

---

***Malassezia pachydermatis***  
**DANS LES OREILLES DES CHIENS ET DES CHATS**  
**ETUDE DE LA PREVALENCE DANS UN EFFECTIF**  
**DE 250 CHIENS ET 250 CHATS**

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002*  
*devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Florent, Bruno GRUSON-VESCOVALI**  
Né, le 1<sup>er</sup> mars 1971 à CHARENTON (Val-de-Marne)

---

Directeur de thèse : M. le Professeur Michel FRANC

---

JURY

PRESIDENT :

**M. Jean-Louis FONVIEILLE**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

**M. Michel FRANC**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Mlle Marie-Christine CADIERGUES**

Maitre de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**A Monsieur le Professeur Jean Louis Fonvieille**

Professeur des Universités – Praticien hospitalier, Zoologie-Parasitologie.  
qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse

Hommage respectueux

**A Monsieur le Professeur Michel Franc**

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
qui nous a proposé et guidé dans ce travail, mais surtout qui a su  
accorder sa confiance quand cela était le plus nécessaire.

qu'il veuille bien trouver ici toute ma gratitude.

**A Mademoiselle le Docteur Marie-Christine Cadiergues**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
qui a bien voulu accepter de faire partie de notre jury de thèse.

qui nous a fait découvrir et adorer le travail au laboratoire et qui a su  
toujours être présente.

qu'elle veuille bien trouver ici l'expression de mes plus sincères remerciements



À mes parents,

Leur éducation a toujours été faite d'amour et de confiance. C'est grâce aux valeurs qu'ils ont su nous transmettre que j'espère réussir à guider mes enfants comme eux ont su nous élever.

Qu'ils sachent que tous les remerciements du monde n'y suffiront pas.

À Delphine,

Elle a cette chose simple qu'est la bonté, son contact me rend meilleur chaque jour et longtemps encore j'aurai à apprendre d'elle.

À mon frère,

Plus qu'un aîné, plus qu'un grand frère, il sera toujours pour moi l'exemple.

À mes filles,

J'espère toujours savoir vous montrer comme la vie est belle.

À la Corse,

Île de cœur, puisse-t-elle un jour trouver la paix.

À Arnault, Fanny, Fred, Gus, Oriane, Olivier, Annick, Isa, Julie, Gas, Nicolas,

Ces années passées avec vous ont été riches et joyeuses et ne font que présager de ce que seront les suivantes...

Aux Docteurs Demain et Clamen,

Ils m'ont fait confiance, ils m'ont appris pour l'un une méthodologie essentielle que je ne trahirai jamais, pour l'autre les bases chirurgicales qui me font déjà dire de lui : « mon Maître ».

À Monsieur Lagrola, éleveur de bovins,

Par ses grandes compétences zootechniques, il a su réveiller en moi l'amour de la Médecine vétérinaire rurale.

Qu'il soit remercié de ce qui fut pour moi une révélation.



## Sommaire

<b>INTRODUCTION</b>	<b>9</b>
<b>PREMIERE PARTIE : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES,</b> <b><i>Malassezia pachydermatis</i> et les oreilles des chiens et des chats</b>	<b>13</b>
<b>I. Systématique et historique de <i>Malassezia pachydermatis</i>.</b>	<b>15</b>
A. Généralités	15
B. <u>Place actuelle de <i>Malassezia pachydermatis</i> dans la nomenclature :</u> <u>les Deuteromycètes Blastomycètes.</u>	17
1. Les Deutéromycètes.	17
2. Dans les Blastomycètes	17
3. Certaines caractéristiques la rapprocheraient pourtant plus des Basidiomycètes.	18
C. <u>Origine du nom de <i>Malassezia pachydermatis</i></u>	18
1. <i>Malassezia</i> et <i>Pityrosporum</i> , deux noms pour un même genre.	18
2. <i>M. rhinocerosum</i> , <i>M. pachydermatis</i> et <i>M. canis</i> sont synonymes.	18
D. <u>Sept biotypes différents pour <i>Malassezia pachydermatis</i>.</u>	20
<b>II. Description de <i>Malassezia pachydermatis</i> : morphologie, biologie et conservation.</b>	<b>23</b>
A. <u>Description de <i>M. pachydermatis</i>.</u>	23
1. La colonie de <i>Malassezia pachydermatis</i> : deux aspects possibles.	23
2. Etude morphologique et structurale de la levure.	24
2.1. Morphologie de la levure.	24
2.2. Aspect de la forme filamenteuse : une forme étudiée uniquement in vitro.	25
2.3. Observation au microscope électronique.	27
B. <u>Biologie : assimilations, utilisation des nutriments et milieux de culture.</u>	30
1. Assimilation et utilisation des nutriments.	30
1.1. Assimilation du carbone et des nitrates.	30
1.2. Activité enzymatique.	31
2. Milieux de culture : <i>Malassezia pachydermatis</i> , une levure lipophile non lipodépendante.	31
2.1. Nature du milieu.	31
a. Un bon développement dans des milieux usuels.	31
b. Un développement plus hasardeux sur des milieux à base de tissus.	31
✓ Intérêt de l'ajout d'un antibiotique et d'un antifongique.	33
✓ Intérêt de la supplémentation en acide gras à longue chaîne.	33
2.2. Températures et durées d'incubation.	34
a. À température faible, temps d'incubation long.	34
b. Températures et durées d'incubation optimale.	35
2.3. Admosphère d'incubation.	35
C. <u>Conservation des souches.</u>	35
1. La conservation par repiquage.	35
2. La conservation par le froid.	36
3. La conservation par lyophilisation.	36
<b>III. Les quatre autres espèces de <i>Malassezia</i> décrites chez le chien et le chat.</b>	<b>39</b>
A. <u>Les autres espèces observées chez le chien et/ou le chat.</u>	39
B. <u>Critères de diagnose.</u>	40
1. Différentes méthodes ont été proposées.	40
1.1. La diagnose morphologique est peu fiable.	40
1.2. La diagnose par l'étude des propriétés biologiques.	40
✓ Différence de dépendance vis-à-vis des acides gras à longue chaîne du milieu de culture.	40
b. Différence d'activité biochimique.	41

c. Différence de croissance sur milieu supplémenté en Tweens.	41
1.3. La diagnose par étude du génome.	41
a. L'analyse chimique du génome :	41
b. La séquence d'ADN :	41
✓ Étude du caryotype par électrophorèse :	42
✓ Différence démontrée par RADP et PCR.	42
✓ Un protocole associe propriétés biochimiques et développement sur milieu supplémenté en Tweens.	42
<b>IV. Prévalence de <i>Malassezia pachydermatis</i> dans les oreilles chez le chien et le chat.</b>	<b>45</b>
<u>A. Prévalence de <i>M. pachydermatis</i> dans les oreilles du chien.</u>	45
◆ Les études traitant de la prévalence sont nombreuses.	45
◆ Les facteurs pouvant faire varier les résultats sont nombreux.	48
2.1. Les facteurs épidémiologiques :	48
❖ Facteurs de variation liés au <u>lieu de l'étude</u>	48
❖ Facteurs de variation liés à une <u>éventuelle répartition temporelle.</u>	49
❖ Facteurs de variation liés à <u>des prédispositions individuelles</u> : race, sexe, âge, port des oreilles, propreté du conduit auditif, mode de vie.	50
2.2. Des facteurs de variation liés à l'expérimentateur et à sa méthode :	51
❖ Facteurs de variation ayant pour origine la méthode de culture : milieu employé, température et durée d'incubation.	51
❖ Facteur de variation lié à la définition du terme d'otite externe.	52
❖ Facteur de variation lié à la durée d'évolution de la maladie.	52
❖ Facteur de variation lié au traitement des données statistiques.	52
<u>B. Prévalence de <i>Malassezia pachydermatis</i> dans les oreilles de chat.</u>	53
1. Prévalence dans les oreilles de chats sains.	52
2. Prévalence dans les oreilles de chats atteints d'otite externe.	53
<b>V. Mise en évidence et rôle de <i>Malassezia pachydermatis</i> dans la pathologie.</b>	<b>55</b>
A. <u>Mise en évidence de <i>M. pachydermatis</i>.</u>	55
1. Le prélèvement.	55
2. La coloration.	55
3. La mise en culture.	55
4. La couleur du cérumen oriente-t-elle le diagnostic ?	55
4.1. Présence de <i>M. pachydermatis</i> et couleur du cérumen chez le chien.	55
4.2. Présence de <i>M. pachydermatis</i> et couleur du cérumen chez le chat.	56
B. <u><i>Malassezia pachydermatis</i> : un rôle très controversé dans l'étiologie des otites externes.</u>	56
1. Arguments invoqués reniant un quelconque pouvoir pathogène.	56
✓ Lors d'otite externe, la levure est rarement le seul agent isolé.	57
✓ La prévalence n'est pas toujours différente entre oreilles saines et malades.	58
✓ La contagion n'a jamais été démontrée à ce jour.	58
2. Arguments invoquant l'existence d'un pouvoir pathogène.	58
◆ Sa présence en monoculture, preuve de sa pathogénie.	58
◆ Une relation a été faite entre la présence et le nombre de levure observée.	59
◆ L'adhérence aux cellules de l'hôte n'est pas une démonstration du pouvoir pathogène.	59
◆ La réussite de l'épreuve thérapeutique comme preuve de pouvoir pathogène.	59
C. <u><i>Malassezia pachydermatis</i> : une pathogénie encore inconnue.</u>	60
1. L'effet pathogène de la levure est reproductible expérimentalement.	60
2. Le mode d'action est encore inconnu.	60
D. <u>Cette levure pourrait-elle être agent de zoonose ?</u>	60

<b>VI. Les Moyens de lutte contre <i>M. pachydermatis</i> chez les chiens et les chats.</b>	<b>63</b>
A. <u>Les molécules utilisables dans la lutte vis à vis de <i>M. pachydermatis</i>.</u>	63
1. Les antiseptiques.	63
2. Les antifongiques strictes	64
2.1. Diverses familles sont utilisables.	64
a. De nombreuses molécules appartiennent à la famille des dérivés azolés.	64
b. Quelques molécules de la famille des Allylamines.	64
2.2. In vivo, les dérivés azolés sont fréquemment utilisés.	67
2.3. Effets indésirables et contre-indication à l'utilisation des dérivés azolés.	67
3. Les antibiotiques ayant une action antifongique sur <i>M. pachydermatis</i> .	67
3.1. Différents antibiotiques peuvent être employés.	67
A. La nystatine.	67
B. L'amphotéricine B.	68
C. La pimaricine : un autre type d'antifongique	68
D. La mupirocin : autre antibiotique à caractéristique anti- <i>Malassezia</i>	69
3.2. Mode d'action des antibiotiques.	69
3.3. Des effets secondaires inexistantes par voie locale.	69
B. <u>Efficacité et association des différents molécules.</u>	69
1. Des composés efficaces, peu de résistance décrite.	69
2. L'association à d'autres molécules améliore parfois l'efficacité in vivo.	70
C. <u>Traitement prophylactique.</u>	71
Conclusion de la première partie	72
<b>DEUXIEME PARTIE :        DONNEES EXPERIMENTALES.</b>	<b>73</b>
<b>Étude statistique de la prévalence de <i>Malassezia pachydermatis</i></b>	
<b>à partir d'un échantillon de 250 chien et de 250 chats.</b>	
<b>I. Matériel et Méthode.</b>	<b>75</b>
A. <u>Les animaux : 250 chiens et 250 chats tout venant.</u>	75
1. L'effectif.	75
2. La durée de l'étude.	75
B. <u>La méthode : examen complet de l'oreille externe, prélèvement pour calque et mise en culture.</u>	75
1. Recueil des commémoratifs : mode de vie, port des oreilles, traitements antérieurs.	75
2. L'examen clinique de l'oreille permet son classement selon son degré d'atteinte.	76
2.1. Examen à distance.	76
2.2. Examen otoscopique.	76
♦ Examen de laboratoire : un prélèvement permettra la réalisation d'un calque et d'une mise en culture.	78
3.1. Coloration des lames au bleu de toluidine.	78
3.2. Ensemencement et milieux de culture.	78
3.3. Lecture des calques à l'immersion.	78
3.4. Examen des cultures.	80
C. <u>Analyse des données.</u>	80
1. Différentiation mâle et femelle.	80
2. Répartition en classe d'âge.	80
3. Répartition selon l'atteinte clinique de l'oreille.	80
♦ Répartition selon une note moyenne de présence de <i>M. pachydermatis</i> au calque et après culture.	80
<b>II. Résultats</b>	<b>81</b>
A. <u>Caractéristique de l'échantillon</u>	81
1. Un échantillon de 500 oreilles de chien.	81

2. Un échantillon de 500 oreilles de chat.	82
<b>B. <u>Quelle est la prévalence de <i>M. pachydermatis</i> dans les oreilles saines, dans les oreilles sales ou dans les oreilles atteintes d'otite externe ?</u></b>	84
1. Prévalence de <i>M. pachydermatis</i> dans les oreilles saines de chien et de chat.	84
2. Prévalence de <i>M. pachydermatis</i> dans les oreilles sales du chien et du chat.	85
3. Prévalence de <i>M. pachydermatis</i> dans les otites du chien et du chat.	86
<b>C. <u>Sans tenir compte de l'état sanitaire des oreilles, y a-t-il une différence de prévalence de <i>M. pachydermatis</i> entre les chiens et les chats ?</u></b>	87
<b>D. <u>En fonction de l'état sanitaire, y a-t-il une différence de prévalence de <i>M. pachydermatis</i> entre les chiens et les chats ?</u></b>	88
1. À partir d'oreilles saines, y a-t-il une différence de prévalence entre les chiens et les chats ?	88
2. À partir d'oreilles sales, y a-t-il une différence de prévalence entre les chiens et les chats ?	88
3. À partir d'oreilles atteintes d'otite externe, y a-t-il une différence de prévalence entre les chiens et les chats ?	89
<b>E. <u>Y a-t-il une relation entre atteinte clinique et présence de <i>Malassezia pachydermatis</i> ?</u></b>	89
1. Chez le chien.	89
2. Chez le chat.	91
<b>F. <u>Y a-t-il une différence liée au sexe dans le portage de la levure ?</u></b>	92
1. Chez le chien : pas de différence significative au seuil de 5%.	92
2. Chez le chat : pas de relation entre sexe et port de la levure.	93
<b>G. <u>Y a-t-il une différence de prévalence en fonction de l'âge de l'animal ?</u></b>	94
1. Chez le chien, l'âge n'intervient pas.	94
2. Chez le chat, l'âge n'intervient pas.	95
<b>H. <u>Y a-t-il une différence liée au port des oreilles dans la prévalence de <i>M. pachydermatis</i> ?</u></b>	96
1. En prenant en compte l'ensemble de notre échantillon : pas de différence significative.	96
2. En tenant compte de l'état sanitaire des oreilles : pas de différence significative.	97
<b>I. <u>Y a-t-il une colonisation accrue chez les animaux qui vient avec d'autres carnivores domestiques ?</u></b>	98
1. Chez le chien, la présence d'un autre carnivore n'intervient pas.	98
2. Chez le chat, la présence d'un autre carnivore n'intervient pas.	99
<b>J. <u>Y a-t-il une corrélation entre la note obtenue par le calque et celle obtenue par la culture ?</u></b>	100
1. Calque et culture sur les oreilles de chiens.	100
2. Calque et culture sur les oreilles de chats.	101
3. Calque et culture sur les 1000 prélèvements.	102
<b>III. Discussion</b>	<b>103</b>
A. <u>Une prévalence comparable à beaucoup d'études.</u>	103
B. <u>Une prévalence différente selon l'espèce pour les oreilles saines.</u>	103
C. <u>Une prévalence qui est influencée par l'atteinte clinique.</u>	103
D. <u>Une différence selon le port des oreilles de chien uniquement pour les oreilles malades.</u>	104
E. <u>Pas de différence liée au sexe quelle que soit l'espèce étudiée.</u>	104
F. <u>Pas de différence selon le mode de vie isolé ou non à d'autres carnivores domestiques.</u>	104
G. <u>Pas de différence significative selon la méthode de diagnostic.</u>	104
<b>CONCLUSION</b>	<b>105</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>109</b>

## Sommaire des figures et des tableaux de la première partie.

<u>Figure 1</u> :	Levures du genre <i>Malassezia</i> vues au microscope optique.	15
<u>Figure 2</u> :	Mode de multiplication des champignons lévuriformes, d'après les dessins de Euzéby (91).	17
<u>Figure 3</u> :	Dénomination de <i>Malassezia pachydermatis</i> , Historique.	19
<u>Figure 4</u> :	Phylogénie basée sur une séquence d'ARN ribosomal des levures du genre <i>Malassezia</i> .	20
<u>Figure 5</u> :	Photo de colonies de <i>M. pachydermatis</i> isolées dans une boîte de Pétri.	23
<u>Figure 6</u> :	Deux types de colonies de <i>M. pachydermatis</i> dans le même milieu de culture.	23
<u>Figure 7</u> :	<i>Malassezia pachydermatis</i> en bourgeonnement	24
<u>Figure 8</u> :	Examen direct du cérumen d'un chien grâce à un objectif à immersion x100 après fixation et coloration au bleu de toluidine.	25
<u>Figure 9</u> :	Dessins de Matakief (221) d'après son observation de <i>M. furfur</i> au microscope optique.	26
<u>Figure 10</u> :	« Examen direct de squames provenant de lésions de <i>pityriasis versicolor</i> » [commentaire et cliché Service de Parasitologie ENVA] (138b).	26
<u>Figure 11</u> :	<i>M. pachydermatis</i> au microscope électronique à balayage (135b).	26
<u>Figure 12</u> :	Etude de la structure de la paroi de <i>M. pachydermatis</i> en microscopie électronique à transmission [grossissement x 15000].	27
<u>Figure 13</u> :	Détails de la paroi vus grâce à la microscopie électronique à transmission [grossissement x 30000].	28
<u>Figure 14</u> :	Ultrastructure de <i>Malassezia pachydermatis</i> [x20000].	28
<u>Figure 15</u> :	Processus de multiplication asexuée de <i>M. pachydermatis</i> .	29
<u>Figure 16</u> :	L'huile d'olive optimise le développement sur milieu de Sabouraud (214).	34
<u>Figure 17</u> :	Milieu de bon rendement pour la culture de <i>Malassezia pachydermatis</i> .	37
<u>Figure 18</u> :	<i>Malassezia pachydermatis</i> .	38
<u>Figure 19</u> :	<i>M. furfur</i> .	38
<u>Figure 20</u> :	<i>M. sympodialis</i> .	38
<u>Figure 21</u> :	<i>M. obtusa</i> .	38
<u>Figure 22</u> :	<i>M. globosa</i> .	38
<u>Figure 23</u> :	Méthode de différenciation par croissance sur milieu supplémenté en Tweens.	41
<u>Figure 24</u> :	Protocole de différenciation des différentes espèces de <i>Malassezia</i> (135b).	42
<u>Figure 25</u> :	Prévalence de <i>M. pachydermatis</i> selon le continent dans les oreilles saines ou atteintes d'otites	49
<u>Figure 26</u> :	Schéma du conduit auditif externe chez le chien [d'après (108)]	51
<u>Figure 27</u> :	Formule moléculaire de l'hexamidine (256).	63
<u>Figure 28</u> :	Formule du miconazole (261)	64
<u>Figure 29</u> :	Formule de l'amphotéricine B (130).	68
<u>Tableau 1</u> :	Systématique très simplifiée des champignons (214).	16
<u>Tableau 2</u> :	Caractéristiques biochimiques de 80 souches sauvages de <i>M. pachydermatis</i> et de sa souche de référence CBS 1879 [d'après résultats de Kiss et coll. (171)].	30
<u>Tableau 3</u> :	Milieux de culture utilisés, références et remarques évoquées sur chacun d'eux.	32
<u>Tableau 4</u> :	Les espèces du genre <i>Malassezia</i> décrites chez le chien et/ou le chat..	39
<u>Tableau 5</u> :	Pourcentage d'isolement de <i>M. furfur</i> selon diverses études sur le chien ou le chat.	40
<u>Tableau 6</u> :	Effectifs[nombres en italiques entre crochets] et prévalence de <i>M. pachydermatis</i> à partir de prélèvements d'oreilles saines ou atteintes d'otites.	48
<u>Tableau 7</u> :	Nombres d'animaux atteints d'otite et porteurs de <i>M. pachydermatis</i> en fonction de l'âge (202).	50
<u>Tableau 8</u> :	Nombre d'oreilles de chats sains présentant ou non <i>M. pachydermatis</i> en fonction de la propreté du conduit auditif externe (22).	53
<u>Tableau 9</u> :	Effectifs [notés entre crochets] et prévalence de <i>M. pachydermatis</i> lors d'une otite externe parasitaire due à <i>Otodectes spp.</i> chez le chien et le chat.	53
<u>Tableau 10</u> :	Pourcentages de présence de <i>Malassezia pachydermatis</i> en fonction de la couleur du cérumen chez le chien.	56
<u>Tableau 11</u> :	Pourcentages des cas où <i>Malassezia pachydermatis</i> est isolée seule ou associée lors d'otite externe chez le chien ou le chat.	57
<u>Tableau 12</u> :	Les différents antiseptiques utilisables et les concentrations usitées.	64
<u>Tableau 13</u> :	Concentrations des dérivés azolés utilisables selon la galénique employée à partir d'études in vivo et in vitro.	65

<u>Tableau 14</u> :	Formes galéniques des dérivés azolés commercialisés en France avec les noms déposés des préparations vétérinaires quand elles existent (306, 307).	66
<u>Tableau 15</u> :	Antibiotiques ayant un effet sur <i>M. pachydermatis</i> et leur concentration minimale inhibitrice.	68
<u>Tableau 16</u> :	Efficacité in vitro de différentes molécules face à différentes souches de <i>M. pachydermatis</i> .	70

### **Sommaire des figures, tableaux et graphiques de la seconde partie.**

<u>Figure 30</u> :	Les différentes étapes de l'étude : matériel et méthode.	74
<u>Figure 31</u> :	Fiche remplie pour chaque animal.	77
<u>Figure 32</u> :	Programme hebdomadaire d'étude.	79
<u>Tableau 17</u> :	Prévalence de <i>Malassezia pachydermatis</i> selon l'espèce à partir d'oreilles saines : effectifs et pourcentages.	84
<u>Tableau 18</u> :	Prévalence de <i>Malassezia pachydermatis</i> selon l'espèce à partir d'oreilles sales : effectifs et pourcentages.	85
<u>Tableau 19</u> :	Prévalence de <i>Malassezia pachydermatis</i> selon l'espèce à partir d'oreilles atteintes d'otite externe : effectifs et pourcentages.	86
<u>Tableau 20</u> :	Présence de <i>Malassezia pachydermatis</i> selon l'espèce sans tenir compte de l'état sanitaire des oreilles.	87
<u>Tableau 21</u> :	Effectifs et effectifs théoriques [notés entre crochets] d'oreilles saines selon l'espèce et la présence de <i>Malassezia pachydermatis</i> .	88
<u>Tableau 22</u> :	Effectifs et effectifs théoriques [entre crochets] d'oreilles sales selon l'espèce et la présence de <i>Malassezia pachydermatis</i> .	88
<u>Tableau 23</u> :	Effectifs et effectifs théoriques [notés entre crochets] d'oreilles atteintes d'otite externe selon l'espèce et la présence de <i>Malassezia pachydermatis</i> .	89
<u>Tableau 24</u> :	Nombres et pourcentages d'oreilles en fonction de l'atteinte clinique et de la présence de <i>M. pachydermatis</i> chez le chien.	89
<u>Tableau 25</u> :	Effectifs et effectifs théoriques [notés entre crochets] selon l'atteinte clinique et la présence de <i>M. pachydermatis</i> chez le chien.	90
<u>Tableau 26</u> :	Nombres et pourcentages d'oreilles en fonction de l'atteinte clinique et de la présence de <i>M. pachydermatis</i> chez le chat.	91
<u>Tableau 27</u> :	Effectifs et effectifs théoriques [entre crochets] en fonction de l'atteinte clinique et de la présence de <i>M. pachydermatis</i> chez le chat.	92
<u>Tableau 28</u> :	Effectifs et pourcentages d'oreilles selon le sexe et la présence de <i>M. pachydermatis</i> .	92
<u>Tableau 29</u> :	Effectifs et pourcentages d'oreilles selon le sexe et la présence de <i>M. pachydermatis</i> .	94
<u>Tableau 30</u> :	Effectifs et pourcentages d'oreilles selon l'âge du chien et la présence de la levure.	95
<u>Tableau 31</u> :	Effectifs et effectifs théoriques [entre crochets] d'oreilles selon l'âge du chien et la présence de la levure.	95
<u>Tableau 32</u> :	Effectifs et pourcentages d'oreilles selon l'âge du chat et la présence de la levure.	95
<u>Tableau 33</u> :	Effectifs et effectifs théoriques [entre crochets] d'oreilles selon l'âge du chat et la présence de la levure.	95
<u>Tableau 34</u> :	Effectifs et pourcentages d'oreilles de chien selon leur port et la présence de <i>M. pachydermatis</i> .	96
<u>Tableau 35</u> :	Effectifs d'oreilles de chiens selon leur port et la présence de <i>M. pachydermatis</i> en tenant compte de leur état sanitaire.	98
<u>Tableau 36</u> :	Effectifs et pourcentages d'oreilles de chien selon le mode de vie de l'animal.	98
<u>Tableau 37</u> :	Effectifs et pourcentages d'oreilles de chat selon le mode de vie de l'animal	100
<u>Tableau 38</u> :	Effectifs et pourcentages d'oreilles de chien selon la présence de la levure et la méthode employée.	101
<u>Tableau 39</u> :	Effectifs et pourcentages d'oreilles de chat selon la présence de la levure et la méthode employée.	101
<u>Tableau 40</u> :	Effectifs et pourcentages d'oreilles de chien et de chat selon la présence de la levure et la méthode employée.	102
<u>Graphique 1</u> :	Répartition des oreilles en fonction du sexe des chiens.	81
<u>Graphique 2</u> :	Répartition des oreilles en fonction de l'âge des chiens..	81
<u>Graphique 3</u> :	Répartition des oreilles en fonction du mode de vie des chiens.	82
<u>Graphique 4</u> :	Répartition des oreilles des chiens en fonction de leur port.	82

<u>Graphique 5</u> :	Répartition des oreilles des chiens en fonction de leur état sanitaire.	82
<u>Graphique 6</u> :	Répartition des oreilles de chien en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> .	82
<u>Graphique 7</u> :	Répartition des oreilles en fonction du sexe des chats.	83
<u>Graphique 8</u> :	Répartition des oreilles en fonction de l'âge des chats.	83
<u>Graphique 9</u> :	Répartition des oreilles en fonction du mode de vie des chats.	83
<u>Graphique 10</u> :	Répartition des oreilles des chats en fonction de leur état sanitaire.	83
<u>Graphique 11</u> :	Répartition des oreilles des chats en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> .	83
<u>Graphique 12</u> :	Prévalence de la levure dans les oreilles saines du chien sans tenir compte du nombre de levures observées ou isolées.	84
<u>Graphique 13</u> :	Prévalence de la levure dans les oreilles saines du chat sans tenir compte du nombre de levures observées ou isolées.	84
<u>Graphique 14</u> :	Prévalence de la levure dans les oreilles saines du chien en tenant compte du nombre de levures observées ou isolées.	84
<u>Graphique 15</u> :	Prévalence de la levure dans les oreilles saines du chat en tenant compte du nombre de levures observées ou isolées.	84
<u>Graphique 16</u> :	Prévalence de la levure dans les oreilles sales du chien sans tenir compte du nombre de levures observées ou isolées.	85
<u>Graphique 17</u> :	Prévalence de la levure dans les oreilles sales du chat sans tenir compte du nombre de levures observées ou isolées.	85
<u>Graphique 18</u> :	Prévalence de la levure dans les oreilles sales du chien en tenant compte du nombre de levures observées ou isolées.	85
<u>Graphique 19</u> :	Prévalence de la levure dans les oreilles sales du chat en tenant compte du nombre de levures observées ou isolées.	85
<u>Graphique 20</u> :	Lors d'otite externe, prévalence de la levure chez le chien sans tenir compte du nombre de levures observées ou isolées.	86
<u>Graphique 21</u> :	Lors d'otite externe, prévalence de la levure chez le chat sans tenir compte du nombre de levures observées ou isolées.	86
<u>Graphique 22</u> :	Oreilles atteintes d'otite, Prévalence chez le chien en tenant compte du nombre en tenant compte du nombre de levures observées ou isolées.	86
<u>Graphique 23</u> :	Lors d'otite externe, prévalence de la levure chez le chat en tenant compte du nombre de levures observées ou isolées.	86
<u>Graphique 24</u> :	Présence de <i>Malassezia pachydermatis</i> chez le chien et le chat sans tenir compte de l'état sanitaire des oreilles.	87
<u>Graphique 25</u> :	Pourcentages d'oreilles en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> et de l'atteinte clinique chez le chien.	90
<u>Graphique 26</u> :	Pourcentage d'oreilles en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> et de l'atteinte clinique chez le chat.	91
<u>Graphique 27</u> :	Prévalence de <i>M. pachydermatis</i> chez les chiens mâles ou femelles.	93
<u>Graphique 28</u> :	Prévalence de <i>M. pachydermatis</i> chez les chats mâles ou femelles.	93
<u>Graphique 29</u> :	Pourcentages d'oreilles selon l'âge du chien et en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> .	94
<u>Graphique 30</u> :	Pourcentages d'oreilles selon l'âge du chat et en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> .	96
<u>Graphique 31</u> :	Pourcentage de présence de <i>M. pachydermatis</i> en fonction du port des oreilles (sans distinction de l'état sanitaire).	97
<u>Graphique 32</u> :	Pourcentages d'oreilles selon le mode de vie du chien et en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> .	99
<u>Graphique 33</u> :	Pourcentages d'oreilles selon mode de vie du chat et en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> .	99
<u>Graphique 34</u> :	Nombre d'oreilles de chien en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> et de la méthode employée.	100
<u>Graphique 35</u> :	Nombre d'oreilles de chat en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> et de la méthode employée.	101
<u>Graphique 36</u> :	Nombre d'oreilles de chiens ou de chats en fonction de la présence de <i>M. pachydermatis</i> et de la méthode employée.	102



# Introduction



*Malassezia pachydermatis* est une levure présente sur la peau, sur les muqueuses ou dans les oreilles de nombreux animaux sauvages ou domestiques. Elle est par exemple hébergé par certains oiseaux (47, 84, 229, 264), des mammifères sauvages marins ou terrestres (72, 138, 147, 186, 236, 266, 267), ou encore divers mammifères domestiques (78, 131, 144, 147, 149, 208). Aussi, le praticien vétérinaire pourra fréquemment lui être confronté lors de l'observation de prélèvements que l'animal soit sain ou malade.

Nous limiterons nos investigations aux oreilles des carnivores domestiques et plus particulièrement aux chiens et aux chats.

Après une mise au point des connaissances actuelles sur *M. pachydermatis*, nous nous intéresserons à une étude de la prévalence de cette levure dans les oreilles de 250 chiens et de 250 chats tout venant à la consultation de Parasitologie-Dermatologie de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse.



Première Partie

Données Bibliographiques :

*Malassezia pachydermatis*  
et les oreilles des chiens et des chats.



## Première Partie

### Données bibliographiques

#### I. Systématique et historique de *Malassezia pachydermatis*.

##### A. Généralités.

Le terme de levure vient du verbe « lever », puisqu'en effet certains de ces organismes unicellulaires sont employés pour leurs propriétés levantes des pâtes farineuses.

Les levures comme tous les champignons unicellulaires sont des organismes eucaryotes qui ne présentent aucune structure tissulaire, ne possèdent aucun pigment assimilateur et dont leur seule partie constituante est désignée le thalle.

Ce thalle revêtit la forme d'une cellule unique plus ou moins ovale qui se multiplie par bourgeonnement successif [figure 1, à partir de l'observation de levures du genre *Malassezia*]. Leur origine proviendrait probablement d'arthrospores unicellulaires qui ont acquis la capacité de bourgeonner (91).

**Figure 1**

Levures du genre *Malassezia* vues au microscope optique  
[objectif x100]

Ce sont des cellules uniques qui se multiplient par bourgeonnement.

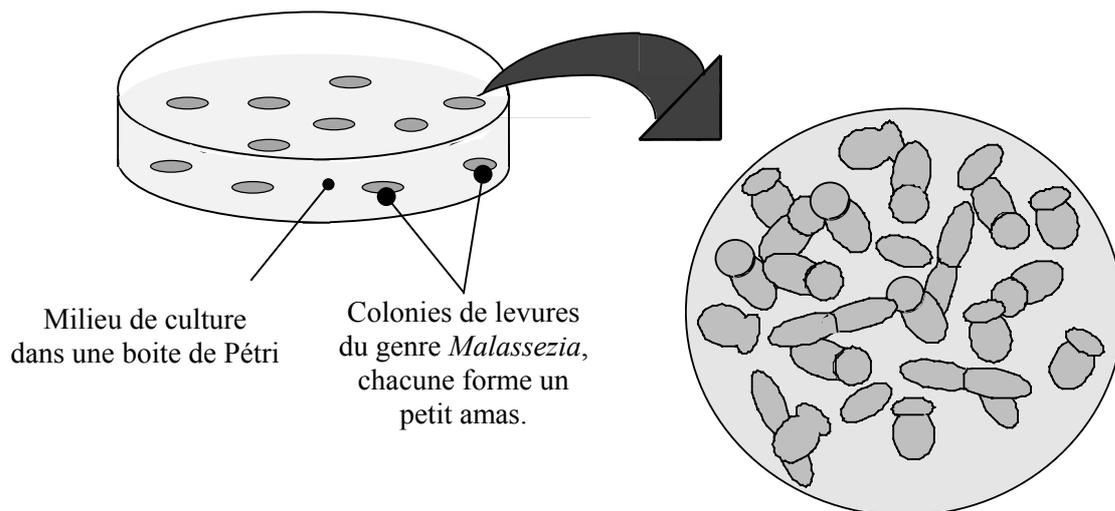


Tableau 1 : Systématique très simplifiée des champignons (214).

<i>Morphologie du thalle</i>	<i>Mode de reproduction</i>	Quelques exemples		
			<b>FAMILLE</b>	<b>GENRE</b>
<i>peu cloisonné (siphon)</i> <b>SIPHOMYCETES</b>				
<i>cloisonné</i>	<i>Sexuée par ascospores</i> <b>ASCOMYCETES</b>			
	<i>sexuée par basidiospores</i> <b>BASIDIOMYCETES</b>			
	<i>asexuée seule connue</i> <b>DEUTEROMYCETES</b>	Hyphomycètes  Blastomycètes	Aleurioporées  Sporobolomycétacées ( <i>émission de spores éjectables</i> )  Candidacées  <b>Cryptococaccées</b> ( <i>spores non éjectables</i> )	<i>Dermatophytes</i> <i>Histoplasma</i>  <i>Candida</i> <i>Geotricum</i>  <i>Cryptococcus</i> <i>Rhodotorula</i> <u><i>Malassezia</i></u> <i>Trichosporum</i>

 Parties non développées.

B. Place actuelle de *Malassezia pachydermatis* dans la nomenclature :  
les Deutéromycètes Blastomycètes.

- Les Deutéromycètes [tableau 1] :

Il s'agit d'un ensemble hétérogène qui englobe des espèces dont on ne connaît pas de reproduction sexuée. Pourtant, cette classe dite des *Fungi imperfecti* n'aurait plus lieu d'exister puisqu'il a pu être, sur des milieux appropriés, démontré l'existence d'une reproduction sexuée pour certaines levures comme les Aspergillacées, les Dermatophytes ou encore *Blastomyces*, *Histoplasma* et *Cryptococcus* qui forment en effet des ascospores ou des basidiospores (91). Euzéby préfère donc plutôt parler de « champignons levuriformes » que de Deutéromycètes Blastomycètes (91).

Cette classification botanique apparaît encore de nos jours fortement compliquée par le fait que ces champignons étaient par erreur classés deux fois. La première fois, in vitro, ils étaient répertoriés parmi les champignons inférieurs, puisque ne possédant qu'une multiplication asexuée. Puis, in vivo au cœur de la lésion, on les répertoriait à nouveau mais cette fois à l'état parasite avec des structures typiques de reproduction sexuée (91).

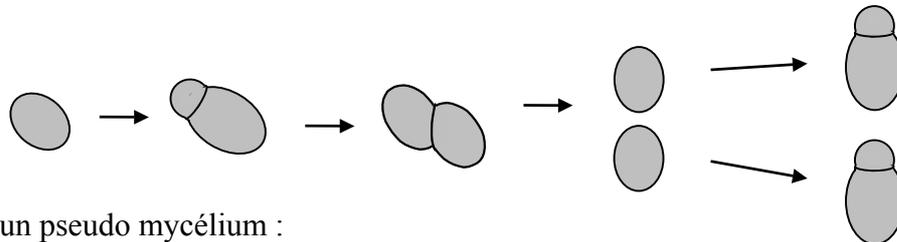
- Dans les Blastomycètes :

Il reste établi que les levures peuvent être encore appelées « *blastospores* » ou « spores de bourgeonnement ». Lors de la reproduction asexuée, des cellules filles prennent naissance à un ou aux deux pôles de la cellule mère, puis soit s'en détachent, soit y restent soudées et bourgeonnent à leur tour pour former ainsi un filament que l'on nomme pseudo-mycélium (91) [figure 2]. À ce jour, l'observation de pseudo-mycélium issu de la multiplication de *M. pachydermatis* reste très délicate et nécessite des milieux adaptés [cf infra].

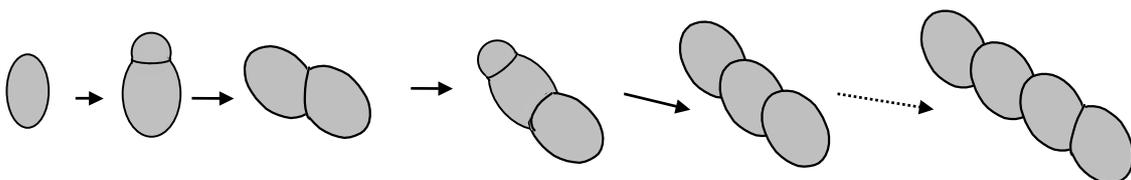
*M. pachydermatis* est classée par Kreger-van Rij au sein de la famille des *Cryptococcaceae* (181).

Figure 2 : Mode de multiplication des champignons levuriformes, d'après les dessins de Euzéby (91).

Séparation des deux cellules (observation classique de *Malassezia pachydermatis*) :



Formation d'un pseudo mycélium :



- Certaines caractéristiques la rapprocheraient pourtant plus des Basidiomycètes.

Drouhet (77), par l'étude de la constitution du génome [pourcentage guanine et cytosine], apporte une indication quant à la forte ressemblance des *Malassezia* avec la classe des basidiomycètes. D'autres points communs les en rapprochent comme le fait d'hydrolyser l'urée (282, 322), la structure caractéristique de la paroi (279, 289), la résistance de cette paroi à l'action lytique de la  $\beta(1,3)$ -D-glucanase (18) ou la coloration positive au bleu de diazonium (279).

Selon Guillot (135), ces levures se seraient séparées depuis longtemps des autres Basidiomycètes en élisant domicile sur la peau des vertébrés homéothermes et se seraient adaptées par leur lipophilie à cet environnement très particulier.

### C. Origine du nom de *Malassezia pachydermatis*.

#### 1. *Malassezia* et *Pityrosporum*, deux noms pour un même genre.

L'historique de la dénomination *Malassezia pachydermatis* [figure 3] est fortement liée à celle d'une autre levure appartenant au même genre, responsable du *pityriasis* chez l'homme : *Malassezia furfur*.

En 1846, Eichstedt (88) démontra par l'observation de filaments mycéliens et de spores, la nature fongique du *pityriasis versicolor* qui, chez l'homme, provoque la formation de fines desquamations localisées principalement sur le tronc et la racine des membres. En 1874, Malassez observe des entités unicellulaires et des filaments dans les pellicules et les cheveux humains lors de *pityriasis capitis* (206). D'après ces derniers travaux, le genre *Malassezia* sera créé par Baillon en 1889 pour nommer les formes filamenteuses (14).

Le genre *Pityrosporum* sera créé par Sabouraud en 1904 pour nommer les structures bourgeonnantes associées au *pityriasis capitis* (263).

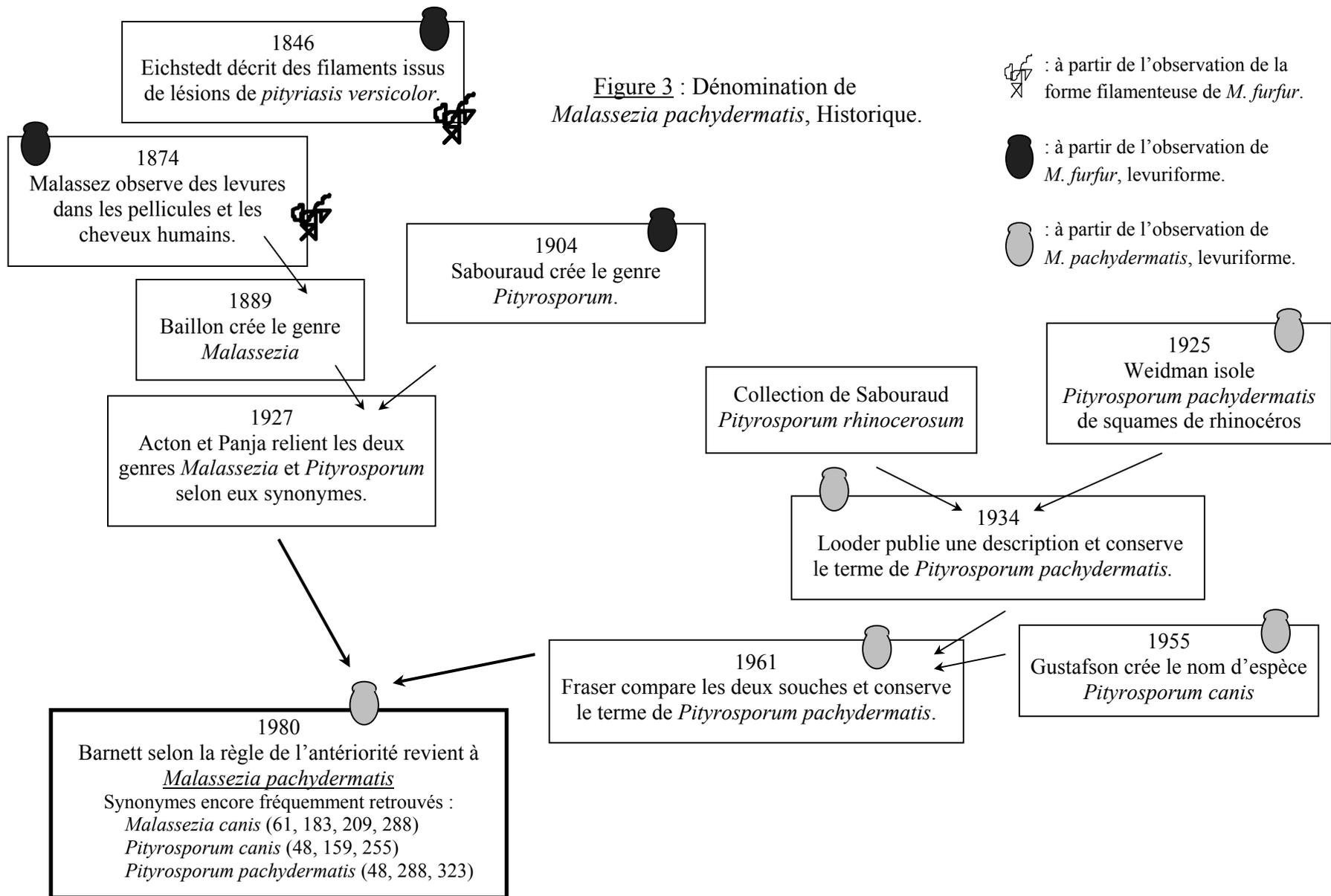
Ainsi apparurent deux termes : *Malassezia* du fait de la présence de structures filamenteuses sur le site de la lésion et *Pityrosporum* pour les formes ovales caractéristiques.

*Malassezia* et *Pityrosporum* seront reconnus comme synonymes dès 1927 (3), mais, il faudra attendre 1983 pour que cela soit officialisé lors de réédition de traités des levures par Barnett (17) et en 1984 par Yarrow (322).

Aussi même si certains (109) souhaitaient voir reconnu le terme de « *Pityrosporum* » en hommage à son auteur, ou simplement dans un but phonétique (77), « *Pityrosporum* » illustrant selon eux mieux une levure, la règle de l'antériorité donnera sa faveur à « *Malassezia* ».

