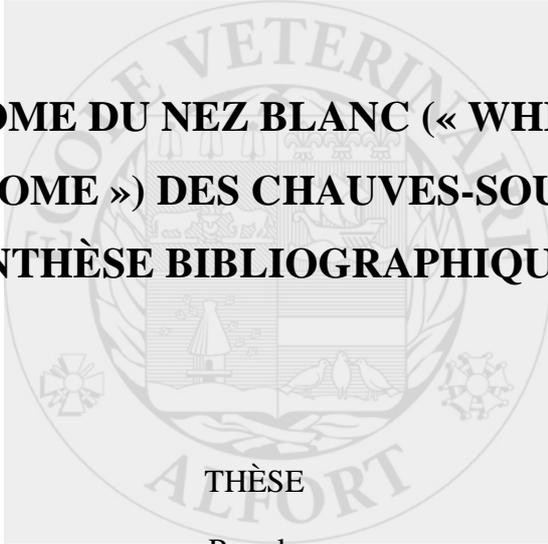


Année 2017

**LE SYNDROME DU NEZ BLANC (« WHITE-NOSE
SYNDROME ») DES CHAUVES-SOURIS :
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**



THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le...13 avril 2017

par

Laetitia, Hermine COMESSE

Née le 8 août 1980 à Saint-Germain-en-Laye (Yvelines)

JURY

Président : Pr. FLOUZAT-LACHANINETTE Charles-Henri
Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Monsieur Edouard Reyes-Gomez
Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort
Assesseur : Monsieur Jacques Guillot
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Liste des membres du corps enseignant

Directeur : M. le Professeur Gogny Marc

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : Cotard Jean-Pierre, Mialot Jean-Paul, Moraillon Robert, Parodi André-Laurent, Pilet Charles, Toma Bernard.

Professeurs émérites : Mme et MM. : Bénet Jean-Jacques, Chermette René, Combrisson Hélène, Courreau Jean-François, Deputte Bertrand, Niebauer Gert, Paragon Bernard, Pouchelon Jean-Louis.

Département d'élevage et de pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p>Unité pédagogique de cardiologie - Pr Chetboul Valérie* - Dr Gkouni Vassiliki, Praticien hospitalier</p> <p>Unité pédagogique de clinique équine - Pr Audigé Fabrice - Dr Bertoni Lélia, Maître de conférences - Dr Bourzac Céline, Maître de conférences contractuelle - Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier * - Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier - Dr Mospouhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier - Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier</p> <p>Unité pédagogique de médecine interne - Dr Benchekroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane* - Dr Canonne-Guibert Morgane Maître de conférence contractuel - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier - Dr Maurey-Guénec Christelle, Maître de conférences</p> <p>Discipline : imagerie médicale - Dr Stambouli Fouzia, Praticien hospitalier</p>	<p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport - Dr Cléro Delphine, Maître de conférences - Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences - Pr Grandjean Dominique* - Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier - Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale - Pr Fayolle Pascal - Dr Mailhac Jean-Marie, Maître de conférences - Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences - Pr Moissonnier Pierre - Pr Viateau-Duval Véronique*</p> <p>Discipline : anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs - Dr Zilberstein Luca, Maître de conférences</p> <p>Discipline : ophtalmologie - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences</p> <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie - Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier</p>
--	---

Département des Productions Animales et de la Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments - Pr Augustin Jean-Christophe - Dr Bolnot François, Maître de conférences * - Pr Carlier Vincent</p> <p>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie - Pr Dufour Barbara* - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Praud Anne, Maître de conférences - Dr Rivière Julie, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production - Pr Adjou Karim* - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences - Pr Millemann Yves - Dr Ravary-Plumioën Béragère, Maître de conférences - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier</p>	<p>Unité pédagogique de reproduction animale - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences* - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr El Bay Sarah, Praticien hospitalier - Dr Mauffré Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel</p> <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Pr Bossé Philippe* - Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences - Pr Grimard-Ballif Bénédicte - Dr Leroy-Barassin Isabelle, Maître de conférences - Pr Pontier Andrew - Dr Wolgust Valérie, Praticien hospitalier</p>
--	--

Département des sciences biologiques et pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Chateau Henry - Adjoint : Dr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Pr Degueurce Christophe - Pr Robert Céline*</p> <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie - Pr Boulouis Henri-Jean* - Pr Eloit Marc - Dr Le Poder Sophie, Maître de conférences - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences - Pr Quintin-Colonna Françoise</p> <p>Unité pédagogique de biochimie - Pr Bellier Sylvain* - Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier - Dr Michaux Jean-Michel, Maître de conférences</p> <p>Discipline : éducation physique et sportive - M. Philips Pascal, Professeur certifié</p> <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique - Dr Cordonnier-Léfort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques* - Dr Laloy Eve, Maître de conférences - Dr Royes-Gomez Edouard, Maître de conférences</p>	<p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Dr Desquilbet Loïc, Maître de conférences (Biostatistique, Epidémiologie) * - Dr Fournel Christelle, Maître de conférences contractuelle (Gestion et management)</p> <p>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattachée au DEPEC) - Dr Darmon Céline, Maître de conférences contractuelle (rattachée au DEPEC) - Pr Guillot Jacques* - Dr Polack Bruno, Maître de conférences - Dr Risco-Castillo Véronica, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie - Pr Enriquez Brigitte, - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences * - Pr Tissier Renaud</p> <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Dr Gilbert Caroline, Maître de conférences (Ethologie) - Pr Panthier Jean-Jacques (Génétique) - Dr Pilot-Storck Fanny, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tiret Laurent, (Physiologie, Pharmacologie) *</p>
--	--

* responsable d'unité pédagogique

REMERCIEMENTS

Au Professeur
Professeur de la Faculté de Médecine de Créteil,
Qui m'a fait l'honneur de présider mon jury de thèse.
Hommage respectueux.

Au Docteur Edouard Reyes-Gomez,
Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail.
Qu'il trouve ici l'expression de ma plus sincère affection.

Au Professeur Jacques Guillot,
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour sa relecture attentive.
Sincères remerciements.

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	1
TABLE DES ILLUSTRATIONS	5
LISTE DES ABRÉVIATIONS	7
INTRODUCTION	9
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	11
I. Épidémiologie	11
A. Le syndrome du nez blanc aux Etats-Unis	11
1. L'émergence de la maladie	11
2. Les espèces concernées.....	11
3. Une mortalité de masse.....	13
B. Le syndrome du nez blanc hors des Etats-Unis.....	15
1. Le syndrome du nez blanc en Europe.....	15
2. Le syndrome du nez blanc en Asie	18
3. Une répartition mondiale du champignon	18
4. Une absence de mortalité en relation avec <i>Pseudogymnoascus destructans</i>	18
C. Le scénario expliquant l'émergence du syndrome du nez blanc en Amérique du Nord	19
1. L'hypothèse de l'agent pathogène nouveau	19
2. L'hypothèse d'une origine européenne de l'agent pathogène	19
3. L'hypothèse d'un transfert récent de l'agent pathogène.....	20
4. L'hypothèse d'une introduction anthropogénique de l'agent pathogène.....	20
5. L'hypothèse d'une modification de virulence de l'agent pathogène.....	20
6. Bilan.....	21
D. Le scénario expliquant les différences de mortalité entre les deux continents	21
1. L'hypothèse non retenue de l'augmentation du pouvoir pathogène de <i>Pseudogymnoascus destructans</i>	21
2. L'hypothèse d'une co-évolution entre <i>Pseudogymnoascus destructans</i> et les chauves-souris européennes	21
E. Le scénario expliquant l'expansion du syndrome du nez blanc en Amérique du Nord	22
1. Un schéma d'expansion complexe	22
2. L'importance de la structure génétique de la population hôte.....	22
3. Des schémas d'expansion basés sur l'étude de <i>Myotis lucifugus</i>	23
II. Etiologie	25
A. Un agent pathogène inhabituel	25
B. Un champignon Ascomycète inédit	26
1. De <i>Geomyces destructans</i>	26
2. ... à <i>Pseudogymnoascus destructans</i>	28
C. Des caractéristiques de cultures inhabituelles	30
1. Des températures de culture basses... ..	30
2. ... parfaitement adaptées aux chauves-souris hibernantes et aux hibernacula	30
3. Des taux de croissance sensibles à la température.....	30
D. Deux types reproductifs coexistant au sein de <i>Pseudogymnoascus destructans</i>	31
1. Une reproduction asexuée ou homothallique	31
2. Une reproduction sexuée ou hétérothallique	31

E.	Des propriétés saprophytiques diminuées au profit de propriétés pathogènes	32
1.	Des espèces saprophytes largement répandues au sein de la classe des Ascomycètes	32
2.	<i>Pseudogymnoascus destructans</i> , un champignon saprophyte	33
III.	Signes cliniques et lésions	35
A.	Des dépôts blanchâtres inconstants	35
B.	Des lésions cutanées et alaires non caractéristiques	36
1.	Les lésions cutanées	36
2.	Les lésions alaires	36
C.	Des comportements anormaux responsables d'un amaigrissement marqué	38
D.	Des évolutions différentes	39
1.	Chez <i>Myotis lucifugus</i>	39
2.	Chez les chauves-souris européennes	39
E.	Bilan	39
IV.	Diagnostic	40
A.	Des lésions macroscopiques non diagnostiques	40
B.	Des lésions microscopiques caractéristiques à l'examen histologique	40
1.	Une description caractéristique des hyphes de <i>Pseudogymnoascus destructans</i>	40
2.	Les lésions microscopiques chez les chauves-souris nord-américaines	41
3.	Les lésions microscopiques chez les chauves-souris européennes	45
4.	L'analyse histologique : une méthode diagnostique de référence	45
C.	Des cultures fongiques peu sensibles	46
D.	Des tests PCR (polymerase chain reaction) permettant la détection de <i>Pseudogymnoascus destructans</i> sur les chauves-souris et dans l'environnement	47
1.	Un test diagnostique fiable et une méthode peu à non invasive	47
2.	Des tests toujours plus performants	48
E.	Des tests diagnostiques en développement	49
1.	Les tests de pyroséquençage	49
2.	Les biomarqueurs	49
F.	Des méthodes ou « astuces » aidant au diagnostic	50
V.	Physiopathologie	53
A.	Les relations entre hibernation, métabolisme et système immunitaire	53
1.	Chez les Mammifères	53
2.	Chez les chauves-souris infectées	53
B.	Le devenir des chauves-souris infectées ayant survécu à l'hibernation	54
C.	La pathophysiologie du syndrome du nez blanc chez les chauves-souris hibernantes	56
1.	La présence de lésions alaires	56
2.	L'augmentation de la fréquence des réveils (ou les diminutions de périodes de torpeur)	59
3.	Une synchronisation des réveils entre les individus d'un même hibernaculum ..	60
4.	L'augmentation des phases d'activité pendant les périodes de réveil	61
5.	Modèle récapitulatif de progression de la maladie	64
6.	Des mécanismes encore mal connus lors des stades précoces de l'infection	65
7.	La présence de facteurs influençant le risque d'infection	66
VI.	Conséquences	69
A.	Un impact écologique majeur	69
1.	Un rôle régulateur	70

2.	Un rôle pollinisateur	70
3.	Un rôle disséminateur	70
4.	Des rôles mésestimés	70
B.	Des conséquences économiques désastreuses	71
VII.	Traitements et perspectives	72
A.	Les interventions anthropogéniques	72
1.	L'abattage	72
2.	La modification des comportements humains	73
3.	La vaccination.....	74
4.	L'utilisation des molécules antifongiques	74
5.	Les méthodes alternatives.....	76
6.	Les autres mesures	80
B.	La théorie du « sauvetage évolutif ».....	81
1.	Effets attendus de l'immigration	81
2.	Amélioration du taux de survie annuelle	81
3.	Modification des schémas d'hibernation	82
4.	Bilan.....	82
C.	Perspectives	83
1.	Des notions d'écologie communautaire.....	83
2.	Une prise en charge « globalistique ».....	84
3.	Des inquiétudes futures.....	84
	CONCLUSION	85
	BIBLIOGRAPHIE	87

