :**

- Production d'ammoniac ou de poussières fragilisant l'escalator mucociliaire des volailles.
- Tous les éléments générateurs de stress (surpopulation, vaccination...) (**HAMET, 1992**).

#### **7-2-2- Voie transcoquillère**

### **Contamination au couvoir**

Les pores de la coquille peuvent constituer des portes d'entrée pour les germes qui contaminent ensuite le sac vitellin pendant l'incubation (**CORTES et al, 2005 ; WRIGHT et al, 1961**).

La contamination peut donc se faire au couvoir (les conditions de température ambiante et d'hygrométrie relative régnant dans les incubateurs ou les éclosiers sont particulièrement propices au développement du champignon). Il est aussi possible que les œufs soient contaminés en amont dans les élevages de reproducteurs ou pendant la phase de stockage en élevage (**INTERVET, 2006 ; IVANOV, 2008**) (**Figure 8**). De plus, la vaccination in ovo (par exemple, contre la maladie de Marek effectuée entre le 17ème et 19ème jour d'incubation), en créant un pore dans la coquille peut favoriser la pénétration d'*Aspergillus* dans la chambre à air de l'œuf, sous réserve que les spores soient présentes dans l'environnement. Pour comprendre davantage les modalités d'infection des œufs, appuyons nous sur l'étude de (**Williams et al, 2000**). Les coquilles d'œufs de poules testés sont percées à l'aide d'une aiguille puis les œufs sont mis en incubateur et exposés à des cultures d'*A. fumigatus*. Les résultats montrent qu'en fonction de la structure interne de l'œuf, le potentiel de croissance d'*A. fumigatus* est plus ou moins promu. En effet, *A. fumigatus* se développe dans le jaune riche en nutriments pour la croissance du champignon et non dans l'albumen. De même les membranes coquillères seules ne permettent pas la croissance du champignon sauf si elles sont en contact avec le vitellus. Lorsque les œufs sont fertiles, il se produit un remaniement des structures



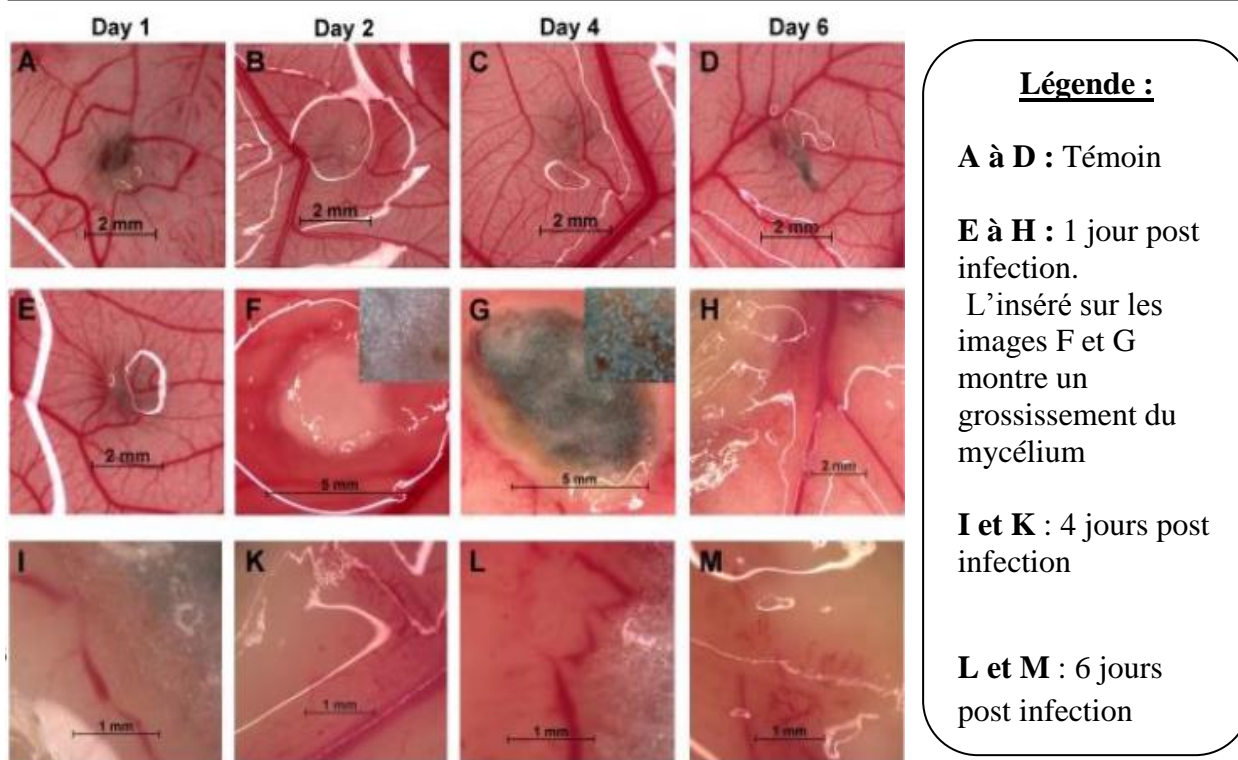
internes (jaune versus albumen) qui est associé à une diminution du pH pendant les 3 premiers jours d'incubation. En revanche, lorsque les œufs sont infertiles, la valeur du pH reste stable pendant les 6 premiers jours d'incubation. Il semblerait que les changements de l'organisation interne de l'œuf fertile pendant l'incubation offre des conditions de milieu favorables à la croissance fongique.



**Figure8** : Œufs infectés par *A.fumigatus*. (American Association of avian Pathologists)

(JACOBSEN et al, 2010) ont infecté expérimentalement des œufs de poule Leghorn blanche au 10ème jour d'incubation avec des doses variables de conidies ( $10^2$  à  $10^7$  conidies d'*A. fumigatus* par œuf). Le protocole peut être décrit brièvement comme suit : perforation de la coquille, création d'une chambre à air artificielle et inoculation des conidies, mise en place d'un « bouchon » de paraffine au niveau du pore créé. Des doses supérieures ou égales à  $10^4$  conidies par œuf entraînent 100 % de létalité. Afin d'analyser les modifications morphologiques de la membrane chorioallantoïdienne et la croissance fongique, des œufs contenant des embryons viables infectés avec  $10^2$  conidies sont sélectionnés à 1, 2, 4 et 6 jours post infection (**figure 9**).

Un mycélium est visible à partir du 2ème jour pi. La superficie couverte par ce dernier augmente avec le temps jusqu'à atteindre 3 cm de diamètre. Dans le cas où la chambre à air artificielle créée lors de l'inoculation des conidies est toujours présente, la sporulation est observée au 4ème et 6ème jour pi. (PLANEL et al, 2001).



**Figure 9 :** Aspect macroscopique de la membrane chorioallantoïdienne d'œufs embryonnés, infectés au 10ème jour d'incubation avec  $10^2$  conidies d'*Aspergillus fumigatus* (JACOBSEN et al, 2010)

Par conséquent, les animaux peuvent être infectés pendant et immédiatement après l'éclosion. Ensuite, la maladie a commencé à se développer dans la première semaine («pneumonie des couveuses») après la mise en élevage du lot (PLANEL et al, 2001).

### 8- PATHOGENIE

#### ➤ Chez l'embryon :

Le passage du champignon par la coquille lors de l'incubation entraîne une infection du sac vitellin. Il peut proliférer radialement sur la membrane chorioallantoïdienne et envahir les vaisseaux puis les tissus. La dissémination à partir de la CAM au foie est rare, uniquement si la dose inoculée est supérieure à  $10^4$  conidies par œuf (JACOBSEN et al, 2010).





### ➤ Chez l'oiseau :

Atteinte majoritaire de l'appareil respiratoire

Les spores, véhiculées par l'air inhalé, se retrouvent, dans les sacs aériens caudaux et les poumons puis dans les sacs aériens crâniens. Les voies supérieures (trachée, syrinx) peuvent aussi être touchées. L'atteinte d'autres organes est la conséquence de celle de l'appareil respiratoire en empruntant les ramifications des sacs aériens, *A. fumigatus* colonise d'autres organes par contiguïté de la cavité coelomique (**REDIG et PAUL, 2005**). Une atteinte pulmonaire sévère peut engendrer une hypertension pulmonaire et par la suite une défaillance du ventricule droit (hypertrophie du ventricule droit et dilatation, rupture du ventricule droit avec insuffisance valvulaire). Elle aura pour conséquence sur la grande circulation une hypertension portale et l'apparition d'une ascite secondaire (**JULIAN et al, 1990 ; ZAFRA et al, 2008**).

*Aspergillus fumigatus* passe dans la circulation sanguine et se localise dans différents organes.

Une dissémination de l'agent pathogène par voie hématogène est possible. Les conidies, internalisées par les macrophages respiratoires suite à la phagocytose rejoignent par ce biais la circulation sanguine. Des dindes de 3 semaines, exposées expérimentalement à des spores d'*A. fumigatus* par nébulisation (355.000 spores/litre d'air correspondant à 300 mg de spores aérosolisées pendant la période d'exposition), présentent, 15 minutes après exposition, des spores intracytoplasmiques dans les macrophages respiratoires (**RICHARD et THURSTON, 1983**).

Les macrophages ne parviennent pas toujours à détruire ou inhiber le développement des conidies in vitro. Dans ce contexte, les spores du champignon peuvent germer dans le cytoplasme des phagocytes et provoquer leur dégénérescence et leur lyse. Ce phénomène reste rare mais favoriserait la colonisation du tractus respiratoire (**VAN WAEYENBERGHE et al, 2012**). Il semblerait également que les spores puissent se fixer directement sur les globules rouges des oiseaux (dans 1% des cas) (**RICHARD et THURSTON, 1983**).

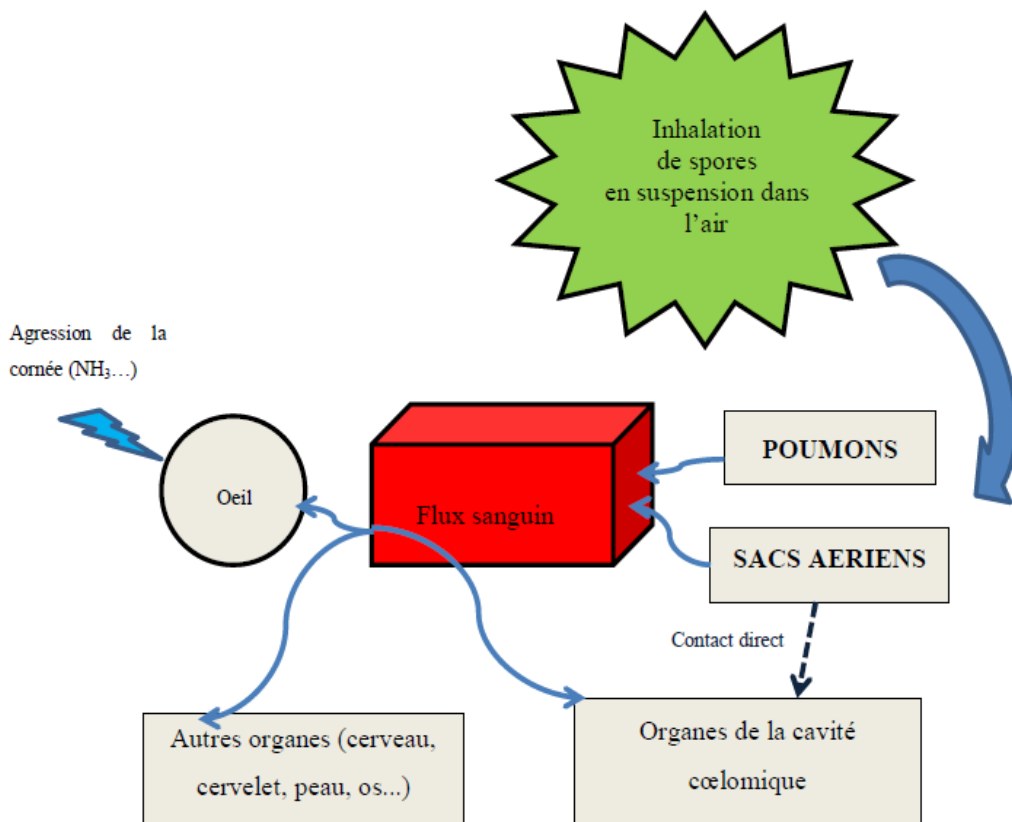
Via la circulation sanguine, de nombreux organes peuvent être envahis secondairement par le champignon : yeux, reins, foie, cerveau, cervelet, os, peau...