#### 2. *M. rhinocerosum*, *M. pachydermatis* et *M. canis* sont synonymes.

En 1925, Weidman (313) est le premier à isoler de squames de rhinocéros une levure qui semble correspondre au genre *Pityrosporum* ; mais de taille plus petite, de forme ovale plus régulière que *P. furfur* et surtout se développant sur milieu de Sabouraud simple, il la dénomma *P. pachydermatis*.



Looder (196) publiera la description de l'espèce *P. pachydermatis* en 1934 qu'il considère comme synonyme d'une autre, *P. rhinocerosum*, provenant de la collection de Sabouraud. Beaucoup plus tard, d'autres auteurs (134) vérifieront cette synonymie par l'étude du génome de souches prélevées sur deux rhinocéros et sur différents chiens.

La dénomination *P. canis* fait son apparition en 1955 suite à une étude de Gustafson sur une levure isolée d'un conduit auditif de chien atteint d'otite externe, l'auteur pensait en effet avoir isolé une espèce différente de *P. pachydermatis* (143). Les études de Fraser (106) en 1961, suivies des travaux de Slooff (282) en 1970, permettront d'affirmer que les deux appellations sont bien synonymes, la règle de l'antériorité là encore faisant foi, le terme de *M. pachydermatis* est conservé.

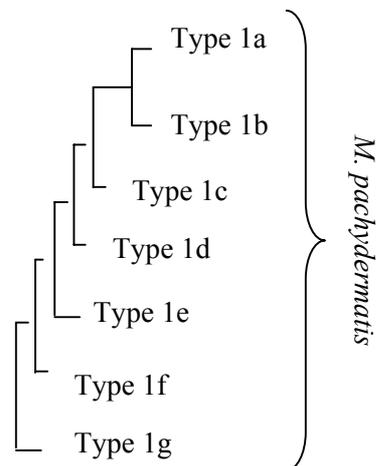
Ainsi, nous avons vu que la dénomination officielle reste *Malassezia pachydermatis*. Néanmoins, nous pourrions trouver dans la littérature les trois synonymes : *Malassezia canis*, *Pityrosporum canis*, *Pityrosporum pachydermatis*.

#### D. Sept biotypes différents pour *Malassezia pachydermatis*.

Grâce à des travaux basés sur l'étude phylogénétique de la séquence génétique codant pour la chitine synthétase 2, ont été différenciés sept biotypes différents au sein de l'espèce *M. pachydermatis* [notés de Ia à Ig, figure 4] (65, 129, 133, 136, 162).

Les types Ia, Id et Ie sont plus souvent rencontrés chez le chien avec parfois port des trois en même temps (136), le chat, quant à lui, héberge plutôt les types Ia et Ie (136).

**Figure 4** : Phylogénie basée sur une séquence d'ARN ribosomal de l'espèce *M. pachydermatis* (129, 133).



- ✓ *Malassezia pachydermatis* est une levure appartenant à ce jour aux Deutéromycètes Blastomycètes, mais cette division des *Fungi imperfecti* sera sans doute amenée à disparaître.
- ✓ Beaucoup de caractéristiques génétiques ou structurales la rapprochent des Basidiomycètes.
- ✓ Malassez est le premier, en 1874, à décrire une levure du genre, le nom de l'espèce sera donné par Weidman en 1925. Il est possible de retrouver dans la littérature différents synonymes : *Malassezia canis*, *Pityrosporum canis*, *Pityrosporum pachydermatis*.
- ✓ L'espèce *M. pachydermatis* est constituée de sept biotypes différents.



## II. Description de *Malassezia pachydermatis* : morphologie, biologie et conservation.

### A. Description de *M. pachydermatis*.

#### 1. La colonie de *Malassezia pachydermatis* : deux aspects possibles.

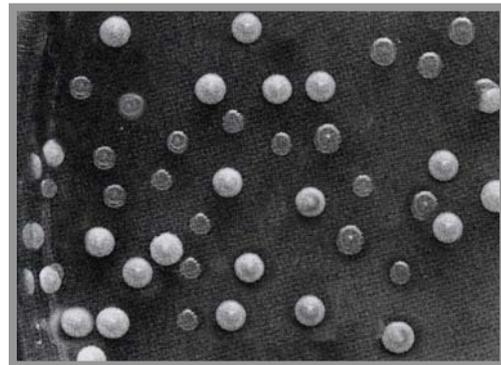
La colonie de *M. pachydermatis* cultivée en gélose apparaît ronde, avec une surface en coupole (160, 264), punctiforme (191) de 1 à 3 mm de diamètre, blanche jaune pâle à crème (91, 171, 191) ou grisâtre (124, 132), opaque, de consistance finement granuleuse à lamellaire parfois (264) [figure 5]. Ces îlots finissent par confluer (123) et après plusieurs jours de culture apparaissent secs et craquelés, prenant alors un peu l'aspect d'une peau d'orange (48). La couleur vire au jaune foncé à orange, puis au brun (118, 160, 171, 264).

Sur milieu liquide de Sabouraud, les levures forment un film à la surface qui s'opacifie durant les 24 à 48 premières heures. Puis, cette pellicule devient plus fragile et une partie tombe au fond du tube (171).

En présence de tétrazolium, la culture prend une teinte rose puis rouge ou violet foncé (264).

**Figure 5 :**

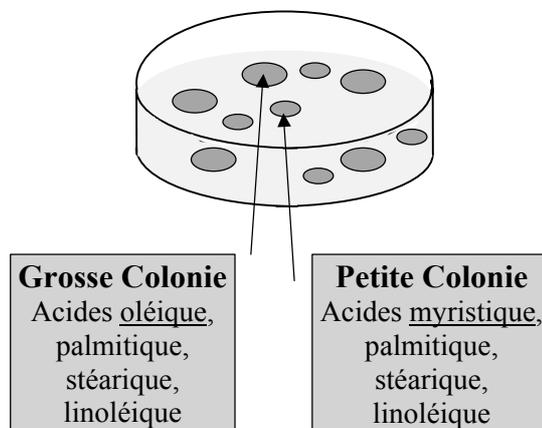
Photo de colonies de *M. pachydermatis* isolées dans une boîte de Pétri sur milieu de Sabouraud supplémenté en chloramphénicol. Nous pouvons observer des colonies de tailles différentes. [Photo personnelle]



Nous avons pu trouver dans la littérature l'existence de deux formes différentes de colonies (1, 48, 111, 308) de *M. pachydermatis*, leur seule différence étant leur taille respective [figures 5 et 6]. En effet, la plus petite colonie mesure de 300 µm à 1 mm alors que l'autre peut être trois fois plus grande. Les levures formant de grandes colonies semblent être isolées plus fréquemment dans les oreilles (155) et sur la peau des chiens (156).

Différentes explications peuvent être données, la première (48) est une augmentation de taille progressive avec le temps, l'observation quotidienne des colonies tend à la réfuter ; la deuxième est donnée par Huang (154) qui, à partir de *Malassezia* récupérées sur la peau et dans les oreilles de chiens, isola trois souches donnant des colonies de tailles différentes, il les qualifia de *petite*, *intermédiaire* [une seule souche sur

**Figure 6 :**  
Deux types de colonies de *M. pachydermatis* sur le même milieu de culture (155)



les dix] ou *grande*. Le même auteur montra que cette différence était corrélée à la composition en acides gras (154). En effet, les levures des grosses colonies sont composées des acides oléique, palmitique, stéarique et linoléique, alors que celles des colonies plus petites contiennent les acides myristique, palmitique, stéarique, linoléique et encore cinq autres non identifiés [figure 6]. Huang démontra de plus qu'il est impossible de passer d'une souche à l'autre en changeant les acides gras présents dans le milieu de culture (154).

Enfin, une troisième explication serait de supposer qu'il s'agit d'espèces différentes de *Malassezia*. Des études phylogénétiques ont montré qu'il s'agit bien de *M. pachydermatis* et que les types de colonies correspondent à des biotypes différents (129, 134).

## 2. Etude morphologique et structurale de la levure.

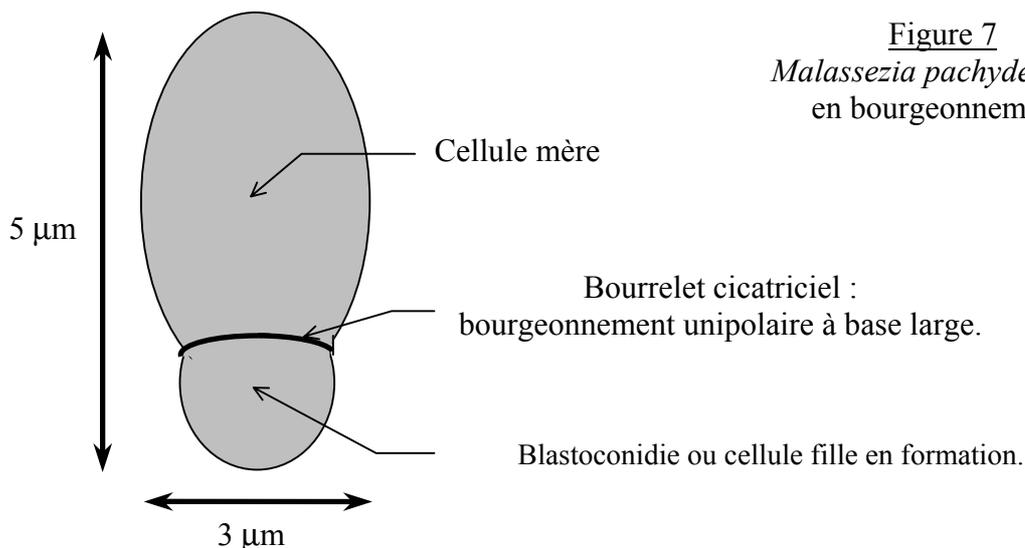
### 2.1. Morphologie de la levure.

Seule la morphologie de *Malassezia pachydermatis* nous intéresse, mais nombreux sont les auteurs qui la décrivent comme caractéristique de l'ensemble du genre (42, 91, 278, 283).

Cette levure possède une forme ovale ou, lors de division, en bouteille (54, 127, 158, 160, 185, 194, 218, 264, 278, 283) [figures 7 et 8], elle est aussi qualifiée d'aspect en cacahuète (11, 203, 254).

D'autres formes ont aussi pu être observées comme une silhouette ronde (160, 253, 264), une autre en fuseau (253) ou encore en haltère (264).

*Malassezia pachydermatis* mesure en moyenne 5  $\mu\text{m}$  de long sur 3  $\mu\text{m}$  de large [figure 7], ces valeurs moyennes sont données par une étude de Kures (185) mais nous avons pu relever dans l'ensemble de la littérature des écarts allant de 2 à 8  $\mu\text{m}$  de long sur 1,5 à 5  $\mu\text{m}$  de large. Ce sont entre autres ces variations de taille qui avaient entraîné abusivement Buxton (48) à séparer *Pityrosporum canis* [2 à 4  $\mu\text{m}$  sur 4 à 6  $\mu\text{m}$ ] et *Pityrosporum pachydermatis* [2 à 3  $\mu\text{m}$  sur 3 à 5  $\mu\text{m}$ ] en deux espèces distinctes.



*Malassezia pachydermatis* présente un bourgeonnement unipolaire à base large (185, 191, 212) au niveau duquel se forme une collerette (127, 161) ou plus rarement un septum (264), sorte de bourrelet cicatriciel faisant suite à la naissance de cellules filles. Il n'a jamais été visualisé de bourgeonnement multiple comme l'avait signalé Randjandiche (253) pour

*Malassezia ovale*.

Dès 1889, Matakief [221], figure 9] décrivait la paroi comme épaisse et spiralée pour le genre *Malassezia*, ces observations seront précisées grâce à l'emploi de la microscopie électronique.

**Figure 8 :**

Examen direct du cérumen d'un chien grâce à un objectif à immersion x100 après fixation et coloration au bleu de toluidine : de très nombreuses levures du genre *Malassezia* sont visibles.

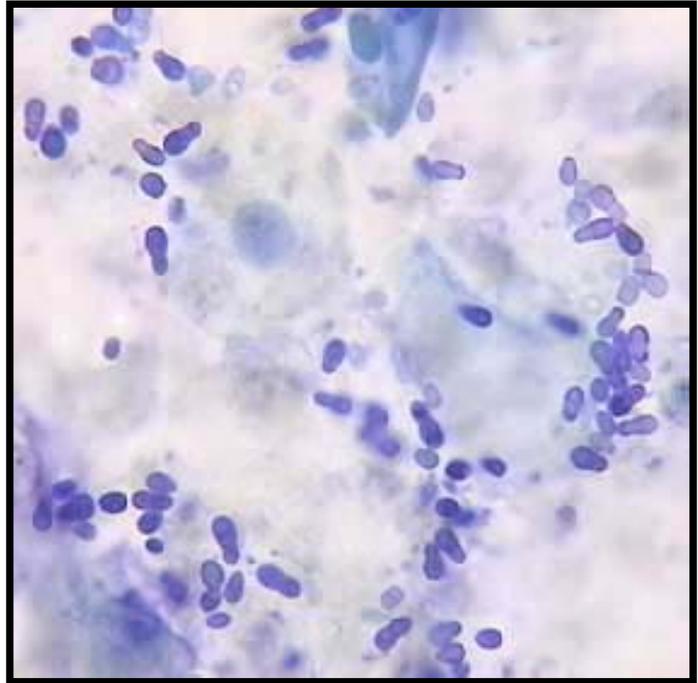


Photo : Pr. Franc, Service de Dermatologie-Parasitologie de l'E.N.V.T.

## 2.2. Aspect de la forme filamenteuse : une forme étudiée uniquement in vitro.

Baucoup d'auteurs n'ont pu observer de *M. pachydermatis* que son aspect levuriforme et caractérisaient donc l'espèce comme ne formant ni mycelium, ni pseudomycelium (11, 18, 48, 54, 160, 176, 185, 187, 210, 254, 258, 283). Dans des conditions particulières, c'est-à-dire in vitro sur milieu enrichi en cholestérol (94, 237) et placée en aérophilie ou mieux en microaérophilie [5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> et 85% N<sub>2</sub>] (94), il semble que cette levure soit capable d'émettre des pseudohyphes (97) ou de rares hyphes (237), mais cela reste très délicat. Ces filaments resteront de taille plus réduite que ceux produits dans les mêmes conditions par *M. furfur* (94). Euzéby (91) émet l'hypothèse qu'in vitro la morphologie des levures du genre *Malassezia* serait très instable et le passage de la forme filamenteuse à la forme levure très fréquent, d'où la difficulté de son observation.

L'étude de ces formes filamenteuses reste très liée aux observations de *M. furfur* et *M. globosa* chez lesquelles les hyphes sont considérés in vivo comme des formes d'invasion lorsque le champignon passe de la vie saprophyte à la vie parasitaire (68). Néanmoins, contrairement à ce qui a été observé chez ces espèces (14, 91, 93, 97), aucun auteur n'a encore mis en évidence d'hyphes de *M. pachydermatis* in vivo sur des lésions. Guillot (131) émet pourtant un doute suite à l'observation d'un prélèvement fait sur l'abdomen d'une chienne Beagle en lactation chez laquelle il a pu être observé des filaments mycéliens d'origine inconnue. Sans identification plus avancée, il est impossible de conclure. L'auteur se demande si les changements de constitution chimique de la peau sous influence hormonale lors de la

gestation, associés aux traumatismes qu'infligent les chiots lors de la tétée, ne constitueraient pas un milieu favorable au développement in vivo de filaments de *M. pachydermatis*.

[Mise en garde : Les figures 9 et 10 sont tirées de l'observation de *M. furfur* présente sur les lésions de *pityriasis versicolor* chez l'homme.]

Figure 9 ci-contre :

Dessins de Matakief (221) d'après son observation de *M. furfur*. À noter les détails de la paroi obtenus grâce à la microscopie optique.



Figure 10 ci-contre :

« Examen direct de squames provenant de lésions de *pityriasis versicolor*. Des levures arrondies avec un site de bourgeonnement étroit [flèche] sont associées à des filaments mycéliens [objectif x 100] » [légende et cliché Service de Parasitologie ENVA] (138b).



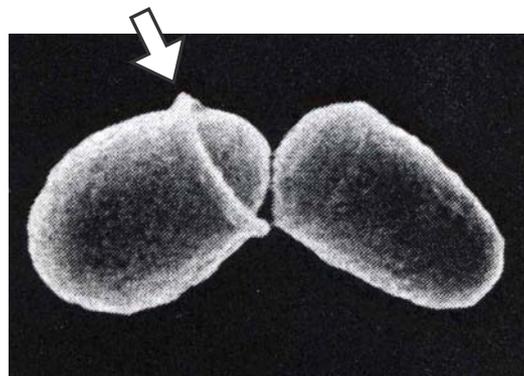
### 2.3. Observation au microscope électronique.

Des études ont été menées afin d'observer l'ensemble des levures du genre *Malassezia* au microscope électronique à transmission (16, 77, 99, 164, 171, 180, 243, 279, 289, 320) ou à balayage (1, 44, 77, 127, 243, 291).

Chez *M. pachydermatis* vue en microscopie électronique à balayage, nous retrouvons [figure 11] le bourrelet cicatriciel unipolaire consécutif à des bourgeonnements répétés et déjà décrit en microscopie optique.

Figure 11 ci-contre (photo 135b) :

*M. pachydermatis* au microscope électronique à balayage. Nous pouvons observer la collerette cicatricielle [flèche]. La division s'achève, la cellule fille est à droite, la cellule mère à gauche.



Grâce à la microscopie électronique à transmission, après coloration au permanganate, nous pouvons observer son ultrastructure [figures 12 à 14].

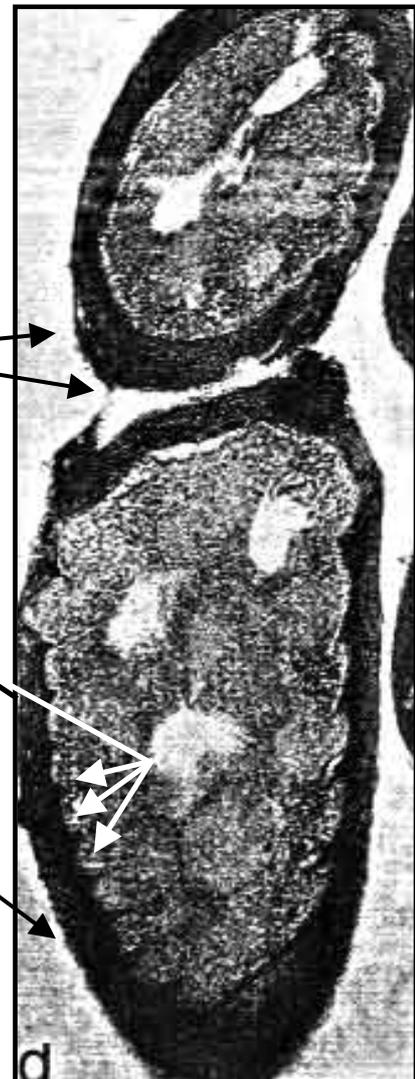
❖ La paroi de *Malassezia spp.*, différente des autres levures, serait caractéristique du genre (289), elle est en effet très épaisse (1, 289) [encore plus épaisse pour *M. pachydermatis* que pour *M. furfur* (1)] et pluri-lamellaire (1, 289) avec au moins trois strates distinctes (1) [figure 13]. Cet aspect lamellaire est surtout bien visible dans les zones de cicatrices de la paroi (289). Comme cela a déjà été observé grâce à la microscopie optique (221), nous avons la confirmation que cette paroi a la particularité d'être hélicoïdale oblique par rapport au grand axe de la levure (77).

Figure 12 ci-contre [photo : (243)] : Etude de la structure de la paroi de *M. pachydermatis* en microscopie électronique à transmission [grossissement x 15000].

La formation de parois entre les membranes protoplasmiques permettra la séparation des cellules mère et fille.

La face interne de la paroi forme des crêtes auxquelles la membrane protoplasmique semble adhérer.

La paroi cellulaire est épaisse.



La face interne de la paroi, à laquelle la membrane protoplasmique semble adhérer fermement en plusieurs points (289), est ondulée (289) formant ainsi 14 à 16 petites crêtes (171) [figure 13 et 14].



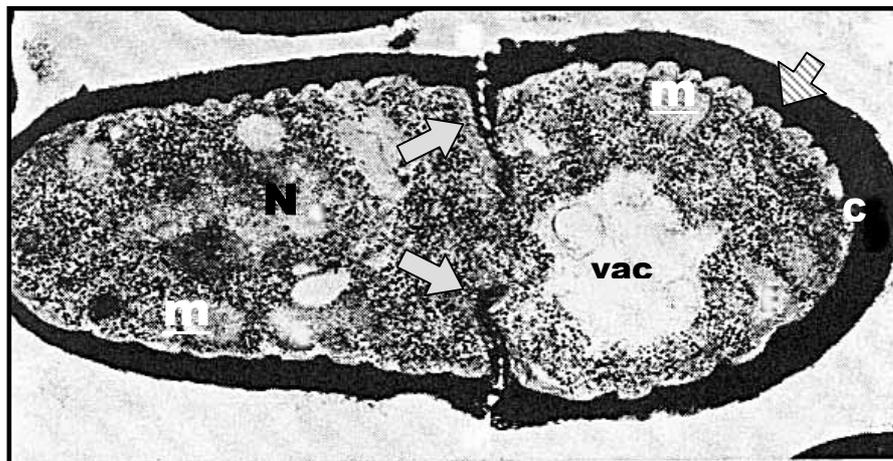
Figure 13 ci contre [photo : (243)] :

Détails de la paroi vus grâce à la microscopie électronique à transmission [grossissement x 30000].

La paroi [CW] est pluri-lamellaire, sa face interne forme des crêtes.

Vacuole

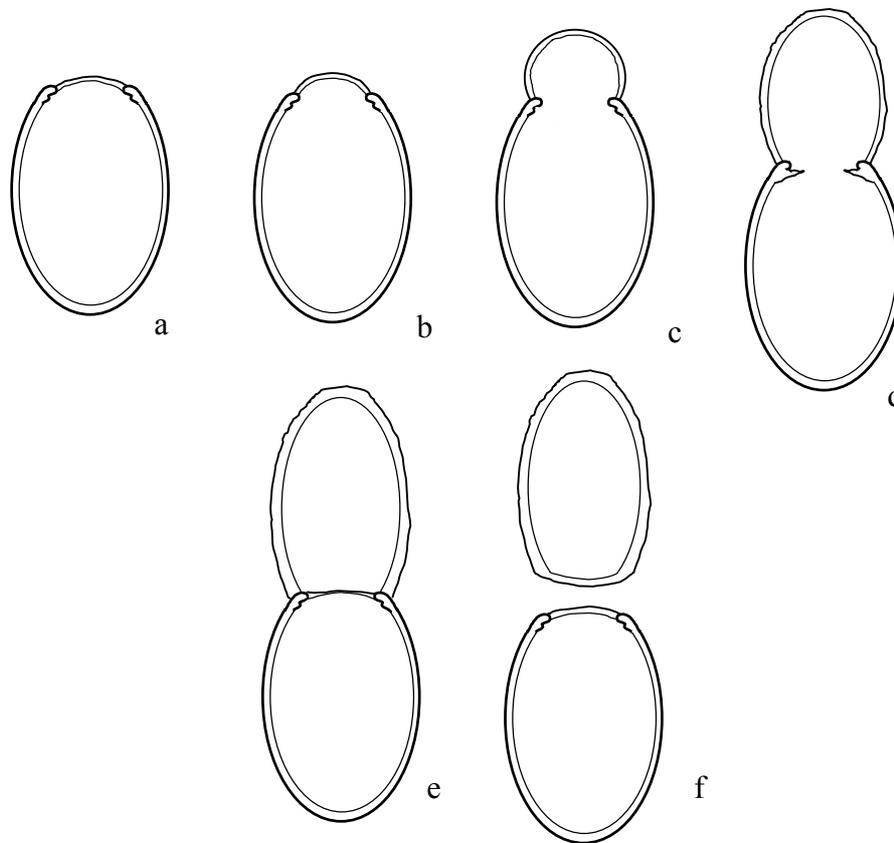
Figure 14 ci-dessous [photo : (192)] : Ultrastructure de *Malassezia pachydermatis*, [N] noyau, [m] mitochondrie, [vac] vacuole, [CW] paroi cellulaire, grossissement x 20000. Nous retrouvons les crêtes sur la face interne de la paroi [flèche hachurée]. Nous pouvons aussi observer la formation de l'ébauche de paroi séparatrice, décrite à la figure 15d [flèches grises].



La formation de la paroi entre cellule mère et fille lors de la reproduction asexuée permettra leur séparation, nous avons représenté les différentes étapes du processus dans la figure 15.

Figure 15 : Processus de multiplication asexuée de *M. pachydermatis*.

Hors phase de multiplication [a], les bourrelets cicatriciels sont tout de même visibles. Cette collerette est bien la preuve que la multiplication débute toujours au même pôle de la cellule [b]. Le développement du bourgeon se poursuit [c], la levure prend alors la forme caractéristique dite en bouteille. La paroi cellulaire de séparation entre les cellules mère et fille débute par la formation de crêtes [d], la cellule évolue alors vers sa forme dite en cacahuète. Une fois que la future cellule fille est pratiquement aussi longue que la cellule mère et que la synthèse de la paroi entre les membranes protoplasmiques des cellules mère et fille est achevée [e], elles se séparent [f].



Certaines études ont permis d'observer les différents organites [figures 14] :

- ❖ Des mitochondries (1, 289) d'aspect granuleux (1), reconnues comme telle en raison de leur membrane interne invaginée (289) et mesurant 0,4  $\mu\text{m}$  de long sur 0,1  $\mu\text{m}$  de large (289).
- ❖ Des granules identifiés comme composés de glycogène ont pu être mis en évidence (171, 243), ainsi que des vacuoles (1, 243, 289) apparaissant sphériques sur de nombreuses coupes et semblant contenir des corps gras (1).
- ❖ Un noyau d'environ 0,8  $\mu\text{m}$  de diamètre peut être lui aussi observé (171, 243, 289). D'autres auteurs ont démontré que ce noyau contient six chromosomes (9) respectivement de 820, 1100, 1400, 1470, 1660 et 1820 Kb (174).

## B. Biologie : assimilations, utilisation des nutriments et milieux de culture.

### 1. Assimilation et utilisation des nutriments

L'assimilation et l'activité métabolique ont été étudiées par Kiss, Radvanyi et Szigeti sur 80 souches sauvages de *M. pachydermatis* prises sur des chiens atteints d'otite externe et sur la souche CBS 1879, référence de l'espèce (171). Les résultats de cette étude sont consignés dans le tableau 2.

#### 1.1. Assimilation du carbone et de l'azote.

La source de carbone peut être le glucose (118, 171, 269, 282). Certaines souches semblent pouvoir assimiler le mannitol (127, 171, 185, 269), le glucitol, le glycérol ou le sorbitol. (91, 264, 269) [tableau 2].

**Tableau 2** : Caractéristiques biochimiques de 80 souches sauvages de *M. pachydermatis* et de sa souche de référence CBS 1879 [d'après les résultats de Kiss et coll. (171)].

TEST	Molécule	Nombre de souches négatives	Nombre de souches positives
Assimilation des sucres	Glucose	0	80 + CBS 1879
	Lactose	80	0
	Galactose	80	0
	Mannitol	38	42 + CBS 1879
	Maltose	80	0
	Tréhalose	80	0
	Sucrose	80	0
	Sorbitol	40	40 + CBS 1879
	Cellobiose	80	0
	Ribose	80	0
Fermentation des sucres	L'ensemble des sucres ci-dessus	80 + CBS 1879	0
Assimilation des nitrates	Peptone	0	80 + CBS 1879
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	80 + CBS 1879	0
	KNO <sub>3</sub>	80 + CBS 1879	0
Assimilation de l'éthanol		80 + CBS 1879	0
Catalase		0	80 + CBS 1879
Uréase		0	80 + CBS 1879
Protéolyse		0	80 + CBS 1879
Digestion de la caséine		0	80 + CBS 1879
Estérase	Tween 20	0	80 + CBS 1879
	Tween 40	0	80 + CBS 1879
	Tween 60	0	80 + CBS 1879
	Tween 80	38 + CBS 1879	42
Lécithinase		0	80 + CBS 1879
Peroxydase		0	80 + CBS 1879
Coagulase		80 + CBS 1879	0
Hémagglutination		80 + CBS 1879	0

L'assimilation d'acides comme les acides lactique et succinique reste assez controversée puisque possible selon Slooff (282) et jamais mis en évidence par Sanguinetti (269).

L'assimilation des nitrates ou de sulfate d'ammonium comme source d'azote est impossible (171, 282) mais cet élément peut être assimilé via les peptones (171).

## 1.2. Activité enzymatique.

Certaines activités enzymatiques ont pu être mise en évidence, notamment phosphatasique alcaline, estérasique, estérase-lipasique et lipasique (18, 66, 171, 255). Il existe pourtant des différences entre souches de cette espèce, cela a été démontré par exemple à partir de l'activité estérasique sur les esters d'acide oléique (171) [Tween 80, tableau 2] ou à partir de l'activité phosphatasique (42). La digestion de la caséine est décelable par l'apparition d'une opacification autour des colonies sur un gel à base de lait après 3 à 4 jours à 37° C (171).

Aucune activité de coagulase ou d'hématogglutinine n'a été observée (171). La fermentation des sucres n'a jamais été non plus démontrée (171, 264, 282, 322).

*M. pachydermatis* présente de plus une activité protéolytique (171, 222, 241) et peroxydasique (171). L'hydrolyse de l'urée (42, 85, 171, 282, 322) est démontrée par un test sur gel d'urée de Christensen qui se positive en 24 heures à 35° C (91, 118).

## 2. Milieux de culture : *Malassezia pachydermatis*, une levure lipophile non lipodépendante.

Même si sa croissance est possible sur les milieux commerciaux utilisés par les praticiens vétérinaires pour confirmer la présence de dermatophyte (111, 131), l'emploi de milieux particuliers semble plus adapté.

### 2.1. Nature du milieu.

#### a. Un bon développement sur des milieux usuels.

*Malassezia pachydermatis* est une levure lipophile non lipodépendante. En effet, la croissance des levures du même genre, comme *M. furfur* par exemple, peut être influencée par la présence ou non de corps gras naturels. Mais *M. pachydermatis* est dite non lipodépendante (91, 131, 214, 283) car, contrairement à *M. furfur*, elle se contente d'acides gras à courte chaîne [C8] qu'elle trouve dans des milieux usuels comme ceux de Sabouraud (53, 59, 105, 258, 303) ou de Dixon (48, 258) et n'a donc pas besoin en théorie de supplémentation.

Guillot a comparé les milieux de Sabouraud classique et de Dixon modifié (137), il semble que, dans les mêmes conditions d'incubation, le deuxième soit plus favorable à la croissance de *Malassezia pachydermatis*.

#### b. Un développement plus hasardeux sur des milieux à base de tissus.

D'autres milieux ont été utilisés avec plus ou moins de succès [tableau 3]. La gélose contenant une association de tissus de cœur et de cerveau (91, 269) semble convenir pour le développement. À l'inverse, sur un milieu composé exclusivement de broya de cœur, la croissance est faible (258).

La gélose au sang ne semble pas idéale (91, 171, 178, 269), le développement des levures y est réduit et difficile à mettre en évidence. Cole et Carter (53) font pourtant remarquer que la décoloration du milieu au lieu d'étalement peut être une preuve de multiplication, celle-ci intervient dans les 24 heures suivant la mise en culture et avant qu'aucune colonie ne se soit développée (171).

**Tableau 3** : Milieux de culture utilisés, références et remarques évoquées sur chacun d'eux.

Milieux utilisés	Références	Remarques
<b>Milieux simples</b>		
<b>Sabouraud</b>	48, 59, 103, 105, 118, 167, 168, 171, 191, 270, 258.	très employés, permettent un bon rendement
Extrait de malt [Dixon et Dixon modifié]	40, 42, 103, 118, 137, 168, 171, 194, 258, 270.	
<b>Mycosel</b>	118.	peu de références
<b>Gélose au sang uniquement</b>	13, 53, 91, 108, 171, 178, 179, 211, 239.	faible rendement
Milieu aux œufs de Dorset	48.	peu de références
<b>Milieux avec broya d'organe</b>		
<b>Cœur + Poumon</b>	91, 269.	bon rendement
<b>Cœur</b>	258.	faible croissance
<b>Milieux supplémentés en antibiotique et/ou antifongique</b>		
Sab. <sup>1</sup> + gentamicine [25 µg]	178, 185.	
Sab. <sup>1</sup> + chloramphénicol [0,05 mg/mL]	20, 124, 278, 283.	Cela permet d'élargir le spectre antibiotique.
Dixon modifié + chloramphénicol + cycloheximidine	137.	Meilleur rendement qu'un milieu de Sabouraud (137)
Sab. <sup>1</sup> + chloramphénicol + gentamicine	94, 219.	
Sab. <sup>1</sup> +gentamicine + cycloheximidine [2 g/L]	185	La cycloheximidine [Actidione <sup>nd</sup> ] est un antifongique sans action sur <i>Malassezia</i> ; au contraire, elle favorise sa croissance.
Sab. <sup>1</sup> + chloramphénicol + cycloheximidine	43, 131.	
Sab. <sup>1</sup> + pénicilline + streptomycine + cycloheximidine	303.	
<b>Milieux avec optimisation de la croissance</b>		
Sab. <sup>1</sup> et huile d'olive [entre 1 et 10 % selon les auteurs]	53, 131, 135, 214, 253.	L'ajout d'huile d'olive est facilement réalisable et aiderait la croissance.
Sab. <sup>1</sup> +chloramphénicol [50 µg] + huile d'olive [2 %]	255.	
Sab. <sup>1</sup> +chloramphénicol+cycloheximidine + huile d'olive	131.	
Ajout de Tweens 40, 60 ou 80 [1 %], ou Ajout d'extrait de levure [1,5 %]	91, 94, 200, 210.	Les Tweens peuvent optimiser la croissance des levures.

**Sab.<sup>1</sup>**: Milieu de Sabouraud simple

Le sang peut tout de même être utilisé puisque Blanco obtient de bons résultats avec une association sang et gélose de MacConkey (27).

c. Intérêt de l'ajout d'un antibiotique, d'un antifongique ou de vitamines.

L'ajout d'un antibiotique au milieu de culture [selon la littérature, essentiellement gentamicine ou chloramphénicol] est pratiqué par certains auteurs [tableau 3]. Ceci permet en effet d'éviter que des bactéries ne puissent inhiber le développement des levures ou ne perturbent, par leur présence en trop grand nombre, l'identification des organismes.

Néanmoins, différentes études ont montré que certaines bactéries ne perturberaient pas la croissance de *M. pachydermatis* (111) et qu'au contraire les Staphylocoques par exemple favoriseraient son développement (48, 91, 309). Euzéby l'explique en réussissant, par l'ajout d'acide nicotinique [100 ng/mL], à reproduire le même effet euphorisant que donne aux levures une colonie de Staphylocoques. Il existe en fait une sorte de symbiose entre les deux entités, chacune se servant des produits métaboliques de l'autre pour sa propre croissance (171, 290).

L'acide nicotinique est aussi appelé vitamine PP, c'est la seule vitamine utile à la croissance de la levure, elle est même indispensable à certaines souches (171). D'autres vitamines ont été testées mais sans donner d'effet : la biotine [vitamine H], l'acide folique [vitamine M], le méso-inositol [vitamine Bios I], l'acide pantothénique [vitamine B5], la pyridoxine [vitamine B6], la riboflavine [vitamine B2], la thiamine [vitamine B1] par exemple (171).

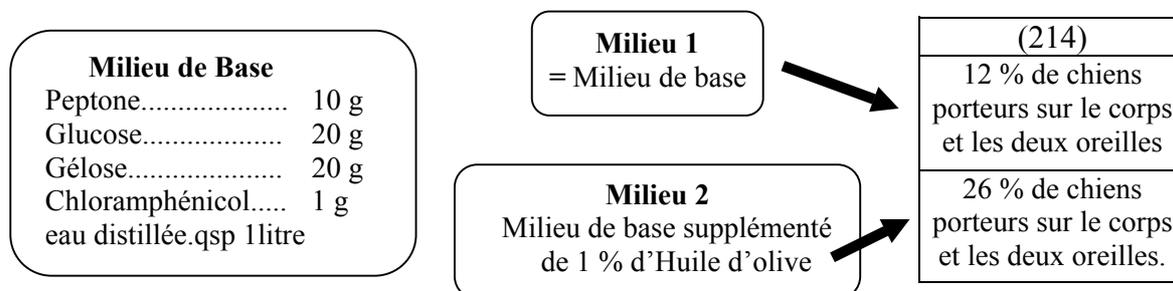
L'utilisation de cycloheximidine [Actidione<sup>nd</sup>] est intéressante puisqu'elle permet d'inhiber le développement de champignons dits « contaminants » dans le milieu. L'avantage est même double puisque non seulement la lecture sera facilitée, mais de plus l'effet antifongique serait inverse sur *Malassezia pachydermatis* puisque certains auteurs (18, 91, 161, 185, 305), décrivent une augmentation du rendement de croissance de la levure en présence de cette molécule.

d. Intérêt de la supplémentation en acide gras à longue chaîne.

Nous avons vu que *M. pachydermatis* n'a besoin pour se développer que d'acides gras à courtes chaînes qu'elle trouve en quantité restreinte mais suffisante sur des milieux comme celui de Sabouraud classique (283). Pourtant, cette indépendance est à relativiser. En effet, Kiss et ses collaborateurs ont constaté que la croissance de *M. pachydermatis* était augmentée avec supplémentation de 2 % d'huile de germe de maïs (171). Ainsi, les souches supplémentées forment encore des colonies, certes plus petites, au bout d'une semaine alors que celles non supplémentées prennent déjà une coloration brun-noirâtre (171). De même, différents auteurs ont pu constater que les repiquages répétés sont plus difficiles sur milieu non supplémenté en acides gras à longue chaîne et que la perte de souches dans ces conditions y est alors fréquente (48, 91, 131, 135, 214, 253).

Cette différence de croît est démontrée statistiquement au seuil de 5 % à partir d'une étude portant sur deux lots de prélèvements issus des mêmes individus (214) et cultivés l'un sur milieu simple, l'autre sur milieu supplémenté de 1 % d'huile d'olive [figure 16].

**Figure 16** : L'huile d'olive optimise le développement sur milieu de Sabouraud.



Certains auteurs ont pu remarquer des phénomènes identiques d'optimisation avec une supplémentation du milieu en Tweens 40 et 60 (177, 200, 253). Cela est plus variable avec les Tweens 20 ou 80 ; puisque selon les souches, soit les molécules ne procurent aucun effet bénéfique (64), soit au contraire ont à des concentrations très élevées un effet néfaste sur la croissance (135b).

L'ajout d'extrait de ces mêmes levures [notamment de leurs propres acides gras] optimiserait leur croissance (91, 200) avec par exemple un développement en 24 heures sur un milieu de Sabouraud supplémenté d'extrait de levure (200).

Néanmoins, l'apport en acides gras ne doit pas être excessif puisque Euzéby (91) rapporte qu'un excès d'huile est néfaste au développement des *Malassezia*. Aussi, s'il y a supplémentation, celle-ci reste de l'ordre de 1 à 2 % (94, 131, 135, 214) jusqu'à 10 % (255) et se fait en général grâce à un rajout d'huile d'olive (52, 53, 91, 131, 214), de noix de coco (52, 53) ou de lait en poudre (242).

De plus, tous les acides gras ne semblent pas convenir, il en existe en effet dans le cérumen des chiens qui inhiberaient le développement de micro-organismes (154), résultats qui corroborent d'autres travaux qui notaient déjà une activité bactéricide et fongicide de certains acides gras du cérumen humain (55, 227).

## 2.2. Températures et durées d'incubation.

Le rendement du développement de *Malassezia pachydermatis* n'est pas seulement influencé par la nature du milieu, en effet la température d'incubation et sa durée jouent, elles aussi, un rôle prépondérant.

### a. À température faible, temps d'incubation long.

Virat (308) nous rapporte qu'il faut cinq jours pour un développement de levures placées à 28° C.

D'autres études montrèrent que même autour de 25° C durant sept à dix jours, la croissance des colonies est ralentie (35, 264) mais reste possible (117, 127, 282, 322). À ces températures, il faut néanmoins attendre trois (2) voire quatre semaines (281) pour affirmer que la culture est négative.

### b. Températures et durées d'incubation optimale.

La température la plus souvent choisie (160, 191, 255, 264, 283) et vue comme optimale (185, 264) apparaît être 37° C ; il faudra alors compter 2 à 3 jours (48, 118, 135, 214) voire 4 jours (94) d'incubation sur milieu de Sabouraud classique. Néanmoins, certains auteurs ne démontrent pas de différence statistique significative entre mise en culture à 32° ou 37° C (23, 35).

À l'inverse, la croissance semble inhibée à partir de 40 à 45° C (118, 264).

### 2.3. Atmosphère d'incubation.

L'incubation se fait à pression atmosphérique. À partir de l'étude de la croissance de *Malassezia furfur*, il semblerait qu'il puisse être assez favorable de placer les boîtes de Pétri dans des sacs hermétiques en plastique [sans différence avec l'emploi de Biobag<sup>nd</sup>] (23, 96, 248). La teneur résiduelle en gaz carbonique sera alors augmentée, ce qui favorise le développement des levures lipophiles (23). Il a même été envisagé, comme pour *M. furfur*, de placer les cultures directement en milieu contenant 5 % de CO<sub>2</sub> (178).

Mais ce gain de croît grâce au CO<sub>2</sub> est-il transposable à la culture de *M. pachydermatis* ? L'augmentation de sa croissance varie en fait en fonction du milieu de culture. En effet, il n'existe pas de différence significative sur milieu de Dixon modifié (35) ou de Sabouraud additionné de Tween 80 et d'huile d'olive (94) entre croissance sous atmosphère ambiante, sous un air chargé de 7 % de CO<sub>2</sub> ou en microaérophilie. À l'inverse, sur milieu de Sabouraud classique, une différence est bien significative au seuil de 5 % entre culture sous atmosphère normale et celle contenant 5 à 10 % de CO<sub>2</sub> (35).

L'oxygène est nécessaire puisque la croissance est très faible en anaérobiose (94).

## C. Conservation des souches.

Même si il semble que *Malassezia pachydermatis* résiste quatre semaines entre 15° et 26° C dans la terre et la poussière (111), la conservation des souches passe par des repiquages, par le froid ou par la lyophilisation.

### 1. La conservation par repiquage.

Deux possibilités peuvent être envisagées : laisser les colonies dans un milieu de conservation ou pratiquer des repiquages successifs.

Randjandiche (253) par exemple maintient la même souche en la plaçant sur un milieu de Dixon modifié. Ainsi, après culture pendant 10 jours à 37° C, les tubes sont fermés hermétiquement et pourront être conservés à température ambiante sans repiquage au moins 14 mois.

La conservation d'une souche sauvage de *Malassezia pachydermatis* à partir de repiquages successifs est possible. Néanmoins cette méthode est considérée comme assez fastidieuse et délicate puisque le risque de perte de la souche est grand ; les colonies vieillissent et dégénèrent en effet assez rapidement (48, 91, 131, 214, 264). Ainsi Guillot, par exemple, en utilisant un milieu Sabouraud, cycloheximidine, chloramphénicol et des repiquages uniquement tous les deux mois, n'a pu conserver que 60 % des souches initiales au bout de huit mois (131).

Il est possible d'espacer les repiquages d'un mois par ajout de Tween 80 dans le milieu de culture (131, 253), ou de trois mois à température ambiante par addition de Tween 80 et d'extrait de levures [1,5 %] sur un milieu de dextrose (200).

Enfin, toujours afin d'éviter les repiquages, il peut être envisagé l'emploi d'un film protecteur placé sur les cultures, par exemple de l'huile de paraffine stérilisée (45). Aussi le repiquage comme méthode de conservation donne d'assez bons résultats, même si il est démontré que le froid est plus efficace (87).

## 2. La conservation par le froid.

Les différentes formes de conservation par le froid ayant été étudiées sont la réfrigération à +4° C (229, 253), la congélation à -50° C (131) ou à -80° C (71, 87) et l'immersion dans l'azote liquide (45, 229).

Contrairement aux levures lipodépendantes, la réfrigération à +4° C en vue de conservation de *M. pachydermatis* semble donner de mauvais résultats (229, 253).

L'emploi de la congélation à -50° C est possible et donne de bons taux de survie (131) à condition que le milieu soit enrichi en huile d'olive ou en Tween 80 (131). La décongélation suivie de la recongélation d'un même tube, pratiquée jusqu'à trois fois de suite, n'affecterait pas la survie des levures (131).