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Une chauve-souris nordique (<i>Myotis septentrionalis</i>) présentant des lésions évocatrices du syndrome du nez blanc.....	12
Figure 2 : Carcasses de chauves-souris entassées sur le sol d'une grotte en Amérique du Nord	13
Figure 3 : Cadavres de chauves-souris en Amérique du Nord.....	14
Figure 4 : Répartition géographique des cas confirmés ou suspectés de syndrome du nez blanc en Europe en 2011	16
Figure 5 : Une chauve-souris grand murin (<i>Myotis myotis</i>) infectée par le syndrome du nez blanc	17
Figure 6 : Estimation de l'année moyenne d'infection des comtés aux États-Unis.....	24
Figure 7 : Estimation du risque d'infection des comtés aux États-Unis en 2021	25
Figure 8 : Définition taxonomique de <i>Geomyces destructans</i>	27
Figure 9 : Analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques de <i>Geomyces destructans</i>	27
Figure 10 : Arbre phylogénétique indiquant la place de <i>Pseudogymnoascus destructans</i> et des <i>Geomyces</i> au sein du Règne des Champignons d'après les séquences ITS	29
Figure 11 : Une petite chauve-souris brune (<i>Myotis lucifugus</i>) infectée par le syndrome du nez blanc, New-York	36
Figure 12 : Les différentes lésions alaires rencontrées chez une petite chauve-souris brune (<i>Myotis lucifugus</i>) infectée par le syndrome du nez blanc	37
Figure 13 : Aspect en microscopie électronique à balayage d'un poil de chauve-souris colonisé par <i>Pseudogymnoascus destructans</i>	41
Figure 14 : Lésions histopathologiques cutanées de membrane alaire chez une petite chauves-souris brune (<i>Myotis lucifugus</i>) infectée par le syndrome du nez blanc	43
Figure 15 : Lésions histopathologiques cutanées (museau et ailes) chez des petites chauves-souris brunes (<i>Myotis lucifugus</i>) infectées par le syndrome du nez blanc	44
Figure 16 : Aspect morphologique et croissance des colonies fongiques de <i>Pseudogymnoascus destructans</i>	47
Figure 17 : Transillumination d'une aile de chauve-souris à la lumière UVA	51
Figure 18 : Comparaison des lésions alaires à l'examen histologique et à la lumière UVA	52
Figure 19 : Représentation du budget moyen d'activité pendant les périodes de réveils chez les chauves-souris hibernantes	63
Figure 20 : Modèle mécanistique de progression de la maladie chez des chauves-souris infectées par le syndrome du nez blanc	64

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ALR : Alpha-L-Rhamnosidase
ARNr : Acide Ribonucléique Ribosomique
ATP : Adénosine TriPhosphate
COV : Composés Organiques Volatils
EDTA : Acide Ethylène-Diamine-TétraAcétique
HE : Hematoxyline-Eosine
IGS : InterGenic Spacer
IL-4: InterLeukine-4
PAS: Acide periodic-Schiff
pCO₂ : Pression partielle en gaz carbonique
PCR : Polymerase Chain Reaction
PCRq : Quantative Polymerase Chain Reaction
SIRI : Syndrome Inflammatoire de Reconstitution Immune
UVA : Lumière UltraViolette À longue onde

INTRODUCTION

Les Chiroptères appartiennent au second groupe le plus diversifié des Mammifères, derrière les Rongeurs, et regroupent 1259 espèces (Jonasson et Willis, 2012). Sur terre, le 1/5^{ème} des espèces de Mammifères sauvages sont des chauves-souris (Wibbelt *et al.*, 2010b), dont beaucoup sont hétéothermes et hibernantes (Jonasson et Willis, 2012).

Les chauves-souris ne sont pas uniquement vulnérables pendant l'hibernation. En effet, contrairement aux autres petits mammifères, les chauves-souris ont un faible taux de reproduction, la plupart des espèces des régions tempérées ne portant qu'un seul jeune chaque année. L'échec à survivre au premier hiver signifie que beaucoup de jeunes chauves-souris des régions tempérées ne se reproduisent pas (Fenton, 2012).

Les chauves-souris hibernantes insectivores sont petites. Elles atteignent à l'âge adulte de 2 à 1500 g mais les espèces pèsent pour la plupart moins de 50 g à l'âge adulte. Malgré leur petite taille, elles ont un métabolisme élevé, ce qui génère des appétits voraces. Les chauves-souris insectivores consomment régulièrement au moins 50 % de leur masse corporelle en nourriture chaque nuit d'été, et, pour les femelles allaitantes, ce nombre dépasse 100 % (Fenton, 2012). Pour ces animaux, la nourriture est disponible depuis la fin du printemps jusqu'au début de l'automne et absente pendant l'hiver. Ils survivent à ce goulot énergétique hivernal uniquement grâce aux réserves lipidiques mises en place avant l'hibernation et en conservant l'énergie métabolique au cours de l'hibernation (Reeder *et al.*, 2012).

Les chauves-souris ont souvent été impliquées comme réservoirs pour des bactéries ou des virus pathogènes pour l'homme. De manière intéressante, à l'exception de la rage et d'autres Lyssavirus, les virus ne semblent pas causer de maladie manifeste chez les chauves-souris, suggérant l'évolution de relations bénignes entre les chauves-souris et leurs agents pathogènes (Rapin *et al.*, 2014).

Si l'étude des Chiroptères se révèle fascinante, celle-ci a longtemps été un peu négligée. De nombreux virus, tels que les virus Ebola, Hendra, Nipah, ou Menangle, ainsi que certaines zoonoses telles que l'histoplasmosse ou la rage, ont réveillé l'intérêt porté à ces animaux (Sara, 2002).

Récemment, il y a eu une augmentation très importante du nombre de maladies infectieuses émergentes, dont une majorité trouve son origine dans la faune et la flore sauvage (Sleeman, 2013 ; Taylor *et al.*, 2001).

Les champignons pathogènes n'avaient jamais été pleinement identifiés comme étant des menaces majeures pour la santé animale mais cette manière de voir les choses a évolué rapidement suite à la récente apparition de plusieurs déclins majeurs dans la faune sauvage (Daszak *et al.*, 2000 ; Smith *et al.*, 2006) causés par l'émergence de mycoses ou assimilées mycoses inconnues jusqu'à maintenant (Fisher *et al.*, 2012).

Depuis quelques années, les chauves-souris sont ainsi victimes d'un agent pathogène fongique, *Pseudogymnoascus destructans*, responsable du syndrome du nez blanc (Rapin *et al.*, 2014). Cette mycose, caractérisée par la présence de dépôts fongiques blanchâtres sur le museau, les oreilles et les ailes, ayant donné son nom à la maladie, a entraîné un véritable déclin des populations de chauves-souris insectivores hibernantes et est responsable de la disparition de plusieurs millions d'individus dans le monde.

Au-delà des impacts écologiques et biologiques dramatiques, cette mortalité massive entraîne des conséquences économiques importantes.

La nécessité de la réalisation d'une synthèse des différentes données disponibles concernant cette maladie s'est rapidement imposée.

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Épidémiologie

A. *Le syndrome du nez blanc aux Etats-Unis*

Avant l'émergence du syndrome du nez blanc, aucune infection cutanée fongique n'était répertoriée chez les chauves-souris pendant l'hibernation. Il semble plus probable d'affirmer que les infections fongiques non létales n'avaient pas été détectées (Lorch *et al.*, 2015).

1. L'émergence de la maladie

La première preuve du syndrome du nez blanc chez la chauve-souris est apparue sous la forme d'une photographie prise dans les grottes de Howe, à 52 km à l'ouest d'Albany, état de New York, Etats-Unis, le 16 février 2006 (Blehert *et al.*, 2009).

Cette maladie touchant les chauves-souris nord-américaines insectivores hibernantes dans les grottes et les mines s'est ensuite rapidement propagée aux hibernacula environnants pendant l'hiver 2006-2007 puis s'est étendue à 37 comtés dans plusieurs états (Connecticut, Massachusetts, New-York, Vermont (Blehert *et al.*, 2009), Pennsylvanie, New Jersey, Virginie, Virginie-Occidentale et New Hampshire (Meteyer *et al.*, 2009)) à la fin de l'hiver 2008-2009. En 2010, des cas ont été signalés dans le centre et le nord-est de l'Ontario et au Québec.

2. Les espèces concernées

Le syndrome du nez blanc touche de plein fouet les chauves-souris nord-américaines insectivores hibernantes.

Depuis sa première description par les biologistes en 2007, cette maladie est responsable de la disparition de centaines de milliers de petites chauves-souris brunes (*Myotis lucifugus*) (Blehert *et al.*, 2009) mais d'autres espèces telles que la pipistrelle de l'Est (*Pipistrellus subflavus* ou *Perimyotis subflavus*), la chauve-souris nordique (*Myotis septentrionalis*, comme illustrée dans la figure 1), la chauve-souris de l'Indiana (*Myotis sodalis*), la grande chauve-souris brune (*Eptesicus fuscus*) (Meteyer *et al.*, 2009) et la chauve-souris pygmée de l'Est (*Myotis leibii*) (Reichard et Kunz, 2009) ont aussi rapidement été infectées.

Avant 2012, les chauves-souris *Myotis austroriparius*, *Myotis grisescens* et *Myotis velifer* étaient elles aussi touchées par l'infection (Foley *et al.*, 2011 ; Puechmaille *et al.*, 2011a ; Turner et Reeder, 2009 ; Zupal *et al.*, 2014).

Quatre espèces additionnelles (*Corynorhinus townsendii virginianus*, *Lasiurus borealis*, *Lasiurus noctivagans*, *Corynorhinus rafinesquii* et *Lasiurus borealis*) ont ensuite été ajoutées à cette liste (Bernard *et al.*, 2015) ; ce qui porte à neuf le nombre d'espèces de chauves-souris, de la famille des Vespertilionidés atteintes par le syndrome du nez blanc (*M. lucifugus*, *M. septentrionalis*, *M. leibii*, *M. sodalis*, *M. velifer*, *M. grisescens*, *M. austroriparius*, *E. fuscus*, *P. subflavus*) (Blehert *et al.*, 2009 ; Gargas *et al.*, 2009 ; Turner et Reeder, 2009) lesquelles hibernent pendant une fraction significative de l'année (Barbour et Davis, 1982 ; Moore *et al.*, 2013).

Quarante-sept espèces de chauves-souris ont été découvertes en Amérique du Nord et plus de la moitié hiberne pendant l'hiver (Feldhamer, 2007). Cependant, toutes les chauves-souris ne présentent pas la même sensibilité au syndrome du nez blanc, certaines semblant plus vulnérables que d'autres (Frank *et al.*, 2014 ; Lorch *et al.*, 2015 ; Turner *et al.*, 2011).

A l'inverse, certaines chauves-souris, comme la chauve-souris cendrée (*Lasiurus cinereus*) ne semblent pas du tout en être affectées (Dzal *et al.*, 2011). De manière plus nuancée, il semblerait que les chauves-souris *E. fuscus* (Frank *et al.*, 2014 ; Frank *et al.*, 2016) et *C. rafinesquii* (Johnson *et al.*, 2012) soient plus résistantes que les chauves-souris *M. lucifugus* aux infections cutanées entraînées par *P. destructans* et de manière plus surprenante, la maladie a été diagnostiquée chez des chauves-souris *M. grisescens* mais sans mortalité évidente associée (Cryan *et al.*, 2013b).

Figure 1 : Une chauve-souris nordique (*Myotis septentrionalis*) présentant des lésions évocatrices du syndrome du nez blanc pendant son hibernation dans une mine de l'Etat de New-York (photographie d'Al Hicks) (Petit et Puechmaille, 2015)



3. Une mortalité de masse

Depuis son émergence, le syndrome du nez blanc est responsable de la disparition de près de six millions de chauves-souris nord-américaines (Alves *et al.*, 2014 ; Leopardi *et al.*, 2015).

Le syndrome du nez blanc est responsable d'une mortalité de masse et crée un effondrement sans précédent de la population régionale des chauves-souris avec des déclins locaux au sein de plusieurs hibernacula atteignant 90 % en Nouvelle Angleterre et même 100 % dans l'état de New York (Reichard et Kunz, 2009). Les figures 2 et 3 illustrent la mortalité de masse dans les hibernacula contaminés par le syndrome du nez blanc.

Le taux de mortalité associé au syndrome du nez blanc au sein d'hibernacula clés pour certaines espèces ne cesse de progresser à tel point que plusieurs espèces de chauves-souris hibernantes sont menacées d'extinction (Barlow *et al.*, 2009).

Figure 2 : Carcasses de chauves-souris entassées sur le sol d'une grotte en Amérique du Nord

Illustration de la mortalité de masse sévissant dans les hibernacula contaminés par le syndrome du nez blanc (Photo : Alan Hicks) (Frick *et al.*, 2010a).