L'atteinte de l'oeil peut avoir plusieurs origines :

L'atteinte des structures intra-oculaires s'explique par la dissémination hématogène. Le pecten ou peigne, structure vasculaire importante rattachée à la rétine et flottant dans la chambre postérieure des oiseaux, peut être affecté (**BECKMAN et al. 1994**).



A contrario, des kératites et conjonctivites, consécutives à des lésions superficielles de la cornée suite à des agressions physiques ou chimiques (NH<sub>3</sub>...) favorisent la colonisation par le champignon présent dans l'environnement (**figure 10**) (**RICHARD et al, 1984**).



**Figure 10** : Récapitulatif des différents mécanismes impliqués dans la pathogénie de l'aspergillose des oiseaux (**Rhiliouch Julia, 2013**)

### 9- ASPECT CLINIQUE

Les signes cliniques de l'aspergillose ne sont pas spécifiques et sont diversifiés (Léthargie, anorexie, plumes ébouriffées, maladies respiratoires), ce qui rend difficile le diagnostic clinique précoce (**Dahlhausen et al, 2004**).

Il existe deux formes principales d'aspergillose chez les oiseaux: aiguë et chronique. Dans les couvoirs, la moisissure *Aspergillus* peut pénétrer dans la coquille de l'œuf et se développer au niveau de la chambre à air et des membranes coquillères, entraînant une aspergillose de l'œuf, qui conduit généralement la mortalité en coquille (**Kunkle, 2003**).



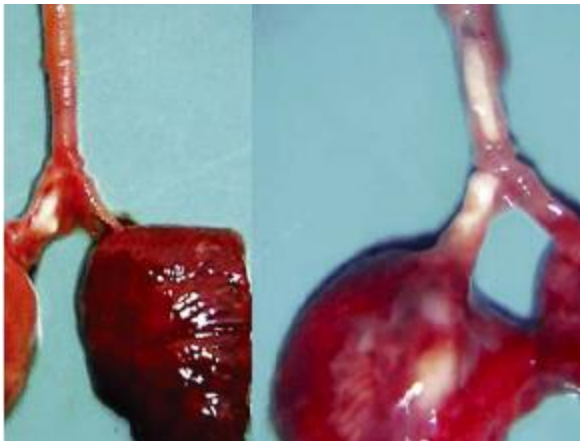
Les oiseaux peuvent également être infectés par des conidies dans les œufs ou autour du couvoir, provoquant une aspergillose aiguë chez les jeunes poussins. Dans les pays industrialisés, la prévalence d'*Aspergillus* dans les œufs est en baisse en raison de la mise en place de méthodes efficaces de décontamination des locaux et des œufs et de l'élimination systématique des œufs endommagés ou morts (**Janssen Animal Health, 2006**).

### 9-1- L'aspergillose aiguë

Appelée aussi pneumonie des couveuses, touche donc principalement les jeunes oiseaux qui sont exposés à de fortes concentrations de conidies.

La mortalité est très élevée (70 à 90 % des effectifs) survient très rapidement (entre 1 et 10 jours). Les oiseaux atteints se mettent en boule, sont ébouriffés, tête baissée, yeux clos et présentent des troubles respiratoires incluant dyspnée, toux sèche et cyanose (**Pier et Richard, 1992 ; Kunkle et Rimler, 1996**).

Ils peuvent ne présenter qu'un seul de ces signes, voire mourir brutalement sans signe précurseur. L'aspergillose aiguë est responsable de pertes économiques importantes dues tout d'abord à la mortalité, mais également parce que l'indice de consommation et le gain moyen quotidien des oiseaux qui survivent à l'infection sont dégradés. (**Stuart, 1980 ; Kunkle et Rimler, 1996 ; Lupo et al, 2010**).



**Figure 11:** Forme aiguë de l'aspergillose, pneumonie fibrino-séreuse, exsudat fibrineux coagulé obturant la trachée et les bronches, près de la bifurcation. (**I DINEV-Ceva Santé Animale**)



**Figure 12:** Aspergillose (pneumonie des couvoirs). Difficultés respiratoires (dyspnée) (**I DINEV-Ceva Santé Animale**)



### 9-2- L'aspergillose chronique

Est une maladie occasionnelle qui touche principalement les oiseaux adultes dont le système immunitaire est affaibli ou soumis à un stress chronique. L'inhalation d'une quantité modérée de conidies est suffisante pour induire une aspergillose (**Richard et Thurston, 1983; Vanderheyden, 1993**). Les signes cliniques décrits dans l'aspergillose chronique sont notamment les troubles respiratoires (la dyspnée), la déshydratation, l'amaigrissement voire la cachexie (**Arné et al, 2011**), responsables de saisies des carcasses à l'abattoir (**Kunkle, 2003**). Dans les derniers stades des formes aiguës et chroniques, des signes nerveux centraux peuvent également apparaître (ataxie, torticolis, chute, opisthotonos, convulsions) (**Veen, 1973**) ou des troubles ophtalmiques (**Dyar et al, 1984**). En plus de ces expressions classiques de la maladie, il existe des formes localisées qui touchent les cavités nasales, la trachée ou la syrinx (**Tsai et al, 1992**). Des manifestations digestives (diarrhée blanchâtre, vomissement, stase du jabot, polyurie-polydipsie, ascite), des troubles nerveux isolés (convulsions, état sub-comateux, paralysies) oculaires ou cutanés sont aussi possibles.

### 10- ASPECT LESIONNEL

#### 10-1- Lésions macroscopiques

Dans le cas d'une aspergillose aiguë naturelle, les lésions sont présentes au niveau du tractus respiratoire et plus particulièrement dans le tissu pulmonaire (**Richard et al. 1984 ; Julian et Goryo, 1990 ; Cacciuttolo et al, 2009**). Parfois l'atteinte d'autres organes est observée comme par exemple l'encéphale (**Richard et Thurston, 1983**).

Lors d'aspergillose chronique, l'appareil respiratoire est presque toujours atteint, soit dans sa totalité soit partiellement. On observe très souvent une pneumonie et une aérosacculite siégeant surtout au niveau des sacs aériens thoraciques postérieurs et abdominaux. (**Cacciuttolo et al, 2009**).

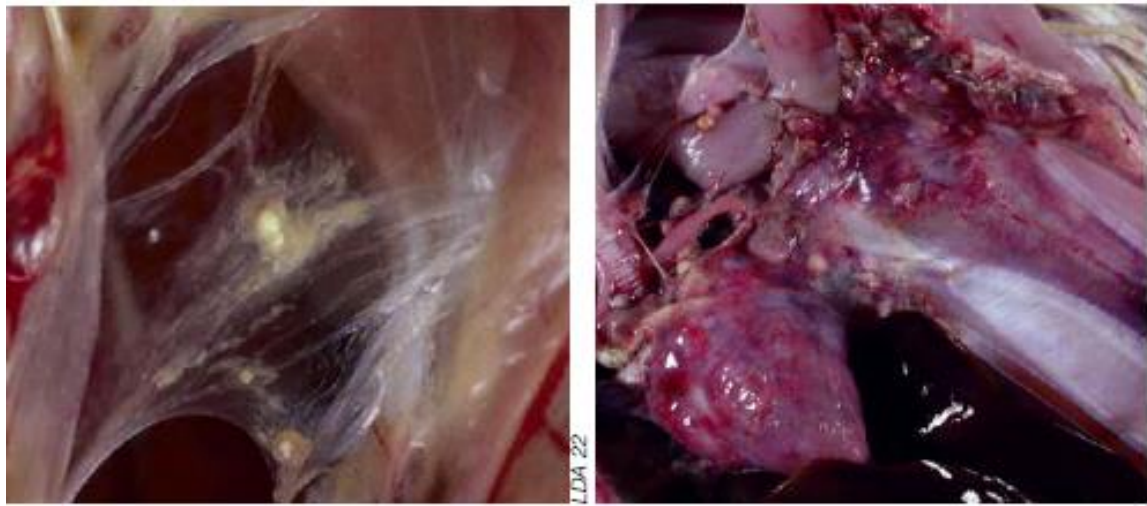
L'aspect des lésions est quasiment le même quel que soit l'organe atteint. Les premières lésions qui apparaissent sont de petits nodules blancs (<1 mm) qui se développent dans les tissus pulmonaires et sur les membranes des sacs aériens. Par la suite des granulomes blancs-crème, caséeux et friables, vont se développer. Dans les sacs aériens, les granulomes vont grossir et se modifier jusqu'à former des plaques qui vont avoir tendance à fusionner pour atteindre plusieurs centimètres.



Les sacs aériens deviennent de plus en plus épais et opaques. Un « gazon mycélien » verdâtre constitué d'un enchevêtrement d'hyphes ayant sporulé peut être observé à l'intérieur des sacs aériens (Cacciuttolo et al, 2009).



**Figure 13:** Aspergillose pulmonaire. Multiples nodules denses de couleur gris blanchâtre ou jaunâtre. (I DINEV-Ceva Santé Animale)



**Figure 14 & 15:** Nodules aspergillaires caséux dans les sacs aériens.

(LDA22 LABORATOIRE DE DÉVELOPPEMENT ET  
D'ANALYSES, HJ BARNES)



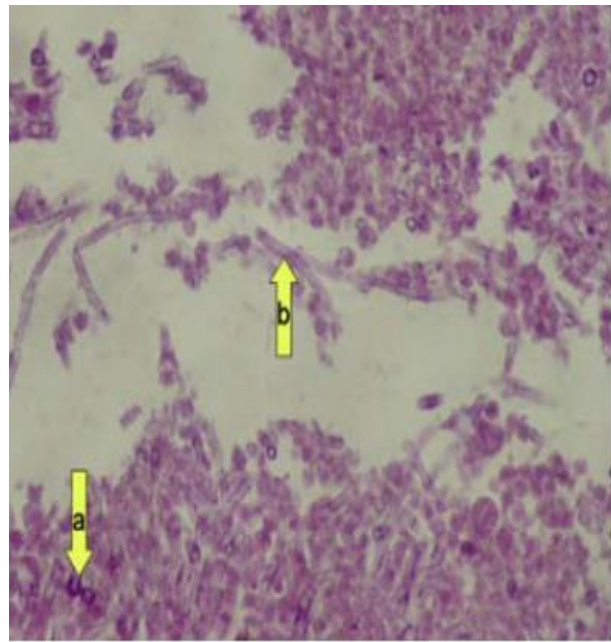
### 10-2- Aspect microscopique

L'analyse histologique des granulomes met typiquement en évidence un centre nécrotique entouré par des macrophages, des granulocytes hétérophiles et des cellules géantes multinucléées. Lorsque les lames sont colorées avec des colorations spécifiques, on observe la présence d'hyphes et parfois de conidies dans la partie centrale des granulomes hétérophiliques. (**Figure 16,17**)

La localisation des *Aspergillus* sur des coupes histologiques peut se faire à l'aide de colorations, telles que la coloration à l'acide périodique Schiff (PAS) qui fait apparaître les éléments fongiques en rouge-rosé, la coloration argentique de Gomori-Grocott qui colore les éléments fongiques en noir, et la coloration HES (Hématéine-Eosine-Safran) qui permet d'apprécier en plus la réaction de l'hôte. Les filaments aspergillaires, septés, ont un diamètre globalement constant et présentent des ramifications dichotomiques régulières. Des têtes aspergillaires sont parfois observées dans certaines lésions. Des techniques d'immunohistochimie sont également utilisables, notamment chez la dinde (**Jensen et al, 1997**), pour détecter, à l'aide d'anticorps spécifiques (anticorps dirigé contre l'antigène galactomannane), la présence d'*Aspergillus*. Les marquages fluorescents, notamment le blankophor qui est spécifique de la chitine des champignons, permettent également de visualiser les hyphes (**Olias et al, 2010**).