L'emploi de l'azote liquide est envisageable (45, 229) à condition d'utiliser un agent cryoprotecteur.

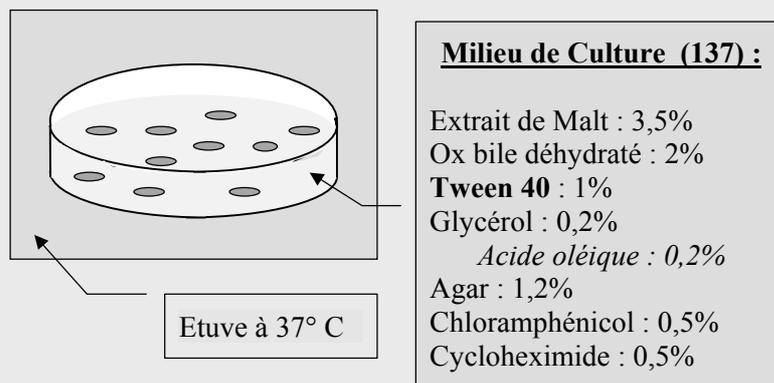
## 3. La conservation par lyophilisation.

La lyophilisation permettrait une conservation à très long terme (87, 129, 229).

En conclusion de cette partie, grâce aux connaissances actuelles, la culture de *Malassezia pachydermatis* est très aisée à condition de respecter les conditions de milieu, de température et les durées d'incubation.

- ✓ La colonie de *M. pachydermatis* est blanche, punctiforme, de 2 mm de diamètre environ.
- ✓ Cette levure possède une forme ovale ou en bouteille lors des divisions. Elle mesure environ 5  $\mu\text{m}$  de long sur 3  $\mu\text{m}$  de large.
- ✓ *M. pachydermatis* présente un bourgeonnement unipolaire à base large au niveau duquel se forme une collerette, sorte de bourrelet cicatriciel faisant suite à la naissance de cellules filles.
- ✓ Le milieu qui semblerait donner les meilleurs résultats serait celui décrit par la figure 17 : milieu de Dixon modifié et supplémenté (137).

Figure 17 : Milieu de bon rendement pour la culture de *M. pachydermatis*.



- ✓ La conservation par repiquage peut être utilisée à relativement court terme. À plus long terme, la congélation ou la lyophilisation sont plus adaptées (87).

Figures 18 à 22 : Photos et commentaires d'après Guillot, Ghého et Midgley (135).

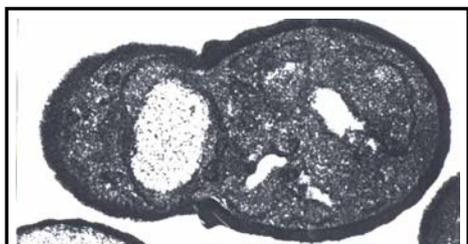
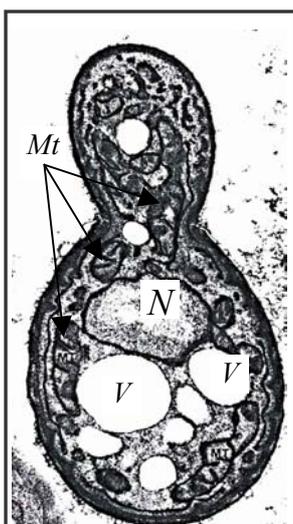


Figure 18 ci-dessus : 500 nm  
*M. pachydermatis*, cellule courte et ovale se reproduisant sur un site très large.



500 nm  
Figure 19 ci-contre à droite : *M. furfur*, grand polymorphisme avec des cellules ovales ou arrondies ; le site de bourgeonnement est, là encore, à base large.



500 nm

Figure 20 ci-contre à gauche : *M. sympodialis*, sur le cliché nous pouvons observer le noyau [N], plusieurs mitochondries allongées [Mt] et des vacuoles [V]. L'isthme de bourgeonnement est de taille moyenne. Le nom vient de l'observation du bourgeonnement qui paraît de type sympodial, c'est-à-dire qu'un bourgeon se forme alors que le précédent n'est pas tout à fait libéré.

500 nm

Figure 21 ci-contre à droite : *M. obtusa*, cellule ovale de grande taille avec un site de bourgeonnement large. Son nom est choisi en référence à l'anglais « obtuse » qui en mycologie qualifie une forme cylindrique aux extrémités légèrement arrondies.

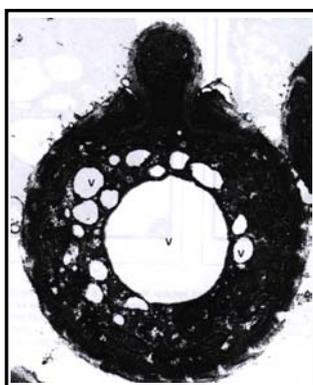


Figure 22 ci-contre à gauche : *M. globosa*, cellule sphérique avec un site de bourgeonnement très étroit. La cellule fille peut présenter une forme plus allongée alors que la cellule mère reste bien ronde.

500 nm

### III. Les quatre autres espèces de *Malassezia* décrites chez le chien et le chat.

Hormis *M. pachydermatis*, neuf espèces ont été décrites pour le genre *Malassezia*, toutes lipodépendantes (135). *M. pachydermatis* a été la première identifiée chez le chien et le chat. Depuis, quatre autres ont été observées chez ces carnivores domestiques.

#### A. Les autres espèces observées à ce jour chez le chien et/ou le chat.

À ce jour quatre espèces, hormis *M. pachydermatis*, semblent présentes sur la peau de chiens et/ou de chats, il s'agit de *M. sympodialis* (38, 135, 252), *M. globosa* (38), *M. furfur* (56, 67) et *M. obtusa* (69). Elles auraient une double origine, l'homme et l'animal (38, 56, 69, 78, 135, 252).

Il s'agit bien d'espèces totalement distinctes (139, 162) que nous présenterons très succinctement à partir des images issues de la microscopie électronique à transmission et des observations faites par Guillot, Ghého et Midgley (135) [figures 18 à 22, page ci-contre]. Pour chacune de ces espèces, la colonie de référence figure dans le tableau 4.

Tableau 4 : Les espèces du genre *Malassezia* connues chez le chien et/ou le chat

Espèce	Isolement de référence	Séquences ARNr	Photos
<i>M. pachydermatis</i>	CBS 1879, culture néotype	AF063215 (type 1a)	Figure 18
<i>M. furfur</i>	CBS 1878, culture neotype	AF063214	Figure 19
<i>M. sympodialis</i>	CBS 7222, culture type	AF064024	Figure 20
<i>M. obtusa</i>	CBS 7876, culture type	AF064027	Figure 21
<i>M. globosa</i>	CBS 7966, culture type	AF064025	Figure 22

*Malassezia furfur*, anciennement appelée *Pityrosporum orbiculare* ou *P. ovale* est en général retrouvée chez l'homme. Elle est réputée responsable du *pityriasis versicolor* et du *pityriasis capitis*, mais aussi de folliculites, de dermatites atopiques, d'otites externes ou d'infections chez les personnes immunodéprimées [les nourrissons prématurés (57, 126, 189, 228), les personnes HIV positives (7, 95, 248) et les transplantés (6, 75, 232)].

Son existence chez l'animal a été pendant longtemps sujet à controverse. Ainsi, avant 1980, l'existence de l'espèce *M. pachydermatis* étant fortement contestée, *M. furfur* était la levure du genre *Malassezia* incriminée dans les cas d'otites externes chez les carnivores domestiques (114, 280, 301). Puis, après 1980, l'idée que *M. furfur* puisse être strictement anthropophile et *M. pachydermatis* zoophile se répandit.

Après 1990, les critères subjectifs ont été délaissés au profit d'éléments plus précis de diagnose et la qualité strictement anthropophile de *M. furfur* sera rejetée après sa découverte sur des bovins, des ovins, des porcs, ou des animaux sauvages (131).

Le tableau 5 reprend les études ayant recherchées la présence de *M. furfur* chez les carnivores domestiques. Les deux plus anciennes sont difficilement interprétables. En effet, l'une (214) n'effectuait de diagnose que sur quelques colonies issues de la culture et laissait donc, comme le signalait son auteur, une grande part au hasard. L'autre étude (131) laisse un doute après l'observation de filaments mycéliens sur une lésion sans pousser plus la diagnose.

Les derniers travaux de Crespo (67, 69) et Raabe (252) démontrent avec certitude la présence de *M. furfur* chez le chat et le chien. Mais *M. furfur* n'est pas la seule levure lipodépendante présente, *M. globosa* (38) et *M. sympodialis* (34) ont, en effet, été isolées de la peau ou des oreilles de chats. *M. obtusa*, quant à elle, a été prélevée lors d'une otite externe chez un chien (69).

**Tableau 5** : Pourcentage d'isolement de *M. furfur* selon diverses études chez le chien ou le chat.

Références	Année	% <i>M. furfur</i>	Remarques
(4)	1999	12,6 %	2 souches proches génétiquement de <i>M. furfur</i>
(67)	1999	1 prélèvement	<i>M. furfur</i> chez le chat
(252)	1998	45 %	<i>M. pachydermatis</i> associée à <i>M. furfur</i> ou <i>M. sympodialis</i> dans 80 % des cas
(214)	1994	0 %	identification liée à l'aléatoire
(131)	1993	0 %	un doute pour un seul cas

De plus, la présence de ces autres espèces n'est pas rare. En effet, il a été montré que sur seize souches identifiées grâce à la microscopie optique comme *M. pachydermatis*, treize se rapprochaient très bien de cette dernière, mais une n'en était seulement qu'assez proche et deux plutôt comparables à *M. furfur* (4). Raabe et ses collaborateurs (252) vont même plus loin puisqu'ils montrent qu'à partir de prélèvements faits sur la peau et dans les oreilles de chiens et de chats sains, *M. pachydermatis* est associée à *M. furfur* ou *M. sympodialis* dans 80 % des cas.

## B. Critères de diagnose

Puisque plusieurs espèces semblent pouvoir coexister, il apparaît nécessaire de savoir les différencier. L'emploi de galeries d'identification du commerce utilisable pour les bactéries est inutile avec *M. pachydermatis* [galeries API 20 CAUX, API STAPH, Cobas Micro] (42). Aussi, d'autres méthodes ont été envisagées, chacune présentée comme plus ou moins fiable ou facile d'emploi, nous les avons répertoriées ci-après. Un protocole mélangeant plusieurs techniques a été proposé.

### 1. Différentes méthodes de diagnose ont été proposées.

#### 1.1. La diagnose morphologique est peu fiable.

Une diagnose basée sur l'observation de différences morphologiques pourrait sembler fort simple.

Néanmoins, n'utiliser qu'un critère morphologique pour la diagnose semble délicat, les variations de forme au sein d'une même espèce pouvant en effet induire des erreurs. Nous en avons déjà abordé l'exemple de Buxton qui, trompé par les variations de taille de *M. pachydermatis*, avait distingué deux espèces : « *P. canis* » et « *P. pachydermatis* » (48).

#### 1.2. La diagnose par l'étude des propriétés biologiques.

##### a. Différence de dépendance vis-à-vis des acides gras à longue chaîne du milieu de culture.

L'idée reprise dans sa thèse par Marouteix (214) est de se servir du fait que *M. pachydermatis* est la seule levure non lipodépendante du genre. L'auteur a donc envisagé d'effectuer des repiquages sur milieu non supplémenté : si la levure se multiplie, c'est qu'il s'agit bien de *M. pachydermatis*, sinon c'est qu'il s'agit d'une autre espèce.

Néanmoins, nous avons vu que, pour plusieurs auteurs, certaines souches de *M. pachydermatis* sont difficile à repiquer sur milieu non supplémenté, aussi l'utilisation de ce seul critère risque, là encore, d'induire des erreurs (277).

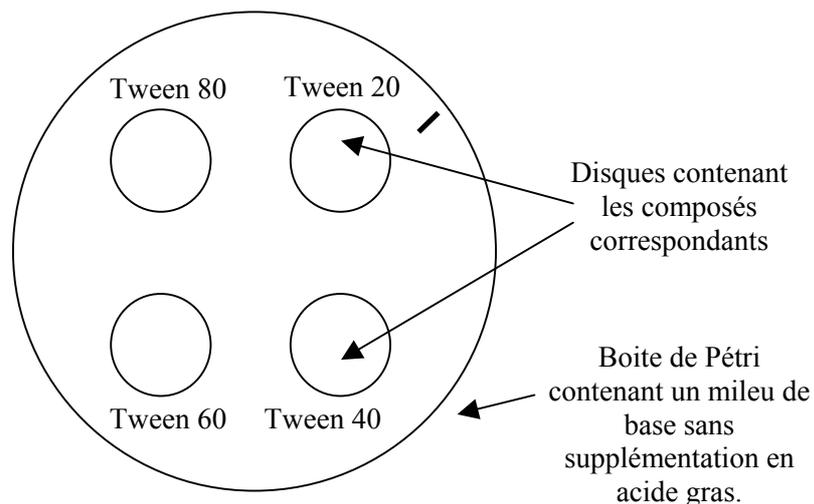
b. Différence d'activité biochimique.

Certaines études se sont intéressées à différencier les levures du genre *Malassezia* grâce à leurs propriétés biologiques : l'assimilation du Cremorphor (252, 314), l'activité  $\beta$ -glucosidase sur l'esculine (42, 252) ou encore la formation de pigment tryptophane dépendant et de fluochrome (252).

c. Différence de croissance sur milieu supplémenté en Tweens.

Cette méthode est basée sur la différence de croissance en fonction de la présence de Tweens différents. La levure à identifier estensemencée sur une boîte de Pétri contenant un milieu usuel non supplémenté en acides gras, sur différents secteurs sont placés des Tweens 20, 40, 60 et 80 qui permettront aux espèces lipodépendantes de se développer [figures 23]. Après incubation, il suffit d'observer les secteurs où les colonies se sont formées pour en déterminer l'espèce (135b).

**Figure 23 :**  
Méthode de différenciation par croissance sur milieu supplémenté en Tweens.



*Malassezia pachydermatis*, par exemple, se développera partout avec une nuance pour les zones proches des Tweens 20 et 80 puisque la croissance de certaines souches, nous l'avons déjà signalé, est inhibée par des concentrations élevées en ces molécules (135b).

1.3. La diagnose par étude du génome.

a. L'analyse chimique du génome :

Cette méthode est plus complexe puisqu'elle nécessite l'emploi de la spectrophotométrie et de la chromatographie ; elle se base sur des calculs des proportions de guanine et cytosine contenues dans l'ADN nucléaire. Cette proportion se situe par exemple autour de 55,5 % pour *M. pachydermatis* et 66 % pour *M. furfur* (128).

b. La séquence ADN :

C'est cette méthode qui permet à Gheho (128) de différencier *M. furfur* de *M. pachydermatis*. Le taux de recombinaison ADN-ADN est en effet très faible entre ces deux espèces.

### c. Etude du caryotype par l'électrophorèse

L'analyse électrophorétique du caryotype sur gel à champ pulsé permet de différencier les espèces entre elles (174, 277). Elle a permis notamment à Senczek et ses collaborateurs (277) d'identifier sur 220 isollements de levure du genre *Malassezia*, 217 *M. pachydermatis* et trois *M. sympodialis*.

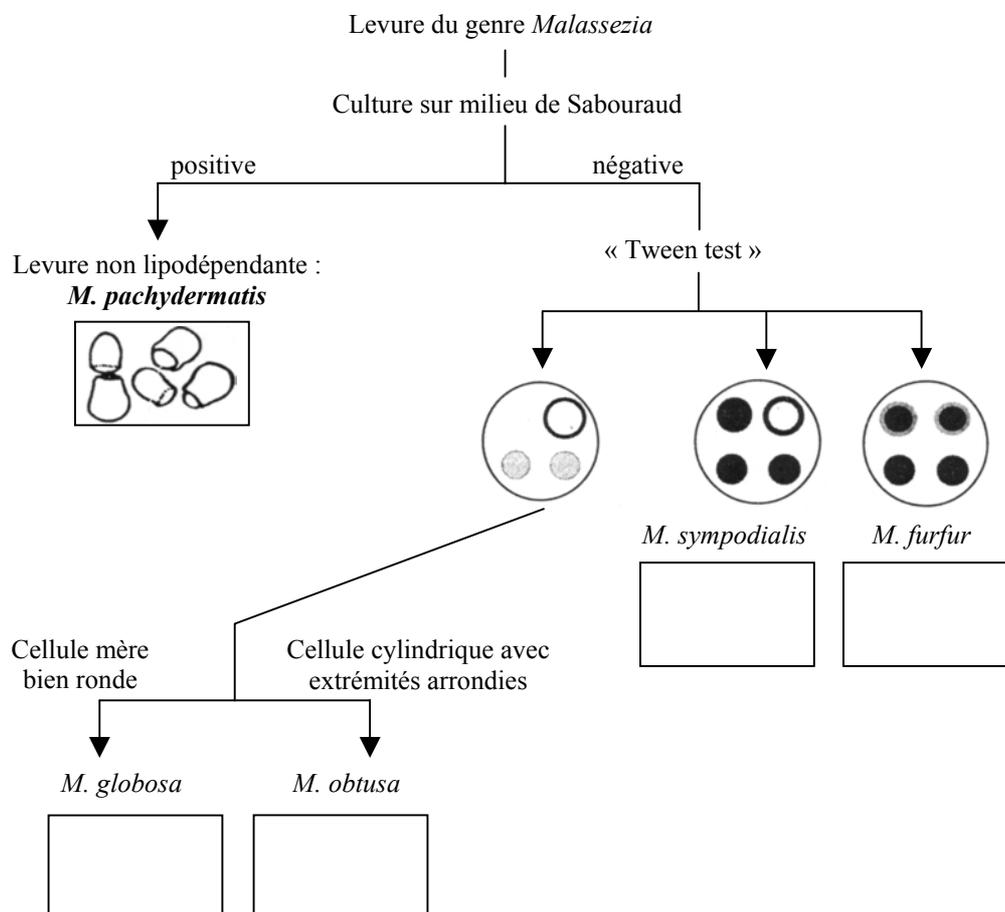
### d. Etude par RAPD et PCR

Par ces deux méthodes, RAPD [random amplification of polymorphic DNA] et PCR [polymerase chain reaction], une étude montre qu'à partir de seize souches identifiées morphologiquement comme *M. pachydermatis*, deux souches seraient en fait plus proches de *M. furfur* (4). La méthode PCR est reprise par certains pour différencier les différentes espèces du genre *Malassezia* en routine (140, 142).

## 2. Un protocole associe propriétés biochimique et développement sur milieu supplémenté en Tweens.

Ce protocole, présenté comme simple par ses auteurs, reprend des activités biochimiques et les tests de développement sur Tweens (135b). Nous n'avons retranscrit que la partie permettant de différencier les espèces du genre *Malassezia* connues à ce jour pour être hébergées par le chien ou le chat [figure 24].

**Figure 24** : Protocole de différenciation des différentes espèces de *Malassezia*.



- ✓ Quatre espèces, hormis *M. pachydermatis*, sont identifiées sur la peau de chiens et/ou de chats, il s'agit de *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. furfur* et *M. obtusa*.
- ✓ Elles ont toutes une double origine : l'homme et l'animal.
- ✓ Différentes méthodes de diagnose ont été envisagées : par la morphologie, par les propriétés biologiques ou par l'étude du génome.
- ✓ Celle basée sur la différence de croît en présence de divers Tweens est présentée comme la plus facile d'emploi.

Nous pouvons constater qu'un ensemencement fait sur milieu de Sabouraud simple ne permettra d'isoler que l'espèce *M. pachydermatis* puisque c'est la seule du genre *Malassezia* à être non lipodépendante. Nous utiliserons cette caractéristique lors de notre étude clinique.



#### IV. Prévalence de *Malassezia pachydermatis* dans les oreilles chez le chien et le chat.

Même si sa présence a pu être montrée dans l'oropharynx (250) ou en grand nombre dans les poumons d'un chien (114), *Malassezia pachydermatis* colonise, chez le chien et le chat, préférentiellement la peau, les muqueuses buccales, nasales, vaginales ou anales et le conduit auditif externe.

À la Trinité aux Antilles (245), une étude nous révèle que sur 100 chiens errants tout venant, 41 % d'entre eux sont porteurs de la levure au niveau des oreilles et 4 % au niveau de la peau. Afin d'obtenir une idée plus précise de la prévalence de *M. pachydermatis* dans le conduit auditif externe, auquel nous nous limiterons, nous aborderons successivement milieu sain et réputé malade.

##### A. Prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles du chien.

*Malassezia pachydermatis* est fréquemment rencontrée dans les oreilles malades ou saines mais dans des proportions parfois radicalement opposées selon les études. Nous pourrions donc nous intéresser à rechercher les causes de telles variations entre auteurs.

##### 1. Les études traitant de la prévalence de la levure sont nombreuses

Gustafson dans sa thèse est l'un des premiers à suspecter *Malassezia pachydermatis* comme étant très impliquée dans les otites externes du chien (143). Pourtant, à l'époque, ses résultats ne trouveront que peu d'échos puisque d'autres auteurs ne démontraient pas de différence de prévalence entre oreilles saines et malades (20, 103).

Depuis de nombreux travaux ont été effectués sur le sujet, nous avons répertorié la plupart d'entre eux dans le tableau 6 en fonction de l'état saintaire du conduit auditif externe. Pour chacun, nous avons mentionné le nombre de prélèvements [c'est-à-dire l'effectif total] et la prévalence obtenue.

Ces études révèlent chez le chien sain de grandes différences selon les auteurs puisque les résultats varient de 0 à 78 %, avec une moyenne qui devrait se situer entre 5 et 30 %. Lors d'otite, la prévalence varie de 3 à 81 % avec des chiffres qui se situent en général au-dessus de 50 %.

Lorsque cela était possible, nous avons repris ces résultats et nous avons effectué différentes comparaisons grâce à des tests du Khi-deux au seuil de 5 % :

- ❖  $p$  : comparaison de la présence de *Malassezia pachydermatis* entre les oreilles atteintes d'otite externe et les oreilles saines.
- ❖  $p_2$  : comparaison de la présence de *Malassezia pachydermatis* entre les otites externes aiguës et les otites externes chroniques.
- ❖  $p_3$  : comparaison de la présence de *Malassezia pachydermatis* dans les oreilles saines mais propres et dans les oreilles saines mais sales.
- ❖  $p_4$  : comparaison de la présence de *Malassezia pachydermatis* entre les otites externes suppurées et les otites externes érythémato-cérumineuses non parasitaires.

Tableau 6 : Effectif total [placés entre crochets] et prévalence de *M. pachydermatis* à partir de prélèvements d'oreilles saines ou atteintes d'otite externe chez le chien.

CONTINENT (Références)	Année	Prévalence de <i>M. pachydermatis</i>		Remarques
		Oreilles saines	Otites externes	
<b>AFRIQUE</b>				
El Bahay (89)	1973	[113]	4,4	
<b>AMERIQUE</b>				
Sharma (278)	1975	propres [279] 15,8 sales [84] 70,2	[155] 54,2	p<0,05 p <sub>3</sub> < 0,05
Blue (28)	1977		[389] 2,1	Incubation : 25° C, 14 jours
Raush (254)	1978	[10] 30	[50] 70	p = 0,017
Abou-Gabal (2)	1979	[10] 40	[25] 72	p = 0,077
Chengappa (59)	1983	[46] 35,7	[171] 71,9	p< 0,01
Smitka (284)	1984	[125] calque 20 culture 6	[188] calque 56,4 culture 37,4	Calque :p< 0,05 Culture :p< 0,05
Gentilini (115)	1991		[60] 11,7	Otites en cours de traitement
Langoni (188)	1991	[200] 67,5		
Candido (49)	1996	[80] 61,3		
<b>ASIE</b>				
Sinha (281)	1976	[200] 2	[50] 12	
Baba (13)	1981		[95] 8	Utilisation d'une gélose au sang
Uchida (295)	1990		[22] 43	
Huang (155)	1994	100 oreilles 70 50 chiens 78		la présentation statistique des résultats est essentielle
Lee (193)	1996	[32] 6	[76] 50	p< 0,05
Massuda (220)	2000		[120] 79	
<b>OCÉANIE</b>				
Smith (283)	1968		[22] 96	À partir d'otites chroniques
Grono (121)	1969	[124] 37,9	[716] 35,9	p = 0,67
Baxter (20)	1972		[87] 56	
Baxter (22)	1976	total [200] 51,5 propres [191] 49 sales [9] 100		p <sub>3</sub> < 0,05
Studdert (288)	1991		[49] 80	
<b>EUROPE</b>				
Gustafson (143)	1955	[156] 5	[345] 68	p< 0,05
Manktelow (208)	1960	total [110] 25 propres [67] 10 sales [43] 46		p <sub>3</sub> < 0,05
Fraser (103)	1961	[70] 36	[400] 44	p = 0,18 [culture à 22° C]
Fraser (104)	1961		[371] 51,5	
Fraser (107)	1965	[123] 43		
Fraser (108)	1970	[411] 69,2		
Virat (308)	1972	[73] 41	[153] 54	p = 0,064 [48 heures à 27° C]
Marshall (216)	1974		[133] 80	133 oreilles prélevées sur 103 chiens ou chats

Tableau 6 (suite)

(Références)	Année	Prévalence de <i>M. pachydermatis</i>		Remarques
		Oreilles saines	Otitis externes	
Pugh (251)	1974		[434] 27	À partir d'observation de calque
Krogh (182)	1975		[434] 48	
Dufait (80)	1978		[160] 92	
Dromigny (76)	1978		[54] 77,8	
Randjandiche (253)	1979	propres sales 57 71		
Gedek (113)	1979	[101] 16,8	[158] 56,9	p < 0,05
Nicklas (240)	1979		[446] 45,7	
Hajsig (146)	1980		[163] 49,7	163 écouvillons sur 97 chiens
Losson (201)	1980	[64] 22	aiguë [30] 56,5 chronique [30] 80	p < 0,05 p <sub>2</sub> =0,036
Mc Carthy (225)	1982	20,66	34,78	
Saez (264)	1982	[1] 0	[3] 66	trop faibles effectifs
Winiarczyk (319)	1982		[84] 62	
Kures (185)	1983		[89] 65	
Lorenzini (197)	1983	[66] 8,9	[44] 41	p < 0,05
Reynaud (255)	1983		[44] 82	
Sanguineti (268)	1983		[418] 65,6	À partir d'otites chroniques
Todesco (292)	1985		43	
Desoutter (74)	1986		[46] 13	température non précisée
Gonzalez (116)	1986		[96] 72	
Kubinski (184)	1988		[568] 24	
Marx (217)	1988		[1392] 35,6	
Jarrige (159)	1988		[86] 10,5	
Ascher (10)	1988		aiguë [112] 41 chronique [48] 48	p <sub>2</sub> = 0,42
Ladzianska (187)	1988	[155] 12,3		
Wallmann (309)	1988	[40] 7,5	aiguë [40] 31,3 chronique [40] 81,3	p < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05
Manzini (211)	1989		[267] 18	Utilisation d'une gélose au sang
Mc Kellar (226)	1990		[60] 63	Incubation : 28° C, 48 heures
Bornand (42)	1992	[100] 22	[1118] 56	p < 0,05
Hennon (153)	1992		[219] 35	
Kiss (168)	1993		[110] 50,9	
Kiss (169)	1993		[273] 75,8	
Guillot (132)	1994	[50] 42		
Kiss (170)	1994		[515] 76	
Bond (29)	1994	[20] 10 [20] 55		20 chiens vivant en maison 20 chiens (Beagles) de chenil
Muller (234)	1994		[413] 25	
Ksiasek (183)	1995		[454] 58,1	
Staroniewicz (286)	1995		[92] 39,1	
Blanco (26)	1996		[26] 3	
Breitwieser (46)	1997		[212] 72	

Tableau 6 (suite et fin)

(Références)	Année	Prévalence de <i>M. pachydermatis</i>		Remarques
		Oreilles saines	Otites externes	
Carlotti (51)	1997		Otites suppurées : [167] 22,8 Otites érythémato- cérumineuses non parasitaires : [444] 81,3	p <sub>4</sub> < 0,05
Bernardo (25)	1998		[113] 80,4	
Klein (175)	1999		44	

Le plus souvent, il existe bien une différence significative au seuil de 5 % dans la présence des *Malassezia* entre oreilles saines et oreilles atteintes d'otite externe. Quelques cas ne le démontrent pas, soit en raison de conditions de culture peu adaptées (103, 216) ou par le fait que l'auteur regroupe dans ces résultats finaux l'ensemble des levures présentes et non pas uniquement *M. pachydermatis* (121).

Selon les travaux (10, 201, 309) ayant répertorié otites externes chroniques et aiguës, nous ne pouvons conclure nettement à une différence statistique au seuil de 5 % puisque deux tendent à le démontrer et une autre pas. L'hypothèse selon laquelle, lors d'otite externe chronique, *M. pachydermatis* trouve un terrain de prédilection pour sa croissance semble controversée [présence de la levure de 96 à 65,6 % (268, 283) mais 3 % selon d'autres auteurs (26)].

Lorsque les oreilles sont saines, la différence est significative en fonction de leur état de propreté (22, 208, 278), les oreilles sales semblant plus porteuses de la levure au seuil de 5 %.

Lors d'otite externe, il existe une différence au seuil de 5 % selon que l'affection est suppurée ou cérumineuse (51). En effet, le cérumen constituant un milieu riche pour le développement de *M. pachydermatis*, il entretient la multiplication de la levure.

Globalement, les résultats selon les études sont variables, nous allons tenter d'aborder les causes qui pourraient entraîner ces différences.

## 2. Les facteurs pouvant faire varier les résultats sont nombreux.

Il semble que nous pouvons différencier deux grands types de facteurs de variation entre les études, ceux liés à l'épidémiologie de la présence de *M. pachydermatis* et ceux liés à la méthode de l'expérimentateur.

### 2.1. Des Facteurs qui sont épidémiologiques.

Beaucoup de travaux se sont intéressés à la recherche de données épidémiologiques sur les otites externes, pourtant ceux qui traitent plus particulièrement de la prévalence de *M. pachydermatis* sont plus rares.

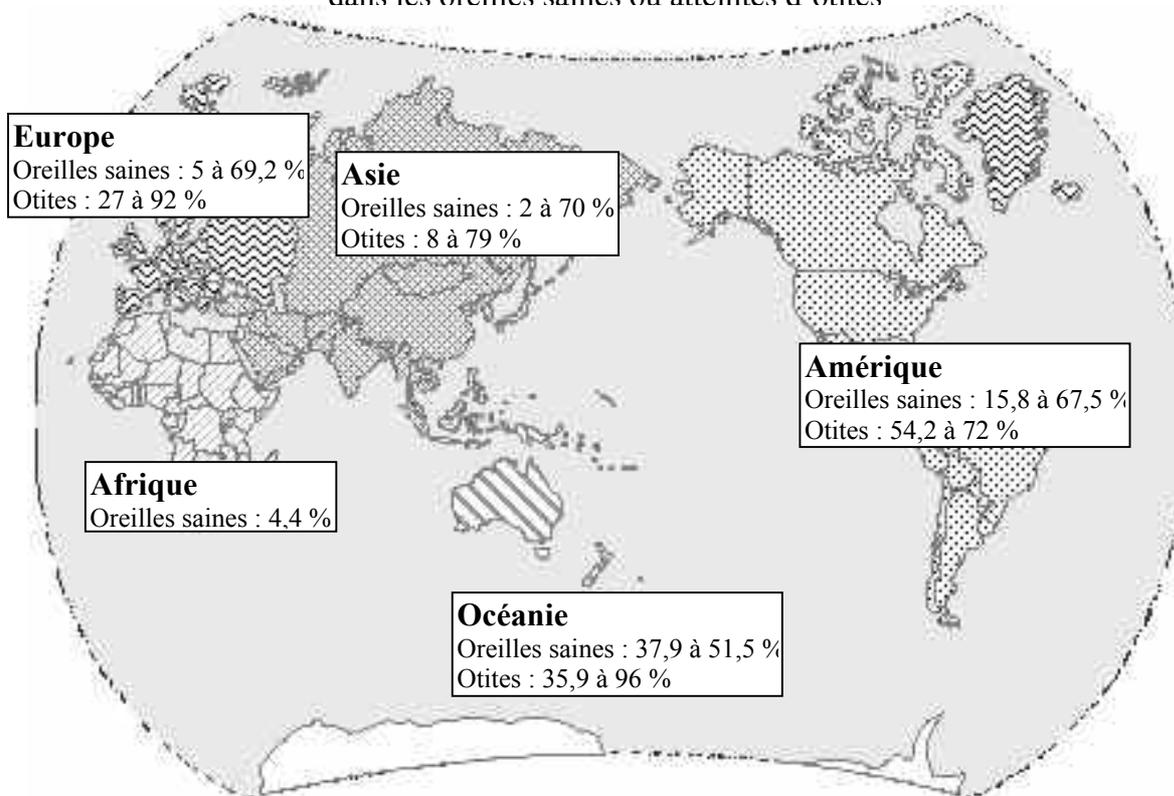
Néanmoins, trois types de facteurs reviennent dans quelques études ; il s'agit de la situation géographique, le rôle des saisons, le mode de vie de l'animal et la forme du port des oreilles.

#### ❖ Facteurs de variation liés au lieu de l'étude

Une répartition géographique disparate est présentée par Sinha (281) comme une explication possible au fait que les résultats de son étude soient inférieurs, ainsi les chiens en Inde seraient moins porteuses de *M. pachydermatis* que les chiens européens ou nord-américains.

Cette théorie est reprise par quelques auteurs (12, 13) à la vue des résultats de certaines études sur oreilles saines ou pathologiques du continent asiatique. Néanmoins, certains résultats de ces mêmes études sont contestables puisque le milieu de culture utilisé est une gélose au sang et que nous avons vu que la croissance de *M. pachydermatis* y est difficile (13). De plus, cette hypothèse pourrait être réfutée à la vue des prévalences obtenues sur des chiens sains soit dans les études de Huang (155) à Taïwan soit de Lee-JinHee (298) en Corée [tableau 6]. Nous avons repris les résultats du tableau 6 en excluant ceux pour lesquelles nous avons pu déceler une source de biais [milieu de culture ou température non adapté, otites en cours de traitement ou chroniques, saleté du conduit...] et nous les avons synthétisé sur la figure 25.

Figure 25 : Prévalence de *M. pachydermatis* selon le continent dans les oreilles saines ou atteintes d'otites



Le faible nombre d'études effectuées en Asie et en Afrique ne permet pas de tirer de conclusion quant à une différence selon le lieu. Celle-ci nous semble peu probable à la vue des valeurs européennes qui sont proches de celles obtenues à ce jour en Asie. De même, les prévalences décrites en Océanie sont similaires à celles du continent américain.

❖ Facteurs de variation liés à une éventuelle répartition temporelle.

La répartition temporelle pourrait avoir une influence sur les résultats. En effet, l'hypothèse de départ est que l'humidité dans le conduit auditif externe influence la multiplication des levures et des germes (120, 122) ; aussi nous pourrions nous demander si les saisons humides peuvent être la source d'une prolifération accrue de *M. pachydermatis*. À ce jour, ceci n'a jamais été étudié statistiquement. Si nous extrapolons de l'épidémiologie des otites externes, Sharma et Rhoades ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative au seuil de 5 % dans l'apparition d'otite externe chez le chien selon la saison (278).

- ❖ Facteurs de variation liés à des prédispositions individuelles : race, sexe, âge, port des oreilles, propreté du conduit auditif, mode de vie.

Les Caniches et les Beagles semblent des races sensibles aux otites externes à *Malassezia pachydermatis* (100).

Il ne semble pas (284) qu'il y ait de différence significative dans la portance de la levure et le sexe du chien.

Nous n'avons que peu de données sur la prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles et l'âge de l'animal. Nous pouvons reprendre les résultats obtenus par Lukman (202) et consignés dans le tableau 7 ci-dessous. Si nous appliquons un test du Khi-deux aux classes d'âge, il ne semble pas que nous puissions affirmer l'existence d'une différence statistique significative au seuil de 5 %.

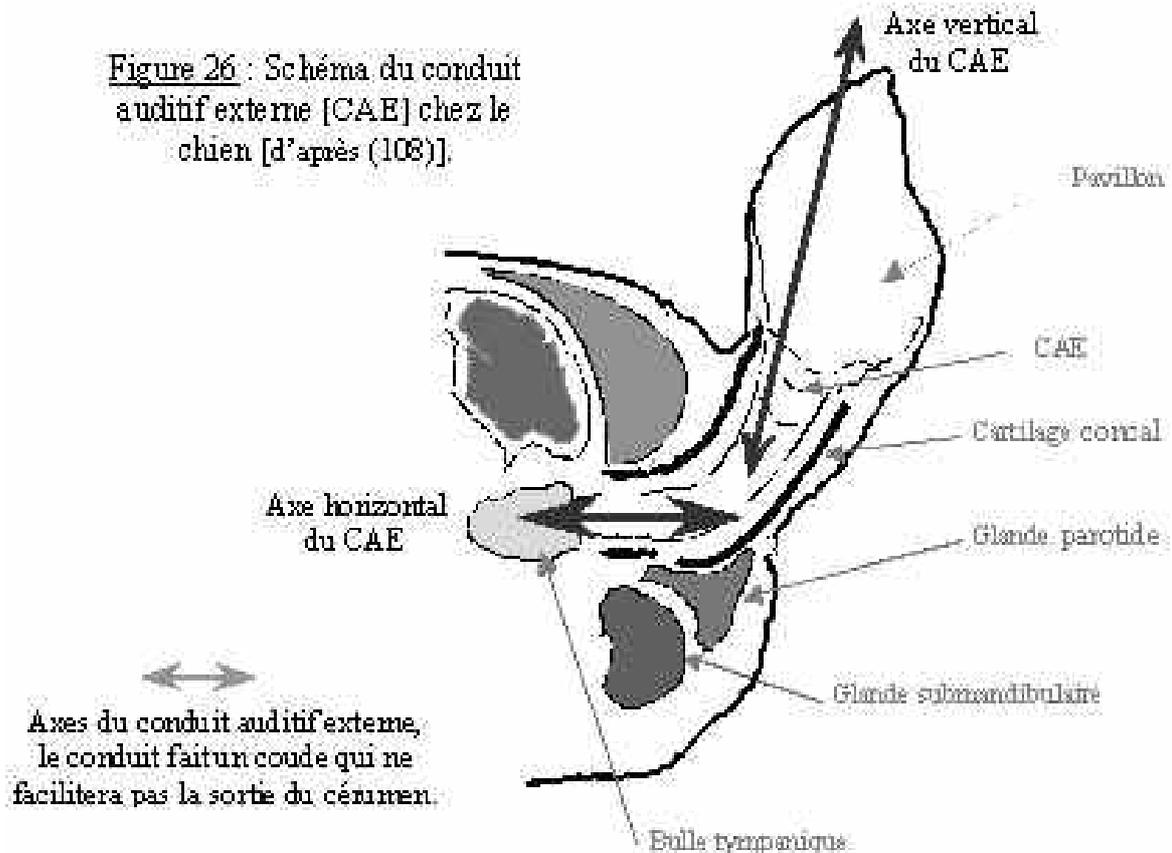
**Tableau 7** : Nombres et pourcentages d'animaux atteints d'otite et porteurs de *M. pachydermatis* en fonction de l'âge (202).

Classe d'âge	Nombre total d'animaux examinés	Nombre d'animaux porteurs
moins de un an	49	27 (55,1 %)
de 1 à 3 ans	70	52 (74,2 %)
de 4 à 10 ans	26	20 (76,9 %)
plus de 10 ans	5	4 (80 %)
TOTAL	150	103 (86,7 %)

La proportion de race de chien à oreilles tombantes dans un échantillon pourrait être important à connaître. En effet, d'après les études épidémiologiques d'apparition des otites externes canines, il a pu être démontré l'existence d'une différence significative entre oreilles tombantes et oreilles dressées (10, 108, 151, 185, 278). Lors d'un port tombant des oreilles ou d'une forte accumulation de poils à l'entrée du pavillon, l'évacuation des particules et l'aération du conduit seraient moins bonnes et cela provoquerait ainsi une hydratation accrue de l'épithélium et une macération possible (120, 122). Cette macération serait donc plus due à la variation de l'hygrométrie à l'intérieur du conduit auditif externe plutôt qu'à l'augmentation de la température qui semble indifférente au port de l'oreille (12). Cette prédisposition s'expliquait aussi par l'anatomie particulière du conduit auditif externe du chien. En effet, comme le montre la figure 26, ce conduit forme un coude qui ne facilite pas la sortie du cérumen. Aussi le matériel ou l'humidité s'évacueront encore plus difficilement si des poils ou le pavillon obturent la sortie, d'où l'apparition de conditions favorables à la multiplication de la levure.

Nous pourrions donc nous demander si statistiquement la prévalence de cette levure peut être influencée par le port de l'oreille. Sur 1370 chiens tout venant sans tenir compte de l'état sanitaire (220), il est possible de constater que la présence de *M. pachydermatis* est à peu près identique avec 55,2 % et 53,6 % respectivement pour les oreilles tombantes et dressées. D'après une autre étude, en ne considérant que les oreilles saines, la prévalence selon le port tombant ou dressé est alors respectivement de 62 % et 23 % (21). Les oreilles saines et tombantes semblent donc plus porteuses que les oreilles saines et dressées.

Néanmoins, certaines races, pourtant à oreilles dressées, favorisent la multiplication de la levure. Il s'agit par exemple du Berger allemand déjà prédisposé à l'apparition d'otites externes (233) ou du Sibérien Husky grand producteur d'acides gras dans le cérumen (220).



Dans le même sens, la propreté des oreilles semble jouer un rôle primordial. Certaines études (22, 208, 253, 278) nous montre en effet qu'un chien indemne d'otite externe mais possédant les oreilles sales, c'est-à-dire riches en cérumen, est potentiellement plus porteur au seuil de 1 % qu'un autre chien sain ayant les oreilles propres. Si nous reprenons les résultats de Sharma et Rhoades (278), nous pouvons même constater par un test du Khi-deux que, selon le risque pris, nous trouvons ou non une différence significative entre les oreilles atteintes d'otite externe ou les oreilles sales [tableau 6, p<sub>3</sub> compris entre 0,05 et 0,01].

Cette notion de propreté peut être reliée au mode de vie de l'animal, en effet, un chien sain de race Beagle vivant en chenil semble être plus porteur au seuil de 1 % qu'un chien sain de compagnie vivant en maison (29).

A l'inverse, l'absence de cérumen ne présagera pas de la quantité de levures (22), il est en effet possible de trouver *M. pachydermatis*, même en grand nombre, dans des oreilles parfaitement propres.

## 2.2. Des facteurs de variation liés à l'opérateur et à sa méthode.

En plus des facteurs épidémiologiques, il peut se glisser des biais liés aux manipulations ou aux différences de définitions utiles pour tirer des résultats statistiques.

- ❖ Facteurs de variation ayant pour origine la méthode de culture : milieu employé, température et durée d'incubation.

La plupart des études mettent en évidence les levures par mise en culture du prélèvement, néanmoins le milieu et la température ne conviennent pas toujours à un développement optimal. Ainsi, comme nous l'avons vu, les résultats des travaux de Baba (13) pourraient être,

par exemple, contestés. Puisque le milieu employé est en effet une gélose au sang et nous savons que ce milieu ne permet pas un développement optimal de notre levure.

De même, les faibles pourcentages fournis par l'étude de Blue (28) peuvent être expliqués par une durée d'incubation trop courte à 25° C, il faudrait attendre trois (2) voire quatre semaines (281) pour affirmer que la culture est négative.

❖ Facteur de variation lié à la définition du terme d'otite externe

La définition donnée au terme d'otite externe peut amener de grande variation dans les résultats. La plus souvent rencontrée est : « inflammation aiguë ou chronique du conduit auditif externe » (131, 308), néanmoins, chaque auteur a ses propres critères d'interprétation qui ne figurent que peu souvent dans les comptes-rendus. Ainsi, les symptômes cliniques étant relativement subjectifs, nous pouvons nous demander si certaines oreilles ne pouvaient pas être classées comme pathologiques alors que d'autres auteurs les auraient notées comme sales mais saines.

❖ Facteur de variation lié à la durée d'évolution de la maladie.

De même, les commémoratifs donnant la durée d'évolution de la pathologie peuvent être importants puisque *M. pachydermatis* pourrait être présente en plus grand nombre lors d'otites externes aiguës que lors d'otites externes chroniques (201, 309). Cette théorie peut pourtant être contestée si nous appliquons un test du Khi-deux aux résultats de Ascher (10) au risque de 5 % [tableau 6,  $p_2=0,42$ ].

❖ Facteur de variation lié au traitement des données statistiques.