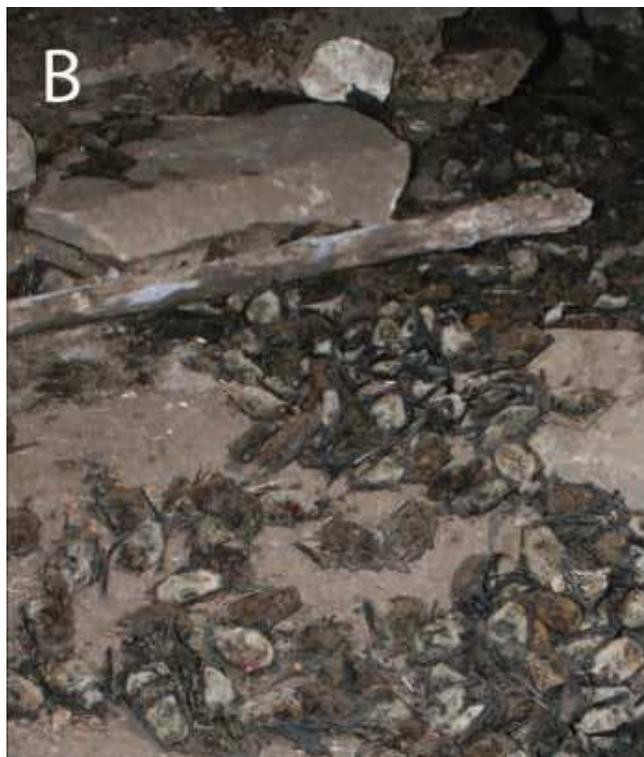


Figure 3 : Cadavres de chauves-souris en Amérique du Nord

Crânes, os et carcasses de chauves-souris en décomposition recouvrant le sol d'une grotte en Amérique du Nord après plusieurs années d'infection (photo Marianne Moore) (Frick *et al.*, 2010a)



a. L'impact sur l'évolution des populations de *Myotis lucifugus*

La croissance des populations de la petite chauve-souris brune (*M. lucifugus*), autrefois l'une des espèces les plus communes et les plus répandues dans beaucoup de régions d'Amérique du Nord (Dixon, 2011 ; Frick *et al.*, 2010a), était stable ou en augmentation avant l'émergence du syndrome du nez blanc. En effet, 86 % des hibernacula ont connu un effectif de population stable ou en augmentation sur les 30 dernières années, certainement une conséquence d'un ensemble de mesures (protection des grottes et mines hébergeant les chauves-souris, installation des maisons de chauves-souris et interdiction de certains pesticides depuis 1970) (Frick *et al.*, 2010a).

La mortalité associée au syndrome du nez blanc annonce une réduction de 99 % de la population régionale de *M. lucifugus* dans les 16 prochaines années, avec un passage de 6,5 millions de chauves-souris à moins de 65 000 en moins de 20 ans (Frick *et al.*, 2010a). Certains spécialistes sont même encore plus alarmistes et annoncent son extinction avant 2020 (Fenton, 2012).

b. L'impact sur l'évolution des populations de *Myotis sodalis*

Une autre espèce pour laquelle les inquiétudes de conservation sont importantes est le Vespertilion d'Indiana (*Myotis sodalis*). Cette espèce vit principalement à l'est, au Midwest et au sud des États-Unis. Les estimations précédentes des tendances d'évolution de population issues des données des comptes d'hibernacula suggèrent que cette espèce avait déjà subi un déclin de 57 % de 1965 à 2001 (Clawson, 2002). Il a été rapporté (Thogmartin *et al.*, 2012a) une abondance stationnaire sur les deux décennies les plus récentes avant l'émergence du syndrome du nez blanc (Thogmartin *et al.*, 2012b).

Les taux annuels de population de chauves-souris *M. sodalis* nouvellement infectées entre les hivers 2007, 2008, 2010 et 2011 sont passés de 4, 6, 8 à 12 % (Thogmartin *et al.*, 2012b). L'émergence du syndrome du nez blanc pose ainsi une menace d'extinction (Frick *et al.*, 2010a), la perte de 40 000 individus (Turner *et al.*, 2011) depuis l'émergence de la maladie, représentant près de 10 % de la population de 2010 estimée (Thogmartin *et al.*, 2012a ; Thogmartin *et al.*, 2012b). Si cette augmentation du taux des populations nouvellement infectées se poursuit, toutes les populations hibernantes pourraient être infectées avant 2016 ainsi que tous les hibernacula dès 2020 (Thogmartin *et al.*, 2012b).

c. L'impact sur l'évolution des espèces de chauves-souris insectivores

Les scénarios les plus pessimistes de déclin de populations suggèrent que les espèces *Myotis* telles que *M. sodalis* et *M. lucifugus* sont particulièrement touchées et font face à des déclin de populations tels qu'ils menacent de mener ces espèces de chauves-souris à l'extinction régionale (Rapin *et al.*, 2014) et que la maladie menacerait 32 % des espèces (en particulier *M. leibii*, *M. sodalis*, *M. grisescens*, *C. rafinesquii*, *M. austroriparius*, *M. septentrionalis*, *N. humeralis* et *P. subflavus*) de chauves-souris (Alves *et al.*, 2014).

B. Le syndrome du nez blanc hors des États-Unis

1. Le syndrome du nez blanc en Europe

a. La distribution géographique

En mars 2009, un cas isolé et confirmé de syndrome du nez blanc a été mis en évidence sur une chauve-souris vivante française, un grand Vespertilion ou grand murin, (*Myotis myotis*) à côté de Périgueux (Puechmaille *et al.*, 2010).

La première description compatible avec le syndrome du nez blanc en Europe remonterait au début des années 1980 en Allemagne sur des chauves-souris pratiquant l'hibernation, même si le champignon n'avait pas été identifié (Feldmann, 1984).

Le champignon est présent depuis 1995 en République Tchèque et en Slovaquie chez les chauves-souris *M. myotis* (Martínková *et al.*, 2010) et plus récemment, deux cas

confirmés de syndrome du nez blanc ont été diagnostiqués chez *M. myotis* en République Tchèque (Pikula *et al.*, 2012).

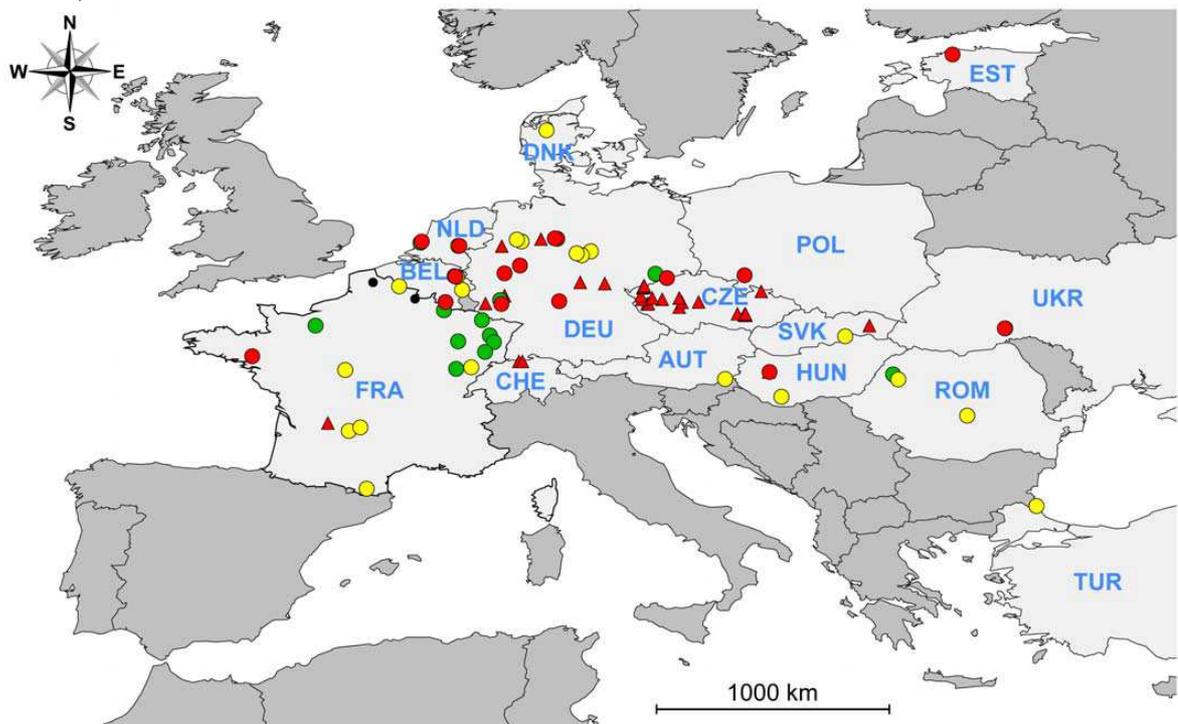
En 2011, *Pseudogymnoascus destructans* a été retrouvé sur de grandes zones du continent européen (dans 8 pays répartis sur 2000 km d'est en ouest et des photos révèlent la preuve de sa présence dans 4 autres pays incluant la Roumanie et la Turquie) (Puechmaille *et al.*, 2011b) et en 2010, cinq espèces européennes du genre *Myotis* étaient concernées par le « syndrome du nez blanc » (Wibbelt *et al.*, 2010a).

Puis, rapidement, une plus grande distribution de *P. destructans* a été mise en évidence dans 13 pays européens (figure 4) impliquant sept espèces différentes de chauves-souris hibernantes (Puechmaille *et al.*, 2011b ; Wibbelt *et al.*, 2013).

La présence de *P. destructans*, en Grande Bretagne, a été confirmée plus tardivement à partir d'une chauve-souris vivante, un Vespertilion de Daubenton (*M. daubentonii*) prélevée en février 2013 (Barlow *et al.*, 2015).

Figure 4 : Répartition géographique des cas confirmés ou suspectés de syndrome du nez blanc en Europe en 2011

Les triangles et les ronds rouges représentent respectivement des cas confirmés génétiquement de syndrome du nez blanc avant 2011 et en 2011; les ronds jaunes représentent les preuves photographiques et les ronds verts les rapports visuels suspectant la maladie (Puechmaille *et al.*, 2011b).



b. Les espèces concernées

Au total, ce ne sont pas moins de 13 espèces de chauves-souris en Europe qui sont concernées par le syndrome du nez blanc (Zukal *et al.*, 2014) : le grand Vespertilion ou grand murin (*Myotis myotis*) (figure 5), le petit murin méridional (*Myotis blythii oxygnathus*), le Vespertilion de Blyth ou petit murin (*Myotis blythii*), le Vespertilion de Brandt (*Myotis brandtii*), le Vespertilion de Daubenton (*Myotis daubentonii*), le Vespertilion des marais (*Myotis dasycneme*), le Vespertilion ou murin à moustaches (*Myotis mystacinus*), le Vespertilion de Natterer (*Myotis nattereri*), le Vespertilion ou murin de Bechstein (*Myotis bechsteinii*) (Frank *et al.*, 2014 ; Kubatova *et al.*, 2011 ; Martínková *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2011b ; Simonovicova *et al.*, 2011 ; Wibbelt *et al.*, 2010a), le Vespertilion ou murin à oreilles échancrées ou le Vespertilion échancré (*Myotis emarginatus*), la Sérotine de Nilsson ou Sérotine boréale (*Eptesicus nilssonii*), le Petit rhinolophe ou Petit rhinolophe fer-à-cheval ou Petit fer-à-cheval (*Rhinolophus hipposideros*), la Barbastelle d'Europe (*Barbastella barbastellus*) et l'Oreillard roux (*Plecotus auritus*) (Zukal *et al.*, 2014).

Figure 5 : Une chauve-souris grand murin (*Myotis myotis*) infectée par le syndrome du nez blanc

Présence d'un mycélium sur le museau, les oreilles et les membranes alaires (photographie de Tamas Görföl) (Wibbelt *et al.*, 2010a)



2. Le syndrome du nez blanc en Asie

Cet agent pathogène est aussi largement répandu en Asie de l'Est et touche notamment six espèces de chauves-souris en Chine (Hoyt *et al.*, 2016).

3. Une répartition mondiale du champignon

Alors que les espèces infectées sont proches phylogénétiquement, le syndrome du nez blanc affecte des chauves-souris de deux sous-ordres différents. Ces dernières présentent des différences importantes, notamment en ce qui concerne les stratégies d'hibernation.

La confirmation de cas du syndrome du nez blanc chez des espèces de chauves-souris présentant des comportements écologiques différents et la répartition relativement homogène et diffuse des foyers infectieux sur le territoire européen corroborent la nature généraliste de *Pseudogymnoascus destructans* (Hoyt *et al.*, 2016 ; Wibbelt *et al.*, 2010a ; Zukal *et al.*, 2014). Cela suggère qu'on peut le trouver à travers l'Eurasie (Hoyt *et al.*, 2016) et que toutes les chauves-souris hibernantes sur ce territoire risquent potentiellement d'être infectées (Zukal *et al.*, 2014).

En 2012, ce ne sont pas moins de 17 espèces de chauves-souris Vespertilionidés qui sont touchées par le syndrome du nez blanc en Amérique du Nord et en Europe (Zukal *et al.*, 2014).

4. Une absence de mortalité en relation avec *Pseudogymnoascus destructans*

Dans les pays européens au sein desquels les cas de syndrome du nez blanc ont été décrits, ces observations n'ont pas été suivies par la mort des chauves-souris atteintes (Wibbelt *et al.*, 2010a) et aucune mortalité de masse n'a été rapportée (Frank *et al.*, 2014 ; Martínková *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2011b ; Wibbelt *et al.*, 2013). Les taux de mortalité dans les hibernacula contaminés n'ont jamais atteint ceux observés en Amérique du Nord (Wibbelt *et al.*, 2010a).

En effet, même si l'incidence du syndrome du nez blanc chez les chauves-souris *M. myotis* est passée de 2 % en 2007 à 14 % en 2010 en République Tchèque, le déclin de population enregistré ces deux dernières années chez les chauves-souris *M. myotis* se situe dans l'intervalle de modification de population attendu (Martínková *et al.*, 2010).