**Figure 16 :** Conidie d'*aspergillus* spp. (Coloration bleu de méthylène x300) (AAAP : American Association of avian Pathologists)



**Figure 17 :** L'aspergillose peut être confirmée par l'examen microscopique des lésions. Spores (flèche a) et hyphes (flèche b) de la moisissure. (I DINEV-Ceva Santé Animale)



### 11- DIAGNOSTIC

#### 11-1- Diagnostic clinique

Les signes cliniques évocateurs de la maladie sont surtout des signes respiratoires (dyspnée, respiration bec ouvert, bâillement, toux...) affectant un nombre plus ou moins important d'oiseaux au sein d'une bande. ) (BEERNAERT et al, 2010 ; BEYTUT et al, 2004 ; TSAI et al, 1992).

#### 11-2- Diagnostic lésionnel

La sporulation des conidies permet le développement d'hyphes, que l'on peut retrouver, entre autre, dans le parenchyme pulmonaire. Deux types de réactions tissulaires inflammatoires existent : une forme profonde avec l'observation de granulomes et une forme superficielle diffuse, non encapsulée, à la surface des séreuses. ) (BEERNAERT et al, 2010 ; BEYTUT et al, 2004 ; TSAI et al, 1992).

Les granulomes de l'appareil respiratoire peuvent s'ouvrir dans la lumière des bronches et y libérer les éléments fongiques (hyphes, spores, conidiophores) (BEERNAERT et al, 2010 ; BEYTUT et al, 2004 ; TSAI et al, 1992).

Les lésions évocatrices d'aspergillose sont donc, en priorité, des granulomes ou des plaques caséuses (OLIAS et al, 2010). Ces plaques peuvent être recouvertes « d'un tapis verdâtre », ce qui signe un processus de sporulation (RICHARD et al, 1984). Typiquement, des granulomes blanc-jaunâtre, soit miliaires (< 1 mm de diamètre), soit nodulaires (> 2 cm) sont observés dans le parenchyme de divers organes (BEYTUT et al, 2004 ; GRAESSER et al, 1963 ; KWONIL et al, 2009 ; MARTIN et al, 2008 ; SOUZA et al, 2005 ; XAVIER et al, 2005 ; ZINKL et al, 1974) (figures 18,19).



**Figure 18** : Nodules aspergillaires sur les poumons de dinde (KUNKLE, 2003)  
(d'après Peckman)



**Figure 19** : Lésion diffuse d'aspergillose chez un goéland argenté (*Larus argentatus*) Poumons et sacs aériens recouverts d'un matériel caséux blanchâtre avec de la moisissure grisâtre, suggérant une sporulation fongique.

(**CACCIUTTOLO et al, 2009**)

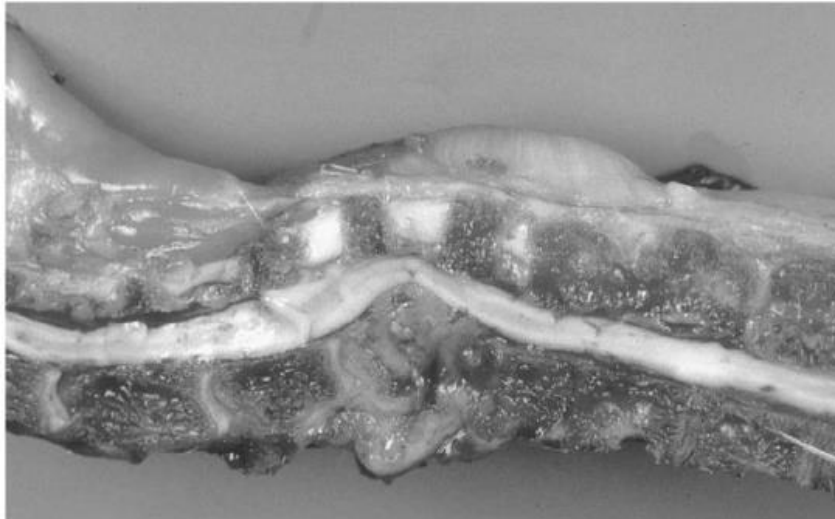
Classiquement, le système respiratoire est le plus touché. Par conséquent, la lésion peut être localisée dans les sacs aériens et provoquer une aérosacculite (**ARNE et al, 2011**) ou les poumons avec une pneumonie diffuse (**FEMENIA et al, 2007; OLIAS et al, 2010; ZAFRA et al, 2008; ZINKL et al, 1974**). L'exsudat mucopurulent de la trachée et des bronches peut provoquer une obstruction mécanique des voies respiratoires (**CORKISH, 1982**). Compte tenu de la possible dissémination systémique, les intestins, le foie, les reins, la rate, la peau, le cerveau, le cœur et les os peuvent être affectés (**BEYTUT et al, 2004; REDIG et al, 2005**).

- Cerveau et cervelet : nécrose neuronale.
- foie : lipidose hépatique, congestion hépatique et ascite, cholangiohépatite (**KWONIL et al, 2009 ; ZAFRA R et al, 2008**)
- Cœur: myocardeoedématié, myocardite (**KWONIL et al, 2009**).
- Os : une ostéoarthrose de la hanche associée à une nécrose de la tête fémorale est évoquée dans la littérature. Le développement d'*Aspergillus a*, dans ce cas, été promu par la présence concomitante de *Staphylococcus spp* (**OLIAS et al, 2010b**).





(VAN VEEN *et al*, 1999) ont décrit des cas de spondylite mycosique due à *Aspergillus fumigatus* dans deux troupeaux de poulets de chair âgés de 17 et 19 jours. L'autopsie a révélé une compression médullaire secondaire à une ostéomyélite des vertèbres cervicales ou des premières thoraciques (**figure 20**) (la localisation de l'atteinte médullaire coïncide en partie avec celle du plexus brachial ce pourquoi les animaux présentaient une paralysie partielle des ailes et une paralysie postérieure)



**Figure 20** : Lésion osseuse et médullaire, section longitudinale d'une colonne vertébrale de poulets. Ostéite au niveau du corps vertébral associée à une compression médullaire (VAN VEEN *et al*, 1999)

Plusieurs champignons peuvent provoquer la formation de granulomes, d'aspect macroscopiquement similaire. Par conséquent, il est très utile de s'appuyer sur des outils cliniques auxiliaires plus avancés pour améliorer le diagnostic (KWONIL *et al*, 2009; THRONE STEINLAGE *et al*, 2003). L'expression clinique ou les lésions évocatrices ne suffisent pas à établir un diagnostic scientifique de la maladie. L'identification des agents pathogènes doit être effectuée.

### 11-3- Diagnostic différentiel

Les symptômes et lésions de l'aspergillose ne sont pas caractéristiques. L'aspergillose doit être différenciée des autres maladies respiratoires et mycosiques (en particulier l'ochroconose ou dactylariose). Les symptômes de l'aspergillose respiratoire apparus dans les deux premières semaines de vie avec des dépôts sur les sacs aériens ou des nodules intrapulmonaires permettent une forte suspicion mais des symptômes respiratoires identiques peuvent être causés par une infection virale sauvage ou vaccinale.



Des infections bactériennes (*Staphylococcus*, *Salmonella*, *Mycoplasma*, choléra aviaire, *chlamydiose*, *Mycobacterium* ou infections mixtes) peuvent s'accompagner de granulomes ou d'une aérosacculite exsudative fibrineuse (ou purulente) difficiles à distinguer d'une lésion aspergillaire ou d'une autre mycose à l'examen macroscopique.

Cliniquement, l'aspergillose chronique des oiseaux adultes est identique à celle des autres maladies respiratoires chroniques.

Bien qu'il soit possible parfois d'observer la croissance du mycélium et la sporulation sur les nodules caséux ou les plaques, en particulier dans les sacs aériens, la confirmation doit être recherchée par l'isolement et l'identification du champignon responsable. Les hyphes sont observés au microscope optique sur les calques ou des frottis de lésions tissulaires après l'addition d'une ou deux gouttes d'une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 10% et un chauffage pour clarifier. Sur les coupes histologiques, les colorations spécifiques sont utiles pour la mise en évidence de la paroi glucidique des champignons. Pour identifier le champignon par la morphologie des conidiophores, il faut mettre en culture sur des milieux plus sélectifs (milieu gélosé Sabouraud). (Adjou et Brugère-Picoux, 2015)

### 11-4- Diagnostic de laboratoire

#### 11-4-1- Isolement et identification

Les échantillons utilisés pour la culture peuvent provenir de différents organes: poumon, rein, foie, etc. Le milieu Sabouraud est le milieu le plus couramment utilisé pour exposer *Aspergillus fumigatus*. Il permet une croissance rapide et l'obtention de colonies visibles qui peuvent être obtenues après incubation à 37 ° C pendant 2 à 3 jours. L'ajout d'antibiotique tel que le chloramphénicol peut être réalisé pour limiter le développement de bactéries présentes au sein des prélèvements (sur des sites non stériles) (ARNE, 2011, EUZEBY, 2008 ; THIERRY, 2011).

#### 11-4-2- Coloration

##### ➤ Bleu de lactophénol

L'utilisation du Bleu de lactophénol consiste en un seul produit à éclaircir la préparation par l'action du lactophénol et à colorer en bleu les éléments fongiques présents en 3 minutes.

Bleu au lactophénol dit " bleu coton "

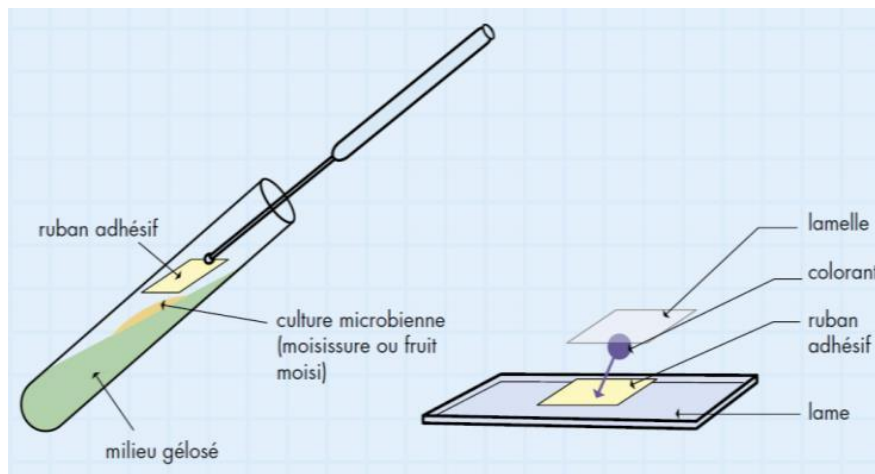


### Composition pour 1 L :

- Phénol 20 g
- Acide lactique 20 g
- Glycérol 40 g
- Eau distillée 20 g
- Bleu de méthyl 0,5 g
- pH = 7,3

Bleu coton = bleu coton C4B = bleu de méthyle = bleu d'aniline WS

(<https://www.ral-diagnostics.fr/>)



**Figure 21 : Méthode du drapeau, (Najoui, 2017)**

Un morceau de ruban adhésif collé à une de ses extrémités à une ose, ou baguette de verre...est appliqué sur la surface de la culture microbienne à étudier, il est ensuite examiné entre lame et lamelle, en sandwich entre 2 gouttes de colorant

### **11-4-3- Identification**

- Dans le cadre de la culture fongique, l'identification est basée sur la reconnaissance de la morphologie et de la couleur de la colonie. Les colonies obtenues par examen microscopique sont essentielles.
- L'inconvénient de cette technique est qu'elle peut être confondue avec d'autres champignons filamenteux (comme le *Penicillium* par exemple) (HOPE *et al*, 2005).