Le traitement statistique des données peut être intéressant à étudier [tableau 6]. Tout d'abord, des effectifs trop faibles ne permettent pas l'exploitation des résultats et donc de tirer une conclusion [(264), tableau 6]. D'autre part, l'expérimentateur doit définir à l'avance s'il exprime ses résultats en fonction du nombre d'oreilles hébergeant la levure ou si le chien est considéré porteur si *M. pachydermatis* est retrouvée dans au moins une oreille. Selon le cas, cela induira des différences de résultats [(155), tableau 6].

Ainsi, nous n'avons que peu d'études traitant directement des facteurs favorisant la multiplication de *M. pachydermatis* que cela soit dans des oreilles saines ou malades ; les seules données utiles sont souvent extrapolées des études portant sur l'épidémiologie des otites.

## B. Prévalence de *Malassezia pachydermatis* dans les oreilles du chat.

### 1. Prévalence dans les oreilles de chats sains.

Le nombre d'études traitant de la prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles de chats sains ou atteints d'otite externe sont très peu nombreuses.

La prévalence de la levure dans les oreilles de chats sains se situerait entre 20 % et 63,6 % (22, 49, 201). Selon des résultats issus d'un effectif de 50 chats sains (8), le milieu de vie, intérieur ou extérieur, ne semble pas influencer la population de levure au sein du conduit auditif externe. À l'inverse, l'état de propreté semble avoir une influence importante. En effet, nous avons repris une étude de Baxter (22) réalisée à partir de 200 chats sains [tableau 8] et nous avons considéré comme très propres les oreilles qui ne contenaient absolument pas de cérumen et comme sales celles où le cérumen était très abondant.

Grâce à un test du Khi-deux, nous pouvons affirmer qu'il existe bien une différence significative au risque de 5 % entre conduit très propre et sale.

**Tableau 8** : Nombre d'oreilles de chats sains présentant ou non *M. pachydermatis* en fonction de la propreté du conduit auditif externe [CAE].  
D'après résultats expérimentaux de Baxter (22).

	CAE très propre	CAE sale	Total
Présence	19	29	48
Absence	140	12	152
Total	159	41	200

## 2. Prévalence dans les oreilles de chats atteints d'otite externe.

Lors d'otite externe, la prévalence de *M. pachydermatis* varie suivant les études : 13,6 % (49), 19 % (19), 27 % (175) et jusqu'à 63,4 % (170) des cas. Ces résultats sont donc proches de ceux obtenus par l'étude des oreilles saines.

Les otites externes chez le chat sont à diviser en deux catégories, les otites externes infectieuses plutôt rares et les otites parasitaires, beaucoup plus fréquentes.

Les otites parasitaires sont dues à des acariens du genre *Otodectes*. La pathologie qu'ils engendrent est nommée otacariase, otacariose ou encore gale d'oreille. Ces parasites provoquent une hypersécrétion de cérumen qui rend le milieu favorable à la multiplication de la levure (148). Cette observation semble, comme le montre les résultats du tableau 9, encore plus vérifiée chez le chat que chez le chien.

**Tableau 9** : Effectifs [notés entre crochets] et prévalence de *M. pachydermatis* lors d'une otite parasitaire due à des *Otodectes* chez le chien et le chat.

Auteurs et références	Chien	Chat
Fraser (104)	[29] 57 %	
Losson (201)	[19] 52,6 %	[11] 90,9 %

Même si l'effectif de chats atteints d'otacariase est relativement restreint, les résultats de Losson et Benakhla (201) semblent corrélés certaines observations cliniques (91, 148).

Nous pouvons nous demander s'il peut exister un lien entre otite externe et dermatite, toutes deux causées par *M. pachydermatis*. Bien que dans l'épidémiologie de l'otite externe, beaucoup d'auteurs incriminent un problème cutané (106, 160, 259, 274, 321), statistiquement, il ne semble pas que l'on puisse affirmer l'existence d'une relation entre une otite externe impliquant *Malassezia pachydermatis* et la présence de lésions de la peau dues à cette même levure (131).

- ✓ La prévalence moyenne de *M. pachydermatis* dans les oreilles saines se situe entre 5 et 30 % chez le chien et entre 20 et 64 % chez le chat.
- ✓ La prévalence moyenne de *M. pachydermatis* dans les oreilles atteintes d'otite externe se situe au dessus de 50 % chez le chien et entre 13 et 63 % des cas chez le chat.
- ✓ La prévalence chez le chien sain ne semble pas varier avec le sexe, l'âge ou la région géographique.
- ✓ La prévalence chez le chien sain varie avec le port des oreilles, la propreté du conduit auditif externe et le lieu de vie.
- ✓ La prévalence chez le chat sain varie en fonction de l'état de propreté du conduit auditif externe.
- ✓ La présence d'*Otodectes* rend le milieu favorable à la multiplication de la levure.

## V. Mise en évidence de *Malassezia pachydermatis*, son rôle dans les otites.

Après avoir étudié les modalités de sa mise en évidence, nous nous interrogerons sur le rôle de *M. pachydermatis* dans les otites externes des chiens et des chats.

### ✓ Mise en évidence de *Malassezia pachydermatis*

La mise en évidence de la levure dans le conduit auditif externe du chien et du chat passe par le prélèvement suivi soit de l'étalement et de la coloration, soit de la mise en culture.

#### 1. Le prélèvement.

La seule méthode décrite à ce jour est celle utilisant un écouvillon. Nous aurions pu nous interroger sur la possibilité d'une récolte d'un milieu de déterision, mais cette technique n'a encore jamais été décrite au niveau du conduit auditif externe pour la recherche de *M. pachydermatis*.

L'écouvillon stérile est préalablement humecté de sérum physiologique stérile pour récupérer le maximum de cérumen (131), il doit être introduit de façon à toucher le moins possible le pavillon de l'oreille.

#### 2. La coloration

*M. pachydermatis* s'observe facilement en microscopie optique au moyen d'un objectif à immersion x 100 après fixation dans un mélange alcool-éther ou la chaleur (165) et d'une coloration de la lame.

Il a été rapporté que plusieurs colorants pouvaient être employés pour cette mise en évidence, les levures seront colorées en bleu.

- Bleu de toluidine (125)
- Bleu lactique (131)
- Giemsa (168)
- Diff quick (178)
- Bleu de méthylène (54, 82, 168, 171, 254)
- Bleu de lactophénol (191, 255)
- Colorant de Romanovsky (61)
- Gram (48, 53, 82, 91, 178, 185, 283)
- Colorant de Wright (61, 165, 166, 178, 203, 254)

#### 3. La mise en culture

L'ensemencement peut se faire à partir d'un écouvillon. Nous avons déjà abordé le milieu de culture utilisable pour la croissance de *M. pachydermatis* lors de l'étude de la biologie de la levure.

#### 4. La couleur du cérumen oriente-t-elle le diagnostic ?

Sans prélèvement, la simple observation de la couleur du cérumen constitue pour certains auteurs une preuve de la présence de *M. pachydermatis*, nous pouvons nous demander si cette méthode est toujours fiable. Nous envisagerons successivement les cas du chien et du chat.

##### 4.1. Présence de *M. pachydermatis* et couleur du cérumen chez le chien.

Chez le chien, le conduit auditif externe mesure entre 5 et 10 cm de long suivant la race, sur 4 à 5 mm de large (108). Il est courbé en son milieu, la partie la plus externe étant pratiquement horizontale et la plus interne verticale. Deux types de glandes, sébacées et cérumineuses (11, 55, 120 321), sécrètent du cérumen dont le rôle est de protéger le conduit

tout en permettant l'humidification et la flexibilité de la membrane tympanique (108). Cette sécrétion peut être de plusieurs couleurs.

Pour certains auteurs, cette couleur de cérumen est caractéristique de la flore présente, ainsi un jaune pâle fait évoquée la présence de *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella spp*, *Proteus spp* ou *Escherichia coli* (11, 120, 178, 273). Un brun foncé à noirâtre (11, 107, 120, 273, 321) et un brun rougeâtre (101) sont eux plutôt caractéristiques de la présence de *M. pachydermatis*.

Dans le tableau 10, nous avons repris trois études s'attachant à la corrélation entre présence de la levure et couleur du cérumen. Nous pouvons remarquer qu'il est en fait impossible d'établir de relation directe entre couleur brune noirâtre et présence de la levure. En effet, un cérumen brun noir peut ne contenir la levure que dans 48 % des cas (283) et au contraire un cérumen jaune brun peut en héberger assez fréquemment (107).

**Tableau 10** : Pourcentages de présence de *Malassezia pachydermatis* en fonction de la couleur du cérumen chez le chien.

Références	Couleur du cérumen		
	Jaune pâle	Jaune brun	Brun noir
Fraser (107)	4 %	<b>24 %</b>	54 %
Fraser (104)	2 %	9 %	89 %
Smith (283)			<b>48 %</b>

Il paraît donc hasardeux de confirmer ou d'infirmer la présence de levures à partir de la couleur du cérumen chez le chien, nous devons préférer la cytologie systématique (259) ou la mise en culture.

#### 4.2. Présence de *M. pachydermatis* et couleur du cérumen chez le chat.

Chez le chat, les études sont beaucoup moins nombreuses. Il semble que, chez cette espèce, le cérumen caractéristique soit brun-noirâtre mais d'aspect identique à celui retrouvé lors d'otite externe parasitaire due à *Otodectes spp*. (91). Cette levure serait, comme nous l'avons déjà abordé, très souvent associée à cette affection par l'hypersécrétion de cérumen provoquée (148).

Ainsi, la simple observation de la couleur du cérumen, que cela soit chez le chat ou le chien, ne saurait dispenser de prélèvement pour la mise en évidence de *M. pachydermatis* dans le conduit auditif du chien et du chat.

#### ✓ *Malassezia pachydermatis* : un rôle très contesté dans l'étiologie des otites externes.

Nous pouvons définir la pathogénie comme l'étude du mécanisme causal d'une maladie et le pouvoir pathogène comme l'expression de cette pathogénie.

Très tôt, la question même du pouvoir pathogène de *M. pachydermatis* opposa les auteurs. Vue tantôt comme agent pathogène (143, 208), tantôt comme levure saprophyte sans effet néfaste sur son hôte (103, 106, 107), nous avons cherché à mieux comprendre les arguments de chacun. Pour cela, nous serons amenés à prendre en compte des travaux traitant des troubles du conduit auditif externe mais aussi ceux de la peau.

##### 1. Arguments invoqués reniant un quelconque pouvoir pathogène.

*Malassezia pachydermatis* a longtemps été considérée comme dénuée de pouvoir pathogène, et était qualifiée d'élément « saprophyte ».

Un agent saprophyte vit la plus grande partie du temps en harmonie avec son hôte. Pourtant, à la faveur de conditions particulières, le saprophyte peut se développer de façon importante, il profite alors de son hôte. Différents arguments étaient avancés pour nous convaincre qu'en aucun cas, *M. pachydermatis* ne pouvait devenir un agent parasite.

1.1. Lors d'une otite externe, la levure est rarement le seule agent isolé.

Lors d'otite externe, différents microorganismes ont été isolés en même temps que *M. pachydermatis* que cela soit chez le chien ou le chat. Nous avons consigné leurs fréquences d'isolement en association à la levure dans le tableau 11.

Tableau 11 : Pourcentages des cas où *Malassezia pachydermatis* est isolée seule ou associée lors d'otite externe chez le chien ou le chat [entre crochets figurent les effectifs en animaux pour chacune des études].

Références	[Effectifs]	<i>M. pachydermatis</i> seule	<i>M. pachydermatis</i> associée à :				
			un ou plusieurs germes	un ou plusieurs champignons	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Corynebacterium spp.</i>
(46)	[212]	22			32		
(170)	[515]	56,7			30,5		
(108)	[500]	9			22,4		
(299)	[80]	6,25	43,75 *				
(169)	[273]	44,6	31,2				
(168)	[110]	50,9			29,1		
(42)		34	22		12		
(288)	[49]	71	18,4	2	10		2
(159)	[86]	3,5	7		4,6	1,2	
(287)	[1043]	61	58,5				
(211)	[267]	15,7	2,25				
(185)	[89]				15		
(184)	[103]				41,7	1,9	
(59)	[160]	23,1	45	1,25	13,1		
			47,5 *				
(2)	[25]	64	8 *				
(113)	[82]	39			(x)	(x)	
(76)		35,2	18,5	18,5			
(74)	[46]	0	13				
(190)	[110]	39,6	7,7				
(278)	[155]	34,9			14,8		
(182)		19	43 *				
(19)	[87]	33	23				
(146)	[163]	24,5	25,2		14,1	8,6	

(x) : entités décrites comme les plus souvent rencontrées sans précisions chiffrées de l'auteur.

\* : pourcentages de cas d'otite où *M. pachydermatis* est associée à un microorganisme (champignon et / ou bactérie) sans précision de genre et d'espèce.

Chez le chien, il s'agit le plus souvent de Staphylocoques coagulase positive (59, 169, 188, 184, 211, 234), parfois de *Peudomonas* (169, 184), de Streptocoques (184), plus rarement de Corynébactéries (188), de Protéus (169, 184), de Microcoques (188) ou d'*Escherichia* (184). Lors de présence de *M pachydermatis*, ces bactéries sont associées à la levure jusque dans 100 % des cas (74).

Pour ce qui est des champignons, il s'agit des genres *Rhodotorula*, *Aspergillus*, *Lactobacillus* (59) ou *Candida* (188) et plus rarement *Microsporium* en liaison avec une teigne du corps (79, 112).

Chez le chat, les germes le plus souvent associés à notre levure lors d'une otite externe sont surtout des Staphylocoques coagulase positive et des Pasteurelles du genre *Mutocida* (175).

De plus, comme nous l'avons vu précédemment, des parasites du genre *Otodectes* peuvent être eux aussi la cause d'otites et la concomitance avec la levure est alors grande.

Aussi, il peut être supposé que la levure n'a pas de réel effet pathogène et qu'elle se développe au profit des lésions créées par les autres organismes en présence.

Elle ne se multiplierait donc que parce qu'une autre cause a permis l'apparition d'une pathologie et que le milieu est alors devenu favorable à sa prolifération. Étayant cette idée, il a été de plus démontré une relation entre quantité de cérumen et prolifération de notre levure (131, 253), le cérumen se comportant alors comme un milieu de culture (82, 91, 154).

Cette hypothèse est critiquable puisque qu'elle dénigre un rôle de la levure dans la pathologie sans démonstration sous prétexte de la simple présence d'organismes supposés plus virulents.

### 1.2. La prévalence n'est pas toujours différente entre oreilles saines et malades.

Dans les années 1960, certaines études concluaient à l'absence de différence significative entre présence de *M. pachydermatis* dans oreilles saines et atteintes d'otite externe, leurs auteurs en déduisirent que le rôle de la levure dans la pathogénie était mineur (103, 107, 106, 121).

### 1.3. La contagion n'a jamais été démontrée à ce jour.

Toujours afin de réfuter un rôle pathogène de la levure, certains auteurs s'interrogent sur l'absence de contagion d'une dermatite ou d'une otite externe à *Malassezia*. En effet, s'il existait une souche pathogène de *M. pachydermatis*, nous pourrions envisager qu'une transmission entre un animal fortement porteur et un animal sain puisse se faire. Ceci n'a jamais été décrit à ce jour. Seul un cas (230) se réfère à une apparition simultanée sur trois Beagles vivants en chenil et chez qui la multiplication a été rapide et répartie sur tout le corps ; néanmoins ceci pourrait plutôt être expliqué par l'intervention des mêmes facteurs favorisants agissant sur les trois chiens en même temps.

## 2. Arguments en faveur de l'existence d'un pouvoir pathogène

A contrario, d'autres auteurs vont soutenir l'hypothèse selon laquelle *Malassezia pachydermatis* possède bien un rôle pathogène dans certaines affections (81, 114, 280). Les différents arguments invoqués sont inverses mais proches de ceux consignés précédemment.

### 2.1. Sa présence en monoculture comme preuve de sa pathogénie

Le premier argument peut être tiré du même tableau 11. En effet, selon certains, si *M. pachydermatis* est parfois isolée comme seule entité en présence, c'est bien qu'elle possède un effet pathogène (113, 168, 210, 298, 299). Ceci serait de plus étayée par le fait

que, lors d'otite externe, les lésions inflammatoires sont plus sévères statistiquement lorsque la levure est présente (226).

Néanmoins cet argument n'est que l'hypothèse du rôle de *M. pachydermatis*. En effet, le prélèvement en vue de démontrer la présence des différents protagonistes ne rend compte que d'une flore à un instant donné ; il pourrait donc très bien être envisagé que dans les cas où *M. pachydermatis* est isolée seule, le ou les agents responsables de l'apparition des premières lésions aient disparu. Ainsi, la levure pourrait ne pas être l'instigatrice des lésions mais un élément qui, placé dans des conditions favorables, a su assurer la colonisation du milieu.

## 2.2. Une relation a été faite entre la présence et le nombre de levure observée.

La présence ou l'absence de *M. pachydermatis* ne peuvent donc à elles seules nous permettre de conclure. D'autres auteurs ont cherché à faire une relation entre la quantité de levures observées et l'effet pathogène qu'elles peuvent produire. Lors d'une otite externe, l'hypothèse est de ne suspecter l'implication de la levure qu'au delà de dix *M. pachydermatis* par champ en microscopie optique [en général au grossissement 40] (254, 262).

Il serait dangereux d'amalgamer présence en grand nombre de levure et pathologie ou peu de levure et absence de rôle de la levure dans la pathogénie. En effet, il est décrit notamment que certains chiens seraient sensibles ou même allergiques à *M. pachydermatis*, aussi une faible augmentation de population de levure suffit à engendrer chez eux une pathologie (37).

Dans tous les cas, une confrontation au tableau clinique est indispensable avant toute conclusion (58, 125, 138b, 276).

## 2.3. L'adhérence aux cellules de l'hôte n'est pas une démonstration du pouvoir pathogène.

Bond et ses collaborateurs ont pu montrer que *M. pachydermatis* a le pouvoir de se fixer à la surface de cellules épithéliales de la couche cornée (32, 39, 311).

Nous savons que l'adhérence aux cellules de l'hôte est une étape primordiale qui devance toujours la germination ou la colonisation pour les levures des autres espèces (294). Il peut donc être envisagé un effet pathogène via cette fixation. Cette hypothèse est encore plus vraisemblable si nous la rapprochons aux travaux faits sur *M. furfur* chez qui cette adhérence est plus forte chez les patients malades que chez les sains (24).

Les études traitant du phénomène se sont donc précisées. Nous savons désormais que la levure semble adhérer plus sur les cellules issues de chats que de chiens ou d'humains (41), ce félin étant pourtant moins affecté par la levure. Nous savons de plus que cette adhérence augmente lors de température cutanée élevée, qu'elle ne semble pas affecter par la présence de staphylocoques (138b) et qu'elle est maximale au bout de deux heures de contact in vitro.

Cependant des études récentes viennent nuancer cette hypothèse pathogénique. En effet, il n'existe pas de corrélation entre signe clinique et importance de l'adhésion des levures (32, 271), ainsi *M. pachydermatis* semble par exemple se fixer en plus grand nombre sur des cellules provenant de Bassets Hound sains que sur celles provenant de Bassets Hound envahis par la levure et séborrhéiques (32).

## 2.4. La réussite de l'épreuve thérapeutique comme preuve du pouvoir pathogène.

L'épreuve thérapeutique est utilisée en pratique lorsque le praticien ne peut pas avoir de certitude quant à l'étiologie d'une pathologie. Une hypothèse est donc faite, un traitement est prescrit, s'il amène des résultats, c'est que le diagnostic supposé était le bon. De ce fait, *M. pachydermatis* est parfois considérée comme la cause de troubles car un traitement antifongique seul amène une amélioration rapide.

Cette conclusion peut paraître hâtive. En effet, le traitement appliqué peut avoir par exemple un autre effet qu'antifongique stricte ; il a été démontré par exemple que le kétoconazole, souvent employé comme antifongique, a aussi des vertus anti-inflammatoires (215).

D'autre part, certains traitements agissent uniquement sur le milieu et permettent pourtant la disparition de la levure. Il a été montré par exemple qu'un traitement antibiotique seul peut avoir parfois un effet clinique sur des dermatites avec forte prolifération de *M. pachydermatis* (218). De même un traitement à base d'application d'une solution acide [pH = 4,9] sur des otites externes assècherait l'épithélium et suffirait à réduire la quantité de levures (119). Alors si en rétablissant uniquement les constantes du milieu nous arrivons à faire disparaître ces levures, que penser de leur pouvoir pathogène ?

✓ Malassezia pachydermatis : une pathogénie encore inconnue

La démonstration de l'existence d'un pouvoir pathogène n'a donc pas été démontrée par les arguments ci-avant. Le seul moyen d'affirmer que la levure possède bien ce pouvoir pathogène serait de le reproduire expérimentalement et surtout d'en connaître la pathogénie.

1. L'effet pathogène de la levure est reproductible expérimentalement.

Deux études seulement ont réussies à ce jour à reproduire expérimentalement l'effet pathogène des *Malassezia* (74, 210).

Dans la première, le but était de provoquer des otites externes dans des oreilles saines par instillation de *M. pachydermatis* sur différents lots de chiens. Même si l'auteur y est parfaitement parvenu, les faibles effectifs, la faible intensité et la courte durée des otites ne permettent pas de tirer de conclusions.

La deuxième étude ne s'intéresse pas à *M. pachydermatis* mais à deux autres espèces appartenant au même genre.

2. Le mode d'action pathogène est encore inconnu.

Différentes activités enzymatiques de *M. pachydermatis* ont été démontrées. Tout comme cela a pu être démontré chez *M. furfur* (72b), certaines semblent avoir un rôle dans la pathogénie notamment une action protéolytique (171, 241)

L'action peroxydasique par exemple pourrait avoir un rôle dans le développement du prurit (170) et les résidus de cette action pourraient être à l'origine de l'activité protéolytique (171).

De plus, il a pu être constaté la production d'une glycoprotéine extracellulaire par la levure qui aurait non seulement un rôle de protection vis à vis du milieu extérieur (45), mais de plus une importance dans la pathogénie.

✓ Cette levure pourrait-elle être l'agent d'une zoonose?

Suite à une dermatite ou d'une otite externe où *Malassezia pachydermatis* se développe en grand nombre, pouvons-nous envisager une contamination humaine ?

Chez l'homme sain, *M. pachydermatis* n'est que rarement retrouvée sur la peau (15, 235). Les cas où la levure a pu être isolée en grand nombre viennent d'infections nosocomiales touchant des nourrissons placés en soins intensifs (57, 62, 302, 315). Chang et ses collaborateurs ont démontré que l'infestation touchant leur maternité provenait d'une contamination d'animaux domestiques via le personnel soignant (57). L'atteinte humaine par *M. pachydermatis* est donc limitée aux individus fragilisés.

- ✓ Le prélèvement se fait au moyen d'un écouvillon stérile légèrement humecté préalablement de liquide physiologique lui aussi stérile.
- ✓ De nombreux colorants sont utilisables pour la mettre en évidence y compris les colorants rapides.
- ✓ Le rôle pathogène est très controversé, à chaque argument existe son contraire.

Certains arguments le réfutent :

Elle n'a pas d'effet pathogène	Argument(s) contraire(s)
La levure est isolée le plus souvent avec d'autres entités susceptibles d'être pathogène	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Parfois isolée seule</li> <li>• Cela ne démontre pas qu'elle n'intervient pas elle aussi</li> </ul>
Pas de différence de prévalence entre oreilles saines ou atteintes d'otite	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peu de cas, la différence est souvent démontrée.</li> </ul>
Pas de contagion démontrée	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'effet pathogène n'apparaît que lorsque des conditions particulières de milieu apparaissent.</li> </ul>

D'autres le revendiquent :

Elle a un effet pathogène	Argument(s) contraire(s)
La levure est parfois isolée seule	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'origine de la pathologie peut être inconnue ou avoir disparue.</li> </ul>
L'adhérence des levures aux cellules de l'hôte présage de l'effet pathogène	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'adhérence reste présente sur des individus ne développant pas de troubles.</li> </ul>
Isolée en grand nombre, elle est soupçonnée d'être l'agent pathogène	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lors de sensibilité ou d'allergie à la levure, peu d'entité pourrait suffire à créer des troubles.</li> </ul>
La réussite de l'épreuve thérapeutique est une preuve de son effet pathogène.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'agent responsable peut avoir déjà disparu.</li> <li>• Les molécules utilisées dans la cadre du traitement peuvent ne pas être qu'antifongiques.</li> </ul>

- ✓ La pathogénie est inconnue à ce jour.

**Tableau 12** : Les différents antiseptiques utilisables et les concentrations usitées.

Principe actif	Concentration utilisée	Références	Famille antiseptique
Hexetidine	1 mg/mL	138b	Composés hétéroclites
Hexamidine	45µg/mL	256	Amidines et bi-diguanides
Chlorexidine	1 %	105, 138b	
	2 %	34, 195	
	4 %	195	
Cetrimide	0,001 %	105	Ammonium quaternaire
Benzalkonium chloride	1 %	105	Suractifs cationiques
Iodine	1,9 g/L	49	Composés iodés
Polyvidone iodée		257	
Acide undecylenique	0,5 %	138b	Alcools, phénols aldéhydes et Acides
Polidocanol	0,1 %	223	
Thiomersal	0,0125 g/L	49	Organo-mercurial
Violet de gentiane	0,0078 g/L	49	Colorant
Sulfadiazine argentique	16 µg/mL	260, 272	Sulfamide
Soufre (sous forme de Sulfure ou disulfure de Sélénium)	30 mg/mL	40, 91, 92	Dérivés minéraux divers

---

La mention « <sup>ND</sup> » signifie « nom déposé », cette mention fera suite au nom des préparations commerciales que nous mentionneront dans la partie ci-après.

## VI. Les moyens de lutte contre *Malassezia pachydermatis* chez les chiens et les chats.

### A. Les molécules utilisables dans la lutte vis à vis de *M. pachydermatis*

Des traitements grâce à des produits issus de plantes ont été envisagés, avec l'emploi par exemple d'extrait de fruit d'*Archangelica officinalis* (312) ou de propolis (152), nous nous intéresserons ici plus particulièrement à trois différentes classes de molécules utilisées contre *M. pachydermatis* : des antiseptiques, des antifongiques et des antibiotiques ayant un pouvoir antifongique.

#### 1. Les antiseptiques.

Nous avons pu répertorier plus d'une dizaine de molécules antiseptiques dans les différentes études traitant directement ou indirectement des moyens de lutte contre *M. pachydermatis* [tableau 12].

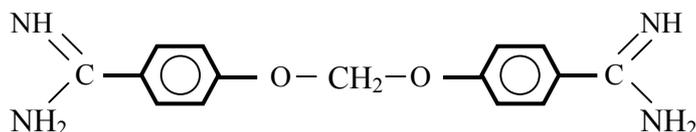
Les antiseptiques les plus rencontrées dans les préparations du commerce sont les acides. Certaines sont utilisées dans le cadre de l'entretien courant du conduit auditif externe, elles associent par exemple l'acide salicylique et l'acide lactique [Epi-Otic<sup>ND</sup>] (194) ou encore l'acide acétique et l'acide borique [Specicare Leoreille chien<sup>ND</sup>] (119). Nous pouvons aussi trouver d'autres acides dans des préparations visant le traitement des otites externes des carnivores domestiques : l'acide undécylénique [Otistop<sup>ND</sup>, Otosédal<sup>ND</sup> (306)] et l'acide propionique [Terpsacol<sup>ND</sup>].

Des traitements anciens consistaient déjà à acidifier le milieu lors d'otites externes, nous avons pu relever qu'il est possible d'utiliser l'acide salicylique (293), l'acide tannique (321), l'acide acétique (274, 321) ou simplement du vinaigre blanc (203). Néanmoins, nous pourrions nous demander si l'acidité n'agirait non pas directement sur *M. pachydermatis* mais plutôt indirectement par effet kératolytique sur le milieu (203, 293). La preuve peut être apportée par le fait que la levure survit très bien in vitro dans des milieux très acides (252).

Les autres antiseptiques conseillés par les industriels sont l'hexamidine [figure 27, Aurikan<sup>ND</sup>], l'hexetidine [Synotil<sup>ND</sup>] et la chlorexidine en association à l'acide acétique [Otolane<sup>ND</sup>].

Enfin, l'emploi local de sélénium disulfite ou de chloréxidine est parfois recommandé lors de troubles dermatologiques incriminant *M. pachydermatis* (31, 38, 92, 138b), néanmoins ils seront prescrits le plus souvent en association avec des antifongiques strictes.

Figure 27 : Formule de l'hexamidine (256).



Si nous prenons l'exemple de l'hexamidine dont la formule est indiquée ci-dessus [figure 27], sa concentration minimale inhibitrice fongistatique a pu être fixée à 45 µg/mL (256) et elle ne semble pas avoir d'effet fongicide (256). Il en est de même avec le polidocanol qui ne permet qu'une inhibition de la croissance de la levure (223).

L'action des antiseptiques est considérée comme variable. En effet, in vitro, l'iode, le thiomersal ou le violet de gentiane semble donner 100 % de bons résultats sur la levure. Par contre, *M. pachydermatis* s'est montrée l'élément le plus résistant face à la chlorexidine à 2 ou 4 % en comparaison à l'action sur *S. intermedius* et *P aeruginosa* (195).

## 2. Les antifongiques strictes

### 2.1. Diverses familles d'antifongiques sont utilisables.

#### a. De nombreuses molécules appartiennent à la famille des dérivés azolés.

Les dérivés azolés sont les antifongiques les plus connus. Ils sont constitués des dérivés de l'imidazole. Leur chef de file, le miconazole, est stable et de conservation ou manipulation facile (130), il possède un champ d'application à toutes les dermatomycoses quelle qu'en soit l'origine, à surinfection bactérienne ou non (26) [figure 28].

Au départ, seul le kétoconazole pouvait s'administrer par voie orale en raison de la très forte lipophilie des composés. Désormais de nouvelles

molécules font leur apparition comme le climbazole (272), l'isoconazole ou le voriconazole (141) ; les auteurs ont pour l'instant peu de recul, mais des tests in vivo (81) et in vitro (141) laissent envisager de bons résultats.

Pour chaque molécule, des travaux in vitro ont permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrice et fongicide [tableau 13]. Une concentration minimale inhibitrice [CMI], comme son nom l'indique, est la concentration minimale qui permet d'empêcher la multiplication de la levure. La concentration minimale fongicide [CMF], quant à elle, permet de détruire *M. pachydermatis*.

Leur mode d'action n'a pas été étudié à partir de l'effet sur *M. pachydermatis*, nous ne pouvons qu'extrapoler de données tirées d'une étude sur *Candida albicans* (158). Les dérivés azolés créent des perturbations dans la membrane des levures par inhibition de la synthèse d'un de ses constituants : l'ergostérol. Ceci amène une fuite notamment d'ions potassium, d'acides aminés et de sucres, rendant alors impossible la synthèse des macromolécules.

Certains dérivés azolés sont commercialisés en France sous différentes formes galéniques que cela soit en Médecine humaine ou Médecine vétérinaire, ces préparations sont mentionnées dans le tableau 14, ainsi que le nom déposé des produits à usage vétérinaire quand ils existent.

#### b. Quelques molécules de la famille des Allylamines.

D'autres antimycosiques sont actifs sur *M. pachydermatis*. Certaines allylamines ont été testées in vitro, il s'agit de la terbinafine et de l'amorolfine (297). Quelques topiques sont commercialisés en Médecine humaine (307) mais aucune autorisation n'existe à ce jour pour l'animal (306).

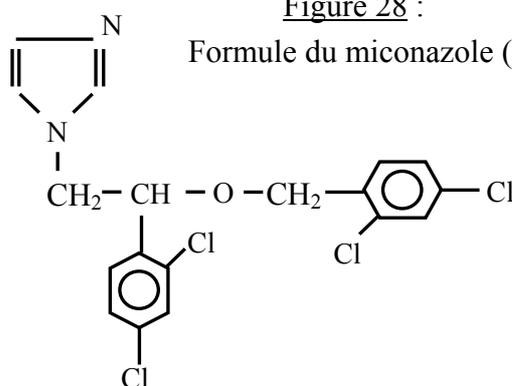


Tableau 13 : Concentrations des dérivés azolés utilisables selon la galénique employée à partir d'études in vivo et in vitro

Principe actif	In vivo, concentrations et formes galéniques employées	In vitro		Références d'études l'utilisant ou le conseillant
		CMI <sup>(1)</sup>	CMF <sup>(2)</sup>	
Miconazole	<u>Goutte auriculaire</u> : 1 % (260) <u>Shampooing</u> : 2 % (231)	1,25 µg/mL (296)	5 µg/mL (296)	10, 31, 40, 63, 64, 73, 74, 76, 82, 101, 113, 138b, 160, 198, 199, 204, 226, 260, 274, 288, 310, 321
Kétoconazole	<u>Per os</u> : 10 mg/kg/jour (231) <u>Shampooing</u> : 2 % (260) <u>Gel</u> : 1 % (150)	0,16 µg/mL (296)	0,31 µg/mL (296)	38, 81, 82, 101, 110, 123, 150, 138, 173, 198, 199, 204, 218, 219, 249, 260, 286, 304,
Clotrimazole	<u>Goutte auriculaire</u> : 1 % (260)	1,25 µg/mL (296)	2.5 µg/mL (296)	25, 86, 172, 185, 198, 199, 204, 260, 265, 286, 297, 321, 324
Enilconazole	<u>Per os</u> : 5 mg/kg/jour <u>Solution diluée</u> (50, 73)	1 µg/mL (81)		50, 73, 138b, 285
Itraconazole	<u>Per os</u> : 5 mg/kg/jour (260) <u>Solution diluée</u> : 0,2 %	3,2 µg/mL		138b, 141, 218, 219
Thiabendazole	<u>Solution</u> : 1mg/ml (260)			10, 138b, 218, 219
Econazole				25, 172, 198, 199, 324
Climbazole		1 µg/mL		272
Sertaconazole				247
Fluconazole	testé chez des nourrissons infectés par <i>M. pachydermatis</i>			62
Isoconazole	Pas de précision sur la dose employée			185

CMI <sup>(1)</sup> : Concentration minimale inhibitrice

CMF <sup>(2)</sup> : Concentration minimale fongicide

**Tableau 14** : Formes galéniques des dérivés azolés commercialisés en France avec les noms déposés des préparations vétérinaires quand elles existent [ « A.M.M. » : autorisation de mise sur le marché].

« H » note l'existence d'une forme commerciale en Médecine humaine en France (307).

« V » note l'existence d'une forme commerciale en Médecine vétérinaire en France (306).

Principe actif	Forme galénique commercialisée pour chacun						Nom déposé [ <sup>ND</sup> ]
	Produit auriculaire	Poudre	Solution diluée	Forme Per os	Shampooing, Gel moussant	Crème	
Miconazole	V	H	H		H		SUROLAN <sup>ND</sup>
Clotrimazole	V						OTOMAX <sup>ND</sup> , AURIZON <sup>ND</sup>
Thiabendazole	V			H			DEXORYL <sup>ND</sup>
Kétoconazole				H,V	H	H	KETOFUNGOL <sup>ND</sup>
Enilconazole			V				IMAVERAL <sup>ND</sup>
Parconazole				V			PARCOMYC <sup>ND</sup> , SANTAMIC <sup>ND</sup>
Itraconazole				H	H		Pas d'A.M.M. français en Médecine vétérinaire
Fluconazole				H	H		Pas d'A.M.M. français en Médecine vétérinaire
Fenticonazole						H	Pas d'A.M.M. français en Médecine vétérinaire
Imidazole							Pas d'A.M.M. français en Médecine vétérinaire
Isoconazole		H			H	H	Pas d'A.M.M. français en Médecine vétérinaire
Omoconazole		H	H			H	Pas d'A.M.M. français en Médecine vétérinaire
Oxiconazole		H	H			H	Pas d'A.M.M. français en Médecine vétérinaire
Sulconazole		H					Pas d'A.M.M. français en Médecine vétérinaire
Econazole		H	H		H	H	Pas d'A.M.M. français en Médecine vétérinaire
Bifonazole		H	H			H	Pas d'A.M.M. français en Médecine vétérinaire
Sertaconazole							A.M.M. en Médecine humaine sous forme d'ovules

## 2.2. In vivo, les dérivés azolés sont fréquemment utilisés.

Lors d'otite avec prolifération de *M. pachydermatis*, un traitement local suffit et il est très rare que le clinicien prescrive une prise orale de dérivés azolés. Cette administration per os est par contre unanimement conseillée lors de problèmes cutanés liés à la levure, parfois en association à des applications de topiques (73).

Grâce à l'emploi local de miconazole ou de kétoconazole, nous pouvons espérer une amélioration clinique de l'otite externe due à la levure en sept jours (64) et près de 74% de guérison dans les deux semaines (76) pour la première molécule et de 94,2 % de guérison après presque huit jours de traitement pour la deuxième (173).

Si une prise orale est tout de même décidée, les doses thérapeutiques systémiques des dérivés azolés sont comprises entre 5 et 20 mg par kg de poids vif et par jour suivant la molécule et selon les auteurs. Le kétoconazole par exemple peut être employé à la concentration de 10 mg/kg toutes les 24 heures (260), certains auteurs préfèrent prescrire 5 à 10 mg/kg soit toutes les 8 heures (92), soit toutes les 12 heures (231). Les concentrations thérapeutiques des autres dérivés azolés sont inscrites dans le tableau 13.

## 2.3. Effets indésirables et contre-indication à l'utilisation des dérivés azolés

Les effets indésirables et contre-indications sont inexistantes lors d'un usage local. À l'inverse, l'utilisation systémique de certains dérivés azolés comme le kétoconazole (73, 123, 231, 318) nécessite une surveillance des enzymes hépatiques du patient [phosphatase alcaline, alat, asat]. Un bilan antérieur au traitement peut être nécessaire notamment sur les animaux âgés (231). En cas d'augmentation, il serait nécessaire de ne conserver que le traitement local (123). Les complications hépatiques restent néanmoins rares (260) et les effets le plus souvent rencontrés sont en fait plutôt des désordres gastro-intestinaux (231). Ils se caractérisent par une anorexie, des nausées ou des vomissements et disparaissent rapidement après une pause de trois à quatre jours dans le traitement ou une diminution de la dose (260).

Le kétoconazole par voie générale est aussi connu pour la baisse de synthèse en cortisol et en testostérone (130), ainsi que pour ces risques tératogènes chez les animaux (231).

Lors de surdosages très importants, les dérivés azolés peuvent induire des troubles neurologiques centraux graves (318). La dose létale 50 par voie orale est supérieure à 500 mg/kg de poids vif, donc de 50 à 100 fois la dose thérapeutique (130).

## 3. Les antibiotiques ayant une action antifongique sur *M. pachydermatis*.

### 3.1. Différents antibiotiques peuvent être employés

Il existe des antibiotiques à particularités antifongiques, il s'agit surtout des macrolides polyènes : la nystatine, l'amphotéricine B et la piméricine. Ces molécules naturelles sont élaborées par des *Streptomyces*. Elles sont constituées d'un ose aminé et d'une lactone macrocyclique polyénique portant une fonction acide carboxylique. Elles appartiennent au tableau C de la pharmacopée [sauf l'amphotéricine B sous forme injectable] (130).

#### a. La nystatine

Découverte en 1950, la nystatine est une grosse molécule composée de 37 atomes et de poids moléculaire de 947 Da. Elle est synthétisée par *Streptomyces noursei* (130). Sensible à l'hydrolyse, à la lumière et à la chaleur, on observe une perte de 40 % d'efficacité après un mois de conservation (130).

Tout comme pour les dérivés azolés, il a pu être établi in vitro la concentration minimale inhibitrice [CMI] de chaque molécule [tableau 15].

**Tableau 15** : Antibiotiques ayant un effet sur *M. pachydermatis* et leur concentration minimale inhibitrice.

Principe actif	CMI	Références utilisant la molécule in vitro ou in vivo.
Nystatine	1,25 µg/mL à 6,5 µg/mL	2, 25, 74, 80, 90, 172, 185, 199, 204, 205, 258, 265, 318,
Amphotéricine B	500 µg/mL	62, 185, 199, 240, 265
Natamycine	2,5 µg/mL	296, 298, 300
Nanaomycine A		157
Mupirocine		238, 317

CMI : concentration minimale inhibitrice tirée des études in vitro.

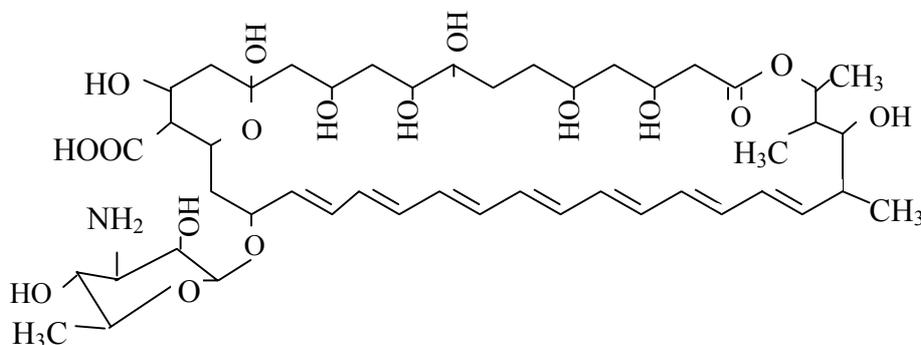
Pour la nystatine la CMI se situe à 1,25 µg/mL alors que sa CMF est de 5µg/mL (296).

#### b. L'amphotéricine B

Découverte en 1955, elle est synthétisée par *Streptomyces nodosus*. Sa formule est représentée figure 29 et sa CMI est notée dans le tableau 15 (130).

À ce jour, il n'existe pas de préparation commerciale contenant cette molécule en médecine vétérinaire en France. Néanmoins, certains praticiens font parfois utiliser par le propriétaire la Fungizone<sup>ND</sup> de Médecine humaine en application locale cutanée à 30 mg/mL (130).

**Figure 29** : Formule de l'amphotéricine B (130).



Cette molécule n'est pas commercialisée à ce jour dans le cadre du traitement des otites externes avec prolifération de *M. pachydermatis*.

#### c. La piméricine : un autre type d'antifongique.

La piméricine est nommée aussi natamycine (306, 298). Découverte en 1957, elle est synthétisée par *Streptomyces natalensis*. Quelques études se sont intéressées à son action in vitro (296, 300) et il a pu être ainsi calculé sa CMI et sa CMF sur *Malassezia spp.* respectivement de 2,5 et 5 µg/mL.

Elle a été commercialisée par le passé dans cadre du traitement d'otite externe chez le chien [Lactodermine<sup>ND</sup>] et est encore utilisée lors de mycoses diverses de la peau des bovins et des chevaux (130).

In vivo, lors d'otite externe, la pimaricine a été testée avec succès en solution à 1 % par application deux fois par jour pendant trois à dix jours selon la chronicité des cas (298).

d. La mupirocine : autre antibiotique à caractéristique anti-*Malassezia*.

La mupirocine est une molécule antibiotique nouvelle issue de la fermentation de *Pseudomonas fluorescens*. Elle donne de bons résultats sur *M. pachydermatis* que cela soit in vitro (238) ou in vivo (317) lors de dermatite féline, néanmoins aucune étude, à ce jour, ne semble l'utiliser dans le cadre d'otite externe chez les carnivores domestiques.

### 3.2. Mode d'action de ces antibiotiques.

Certains antibiotiques auront un effet uniquement fongistatique, il s'agit par exemple de la mupirocine (238). D'autres comme la nystatine auront un effet fongicide qui serait basé sur une inhibition de la synthèse d'ADN (318).

Compte tenu de leur structure moléculaire, les macrolides polyènes interagissent avec les stérols des membranes des champignons lévuriformes. S'associant de façon linéaire grâce à des interactions hydrophobes puissantes, ils provoquent l'altération physique de la membrane.

### 3.3. Des effets secondaires inexistant par voie locale

Le traitement local n'induit aucun effet secondaire néfaste connu que cela soit pour la nystatine ou la pimaricine.

## B. Efficacité et association des différentes molécules.

Les antibiotiques ayant une activité anti-fongique semblent bien participer à la lutte vis-à-vis de *M. pachydermatis*, néanmoins même si leur efficacité est bonne, in vitro, elle reste inférieure à celle des dérivés azolés (185).

Néanmoins, au sein des deux classes, des résistances in vitro vis-à-vis de certaines souches de la levure sont désormais connues.

#### 1. Des composés efficaces, peu de résistance décrite.

Globalement, les dérivés azolés ne rencontrent que peu de résistance [tableau 16]. Quelques cas ont été décrits in vitro à partir de souches sauvages de *M. pachydermatis* (25, 286, 324). Un auteur a même pu identifier une souche résistante à la fois au clotrimazole, à l'éconazole, au miconazole et au kétoconazole (25).