En Hongrie, une chauve-souris présentant des signes évidents d'infection par le syndrome du nez blanc avait même été contrôlée cinq mois plus tard ; elle ne présentait plus à ce moment-là aucun signe laissant suspecter une quelconque contamination. Elle fut à nouveau observée six mois plus tard dans son hibernaculum habituel sans signe de rechute (Wibbelt *et al.*, 2010a).

C. Le scénario expliquant l'émergence du syndrome du nez blanc en Amérique du Nord

1. L'hypothèse de l'agent pathogène nouveau

L'émergence du syndrome du nez blanc en Amérique du Nord, et plus généralement des maladies infectieuses, peut faire suite à deux scénarios distincts (Rachowicz *et al.*, 2005) :

1. l'hypothèse de l'agent pathogène nouveau : dans cette hypothèse, on assisterait à l'émergence d'un nouvel agent pathogène dans une nouvelle région géographique et à la rencontre avec une population hôte naïve ;
2. l'hypothèse de l'agent pathogène enzootique : dans cette hypothèse, on assisterait à un agent pathogène présent historiquement mais présentant des modifications de pouvoir pathogène ou de spécificité de l'hôte suite à des changements génétiques ou environnementaux qui altèrent les interactions hôte-pathogène.

L'émergence récente et la dissémination rapide de *P. destructans* à travers tout le nord des Etats-Unis, associée à la mort des chauves-souris américaines (Ren *et al.*, 2012 ; Turner et Reeder, 2009), suggèrent l'apparition d'un agent pathogène étranger dans un écosystème jusque-là non exposé (Wibbelt *et al.*, 2010a).

De même, si l'on considère l'autre hypothèse suggérant l'émergence d'une nouvelle souche virulente d'un champignon mondialement réparti autrefois bénin, alors *P. destructans* devrait être réparti largement en Amérique du Nord et ainsi être retrouvé hors des aires actuellement contaminées par le syndrome du nez blanc (Puechmaille *et al.*, 2011a). À cette date, les recherches de *P. destructans* hors de ces zones en Amérique du Nord n'ont pas rencontré de succès (Lindner *et al.*, 2011).

Ces éléments sont en faveur de l'hypothèse d'un agent pathogène nouveau plutôt que de l'émergence d'une souche virulente en Amérique du Nord (Eskew et Todd, 2013).

2. L'hypothèse d'une origine européenne de l'agent pathogène

Les études des marqueurs génétiques ont montré une faible variabilité entre les différents isolats de *P. destructans* collectés à travers la zone en expansion du syndrome du nez blanc en Amérique du Nord (Eskew et Todd, 2013 ; Martínková *et al.*, 2010) à tel point que nous sommes face à l'expansion d'un génotype clonal unique de *P. destructans* (Rajkumar, 2011 ; Warnecke *et al.*, 2012). Les isolats du Canada Central et de l'Est possèdent le même génotype que ceux des Etats-Unis, ce qui est compatible avec la même expansion clonale de *P. destructans* aux Etats-Unis et au Canada (Khankhet *et al.*, 2014).

Ces études ont aussi mis en évidence la parenté très étroite entre les isolats de *P. destructans* européens et la souche type américaine (Leopardi *et al.*, 2015 ; Martínková *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2011b, Wibbelt *et al.*, 2010a ; Wibbelt *et al.*, 2013), ce qui est en faveur d'une origine européenne du champignon (Eskew et Todd, 2013 ; Leopardi *et al.*, 2015 ; Martínková *et al.*, 2010).

Plus précisément, l'haplotype partagé entre les isolats d'Amérique du Nord et d'Europe semble être inégalement distribué au sein de l'Europe, suggérant que l'Europe de

l'Ouest (Leopardi *et al.*, 2015) ou Paléarctique Occidental (Hoffmaster *et al.*, 2016 ; Leopardi *et al.*, 2015) est l'origine la plus probable du champignon *P. destructans* nord-américain. Nous ne pouvons tout de même pas exclure une origine Paléarctique de l'Est, bien que cela semble peu probable (Leopardi *et al.*, 2015).

3. L'hypothèse d'un transfert récent de l'agent pathogène

Le fait que la souche type la plus commune d'Europe soit parfaitement identique à l'haplotype clonal d'Amérique du Nord corrobore un transfert fongique intercontinental récent d'Europe en Amérique du Nord (Leopardi *et al.*, 2015 ; Puechmaille *et al.*, 2011b).

Ce scénario du transfert récent est compatible avec les résultats d'expérimentation d'inoculation ne montrant aucune différence significative de virulence entre les isolats d'Europe et d'Amérique (Leopardi *et al.*, 2015 ; Warnecke *et al.*, 2012). Dans cette étude, les chauves-souris d'Amérique du Nord sont mortes quand elles ont été infectées par des souches nord-américaines ou européennes de *P. destructans* (Eskew et Todd, 2013 ; Warnecke *et al.*, 2012).

4. L'hypothèse d'une introduction anthropogénique de l'agent pathogène

Le mode d'introduction du champignon pathogène aux Etats-Unis est inconnu. Néanmoins, la grotte Howes dans laquelle le syndrome du nez blanc a été observé pour la première fois, est la grotte touristique la plus grande du nord-est des États-Unis avec environ 200 000 visiteurs chaque année (Puechmaille *et al.*, 2011a). Les niveaux élevés de trafic humain sur ce site suggèrent la mise en cause d'un « vecteur » humain (Wibbelt *et al.*, 2010a) et une introduction anthropogénique de *P. destructans* (Puechmaille *et al.*, 2011a).

Le portage asymptomatique de *P. destructans* par les chauves-souris européennes (Eskew et Todd, 2013) et l'absence de migration des chauves-souris entre l'Amérique du Nord et l'Europe cantonnant les individus à un continent (Fisher *et al.*, 2012 ; Puechmaille *et al.*, 2011a ; Wibbelt *et al.*, 2010a) sont des éléments en faveur d'un transport humain du champignon depuis le vieux continent jusqu'en Amérique du Nord (Puechmaille *et al.*, 2011a ; Wibbelt *et al.*, 2010a).

5. L'hypothèse d'une modification de virulence de l'agent pathogène

Même si la souche *P. destructans* d'Amérique du Nord est d'origine européenne et récente, elle pourrait avoir muté et/ou s'être recombinaisonnée en Amérique du Nord et être devenue une souche plus virulente (Puechmaille *et al.*, 2011a).

En effet, l'identification de trois nouveaux génotypes suggère qu'une microévolution pourrait avoir eu lieu ou qu'il pourrait y avoir eu plus de variations génotypiques naturelles dans les populations de *P. destructans* en Amérique du Nord que ce que nous croyions précédemment (Chaturvedi *et al.*, 2010 ; Khankhet *et al.*, 2014 ; Ren *et al.*, 2012).

6. Bilan

Tous ces éléments appuient fortement l'hypothèse du pathogène nouveau avec la récente introduction de *P. destructans* d'Europe, qui est responsable de la mortalité de masse liée au syndrome du nez blanc des chauves-souris en Amérique du Nord (Warnecke *et al.*, 2012).

D. Le scénario expliquant les différences de mortalité entre les deux continents

Les taux de mortalité associée au syndrome du nez blanc varient selon l'origine des chauves-souris, nord-américaine *versus* européenne (Lorch *et al.*, 2013b ; Puechmaille *et al.*, 2011b).

1. L'hypothèse non retenue de l'augmentation du pouvoir pathogène de *Pseudogymnoascus destructans*

Plusieurs hypothèses tentent d'expliquer l'absence de mortalité associée à cette infection en Europe alors qu'elle décime les chauves-souris américaines (Lorch *et al.*, 2013b ; Wibbelt *et al.*, 2010a ; Wibbelt *et al.*, 2010b) :

1. des critères environnementaux limiteraient le pouvoir pathogène de *P. destructans* en Europe ;
2. il existerait des différences immunogénétiques entre les chauves-souris américaines et européennes, rendant ces dernières plus résistantes que les américaines ;
3. l'infection serait un signe visible d'une immunosuppression primaire ou liée à une physiologie spécifique d'hibernation ou des comportements différents des espèces atteintes.

L'absence de différence significative de virulence entre les souches de *P. destructans* européennes et nord-américaines (Warnecke *et al.*, 2012) et l'absence de mortalité observée au sein des chauves-souris européennes infectées par *P. destructans* suggèrent que les différences intercontinentales de mortalité sont dues à la sensibilité des chauves-souris résidentes (réponses physiologiques et comportementales différentes des chauves-souris européennes par rapport aux chauves-souris nord-américaines) ou à leurs habitats (Cryan *et al.*, 2013b) plutôt qu'à une augmentation du pouvoir pathogène de la souche nord-américaine (Cryan *et al.*, 2013b ; Wibbelt *et al.*, 2010a).

2. L'hypothèse d'une co-évolution entre *Pseudogymnoascus destructans* et les chauves-souris européennes

La présence enzootique de *P. destructans* en Europe et la tolérance des chauves-souris européennes vis-à-vis de ce champignon virulent sans mortalité associée (Puechmaille *et al.*, 2011b ; Zukal *et al.*, 2016) suggèrent qu'un équilibre d'interaction hôte-pathogène a été établi (Zukal *et al.*, 2016).

En effet, il existe des preuves photographiques de la présence de *P. destructans* en Europe pendant des décennies sans aucune de mortalité de masse associée (Puechmaille *et al.*, 2011a ; Puechmaille *et al.*, 2011b ; Wibbelt *et al.*, 2013).

Ceci appuie l'hypothèse (Wibbelt *et al.*, 2010a) selon laquelle *P. destructans* pourrait avoir impacté les populations de chauves-souris européennes dans le passé, ce qui aurait provoqué une co-évolution entre l'agent pathogène et les chauves-souris européennes (Puechmaille *et al.*, 2011b ; Warnecke *et al.*, 2012). Ces dernières pourraient résister à *P. destructans* par exemple *via* des réponses du système immunitaire (Warnecke *et al.*, 2012) ou des évolutions génétiques (Puechmaille *et al.*, 2011a). Elles pourraient aussi tolérer *P. destructans*, par exemple *via* des adaptations comportementales (Warnecke *et al.*, 2012).

E. Le scénario expliquant l'expansion du syndrome du nez blanc en Amérique du Nord

Le syndrome du nez blanc continue sa dispersion à partir de New York vers le sud, l'ouest et le nord (Langwig *et al.*, 2015b). En novembre 2010, *P. destructans* s'était étendu à environ 1 300 km d'un site indexé de New York (Cryan *et al.*, 2013b), puis rapidement à plus de 2 000 km de l'épicentre (Alves *et al.*, 2014).

1. Un schéma d'expansion complexe

De manière surprenante, l'expansion de la maladie à travers les terres n'a pas suivi un schéma de diffusion simple à partir de son site d'origine en Amérique du Nord (Maher *et al.*, 2012). Par exemple, le syndrome du nez blanc est apparu à la limite sud de la Virginie du Sud avant d'atteindre la limite ouest de New York (Wilder *et al.*, 2015).

En effet, l'expansion spatiale d'une maladie infectieuse dépend de la dispersion de l'agent pathogène qui, pour les agents pathogènes transmis directement entre hôtes, c'est-à-dire par contact direct entre individu infecté et non infecté (Lorch *et al.*, 2011), dépend à son tour de la connectivité des populations hôtes (Wilder *et al.*, 2015).

Ainsi, le schéma de l'expansion du syndrome du nez blanc résulte d'une combinaison de deux mécanismes. L'un permet une diffusion spatiale en fonction des événements migratoires et des mouvements entre les hibernacula. L'autre permet une expansion sur un réseau écologique en fonction du regroupement des habitats. Il existe au sein et entre les régions des interactions qui facilitent l'expansion de l'agent pathogène (Maher *et al.*, 2012). La géographie physique ou des milieux et l'hétérogénéité environnementale ont aussi un rôle dans la vitesse et la direction de l'expansion (Maher *et al.*, 2012).

2. L'importance de la structure génétique de la population hôte

L'hétérogénéité de la dispersion du pathogène devrait être reflétée dans les schémas de structure génétique de la population hôte (Wilder *et al.*, 2015). L'analyse génétique de la structure des populations hôtes permet d'identifier les barrières cryptiques et/ou les couloirs de dispersion et l'hétérogénéité de la connectivité d'une population peut fortement influencer l'expansion de la maladie (Wilder *et al.*, 2015).

3. Des schémas d'expansion basés sur l'étude de *Myotis lucifugus*

a. Un rôle important dans l'expansion de la maladie

A ce jour, seule la chauve-souris *M. lucifugus* a été étudiée dans les schémas d'expansion du syndrome du nez blanc.