	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. nidulans</i>	<i>A. terreus</i>	<i>A. versicolor</i>
tête aspergillaire						
couleur des conidies	bleu verdâtre sombre	jaune verdâtre	noir	vert sombre	brun orangé	bleu verdâtre
reproduction sexuée	0	0	0	+ avec cellules de Hülle en noisette entourant les cléistothèces	0	0
métule	0	±	+	+	+	+
conidiophores	lisses, souvent verts en partie sup., 300 µm	échinulés	lisses, longs (1 - 3 mm)	lisses, bruns, très courts (< 130 µm)	lisses, 100 - 250 µm	lisses

**Figure 22:** Critères d'identification des principales espèces d'aspergillus

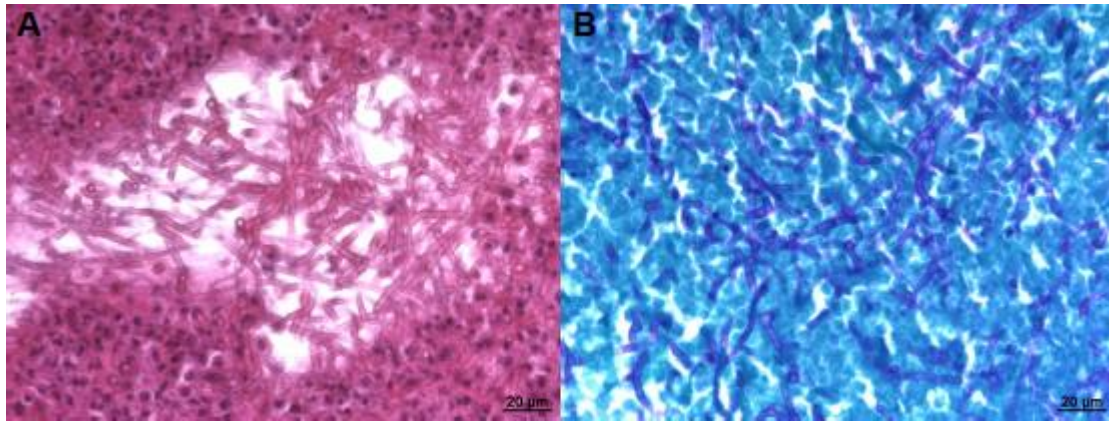
(CHERMETTE, BUSSIERAS, 1993)

#### 11-4-4- Préparation histopathologique

Il existe différentes colorations permettant de mettre en évidence des éléments fongiques dans les tissus. Les plus utilisées sont la coloration hémalum éosine safran (HES), l'acide périodique Schiff (PAS) et les colorations argentiques (Gomori-Grocott et *Gomori methenamine silver*). Les colorations HES et PAS colorent les éléments fongiques en rose (**Figure23**)

Avec les colorations argentiques, les éléments fongiques apparaissent en noir

La coloration de Klüver Barrera est intéressante pour mettre en évidence la réaction neuronale au niveau du système nerveux central et permet de visualiser les filaments fongiques (**RICHARD et al, 1996**).



**Figure 23. A, B** Coloration Hématéine-Eosine-Safran (HES) (A) et à l'acide périodique Schiff (PAS) (B) de coupes histologiques de poumons de dindonneaux. Les filaments fongiques apparaissent en rose (A) ou en mauve (B), (Melloul, 2015)

### 12- TRAITEMENT

Le traitement de l'aspergillose est souvent fastidieux et peu fructueux notamment lorsque des organes peu vascularisés comme les sacs aériens sont atteints ou lors de réactions granulomateuses. Le traitement est plus efficace lorsque différentes mesures sont associées.

Ainsi un débridement chirurgical des granulomes associé à la fois à l'utilisation d'agents agissant directement sur les lésions et à une thérapie systémique est parfois nécessaire pour soigner un oiseau. De nombreuses molécules peuvent être utilisées : l'amphotéricine B, la 5-fluorocytosine, la nystatine, la rifampicine, le diméthycarbamate, la terbinafine et de nombreuses molécules de la classe des azolés : le kétoconazole, le miconazole, l'énilconazole, le clotrimazole, l'itraconazole et le fluconazole, (AGUILAR, REDIG, 1995 ; BAUCK, 1994 ; CUTSEM, 1982 ; GERMAN, 2004 ; JOSEPH, PAPPAGIANIS, REAVILL, 1994 ; OGLESBEE, 1997 ; OROSZ, 2000 ; REDIG, DUKE, 1984 ; REDIG, 1993).

Plusieurs de celles-ci présentent une nette toxicité et sont déconseillées chez certaines espèces (cas du kétoconazole chez les Anatidés par exemple). En pratique, certaines molécules semblent plus efficaces et, actuellement, l'amphotéricine B et l'itraconazole sont les plus utilisés aux Etats-Unis. En France, les molécules les plus disponibles et les plus utilisées sont le fluconazole, la terbinafine, l'amphotéricine B (**tableau 2**). Une formulation vétérinaire de l'itraconazole sera mise sur le marché en 2005. (OROSZ, 2000).



L'amphotéricine B est une molécule fongicide facilement disponible et reste une des molécules de choix. Son mécanisme d'action conduit à une altération de la perméabilité membranaire des champignons sensibles. Elle peut être utilisée à la fois en topique et ensystémique. Il existe des crèmes à base d'amphotéricine B et la formulation destinée à l'utilisation intraveineuse peut être aussi utilisée en intra-osseux, intratrachéale ou directement injectée dans les sacs aériens atteints. Une étude pharmacodynamique indique une demi-vie courte nécessitant l'utilisation de doses élevées et répétées. Ainsi chez les rapaces la posologie intraveineuse est de 1,5 mg/kg/12h et la posologie intratrachéale de 1mg/kg/12h. **(OROSZ, 2000)**. L'utilisation de l'amphotéricine B en nébulisation est aussi fréquente (1mg/mL) ; des séances de 15 minutes par jour pendant 5 à 7 jours sont alors préconisées. Rappelons cependant que seules des gouttes d'une taille inférieure à 4 µm peuvent atteindre l'appareil respiratoire profond nécessitant l'utilisation d'appareils de nébulisation particuliers permettant leur formation. Bien que l'action néphrotoxique de l'amphotéricine B soit bien documentée chez les mammifères, elle ne semble pas avoir encore été décrite chez les oiseaux. Il est cependant recommandé par certains auteurs de réaliser une fluidothérapie lors de son utilisation **(OROSZ, 2000)**.

Outre l'amphotéricine B, d'autres molécules peuvent être administrées en nébulisation. Le clotrimazole a été employé efficacement sur des rapaces et des Psittacidés et d'autres essais concernant l'utilisation de l'énilconazole sur des poulets et plus récemment sur des rapaces se sont révélés concluants **(CUTSEM, 1982, JOSEPH, PAPPAGIANIS, REAVILL, 1994 ; LIERZ, 2000)**.

Certains auteurs recommandent aussi, en association avec d'autres molécules, l'utilisation en aérosol d'un désinfectant nommé F10 utilisé habituellement pour la désinfection des locaux et des cages. **(BAILEY, SULLIVAN, 2001 ; STANFORD, 2001)**.

Ce désinfectant à base d'ammoniums quaternaires et de biguanides a prouvé son efficacité dans le traitement de l'aspergillose chez des perroquets gris d'Afrique (*Psittacus erithacus*) en association avec la terbinafine **(CHITTY J, 2002)**.

L'itraconazole est l'azolé le plus utilisé par les vétérinaires aviaires en ce moment.

Comme tous les azolés, il agit en perturbant la synthèse de la membrane plasmique du champignon provoquant sa mort, il s'agit donc d'une molécule fongicide. **(OROSZ, 2000)**.



De part sa nature lipophile, l'itraconazole est mieux absorbé s'il est donné avec un aliment gras. Des variations importantes des concentrations plasmatiques existent suivant l'espèce aviaire considérée nécessitant la plus grande prudence dans l'extrapolation des posologies d'une espèce à l'autre ainsi qu'une surveillance clinique précise lors de l'utilisation de cette molécule. Il existerait une toxicité de l'itraconazole chez le Perroquet gris d'Afrique (*Psittacus erithacus*) (OROSZ, 2000).

Le fluconazole présente une alternative à l'utilisation de l'itraconazole pour un traitement systémique.

Parallèlement à un traitement médical, un traitement chirurgical peut-être intéressant.

Il consiste en l'exérèse des granulomes fongiques permettant une libération des voies respiratoires (cas des granulomes trachéaux entre autres) et une diminution de la quantité de champignons dans l'organisme. Cette exérèse peut être réalisée par le biais d'une laparotomie ou, mieux, lors d'une endoscopie. Une technique associant endoscopie et débridement à l'aide d'une diode laser est décrite et semble très intéressante (HERNANDEZ-DIVERS, 2002)

En plus du traitement spécifique de l'aspergillose, une thérapie de soutien (fluidothérapie, gavage...) et des éventuelles complications notamment bactériennes sont à mettre en place.

**Tableau 2** : posologies des molécules les plus fréquemment utilisées pour le traitement de l'aspergillose aviaire (posologies pour *Psittacus erithacus erithacus*) (OROSZ, 2000)

<b>Aérosol</b>	Clotrimazole 10 mg/mL de polyéthylène glycol 30-60 min toutes les 12 h
	ou
	Amphotéricine B (Fungizone <sup>®</sup> ) 1 mg/mL d'eau 15 min toutes les 12 h

En association avec

<b>Voie orale</b>	Itraconazole (Sporanox <sup>®</sup> , Itrafungol <sup>®</sup> ) 10 mg/kg toutes les 12 h
	ou
	Fluconazole (Triflucan <sup>®</sup> , Beagyne <sup>®</sup> ) 15 mg/kg toutes les 12 h
	ou
	Terbinafine (Lamisil <sup>®</sup> ) 10 mg/kg toutes les 12 h



### 13- PROPHYLAXIE

La prévention de l'aspergillose se fait par quatre approches simultanées : le maintien d'un environnement propre et d'une hygiène correcte pour minimiser le développement des champignons, la diminution du stress des oiseaux, l'utilisation d'un traitement médical prophylactique lors des périodes sensibles, la réalisation régulière de sérologies de contrôle **(CHERMETTE, BUSSIERAS, 1993)**

Les deux premiers points ont déjà été traités auparavant. On peut toutefois rajouter l'intérêt en élevage d'utiliser certaines molécules comme l'énilconazole ou le thiabendazole en fumigation pour diminuer la charge fongique de l'environnement. **(CUTSEM, 1982)**

Le traitement prophylactique qui peut être réalisé avec de la 5-fluorocytosine (50 à 60 mg/kg 2 fois par jour pendant 2 semaines) ou de l'itraconazole (10 mg/kg par jour pendant 10 jours) concerne trois catégories d'oiseaux : ceux ayant été blessés ou ayant subi un stress important suite à des transports, manipulations, changements d'environnement, les jeunes juste après l'envol et les oiseaux sauvages capturés dans leur milieu naturel et placés en parcs zoologiques, centres de réhabilitation **(AGUILAR, REDIG, 1995 ; REDIG, 1993)**.

Enfin, des contrôles sérologiques anticorps par ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) sont recommandés par AGUILAR, REDIG, lors de l'arrivée de tout nouvel individu. Ce dernier conseille de traiter comme mentionné ci-dessus tout oiseau dépassant le seuil de positivation du test ainsi que tous les oiseaux sensibles quelque soit le résultat de l'ELISA. Quatre contrôles par an sont ensuite recommandés **(AGUILAR, REDIG, 1995)**.