La pimaricine, elle aussi, semble donner d'excellents résultats (296), avec peu de cas de résistance (296, 298).

Pour ce qui est des antibiotiques à particularité antifongique, la nystatine possède une très bonne action avec pourtant quelques cas, là encore, de résistance in vitro (25, 296).

Ces cas de résistances ou de différence de sensibilité entre différentes souches pourraient provenir d'une variation dans la composition membranaire des levures, notamment des proportions en stérols (300).

**Tableau 16** : Efficacité in vitro de différentes molécules face à différentes souches de *M. pachydermatis*.

Molécules	Références	Efficacité
Ketoconazole	25, 286, 324	quasiment 100 %
Miconazole	286, 324	de 88,9 à 86,9 %
Econazole	324	89,1 %
Clotrimazole	286, 324	de 93,5 à 66,7 %
Amphotéricine B	25, 324	84,8 %
Nystatine	25, 324	63 à 68 %
Pénicilline	} 258	Aucune action sur <i>M. pachydermatis</i>
Chloramphénicol		
Tétracycline		
Streptomycine		
Néomysine		
Novomycine		
Kanamycine		
5-fluorocytosine	25, 185	

Bien entendu et comme nous pouvions le pressentir, certains antibiotiques sont totalement dépourvus d'effet antifongique à l'encontre de *M. pachydermatis* (258). Il en est de même pour un antifongique strict, la 5-fluorocytosine (25, 185).

## 2. L'association de différentes molécules améliore parfois l'efficacité in vivo

Dans des cas de dermatite à *Malassezia*, certains auteurs préconisent d'associer entre elles différentes molécules, ainsi il peut être proposé d'associer par exemple antiseptiques et dérivés azolés : chlorexidine et miconazole (31).

Lors d'otite, l'association de plusieurs antifongiques n'est pas rencontrée. Par contre, il est souvent conseillé d'utiliser un anti-inflammatoire pour améliorer les conditions de milieu. L'amélioration clinique rapide passe en effet par une diminution de l'inflammation (63, 260). Si la peau du pavillon ou le tégument du conduit auditif externe sont enflammés, cela apporte à *M. pachydermatis* les conditions idéales de chaleur, d'humidité et de nutriments pour son développement. Les corticoïdes sont donc fréquemment retrouvés dans la composition des formulations auriculaires vétérinaires ; par leur action, les conditions de milieu changent et deviennent moins favorables à la multiplication de la levure.

Il en est de même de la réalisation d'une détersion qui éliminera tout substrat facilitant la multiplication de la levure (257), d'où la nécessité pour le praticien de bien effectuer, face à une otite externe, un premier nettoyage consciencieux.

Certains auteurs se sont intéressés à l'éventualité d'une supplémentation alimentaire permettant une diminution de l'inflammation cutanée. En effet, certains compléments nutritionnels, grâce à leur proportion en acides gras  $\Omega 3$  et  $\Omega 6$ , réduiraient la libération de médiateurs pro-inflammatoires, amélioreraient l'état de la peau et pourrait donc gêner la prolifération des levures (48b). Néanmoins, ces molécules ne seront prescrites que dans des cas d'affections cutanées et ne semblent que peu indiquées contre les otites externes.

### C. Traitement prophylactique.

Certaines otites chroniques laissent envisager l'emploi d'un traitement prophylactique notamment pour les races de chien d'eau (209). En effet, il peut être conseillé l'application d'une solution auriculaire contenant un dérivé azolé avant et après la nage.

Les traitements de *M. pachydermatis* dans les oreilles passent donc à ce jour plutôt par l'emploi des dérivés azolés

De nouvelles molécules font néanmoins leur apparition, il s'agit de la cilofungine, déjà testée in vitro avec de bons résultats (150b), ou de la cyclopiroxolamine [Mycoster<sup>ND</sup> en Médecine humaine (307)]. Nous pouvons donc nous poser la question de leur intérêt futur en Otologie vétérinaire.

- ✓ Les molécules utilisables sont des antiseptiques, des antibiotiques à particularité antifongiques et des antifongiques strictes.
- ✓ Les plus couramment rencontrés dans les solutions auriculaires du commerce sont les dérivés de l'imidazole.
- ✓ L'efficacité de ces molécules est bonne avec peu de résistance connue face à la levure.
- ✓ Les molécules luttant contre *M. pachydermatis* ne sont pas néfastes si employées localement.
- ✓ L'association à un anti-inflammatoire est très conseillée de façon à obtenir des résultats cliniques plus rapides.
- ✓ Une prophylaxie peut être envisagée chez les chiens de race d'eau.

Nous connaissons désormais les caractéristiques de *Malassezia pachydermatis*. Globalement, c'est une levure facilement identifiable grâce à sa forme en bouteille, elle cultive sur un milieu usuel comme celui de Sabouraud sans ajout de corps gras car, contrairement aux autres espèces de *Malassezia*, elle est lipophile mais non lipodépendante.

Hébergée fréquemment chez les chiens et chats sains ou atteints d'otite externe, son pouvoir pathogène est très contesté. À l'heure actuelle, *Malassezia pachydermatis* est considérée comme un saprophyte qui peut éventuellement, dans des conditions particulières, avoir un effet néfaste sur son hôte.

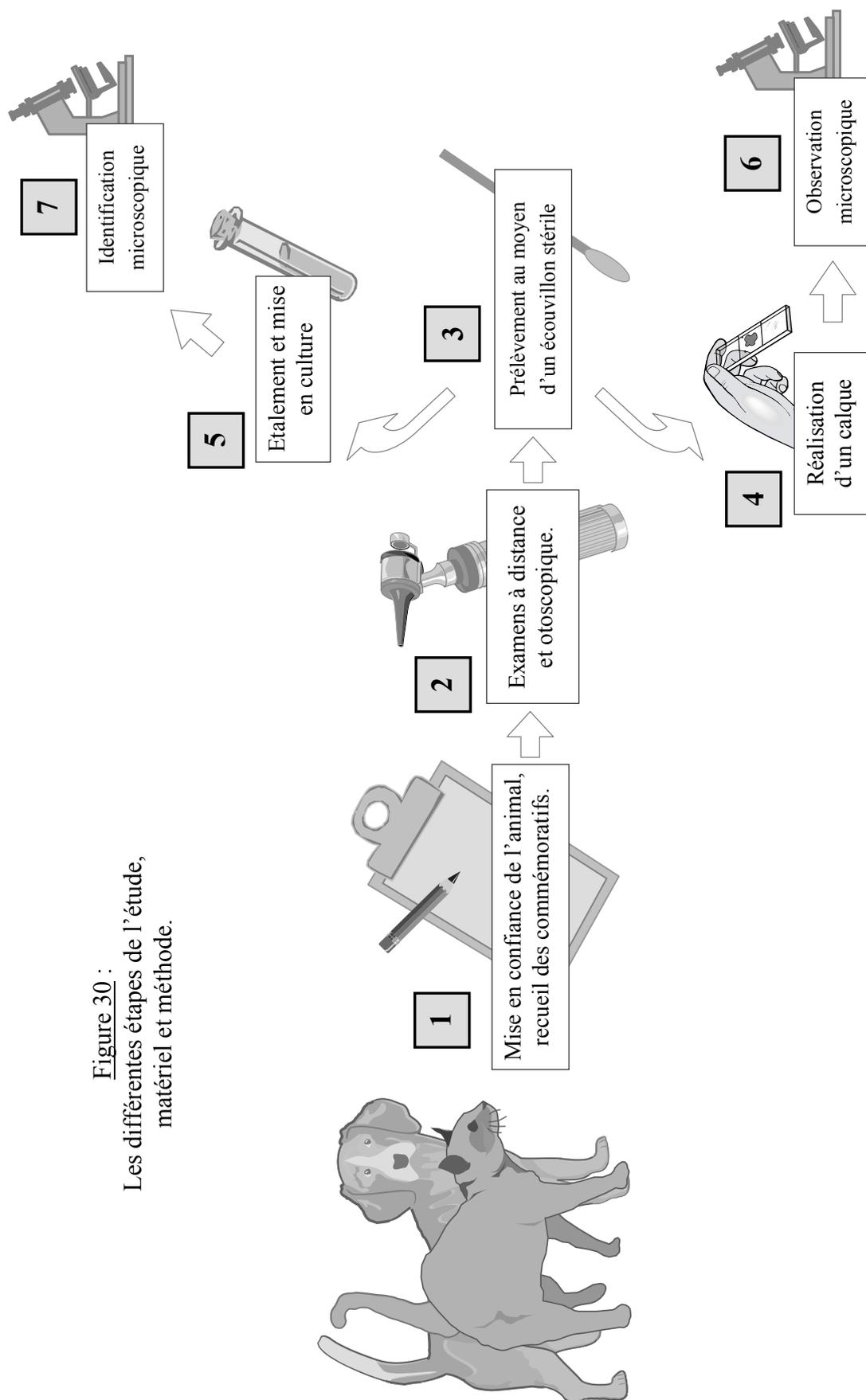
Lors de multiplication importante dans le conduit auditif externe, le traitement reste simple, les principaux principes actifs appartiennent à la famille des dérivés azolés mais le recours local à des anti-inflammatoires peut être très conseillé.

Nous nous proposons d'étudier expérimentalement la prévalence de cette levure dans le conduit auditif externe du chien et du chat.

## Deuxième Partie

### Étude statistique de la prévalence de *Malassezia pachydermatis* à partir d'un échantillon de 250 chiens et de 250 chats.

Le but de cette étude est d'approcher la prévalence de *Malassezia pachydermatis* dans les oreilles de chiens et de chats tout venant à la consultation de Parasitologie et de Dermatologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Il est tenu compte de l'espèce, de l'âge de l'animal, de son sexe, du port dressé ou tombant des oreilles, du fait de la présence d'un autre animal dans le foyer et de l'état sanitaire du conduit auditif.



**Figure 30 :**  
Les différentes étapes de l'étude, matériel et méthode.

## I. Matériel et Méthode

### A. Les animaux : 250 chiens et 250 chats tout venant.

#### 1. L'effectif.

L'échantillon est composé de 250 chiens et 250 chats présentés à la consultation de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, animaux tout venant, c'est-à-dire quel que soit le motif de consultation : vaccination d'animaux sains, animaux atteints d'otite externe, de parasitose ou de dermatose.

#### 2. La durée de l'étude.

Cette étude s'est déroulée de février à juin 1996, donc lors de la fin d'un hiver plutôt doux et d'un printemps tempéré habituel au sud-ouest de la France.

### B. La méthode : examen complet de l'oreille externe, prélèvement pour calque et mise en culture.

Après une explication rapide au propriétaire en vue de l'obtention de son consentement, il a été effectué le recueil des commémoratifs concernant l'animal et des critères dont nous avons tenu compte pour apprécier l'état sanitaire de l'oreille. Puis a été réalisé un prélèvement utilisé pour le calque et la culture.

Deux personnes travaillèrent au recueil des commémoratifs, à l'examen auriculaire et au prélèvement, mais une seule effectua la lecture des calques de façon à ne pas introduire de biais entre cliniciens.

#### 1. Recueil des commémoratifs : mode de vie, port des oreilles, traitements antérieurs.

Race, sexe et date de naissance ont été consignés sur notre fiche via une étiquette autocollante fournie par le service préposé à l'accueil des propriétaires. Nous y avons ajouté pour chaque animal un numéro d'identification propre à l'étude qui a été reporté sur les prélèvements ultérieurs. Nous avons précisé le mode de vie de l'animal, c'est-à-dire s'il vit avec des congénères ou des animaux d'autres espèces et si d'éventuels traitements locaux ou systémiques avaient été administrés dans les quinze jours précédents notre examen [Figure 31].

Pour le cas particulier du port des oreilles, des précisions ont été parfois apportées en marge. En effet, les chiens n'ont pas toujours les oreilles droites ou tombantes, nous chercherons à différencier plutôt les animaux ayant un conduit auditif où la ventilation est favorisée de ceux où elle ne l'est pas. Certains chiens possèdent par exemple des oreilles semi-érigées, mais présentent des masses importantes de poil à l'entrée ou dans le conduit auditif, aussi ils ont été classés dans la catégorie des chiens à oreilles tombantes.

Enfin, nous avons interrogé le propriétaire pour savoir si son animal présentait du prurit au niveau des oreilles. Nous avons quantifié ce dernier critère par « 0 » si l'animal se grattait ou se secouait la tête moins de trois fois par jour, par « 1 » si la fréquence du prurit était comprise entre 3 et 10 fois et par « 2 » si elle était supérieure à 10 fois.

2. L'examen clinique des oreilles a permis un classement selon un degré d'atteinte.

L'examen auriculaire s'est déroulé en deux temps : tout d'abord l'examen à distance, suivi d'un examen otoscopique.

### 2.1.Examen à distance.

Cet examen a permis la mise en confiance de l'animal et de son propriétaire. Nous nous sommes surtout intéressés au pourtour de l'oreille et au pavillon auriculaire. Nous y avons apprécié l'absence [notée « 0 »] ou la présence [notée « 1 »] de lésions de grattage et la présence éventuelle d'érythème sur sa face interne [nul = « 0 », érythème modéré = « 1 » et important = « 2 »].

Nous avons aussi testé le réflexe de satisfaction lors du massage de la base du conduit auditif, réflexe caractérisé soit par un animal qui appuie la tête contre la main du manipulateur, soit par les mouvements du membre postérieur ipsilatéral [réflexe absent = « 0 », présent = « 1 »].

### 2.2.Examen otoscopique.

Cet examen a été réalisé sur animaux vigiles, maintenus par leur propriétaire ou un étudiant. L'otoscope utilisé était un otoscope à pile, à lumière froide, avec cornet à baïonnette de marque *Heine*.

Après chaque observation, l'embout otoscopique a été nettoyé et désinfecté à l'alcool à 70°.

Nous avons retenu six critères :

- ❖ L'examen comprend tout d'abord une évaluation de la douleur éventuelle à l'entrée de l'otoscope [nulle = « 0 », modérée = « 1 », importante = « 2 »] dont nous avons souvent déjà eu un aperçu à la fin de l'examen à distance lors du toucher de la base du conduit auditif.
- ❖ Puis, nous avons constaté la présence [= 1] ou l'absence [= 0] d'un réflexe audito-podal stimulé par la présence de l'otoscope, c'est-à-dire les mouvements du membre postérieur ipsilatéral vers l'oreille. De plus, ce critère a été complété par l'appréciation d'une réaction de l'animal lors de l'introduction de l'écouvillon pour le prélèvement.
- ❖ L'observation du conduit auditif externe nous a permis de relever la présence éventuelle d'un érythème [nul = « 0 », modéré = « 1 », important = « 2 »].
- ❖ Nous avons aussi recherché la présence d'œdème [nul = « 0 », modéré = « 1 », important = « 2 »], de cérumen [nul = « 0 », modéré = « 1 », important = « 2 »] et à visualiser l'état du tympan [intact = « 0 », invisible = « 1 », rompu « 2 »].

Ainsi, pour chaque oreille, nous avons obtenu une note clinique comprise entre 0 et 17.

De plus, en bas de fiche, pouvaient être notées différentes observations comme la présence par exemple dans le conduit auditif externe d'*Otodectes* ou d'un corps étranger.

Figure 31 : Fiche remplie pour chaque animal.

	N° fiche :		
Race, sexe, âge			
RECUEIL DES COMMÉMORATIFS			
Mode de vie : isolé <input checked="" type="checkbox"/>	oui non :		
« Oreilles tombantes »	oui non		
Traitements antérieurs :			
locaux :		systémiques :	
		Or. Droite	Or. Gauche
Prurit	< 3 fois/ jour = 0 3 à 10 fois/jour =1 >10 fois /jour = 2		
EXAMEN A DISTANCE			
Lésions de grattage	Non = 0		
	Oui = 1		
Érythème	Nul = 0		
	Modéré = 1		
	Important = 2		
Satisfaction	Non = 0		
	Oui = 1		
EXAMEN OTOSCOPIQUE			
Douleur	Nulle = 0		
	Modérée = 1		
	Importante = 2		
Réflexe audito-podal	Absent = 0		
	Présent = 1		
Érythème	Nul = 0		
	Modéré = 1		
	Important = 2		
Œdème	Nul = 0		
	Modéré = 1		
	Important = 2		
Cérumen	Nul = 0		
	Modéré = 1		
	Important = 2		
Tympan	Intact = 0		
	Non visible = 1		
	Rompu = 2		
CALQUES ET CULTURES			
Calque (bleu de toluidine)	}	pas de colonie =0	
Culture (Sabouraud + chloramphénicol)		qq. colonies =1 Nombreuses colonies = 2	

Autre(s) Observation(s) :

3. Examen de laboratoire : un prélèvement permettra la réalisation d'un calque et d'une mise en culture.

Après le recueil des commémoratifs et l'examen clinique, un prélèvement a été effectué au moyen d'un écouvillon stérile légèrement humecté de liquide physiologique stérile. Afin d'éviter une contamination, cet écouvillon a été appliqué dans le conduit en veillant à ne pas toucher le pavillon. L'écouvillon a été tourné dans l'oreille dans le sens des aiguilles d'une montre jusqu'à ce qu'il ait fait deux rotations complètes.

Les examens de laboratoire sont présentés ci-après dans l'ordre chronologique d'une journée d'étude [Figure 32].

### 3.1. Coloration des lames au bleu de toluidine.

Un écouvillon stérile [*Coplan* lot VO8 01 96 exp 01/01] a été introduit dans chaque conduit auditif. Il a été tout de suite roulé trois fois sur une lame porte-objet dégraissée [*GESCHNITTEN-MATRAND*] elle-même identifiée au moyen d'un stylo graveur [numéro de la fiche clinique suivi de « G » pour oreille gauche et « D » pour oreille droite] ; elle a été aussitôt fixée et colorée. La même procédure d'identification a été utilisée pour identifier l'écouvillon qui a servi à ensemercer le milieu de culture en fin de matinée.

La fixation de la lame s'est faite par mise en contact puis flambage d'un mélange égal d'alcool et d'éther.

La coloration a été pratiquée immédiatement après prélèvement et a été réalisée au moyen de bleu de toluidine [Réactif RAL – 75008 Paris] préparé au laboratoire de Parasitologie et Dermatologie et conservé à l'abri de la lumière.

Le colorant a été laissé en contact avec la lame deux minutes, puis celle-ci a été rincée à l'éthanol à 70° avant d'être séchée par agitation dans l'air.

### 3.2. Ensemencement et milieux de culture.

À chaque fin de matinée, nous avons récupéré l'ensemble des écouvillons numérotés et protégés dans leur coque plastique afin d'effectuer la mise en culture des prélèvements.

Le milieu de culture choisi était une gélose Sabouraud-chloramphénicol sans supplémentation en acide gras. Elle était préparée en petite quantité en fonction de la demande, et placée dans des tubes de verre [*BIOMERIEUX FRANCE*]. Le temps que la gélose se fige, les tubes ont été inclinés à environ 45° de façon à augmenter la surface d'étalement. Ces tubes une fois rempli du milieu de culture refroidi et en attente d'utilisation ont été stockés à 4° C. Cette préparation des milieux de culture était réalisée une fois par semaine, le lundi, pendant la durée de l'étude [Figure 32].

Nous n'avons pas choisi de supplémenter le milieu en huile même si cela améliore, comme nous l'avons vu dans la première partie, le taux de croissance de la levure. En effet, puisque *M. pachydermatis* est la seule levure du genre non lipodépendante, nous n'avons pas à effectuer de diagnose d'espèce trop lourde à gérer pour 1000 prélèvements.

Nous avons ensemencé chaque tube de verre contenant notre gélose. Le tube était ensuite identifié au moyen d'un stylo approprié selon la même méthode utilisée pour les lames en précisant de plus la date de prélèvement. Enfin, ces milieux de culture tirés de la collecte d'une journée étaient placés dans des porte-tubes à l'étuve à 32° C pendant 3 à 5 jours.

### 3.3. Lecture des calques à l'immersion [objectif x 100].

La lecture des calques d'une matinée se faisait dans le cours de l'après-midi de la même journée, toujours par la même personne afin d'éviter l'introduction d'un éventuel biais dans la notation. Cette lecture s'est faite grâce à un objectif à immersion de grossissement 100.

L'absence de levure était notée « 0 », la présence de quelques levures, c'est-à-dire moins de cinq par champ, « 1 » et la présence de nombreuses levures « 2 ». Les calques ont été conservés une semaine pour permettre une relecture éventuelle.

### 3.4. Examen des cultures

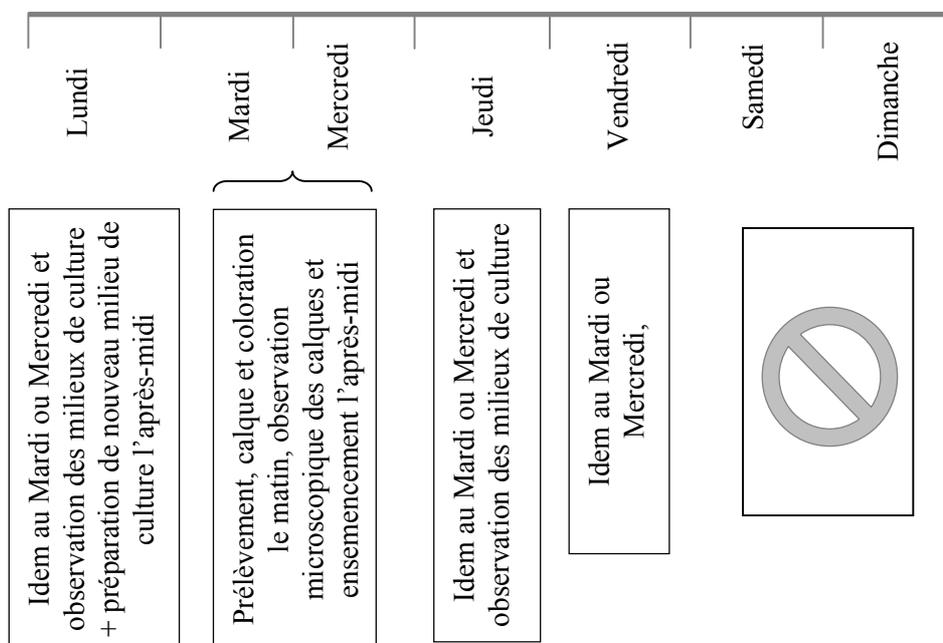
Les cultures étaient examinées systématiquement le lundi et le jeudi, soit après trois à cinq jours suivant le jour de prélèvement.

Là encore, l'absence de colonie a été notée « 0 », la présence de quelques colonies, moins de quinze, a été noté « 1 » et la présence de nombreuses colonies « 2 ». Le genre des éléments cultivés a été identifié par examen microscopique après étalement d'un fragment de colonie dans du bleu coton entre lame et lamelle.

Tous les tubes démontrant l'absence de colonie ont été conservés cinq jours au moins, sept jours au plus avant d'être déclarés négatifs à la culture. En cas de désaccord entre les deux méthodes, calque et culture, nous avons systématiquement, selon le cas, soit effectué une deuxième lecture du calque, soit prolongé la durée de culture jusqu'à sept jours.

En cas d'apparition de colonies différentes de celles de *M. pachydermatis*, une diagnose de genre et d'espèce a été nécessaire.

Figure 32 : Programme hebdomadaire d'étude



### C. Analyse des données.

Les données brutes ont été saisies sur le logiciel *File Maker Pro 2-1* [Claris]. L'analyse statistique a été effectuée grâce à des tests du Khi-deux avec  $p=0,05$ . L'unité expérimentale choisie n'a pas été l'individu mais l'oreille, chacune étant considérée, sur un même animal, indépendante de son opposé.

#### 1. Différentiation mâle et femelle.

Femelles et mâles ont donc été différenciés.

#### 2. Répartition en classe d'âge.

Trois classes d'âge ont été définies :

- ❖ moins de un an, il s'agit de « chiots » ou de « chatons »,
- ❖ entre un et huit ans, les animaux ont été nommés « adultes »,
- ❖ plus de huit ans pour les « seniors ».

Ces classes d'âge sont celles le plus souvent rencontrées dans les études statistiques sur les carnivores domestiques.

#### 3. Répartition selon l'atteinte clinique de l'oreille.

Rappelons que la note qui fait suite à l'examen clinique de chaque oreille peut varier de 0 à 17. L'atteinte de chaque oreille a été divisée en quatre classes qui correspondent à son état sanitaire :

- ❖ Oreille « saine » si la note de l'examen clinique est de 0 ou 1,
- ❖ Oreille « sale » si la note de l'examen clinique varie de 2 à 5,
- ❖ Oreille « atteinte d'otite externe » si la note de l'examen clinique varie de 6 à 9,
- ❖ Oreille « atteinte d'otite externe aiguë » si la note de l'examen clinique est supérieure ou égale à 10.

#### 4. Répartition selon une note moyenne de présence de *M. pachydermatis* au calque et après culture.

Par convention, la note rendant compte de la présence de la levure était la moyenne entre la note obtenue par le calque [de 0 à 2] et celle obtenue par la culture [de 0 à 2]. Trois classes ont alors été définies :

- ❖ « absence de *M. pachydermatis* » si le calque et la culture avaient une note égale à 0,
- ❖ « quelques *M. pachydermatis* » si la moyenne égalait 0,5 ou 1.
- ❖ « nombreuses *M. pachydermatis* » si la moyenne était égale à 1,5 ou 2.

## II. Résultats

Comme cela a déjà été indiqué, l'unité expérimentale retenue est l'oreille, aussi nous avons raisonné à partir de 500 oreilles de chien et 500 oreilles de chat.

Il s'agissait donc d'étudier l'échantillon prélevé et de se poser différentes questions apportant des réponses statistiques :

- ❖ Quelle est la prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles saines, dans les oreilles sales ou dans celles qui sont atteintes d'otite ?
- ❖ Sans tenir compte de l'état sanitaire des oreilles, y a-t-il une différence de prévalence de *M. pachydermatis* entre les chiens et les chats ?
- ❖ En fonction de l'état sanitaire des oreilles, y a-t-il une différence de prévalence entre les chiens et les chats ?
- ❖ Y a-t-il une corrélation directe entre atteinte clinique et prévalence de *Malassezia pachydermatis* ?
- ❖ Y a-t-il une différence liée au sexe dans la prévalence de la levure ?
- ❖ Y a-t-il une différence liée à l'âge dans la prévalence de *M. pachydermatis* ?
- ❖ Y a-t-il une différence liée au port de l'oreille dans la prévalence de *M. pachydermatis* ?
- ❖ Y a-t-il une colonisation accrue chez les animaux qui vivent avec d'autres carnivores domestiques ?
- ❖ Y a-t-il une corrélation entre la note obtenue par la culture et celle obtenue par le calque ?

### A. Caractéristiques des échantillons

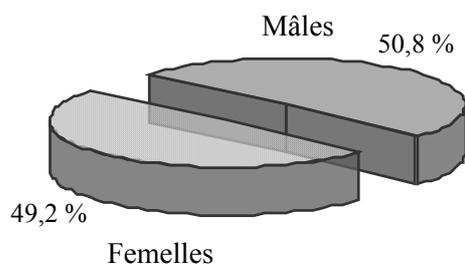
1. Un échantillon de 500 oreilles de chien [graphiques 1 à 6].

Sur les 500 prélèvements, 254 proviennent de chiens mâles, 246 de femelles [graphique 1]. Si nous nous intéressons aux classes d'âge, 168 proviennent de chiens qui ont moins de 1 an, 242 de chiens âgés de 1 à 8 ans et 90 de chiens ayant plus de 8 ans [graphique 2].

220 prélèvements d'oreille ont pour origine des chiens vivants avec un ou plusieurs congénères ou un ou plusieurs chats [graphique 3].

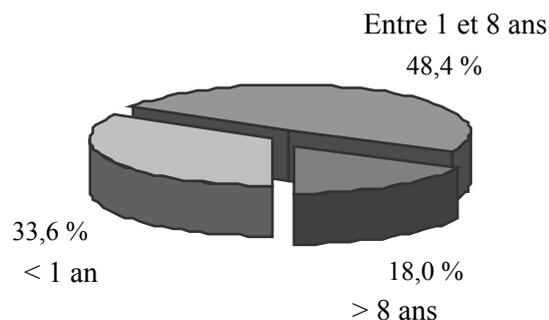
Graphique 1

Répartition des oreilles  
en fonction du sexe des chiens



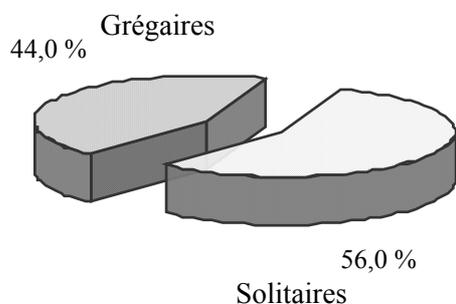
Graphique 2

Répartition des oreilles  
en fonction de l'âge des chiens

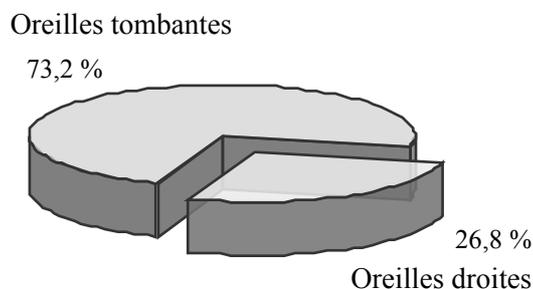


Graphique 3

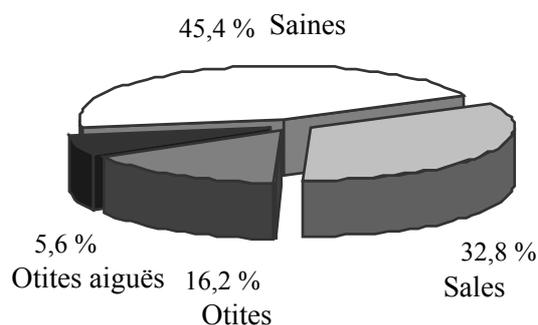
Répartition des oreilles en fonction du mode de vie des chiens

Graphique 4

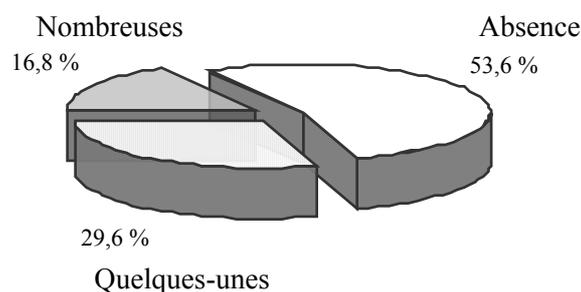
Répartition des oreilles de chien en fonction de leur port

Graphique 5

Répartition des oreilles de chien en fonction de leur état sanitaire

Graphique 6

Répartition des oreilles de chien en fonction de la présence de *M. pachydermatis*



Le port des oreilles est considéré comme tombant dans 184 cas, soit 73,2 % des prélèvements. [graphique 4]. Rappelons que sont aussi incluses dans le port tombant, les oreilles semi-érigées dont le conduit auditif externe est fortement obstrué par des poils.

Les examens à distance et otoscopique ont révélé que 227 oreilles étaient saines, 164 sales et 109 atteintes d'otite externe [graphique 5].

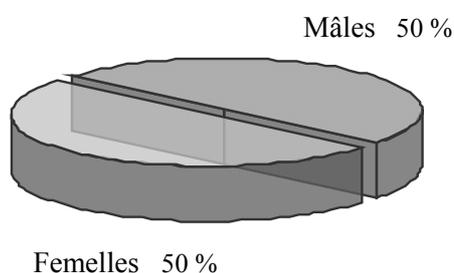
Nous avons pu mettre en évidence par calque et/ou culture des *Malassezia* dans 232 oreilles, 148 fois en faible nombre et 84 fois de façon plus importante [graphique 6]. Seize chiens étaient porteurs d'*Otodectes*.

## 2. Un échantillon de 500 oreilles de chat [graphiques 7 à 11].

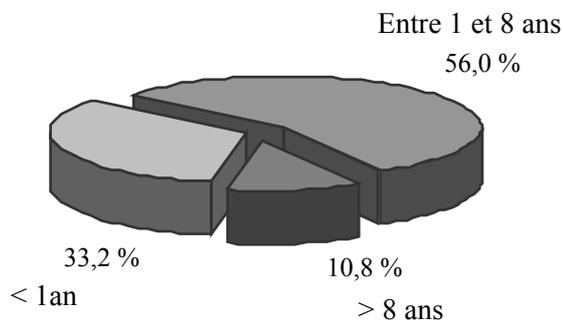
Sur les 500 prélèvements d'oreille de chat, la moitié provient de mâles [graphique 7]. 166 prélèvements proviennent de chats qui ont moins de 1 an, 280 de chats âgés de 1 à 8 ans et 54 de chats ayant plus de 8 ans [graphique 8]. 152 chats vivent avec un ou plusieurs autres carnivores domestiques [graphique 9].

Graphique 7

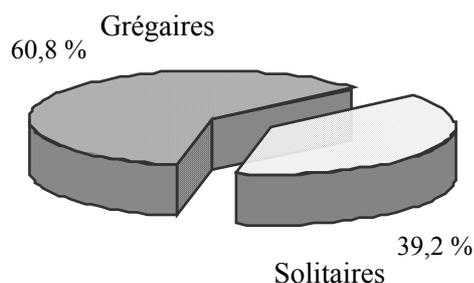
Répartition des oreilles  
en fonction du sexe des chats.

Graphique 8

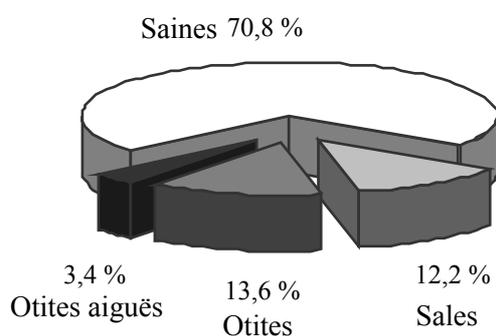
Répartition des oreilles  
en fonction de l'âge des chats

Graphique 9

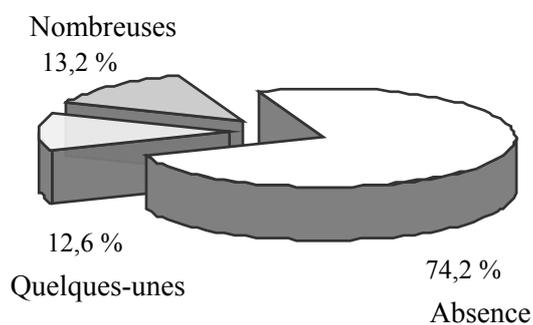
Répartition des oreilles en fonction  
du mode de vie des chats

Graphique 10

Répartition des oreilles de chat  
en fonction de leur état sanitaire

Graphique 11

Répartition des oreilles de chat en fonction  
de la présence de *M. pachydermatis*.



Les examens à distance et otoscopique ont montré que 85 oreilles étaient atteintes d'otite externe, soit 17 % des cas [graphique 10].

Sur les 500 prélèvements d'oreilles de chat, nous avons pu mettre en évidence par calque et/ou culture des *Malassezia* dans 129 oreilles, 63 fois en faible nombre et 66 fois de façon plus importante [graphique 11].

Remarquons que des parasites du genre *Otodectes* ont été identifiés dans 24 prélèvements.

B. Quelle est la prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles saines, dans les oreilles sales ou dans les oreilles atteintes d'otite externe ?

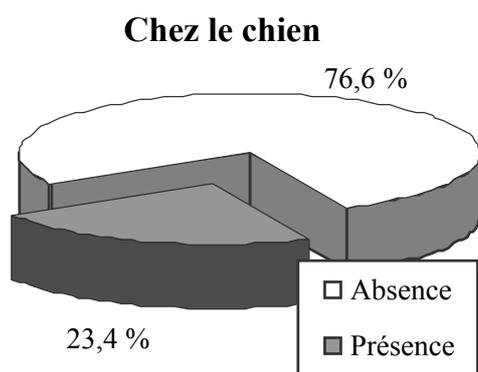
1. Prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles saines de chien et de chat.

Les oreilles saines sont celles dont la note clinique est inférieure ou égale à 1. *Malassezia pachydermatis* est hébergée par respectivement 23,4 % et 9,3 % des oreilles saines de chien ou de chat [graphiques 12 et 13]. Nous la retrouvons en grand nombre dans respectivement 2,7 % et 2 % des prélèvements chez le chien ou le chat sain [graphiques 14 et 15].

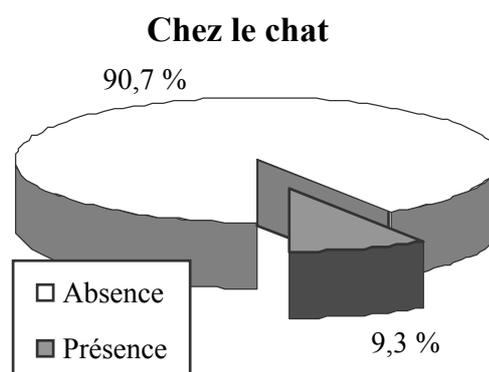
Tableau 17 : Prévalence de *Malassezia pachydermatis* selon l'espèce à partir d'oreilles saines : effectifs et pourcentages.

	Absence	Présence		Total
Oreilles saines de chien	174 (76,6 %)	53 (23,4 %)		227 (100 %)
Oreilles saines de chat	321 (90,7 %)	33 (9,3 %)		354 (100 %)
		Quelques	Nombreuses	
Oreilles saines de chien	174 (76,6 %)	47 (20,7 %)	6 (2,7 %)	227 (100 %)
Oreilles saines de chat	321 (90,7 %)	26 (7,3 %)	7 (2 %)	354 (100 %)

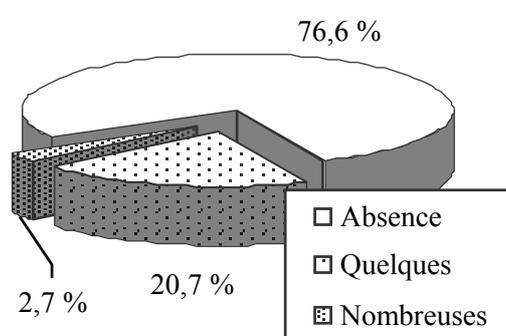
Graphiques 12 à 15 : Prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles saines.



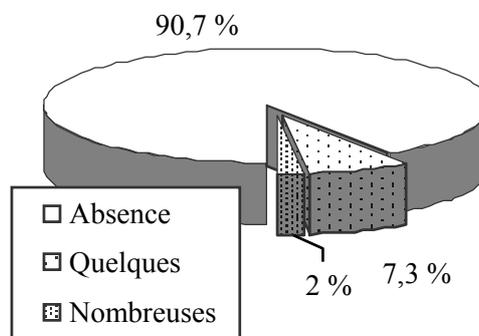
Graphique 12 : Prévalence de la levure dans les oreilles saines du chien sans tenir compte du nombre de levures observées ou isolées.



Graphique 13 : Prévalence de la levure dans les oreilles saines du chat sans tenir compte du nombre de levures observées ou isolées.



Graphique 14 : Prévalence de la levure dans les oreilles saines du chien en tenant compte du nombre de levures observées ou isolées.



Graphique 15 : Prévalence de la levure dans les oreilles saines du chat en tenant compte du nombre de levures observées ou isolées.

## 2. Prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles sales du chien et du chat.

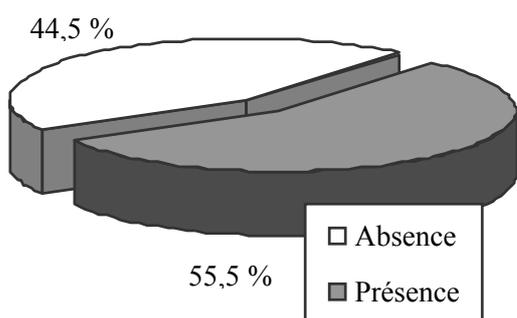
Les oreilles sales sont celles dont la note clinique est comprise entre 2 et 5 inclus. Elles hébergent la levure dans respectivement 55,5 % et 39,3 % des cas chez le chien et chez le chat. *Malassezia pachydermatis* est isolée en grand nombre dans 21,3 % des oreilles sales du chien et dans 23 % des oreilles sales du chat [tableau 18, graphiques 18 et 19].

**Tableau 18** : Prévalence de *Malassezia pachydermatis* selon l'espèce à partir d'oreilles sales : effectifs et pourcentages.

	Absence	Présence		Total
Oreilles sales de Chien	73 (44,5 %)	91 (55,5 %)		164 (100 %)
Oreilles sales de Chat	37 (60,7 %)	24 (39,3 %)		61 (100 %)
		Quelques	Nombreuses	
Oreilles sales de Chien	73 (44,5 %)	56 (34,2 %)	35 (21,3 %)	164 (100 %)
Oreilles sales de Chat	37 (60,7 %)	10 (16,3 %)	14 (23 %)	61 (100 %)

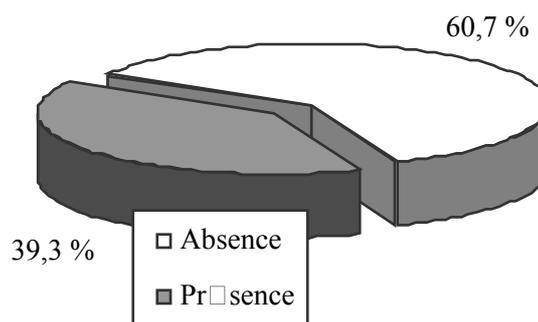
**Graphiques 16 à 19** : Prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles sales.

### Chez le chien

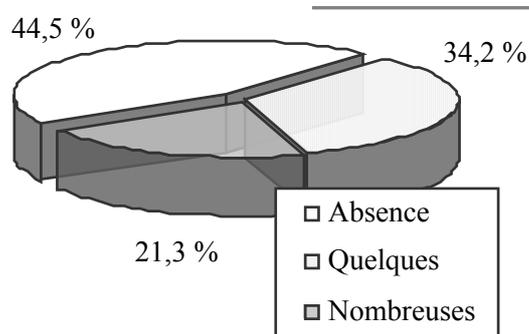


**Graphique 16** : Prévalence de la levure dans les oreilles sales du chien sans tenir compte du nombre de levures observées ou isolées.

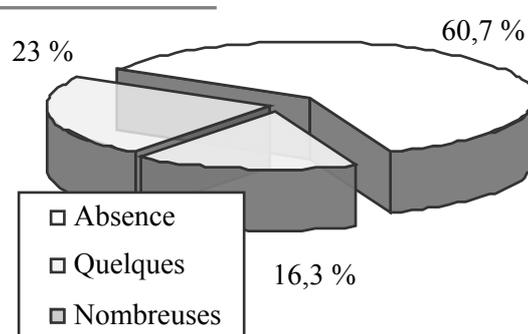
### Chez le chat



**Graphique 17** : Prévalence de la levure dans les oreilles sales du chat sans tenir compte du nombre de levures observées ou isolées.



**Graphique 18** : Prévalence de la levure dans les oreilles sales du chien en tenant compte du nombre de levures observées ou isolées.



**Graphique 19** : Prévalence de la levure dans les oreilles sales du chat en tenant compte du nombre de levures observées ou isolées.

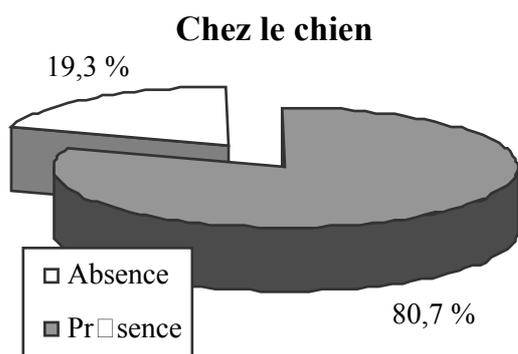
### 3. Prévalence de *M. pachydermatis* dans les otites externes du chien et du chat.

Nous considérerons ici l'ensemble des oreilles atteintes d'une otite externe. Leur note clinique est donc supérieure ou égale à 6. La prévalence de *M. pachydermatis* y est de 80,7 % chez le chien et de 84,7 % chez le chat. Les levures sont retrouvées en grand nombre dans respectivement 38,5 % et 52,9 % des otites externes de chien ou de chat [tableau 19, graphiques 22 et 23].

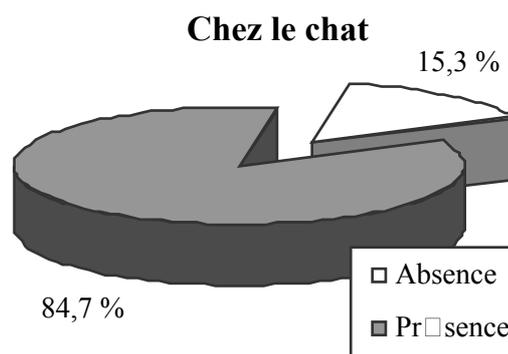
**Tableau 19** : Prévalence de *Malassezia pachydermatis* selon l'espèce à partir d'oreilles atteintes d'otite externe: effectifs et pourcentages.