Elle est probablement l'agent de dispersion le plus important de *P. destructans* à travers les terres par rapport à d'autres espèces à cause de sa grande abondance et de son agrégation dense dans les hibernacula (Brack, 2007 ; Langwig *et al.*, 2012 ; Wilder *et al.*, 2011), de son taux élevé d'infection par *P. destructans* (Langwig *et al.*, 2015a) et des distances de dispersion importantes (Davis et Hitchcock, 1965 ; Norquay *et al.*, 2013) ; du nombre de chauves-souris *M. lucifugus* dans les hibernacula regroupant plusieurs espèces qui est positivement corrélé au risque d'infection de la colonie (Wilder *et al.*, 2011 ; Wilder *et al.*, 2015).

b. Des différences marquées de structure génétique entre populations

L'extension de l'analyse génétique à l'étendue continentale de *M. lucifugus* révèle des schémas fortement contrastés de structure de population entre l'est et l'ouest de l'Amérique du Nord ; la différenciation génétique augmentant de manière marquée en se déplaçant vers l'ouest (dans le nord des grandes plaines), au-delà de la distribution actuelle du syndrome du nez blanc (Wilder *et al.*, 2015).

En effet, les recherches génétiques récentes ont démontré que cette espèce était paraphylétique et faisait partie d'un complexe d'espèces plus larges ; et seule une lignée (*M. lucifugus lucifugus*) est présente dans l'est de l'Amérique du Nord (Dixon, 2011).

c. Une remise en cause des schémas actuels d'expansion

La barrière de flux génétique chez *M. lucifugus* pourrait modifier les schémas actuels de transmission du syndrome du nez blanc observés dans l'est de l'Amérique du Nord et pourrait limiter relativement les risques d'introduction et de transmission du pathogène vers l'ouest de l'Amérique du Nord (Vonhof *et al.*, 2015 ; Wilder *et al.*, 2015).

Cette découverte est en adéquation avec l'observation de plusieurs colonies indemnes à l'ouest de la Pennsylvanie pendant une à deux années après la confirmation des premiers cas d'infections dans les parties sud et est de l'État et l'absence de mortalité de masse dans certaines zones les plus à l'ouest malgré la détection du champignon depuis deux hivers (Cryan *et al.*, 2013b).

En influençant la dispersion des chauves-souris et la migration saisonnière, il est ainsi possible que la variation topographique à travers l'État puisse temporairement protéger certaines populations de l'exposition à la maladie en réduisant les flux génétiques entre elles (Miller-Butterworth *et al.*, 2014) et ralentir l'expansion du syndrome du nez blanc (Wilder *et al.*, 2015).

Ceci va à l'encontre des modèles épidémiologiques, plus pessimistes, qui prédisent que le syndrome du nez blanc atteindra la côte ouest des États-Unis d'ici 2035 (figure 6), éliminant potentiellement la plupart des populations d'espèces de chauves-souris sensibles dans son sillage (O'Reagan *et al.*, 2015).

Puisque la connectivité de la population hôte est largement réduite dans la moitié ouest des États-Unis qui ne présentent jusqu'ici pas la maladie, des prédictions plus rassurantes (figure 7) peuvent être faites quant à l'expansion plus lente de la maladie à l'ouest des grandes plaines (Petit et Puechmaille, 2015).

Néanmoins, de sérieux déclin de populations de chauves-souris sont probables, en particulier dans les régions denses en grottes qui constituent les couloirs géographiques principaux des États-Unis. Il est probable que plus de 80 % des régions mitoyennes des États-Unis deviennent infectées avant que l'épizzotie actuelle ne s'achève. De plus, la géométrie de la connectivité de l'habitat est telle que les refuges des hôtes sont excessivement rares, ce qui est un problème sérieux pour la conservation des chauves-souris (O'Reagan *et al.*, 2015).

Figure 6 : Estimation de l'année moyenne d'infection des comtés aux États-Unis

Estimation basée sur des données antérieures à l'hiver 2014-2015 et selon un modèle épidémiologique prenant en compte l'organisation spatiale et la densité des grottes, ainsi que la durée de l'hiver. Les comtés colorés en gris n'ont pas signalé de grottes suspectes ou d'observations du syndrome du nez blanc (Petit et Puechmaille, 2015).

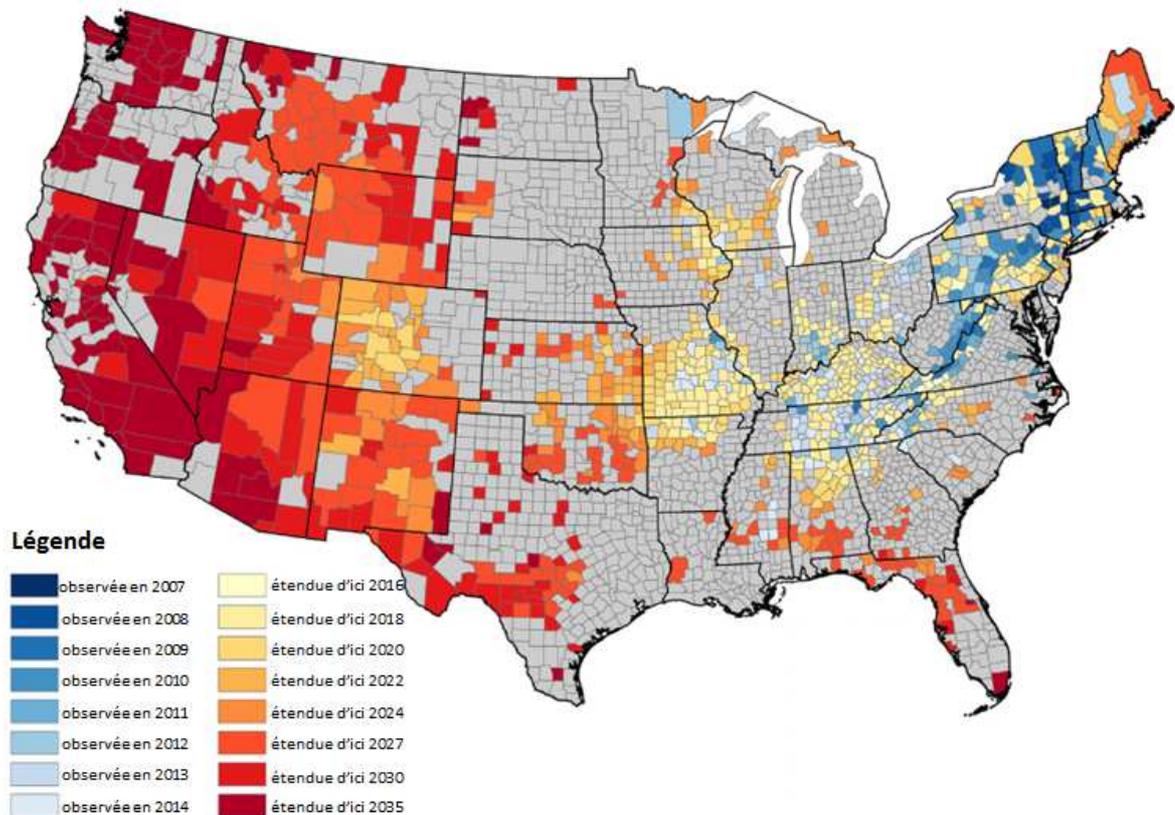
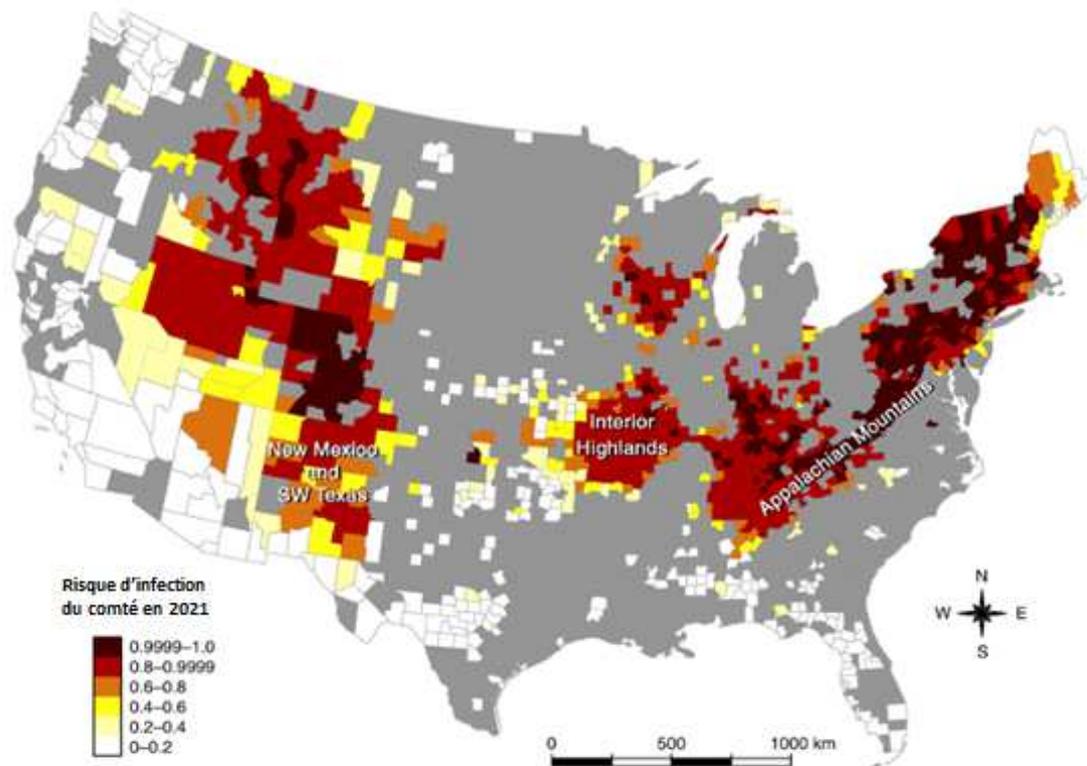


Figure 7 : Estimation du risque d'infection des comtés aux États-Unis en 2021

Les comtés sont colorés en accord avec la fraction de simulation avec laquelle ils ont été infectés sur 10 000 simulations, en supposant que le temps d'extirpation d'un hibernaculum est de trois ans. Les comtés colorés en gris n'ont aucun hibernaculum potentiel et ont été exclus du modèle (O'Reagan *et al.*, 2015).



II. Etiologie

A. *Un agent pathogène inhabituel*

Le syndrome du nez blanc est une infection fongique dont l'agent pathogène, *Pseudogymnoascus destructans*, est un champignon présentant une morphologie n'ayant jamais été décrite auparavant (Blehert *et al.*, 2009).

Qu'un champignon soit l'agent causal primaire d'une maladie responsable d'une telle mortalité de masse est inhabituel. En effet, le débat est nourri, en partie, par le postulat que les infections fongiques chez les Mammifères sont plus communément associées à un dysfonctionnement du système immunitaire (Cryan *et al.*, 2013b) causés par des facteurs prédisposants comme des co-infections par d'autres agents pathogènes (Wibbelt *et al.*, 2013).

De plus, la découverte récente que *P. destructans* colonise communément la peau des chauves-souris d'Europe, là où aucun événement de mortalité inhabituel n'a été rapporté, a renforcé l'idée que ce champignon est un pathogène opportuniste et que d'autres facteurs non identifiés sont la cause primaire du syndrome du nez blanc (Cryan *et al.*, 2013b).

Les examens bactériologiques, virologiques, parasitaires et post-mortem n'ont révélé la présence d'aucun autre agent pathogène connu (Blehert *et al.*, 2009 ; Meteyer *et al.*, 2009).

L'exposition des chauves-souris *M. lucifugus* en bonne santé à des cultures pures de *P. destructans* entraîne l'apparition des lésions cutanées caractéristiques du syndrome du nez blanc, ce qui confirme la suspicion que ce champignon est bien l'agent causal (Lorch *et al.*, 2011 ; Warnecke *et al.*, 2012).

B. Un champignon Ascomycète inédit

1. De *Geomyces destructans*...

Il s'agit d'un champignon de morphologie inédite, ayant une étroite relation avec les genres *Geomyces* et *Pseudogymnoascus* (Blehert *et al.*, 2009) appartenant à la classe des Ascomycètes. Ce champignon produit des arthroconidies sur des conidiophores ramifiés en verticille et sur des hyphes couchées, typiques du genre *Geomyces*, mais ces conidies incurvées de manière asymétrique n'avaient jamais encore été décrites dans ce genre (Blehert *et al.*, 2009) (figure 8).

Il a d'abord été identifié comme une nouvelle espèce de *Geomyces* : *G. destructans*, malgré une position taxinomique unique parmi les autres *Geomyces* connus jusqu'alors (Gargas *et al.*, 2009) à cause de ses conidies asymétriques caractéristiques. De plus, les champignons *Geomyces* appartiennent au groupe des Leotiomycètes qui incluent plusieurs pathogènes de plantes importants (par exemple *Botrytis cinerea* et *Schlerotinia sclerotiorum*) mais qui ne sont pas connus pour inclure d'agent pathogène majeur d'animaux (Berbee, 2001) à l'exception de quelques rares descriptions d'infection par *G. pannorum* chez l'homme (Gianni *et al.*, 2003 ; Zelenková, 2006).