Des essais de vaccinations par injections de suspensions inactivées d'*Aspergillus* ont été réalisés chez des manchots mais les résultats sont très variables **(CHERMETTE, BUSSIERAS, 1993)**

Des eiders et d'autres oiseaux aquatiques ont été vaccinés avec une préparation à partir de filtrat de cultures tuées par la chaleur. Une diminution de la mortalité a été observée parmi les oiseaux cliniquement atteints. Au parc zoologique de San Francisco, un programme de prévention associant vaccination et traitement prophylactique avec la 5-fluorocytosine a permis de contrôler efficacement les cas d'aspergilloses chez diverses espèces d'oiseaux. **(GERMAN, 2004 ; REDIG, 1993)**.



### **CHAPITRE 3: ANTIFONGIQUES ET LES RESISTANCES AUX ANTIFONGIQUES.**



### 1- INTRODUCTION

La thérapeutique antifongique est longtemps restée cantonnée à un petit nombre de médicaments, mais un arsenal de molécules est maintenant disponible pour soigner les mycoses. Celui-ci s'est considérablement enrichi ces dernières années non seulement grâce à la commercialisation de nouvelles molécules mais également via de nouvelles formes galéniques (pour l'amphotéricine B) et des spectres d'activité élargis (pour les azolés) (**LORTHOLARY et al, 1999**).

### 2- LES MOLECULES

On distingue 5 classes d'antifongiques : les polyènes, les echinocandines, les azolés, les fluoro-pyrimidines, les allylamines. Les deux premières sont issues de produits naturels tandis que les trois autres sont synthétiques (**VANDEPUTTE, 2008**).

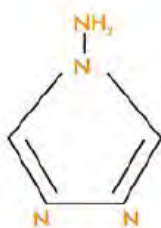
#### 2-1- Les azolés

Plus que toutes les autres classes d'antifongiques, les dérivés azolés sont de loin les antifongiques les plus utilisés en clinique. Pour cette raison, ce sont aussi les antifongiques les plus étudiés par la communauté scientifique, aussi bien au niveau de leurs propriétés pharmacologiques et de leur mode d'action, que des stratégies de défense adoptées par les micro-organismes (**VANDEPUTTE, 2008**). Les azolés ont donc été constamment étudiés et améliorés depuis 50 ans.

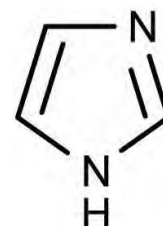
Ces molécules sont utilisées aussi bien dans le traitement des infections fongiques locales que systémiques. On distingue deux catégories d'antifongiques azolés : les imidazolés et les triazolés (**LORTHOLARY et al, 1999**).

#### 2-1-1- Structures

Les dérivés azolés sont des molécules synthétiques. Leur structure comprend l'imidazole ou le triazole lié à un carbone asymétrique (**OEHHA, 2011**). Les imidazoles sont caractérisés par un cycle hétérocyclique à 5 atomes, comprenant 3 carbones et 2 azotes. Dans ce cycle, les atomes d'azote occupent les positions 1 et 3. La structure de l'imidazole se trouve dans divers éléments naturels, tels que l'histamine, l'histidine et les acides nucléiques. En l'incorporant dans la molécule, le groupe améliore la solubilité et la biodisponibilité (**KUMARI, et al 2010**). Le triazole a 3 atomes d'azote dans le cycle hétérocyclique (**SAAG , DISMUKES, 1988**).



**Figure 24** : Structure imidazole  
(**OEHHA, 2011**)

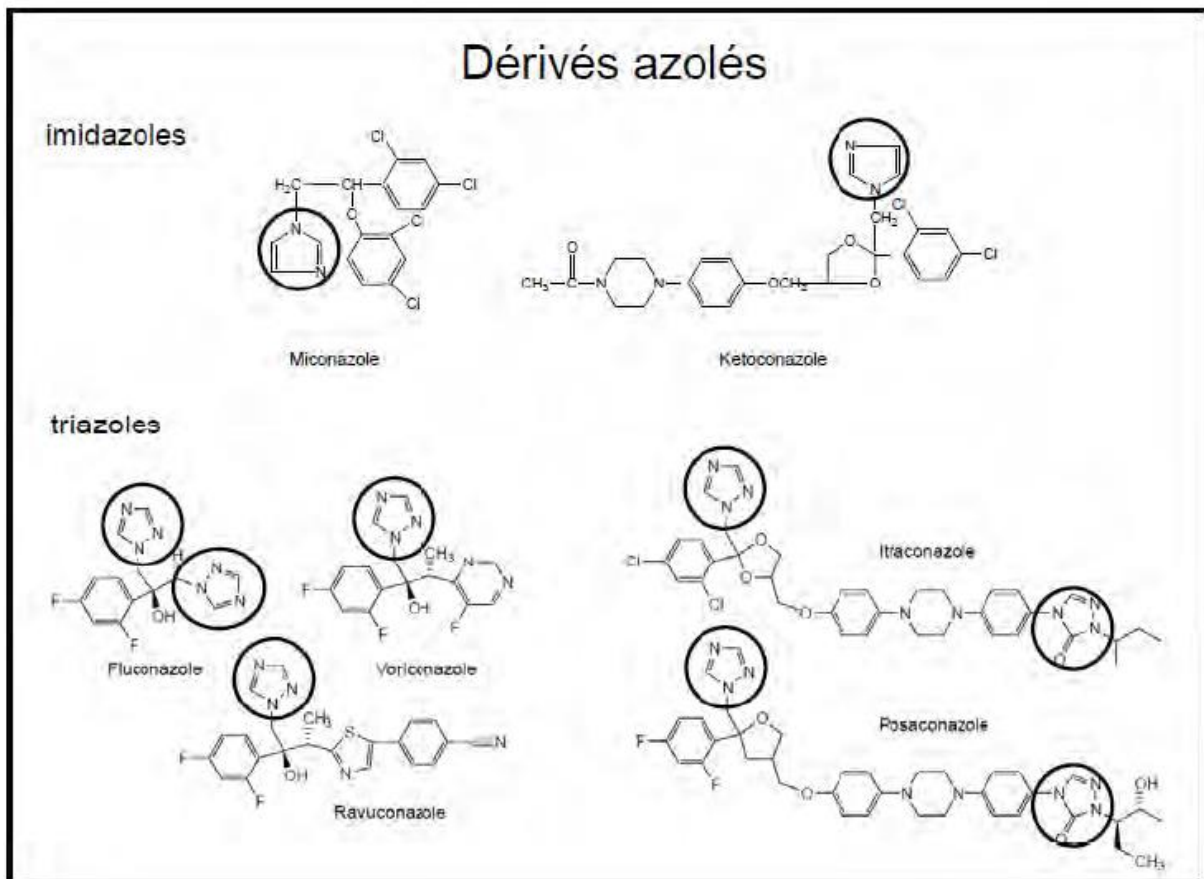


**Figure 25** : Structure Triazole  
(**OEHHA, 2011**)



Ces molécules azolées sont généralement lipophiles. Leur biodisponibilité est habituellement élevée et majorée par la prise au cours du repas pour l'itraconazole et le posaconazole.

L'augmentation de la dose unitaire permet de saturer l'effet de premier passage hépatique (EPPH). De plus, leur taux de liaison aux protéines plasmatiques est proche de 100%, ce qui signifie que l'azole n'est pas dialysable (LORTHOLARY et al, 1999). À l'exception du fluconazole, tous les autres azoles nécessitant des dosages sériques (HINCKY-VITRAT V, 2011).



**Figure 26 : Dérivés azolés - Antifongiques (VAN BAMBEKE, 2011-2012)**

### 2-2- Les autres classes d'antifongiques

#### 2-2-1- Les polyènes

Les polyènes sont des molécules cycliques. Leur nom vient du chromophore qui les caractérise et sont formés par plusieurs doubles liaisons conjuguées. Ils peuvent également être qualifiés de macrolides polyéniques (LORTHOLARY et al, 1999).

Leur caractère amphotère est lié à la présence de plusieurs doubles liaisons conjuguées sur une face du cycle (donc hydrophobe), et de groupements hydroxyles (OH) sur l'autre face (donc hydrophile)



Les deux principaux polyènes utilisés sont l'amphotéricine B ou l'AmpB et Nystatine, bien qu'environ 200 molécules appartiennent à cette classe (VANDEPUTTE P, 2008) (DENIS B, 2010).

Les molécules de cette classe possèdent plusieurs toxicités (VAN BAMBEKE F, 2011-2012) :

- immédiate : fièvres, frissons, nausées, vomissements, hypotension, arythmies
- à court terme : néphrotoxicité
- à moyen terme : anémie

La demi-vie varie de 24 à 48h (LORTHOLARY et al, 1999).

### 2-2-2- Echinocandines

Ce sont des dérivés synthétiques de lipopeptides sécrétés par certains champignons (*Aspergillus*, *Zalerion*). In vitro, elles ont une activité fongicide sur les espèces de *Candida* et fongistatique sur les espèces d'*Aspergillus* (VANDEPUTTE, 2008). Elles sont également efficaces contre les champignons dimorphiques tels que *Histoplasma*, responsable de l'histoplasmosse et *Pneumocystis* (**Diaporama** , <http://loyce2008.free.fr/> ). Il n'y a en revanche aucune activité contre *Fusarium*, *Trichophyton*, *Cryptococcus* et les zygomycètes (GRANIER, 2002).

Lors d'un traitement prolongé (supérieur à 2-3 semaines), il y a accumulation des echinocandines dans l'organisme. En effet, la demi-vie de ces molécules est longue. En contrepartie, cela permet une injection quotidienne uniquement (HINCKY-VITRAT, 2011) (VANDEPUTTE, 2008)

### 2-2-3- La caspofungine

La caspofungine est un lipopeptide issu de la fermentation d'un champignon : *Glarea lozoyensis*. (VAN BAMBEKE, 2011-2012) Cet antifongique est particulièrement indiqué en traitement de sauvetage de l'aspergillose invasive (GRANIER, 2002). Sa demi-vie est d'environ 10 heures et elle a la propriété de s'accumuler dans l'organisme lors d'un traitement prolongé (2-3 semaines).



### 2-2-4- Les fluoro-pyrimidines

Les fluoro-pyrimidines sont également surnommées « inhibiteurs de la biosynthèse des acides nucléiques » ou « analogues de la pyrimidine ». (VANDEPUTTE, 2008) (HERBRECHT, 2005). Sa demi-vie est de 3 à 6 heures. Cet antifongique possède également un EPAF, de l'ordre de 2 à 6 heures pour une concentration égale à 4 à 8 fois la CMI (LORTHOLARY et al, 1999).

### 2-2-5- Les allylamines

Les allylamines sont des molécules synthétiques.

Il existe, pour cette classe, 2 actions :

- fongistatique : le déficit en ergostérol provoque l'arrêt de la croissance fongique ;
- fongicide : l'accumulation de squalène dans la cellule sous formes de vésicules lipidiques entraîne une rupture des membranes cellulaires (GRANIER, 2003).

Sa demi-vie est de 17 heures (LORTHOLARY et al, 1999).