	Absence	Présence		Total
Otites externes de chien	21 (19,3 %)	88 (80,7 %)		109 (100 %)
Otites externes de chat	13 (15,3 %)	72 (84,7 %)		85 (100 %)
		Quelques	Nombreuses	
Otites externes de chien	21 (19,3 %)	46 (42,2 %)	42 (38,5 %)	109 (100 %)
Otites externes de chat	13 (15,3 %)	27 (31,8 %)	45 (52,9 %)	85 (100 %)

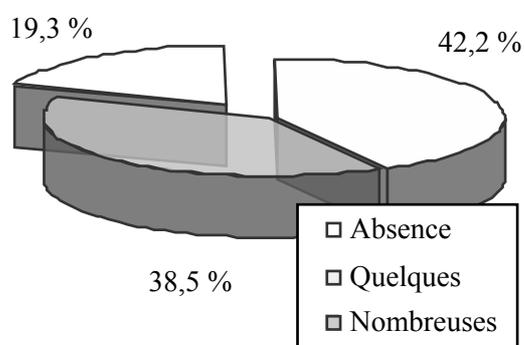
**Graphiques 20 à 23** : Prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles atteintes d'une otite externe.



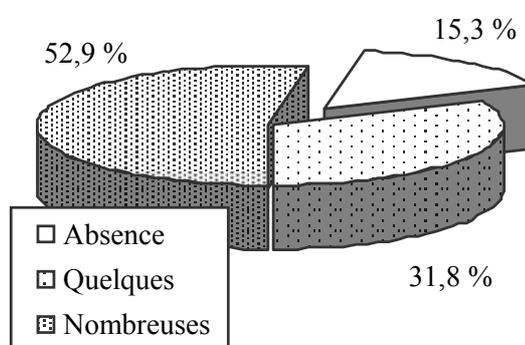
**Graphique 20** : Lors d'otite externe, prévalence de la levure chez le chien sans tenir compte de la quantité de levures.



**Graphique 21** : Lors d'otite externe, prévalence de la levure chez le chat sans tenir compte de la quantité de levures.



**Graphique 22** : Lors d'otite externe, prévalence de la levure chez le chien en tenant compte de la quantité de levures.



**Graphique 23** : Lors d'otite externe, prévalence de la levure chez le chat en tenant compte de la quantité de levure.

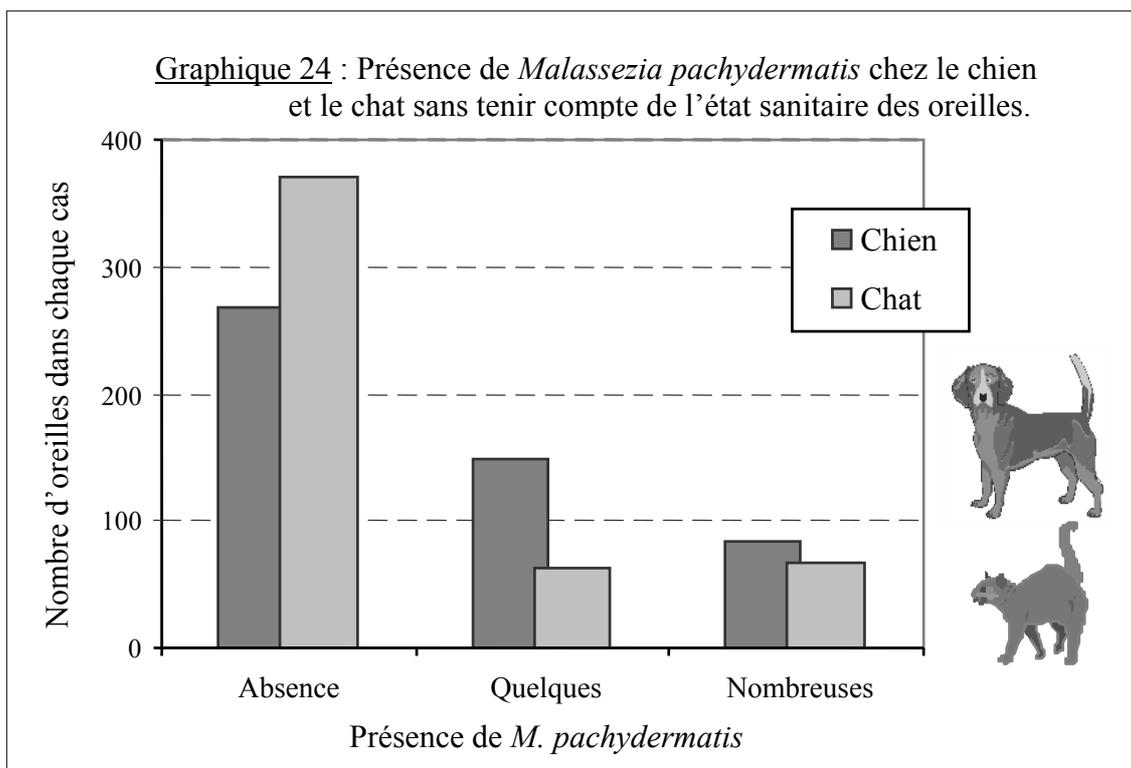
C. Sans tenir compte de l'état sanitaire des oreilles, y a-t-il une différence de prévalence de *M. pachydermatis* entre les chiens et les chats ?

Nous pouvons nous demander si le chien peut être considéré comme plus porteur que le chat. Dans un premier temps, nous ne tiendrons pas compte de l'état sanitaire des oreilles.

À partir de notre échantillon, *Malassezia pachydermatis* a pu être isolé de 232 oreilles de chiens et 129 oreilles de chats soit dans respectivement 46,4 % et 25,8 % des cas [tableau 20 et graphique 24]. La levure est isolée en grand nombre dans 16,8 % des oreilles chez le chien et 13,2 % chez le chat, en quantité moindre dans 29,6 % des cas chez le chien et 12,6 % chez le chat.

**Tableau 20** : Présence de *Malassezia pachydermatis* selon l'espèce sans tenir compte de l'état sanitaire des oreilles.  
[résultats exprimés en nombre et pourcentages d'oreilles]

	Absence	Présence		Total
Oreilles de chien	268 (53,6 %)	232 (46,4 %)		500 (100 %)
Oreilles de chat	371 (74,2 %)	129 (25,8 %)		500 (100 %)
		Quelques-unes	Nombreuses	
Oreilles de chien	268 (53,6 %)	148 (29,6 %)	84 (16,8 %)	500 (100 %)
Oreilles de chat	371 (74,2 %)	63 (12,6 %)	66 (13,2 %)	500 (100 %)



Par une comparaison des deux populations grâce à un test du Khi-deux selon chaque classe et sans tenir compte de l'état sanitaire des oreilles, nous pouvons affirmer qu'il existe bien une différence significative au seuil de 5 % entre les deux espèces, le chien semble héberger plus de *Malassezia pachydermatis* que le chat.

Puisque nous ne tenons pas compte de l'état sanitaire des oreilles, cette différence statistique pourrait être contestée. En effet, le chien semble plus atteint d'otite externe que le chat si nous ne considérons comme oreilles saines que celles dont la note clinique est égale à 0 ou 1 [test du Khi-deux au risque de 5 %]. Ainsi, l'otite externe ou la malpropreté du conduit favorisant la levure, il semble normal que la population des chiens soit plus porteuse.

D. En fonction de l'état sanitaire des oreilles, y a-t-il une différence de prévalence de *M. pachydermatis* entre les chiens et les chats ?

1. À partir d'oreilles saines, y a-t-il une différence de prévalence entre les chiens et les chats ?

Nous avons déjà classé les oreilles saines en fonction de l'espèce dans le tableau 17. La réalisation d'une comparaison grâce à un test du Khi-deux nous conduit aux calculs des effectifs théoriques que nous avons consignés entre crochets dans le tableau 21.

Tableau 21 : Effectifs et effectifs théoriques [notés entre crochets] d'oreilles saines selon l'espèce et la présence de *Malassezia pachydermatis*.

	Absence	Quelques	Nombreuses	Total
Oreilles saines de chien	174 [193,4]	47 [28,5]	6 [5,1]	227
Oreilles saines de chat	321 [301,6]	26 [44,5]	7 [7,9]	354

Nous nous retrouvons alors avec un tableau de contingence à deux lignes et trois colonnes. Le test du Khi-deux démontre l'existence d'une différence très significative [ $p = 10^{-5}$ ] au seuil de 5 % entre les deux espèces. Les oreilles saines de chat semblent moins porteuses de la levure que celles de chien.

2. À partir d'oreilles sales, y a-t-il une différence de prévalence entre les chiens et les chats ?

Nous avons considéré comme sales les oreilles des chiens ou des chats dont la note clinique se situe entre 2 et 5. Nous avons déjà consigné les différents effectifs au sein du tableau 18.

L'hypothèse d'une différence de prévalence nous conduit au calcul des effectifs théoriques que nous avons notés entre crochets dans le tableau 22.

Tableau 22 : Effectifs et effectifs théoriques [notés entre crochets] d'oreilles sales selon l'espèce et la présence de *Malassezia pachydermatis*.

	Absence	Quelques	Nombreuses	Total
Oreilles sales de chien	73 [80,2]	56 [48,1]	35 [35,7]	164
Oreilles sales de chat	37 [29,8]	10 [17,9]	14 [13,3]	61

Nous nous retrouvons avec un tableau de contingence à deux lignes et trois colonnes. En ne tenant compte que des oreilles sales, le test du Khi-deux démontre l'existence d'une différence mais peu significative [ $p = 0,027$ ] au seuil de 5 % entre les deux espèces.

Les oreilles sales des chats semblent là encore moins porteuses de la levure que celles des chiens.

### 3. À partir d'oreilles atteintes d'otite externe, y a-t-il une différence de prévalence entre les chiens et les chats ?

Nous avons déjà classé les oreilles atteintes d'une otite externe en fonction de l'espèce dans le tableau 19. L'hypothèse d'une différence de prévalence nous conduit là encore au calcul des effectifs théoriques que nous avons notés entre crochets dans le tableau 23.

Tableau 23 : Effectifs et effectifs théoriques [notés entre crochets] d'oreilles atteintes d'otite externe selon l'espèce et la présence de *Malassezia pachydermatis*.

	Absence	Quelques	Nombreuses	Total
Otites externes de chien	21 [19,1]	46 [41]	42 [48,9]	109
Otites externes de chat	13 [14,9]	27 [32]	45 [38,1]	85

Si nous appliquons un test du Khi-deux à ces effectifs, nous ne pouvons pas affirmer l'existence d'une différence statistique significative [ $p = 0,134$ ] au risque de 5 %. Lors d'otite externe, le chien ne semble pas plus porteur de levures que le chat.

Ainsi, les oreilles saines et propres des chats semblent moins porteuses que celles des chiens, cette différence existe mais de façon moins marquée pour les oreilles sales et il n'y a plus de différence lorsqu'il s'agit d'oreilles atteintes d'une otite externe.

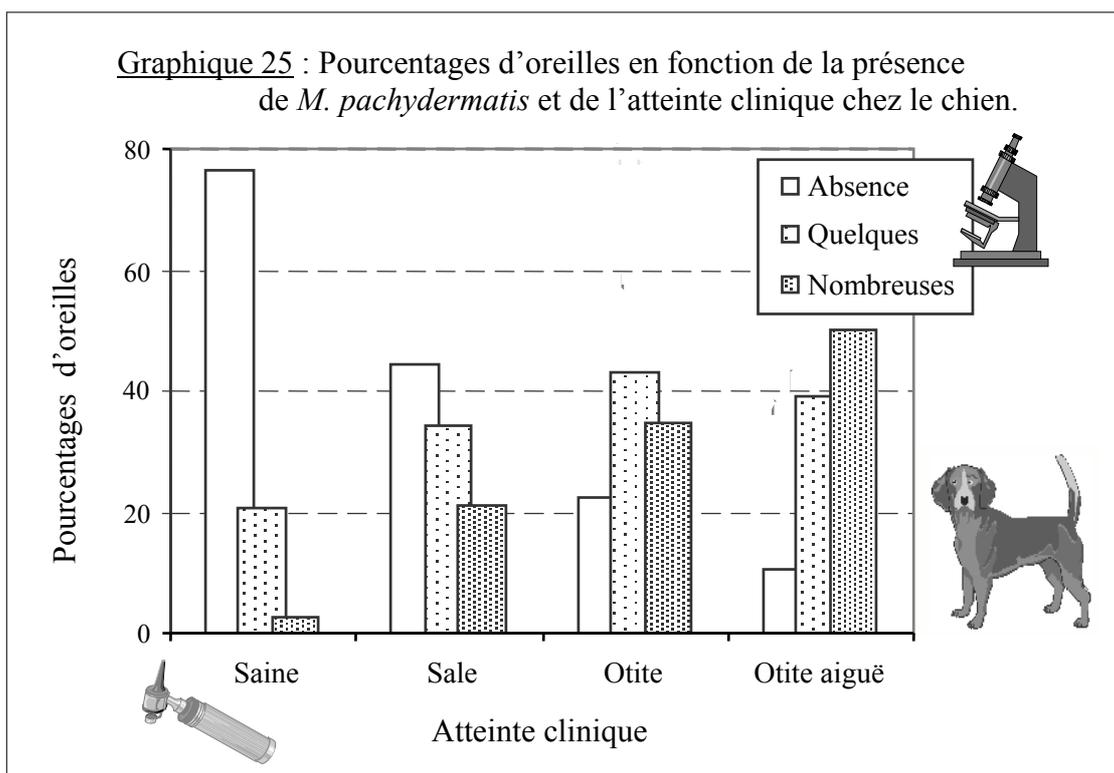
### E. Y a-t-il une relation entre atteinte clinique et présence de *Malassezia pachydermatis* ?

#### 1. Chez le chien, la présence de la levure est liée à l'atteinte clinique.

Nous avons vu précédemment le caractère saprophyte de cette levure. Nous pouvons le vérifier par la relation entre présence de *M. pachydermatis* dans l'oreille des chiens et l'atteinte clinique. Pour établir le graphique 25, les pourcentages choisis sont fonction de la présence de *Malassezia pachydermatis* au sein de chaque classe de notes cliniques. Nous pouvons y remarquer que plus l'atteinte augmente, plus les *Malassezia* semblent présentes et nombreuses. Après cette observation graphique, il nous faut démontrer une concordance statistique.

Tableau 24 : Nombres et pourcentages d'oreilles en fonction de l'atteinte clinique et de la présence de *M. pachydermatis* chez le chien.

		Atteinte clinique			
		Saine	Sale	Otite	Otite aiguë
Présence de <i>M. pachydermatis</i>	Absence	174 (76,7 %)	73 (44,5 %)	18 (22,2 %)	3 (10,7 %)
	Quelques	47 (20,7%)	56 (34,1%)	35 (43,2 %)	11 (39,3 %)
	Nombreuses	6 (2,6 %)	35 (21,3 %)	28 (34,6 %)	14 (50 %)
	Total	227 (100 %)	164 (100 %)	81 (100 %)	28 (100 %)



Cette concordance entre atteinte clinique et infestation peut être démontrée statistiquement par un test de Khi-deux avec tableau de contingence.

Le tableau 25 reprend les effectifs et effectifs théoriques [notés entre crochets] d'oreilles de chien classées selon l'atteinte clinique et la présence de *M. pachydermatis*.

**Tableau 25** : Effectifs et effectifs théoriques [notés entre crochets] selon l'atteinte clinique et la présence de *M. pachydermatis* chez le chien.

		Atteinte clinique				Total
		Saine	Sale	Otite	Otite aiguë	
Présence de <i>M. pachydermatis</i>	Absence	174 [121,7]	73 [87,9]	18 [43,4]	3 [15,0]	268
	Quelques	47 [67,6]	56 [48,9]	35 [24,1]	11 [8,3]	149
	Nombreuses	6 [37,7]	35 [27,2]	28 [13,4]	14 [4,6]	83
	Total	227	164	81	28	500

Du fait que l'un des effectifs théoriques est inférieur à 5, la colonne des otites externes dites aiguës doit être regroupée avec sa précédente. Nous nous retrouvons donc avec un tableau de contingence à trois lignes et trois colonnes. Le résultat du test Khi-deux corrigé sera alors de 122,4 avec un degré de liberté égal à 4.

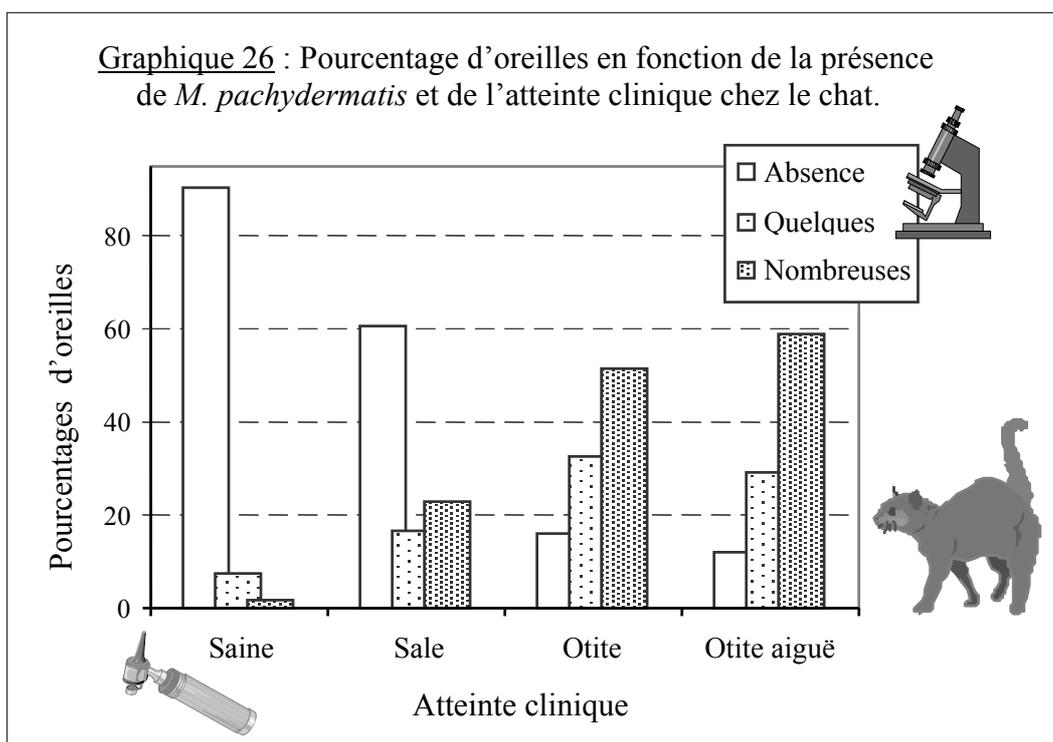
Nous pouvons donc conclure que la liaison est bien significative statistiquement, aussi plus l'atteinte clinique est forte, plus la présence de *M. pachydermatis* est importante chez le chien.

2. Chez le chat, là encore, la présence de la levure est liée à l'atteinte clinique.

Tout comme chez le chien, nous nous sommes intéressés à la corrélation entre note clinique et présence de la levure. Le tableau 26 et le graphique 26 reprennent les résultats des 500 prélèvements auriculaires de chats. Là encore, d'après les pourcentages de présence de la levure selon chaque classe des notes cliniques, nous pouvons observer la concordance entre l'augmentation de l'atteinte et la prévalence de la levure.

**Tableau 26** : Nombres et pourcentages d'oreilles en fonction de l'atteinte clinique et de la présence de *M. pachydermatis* chez le chat.

		Atteinte clinique			
		Saine	Sale	Otite	Otite aiguë
Présence de <i>M. pachydermatis</i>	Absence	321 (90,7 %)	37 (60,6 %)	11 (16,2 %)	2 (11,8 %)
	Quelques	26 (7,3 %)	10 (16,4 %)	22 (32,4 %)	5 (29,4 %)
	Nombreuses	7 (2 %)	14 (23 %)	35 (51,5 %)	10 (58,8 %)
	Total	354	61	68	17



Là encore cette concordance peut être démontrée d'un point de vue statistique par un test de Khi-deux via un tableau de contingence qui reprend effectifs et effectifs théoriques [tableau 27].

**Tableau 27** : Effectifs et effectifs théoriques [entre crochets] en fonction de l'atteinte clinique et de la présence de *M. pachydermatis* chez le chat.

		Atteinte clinique				Total
		Saine	Salée	Otite	Otite aiguë	
Présence de <i>M. pachydermatis</i>	Absence	321 [262,7]	37 [45,3]	11 [50,5]	2 [12,6]	371
	Quelques	26 [44,6]	10 [7,7]	22 [8,6]	5 [2,1]	63
	Nombreuses	7 [46,7]	14 [8,1]	35 [9,0]	10 [2,2]	66
	Total	354	61	68	17	500

Du fait que certains effectifs théoriques sont inférieurs à 5, la colonne des otites externes définies comme aiguës sera regroupée avec la précédente. Nous nous retrouvons donc avec un tableau de contingence à trois lignes et trois colonnes. Le Khi-deux corrigé est de 227 avec un degré de liberté égal à 4.

Nous pouvons donc conclure que la liaison est bien significative statistiquement, plus l'atteinte clinique est forte chez le chat, plus la présence de *M. pachydermatis* est importante.

Ainsi, il y a bien, chez le chien comme chez le chat, une relation entre l'atteinte clinique et la présence de *M. pachydermatis*.

#### F. Y a-t-il une différence liée au sexe de l'animal dans le port de la levure ?

1. Chez le chien : pas de relation entre sexe et prévalence de la levure.

Pour la relation entre le sexe et la présence d'otite, les avis divergent. Très peu étudient la liaison entre le sexe et la prévalence de la levure.

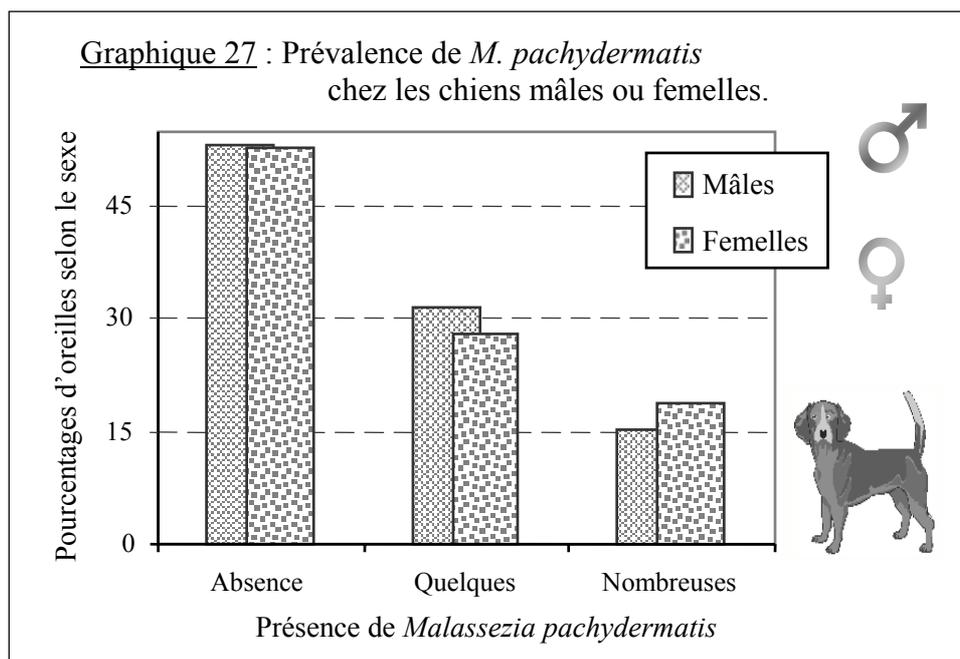
Les résultats obtenus à partir de notre échantillon de 500 prélèvements sont consignés dans le tableau 28. Les chiens stérilisés ont été écartés puisqu'en trop faibles effectifs pour être pris en compte d'un point de vue statistique.

**Tableau 28** : Effectifs et pourcentages d'oreilles selon le sexe et la présence de *M. pachydermatis*.

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Mâles	134 (53 %)	80 (32 %)	38 (15 %)	252 (100 %)
Femelles	126 (53 %)	67 (28 %)	45 (19 %)	238 (100 %)
Mâles castrés <sup>(1)</sup>	2	0	0	2
Femelles castrées <sup>(1)</sup>	6	2	0	8

<sup>(1)</sup>: trop faibles effectifs pour être pris en compte d'un point de vue statistique.

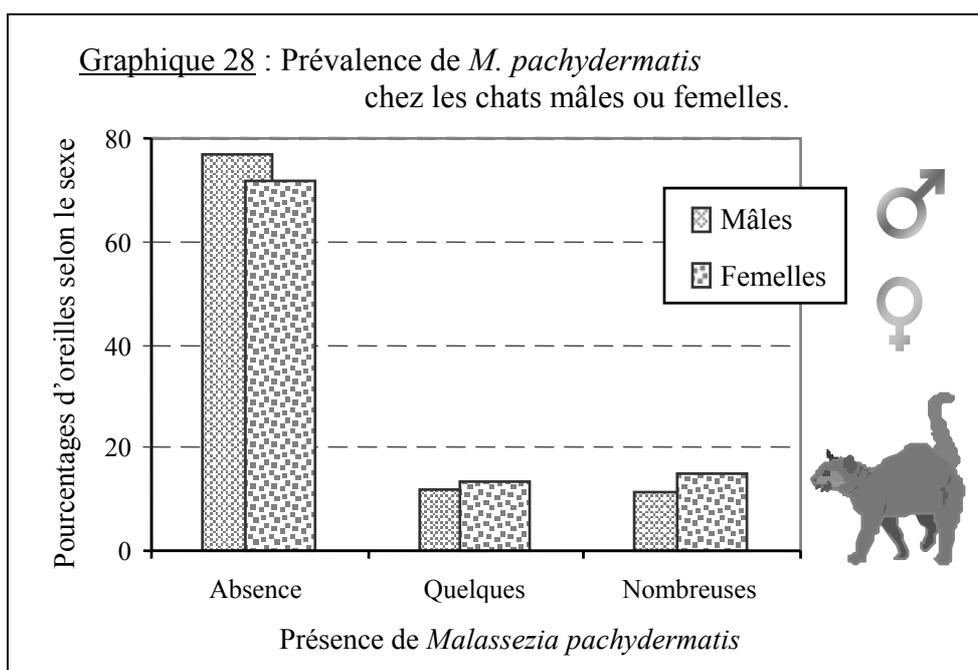
Le graphique 27 reprend les pourcentages d'oreilles en fonction de la présence de la levure et le sexe de l'animal. Chez le chien, les résultats semblent comparables graphiquement qu'il s'agisse de mâles ou de femelles.



Si nous appliquons un test du Khi-deux aux effectifs de notre échantillon de chien, il ne peut pas être démontré de différence statistique significative au seuil de 5 % entre le sexe du chien et la présence de la levure.

## 2. Chez le chat : pas de relation entre sexe et port de la levure.

Les résultats obtenus à partir de notre échantillon de 500 prélèvements d'oreilles de chat sont consignés dans le tableau 29. Nous n'avons pas tenu compte de la stérilisation éventuelle de l'animal. En effet, le recueil de cette information via les données du service d'accueil des propriétaire semble peu fiable à la vue du très faible nombre de chats stérilisés.



**Tableau 29** : Effectifs et pourcentages d'oreilles selon le sexe des chats et la présence de *M. pachydermatis*.

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Mâles	192 (76,8 %)	30 (12 %)	28 (11,2 %)	250 (100 %)
Femelles	179 (71,6 %)	33 (13,2 %)	38 (15,2 %)	250 (100 %)

Le graphique 28 reprend les pourcentages d'oreilles en fonction de la présence de la levure et le sexe des chats.

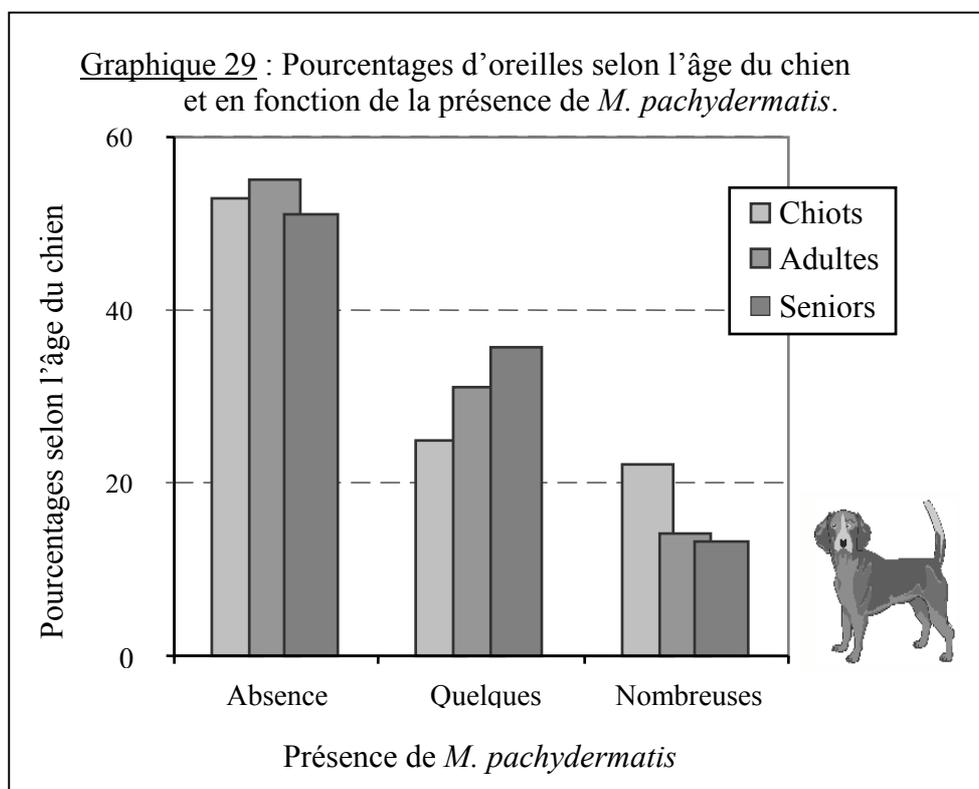
Selon un test du Khi-deux appliqué aux effectifs du tableau 29, il n'existe pas de différence statistique significative au seuil de 5 % entre le sexe du chat et la présence de la levure.

Ainsi, chez le chien comme chez le chat, la prévalence de *Malassezia pachydermatis* n'est pas influencée par le sexe de l'animal.

### G. Y a-t-il une différence de prévalence en fonction de l'âge de l'animal ?

1. Chez le chien, l'âge de l'animal n'intervient pas.

La répartition des chiens en fonction des classes d'âge est consignée dans le tableau 30. Le graphique reprend les pourcentages en fonction de chacune de ces classes et de la présence de la levure. Rappelons que nous avons considéré trois catégories d'animaux : ceux de moins d'un an [ « chiots » ], ceux ayant entre 1 et 8 ans [ « adultes » ] et les seniors de plus de 8 ans.



**Tableau 30** : Effectifs et pourcentages d'oreilles  
selon l'âge du chien et la présence de la levure

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Chiots	89 (53 %)	42 (25 %)	37 (22 %)	168 (100%)
Adultes	133 (55 %)	75 (31 %)	34 (14 %)	282 (100%)
Seniors	46 (51,1 %)	32 (35,6 %)	12 (13,3 %)	90 (100%)

Appliquons un test du Khi-deux. Les effectifs et effectifs théoriques, placés entre crochets, sont consignés dans le tableau 31.

**Tableau 31** : Effectifs et effectifs théoriques [notés entre crochets] d'oreilles  
selon l'âge du chien et la présence de la levure.

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses
Chiots	89 [90]	42 [50,1]	37 [27,9]
Adultes	133 [129,7]	75 [72,1]	34 [40,2]
Seniors	46 [48,2]	32 [26,8]	12 [14,9]

Nous nous retrouvons alors avec un tableau de contingence à trois lignes et trois colonnes. Le test ne nous permet pas d'affirmer l'existence d'une différence significative au seuil de 5 % en fonction de l'âge de l'animal.

## 2. Chez le chat, l'âge de l'animal n'intervient pas.

La répartition des chats en fonction des trois classes d'âge est consignée dans le tableau 32. Le graphique 30 reprend les pourcentages en fonction de chacune de ces classes et de la présence de la levure.

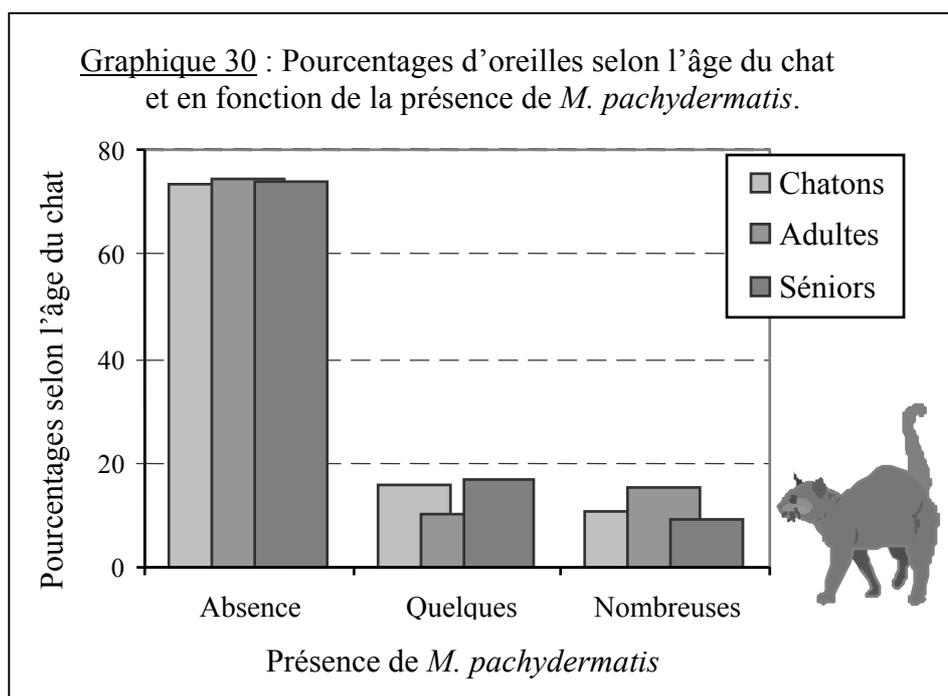
Afin d'évaluer l'existence d'une différence significative entre les classes d'âge, nous pouvons appliquer un test du Khi-deux aux effectifs et effectifs théoriques consignés dans le tableau 33.

**Tableau 32** : Effectifs et pourcentages d'oreilles  
selon l'âge du chat et la présence de la levure

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Chatons	122 (73,5%)	26 (15,7 %)	18 (10,8 %)	166 (100%)
Adultes	209 (74,6 %)	28 (10 %)	43 (15,4 %)	280 (100%)
Seniors	40 (74,1 %)	9 (16,7%)	5 (9,2 %)	54 (100%)

**Tableau 33** : Effectifs et effectifs théoriques [notés entre crochets] d'oreilles  
selon l'âge du chat et la présence de la levure.

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses
Chatons	122 [123,2]	26 [20,9]	18 [21,9]
Adultes	209 [207,8]	28 [35,3]	43 [37,0]
Seniors	40 [40,1]	9 [6,8]	5 [7,1]



Comme précédemment, nous obtenons alors un tableau de contingence à trois lignes et trois colonnes et un test du Khi-deux ne nous permet pas d'affirmer l'existence d'une différence significative au seuil de 5 % en fonction de l'âge de l'animal.

Ainsi, chez le chien comme chez le chat, la prévalence de *Malassezia pachydermatis* n'est pas influencée par l'âge de l'animal.

#### H. Y a-t-il une différence liée au port des oreilles dans la prévalence de *Malassezia pachydermatis* ?

Nous pouvons soit considérer l'ensemble des prélèvements effectués sur les 250 chiens, soit rechercher une différence liée au port des oreilles tout en tenant compte de l'état sanitaire des conduits auditifs externes.

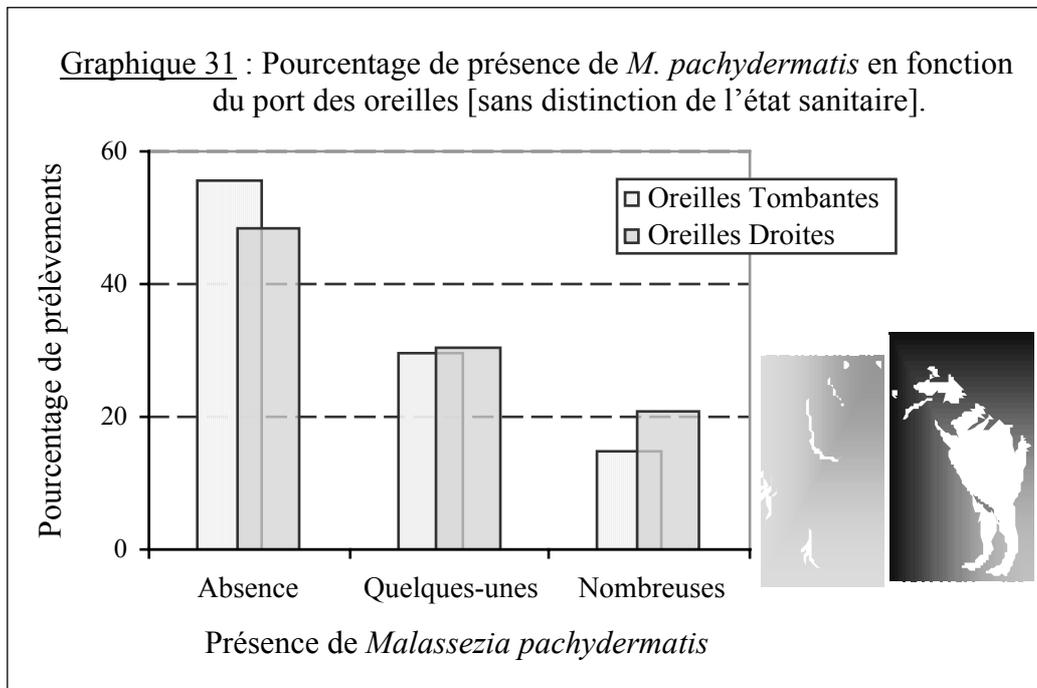
1. En prenant en compte l'ensemble de notre échantillon, pas de différence significative.

Les 500 prélèvements proviennent de 366 oreilles droites et 134 tombantes. Rappelons que les oreilles semi-érigées mais fortement obstruées par des poils sont considérées comme tombantes.

**Tableau 34 : Effectifs et pourcentages d'oreilles de chien selon leur port et la présence de *M. pachydermatis*.**

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Oreilles droites	203 (55,5 %)	108 (29,5 %)	55 (15 %)	366 (100 %)
Oreilles tombantes	65 (48,5 %)	41 (30,6 %)	28 (20,9 %)	134 (100 %)

La répartition selon la présence de *M. pachydermatis* est décrite dans le tableau 34. Le graphique 31 reprend les pourcentages d'oreilles selon leur port, dressé ou tombant, et selon la présence de la levure, ceci sans tenir compte de l'état sanitaire des conduits auditifs externes.



Ainsi, par un test du Khi-deux et en tenant compte de l'ensemble des chiens, nous ne pouvons pas démontrer au risque de 5% de différence significative entre les deux port d'oreilles.

## 2. En tenant compte de l'état sanitaire des oreilles : pas de différence significative.

Tenir compte de l'état sanitaire peut être intéressant pour déterminer l'existence d'une différence significative de prévalence selon le port des oreilles.

Les résultats par catégorie figurent dans le tableau 35. En raison de la taille réduite des effectifs d'oreilles atteintes d'otite externe aiguë, cette classe sera regroupée avec sa précédente. Dans chaque cas est effectué un test du Khi-deux au seuil de 5 % afin de démontrer une différence statistique entre les deux types de ports d'oreilles.

Qu'il s'agisse d'oreilles saines, sales ou atteintes d'otite externe, il n'est pas possible d'affirmer l'existence d'une différence significative au seuil de 5 % en fonction de leur port.

De plus, à partir des résultats du tableau 35, nous ne pouvons pas affirmer au seuil de 5 % l'existence d'une différence significative dans l'apparition d'une otite externe en fonction du type de port des oreilles chez le chien.

Tableau 35 : Effectifs d'oreilles de chien selon leur port et la présence de *M. pachydermatis* en tenant compte de leur état sanitaire.

OREILLES SAINES	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Oreilles dressées	49	9	3	61
Oreilles tombantes	125	38	3	166
OREILLES SALES	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Oreilles dressées	14	13	14	41
Oreilles tombantes	59	43	21	123
OTITES	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Oreilles dressées	2	12	7	21
Oreilles tombantes	16	23	21	60
OTITES AIGUËS	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Oreilles dressées	0	5	4	9
Oreilles tombantes	3	6	10	19

Ainsi, les oreilles tombantes ne sont pas plus porteuses de levures que les oreilles dressées.

#### I. Y a-t-il une colonisation accrue chez les animaux qui vivent avec d'autres carnivores domestiques ?

Les animaux de notre étude cohabitent parfois avec un autre chien ou chat. Nous nous sommes donc interrogés sur une possible multiplication de la levure en raison de cette promiscuité.

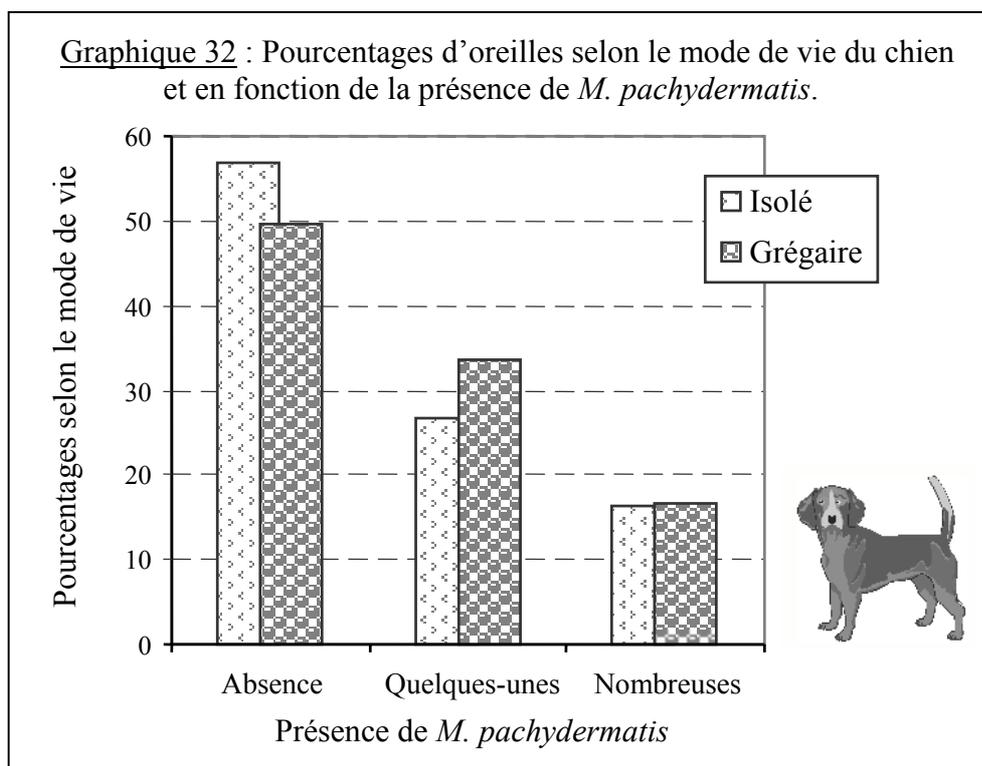
1. Chez le chien, la présence d'un autre carnivore domestique n'intervient pas.

Les résultats à partir de nos 500 prélèvements effectués sur les 250 chiens sont consignés dans le tableau 36 suivant que l'animal vit en compagnie d'un autre congénère ou d'un chat [« grégaire »], ou seul dans le foyer [« isolé »]. Nous avons repris les pourcentages de chaque classe au sein du graphique 32.

Tableau 36 : Effectifs et pourcentages d'oreilles de chien selon le mode de vie de l'animal.

