

Étude des marqueurs de virulence chez *Trichophyton benhamiae* sur modèle d'infection cutanée murin optimisé.

Poirier Wilfried¹, Faway Emilie², Danzelle Célya¹, Tsuyoshi Yamada³, Poumay Yves², Mignon Bernard¹

¹Fundamental and Applied Research for Animals & Health (FARAH), Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Quartier Vallée 2, Avenue de Cureghem 6, B43a, 4000, Liège (Belgium)

²Université de Namur ASBL, Rue de Bruxelles 61, 5000 Namur (Belgium)

³Teikyo University Institute of Medical Mycology, Tokyo, Japan

Les dermatophytoses sont des mycoses cutanées superficielles observées aussi bien chez l'homme que chez l'animal causées par des champignons filamenteux appelés dermatophytes. Les dermatophytoses humaines sont très répandues et le plus souvent provoquées par des espèces appartenant au genre *Trichophyton*. L'émergence croissante de souches résistantes aux antifongiques actuellement disponible et l'absence de vaccins à usage humain soulignent la nécessité de développer de nouveaux traitements. Dans ce cadre, l'accroissement des connaissances relatives à la pathogénie des dermatophytoses, y compris la caractérisation des facteurs de virulence fongiques sur modèle animal, constitue une étape clé pour l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques. Une méthode de standardisation de la production de spores de dermatophytes pour réaliser des inoculations *in vitro* et *in vivo* a récemment été publiée par notre équipe de recherche (Faway *et al.*, 2021). Si cette méthode basée sur l'utilisation de suspensions enrichies en spores unicellulaires permet le développement d'infections standardisées sur épidermes humains reconstruits *in vitro*, elle n'est pas optimale pour la réalisation d'infections *in vivo* chez la souris.

L'objectif de cette étude consiste par conséquent à (1) analyser des gènes codant pour des facteurs de virulence supposés tels que les subtilisines, ainsi qu'à (2) produire et valider un inoculum standardisé permettant d'obtenir des infections cutanées exploitables sur modèle murin, avec la souche de référence *Trichophyton benhamiae* IHEM 20161.

Grâce à un tBLASTn et une analyse bio-informatique, l'ensemble des 12 gènes codant pour les subtilisines connues chez les dermatophytes (Monod, 2008) a été identifié au sein du génome de *T. benhamiae* IHEM 20161. Pour évaluer l'implication de ces subtilisines dans l'infection, la souche *T. benhamiae* IHEM 20161 délétée au locus *Ku70* (gène impliqué dans le système de réparation de l'ADN) a été utilisée pour produire six souches mutées au niveau d'une ou plusieurs subtilisines d'intérêt (Δ Sub6 ; Δ Sub7 ; Δ Sub8 ; Δ Sub10 ; Δ Sub6. Δ Sub10 et Δ Sub6. Δ Sub8. Δ Sub10). Ces différentes souches ont été testées dans un nouveau modèle d'infection épicutanée chez la souris, en utilisant un mélange de spores (1.10^8 UFC), de tubes germinatifs et de mycélium (100 mg). Un suivi cinétique de l'infection a été réalisé de manière quotidienne via l'établissement d'un score clinique global basé sur l'intensité (0→4) de trois types de signes cliniques cutanés (érythème, squames, croûtes). Comparativement à une infection classique (inoculum ne contenant que des spores), ce nouveau modèle d'infection génère des lésions cutanées plus importantes et davantage persistantes (signes cliniques minimes jusqu'au 7^{ème} jour post-infection avec les spores seules vs symptômes mimant une infection naturelle jusqu'au 16^{ème} jour post-infection pour le mélange spores/tubes germinatifs/mycélium). En outre, l'analyse des résultats préliminaires indique que certaines souches invalidées pour une ou plusieurs subtilisines induisent des symptômes cutanés plus intenses, témoignant de leur importance dans la régulation et/ou le maintien de l'infection sur modèle murin.

Prochainement, une deuxième expérience d'infection sur modèle murin consistera à réaliser des biopsies à des temps clés de l'infection pour (1) évaluer l'invasion des tissus cutanés par analyse histologique, (2) déterminer la charge fongique présente dans les tissus par quantification d'ADN génomique et (3) caractériser l'expression des subtilisines par PCR quantitative.

Financement :

Région Wallonne, subvention MYCEPI N°1910074.

Références :

- Faway E, Staerck C, Danzelle C, Vroomen S, Courtain C, Mignon B, Poumay Y. Towards a Standardized Procedure for the Production of Infective Spores to Study the Pathogenesis of Dermatophytosis. J Fungi (Basel). 2021 Nov 30;7(12):1029. doi: 10.3390/jof7121029. PMID: 34947011; PMCID: PMC8709344.
- Monod M. Secreted proteases from dermatophytes. Mycopathologia. 2008 Nov-Dec;166(5-6):285-94. doi: 10.1007/s11046-008-9105-4. Epub 2008 May 14. PMID: 18478360.