Néanmoins, *G. destructans* semblait étroitement apparenté à *G. pannorum* qui est un champignon psychrophile capable de survivre à des températures extrêmement basses, (Chaturvedi *et al.*, 2010). *Geomyces pannorum* présente de plus des propriétés kératinolytiques grâce à un protéome important contenant plus de protéines avec des fonctions enzymatiques assignées que *G. destructans* (Chibucos *et al.*, 2013). *Geomyces pannorum* est très courant et répandu. Il peut être rencontré aussi bien en France, en Italie, au Canada que dans les régions arctiques (Chabasse *et al.*, 1987 ; Kochkina *et al.*, 2007 ; Mercantini *et al.*, 1989a ; Mercantini *et al.*, 1989b). Il cause de manière peu fréquente des atteintes ongulaires et cutanées superficielles chez l'homme, en contact avec de la poussière ou de la terre (Gianni *et al.*, 2003 ; Zelenková, 2006).

C'est pour cela que certains biologistes souhaitaient regrouper les maladies transmises par ces deux champignons sous le terme « géomycose » plutôt que de conserver le terme syndrome du nez blanc qui fait uniquement référence à un seul signe de cette maladie (Chaturvedi *et al.*, 2011b ; Chaturvedi et Chaturvedi, 2011). Les arbres phylogénétiques présentés dans la figure 9 illustrent la relation étroite entre *Geomyces pannorum* et *Geomyces destructans*.

Figure 8 : Définition taxonomique de *Geomyces destructans* (Gargas et al., 2009)

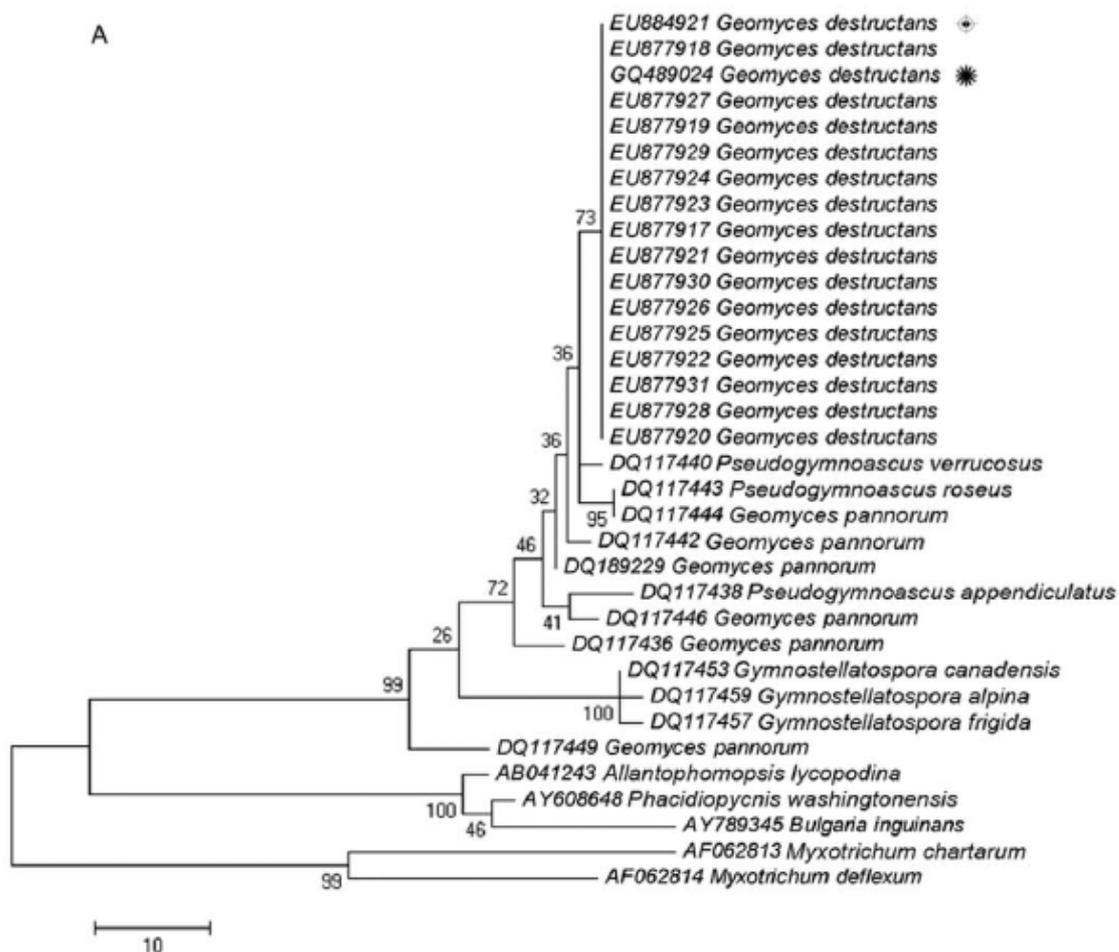
***Geomyces destructans* Bleheret & Gargas, sp. nov.**
 MYCOBANK 513275; GENBANK FJ231098, EU884921

Coloniae lente crescendens et psychrophilicae; nullum augmentum ad 24°C. Conidia acervulata pulverulenta, olivaceo-grisea. Coloniae incoloratae vel sordidae brunneae ad reversum. Conidiosporae solitariae vel breves catenulatae, plurimum apicales, in erectis angustis verticillatis ramosis conidiophoris. Conidia thallica (arthroconidia) rhexolytica cum conspicuis cellis secedens, glabra aut prope glabra, plurima fortiter incurvata 5–12 × 2.0–3.5 μm, attenuata ad fundamenta et apicaliter ad 0.5–2.0 μm, truncata ad extremo una aut uterque, parce crassitunicata. Pathogenica ad chiropteras.

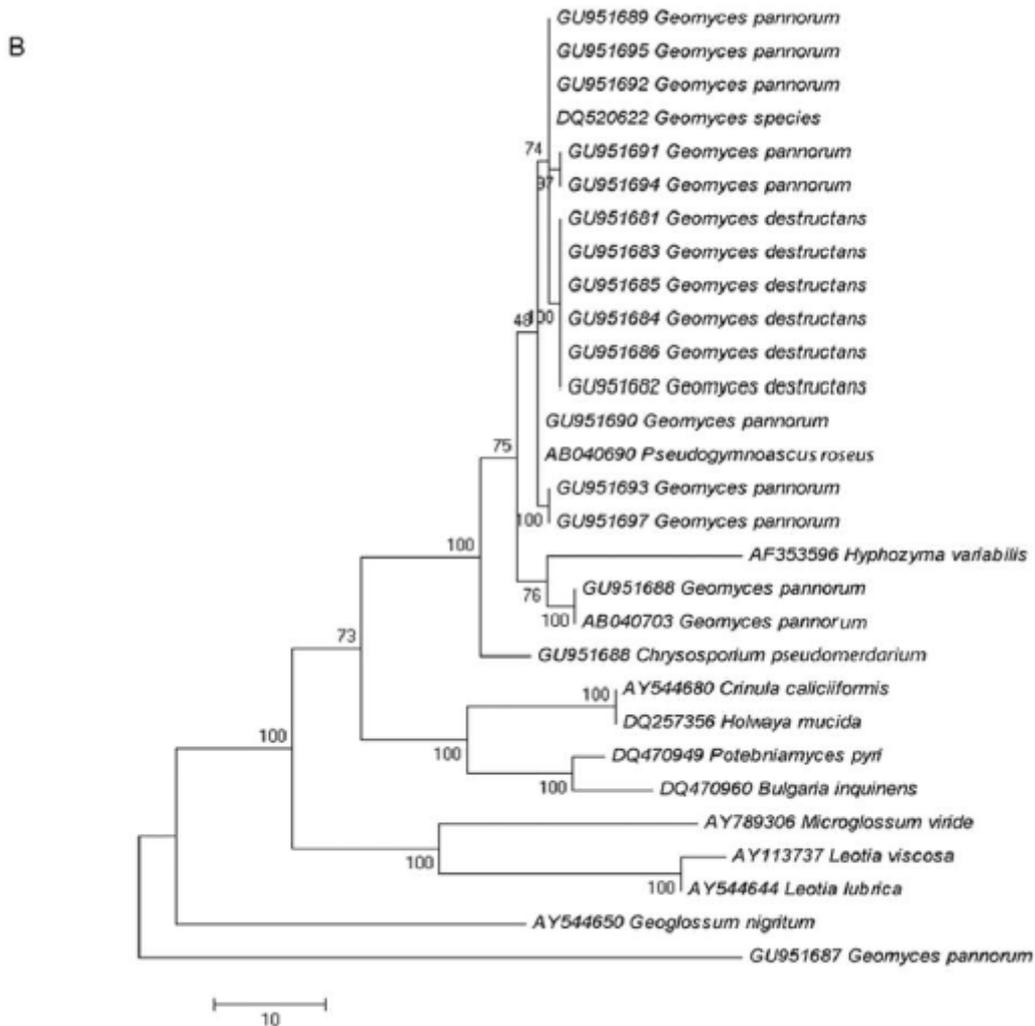
TYPE — USA. New York, Williams Hotel Mine, isolated from a wing of a little brown bat (*Myotis lucifugus*), 2 Feb 2008, Al Hicks [NHWC 20631-21] (Holotype BPI87895; ex-type culture NHWC 20631-21).

Figure 9 : Analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques de *Geomyces destructans*

A : Arbre phylogénétique construit par analyse des séquences ITS (Chaturvedi *et al.*, 2010).



B : Arbre phylogénétique construit par analyse des séquences de l'ARN 28 s (Chaturvedi *et al.*, 2010)

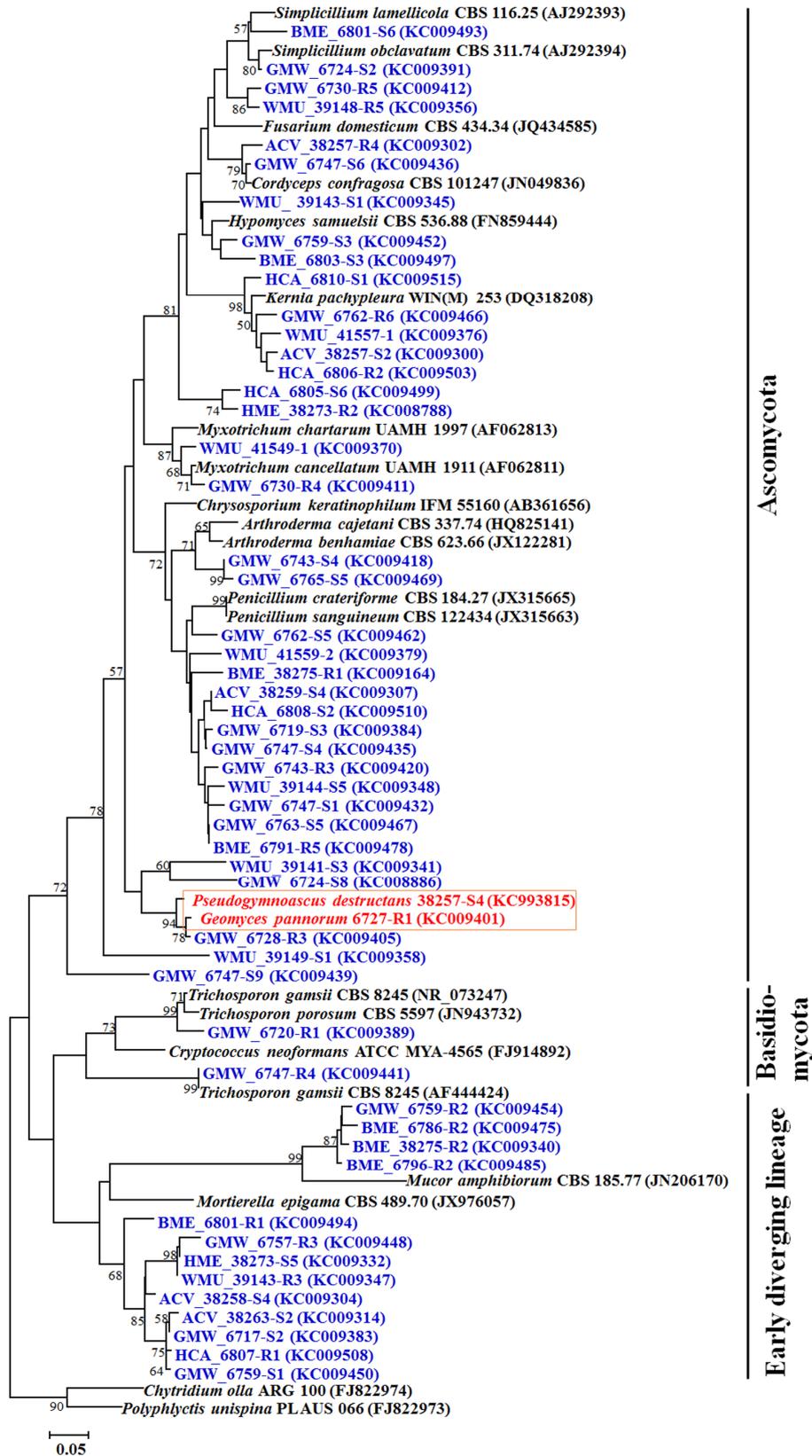


2. ... à *Pseudogymnoascus destructans*

Cependant, *Geomyces destructans* se démarquait franchement des autres champignons pathogènes cutanés responsables d'infections superficielles. C'est en effet la seule espèce connue du genre *Geomyces* capable d'infecter en profondeur les tissus cutanés vivants des chauves-souris hibernantes (Cryan *et al.*, 2010 ; Wibbelt *et al.*, 2010a) en digérant, détruisant et envahissant la peau (Meteyer *et al.*, 2009) grâce à ses propriétés protéolytiques (Chaturvedi *et al.*, 2010).