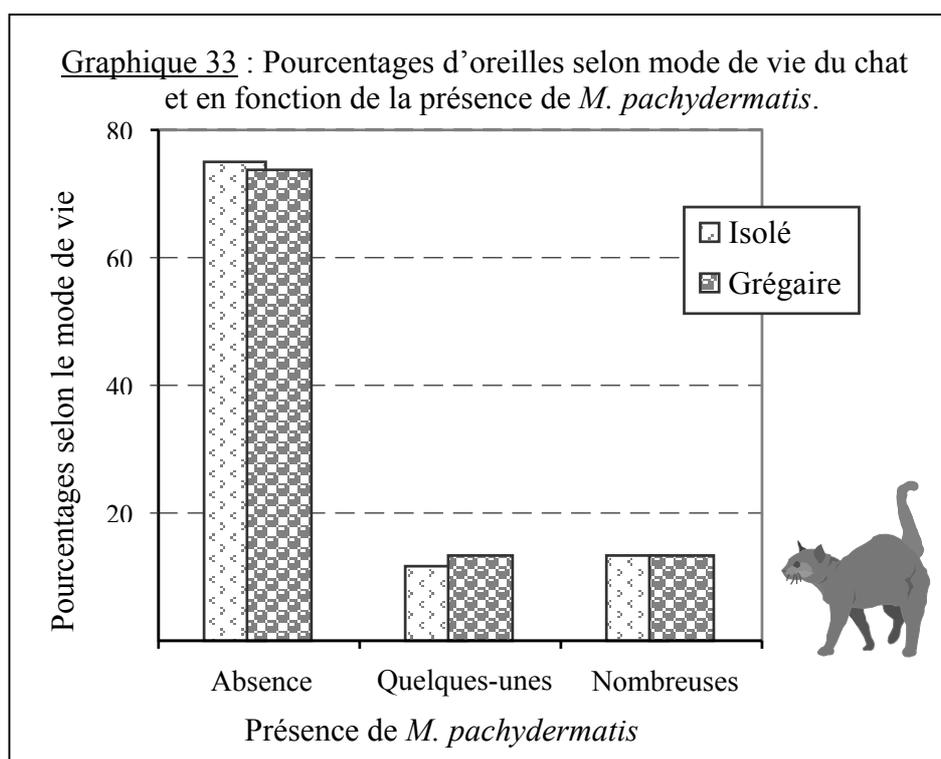
	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Isolé	159 (56,8 %)	75 (26,8 %)	46 (16,4 %)	280
Grégaire	109 (49,5 %)	74 (33,6 %)	37 (16,8 %)	220

Par un test du Khi-deux, nous ne pouvons pas démontrer de différence significative au risque de 5 % entre les deux modes de vie chez le chien. Le résultat est identique si l'on regroupe les deux dernières colonnes et que l'on compare absence ou présence de *M. pachydermatis*.



2. Chez le chat, la présence d'un autre carnivore domestique n'intervient pas.

De même chez le chat, les résultats en fonction du mode de vie et de la présence de *M. pachydermatis* sont consignés dans le tableau 37. Le graphique 33 reprend les pourcentages respectifs.



**Tableau 37** : Effectifs et pourcentages d'oreilles de chat selon le mode de vie de l'animal.

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Isolé	147 (75%)	23 (11,7%)	26 (13,3%)	196
Grégaire	224 (73,7%)	40 (13,2%)	40 (13,2%)	304

D'après les chiffres du tableau 37, un test du Khi-deux ne permet pas de démontrer de différence significative au risque de 5 % entre les deux modes de vie. Nous obtenons le même résultat en regroupant les deux dernières colonnes et en comparant alors absence ou présence de *M. pachydermatis*.

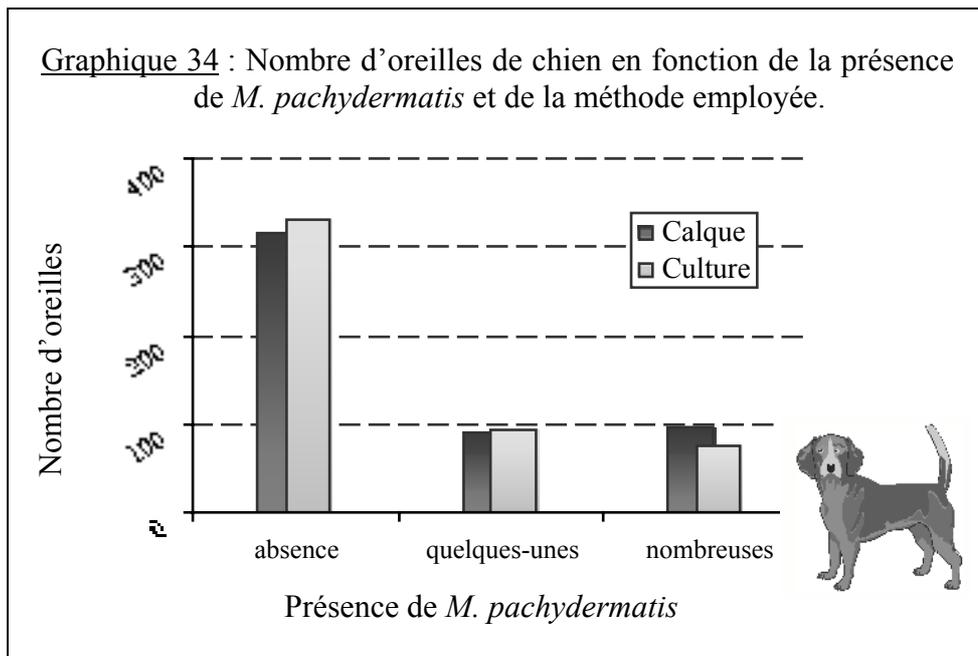
Aussi, que cela soit chez le chien ou le chat, le mode de vie isolé ou grégaire n'est pas un facteur influençant la présence de *Malassezia pachydermatis* dans notre échantillon.

#### J. Y a-t-il une corrélation entre la note obtenue par le calque et celle obtenue par la culture ?

Nous cherchons à montrer si il existe une différence significative entre la répartition de note obtenue au calque et celle obtenue par la culture. Cette corrélation montrerait que les deux méthodes se valent d'un point de vue statistique.

##### 1. Calque et Culture sur les oreilles de chiens

Effectifs et pourcentages sont consignés dans le tableau 38. Nous pouvons tenter de démontrer l'existence d'une différence statistique.



**Tableau 38** : Effectifs et pourcentages d'oreilles de chien selon la présence de la levure et la méthode employée.

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Calque	315 (63%)	90 (18 %)	95 (19 %)	500
Culture	331 (66,2 %)	94 (18,8 %)	75 (15 %)	500

Si nous appliquons un test du Khi-deux aux différentes classes obtenues, nous ne pouvons démontrer de différence significative au seuil de 5 % chez le chien entre les résultats issus du calque et ceux issus de la culture.

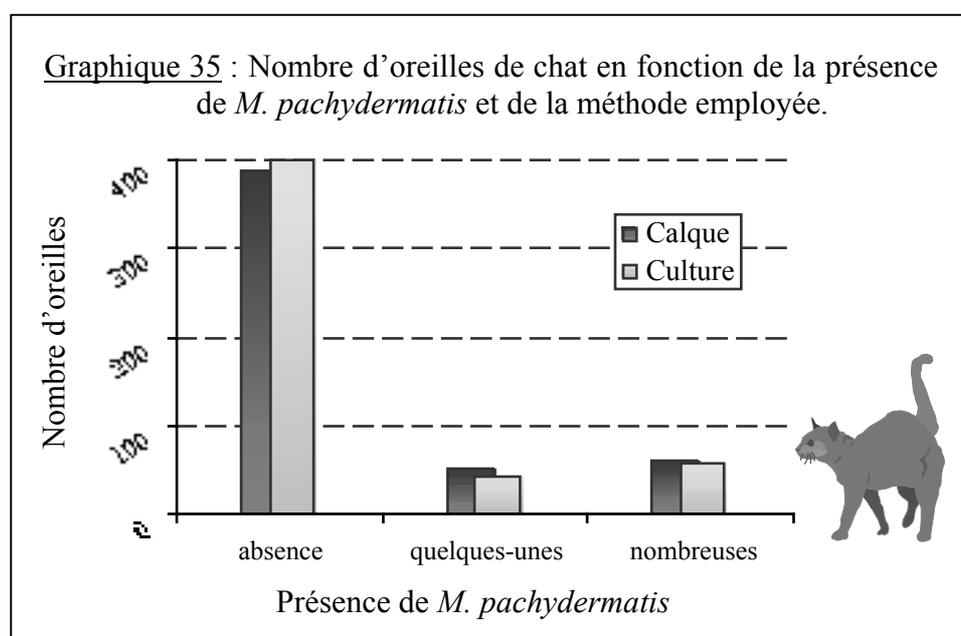
## 2. Calque et Culture sur les oreilles de chats

Effectifs et pourcentages obtenus pour les chats selon la méthode employée sont consignés dans le tableau 39.

**Tableau 39** : Effectifs et pourcentages d'oreilles de chat selon la présence de la levure et la méthode employée.

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Calque	389 (77,8%)	51 (10,2 %)	60 (12 %)	500
Culture	399 (79,8 %)	43 (8,6 %)	58 (11,6 %)	500

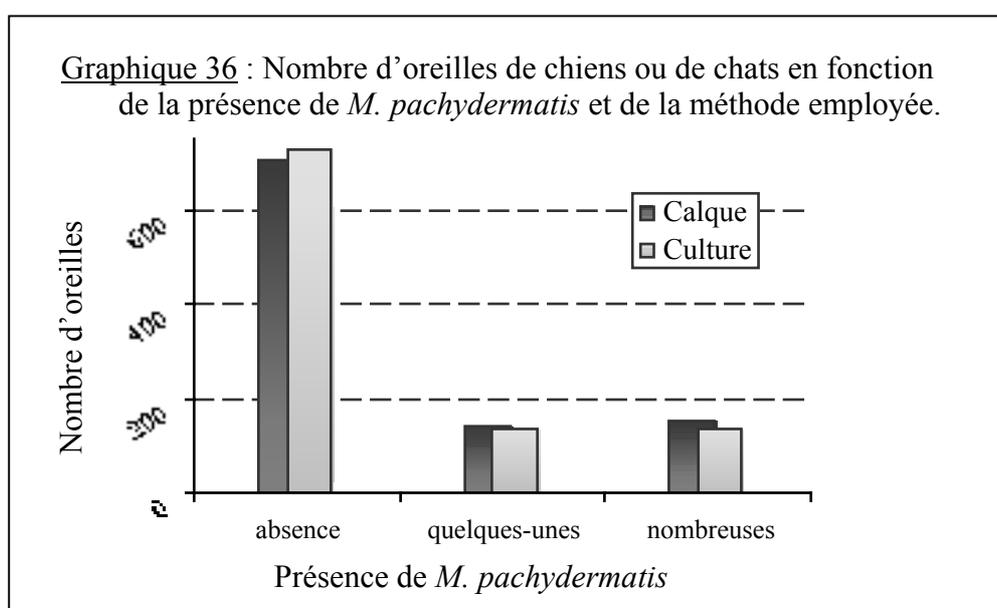
Comme le montre le graphique 35, là encore les résultats semblent très semblables, une comparaison grâce à un test de Khi-deux peut être effectuée.



Si nous appliquons un test du Khi-deux aux classes obtenues, nous ne pouvons démontrer de différence significative au seuil de 5 % chez le chat entre les résultats issus du calque et ceux issus de la culture.

### 3. Calque et Culture sur les 1000 prélèvements

Si nous reprenons les résultats mais cette fois sans tenir compte de l'espèce hôte, nous obtenons le graphique 36 et le tableau 40 :



**Tableau 40** : Effectifs et pourcentages d'oreilles de chien et de chat selon la présence de la levure et la méthode employée.

	Absence	Quelques-unes	Nombreuses	Total
Calque	704 (70,4 %)	141 (14,1 %)	155 (15,5 %)	1000
Culture	730 (73 %)	137 (13,7 %)	133 (13,3 %)	1000

Là encore, nous ne pouvons pas démontrer de différence significative entre les deux méthodes au seuil de 5 %.

Les deux méthodes donnent donc des résultats comparables que nous tenions compte de l'espèce ou non.

### III. Discussion

#### A. Une prévalence comparable à beaucoup d'études

Nous avons choisi l'emploi d'un milieu de Sabouraud simple supplémenté en chloramphénicol ce qui nous permet de ne pas effectuer de diagnose puisque *M. pachydermatis* est la seule espèce du genre *Malassezia* à s'y développer. Nous avons vu dans la première partie que néanmoins un milieu de Dixon modifié pouvait avoir un meilleur rendement (137). Le problème vient du fait que ce milieu est supplémenté en un ester d'acide palmitique [Tween 40] et en acide oléique, des corps gras permettant la croissance des autres espèces éventuellement présentes, son emploi nous aurait donc contraint à la réalisation d'une diagnose. De même, nous avons constaté que la croissance sur milieu de Sabouraud simple pouvait être optimisée sous atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> (35). Néanmoins, cette publication étant postérieure au début de notre étude, nous n'avons pu en tenir compte et c'est donc sous atmosphère ambiante qu'ont été mis en culture les prélèvements.

Les résultats d'études que nous avons relevés dans la première partie nous donnent une prévalence moyenne de 5 à 30 % chez le chien sain et au-dessus de 50 % lors d'otite. D'après notre échantillon d'oreilles de chiens sains, 23,4 % sont porteuses avec 20,7 % de quelques levures et 2,7 % en grand nombre. Lors d'otite externe, les oreilles de chien sont porteuses dans 80,7 % des cas avec dans 42,2 % quelques levures et 38,5 % de nombreuses *Malassezia pachydermatis*.

Chez les chats, la prévalence de *M. pachydermatis* dans les oreilles saines se situe selon les études de 20 à 63,6 % et de 13,6 à 63,4 % lors d'otite. Dans notre échantillon, les oreilles saines de chat sont porteuses dans 9,3 % des cas avec dans respectivement 7,3 % et 2 % quelques ou de nombreuses levures. En cas d'otite externe, les oreilles de chat sont porteuses dans 84,7 % des cas avec 32,2 % quelques levures et 52,9 % de nombreuse *M. pachydermatis*.

Nos résultats sont conformes à ceux des études précédentes, avec néanmoins une prévalence supérieure chez le chat atteint d'otite.

#### B. Une prévalence différente selon l'espèce pour les oreilles saines.

Nous avons montré une différence significative au seuil de 5 % entre la présence de la levure dans les oreilles saines de chien et celle des oreilles saines de chat. Ce résultat est conforme à une étude de Baxter (22). Le chien sain semble donc statistiquement plus porteur que le chat sain.

#### C. Une prévalence qui est influencée par l'atteinte clinique.

Lors d'otite externe, le milieu se modifie, l'inflammation aidant, les levures peuvent trouver un terrain favorable à leur multiplication, nous constatons en effet que la prolifération suit l'atteinte clinique chez le chien ou le chat.

Chez le chat, les otites externes ont souvent pour origine la présence des *Otodectes*. La présence des levures dans les oreilles hébergeant le parasite y est quasi-systématique puisque respectivement les chiens et les chats atteints d'otacariase sont porteurs de *M. pachydermatis* dans 100 % et 75 % des cas.

D. Une différence selon le port des oreilles chez le chien uniquement pour les oreilles malades.

Contrairement à ce que nous avons pu noter dans la littérature (10, 104, 151, 185, 278), mais conformément aux travaux de Massuda (220), nous ne démontrons pas de différence significative dans l'atteinte clinique et dans la prévalence de la levure entre les oreilles tombantes et les oreilles dressées.

Pourtant, nous pouvions penser que la macération du conduit auditif pouvait être supérieure dans le cas d'oreilles tombantes et donc que cela devrait favoriser otite externe et multiplication de *Malassezia pachydermatis*. Néanmoins, le port des oreilles peut ne pas être le seul à intervenir. En effet certaines races présentant des oreilles dressées favorisent la multiplication de la levure, il s'agit par exemple du Berger Allemand, race très représentée dans notre pays et du Sibérien Husky.

E. Pas de différence liée au sexe quelle que soit l'espèce étudiée.

Nos résultats, que cela soit chez le chien ou le chat, ne démontrent pas de différence significative entre mâle et femelle comme cela avait déjà été démontré par Smitka (284).

F. Pas de différence selon le mode de vie isolé ou non d'autres carnivores domestiques.

Le fait de vivre avec un autre carnivore domestique ne modifie pas la prévalence chez le chat ou le chien. Il aurait pu être intéressant de compléter les informations concernant le mode de vie avec, par exemple chez le chien, le lieu de vie : maison ou chenil.

G. Pas de différence significative selon la méthode de diagnostic.

Nous n'avons utilisé qu'un seul écouvillon par oreille lors du prélèvement pour à la fois la cytologie et la culture. En effet, un seul écouvillon a servi à la fois pour l'étalement et à l'ensemencement d'un milieu de culture. Il pourrait donc nous être reproché une sous-évaluation de la prévalence obtenue grâce à la mise en culture par rapport à la cytologie. Ceci pourrait être accentué aussi par le fait que nous n'avons pas volontairement supplémenté le milieu en acides gras à longue chaîne, certes non indispensables à la croissance de *M. pachydermatis* mais comme nous l'avons vu, qui augmente le taux de réussite de la culture. En fait, nous n'avons pas démontré de différence significative entre cytologie et culture au risque de 5 %. Deux explications, soit l'utilisation d'un seul écouvillon et le défaut de supplémentation ne sont pas des facteurs de biais, soit la culture est une méthode plus fiable que la cytologie et elle a été sous-évaluée dans notre échantillon.

Conclusion



En conclusion, nous avons vu que *Malassezia pachydermatis* est une levure fréquemment retrouvée dans le conduit auditif du chien et du chat.

Le praticien vétérinaire devra donc savoir la rechercher et l'identifier face à une otite externe chez un carnivore domestique.

L'intérêt grandissant pour cette levure et la prise de conscience d'un éventuel rôle pathogène font que toutes les nouvelles préparations pharmaceutiques commercialisées dans le cadre de la lutte contre les otites externes contiennent un principe actif capable de détruire les *Malassezia*.

**AGREMENT ADMINISTRATIF**

Je soussigné, M. BONNES, Directeur par intérim de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que  
**M. GRUSON Florent**  
 a été admis(e) sur concours en : 1993  
 a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 16 septembre 1998  
 n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

Je soussigné, M. FRANC, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
 déclare que j'ai lu la thèse de :  
**M. GRUSON Florent**  
 intitulée :  
*"Malassezia pachydermatis dans les oreilles des chats et des chiens. – Etude de la prévalence sur un effectif de deux cent cinquante chiens et de deux cent cinquante chats."*  
 et que je prends la responsabilité de l'impression.

**Le Professeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse**



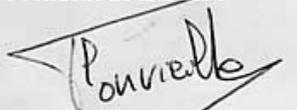
**Professeur Michel FRANC**

**Vu :  
Le Directeur par intérim  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse**




**Professeur Gilbert BONNES**

**Vu :  
Le Président de la thèse :**



**Professeur Jean-Louis FONVIEILLE**

**Vu le : 1er février 2008  
Le Président  
de l'Université Paul Sabatier**



**Professeur Raymond BASTIDE**



## Références bibliographiques

- 1 Abou-Gabal M., Fagerland J.A. – Electron microscopy of *Pityrosporum canis* "*pachydermatis*" – Mykosen, 1979, **22**, 3, 85-90.
- 2 Abou-Gabal M., Chastain C.B., Hogle R.M. – *Pityrosporum pachydermatis* "*canis*" as a major cause of otitis externa in dogs – Mykosen, 1979, **22**, 6, 192-199.
- 3 Acton H.W., Panja G. – Seborrheic dermatitis or  *pityriasis capitis* : A lesion caused by the *Malassezia ovale* – Indian Med. Gaz., 1927, **62**, 6031.
- 4 Aizawa T., Kano R., Nakamura Y., Watanabe S., Hasegawa A. – Molecular heterogeneity in clinical isolates of *Malassezia pachydermatis* from Dogs – Vet. Microbiol., 1999, **70**, 1-2, 67-75.
- 5 Akerstedt, J., Vollset I. – *Malassezia pachydermatis* with special reference to canine skin disease – Br. Vet. J., 1996, **152**, 3, 269-281.
- 6 Alves E.V., Martins J.E., Ribeiro E.B., Sotto M.N. – *Pityrosporum* folliculitis: renal transplantation case report – J. Dermatol., 2000, **27**, 1, 49-51.
- 7 Aly R., Bibel D.J. – Adherence of skin microorganisms and the development of skin flora from birth – In : Noble W.C., The Skin Microflora and Microbial skin disease, Cambridge, Cambridge University Press, 1992, 355.
- 8 Amaral R.C.-do, Ibanez J.F., Mamizuka E.M., Gambale W., Paula C.R.-de, Larsson C.E. – Normal Microflora of the ear canal of healthy cats – Ciênc. Rural, 1998, **28**, 3, 441-445.
- 9 Anthony R.M., Howell S.A., Lloyd D.H., Pinter L. – Application of DNA typing methods to the study of the epidemiology of *Malassezia pachydermatis* – Microb. Ecol. Health Dis., 1994, **7**, 3, 161-168.
- 10 Ascher F., Maynard L., Herve D., Allaire R., Simon J., Bourjalliat J.C. – A new formulation for the treatment of external otitis in dogs and cats. 1. Epidemiological and aetiological survey. – Prat. Med. Chir. An. Cie, 1988, **23**, 4, 267-272, 278-279.
- 11 August J.R. – Evaluation of the patient with otitis externa – In : The Complete Manual of Ear Care – Trenton, New Jersey, Veterinary Learning Systems, 1986, 37-51.
- 12 August J.R. – Otitis externa : a disease of multifactorial etiology – Vet. Clin. North Am. Small An. Pract., 1988, **18**, 731-742.
- 13 Baba E., Fukata T., Saito M. – Incidence of otitis externa in dogs and cats in Japan – Vet. Rec., 1981, **108**, 393-395.
- 14 Baillon N. – Traité de Botanique Médicale Cryptogamique – Octave Douin, Paris, 1889, 234-239.
- 15 Bandhaya M. – The distribution of *Malassezia furfur* and *Malassezia pachydermatis* on normal human skin – Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 1993, **24**, 2, 343.
- 16 Barfatani M., Munn R.J., Schjeide O.A. – An ultrastructure study of *Pityrosporum orbiculare* – J. Invest. Dermatol., 1964, **43**, 231-233.
- 17 Barnett J.A., Payne R.W., Yarrow D. – Yeasts : characteristics and identification – Cambridge univ Press, Cambridge, 1983.
- 18 Bastide J.M., Maille M. Montes B. – Morphology and physiology of *Malassezia spp.* – Bull. Soc. Fr. Mycol. Med., 1988, **17**, 233-244.
- 19 Baxter M., Lawler D.C. – Causes of otitis externa in dogs and cat – Mod. Vet. Pract., 1972, **8**, 52-53.
- 20 Baxter M., Lawler D.C. – The incidence and microbiology of otitis externa of dogs and cats in New Zealand – N. Z. Vet. J., 1972, **20**, 3, 29-32.
- 21 Baxter M. – *Pityrosporum pachydermatis* in pendulous and erect ears of dogs – N. Z. Vet. J., 1976, **24**, 4, 69-70.
- 22 Baxter M. – The association of *Pityrosporum pachydermatis* with the normal external ear canal of dogs and cats – J. Small An. Pract, 1976, **17**, 4, 231-234.
- 23 Bergbrant I.M., Igerud A., Nordin P. – An improved method for quantitative culture of *Malassezia furfur* – Res. Microbiol., 1992, **143**, 731-735.
- 24 Bergbrant I.M., Faegermann J. – Adherence of *Malassezia furfur* to human stratum corneum cells in vitro : a study of healthy individuals and patients with seborrhoeic dermatitis – Mycoses, 1994, **37**, 5-6.
- 25 Bernardo F.M., Martins H.M., Martins M.L. – A survey of mycotic otitis externa of dogs in Lisbon – Rev. Iberoam. Micol., 1998, **15**, 3, 163-165.
- 26 Blanco J.L., Guedeja-Marron J., Hontecillas R., Suarez G., Garcia M.E. – Microbiological diagnoses of chronic otitis externa in the dog – J. Vet. Med. Series B, 1996, **43**, 8, 475-482.
- 27 Blanco J.L., Guedeja-Marron J., Blanco I., Garcia M.E. – Optimum incubation conditions for the isolation of yeasts from canine otitis externa – Zent. Bl. Vet. Med., B Infect. Dis. Imminol Food Hyg. Public Health, 2000, **47**, 8, 599-605.

- 28 Blue J.L., Wooley R.E. – Antibacterial sensitivity patterns of bacteria isolated from dogs with otitis externa. – J. Am. Vet. Ass., 1977, **171**, 362-363.
- 29 Bond R., Collin N.S., Lloyd D.H. – Use of contact plates for the quantitative culture of *Malassezia pachydermatis* from canine skin – J. Small An. Pract, 1994, **35**, 2, 68-72.
- 30 Bond R., Anthony R.M. – Characterization of markedly lipid-dependent *Malassezia pachydermatis* isolates from healthy dogs – J. Appl. Bact., 1995, **78**, 5, 537-542.
- 31 Bond R., Rose J.F., Ellis J.W., Lloyd D.H. – Comparison of two shampoos for treatment of *Malassezia pachydermatis*-associated seborrhoeic dermatitis in Basset Hounds – J. Small An. Pract, 1995, **36**, 3, 99-104.
- 32 Bond R., Lloyd D.H., Kwochka K.W., Willemsse T., Tsharner C.-von – The relationship between population sizes of *Malassezia pachydermatis* in healthy dogs and in Basset Hounds with *M. pachydermatis*-associated seborrhoeic dermatitis and adherence to canine corneocytes in vitro – In : Advances in veterinary dermatology, volume 3. Proceedings of the Third World Congress of Veterinary Dermatology, Edinburgh, Scotland, 11-14 September, 1996. 1998, 283-289.
- 33 Bond R., Ferguson E.A., Curtis C.F., Craig J.M., Lloyd D.H. – Factors associated with elevated cutaneous *Malassezia pachydermatis* populations in dogs with pruritic skin disease – J. Small An. Pract., 1996, **37**, 3, 103-107.
- 34 Bond R., Anthony R.M., Dodd M., Lloyd D.H. – Isolation of *Malassezia sympodialis* from feline skin – J. Med. Vet. Mycol., 1996, **34**, 2, 145-147.
- 35 Bond R., Lloyd D.H. – Comparison of media and conditions of incubation for the quantitative culture of *Malassezia pachydermatis* from canine skin – Res. Vet. Sci., 1996, **61**, 3, 273-274.
- 36 Bond R., Lloyd D.H. – Factors affecting the adherence of *Malassezia pachydermatis* to canine corneocytes in vitro – Vet. Dermatol., 1996, **7**, 1, 49-55.
- 37 Bond R., Lloyd D.H. – Skin and mucosal populations of *Malassezia pachydermatis* in healthy and seborrhoeic Basset Hounds. – Vet. Dermatol., 1997, **8**, 2, 101-106
- 38 Bond R., Howell S.A., Haywood P.J., Lloyd D.H. – Isolation of *Malassezia sympodialis* and *Malassezia globosa* from healthy pet cats – Vet. Rec., 1997, **141**, 8, 200-201.
- 39 Bond R., Lloyd D.H. – Studies on the role of carbohydrates in the adherence of *Malassezia pachydermatis* to canine corneocytes in vitro – Vet. Dermatol., 1998, **9**, 2, 105-109.
- 40 Bond R., Lloyd D.H. – Effect of topical therapy of *Malassezia pachydermatis*-associated seborrhoeic dermatitis on oral carriage of *M. pachydermatis* – Vet. Rec., 1998, **142**, 26, 722-726.
- 41 Bond R., Wren L., Lloyd D.H. – Adherence of *Malassezia pachydermatis* and *Malassezia sympodialis* to canine, feline and human corneocytes in vitro – Vet. Rec., 2000, **147**, 16, 454.
- 42 Bornand V. – Bacteriology and mycology of external otitis in dogs – Schweiz. Arch. Tierheilkd., 1992, **134**, 4, 341-348.
- 43 Bourdeau P., White S.D. – Le genre *Malassezia* et son intérêt en dermatologie des carnivores : morphologie et biologie – In : Comptes rendus des 10èmes Journées Annuelles du GEDAC, Le Touquet, 1995, 91-99.
- 44 Breathnach A.S., Gross M., Martin B. – Freeze-fracture replication of cultured *Pityrosporum orbiculare* – Sabouraudia, 1976, **14**, 105-113.
- 45 Breierova E., Kockova-Kratochvilova A., Sajbidor J., Ladzianska K. – *Malassezia pachydermatis* : properties and storage – Mycoses, 1991, **34**, 349-352.
- 46 Breitwieser F. – Results of bacteriologic and mycologic investigations of otitis media in dogs – Tierarztl. Prax., 1997, **25**, 3, 257.
- 47 Breuer-Strosberg R., Hochleithner M., Kuttin E.S. – *Malassezia pachydermatis* isolation from scarlet macaw – Mycoses, 1990, **33**, 247-250.
- 48 Buxton A., Fraser G. – Animal microbiology. Volume 1: immunology, bacteriology, mycology, diseases of fish and laboratory methods – Blackwell Scientific Publications, Oxford and London, 1977, 357 p.
- 48b Campbell K.L. – Fatty acid supplementation and skin disease – Vet. Clin. North Am. Small An. Pract., 1990, **20**, 6, 1475-1486.
- 49 Candido R.G., Zaror L., Fischman O., Gregorio Z., Isidoro T., Castanha J. – Antiseptic activity on *Malassezia pachydermatis* isolated from the external ear in dogs and cats – Bol. Micol., 1996, **11**, 1-2, 51-54.
- 50 Carlotti D.N., Laffort-Dassot C. – *Malassezia* dermatitis in the dog : review and retrospective study of 12 cases treated withazole derivatives – Prat. Med. Chir. An. Cie, 1996, **31**, 4, 297-307.
- 51 Carlotti D.N., Le-Roy S.T. – Otitis externa in the dog: aetiology and clinical findings; literature review and retrospective study of 752 cases – Prat. Med. Chir. An. Cie, 1997, **32**, 3, 243-257.

- 52 Carter G.R., Cole J.R. – Yeasts causing infection – *In* : Diagnostic proceeding in veterinary bacteriology and mycology, 5<sup>th</sup> Edition, Philadelphia, Lea and Febiger, 418-419.
- 53 Carter G.R., Cole J.R. – Mycoses Caused by Yeasts or Yeast-like Fungi – *In* : Essential of veterinary bacteriology and mycology, 3<sup>rd</sup> Edition, Philadelphia : Lea and Febiger, 1986, 232-235.
- 54 Chachaty R. – L'otite des carnivores domestiques, Essai de traitement par le voren otologique – Th. : Méd. Vet. : Toulouse, 1989-TOU 074, 131.
- 55 Chai T.J., Chai T.C. – Bactericidal activity of cerumen – Antimicrob. Agents Chemother., 1980, **18**, 638-641.
- 56 Chai F.C., Auret K., Christiansen K., Yuen P.W., Gardam D. – Malignant otitis externa caused by *Malassezia sympodialis* – Head Neck, 2000, **22**, 1, 87-89.
- 57 Chang H.J., Miller H.L., Watkins N., Arduino M.J., Ashford D.A., Midgley G., Agüero S.M., Pinto-Powell R., Von Reyn C.F., Edwards W., McNeil M.M., Jarvis W.R. – An epidemic of *Malassezia pachydermatis* in an intensive care nursery associated with colonization of health care workers' pet dogs – N. Engl. J. Med., 1998, **338**, 11, 706-711.
- 58 Charach M. – *Malassezia dermatitis* – Can. Vet. J., 1997, **38**, 5, 311-314
- 59 Chengappa M.M., Maddux R.L., Greer S.C. – A microbiologic survey of clinically normal and otitic canine ear canals – Vet. Med. Small An. Clin., 1983, **78**, 3, 343-344.
- 60 Cherniak R., Jones R.G., Reiss E. – Structure determination of *Cryptococcus neoformans* serotype A-variant glucuronoxylomannan by <sup>13</sup>C-n.m.r. spectroscopy – Carbohydr. Res., 172, 113-138
- 61 Chickering R. – Cytologic Evaluation of Otic Exudates – Vet. Clin. North Am. Small An. Pract., 1988, **18**, 4, 776.
- 62 Chryssanthou E., Broberger U., Petrini B. – *Malassezia pachydermatis* fungaemia in a neonatal intensive care unit – Acta Paediatr., 2001, **90**, 3, 323.
- 63 Cieslicki M. – Significance of the cortisone in preparations against ear inflammations : a critical consideration of drug combinations – Kleintierpraxis, 1991, **36**, 3, 140-150.
- 64 Colin E. H. – Ear canal disease in the dog : medical and surgical management – J. Am. Vet. Med. Ass., 1980, 177, **2**, 136-139.
- 65 Coutinho S.D.A. Paula-C.R. – Biotyping of *Malassezia pachydermatis* strains using the killer system – Rev. Iberoam. Micol., 1998, **15**, 2, 85-87.
- 66 Coutinho S.D., Paula C.R. – Proteinase, phospholipase, hyaluronidase and chondroitin-sulphatase production by *Malassezia pachydermatis* – Med. Mycol., 2000, **38**, 1, 73.
- 67 Crespo M.J., Abarca M.L., Cabanes F.J. – Isolation of *Malassezia furfur* from a cat – J. Clin. Microbiol., 1999, **37**, 5, 1573-1574.
- 68 Crespo Erchiga V., Ojeda Martos A., Vera Casano A., Crespo Erchiga A., Sanchez Fajardo F. – *Malassezia globosa* as the causative agent of  *pityriasis versicolor* – Br. J. Dermat., 2000, **143**, 4, 799-803.
- 69 Crespo M.J., Abarca M.L., Cabanes F.J. – Atypical lipid-dependent *Malassezia* species isolated from dogs with otitis externa – J. Clin. Microbiol., 2000, **38**, 6, 2383.
- 70 Crespo M.J., Abarca M.L., Cabanes F.J. – Otitis externa associated with *Malassezia sympodialis* in two cats – J. Clin. Microbiol., 2000, **38**, 3, 1263.
- 71 Crespo M.J., Abarca M.L., Cabanes F.J. – Evaluation of different preservation and storage methods for *Malassezia spp.* – J. Clin. Microbiol., 2000, **38**, 10, 3872.
- 72 Damoser J., Flatscher J., Mikula M., Kuttin E.S. – Mycological examinations of the external ear of foxes – Tierarztl. Umsch., 1992, **47**, 3, 193-195.
- 72b De Luca C., Picardo M., Brethnach A., Passi S. – Lipoperoxidase activity of *Pityrosporum* : caractérisation of by-products and possible role in *pityriasis versicolor* – Exp. Dermatol., 1996, **5**, 1, 49-56
- 73 Denerolle P. – *Malassezia pachydermatis* pododermatitis – *In* : Cahiers cliniques de Dermatologie vétérinaire, n°2 – Paris, GEDAC Groupe d'étude de la CNVSPA, 1997, 16-17.
- 74 Desoutter D. – Otite externe du chien, Flore bactérienne et fongique – Rev. élev. Med. Vet. Nouv. Calédonie 1986, **8**, 9-10.
- 75 Dixon D.M., McNeil M.M., Cohen M.L., Gellin B.G., Montagne J.R.-la – Fungal infections : a growing threat – Public Health Rep., 1996, 111, **3**, 226.
- 76 Dromigny E.M.E. – Trial of treatment of otitis externa in domestic carnivores with a miconazole preparation. – Th. : Méd. vet. : Alfort : 1978-ALF 058, 69 pp.
- 77 Drouhet E., Domp Martin D., Papachristou A., Ravisse P. – Dermatite expérimentale à *Pytirosporum ovale* et (ou) *Pytirosporum orbiculare* chez le cobaye et la souris – Sabouraudia, 1980, **18**, 149-156.

- 78 Duarte E.P., Melo M.M., Hahn R.C., Hamdan J.S. – Prevalence of *Malassezia spp.* in the ears of asymptomatic cattle and cattle with otitis in Brazil – *Med. Mycol.*, 1999, **37**, 3, 159.
- 79 Dubugras M.T.B., Larsson C.E., Ledon A.L.B.P., Gambale W. – Dermatmycoses of dogs and cats : Diagnostic aspects – *Pesqui. Vet. Bras.*, 1992, **29**, 2, 273-287.
- 80 Dufait R – Importance of *Pityrosporum canis* in canine otitis externa and dermatitis – *Kleintierpraxis*, 1978, **23**, 1, 29-32.
- 81 Dufait R. – Activity of some imidazole compounds against *Pityrosporum canis* – *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.*, 1981, **50**, 2, 99-102.
- 82 Dufait R – *Pityrosporon canis* as the cause of canine chronic dermatitis – *Vet. Med. Small An. Clin.*, 1983, **78**, 7, 1055-1057.
- 83 Dufait R. – Two cases of canine yeast infection treated with ketoconazole – *Vlaam Geneesk. Tijdschr.*, 1985, **54**, 5, 419-423.
- 84 Dufait R. – Presence of *Malassezia pachydermatis* (syn. *Pityrosporum canis*) on the hair and feathers of domestic animals – *Bull. Soc. Fr. Mycol. Med.*, 1985, **14**, 1, 19-22.
- 85 Dworecka-Kaszak B., Szykiewicz Z., Blaszcak B. – Evaluation of selected physiological and morphological characteristics of *Pityrosporum pachydermatis* isolated from clinical cases of otitis externa and dermatitis in dogs and cats – *Archiv. Vet. Pol.*, 1994, publ. 1996, **34**, 3-4, 163-175.
- 86 Dworecka-Kaszak B., Szykiewicz Z., Blaszcak B. – Clotrimazole sensitivity of *Pityrosporum [Malassezia] pachydermatis* strains isolated from cases of otitis externa in dogs – *Zycie Wet.*, 1994, **69**, 10, 383-385.
- 87 Dworecka-Kaszak B., Toka F.N. – Comparison of different methods of maintenance of *Malassezia pachydermatis* (s. *Pityrosporum pachydermatis*) strains – *Acta Microbiol. Pol.*, 1996, **45**, 1, 103-105.
- 88 Eichstedt E. – Pilzbildung in der *pityriasis versicolor* – 1846, 39-70.
- 89 El Bahay G.M., Refai M. – Cats and dogs as potential carriers of *Microsporum canis* – *J. Egypt. Vet. Med. Ass.*, 1973, **33**, 1-2, 63-69.
- 90 Ernst E., Lengnick H., Mahle D. – Use of panolog in veterinary practice with small animals – *Kleintierpraxis*, 1975, **20**, 6, 190-195.
- 91 Euzéby J. – Comparative medical mycology. Animal mycoses and their relations with human mycoses – Volume 2, Fondation Merieux, Lyon; France, 1994, 530 p.
- 92 Evans A.G. – *Malassezia*-associated dermatitis in a dog – *J. Am. Vet. Ass.*, 1991, **198**, 7, 1141-1142.
- 93 Faergemann J., Bernander S. – Tinea versicolor and *Pityrosporum orbicularae* : A mycological investigation – *Sabouraudia*, 1979, **17**, 171-179.
- 94 Faergemann J., Bernander S. – Micro-aerophilic and anaerobic growth of *Pityrosporum* species – *Sabouraudia*, 1981, **19**, 117-121.
- 95 Faergemann J., Djärv L. – Tinea versicolor : Treatment and Prophylaxis with ketoconazole – *Cutis*, 1982, **30**, 4, 542-545.
- 96 Faergemann J., Tjernlund U., Scheynius A., Bernander S. – Antigenic similarities and differences in genus *Pityrosporum* – *J. Inv. Dermatol.*, 1982, **78**, 28-31.
- 97 Faergemann J., Aly R., Maibach H.I. – Growth and filament production of *Pityrosporum orbiculare* and *P. ovale* on human stratum corneum in vitro – *Acta Dermatol. Venereol.*, 1983, **63**, 388-392.
- 98 Faergemann J – Current treatment of cutaneous *Pityrosporum* and *Candida* infections – *Acta Derm. Venereol suppl stockh*, 1986, **121**, 109.
- 99 Faergemann J., Ternesten Bratel A. – The in vitro effect of fluconazole on the filamentous form of *Pityrosporum ovale* – *Acta Derm. Venereol.*, 1996, **76**, 444-446.
- 100 Feijo F.M.C., De Souza N.F., Ramadinha R.H.R. – A study of the yeast *Malassezia pachydermatis* by examination of skin cytology in the dog – *Rev. Brasil. Med. Vet.*, 1998, **20**, 2, 66-68.
- 101 Foil C.S. – Fungal diseases – *Clin. Dermatol.*, 1994, **12**, 4, 529-542.
- 102 Fox S.M., Woody B.J. – The basics : Anatomy of the canine ear – *Vet. Med.*, 1986, **81**, 601-606.
- 103 Fraser G. – The fungal flora of the canine ear – *J. Comp. Path.*, 1961, **71** : 1-5.
- 104 Fraser G., Withers A.R., Spreull J.S.A. – Otitis externa in the Dog – *J. Small Anim. Pract.*, 1961, **2**, 32-47.
- 105 Fraser G. – *Pityrosporum pachydermatis* weidmann of canine origin. – *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 1961, **44**, 441-448.
- 106 Fraser G. – Factors Predisposing to canine external otitis – *Vet. Rec.*, 1961, **73**, 3, 55-58.
- 107 Fraser G. – Aetiology of otitis externa in the dog – *J. Small Anim. Pract.*, 1965, **6**, 445-452.
- 108 Fraser G., Gregor W.W., Mackensie C.P. – Canine ear disease – *J. Small Anim. Pract.*, 1970, **10**, 725.

- 109 Fredrikson T., Faergemann J. – Semantics : *Tinea* versus *pityriasis versicolor* and *Pityrosporum orbiculare* versus *Malassezia furfur*. Which is proper ? – Int. J. Dermatol. 1984, **23**, 110-111.
- 110 Gabal M.A. – Antifungal activity of ketoconazole with emphasis on zoophilic fungal pathogens – Am. J. Vet. Res., 1986, **47**, 6, 1229-1234.
- 111 Gabal M.A. – Preliminary studies on the mechanism of infection and characterization of *Malassezia pachydermatis* in association with canine otitis externa – Mycopathologia, 1988, **104**, 2, 93-98.
- 112 Gambale W., Correa B., Paula C.R., Purchio A., Larsson C.E. – Occurrence of fungi in superficial lesions in dogs in the city of Sao Paulo, Brazil – 1987, **24**, 2, 187-191.
- 113 Gedek B., BrutzeK., Gerlach R., Netzer F., Rocken H., Unger H. – The role of *Pityrosporum pachydermatis* in otitis externa of dogs : Evaluation of a treatment with miconazole – Vet. Rec., 1979, **104**, 7, 138-140.
- 114 Gehring H. – On a *Pityrosporum*-*Pyogenes* mixed infection in a one-year old male long-haired dachshund – KleintierPraxis, 1978, **23**, 3, 119-120, 122
- 115 Gentilini E., Denamiel G.A.A., Escalada J., Neyra J. – Chronic canine otitis. 1. Microbiological findings and sensitivity to antibiotics – Vet. Argent., 1991, **8**, 72, 113-116.
- 116 Gonzales-Cabo J.F., Lara-Gargallo C., Latre-Cequiel M.V., Solans-Aisa C. – Presence of *Pityrosporum pachydermatis* in otitis of dogs – Med. Vet., 1986, **3**, 10, 511-516.
- 117 Gordon M.A. – Lipophilic yeast-like organisms associated with tinea versicolor – J. Inv. Dermatol., 1951, **17**, 267-272.
- 118 Gordon M.A. – *Malassezia pachydermatis* (Weidman) Dodge 1935 – Sabouraudia, 1979, **17**, 305-309.
- 119 Gotthelf L.N. – Otitis externa – Waltham Focus, 2001, **11**, 1, 2-3.
- 120 Griffin C.E. – Otitis externa – Compending Continued Edit Pract. Vet., 1981, **3**, 741.
- 121 Grono L.R., Frost A.J. – Otitis externa in the dog : the microbiology of the normal and affected externa ear canal – Aust.Vet. J., 1969, **45**, 420-422.
- 122 Grono L.R. – Studies of the microclimate of the external auditory canal in the dog. III humidity of the external meatus – Res. Vet. Sci., 1970, **11** : 316-319.
- 123 Groux D., Heripret D. – Canine *Malassezia* dermatitis - a case report – Prat. Med. Chir. An. Cie, 1995, **30**, 3, 403-408.
- 124 Guaguere E., Carlotti D., Cadot P., Hannotte G. – Experimental diagnosis of dermatomycoses of dogs and cats – Prat. Med. Chir. An. Cie, 1985, **20**, 1, 24-26, 28-30.
- 125 Guaguere E., Prelaud P. – A retrospective study of 54 dogs with *Malassezia pachydermatis* dermatitis: epidemiological, clinical, cytological and histopathological results – Prat. Med. Chir. An. Cie, 1996, **31**, 4, 309-323.
- 126 Gueho E., Simmons R.B., Pruitt W.R. – Association of *Malassezia pachydermatis*. with systemic infections of humans – J. Clin. Microbiol., 1987, **25**, 1789-1790.
- 127 Gueho E. – Réévaluation du genre *Malassezia* à l'aide de la microscopie électronique et des comparaisons génomiques – Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd., 1988, **17**, 2, 245-254.
- 128 Gueho E., Meyer S.A. – A Reevaluation of the genus *Malassezia* by means of genome comparaison – Antonie Van Leeuwenhoek, 1989, **55**, 3, 245.
- 129 Gueho E., Midgley G., Guillot J. – The genus *Malassezia* with description of four new species – Antonie van Leeuwenhoek, 1996, **69**, 4, 337-355.
- 130 Guerre P. – Enseignement de Pharmacologie – Toulouse, France, 1996, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 35 p.
- 131 Guillot J. – Importance du Genre *Malasezia* chez les carnivores domestiques – Th. : Méd vet : Alfort : 1993-ALF 106, 101 p.
- 132 Guillot J., Chermette R., Gueho E. – Prevalence of the genus *Malassezia* in the Mammalia – J. Mycol. Med., 1994, **4**, 2, 72-79.
- 133 Guillot J., Gueho E., Chermette R. – Confirmation of the nomenclatural status of *Malassezia pachydermatis* – Antonie van Leeuwenhoek, 1995, **67**, 2, 173-176.
- 134 Guillot J., Gueho E. – The diversity of *Malassezia* yeasts confirmed by rRNA sequence and nuclear DNA comparisons – Antonie van Leeuwenhoek, 1995, **67**, 3, 297-314.
- 135 Guillot J. – Taxonomie et phylogénie des levures du genre *Malassezia* – Th. : Doctorat d'Université, Université Paris XII, Sciences de la vie et de la Santé, option Parasitologie, 1995.
- 135b Guillot J., Guého E., Lesourd M., Midgley G., Chévirier G., Dupont B. – Identification of *Malassezia* species, a practical approach – J. Mycol. Méd., 1996, **6**, 103-110.