## 3- MODE D'ACTION

Tous les antifongiques azolés sont des inhibiteurs enzymatiques qui agissent en bloquant le site actif de l'enzyme connue sous le nom de Lanosterol 14 $\alpha$  demethylase. Cette enzyme, appelée CYP51 appartient aux isoenzymes des cytochromes P450 des mitochondries des cellules fongiques. Elle permet chez le champignon la transformation du lanostérol en ergostérol, principal stérol de la membrane fongique (GRANIER F, 2000) (VANDEPUTTE P, 2008)

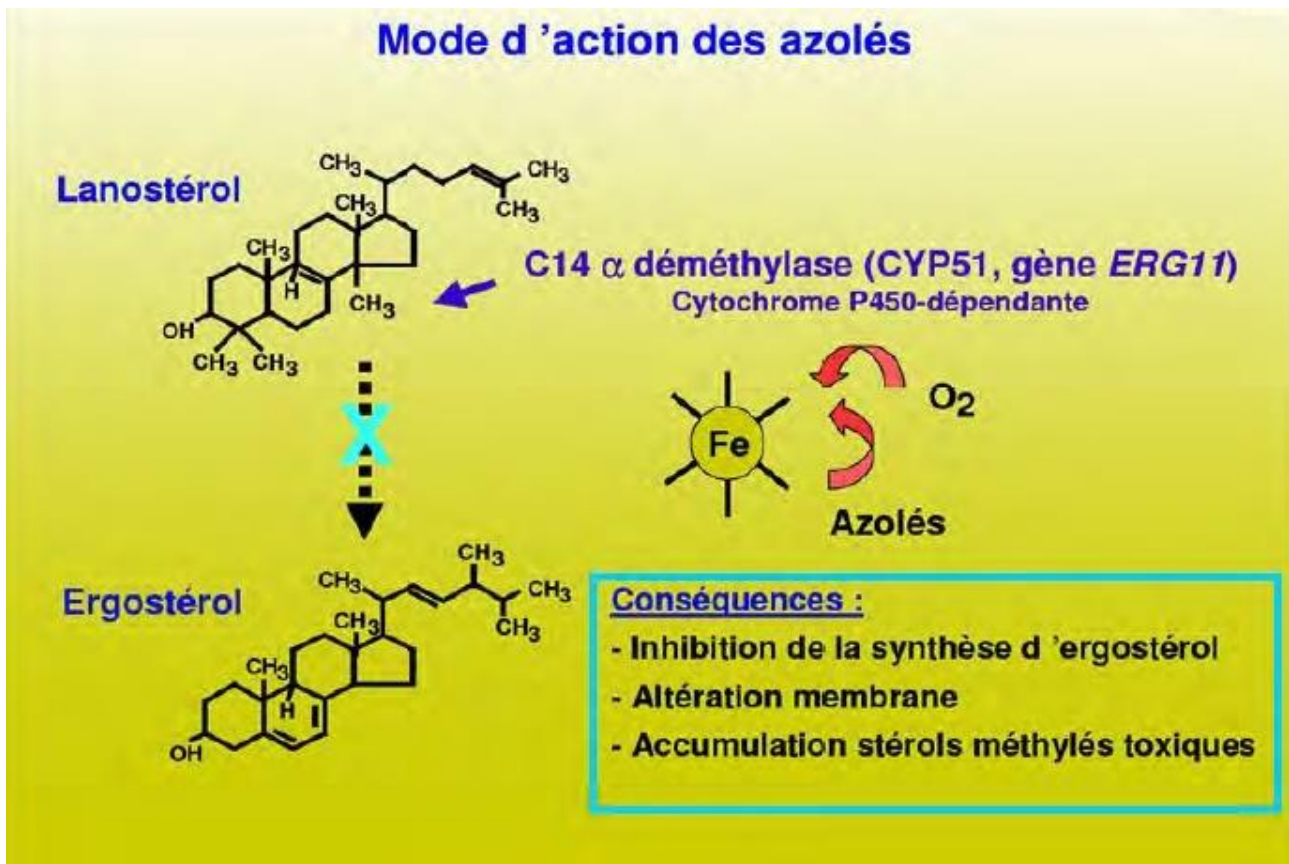
La 14 $\alpha$  demethylase est codée par le gène ERG11. L'étape de déméthylation nécessaire pour transformer les 14 $\alpha$  methyl stérols en ergosterol est dépendante de l'activation du cytochrome P450. Sur le plan moléculaire, un des atomes d'azote (le N-3 chez les imidazolés et le N-4 chez les triazolés) se lie à l'atome de fer de l'hème situé dans le site actif de l'enzyme (GRANIER, 2003) (YU et al, 2010) (VAN BAMBEKE, 2011-2012) du cytochrome P450, inhibant ainsi l'activation de ce cytochrome et par conséquent le fonctionnement enzymatique.

Les azolés sont donc actifs sur les enzymes dépendantes du cytochrome P450 (DELAUNAY, FISSORE, 2006).

L'inhibition conduit à une accumulation de précurseurs dans la chaîne de synthèse : lanostérol et divers 14-méthylstérols (LORTHOLARY et al, 1999). Ce qui aboutit à l'inhibition de la croissance du champignon. On observe également un épuisement d'ergostérol, stérol primordial



dans la composition de la membrane de la cellule fongique, ce qui compromet l'intégrité de la membrane cellulaire (GUBBINS, 2011).



**Figure 27**

Mécanisme d'action des azolés - Advances in synthetic approach to and antifungal activity of triazoles (DENIS B, 2010)

Une concentration élevée d'imidazole est liée à une activité fongicide rapide. En effet, à haute concentration, ils pourraient exercer une inhibition directe sur les membranes, sans interférer avec les stérols ou les esters de stérol (KUMARI et al 2010).

On soupçonne également que les azolés peuvent inhiber les enzymes oxydatives et peroxydative

du cytochrome, ce qui entraînerait une augmentation de la concentration de peroxydes intracellulaires (SAAG, DISMUKES, 1988).

Outre l'atteinte des systèmes membranaires, ces molécules peuvent altérer la paroi fongique avec défaut de séparation des bourgeons de la levure mère et inhiber la formation des filaments de *Candida albicans* (VANDEPUTTE, 2008).



Les triazolés ont un très large spectre : *Candida*, *Aspergillus*, *Fusarium*, etc ainsi que les champignons dimorphiques et les dermatophytes contrairement aux imidazolés qui ne sont actifs que sur *Candida* et *Aspergillus* (**KUMARI et al 2010**).

A doses journalières égales, un schéma d'administration en une seule prise est aussi efficace qu'un schéma comportant plusieurs prises. Donc, du point de vue efficacité, il est inutile de fractionner la dose journalière.

On dit que le champignon en période stationnaire est plus sensible aux composés azolés que le champignon en période de croissance exponentielle (**LORTHOLARY et al, 1999**). L'élimination de ces molécules se divise en deux étapes: elles sont métabolisées par le foie, puis Les métabolites sont éliminés par les reins (**VANDEPUTTE, 2008**) (**VANDANA, RAKESH, 2011**).

#### 4- MODE DE RESISTANCE

On parle de résistance quand l'infection progresse malgré un traitement adapté.

Les espèces d'*Aspergillus* sont intrinsèquement résistantes au fluconazole mais sensibles à l'itraconazole. Toutefois, lors d'une aspergillose, une résistance secondaire à l'itraconazole peut survenir. Les facteurs de résistance clinique tels que l'administration prolongée de l'itraconazole, une atteinte pulmonaire avec cavernes et l'immunosuppression jouent un rôle dans la mauvaise réponse thérapeutique (**GRANIER, 2003**).

##### 4-1- Systèmes d'efflux

Au niveau des membranes cellulaires (fongiques, bactériennes, animales), il existe des transporteurs très ubiquitaires qui ont pour rôle de rejeter en dehors des cellules une grande variété de substances, dont les médicaments (**VANDEPUTTE, 2008**). Ces transporteurs sont appelés « pompes » ou « protéines d'efflux ».

Chez les champignons (dont les levures), deux familles de pompes sont impliquées dans la résistance aux antifongiques azolés : les pompes de type ABC pour ATP-Binding Cassette, utilisant l'ATP comme source d'énergie pour le transfert, et les MFS pour Major Facilitator

Superfamily, qui utilisent comme source d'énergie un gradient de protons (**DANNOUI, 2007**) (*Diaporama*, <http://loyce2008.free.fr/>)



S'il y a surexpression de ces protéines d'efflux, il y aura par conséquent diminution de la concentration intracellulaire d'antifongique et donc moindre efficacité.

Il semble que les protéines ABC soient capables de prendre en charge tous les azolés alors que les MFS seraient plus spécifiques du fluconazole (VANDEPUTTE, 2008).

### 4-2- Surproduction de la cible cyp51 codée par le gène erg11

Cette surproduction équivaut à la multiplication du nombre de copies de la lanosterol 14 $\alpha$  demethylase (= CYP51), due à la surexpression du gène ERG11. Il y a augmentation de la transcription du gène ERG11 grâce à la surexpression des ARN messagers (DANNOUI, 2007). Ainsi, les azolés ne sont plus en quantité suffisante pour inhiber la conversion du lanostérol en stérols 14 $\alpha$  déméthylés (VANDEPUTTE, 2008)

### 4-3- Modification de la cible : diminution de l'affinité pour l'azolé

Des mutations ponctuelles du gène ERG11 entraînent une modification de la séquence en acides aminés de la lanosterol 14 $\alpha$  demethylase provoquant une altération de sa liaison avec l'antifongique azolé (VANDEPUTTE P, 2008)

### 4-4- Blocage de la voie de biosynthèse de l'ergostérol

Cette forme de résistance est due à une mutation d'un gène responsable de la synthèse d'intermédiaires toxiques tels que les stérols 14 $\alpha$  méthylés (VANDEPUTTE P, 2008)

### 4-5- Autres formes de résistance

La résistance aux antifongiques azolés peut également résulter d'un mécanisme épigénétique, par exemple la capacité à former des biofilms qui limitent le passage de l'antifongique à l'intérieur de la cellule.

Un autre exemple de mécanisme non-moléculaire est la capacité à contourner l'absence d'ergosterol suite au blocage de sa voie de biosynthèse par l'antifongique. Ce mécanisme est observé chez *C. glabrata* qui, contrairement aux autres levures du genre *Candida* et notamment à *C. albicans*, mais comme *Saccharomyces cerevisiae*, est capable d'assimiler et d'utiliser une source de stérol exogène en présence d'azolés, telle que le cholestérol présent chez l'Homme.





Cette observation pourrait d'ailleurs en partie expliquer la moindre sensibilité de cette espèce aux antifongiques azolés (VANDEPUTTE, 2008)

Bien que toutes les molécules de cette classe agissent de la même manière, elles se distinguent chacune par un spectre d'action, une pharmacocinétique et une toxicité différents (SHALINI et al, 2011).

### 5- CONCLUSION

- L'aspergillose est une maladie fréquente chez les oiseaux, son diagnostic clinique est très difficile et peu d'examen complémentaires permettent un diagnostic de certitude.
- Les pertes économiques restent encore considérables du fait du taux de mortalité très élevé, car le traitement est peu fructueux à cause de l'absence de molécules sur le marché.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**



- AGUILAR RF, REDIG PT. diagnosis and treatment of avianaspergillosis. in: bonagura jd. kirk's current veterinary therapy: small animal practice. 12th ed. philadelphia: wb saunders, 1995, 1294-1299.
- ANDREJ CHUDY, 2008 (image historique) site : [www.flickr.com/photos/andrej\\_chudy/2416576086](http://www.flickr.com/photos/andrej_chudy/2416576086)
- ANDRE SERGENT, chambre d'agriculture de bretagne, 2007
- ARNE P, THIERRY S, WANG D, DEVILLE M, LE LOCH' G, DESOUTTER A, FEMENIA F, NIEGUITSILO A, HUANG W, CHERMETTE R, GUILLOT J (2011). *Aspergillus fumigatus* in poultry, international journal of microbiology, 2011:746356
- DENIS B. association amicale d'enseignement post universitaire de la region de montmorency : les mycoses ou infections fongiques. 2010, 12p.
- BADILLET G., DE BIEVRE C., GUEHO E. champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes. atlas clinique et biologique. tome ii. editions varia, paris. 1987, 228pp.
- BAILEY T, SULLIVAN T. aerosoltherapy in birds using a novel disinfectant. exotic dvm, 2001, 3(4), 17.
- BAUCK L. mycoses. in: ritchie bw, harrison gj, harrison lr. avian medicine: principles and application. lake worth: wingers publishing, 1994, 997- 1006.
- BECKMAN BJ, HOWE CW, TRAMPEL DW, DEBEY MC, RICHARD JL, NIYO Y (1994). *aspergillus fumigatus* keratitis with intraocular invasion in 15-day-old chicks, avian diseases, 38, 660-665
- BEERNAERT LA, PASMANS F, VAN WAEYENBERGHE L, HAESEBROUCK F, MARTEL A (2010). *aspergillus* infections in birds: a review, avian pathology, 39(5), 325- 331
- BEYTUT E, OZCAN K, ERGINSOY S (2004). immunohistochemical detection of fungalelements in the tissues of goslings with pulmonary and systemic aspergillosis, acta veterinaria hungarica, 52(1), 71-84
- BEYTUT E, OZCAN K, ERGINSOY S (2004). immunohistochemical detection of fungalelements in the tissues of goslings with pulmonary and systemic aspergillosis, acta veterinaria hungarica, 52(1), 71-84