En 2013, la réalisation de nouvelles études phylogénétiques a déplacé le genre *Geomyces* dans la famille des *Pseudeurotiaceae* au même titre que le genre *Pseudogymnoascus* et a remplacé *G. pannorum* et *G. destructans* dans le genre *Pseudogymnoascus* (Minnis et Lindner, 2013). L'agent pathogène du syndrome du nez blanc a ainsi été renommé *Pseudogymnosascus destuctans* (Minnis et Lindner, 2013) (figure 10).

Figure 10 : Arbre phylogénétique indiquant la place de *Pseudogymnoascus destructans* et des *Geomyces* au sein du Règne des Champignons d'après les séquences ITS (Zhang *et al.*, 2014)



C. Des caractéristiques de cultures inhabituelles

1. Des températures de culture basses...

Pseudogymnoascus destructans est un champignon psychrophile puisqu'il croît à des températures basses situées entre 5 et 14 °C (Blehert *et al.*, 2009 ; Hoyt *et al.*, 2015b ; Langwig *et al.*, 2012 ; Meteyer *et al.*, 2009; Verant *et al.*, 2012 ; Webb *et al.*, 1996) mais sa croissance est lente (Meteyer *et al.*, 2009).

Pseudogymnoascus destructans a une croissance active de zéro à environ 20 °C (Raudabaugh et Miller, 2013), avec un optimum de croissance situé entre 12,5 et 15,8 °C (Verant *et al.*, 2012). La température supérieure critique pour la croissance se situe aux alentours de 20 °C (Blehert *et al.*, 2009), et plus précisément entre 19 et 19,8 °C (Verant *et al.*, 2012). A partir de 24 °C, plus aucune croissance n'est observée (Chaturvedi *et al.*, 2010 ; Gargas *et al.*, 2009 ; Verant *et al.*, 2012).

2. ... parfaitement adaptées aux chauves-souris hibernantes et aux hibernacula

Parallèlement, les températures présentes au sein des hibernacula et des juchoirs tempérés contaminés par le syndrome du nez blanc évoluent saisonnièrement en général entre 2 et 14 °C (Blehert *et al.*, 2009 ; Humphries *et al.*, 2002 ; Langwig *et al.*, 2012 ; Verant *et al.*, 2012 ; Webb *et al.*, 1996).

La température corporelle des chauves-souris pendant la torpeur diminue et se stabilise à quelques degrés de la température ambiante de l'hibernaculum (Meteyer *et al.*, 2009) ; ce qui est compris dans l'échelle de températures de croissance de *P. destructans* et permet donc à longueur d'année la croissance et le maintien du champignon psychrophile (Blehert *et al.*, 2009 ; Hallam et Federico, 2012).

Par contre, lorsque les chauves-souris se réveillent de torpeur, le champignon est alors soumis aux températures corporelles locales qui peuvent excéder 30 °C, température qui ne permet plus la croissance de *P. destructans* (Blehert *et al.*, 2009 ; Hallam et Federico, 2012 ; Studier, 1981).

3. Des taux de croissance sensibles à la température

Les taux de croissance de *P. destructans* peuvent varier entre les isolats, indépendamment de leur origine géographique (Verant *et al.*, 2012) mais les performances de croissance sont surtout dépendantes de la température.

En effet, en laboratoire, l'isolat de *P. destructans* originaire de New York a montré une réduction de performance de croissance de 93 % entre une culture à approximativement 16 °C (proche de l'optimal de croissance) et à approximativement 1 °C rapportée comme étant une température d'hibernation convenable pour les chauves-souris *M. lucifugus*.

Ainsi, la température moyenne d'hibernation des chauves-souris *M. lucifugus* étant assez éloignée de l'optimum de croissance de *P. destructans* (7,2 °C), la performance de croissance du champignon apparaît réduite de 40 % en conditions de laboratoire (Verant *et al.*, 2012).

D. Deux types reproductifs coexistant au sein de Pseudogymnoascus destructans

1. Une reproduction asexuée ou homothallique

En plus de la variation de température influençant les performances de croissance, des changements morphologiques caractéristiques et atypiques de *P. destructans* ont été observés quand il était cultivé à des températures au-dessus d'approximativement 12 à 15 °C (Verant *et al.*, 2012).

De manière compatible avec les modifications morphologiques observées chez d'autres espèces fongiques cultivées à des températures élevées (Lin et Heitman, 2005 ; Robson *et al.*, 2008), *P. destructans* a montré une multiplication des structures hyphales associées à une augmentation des cloisonnements et un épaissement des hyphes, la formation de conidies altérées à l'extrémité de longs conidiophores (Gargas *et al.*, 2009), une production d'arthrospores et une formation de structures chlamydosporiques (Verant *et al.*, 2012). Les extrémités des hyphes montraient également une morphologie en forme d'arborescence compatible avec « des chandeliers faviques » caractéristiques de quelques espèces pathogènes du genre *Trichophyton* (Verant *et al.*, 2012).

Il s'agirait du mode de reproduction asexuée ou reproduction homothallique de *P. destructans* en relation avec le stress (Hoyt *et al.*, 2015b), une seule souche étant ainsi capable de se reproduire avec elle-même et étant ainsi auto-fertile (Palmer *et al.*, 2014). Il s'agit du seul mode reproductif de *P. destructans* présent chez les chauves-souris (Rajkumar, 2011).

Les différentes formations (arthrospores, conidies et chlamydosporiques) peuvent devenir le moyen primaire de la propagation fongique (Rashid, 2001 ; Yazdanparast et Barton, 2006) en réinfectant le même hôte ou en étant transmises à un nouvel hôte (Lorch *et al.*, 2011), et peuvent servir de structures persistantes dans l'environnement (Hoyt *et al.*, 2015b) en résistant à la dessiccation notamment (Lin et Heitman, 2005).

Ce mode de reproduction est particulièrement intéressant pour *P. destructans*, compte tenu de ses caractéristiques de croissance lente (Raudabaugh et Miller, 2013).

2. Une reproduction sexuée ou hétérothallique

Au sein de *P. destructans*, les deux types reproductifs (hétérothallique et homothallique) semblent co-exister dans les hibernacula, suggérant la présence de populations accouplées en Europe (Palmer *et al.*, 2014), mais il existe seulement un mode asexué chez les chauves-souris (Chaturvedi *et al.*, 2011b). Il est possible que *P. destructans* puisse atteindre un stade sexué sous certaines conditions environnementales favorables, même si à l'heure actuelle aucun rapport n'en fait état (Minnis et Lindner, 2013).

Bien que les particules infectieuses de beaucoup de champignons pathogènes soient les spores asexuées, les spores sexuées peuvent être aussi infectieuses. Les spores sexuées fonctionnent également comme des structures de survie, autorisant le champignon à persister pendant de longues périodes de temps en l'absence d'un hôte.

De plus, la reproduction sexuée chez les champignons pathogènes est intéressante parce qu'elle est la base de la variabilité génétique qui a le potentiel de créer des génotypes virulents additionnels (Palmer *et al.*, 2014).

Chez *P. destructans*, la recombinaison sexuée pourrait lui permettre de s'adapter rapidement à son environnement et à ses hôtes, en dépit de sa croissance lente (Palmer *et al.*, 2014).

Bien que l'on pense que les populations de *P. destructans* d'Amérique du Nord soient clonales et d'un seul type reproductif, leur potentiel pour les recombinaisons sexuelles indique qu'une vigilance continue est nécessaire dans la prévention d'introductions d'isolats additionnels de l'agent pathogène en Amérique du Nord (Minnis et Lindner, 2013 ; Palmer *et al.*, 2014).

E. Des propriétés saprophytiques diminuées au profit de propriétés pathogènes

1. Des espèces saprophytes largement répandues au sein de la classe des Ascomycètes

a. Dans les sols à répartition mondiale

Les espèces apparentées à *P. destructans* sont des champignons saprophytes cosmopolites présents dans les sols du monde entier, souvent dans les régions froides (Blehert *et al.*, 2009 ; Gargas *et al.*, 2009) tels que les sols antarctiques, les cryopegs arctiques, les marais de sphaignes canadiens et les sols sous-marins (Kochkina *et al.*, 2007 ; Lindner *et al.*, 2011 ; Lorch *et al.*, 2013a ; Marshall, 1998 ; Rice et Currah, 2006 ; Slinkina *et al.*, 2010 ; Vanderwolf *et al.*, 2013a) grâce à leur tolérance à la salinité (Fisher *et al.*, 2012).

b. Dans les sols des hibernacula

Les hibernacula des chauves-souris sont des environnements frais, humides et sombres qui favorisent la croissance d'une grande variété de champignons (Lorch *et al.*, 2013a).

La classe des Ascomycètes est la communauté fongique dominante des grottes et des mines (Vanderwolf *et al.*, 2013a ; Vanderwolf *et al.*, 2013b) et les membres des genres *Geomyces* (Bernard *et al.*, 2015 ; Izzo et Mazzola, 2009 ; States et Christensen, 2001 ; Vanderwolf *et al.*, 2013b) et *Pseudogymnoascus* (Johnson *et al.*, 2013 ; Vanderwolf *et al.*, 2013b) sont fréquemment isolés du sol, en particulier des hibernacula (Nováková, 2009) représentant approximativement 33 % des isolats fongiques mis en évidence (Lorch *et al.*, 2013a).

c. Sur les chauves-souris

La flore fongique des chauves-souris hibernantes est dominée par des champignons appartenant aux genres *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geomyces*, *Mortierella*, *Penicillium* et *Trichosporon*. Une large diversité de champignons se trouvait ainsi sur les chauves-souris avant l'apparition du syndrome du nez blanc (Johnson *et al.*, 2013).

2. *Pseudogymnoascus destructans*, un champignon saprophyte

a. *L'existence de réservoirs environnementaux*

La capacité à isoler et à cultiver des isolats de *P. destructans* viables depuis le sol (Lindner *et al.*, 2011 ; Lorch *et al.*, 2013a) ou d'autres surfaces abiotiques des hibernacula telles que les parois ou sédiments (Foley *et al.*, 2011 ; Lindner *et al.*, 2011 ; Puechmaille *et al.*, 2011b) a démontré l'existence de réservoirs environnementaux (Eskew et Todd, 2013) de ce champignon pathogène dans des lieux occupés par des chauves-souris hibernantes infectées (Lindner *et al.*, 2011 ; Lorch *et al.*, 2013a) même quand celles-ci sont absentes (Fisher *et al.*, 2012 ; Lorch *et al.*, 2013b) ou ont été exterminées depuis plusieurs années (Lorch *et al.*, 2013b).

En effet, étant donné les besoins en température pour la croissance de *P. destructans*, les grottes et les mines ont des caractéristiques environnementales compatibles avec des réservoirs potentiels sur le long terme puisqu'elles restent froides au cours de l'année, même pendant les mois d'été (Lorch *et al.*, 2013b). Cependant, la durée au cours de laquelle les conidies de *P. destructans* survivent sur les surfaces des hibernacula en l'absence des chauves-souris n'est pas connue (Hoyt *et al.*, 2015b).

b. *Une domination « écrasante »*

Rapidement, *P. destructans* va dominer la population générale fongique environnementale. En effet, dès que *P. destructans* a colonisé un hibernaculum, la probabilité d'étudier d'autres communautés fongiques sur les chauves-souris diminue de près de 100 % (Johnson *et al.*, 2013).

Ainsi, l'isolement de *P. destructans* d'un site donné est corrélé à la présence du syndrome du nez blanc alors que l'absence de l'agent pathogène fongique prédit un site indemne (Zhang *et al.*, 2014).

Les interactions écologiques qui peuvent limiter ou réguler les populations de *P. destructans* ne sont pas connues et il n'est pas encore clair si *P. destructans* s'étend en entrant en compétition ou en déplaçant d'autres champignons et/ou micro-organismes dans les sites contaminés (Zhang *et al.*, 2014).

c. *Un arsenal enzymatique varié*

Pseudogymnoascus destructans serait capable de persister dans les grottes contaminées en tant que champignon saprophyte en utilisant de nombreux substrats (Raudabaugh et Miller, 2013 ; Smyth *et al.*, 2013 ; Verant *et al.*, 2012). Les petits complexes de carbone organique, présents dans de nombreux substrats, agissent en tant qu'îlots ressources en limitant la compétition biotique (Raudabaugh et Miller, 2013). Ils régulent de plus le chargement fongique absolu de *P. destructans* (Reynolds *et al.*, 2015) et s'appuient sur diverses sources de nutriments incluant la kératine et la chitine (Lorch *et al.*, 2013a).