- 136 Guillot J., Gueho E., Chevrier G., Chermette R. – Epidemiological analysis of *Malassezia pachydermatis* isolates by partial sequencing of the large subunit ribosomal RNA – Res. Vet. Sci., 1997, **62**, 1, 22-25.
- 137 Guillot J., Breugnot C., Chermette-R., de Barros M. – Usefulness of modified Dixon's medium for quantitative culture of *Malassezia* species from canine skin – J. Vet. Diag. Invest., 1998, **10**: 4, 384-386.
- 138 Guillot J., Petit T., Degorce-Rubiales F., Gueho E., Chermette R. – Dermatitis caused by *Malassezia pachydermatis* in a California sea lion (*Zalophus californianus*) – Vet. Rec., 1998, **142**, 12, 311-312.
- 138b Guillot J., Ghého E., Mialot M., Chermette R. – Importance des levures du genre *Malassezia* en dermatologie vétérinaire – Point Vet., 1998, **29**, 193, 691-701
- 139 Guillot J., Bond R. – *Malassezia pachydermatis*: a review – Med. Mycol. 1999; **37** (5): 295-306.
- 140 Guillot J., Deville M., Berthelemy M., Provost F., Gueho E. – A single PCR-restriction endonuclease analysis for rapid identification of *Malassezia* species – Lett. Appl. Microbiol., 2000, **31**, 5, 400.
- 141 Gupta A.K., Kohli Y., Li A., Faergemann J., Summerbell R.C. – In vitro susceptibility of the seven *Malassezia* species to ketoconazole, voriconazole, itraconazole and terbinafine – Br. J. Dermatol., 2000, **142**, 4, 758.
- 142 Gupta A.K., Kohli Y., Summerbell R.C. – Molecular differentiation of seven *Malassezia* species – J. Clin. Microbiol., 2000, **38**, 5, 1869.
- 143 Gustafson B.A. – Otitis externa in the dog : a bacteriological and experimental study – Th. : Méd vet., Royal veterinary College, 1955, Stockholm.
- 144 Gustafson B.A. – The occurrence of yeasts belonging to genus *Pityrosporum* in different kinds of animals – Acta Path. Microbiol. Scand., 1960, **48**, 51-55.
- 145 Hajsig M., Lukman P. – *Pityrosporum pachydermatis* (*P. canis*) in inflamed canine anal sacs – Vet. Arhiv., 1980, **50**, 1, 43-46.
- 146 Hajsig D., Naglic T., Ramadan P., Bauer M., Maticic Z. – Otitis externa in dogs: bacteriological and mycological study – Vet. Arhiv., 1980, **50**, 4, 159-164.
- 147 Hajsig M., Topolko S., Hajsig D., Svoboda-Vukovic D. – *Pityrosporum canis* in some wild mammals in Croatia – Vet. Arhiv., 1982, **52**, 5, 183-187.
- 148 Hajsig M., Nalevski M., Herak M. – Yeasts in the vagina of healthy swine – Vet. Arhiv., 1983, **53**, 2, 51-58.
- 149 Hajsig M., Tadic V., Luckman P. – *Malassezia pachydermatis* in dogs : significance of its location – Vet. Archiv, 1985, **55**, 259-266.
- 150 Hallu R.E., Gentilini E., Reuelto M., Albarellos G.A. – The combination of norfloxacin and ketoconazole in the treatment of canine otitis – Canine Pract., 1996, **21**, 2, 26-28.
- 150b Hanson H., Stevens D.A. – Evaluation of cilofugin, a lipopeptide antifungal agent, in vitro against fungi isolated from clinical specimens – Antimicrob. Agents Chemother., 1989, **33**, 8, 1391-1392.
- 151 Hayes H.M. Jr, Pickle W.L. – Effect of Ear type and weather on the hospital prevalence of canine otitis externa – Res. Vet. Sci., 1987, **42**, 294-298.
- 152 Heinze W., Holz J., Nattermann H., Blankenstein P. – Action of ethanol extracts of propolis on bacteria, fungi and viruses of veterinary importance, and on cell cultures – Tierarztl. Umsch., 1998, **53**, 6, 321-326.
- 153 Hennon J. – Otitis des carnivores domestiques : observations sur une année de consultation (oct 1991-Juin 1992) – Bourse de spécialisation de Parasitologie : Toulouse :1992-TOU 024, 133 p.
- 154 Huang H.P., Little C.J.L., Fixter L.M. – Effects of fatty acids on the growth and composition of *Malassezia pachydermatis* and their relevance to canine otitis externa – Res. Vet. Sci., 1993, **55**, 1, 119-123.
- 155 Huang H.P. – The prevalence of large and small colony-type of *Malassezia pachydermatis* in normal canine ears – Memoirs of the College of Agriculture, National Taiwan University, 1994, **34**, 3, 261-267.
- 156 Huang H.P., Yang H.L., Chen K.Y., Lai S.S. – The prevalence of large and small colony-types of *Malassezia pachydermatis* on canine skin – Memoirs of the College of Agriculture, National Taiwan University, 1994, **34**, 3, 268-272.
- 157 Ikeda T., Tabuchi K. – The antimicrobial activity of nanaomycin A against various microorganisms and its therapeutic effect on bovine dermatophytosis – Jap. J. Med. Mycol., 1987, **28**, 3, 285-290.
- 158 Iwata H., Yamaguchi H. – Mechanism of action of antimycotics – Med. Mycol., 1980, **8**, 225-231.
- 159 Jarrige J. – Contribution à l'étude du traitement des otites externes chez les carnivores domestiques. Expérimentation clinique du Bétaseptigen<sup>ND</sup> – Th. : Méd. vet. : Toulouse : 1988-TOU 048, 70 p.

- 160 Jeanclaude D. – The role of *Pityrosporum pachydermatis* in otitis externa of the dog. Evaluation of treatment with miconazole – *Animal de Compagnie*, 1981, **16**, 4, 331-345.
- 161 Joshua J.O. – Diseases of the external auditory meatus of the dog and cat – *Vet. Rec.*, 1958, **70**, 115.
- 162 Kano R., Aizawa T., Nakamura Y., Watanabe S., Hasegawa A. – Chitin synthase 2 gene sequence of *Malassezia* species – *Microbiol. Immunol.*, 1999, **43**, **8**, 813.
- 163 Kaplan A.D. – Treatment of ear conditions in small animals – *Vet. Med.*, 1951, 212-213.
- 164 Keddie F.M., Barajas L. – Quantitative ultrastructural various between *Pityrosporum ovale* and *P. orbiculare* based on serial section electron microscopy – *Int. J. Dermat.*, 1972, **11**, 40-48.
- 165 Kennis R.A. – Quantitation and topographical analysis of *Malassezia* organism on normal canine skin – *Vet. Dermatol.*, 1992, **3**, 6, 252-253.
- 166 Kennis R.A., Rosser E.J.-Jr., Olivier N.B., Walker R.W. – Quantity and distribution of *Malassezia* organisms on the skin of clinically normal dogs – *J. Am. Vet. Ass.*, 1996, **208**, 7, 1048-1051.
- 167 Kielstein P., Blaschke-Hellmessen R. – Latest developments in detection and differentiation of yeasts obtained from animal-related samples – *Monatsh. Vetg. Med.*, 1990, **45**, 21, 768-775.
- 168 Kiss G., Szigeti G. – Incidence of *Malassezia pachydermatis* [yeast]. I. Characterization of *Malassezia* genus. II. Its importance in canine otitis externa – *Magy. Allatorv. L.*, 1993, **48**, 2, 76-81.
- 169 Kiss G., Szigeti G., Lukats B., Papp L., Nagy G. – A new, effective product (Otex ear drops) for drug therapy of otitis externa in dogs – *Magy. Allatorv. L.*, 1993, **48**, 9, 555-558.
- 170 Kiss G., Papp L. – Diagnosis and therapy of diseases due to *Malassezia pachydermatis* [in dogs and cats] – *Magy. Allatorv. L.*, 1994, **4**, 12, 745-748.
- 171 Kiss G., Radvanyi S., Szigeti G. – Characteristics of *Malassezia pachydermatis* strains isolated from canine otitis externa – *Mycoses*, 1996, **39**, 7-8, 313-321.
- 172 Kiss G., Radvanyi S., Szigeti G. – New combination for the therapy of canine otitis externa. I. Microbiology of otitis externa – *J. Small An. Pract.*, 1997, **38**, 2, 51-56.
- 173 Kiss G., Radvanyi S., Szigeti G., Lukats B., Nagy G. – New combination for the therapy of canine otitis externa. II. Efficacy in vitro and in vivo – *J. Small An. Pract.*, 1997, **38**, 2, 57-60.
- 174 Kiuchi A., Taharaguchi S., Hanazawa R., Hara M., Ikeda T., Tabuchi K. – Chromosome-sized DNA of *Malassezia pachydermatis* by pulsed-field gel electrophoresis – *J. Vet. Med. Sci.*, 1992, **54**, 6, 1219-1220.
- 175 Klein B.U., Muller E. – Bacteria and fungi associated with external otitis in dogs and cats, and their resistance to antimicrobial agents - *Kleintierpraxis*, 1999, **4**, 27-30.
- 176 Kockova-Kratochvilova A., Ladzianska K., Bucko S. – *Malassezia pachydermatis* in small animals – *Mykosen*, 1987, **30**, 541-543.
- 177 Korting H.C., Loferer S., Hamm N. – The detergent scrub method for quantitative determination of *Malassezia furfur* on chest and back skin : comparative evaluation of three different media – *Mycoses*, 1991, **34**, 267-271.
- 178 Kowalski J.J. – The microbial environment of the ear canal in health and disease – *Vet. Clin. North Am. Small An. Pract.*, 1988, **18**, 4, 743-754.
- 179 Krabisch P., Amtberg G. – Occurrence of yeasts in diagnostic material from domestic and zoo animals – *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, 1974, **81**, 2, 40-42.
- 180 Kreger-van Rij N.J.W., Veenhuis M. – An electron Microscope Study of the Yeast *Pityrosporum ovale* – *Arch. Microbiol.*, 1970, **71**, 123-131.
- 181 Kreger-van Rij N.J.W. – The yeasts, a taxonomic study – Amsterdam : Elsevier Science Publication, 1984.
- 182 Krogh H.V., Linnet A., Knudsen P.B. – Otitis externa in the dog-a clinical and microbiological study. *Nord. Vet. Med.*, 1975, **27**, No.5, 285-295.
- 183 Ksiazek J., Wawrykiewicz G. – Aetiology of bacterial and fungal otitis in dogs – *Mag. Wet.*, 1995, **4**, 6, 480-483.
- 184 Kubinski T., Maciak T. – Bacterial and fungal flora in otitis externa of dogs – *Med. Wet.*, 1988, **44**, 1, 31-34.
- 185 Kures L., Percebois G., Basile AM. – A yeast common in veterinary practice : *Pityrosporum pachydermatis* (apropos the isolation of 58 strains) – *Bull. Soc. Fr. Mycol. Med.* 1983, **12**, 1, 35-38.
- 186 Kuttin E.S., Muller J. – The fungal flora of zoo animals' ears – *Mycoses*, 1994, **37**, 1-2, 59-60.
- 187 Ladzianska K., Kockova Kratochvilova A., Bucko S. – *Malassezia pachydermatis* in small animals – *Veterinarstvi*, 1988, **38**, 12, 549.
- 188 Langoni H., Fessel Y.M.N., Listoni F.J.P., Fava N. – Microbial flora of the ears of dogs without otitis – *Arqu. Brasil. Med. Vet. Zoot.*, 1991, **43**, 3, 255-260.

- 189 Larocco M., Dorenbaum A., Robinson A., Pickering L.K. – Recovery of *Malassezia pachydermatis* from eight infants in a neonatal intensive care nursery : clinical and laboratory features – *Pediatr. Infect. Dis.*, 1988, **7**, 6, 398-401.
- 190 Larsson C.E. – Study of ear diseases in dogs and cats – *Th. : Méd Vet. : Université de Sao Paulo, Brésil*, 1987.
- 191 Larsson C.E., Gandra C.R., Larsson M.H., Hagiwara M.K., Amaral R.C., Fernandes W.R. – Dermatitis in dogs caused by *Malassezia (Pityrosporum) pachydermatis* – *Ars Vet.*, 1988, **4**, 1, 63-68.
- 192 Lauwerys-de-Nollin S., Borgers M. – Ultrastructure of yeast cells (*Candida*, *Pityrosporum*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*) and changes after in vitro treatment with miconazole – *Vlaam Diergeneeskund. Tijdsch.* 1975, **4**, 3, 77-91.
- 193 Lee J.H., Oh T.H., Han H.R., Cho S.N. – Immune reaction to infection by *Malassezia pachydermatis* in canine external ear canals – *Korean J. Vet. Clin. Med.*, 1996, **13**, 2, 130-139.
- 194 Lloyd D.H., Bond R., Lampion I. – Antimicrobial activity in vitro and in vivo of a canine ear cleanser – *Vet. Rec.*, 1998, **143**, 4, 111-112.
- 195 Lloyd D.H., Lampion A.T. – Activity of chlorhexidine shampoos in vitro against *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Malassezia pachydermatis* – *Vet. Rec.*, 1999, **19**, 536-537.
- 196 Lodder J. – Die anaskosporogenen Hefen – *Verh. Kon. Akad. Wetenschap. Amsterdam, Afd. Natuurkund*, 1934, **32**, 183-190.
- 197 Lorenzini R., Sala V. – Clinical and diagnostic criteria in otitis externa of dogs: experimental studies – *Atti. Soc. Ital. Sci. Vet.*, 1983, **37**, 366-369.
- 198 Lorenzini R., Bernardis F.-de, Nanni A., Mercantini R., Albano M. – Further studies on the activity of antifungal agents on *Malassezia spp.* – *Atti. Soc. Ital. Sci. Vet.*, 1984, **38**, 379-381.
- 199 Lorenzini R., Mercantini R., Bernardis F.-de – In vitro sensitivity of *Malassezia spp.* To various antimycotics – *Drugs Exp. Clin. Res.*, 1985, **11**, 6, 393.
- 200 Lorenzini R., Bernardis F.-de – Studies on the isolation, growth and maintenance of *Malassezia pachydermatis* – *Mycopathologia*, 1987, **99**, 2, 129-131.
- 201 Losson B., Benakhla A. – *Pityrosporum canis* and otitis externa of the dog and cat: its role and importance in relation to other constituents of the bacterial fungal and parasitic flora – *Ann. Med. Vet.*, 1980, **124**, 6, 435-442.
- 202 Lukman P. – *Pityrosporum canis* in healthy and diseases dogs – *Vet. Arhiv*, 1982, **52**, 1, 37-44.
- 203 Luntz J., Hoffer R.E., Richardson R.C. – Otitis externa – *Canine Pract.*, 1979, **6**, 5, 49.
- 204 Macy D.W., Seim H.B. – Medical and surgical aspects of the ear : Parts I and II. – In : 52th annual meeting of the American Animal Hospitalisation Association, 1985, vol. 20, 137.
- 205 Maestroni G., Tompson E., Yeisley H., Mitrovic M. – In vitro activity of antimicrobial agents against *Pityrosporum canis* – *Vet. Med. Small An. Clin.*, 1976, **71**, 12, 1681-1683.
- 206 Malassez L. – Note sur le champignon du *pityriasis* simple – *Arch. Physiol.*, 1874, **2**, 451-464.
- 207 Mancianti F., Rum A., Nardoni S., Corazza M. – Extracellular enzymatic activity of *Malassezia spp.* isolates – *Mycopathologia*, 2001, **149**, 3, 131-5.
- 208 Maktrelow B.W. – Yeasts of the genus *Pityrosporum* in the mammalian external auditory canal, with reference to the dog – *N. Zeal. Vet. J.*, 1960, **8**, 76-78.
- 209 Mansfield P.D. – Preventive ear care for dogs and cats – *Vet. Clin. North Am. Small An. Pract.*, 1988, **18**, 4, 845-858.
- 210 Mansfield P.D., Boosinger T.R., Attleberger M.H. – Infectivity of *Malassezia* – *J. Am. An. Hosp. Assoc.*, 1990, **26**, 1, 97-100.
- 211 Manzini S. – Otitis externa in dogs. Aetiological diagnosis and therapeutic indications – *Boll. Ass. Italiana Vet. Piccoli Animali*, 1989, **28**, 3, 181-186.
- 212 Marchand A. – Laboratory diagnoses of otitis in dogs and cats – *Rec. Méd. Vét.* 1973, 149: No.7, 963-964.
- 213 Marcon M.J., Powell D.A. – Human infections due to *Malassezia spp.* – *Clin. Microbiol. Reviews*, 1992, **5**, 2, 101-119.
- 214 Marouteix L. – La flore fongique cutanée du chien séborrhéique. Rôle des levures du genre *Malassezia* et essai de traitement par l'énilconazole – *Th. : Méd. vet.*, Nantes : 1994-NAN 091,112 p.
- 215 Marsella R., Kunkle G.A., Vaughn D.M., MacDonald J. – Double-blind pilot study on the effects of ketoconazole on intradermal skin test and leukotriene C4 concentration in the skin of atopic dogs – *Vet. Dermat.*, 1997, **8**, 1, 3-10.
- 216 Marshall M.J., Harris A.M., Horne J.E. – Bacteriological and clinical assessment of a new preparation for the treatment of otitis externa in dogs and cats – *J. Small An. Pract.*, 1974, **15**, 6, 401-410.

- 217 Marx M. – *Malassezia (Pityrosporum) pachydermatis* as a cause of otitis externa in dogs – Tagung der Fachgruppe "Bakteriologie und bakterielle Krankheiten", Schloss Rauischholzhausen, 8-10 Juni 1988. 1988, 144-156.
- 218 Mason K.V., Evans A.G. – Dermatitis associated with *Malassezia pachydermatis* in 11 dogs – J. Am. An. Hosp. Ass., 1991, **27**, 1, 13-20.
- 219 Mason K.V. – Cutaneous *Malassezia* – In : Current Veterinary Dermatology : the Science and Art of Therapy. Griffin C.E., Kwochka K.W., Mac Donald J.M. (Eds). Mosby Year Book, Saint Louis, 1993, 44-48.
- 220 Masuda A., Sukegawa T., Mizumoto N., Tani H., Miyamoto T., Sasai K., Baba E. – Study of lipid in the ear canal in canine otitis externa with *Malassezia pachydermatis*. – J. Vet. Med. Sci., 2000, **62**, 11, 1177.
- 221 Matakief E. – Le pityriasis versicolor et son parasite – Th. : Méd, Nancy, Faculté de Médecine, 1899, 51 p.
- 222 Mathieson I., Fixter L.M., Little C.J.L., Kwochka K.W., Willemse T., Tschanner C.-von – Enzymatic activity of *Malassezia pachydermatis* – In : Advances in veterinary dermatology, volume 3. Proceedings of the Third World Congress of Veterinary Dermatology, Edinburgh, Scotland, 11-14 September, 1996. 1998, 532-533.
- 223 Mayser P., Grunder K. – Growth inhibition of *Malassezia* species by pharmacological concentrations of polidocanol – Mycoses, 1995, **38**, 1-2, 23.
- 224 Mayser P., Haze P., Papavassilis C., Pickel M., Gruender K., Gueho E. – Differentiation of *Malassezia* species : selectivity of cremophor EL, castor oil and ricinoleic acid for *M. furfur* – Br. J. Dermat., 1997, **137**, 2, 208.
- 225 McCarthy G., Kelly W.R. – Microbial species associated with the canine ear and their antibacterial sensitivity patterns – Irish Vet. J., 1982, **36**, 6-7, 53-56.
- 226 McKellar Q.A., Rycroft A., Anderson L., Love J. – Otitis externa in a foxhound pack associated with *Candida albicans* – Vet. Rec., 1990, **127**, 1, 15-16.
- 227 Megarry S., Pett A., Scarlett A., Teh W., Zeigler E., Canter R.J. – The activity against yeasts of human cerumen – J. Laryngol. Otol., 1988, **102**, 8, 671-672.
- 228 Mickelsen P.A., Viano-Paulson M.C., Stevens D.A., Diaz P.S. – Clinical and microbiological features of infection with *Malassezia pachydermatis* in high-risk infants – J. Infect. Dis., 1988, **157**, 6, 1163-1168.
- 229 Midgley G. – The diversity of *Pityrosporum (Malassezia)* yeasts in vivo and in vitro – Mycopathologia, 1989, **106**, 143-153.
- 230 Mobley D., Meyer D.J. – A dermatitis associated with *Malassezia* in kenneled dogs – Vet. Med., 1994, **89**, 6, 520, 522-523.
- 231 Morris D.O. – *Malassezia* dermatitis and otitis – Vet. Clin. North Am. Small An. Pract., 1999, **29**, 6, 1303.
- 232 Morrison V.A., Weisdorf D.J. – The spectrum of *Malassezia* infections in the bone marrow transplant population – Bone Marrow Trans., 2000, **26**, 6, 645.
- 233 Muller W.H., Scott D.W., Griffin C.E. – Muller and Kirk's Small Animal Dermatology 3<sup>rd</sup> edition, W.B. Saunders cie, Philadelphia, 1983.
- 234 Muller E., Heusinger A. – Microbiological results of ear swabs from dogs and cats – Tierarztl. Prax., 1994, **22**, 1, 80-84.
- 235 Nakabayashi A., Sei Y., Guillot J. – Identification of *Malassezia* species isolated from patients with seborrheic dermatitis, atopic dermatitis, *pityriasis versicolor* and normal subjects – Med. Mycol., 2000, **38**, 5, 337.
- 236 Nakagaki K., Hata K., Iwata E., Takeo K. – *Malassezia pachydermatis* isolated from a South American sea lion (*Otaria byronia*) with dermatitis – J. Vet. Med. Sci., 2000, **62**, 8, 901.
- 237 Nazzaro-Porro M., Passi S., Caprilli F., Mercantini R. – Induction of hyphae in cultures of *Pityrosporum* by cholesterol and cholesterol esters – J. Invest. Dermat., 1977, **69**, 531-534.
- 238 Nicholas R.O., Berry V., Hunter P.A., Kelly J.A. – The antifungal activity of mupirocin – J. Antimicrob. Chemother., 1999, **43**, 4, 579.
- 239 Nicklas W. – Microbial flora in the external ear canal of cats – Kleintierpraxis, 1979, **24**, 3, 107-111.
- 240 Nicklas W., Munne J. – Mycological and bacteriological studies on the microbial flora involved in external otitis of dogs – Tierarztl. Umsch., 1979, **34**, 9, 606-615.
- 241 Nicklas W., Busse M. – Proteolysis by *Pityrosporum pachydermatis* – Mykosen, 1982, **25**, 633-637.
- 242 Nishikawa H., Hara N., Kosugi C., Saito K., Hatai K. – Suitability of lipid materials for culture of *Malassezia* as evaluated from its cellular fatty acid composition – Mycoscience, 1997, **38**, 2, 155-161.

- 243 Nishimura K., Asada Y., Tanaki S., Watanabe S. – Ultrastructure of budding process of *Malassezia pachydermatis* – J. Med. Vet. Mycol., 1991, **29**, 387-391.
- 244 Nobre M., Meireles M., Gaspas L.F., Pereira D., Schramm R., Schuch L.F., Souza L. – *Malassezia pachydermatis* and other infectious agents in otitis externa and dermatitis in dogs – Ciencia Rural, 1998, **28**, 3, 447-452.
- 245 Ojo M.O. – Pathogenic aerobic bacteria and fungi isolated from stray dogs in Trinidad – Rev. Elevage Med., 1994, **47**, 2, 179-181.
- 246 Pal M., Lee C.W. – Canine dermatitis associated with *Malassezia pachydermatis* – Korean J. Vet. Clin. Med., 1997, **14**, 1, 108-111.
- 247 Palacin C., Tarrago C., Ortiz J.A. – In vitro activity of sertaconazole against *Malassezia furfur* and *M. pachydermatis* in different culture media – Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol., 1998; **20**, 6, 451.
- 248 Pechere M., Krischer J., Remondat C., Bertrand C., Trellu L., Saurat J.H. – *Malassezia spp* carriage in patients with seborrheic dermatitis – J. Dermatol., 1999, **26**, 9, 558.
- 249 Pedersen K. – Seborrheic dermatitis in 10 dogs caused by *Malassezia pachydermatis*. An overlooked problem – Dansk Veterinaertidsskrift, 1992, **75**: 12, 513-520.
- 250 Pinter L., Noble W.C. – Stomatitis, pharyngitis and tonsillitis caused by *Malassezia pachydermatis* in a dog – Vet. Dermatol., 1998, **9**, 4, 257-261.
- 251 Pugh K.E., Evans J.M., Hendy P.G. – Otitis externa in the dog and cat : Evaluation of a new treatment – J. Small An. Pract., 1974, **15**, 387-400.
- 252 Raabe P., Mayser P., Weiss R. – Demonstration of *Malassezia furfur* and *M. sympodialis* together with *M. pachydermatis* in veterinary specimens – Mycoses, 1998, **41**, 11-12, 493-500.
- 253 Randjandiche M. – Le genre *Pityrosporum* Sabouraud 1904 – Th. : Méd. vet., Faculté de Liège, Belgique, 1979.
- 254 Rausch F.D., Skinner G.W. – Incidence and treatment of budding yeasts in canine otitis externa – Mod. Vet. Pract., 1978, **59**, 12, 914-915.
- 255 Reynaud M.C., Chauve C. – *Pityrosporum canis* : Observations cliniques et contribution à l'étude du système enzymatique des souches isolées – Bull. Soc. Fr. Mycol. Med., 1983, **12**, 2, 209-213.
- 256 Reynaud M.C., Chauve C. – Study in vitro of hexamidine antifungal activity against the yeast *Pityrosporum canis* (*Malassezia pachydermatis*) – Bull. Soc. Fr. Mycol. Med., 1986, **15**, 1, 269-272.
- 257 Ridcharson R.C. – Otitis externa – Can. Pract., 1979, **6**, 5, 49.
- 258 Riebeiro A.M., Delourdes Quinta M., Abreu Dias M. – The relationship of the laboratory diagnosis to treatment of canine otitis externa – J. Small Anim. Pract., 1979, **10**, 645.
- 259 Rosser A. – Evaluation of the patient with otitis externa – Vet. Clin. North Am. Small An. Pract., 1988, **18**, 4, 765-772.
- 260 Rosychuk R. – Ear, nose and throat – Vet. Clin. North Small Am. Pract., 1994, **24**, 5, 938.
- 261 Ruckebusch Y. – Physiologie, Pharmacologie, Thérapeutique animale. 2<sup>e</sup> édition. Paris : Maloine S.A. Paris, 1981, 611 p.
- 262 Rycroft A.K., Saben H.S. – A clinical study of otitis externa in the dog – Can. Vet. J., 1977, **18**, 64.
- 263 Sabouraud R. – Maladie du cuir chevelu, II Les maladies desquamatives. *Pityriasis* et alopecies pelliculaires – Masson, Paris, 1904.
- 264 Saez H. – *Pityrosporum pachydermatis* : morpho-biochemical characteristics, comparative frequency in animals and man – Ann. Méd. Vét., 1982, **126**, 8, 645-650.
- 265 Sala V., Lorenzini R., Bernadis F.-de, Pistoia C. – Antibiotic and antimycotic sensitivity of microorganisms isolated from otitis externa in dogs – Atti soc. Italiana Sci. Vet., 1983, **37**, 380-383.
- 266 Salkin I.F., Gordon M.A., Stone W.B. – *Pityrosporum pachydermatis* in a black bear (*Ursus americanus*) – Sabouraudia, 1978, **16**, 1, 35-38
- 267 Salkin I.F., Stone W.B., Gordon M.A. – Association of *Malassezia (Pityrosporum) pachydermatis* with sarcoptic mange in New York State – J. Wildlife Dis., 1980, **16**, 4, 509-514.
- 268 Sanguinetti V., Tampieri M.P., Morganti L., Marucci C. – Isolation of *Malassezia (Pityrosporum) pachydermatis* from cases of chronic otitis externa in dogs – Obiettivi Doc. Vet., 1983, **9**, 41-43.
- 269 Sanguinetti V., Tampieri M.P., Morganti L. – A survey of 120 isolates of *Malassezia (Pityrosporum) pachydermatis* : preliminary study – Mycopathologia, 1984, **85**, 1-2, 93-95.
- 270 Saridomichelakis M.N., Koutinas A.F., Bourdzi-Hatzopoulou E., Petridou E., Hatziefremidis I., Leontides L. – Recovery of *Microsporum gypseum* and *Malassezia pachydermatis* from the nasalbridge in various dog groups – Vet. Rec., 1999, **145**, 6, 171.

- 271 Schechtman R.C., Midgley G., Bingham J.S., Hay R.J. – Adherence of *Malassezia* isolates to human keratinocytes in vitro : a study of HIV-positive patients with seborrhoeic dermatitis – Br. J. Dermatol., 1995, **133**, 537-541.
- 272 Schmidt A. – In vitro activity of climbazole, clotrimazole and silver-sulphadiazine against isolates of *Malassezia pachydermatis* – Zentralbl. Veterinarmed. B, 1997, **44**, 4, 193.
- 273 Scott D.W. – External ear disorders – J. Am. An. Hosp. Ass., 1980, **16**, 426-433.
- 274 Scott D.W., Miller W.H. Jr. – Epidermal dysplasia and *Malassezia pachydermatis* infection in West Highland White Terriers – Vet. Dermatol., 1989, **1**, 1, 25-36.
- 275 Scott D.W. – Bacteria and yeast on the surface and within non-inflamed hair follicles of skin biopsies from dogs with non-neoplastic dermatoses – Cornell Vet., 1992, **82**, 4, 379-386.
- 276 Scott D.W., Miller W.H., Griffin C.E. – *Malasseziasis*, Chapter 5 : Fungal diseases – In : Muller and Kirk's Small Animal Dermatology, 5<sup>th</sup> Ed, Saunders WB Compagny Philadelphia, 1995, 351-357.
- 277 Senczek D., Siesenop U., Bohm K.H. – Characterization of *Malassezia* species by means of phenotypic characteristics and detection of electrophoretic karyotypes by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) – Mycoses, 1999, **42**, 5-6, 409.
- 278 Sharma V.D., Rhoades H.E. – The occurrence and microbiology of otitis externa in the dog – Small An. Pract., 1975, **16**, No.4, 241-247.
- 279 Simmons R.B., Ahearn D.G. – Cell wall ultrastructure and diazonium blue B reaction of *Sporopachydermia quercuum*, *Bullera tsugae* and *Malassezia* spp. – Mycologia, 1987, **79**, 38-43.
- 280 Sinha B.K., Mohapatra L.N., Kumar R. – Studies on experimental otomycosis in dogs – Indian J. Exp. Biol., 1973, **11**, 4, 339, 340.
- 281 Sinha B.K., Mohapatra L.N., Kumar R. – Studies on otitis externa in dogs. 1. Survey of aetiological agents: fungi – Mykosen, 1976, **19**, 2, 63-69
- 282 Sloof W.C. – *Pityrosporum* Sabouraud – In : Looder J. (ed.), The yeasts : A Taxonomic study, 2<sup>nd</sup> revised, enlarged edition, Amsterdam, North holland Publishing, 1970.
- 283 Smith J.M. – The association of yeasts with chronic otitis externa in the dog – Aust Vet. J., 1968, **44**, 413-415.
- 284 Smitka C.M., Kane J., Prescott J.J., Barnum D.A. – Isolation and characterization of *Pityrosporum* species isolated from dogs' ears – Can. Vet. J., 1984, **25**, 2, 110-111.
- 285 Spaterna A., Porciello F., Rueca F., Mechelli L. – *Malassezia (Pityrosporum) pachydermatis* in dogs – Act. Med. Vet., 1995, **41**, 4, 319-329.
- 286 Staroniewicz Z., Krol J., Cierpisz J. – Bacterial and fungal flora in dogs with otitis externa – Med. Wet., 1995, **51**, 11, 667-670.
- 287 Stellmacher W., Donath R. – Results of microbiological studies of ear swabs from dogs – Mon. Kefte Vet. Med., 1986, **41**, 12, 415-417.
- 288 Studdert V.P., Hughes K.L. – A clinical trial of a tropical preparation of miconazole, polymyxin and prednisolone in the treatment of otitis externa in dogs – Aust. Vet. J., 1991, **68**, 6, 193-195.
- 289 Swift J.A., Dumbar S.F. – Ultrastructure of *Pityrosporum ovale* and *Pityrosporum canis* – Nature, 1965, **206**, 1174-1175.
- 290 Takahashi M., Ushijima T., Ozaki Y. – A growth promoting agent for *Pityrosporum* produced by some species of *Staphylococcus* – Jap. J. Med. Mycol., 1982, **23**, 240-245
- 291 Takeo K., Nakai E. – Mode of cell growth of *Malassezia (Pityrosporum)* as natural markers – Can. J. Microbiol., 1986, **32**, 389-394.
- 292 Todesco R. – Contribution à l'étude des otites externes chez le chien en région lyonnaise et grenobloise – Th. : Méd. vet. : Lyon : 1985-LYO 003, 74 p.
- 293 Tonelli A. – Use of cetrimide, salicylic acid and benzocaine for ear washes in cases of canine otitis externa – Vet. Argent., 1988, **5**, 47, 592, 594-596.
- 294 Tsuboi R., Ogawa H., Bramono K. – Pathogenesis of superficial mycoses – J. Med. Vet. Mycol., 1994, **32** (Suppl. 1), 91-104.
- 295 Uchida Y., Nakade T., Kitazawa K. – Clinico-microbiological study of the normal and otitis external ear canals in dogs and cats. – Jap. J. Vet. Science, 1990, **52**, 2, 415-417.
- 296 Uchida Y., Nakade T., Kitazawa K. – In vitro activity of five antifungal agents against *Malassezia pachydermatis* – Jap. J. Vet. Science, 1990, **52**, 4, 851-853.
- 297 Uchida K., Aoki K., Yamagushi H. – In vitro antifungal activity of amorolfine against *Malassezia* species – Jap. J. antibiot., 1991, **44**, 9, 1013.
- 298 Uchida Y., Mizutani M., Kubo T., Nakade T., Otomo K. – Otitis externa induced with *Malassezia pachydermatis* in dogs and the efficacy of pimarinin – J. Vet. Med. Sci., 1992, **54**, 4, 611-614.

- 299 Uchida Y., Nakade T., Otomo K., Yamane Y., Higasitsutsumi M. – Efficacy of a pimarin suspension for treating otitis externa associated with *M. pachydermatis* – J. Small An. Pract., 1994, **35**, 10, 521-523.
- 300 Uchida Y., Onodera S., Nakade T., Otomo K. – Sterol composition in polyene antibiotic-sensitive and resistant strains of *Malassezia pachydermatis* – Vet. Res. Commun., 1994, **18**, 3, 183-187.
- 301 Vallejo L.C., Benedetti E.A.-de – Ootomycosis in the dog. Infection by *Pityrosporum ovale* – Gac. Vet., 1976, **38**, 308, 70-74.
- 302 Van Belkum A., Boekhout T., Bosbomm R. – Monitoring spread of *Malassezia* infections in a neonatal intensive care unit by PCR-mediated genetic typing – J. Clin. Microbiol., 1994, **32**, 10, 2528-2532.
- 303 Van Cutsem J., Keyser H.-de, Rochette F., Flaes M. -van-der – Survey of fungal isolates from alopecias and asymptomatic dogs – Vet. Rec., 1985, **116**, 21, 568-569.
- 304 Van Cutsem J., Van Gerven F., Van Peer A., Woestenborghs R., Franden J., Janssen P.A.J. – Ketoconazole : Activité in vitro sur *Pityrosporum*. Efficacité dans la Pityrosporose expérimentale du cobaye et dans le *Capitis* humain. – Bull. Soc. Fr. Myco. Med., 1988, **17**, 2, 283-294.
- 305 Vanbreusegen J. – Guide Pratique de Mycologie Médicale et Vétérinaire – 2<sup>e</sup> édition. Paris : Masson, 1978, 245 p.
- 306 Veillet G., Vandaële E. – Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires et des Produits de Santé Animale – 11<sup>ème</sup> éd., Edition du Point Vétérinaire, Maisons-Alfort, France, 2001.
- 307 Vidal, Dictionnaire – 77<sup>ème</sup> éd., Edition du Vidal, Paris, France, 2001.
- 308 Virat M. – The fungal flora of the ear of the dog. Its role in the aetiology of otitis externa – Th. : Méd vet : Toulouse : 1972-TOU 028, 90 pp.
- 309 Wallmann J. – Investigation into the aetiological importance of *Malassezia pachydermatis* in otitis externa of the dog – Th : Méd vet : Freien Universität Berlin, 1988, 162 p.
- 310 Wallmann J., Marx M. – Efficacy of "Surolan" in treating otitis externa of dogs – Praktisch. Tierarzt., 1990, **71**, 8, 16-21.
- 311 Watanabe S., Kano R., Sato H., Nakamura Y., Hasegawa A. – The effects of *Malassezia* Yeasts on cytokine production by human keratinocytes – J. Invest. Dermatol., 2001, **116**, 5, 769-773.
- 312 Wawrzekiewicz K., Wolski T., Ziolkowska G., Kawka S. – Fungicidal and fungistatic effect of extracts from the fruit of *Archangelica officinalis* Hoffm – Med. Wet. 1990, **46**, 8, 289-292.
- 313 Weidman F.D. – Exfoliative dermatitis in the Indian rhinoceros (*Rhinoceros unicornis*), with description of a new species : *Pityrosporum pachydermatis* – In : Fox H, ed Rep Lab Mus Comp Zoo Soc Philadelphia, 1925, 36-43.
- 314 Weiss R., Raabe P., Mayser P. – Yeasts of the genus *Malassezia*: taxonomic classification and significance in veterinary and clinical medicine – Mycoses, 2000, **43**, Suppl 1, 69-72.
- 315 Welbel S.F., McNeil M.N., Pramanik A., Dilberman R. Oberle A.D., Midgley G. – Nosocomial *Malassezia pachydermatis* bloodstream infections in a neonatal intensive care unit. – Pediatr. Infect. Dis. J., 1994, **13**, 2, 104.
- 316 White S.D., Bourdeau P., Blumstein P., Ibish C., Scott K.V., Salman M.D., Chapman P.L., Kwochka K.W., Willemse T., Tscherner C.-von – Comparaison via cytology and culture of carriage of *Malassezia pachydermatis* in atopic and healthy dogs – In : Advances in veterinary dermatology, volume 3. Proceedings of the Third World Congress of Veterinary Dermatology, Edinburgh, Scotland, 11-14 September, 1996. 1998, 291-298.
- 317 White S.D., Bourdeau P.B., Blumstein P., Ibisch C., Guaguere E., Denerolle P., Carlotti D.N., Scott K.V. – Feline acne and results of treatment with mupirocin in an open clinical trial : 25 cases (1994-96) – Vet. Dermat., 1997, **8**, 3, 157-164.
- 318 Wilcke R.J., Jr. – Otopharmacology – Vet. Clin. North Am. Small An. Pract., 1988, **18**, 4, 793.
- 319 Winiarczyk S., Kostro K. – *Pityrosporum canis* in case of otitis externa in dogs – Med. Wet., 1982, **38**, 12, 650-652.
- 320 Winiarczyk S. – The ultrastructure of *Pityrosporum pachydermatis* – Archiv. Vet. Pol., 1992, **32**, 3-4, 5-13.
- 321 Woody B.J., Fox S.M. – Otitis externa : seeing past the signs to discover the underlying cause – Vet Med, 1986, **81**, 616.
- 322 Yarrow D., Ahearn D.G. – Genus 7, *Malassezia*, Baillon – In : Kreger-Van Rij N.J.W.J., The yeasts : A taxonomic Study, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp 882-885.
- 323 Zargari A., Emilson A., Hallden G., Johansson S., Scheynius A. – Cell surface expression of two major yeast allergens in the *Pityrosporum* genus – Clin. Exp. Allergy, 1997, **27**, 5, 584.
- 324 Zdovc I., Brglez I. – *Malassezia pachydermatis* isolated from carnivora in Slovenia – Zbornik Vet. Fakult. Univ. Ljubljana, 1997, **34**, 2, 131-139.

Toulouse, 2002.

NOM: GRUSON-VESCOVALI

PRENOM : FLORENT

TITRE : *Malassezia pachydermatis* dans les oreilles des chiens et des chats  
Étude de la prévalence dans un effectif de 250 chiens et de 250 chats

RESUME :

La prévalence de *Malassezia pachydermatis* dans le conduit auditif externe a été évaluée chez 250 chiens et 250 chats sains ou atteints d'otite externe. L'examen clinique des conduits auditifs a permis d'attribuer une note clinique à chaque oreille. L'écouvillon provenant de chaque conduit auditif a été utilisé pour faire un calque et une mise en culture sur Sabouraud-Chloramphénicol à 32° C. 23,3 % des 227 oreilles de chiens sains hébergeaient la levure. 9,2 % des 354 oreilles de chats sains hébergeaient la levure. Chez le chien, *M. pachydermatis* était présente dans 55,5 % des 164 oreilles atteintes d'otite externe modérée et 89,4 % des oreilles atteintes d'otite externe aiguë. Chez le chat, *M. pachydermatis* était présente dans 39,3 % des 61 oreilles atteintes d'otite externe modérée et 88,2 % des oreilles atteintes d'otite externe aiguë. Dans cette étude, le portage sain est significativement plus important chez le chien que chez le chat. Lors d'otacariase, 100 % des chiens et 75 % des chats sont porteurs de la levure.

MOTS-CLES : MALASSEZIA, PACHYDERMATIS, CHIEN, CHAT, OREILLE, OTITE,

---

ENGLISH TITLE : *Malassezia pachydermatis* in the ears of dogs and cats  
Study of prevalence in 250 dogs and 250 cats.

ABSTRACT :

The prevalence of *Malassezia pachydermatis* in the external ear canal has been evaluated on 250 dogs and 250 cats with both healthy ears or affected by otitis externa. A clinical examination of the external ear canals permits to assigned a clinical note. A swabbing of the ear canal is realised for direct smear and for the culture on Sabouraud-Chloramphenicol at 32° C. In dogs, *M. pachydermatis* was recovered in 23,3 % of 227 healthy ears, 55, 5 % of 164 ears with moderate externa otitis and 89,4 % of ears with accute otitis. In cats, *M. pachydermatis* was recovered in 9,2 % of 354 healthy ears, 39,3 % of 164 ears with moderate externa otitis and 88,2 % of ears with accute otitis. In this study, the healthy portorage is significatively different on dogs than on cats. With otacariasis, *M. pachydermatis* was recovered in 100 % of dogs and 75 % of cats.

KEY WORDS : MALASSEZIA, PACHYDERMATIS, DOG, CAT, EAR, OTITIS