

THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES VÉTÉRINAIRES

Résumé

Orientation : Médecine Vétérinaire

Titre de la thèse en Français :

Caractérisation d'une métalloprotéase kératinolytique de *Microsporium canis* et contribution à l'étude de son rôle dans la relation hôte-parasite

Titre de la thèse en Anglais :

Characterization of a *Microsporium canis* keratinolytic metalloprotease and contribution to the study of its role in the host-fungus relationship

Candidat : Brouta Frédéric

Promoteur : Mignon Bernard

Co-promoteur : Prof. B. Losson

Département et Service : département des Maladies Infectieuses et Parasitaires. Service de Parasitologie et Pathologie des Maladies Parasitaires

Date de la défense publique : le 9 octobre 2002

Composition du Jury : B. Mignon, B. Losson, C. Gerday, R. Chermette, J. Dommes, J.-F. Beckers, F. Coignoul, L. Grobet, M. Henroteaux, A. Vanderplasschen.

DESCRIPTION DU SUJET DE RECHERCHE ABORDÉ

L'étude menée s'inscrit dans le cadre de l'étude de la pathophysiologie de la dermatophytose à *Microsporium canis* et plus précisément dans celui de l'étude des facteurs de pathogénicité du champignon.

RÉSULTATS

Nous avons isolé, purifié et caractérisé une métalloprotéase kératinolytique de 43,5 kDa, sécrétée par *M. canis* *in vitro*, dans un milieu minimal contenant des poils de chat.

Dans le but de poursuivre la caractérisation de cette enzyme, son gène, *MEP3*, ainsi que deux autres gènes homologues (*MEP1* et *MEP2*), ont été isolés à partir d'une banque d'ADN génomique de *M. canis*. L'analyse de leur séquence a permis de les classer dans la famille des métalloprotéases M36, qui contient deux autres métalloprotéases produites par deux champignons du genre *Aspergillus*.

La transcription de deux de ces gènes, *MEP2* et *MEP3*, a été démontrée *in vivo*, chez des cobayes infectés expérimentalement alors que les trois gènes sont transcrits *in vitro* dans un milieu minimal contenant de la kératine féline. La production de plusieurs protéases codées par une famille de gènes pouvant être mise en relation avec la virulence de certains agents fongiques, la découverte, au cours de ce tra-

vail, d'une famille de métalloprotéases de *M. canis*, dont deux membres au moins sont produits durant l'infection, suggère l'importance de celles-ci dans le métabolisme du dermatophyte, voire dans sa pathogénicité.

Afin de mieux comprendre la relation hôte-parasite, l'étude de la réponse immune de l'hôte envers des antigènes caractérisés et potentiellement impliqués dans la virulence, apparaît déterminante. Dans ce contexte, la production de MEP3 sous forme recombinante (r-MEP3) a également été réalisée et la réponse immune spécifique dirigée contre elle et un exoantigène de *M. canis* a été investiguée en utilisant un modèle d'infection expérimentale chez le cobaye. Cette étude a montré, pour la première fois, que l'infection expérimentale du cobaye par *M. canis* induit une réponse immune humorale et cellulaire significative envers une protéase kératinolytique (r-MEP3).

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

En conclusion, notre travail a permis d'améliorer les connaissances sur la relation hôte-parasite qui s'établit lors de la dermatophytose à *M. canis* chez le cobaye, grâce à la caractérisation, d'une part, de plusieurs facteurs de virulence potentiels de *M. canis* appartenant à une famille de gènes, et d'autre part, de la réponse immune induite par un membre de cette famille.

Toutefois, la compréhension de la physiopathologie de l'infection à *M. canis* requiert des études complémentaires. Dans ce cadre, il serait utile de vérifier le rôle des MEPs dans la pathogénicité de *M. canis*, par la construction de mutants de délétion et la comparaison de la virulence *in vivo* de souches mutantes et d'une souche sauvage. Par ailleurs, la caractérisation d'antigènes protecteurs est souhaitable au vu des caractères zoonosique et endémique de l'infection à *M. canis*. Dans ce contexte, l'utilisation d'antigènes caractérisés et pour lesquels la réponse immunitaire a été évaluée, apparaît judicieuse.



La dermatophytose *Microsporum canis*, un champignon dont l'hôte naturel est le chat, est une zoonose dont l'incidence est en augmentation en Europe. Le chat qui présente des lésions de blépharite dépilante est à l'origine de l'infection chez sa propriétaire atteinte d'un herpès circiné ou roue de Sainte Catherine.

REMERCIEMENTS

Frédéric Brouta a été mandataire d'une bourse du F.R.I.A. (Fonds pour la Formation à la Recherche dans l'Industrie et dans l'Agriculture, rue d'Egmont 5, 1000 Bruxelles). La recherche a été permise grâce au projet n° 3.4534.01 subventionné par le F.R.S.M. (Fonds de la Recherche Scientifique Médicale).

PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DE THÈSE

BROUTA F., DESCAMPS F., LOSSON B., GERDAY CH., MIGNON B. Purification and characterization of a 43.5 kDa keratinolytic metalloprotease from *Microsporum canis*. *Medical Mycology*, 2001, 39, 269-275.

BROUTA F., DESCAMPS F., LOSSON B., MIGNON B. Données récentes sur la pathogénèse de l'infection à *Microsporum canis* chez les carnivores domestiques. *Ann. Méd. Vét.*, 2001, 145, 236-242.

BROUTA F., DESCAMPS F., MONOD M., VERMOUT S., LOSSON B., MIGNON B. Secreted metalloprotease gene family of *Microsporum canis*. *Infection and Immunity*, 2002, 70, 5676-5683.

BROUTA F., DESCAMPS F., MONOD M., VERMOUT S., LOSSON B., MIGNON B. Humoral and cellular immune response to a crude exo-antigen and recombinant MEP3 from *Microsporum canis* in experimentally infected guinea pigs. *Medical Mycology*, sous presse.