- BIDAUD O, CHEVALIER D, BOURDETTE C, TRAVEL A, CNAPELYNCK S, CHAUVIN C, BOUVAREL I (2005). pratiques et dépenses de santé en élevage de dindes de chair, sixièmes journées de la recherche avicole, saint malo, 30 et 31 mars 2005
- BOUCHARA, J. P., M. SANCHEZ, ET AL. (1997). "sialicacid-dependent recognition of laminin and fibrinogen by aspergillus fumigatusconidia." *infect immun*65(7): 2717-24.
- BOUCHARA, J. P., M. SANCHEZ, (1999). "interactions betweenaspergillus fumigatusand host matrix proteins." *contribmicrobiol*2: 167-81.
- BOURGEOIS V. l'aspergillose du dindon. contribution à l'étude de l'épidémiologie chez les reproducteurs mâles. thèse méd. vét., alfort, 1991, n°72, 77p.
- BRUGERE-PICOUX J (1992). environnement et pathologie chez les volailles. in : brugere-picoux j, silim a. manuel de pathologie aviaire, ed chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour, maisons-alfort, 77-84
- CACCIUTTOLO, E., ROSSI, G., NARDONI, S., LEGROTTAGLIE, R. & MANI, P. anatomopathological aspects of avianaspergillosis. *vet. res. comun.* 33, 521–527 (2009)
- CAMPBELL C.K., JOHNSON E.M., PHILPOT C.M., WARNOCK D.W. identification of pathogenicfungi. *public healthlaboratory service*, 1996, 298pp.
- CHABASSE D. classification des champignons d'intérêt médical. *encycl. méd. chir.* (elsevier, paris) maladies infectieuses, 8-088-b-10, 2001, 15p.
- CHERMETTE R, BUSSIERAS J. abrégé de parasitologie vétérinaire. fascicule v : mycologie vétérinaire. photocopié. école nationale vétérinaire d'alfort, unité pédagogique de parasitologie et maladies parasitaires. 1993, 179p.
- CHITTY J. clotrimazole a novel disinfectant in psittac inerespiratory disease. in: proceedings of the annualconference of the association of avianveterinarians. monterey, california, 26-30 août 2002. bedford: aav, 2002, 25-27
- CONTET-AUDONNEAU N., CHABASSE D., GUIGUEN C. mycologic : encyclopédie multimédia de mycologie médicale, 1998. cdrom commercialisé par logitel – france med, 2-4 rue montesquieu, 54000 nancy.<http://www.francemed.org>
- CONVERSE, K.A. aspergillosis. in*infectiousdiseases of wildbirds* (eds thomas, n.j., hunter, d.b. & atkinson, c.t) 360–374 (john wiley& sons, 2008)



- CORKISH JD (1982). mycotricacheitis in chickens, *avianpathology*, 11, 627-629
- CORTES PL, SHIVAPRASAD HL, KIUPEL M, SENTIES-CUE G (2005). omphalitisassociatedwith aspergillus fumigatus in poults, *aviandiseases*, 49, 304-308
- CUTSEM JV. antifungalactivity of enilconazole on experimentalaspergillosis in chickens. *aviandiseases*, 1982, 27, 36-42
- CUTSEM JV. antifungalactivity of enilconazole on experimentalaspergillosis in chickens. *aviandiseases*, 1982, 27, 36-42.
- DAHLHAUSEN, B., ABBOTT, R. &VANOVERLOOP, P. rapiddetection of pathogenic aspergillus species in aviansamples by real-time pcr assay: apreliminary report. in proc. annu. conf. assoc. avianvet. (ed. bergman, e.) 37 (new orleans, la, usa, 2004)
- DANNOUI E. : principaux antifongiques systémiques : mécanisme d'action et de résistance, spectre, indications. diu stratégies thérapeutiques en maladies infectieuses, 2007.
- DELAUNAY P., FISSORE C. : interactions médicamenteuses des antifongiques systémiques. *journal de mycologie médicale / journal of medicalmycology*, 2006, 16 : 152–158.
- DEZAT E, DENNERY G (2011). economies de litière en aviculture, chambre d'agriculture de bretagne et pays de la loire, 4 pages
- DIAPORAMA disponible sur [http://loyce2008.free.fr/microbiologie/parasitologie%20-%20mycologie/antifongiques%20\(meb\).ppt](http://loyce2008.free.fr/microbiologie/parasitologie%20-%20mycologie/antifongiques%20(meb).ppt)
- DIAPORAMA disponible sur [http://loyce2008.free.fr/microbiologie/parasitologie%20-%20mycologie/antifongiques%20\(meb\).ppt](http://loyce2008.free.fr/microbiologie/parasitologie%20-%20mycologie/antifongiques%20(meb).ppt)
- DIXON D.M., POLAK-WYSS a. the medically important dematiaceousfungi and their identification. *mycoses*, 1991, 34 : 1-18.
- DYAR, P.M., FLETCHER, O.J. & PAGE, R.K. aspergillosis in turkeysassociatedwith use of contaminatedlitter. *avian dis.* 28, 250–255 (1984)
- E.BRUMPT. précis de parasitologie. etude systématique des champignons parasites et des mycoses ou maladies qu'ils occasionnent. masson (paris) 1949
- ELISE MELLOUL, 2015 ,aspergillose aviaire : développement d'un modèle d'aspergillose chez la dinde (meleagrisgallopovo) et évaluation de l'efficacité de l'énilconazole



- EUZEBY J (2008). grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire, édition lavoisier, paris, 67-70
- FEDDE MR (1998). relationship of structure and function of avian respiratory system to disease susceptibility, poultry science, 77, 1130-1138
- FEMENIA F, FONTAINE JJ, LAIR-FULLERINGER S, BERKOVA N, HUET D, TOWANOU N, ROKOTOVAO F, GRANET OI, LE LOCH' G, ARNE P, GUILLOT J (2007). clinical, mycological and pathological findings in turkey experimentally infected by aspergillus fumigatus, avian pathology, 36:3, 213-219
- FINGEROTH J.D., ROTH R.S., TALCOTT J.A., RINALDI M.G. zygomycosis due to mucor circinelloides in a neutropenic patient receiving chemotherapy for acute myelogenous leukemia. Clin. Infect. Dis., 1999, 19: 135-137.
- GERMAN A. avian aspergillosis. in: the aspergillus website. [en-ligne], [<http://www.aspergillus.man.ac.uk/secure/veterinary/aspavian.html>] (consultée le 08 mars 2004).
- GIL, M. L., M. C. PENALVER, ET AL. (1996). "binding of extracellular matrix proteins to aspergillus fumigatus conidia." infect immun 64(12): 5239-47.
- GRANIER F. : antifongiques : classes thérapeutiques, mécanismes d'action, problèmes de résistance. antibiotiques, 2003, 5 : 39-48.
- GRANIER F. : les infections fongiques invasives. la presse médicale, 2000, 29 : 2051.
- GRANIER F.: les traitements antifongiques : synopsis infectiology 42th icaac. la presse médicale, 2002, 31 : 1785-1791.
- GUARRO J., GENE J. fusarium infections. criteria for the identification of the responsible species. mycoses, 1992, 35 : 109-114.
- GUBBINS PO. : triazole antifungal agents drug-drug interactions involving hepatic cytochrome p450. expert opinion on drug metabolism & toxicology, 2011, 7 : 1411-1429.
- GUERIN JL, BALLOY D, VILLATE D (2011A). maladies des volailles. 3ème ed. éditions france agricole, paris, 71-98  
guerin jl, balloy d, villate d (2011b). maladies des volailles. 3ème ed. éditions france agricole, paris, 51-63
- GUILLOT J, CHERMETTE R (2001). aspergillosis in birds, revue pratique, 51, 704-707



- HAMET N (1992). l'aspergillose aviaire. in: brugere-picoux j, silim a. manuel de pathologie aviaire, ed chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de bassecour, maisons-alfort, 289-293
- HERBRECHT R., CHABASSE D. ZYGOMYCOSES (i) généralités et zygomycoses. encycl. méd. chir. (elsevier, paris) maladies infectieuses, 8-614-b-10, 1999, 8 p.
- HERBRECHT R., NIVOIX Y., FOHRER C. : management of systemic fungal infections : alternatives to itraconazole. journal of antimicrobial chemotherapy, 2005, 56 : i39-i48.
- HERNANDEZ-DIVERS SJ. endosurgical debridement and diode laser ablation of lung and air sac granulomas in psittacine birds. journal of avian medicine and surgery, 2002, 16, 138-145.
- HINCKY-VITRAT V. : les antifongiques systémiques. clinique maladies infectieuses - chu grenoble, 2011.
- <http://www.techmicrobio.eu/index.php/38-microbio/mycologie-generale/108-mycologielaboratoire>
- <https://www.ral-diagnostics.fr/solutions/biologie-humaine-animale-parasitologie-mycologie/mycologie/#:~:text=363060&text=l'utilisation%20du%20bleu%20de,fongiques%20pr%20c3%a9sents%20en%203%20minutes>.
- HUTSON LR (1966). bagasse litter as a contributory factor in avian aspergillosis, the canadian veterinary journal, 7(6), 117-120
- ITAVI (1997A). les litières, sciences et techniques avicoles, 43, hors série, [en ligne], <http://www.itavi.asso.fr/elevage/batiment/sta1997/les%20litières.pdf> consulté le 28/02/2013
- IVANOV I (2008). disinfection of eggs contaminated with some fungimoulds, trakia journal of sciences, 6, suppl.1, 98-101, 2008.
- JACOBSEN D, GROBE K, SLESIONA S, HUBE B, BERNDT A, BROCK M (2010). embryonated eggs as an alternative infection model to investigate aspergillus fumigatus virulence, infection and immunity, 78(7), 2995-3006
- JANSSEN\_ANIMAL\_HEALTH. aspergillus prevention in hatcheries (2006)
- JEAN-LUC GUERIN, DOMINIQUE BALLOY, DIDIER VILLATE, 2011, 3ème édition la semaine vétérinaire n°1362 du 29/05/2009, k.adjou



- JENSEN HE, CHRISTENSEN JP, BISGAARD M, NIELSEN OL (1997). immunohistochemistry for the diagnosis of aspergillosis in turkey poults, *avian pathology*, 26, 5-18
- JONES MP, OROSZ SE. the diagnostic of aspergillosis in birds. *seminars in avian and exotic pet medicine*, 2000, 9(2), 52-58.
- JONES TA, DAWKINS MS (2010). environment and management factors affecting pekin duck production and welfare on commercial farms in the uk, *british poultry science*, 51(1), 12-21
- JOSEPH V, PAPPAGIANIS D, REAVILL DR. clotrimazole nebulization for the treatment of respiratory aspergillosis. in: *proceedings of the annual conference of the association of avian veterinarians*. reno, nevada, 28-30 septembre 1994. lake worth: aav, 1994, 301-306.
- JULIAN RJ, GORYO M (1990). pulmonary aspergillosis causing right ventricular failure and ascites in meat-type chickens, *avian pathology*, 19, 643-654
- JULIAN, R.J. & GORYO, M. pulmonary aspergillosis causing right ventricular failure and ascites in meat-type chickens. *avian pathol.* 19, 643-654 (1990)
- K ADJOU ET J BRUGERE-PICOUX *manuel de pathologie aviaire* 2015
- KUMARI S., PRAMOD KUMAR S., NITIN K. : imidazole and its biological activities : a review. *der chemica sinica*, 2010, 1 : 36-47. 10.
- KUNKLE RA (2003). aspergillosis. in saif ym, barnes hj, glisson jr et al., editors. *diseases of poultry* 11th edition. ames, iowa, usa : iowa state university press, 883-895
- KUNKLE, R.A. & RIMLER, R.B. pathology of acute aspergillosis in turkeys. *avian dis.* 40, 875-886 (1996)
- KUNKLE, R.A. aspergillosis. in *diseases of poultry* 11th edn (ed saif, y.m. et al.) 883-895 (iowa state university press, ames, iowa, usa, 2003)
- KWON-CHUNG K.J., BENNET J.E. *medical mycology*. lea et febiger, london, 1992, 866pp.
- KWONIL J, YOUNGJUN K, HANG L, JONG-TACK K (2009). aspergillus fumigatus infection in two wild eurasian black vultures (*aegypius monachus linnaeus*) with carbofuran insecticide poisoning: a case report, *the veterinary journal*, 179, 307-312





- LAIR-FULLERINGER, S., J. GUILLOT (2003). "differentiation between isolates of aspergillus fumigatus from breeding turkeys and their environment by genotyping with microsatellite markers." *j clin microbiol* 41(4): 1798-800
- LATGE, J. P. (2001). "the pathobiology of aspergillus fumigatus." *trends microbiol* 9(8): 382- 9.
- LATGE, J. P., S. PARIS, (1994). "[tools, progress and questions in the molecular study of aspergillus fumigatus and invasive aspergillosis]." *patholbiol (paris)* 42(7): 632-9.
- LIEBMANN, B., T. W. MUHLEISEN, ET AL. (2004). "deletion of the aspergillus fumigatus lysine biosynthesis gene *lysF* encoding homoaconitase leads to attenuated virulence in a low-dose mouse infection model of invasive aspergillosis." *archmicrobiol* 181(5): 378- 83.
- LIERZ M. use of inhalation chamber for aspergillosis therapy. *exotic dvm*, 2000, 2(3), 79-80.
- LORTHOLARY O., TOD M., DUPONT B. : antifongiques. *emc - maladies infectieuses*, 1999, 1-21.
- MARTLAND MF (1984). wet litter as a cause of plantar pododermatitis, leading to foot ulceration and lameness in fattening turkeys, *avian pathology*, 13(2), 241-252
- MARTLAND MF (1985). ulcerative dermatitis in broiler chickens: the effects of wet litter, *avian pathology*, 14(3), 353-364
- MAXWELL HAMILTON ,2007(image historique) site : [www.featherbase.info/uk/species/corvus/monedula](http://www.featherbase.info/uk/species/corvus/monedula)
- MORIN O. aspergillus et aspergilloses : biologie. *editions techniques. encyl. méd. chir. (elsevier, paris) maladies infectieuses* 8-600-a-10, 1994, 4 p.
- OFFICE OF ENVIRONMENTAL HEALTH HAZARD ASSESSMENT (OEHHA) : triazole antifungal agents. *cic consultation*, 2011, 7p.
- OGLESBEE BL. MYCOTIC DISEASES. IN: ALTMAN RB, CLUBB SL, DORRESTEIN GM *avian medicine and surgery*. philadelphia: wb saunders, 1997, 323-331. 37 oroz se. overview of aspergillosis: pathogenesis and treatment options. *seminars in avian and exotic pet medicine*, 2000, 9(2), 59-65.



- OLIAS P, HAUCK R, WINDHAUS H, VAN DER GRINTEN E, GRUBER AD, HAFEZ M (2010B). articularaspergillosis of hip joints in turkeys, *aviandiseases*, 54, 1098-1101
- OLIAS, P. molecularepidemiology and virulence assessment of aspergillus fumigatusisolatesfrom white storkchicks and theirenvironment. *vet. microbiol.* 148, 348–355 (2011)
- OLIAS, P., JACOBSEN, I.D. & GRUBER, A.D. fungalspecies identification fromavianlungspecimens by single hypha laser microdissection and per productsequencing. *med. mycol.* 49, 56–61 (2010)
- PARIS, S., M. MONOD,(1993). "a transformant of aspergillus fumigatusdeficient in the antigenicytotoxin aspfi." *fems microbiollett*111(1):31-6.
- PAUGAM A. apports et limites de la biologie moléculaire en mycologie médicale. *revue française des laboratoires*, 1999, n°315, 39-42.
- PERRY BD, RANDOLPH TF (1999). improving the assessment of the economic impact of parasiticdiseases and of their control in production animals, *veterinaryparasitology*, 84, 145-168
- PIER, A.C. & RICHARD, J.L. mycoses and mycotoxicoses of animalscaused by aspergilli. *biotechnology* 23, 233–248 (1992)
- PLANEL R, HERAULT L, GAVARET T, PLASSIART G (2001). granulomes d'origine mycosique sur des canes pékin futures reproductrices, *bulletin des gtv*, n°10, 247-249
- POWELL FL. respiration. in: causey whittow g. *sturkie'savianphysiology*. 5th ed. san diego: academicpress, 2000, 685p. 42 redig pt, duke ge. comparative pharmacokinetics of antifungaldrugs in domesticturkeys, red-tailedhawks, broad-wingedhawks, and great-hornedowls. *aviandiseases*, 1984, 29, 649-661.
- REDIG P, PAUL S (2005). mycotic infections in birds i: aspergillosis, the north american veterinaryconference, 1192-1193
- REDIG PT. avianaspergillosis. in: fowler me. *zoo and wild animal medicinecurrenttherapy*. 3th ed. philadelphia: wb saunders, 1993, 178-181.
- RICHARD JL, THRSTON JR, PEDEN WM, PINELLO C (1984). recentstudies on aspergillosis in turkey poults, *mycopathologia*, 87, 3-11



- RICHARD JL, THURSTON JR (1983). rapid hematogenous dissemination of aspergillus fumigatus and aspergillus flavus spores in turkey poult following aerosol exposure, avian diseases, 27, 1025-1033
- SAAG MS., DISMUKES WE. :azole antifungal agents : emphasis on new triazoles. antimicrob agents chemother, 1988, 32 : 1-8.
- SAINT-GERMAIN G. summerbell champignons filamenteux d'intérêt médical. caractéristiques et identification. star publishing company, belmont, california, usa, 1996, 313pp.
- SAJID MA, KHAN IA, RAUF U (2006). aspergillus fumigatus in commercial poultry flocks, a serious threat to poultry industry in pakistan, journal of animal and plant sciences, 16, 79- 81
- SHALINI K., KUMAR N., DRABU S., SHARMA PK. : advances in synthetic approach to and antifungal activity of triazoles. beilstein journal of organic chemistry, 2011, 7 : 668-677.
- STANFORD M. use of f10 in psittacines. exotic dvm, 2001, 3(4), 18.
- STURTEVANT, J. E. AND J. P. LATGE (1992). "interactions between conidia of aspergillus fumigatus and human complement component c3." infect immun 60(5):1913-8.
- TELL, L.A. ASPERGILLOSIS IN MAMMALS AND BIRDS: impact on veterinary medicine. med. mycol. 43, s71- s73 (2005)
- THAU, N., M. MONOD, (1994). "rodletless mutants of aspergillus fumigatus." infect immun 62(10): 4380-8.
- THIERRY S (2011). étude de la diversité génétique et du pouvoir pathogène d'aspergillus fumigatus et de chlamydophilasittaci chez les oiseaux, thèse microbiologie, agronomie, agrochimie, agroéquipement, Agroparistech
- THOMAS, N.J., HUNTER, D.B. & ATKINSON, C.T. (eds) infectious diseases of wild birds. (wiley blackwell, 2007)
- THRONE STEINLAGE SJ, SANDER JE, BROWN TP, LOBSINGER CM, THAYER SG, MARTINEZ A (2003). disseminated mycosis in layer cockerels and pullets, avian diseases, 47, 229-233
- TRONCHIN, G., K. ESNAULT. (1997). "expression and identification of a laminin-binding protein in aspergillus fumigatus conidia." infect immun 65(1): 9-15.



- TSAI SS, PARK JH, HIRAI K, ITAKURA C (1992). aspergillosis and candidiasis in psittacine and passeriforme birds with particular reference to nasal lesions, *avian pathology*, 21(4), 699-709
- TSAI, H. F., Y. C. CHANG, ET AL. (1998). "the developmentally regulated alb1 gene of *aspergillus fumigatus*: its role in modulation of conidial morphology and virulence." *journal of bacteriology* 180(12): 3031-8.
- TSAI, S.S., PARK, J.H., HIRAI, K. & ITAKURA, C. aspergillosis and candidiasis in psittacine and passeriforme birds with particular reference to nasal lesions. *avian pathology*. 21, 699–709 (1992)
- VAN BAMBEKE F. : antifongiques. *farm* 2233 – 2011-2012.
- VAN VEEN L, DWARS RM, FABRI THF (1999). mycotic spondylitis in broilers caused by *aspergillus fumigatus* resulting in partial and posterior paralysis, *avian pathology*, 28, 487- 490
- VAN WAEYENBERGHE L, PASMANS F, BEERNAERT LA, HASEBROUCK F, VERCAMMEN F, VERSTAPPEN F, DORRESTEIN G, KLAASSEN CHW, MARTEL A (2011). microsatellite typing of avian clinical and environmental isolates of *aspergillus fumigatus*, *avian pathology*, 40(1), 73-77
- VAN WAEYENBERGHE L, PASMANS F, D'HERDE K, DUCATELLE R, FAVOREEL H, LI S, HASEBROUCK F, MARTEL A (2012). germination of *aspergillus fumigatus* inside avian respiratory macrophages is associated with cytotoxicity, *veterinary research*, 43:32
- VANDANA S., RAKESH B. : triazoles in antifungal therapy : a review. *international journal of research in pharmaceutical and biomedical*, 2011, 2 : 417-427.
- VANDEPUTTE P. : mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *candida glabrata* - 168p. th : biologie des organismes : angers : 2008 ; 930
- VANDERHEYDEN N. aspergillosis in psittacine chicks. in: proceedings of the annual conference of the association of avian veterinarians. nashville, 31 août-4 septembre 1993. 207-212.
- VANDERHEYDEN, N. aspergillosis in psittacine chicks. in *proc. assoc. avianvet.* 1–6 (1993)



- VEEN, P.J. torticollis and disease of the respiratory tract, caused by aspergillus fumigatus in fowl. netherlands j. vet. sci. 5, 132–133 (1973)
  
- WILLIAMS CJ, MURRAY DL, BRAKE J (2000). development of a model to study aspergillus fumigatus proliferation on the air cell membrane of in ovo injected broiler eggs, poultry sciences, 79(11), 1536-1542
  
- WILLIAMS RB (1999). a compartmentalized model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry, international journal of parasitology, 29, 1209-1229
  
- WRIGHT ML, ANDERSON GW, MC CONACHIE (1961). transmission of aspergillosis during incubation, poultry science, 40, 727-731
  
- YU S., CHAI X., HU H. : synthesis and antifungal evaluation of novel triazole derivatives as inhibitors of cytochrome p450 14 $\alpha$ -demethylase. european journal of medicinal chemistry, 2010, 45 : 4435–44
  
- ZAFRA R, PEREZ J, PEREZ-ECIJA RA, BORGE C, BUSTAMANTE R, CARBONERO A, TARRADAS C (2008), concurrent aspergillosis and ascites with high mortality in a farm of growing broiler chickens, avian diseases, 52, 711-713
  
- ZAFRA R, PEREZ J, PEREZ-ECIJA RA, BORGE C, BUSTAMANTE R, CARBONERO A, TARRADAS C (2008), concurrent aspergillosis and ascites with high mortality in a farm of growing broiler chickens, avian diseases, 52, 711-713
  
- ZINKL JG, HYLAND JM, HURT JJ (1974). aspergillosis in common crows in nebraska, journal of wildlife diseases, 13, 191-193
  
- ZIOLKOWSKA G, TOKARZEWSKI S (2007). occurrence of moulds in reproductive goose flocks in south