Les matériaux riches en cellulose seraient le meilleur support pour la croissance de *P. destructans*.

Ceci, grâce à la production de nombreuses enzymes (Raudabaugh et Miller, 2013 ; Reynolds et Barton, 2013) telles que les lipases, les hémolysines, l'uréase, la chitinase et la cellulase (Reynolds et Barton, 2014).

Certaines de ces enzymes (uréase, aspartyl et superoxide dismutase) sont trouvées chez d'autres agents pathogènes fongiques et sont considérées comme des facteurs de virulence (Raudabaugh et Miller, 2013 ; Smyth *et al.*, 2013).

d. Une exacerbation du pouvoir pathogène ?

L'agent pathogène du syndrome du nez blanc a montré une activité significativement plus réduite de plusieurs enzymes comparativement aux autres espèces du genre *Pseudogymnoascus*, ce qui pourrait indiquer un changement dans la pression sélective au détriment des capacités saprophytiques de *P. destructans*.

L'agent causal du syndrome du nez blanc montre du potentiel pour une croissance sur une variété de substrats trouvés dans les grottes, bien que de niveaux réduits comparativement aux souches environnementales (Brock, 2008).

Si *P. destructans* a émergé comme agent pathogène opportuniste, la co-évolution avec l'hôte pourrait avoir diminué ses propriétés de croissance saprophytique et augmenté son pouvoir pathogène (Reynolds et Barton, 2014).

L'évolution de la virulence de *P. destructans* viendrait d'interactions génétiques (Lorch *et al.*, 2013a) ou d'une virulence accidentelle par le biais de facteurs de virulence favorisant l'infection d'un hôte (Foley *et al.*, 2011).

L'adaptation au froid des champignons psychrophiles pourrait aussi être importante dans le maintien ou l'augmentation du pouvoir pathogène (Chaturvedi *et al.*, 2010)

e. Des conséquences majeures pour les populations hôtes

La présence de réservoirs environnementaux peut mener à l'extermination de la population hôte car le taux de croissance de l'agent pathogène est découplé de la densité de population (Fisher *et al.*, 2012). Elle peut de plus réduire la probabilité de l'agent pathogène à disparaître si les populations hôtes atteignent de faibles niveaux. Elle peut enfin éviter la recolonisation des hibernacula dont les populations hôtes ont été éliminées, ce qui augmente le risque d'extinction (McCallum, 2012 ; Mitchell *et al.*, 2008).

f. Des répercussions sur les modalités de transmission de la maladie

Ces réservoirs abiotiques pourraient aussi jouer un rôle important dans le processus de transmission de la maladie (Puechmaille *et al.*, 2011b) par l'augmentation du risque de transport mécanique d'inocula par les hôtes naïfs (Fisher *et al.*, 2012) ou par des humains ou d'autres d'animaux qui entrent sur les sites contaminés (Lindner *et al.*, 2011).

Par exemple, *P. destructans* peut croître sur des ectoparasites comme les acariens Spinturnicidés, parasites hématophages colonisant exclusivement les ailes des chauves-souris tout au long de l'année (Dusbábek, 1972), les sites les plus typiquement affectés par la croissance fongique (Cryan *et al.*, 2010). En plus du transport des propagules et/ou des

fragments de mycélium, les acariens peuvent faciliter l'entrée des hyphes dans l'épiderme par des blessures causées lors des morsures (Lučan *et al.*, 2016).

De la même manière, les opilions (*Nelima elegans*) peuvent transporter des spores de *P. destructans* viables de manière externe et interne et ont ainsi le potentiel de transporter *P. destructans*, soit naturellement soit par le biais de l'homme, au sein ou entre les hibernacula (Vanderwolf *et al.*, 2016).

Une surveillance attentive devra être portée aux ratons laveurs, ours, rongeurs, ou tout autre mammifère fréquentant les hibernacula car nous ne savons pas si les chauves-souris sont les seuls vertébrés capables d'héberger *P. destructans*.

Les espèces de Mammifères dont les températures corporelles sont plus basses pendant la torpeur l'hiver ou l'hibernation, peuvent aussi servir d'hôtes alternatifs, étant donné la préférence de *P. destructans* pour la croissance psychrophile (Johnson *et al.*, 2013).

g. Bilan

Pseudogymnoascus destructans n'a pas besoin de son hôte pour survivre et est capable d'une croissance dans l'environnement et d'une amplification qui pourrait contribuer à la progression rapide et à la persistance sur le long terme du syndrome du nez blanc dans les hibernacula des chauves-souris d'Amérique du Nord, compromettant grandement le succès des stratégies de réintroduction des chauves-souris et augmentant le risque de diffusion (Reynolds *et al.*, 2015).

III. Signes cliniques et lésions

A. Des dépôts blanchâtres inconstants

Le syndrome du nez blanc doit son nom à la présence de dépôts blanchâtres évidents sur le museau, les oreilles et/ou les membranes alaires des chauves-souris infectées (Blehert *et al.*, 2009) et illustrées par la figure 11.

Ces dépôts blanchâtres apparaissent délicats, exubérants (Meteyer *et al.*, 2009), ayant un aspect duveteux (Gargas *et al.*, 2009) avec la présence de filaments obstruant complètement les narines.

Sur les ailes, ces dépôts blanchâtres peuvent prendre l'aspect d'un film blanc, opaque et collant de densité variable (Meteyer *et al.*, 2009).

Ils peuvent également envahir toute l'épaisseur de la membrane alaire, aussi bien chez les chauves-souris américaines qu'européennes.

Cependant, ces dépôts blanchâtres grossiers ne sont pas toujours présents sur les chauves-souris infectées et il n'est pas rare que les dépôts sur la face, les ailes (Meteyer *et al.*, 2009) et les pavillons auriculaires (Gargas *et al.*, 2009) soient perdus lorsque les chauves-souris quittent leur hibernaculum et se préparent au vol.

Figure 11 : Une petite chauve-souris brune (*Myotis lucifugus*) infectée par le syndrome du nez blanc, New-York

Présence de petits dépôts blancs sur la face (désignés par la tête de flèche) ainsi que des dépôts plus irréguliers de proliférations fongiques blanchâtres sur les ailes (désignés par des flèches longues) et les oreilles (désignés par la flèche courte) (Meteyer *et al.*, 2009)



B. Des lésions cutanées et alaires non caractéristiques

1. Les lésions cutanées

Outre les dépôts fongiques, les chauves-souris infectées présentent des lésions cutanées plus ou moins marquées. Les modifications cutanées vont, en fonction de leur sévérité, de la perte de reflet des peaux glabres, à une pigmentation irrégulière voire à des tâches cutanées et rugueuses sur la face, les oreilles, les membres antérieurs et les pieds avec des foyers blancs focaux ressemblant à des comédons présents sur le museau (Meteyer *et al.*, 2009).

2. Les lésions alaires

Les lésions alaires ont plus particulièrement retenues l'attention des biologistes. Dès 2006, les chercheurs ont commencé à enregistrer les preuves de lésions alaires, incluant différents degrés de perforations, scarifications, signes de nécrose, atrophie des membranes alaires (Reichard et Kunz, 2009), contraction ou petites déchirures (Meteyer *et al.*, 2009). Lors de lésions alaires sévères, les caractéristiques de souplesse, d'élasticité et de tonicité sont compromises (Cryan *et al.*, 2010) et les surfaces repliées des membranes alaires adhèrent les unes aux autres, se déchirent facilement (Meteyer *et al.*, 2009a), semblent perdre en tonicité et en élasticité et ressemblent à du papier froissé (Cryan *et al.*, 2010).

Les lésions alaires ont ainsi pu être classées en cinq types (Reichard et Kunz, 2009) (figure 12) :

1. les tâches ou lésions de dépigmentation ;
2. les desquamations ou scarifications ;
3. les zones de nécroses ;
4. les trous ou perforations ;
5. et les pertes de membrane.

Il s'est avéré que la décoloration et les perforations étaient communes (Powers *et al.*, 2013) et que les lésions alaires discrètes (Francl *et al.*, 2011), modérées et sévères (Powers *et al.*, 2013) pouvaient être retrouvées aussi bien sur des chauves-souris infectées que sur des chauves-souris non infectées (Francl *et al.*, 2011 ; Powers *et al.*, 2013), indépendamment de l'âge des individus (Francl *et al.*, 2011) sans affecter les performances de vol (Fenton, 1970). Les morsures d'ectoparasites seraient même incriminées pour expliquer de discrètes lésions alaires, notamment les tâches (Francl *et al.*, 2011).

En parallèle, un index des lésions alaires a été développé mais il ne semble pas être un indicateur clair du degré d'atteinte des chauves-souris par le syndrome du nez blanc. Il permet seulement d'orienter les animaux présentant des lésions alaires importantes vers des tests de dépistage fiables (Francl *et al.*, 2011). Jusqu'à ce que des indicateurs non ambigus ou des lésions pathognomoniques du syndrome du nez blanc ne soient trouvés, l'observation de terrain des lésions alaires seule ne peut être suffisante (Powers *et al.*, 2013).

Figure 12 : Les différentes lésions alaires rencontrées chez une petite chauve-souris brune (*Myotis lucifugus*) infectée par le syndrome du nez blanc (Reichard et Kunz, 2009)

1/ tâches ou lésions de dépigmentation (désignées par des flèches blanches) associées à des cicatrices/scarifications



2/ lésions de dépigmentation et desquamation (désignées par des flèches blanches) le long de l'avant-bras



3/ lésions nécrotiques et perte de membrane (désignées par des flèches noires)



4/ lésions de perforation entourées de tissus nécrotiques et tâches (désignées par des flèches blanches)



5/ perte de membrane alaire (désignées par une flèche noire)



C. Des comportements anormaux responsables d'un amaigrissement marqué

Les chauves-souris infectées présentent enfin classiquement un fort amaigrissement voire une émaciation chez celles sévèrement atteintes (Kannan *et al.*, 2010 ; Meteyer *et al.*, 2009 ; Warnecke *et al.*, 2012)

Le syndrome du nez blanc est aussi caractérisé par des comportements anormaux pendant l'hibernation incluant des activités de vols diurnes hors des hibernacula en hiver (Hallam et Federico, 2012 ; Kannan *et al.*, 2010), des réveils de torpeur inattendus et plus fréquents pendant l'hibernation (Boyles et Willis, 2010 ; Hallam et Federico, 2012) et un juchement des individus infectés près des entrées des hibernacula (Hallam et Federico, 2012).

Ces comportements anormaux entraînent par l'augmentation des dépenses énergétiques (Hallam et Federico, 2012), un épuisement des réserves graisseuses (Boyles et Willis, 2010 ; Cryan *et al.*, 2010 ; Storm et Boyles, 2011), diminuant ainsi leur capacité à se réveiller de torpeur (Boyles et Willis, 2010 ; Hallam et Federico, 2012) puis la mort des individus infectés (Kannan *et al.*, 2010).

D. Des évolutions différentes

1. Chez *Myotis lucifugus*

La majorité de la mortalité des petites chauves-souris brunes (*Myotis lucifugus*) documentée associée au syndrome du nez blanc a lieu pendant la seconde moitié (Warnecke *et al.*, 2012) de la saison d'hibernation (Cryan *et al.*, 2010) et plus précisément après environ deux à trois mois d'hibernation (Cryan *et al.*, 2010 ; Warnecke *et al.*, 2012).

2. Chez les chauves-souris européennes

Les chauves-souris hibernantes européennes notablement infectées par *P. destructans* peuvent présenter les dépôts fongiques exubérants classiques et de nombreuses lésions alaires.

Cependant, elles ne subissent aucune mortalité en relation avec le syndrome du nez blanc (Puechmaille *et al.*, 2011b) ni aucun des changements de comportement au cours de l'hibernation (Martínková *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2011b ; Wibbelt *et al.*, 2010a ; Wibbelt *et al.*, 2013).

Elles quittent d'ailleurs classiquement leur hibernaculum au printemps avec les membres non infectés de leur colonie (Puechmaille *et al.*, 2011b ; Wibbelt *et al.*, 2013).

E. Bilan

Les signes d'infection par le syndrome du nez blanc peuvent ainsi être subtils, inconstants, non spécifiques et difficiles à mettre en évidence (Meteyer *et al.*, 2009).

D'autres infections fongiques peuvent ainsi mimer un syndrome du nez blanc, telles que l'infection par *Hyphopichia burtonii*, qui a entraîné des lésions macroscopiques similaires à celles décrites dans le cas d'une infection par *P. destructans* chez une chauve-souris Barbastelle d'Europe (Simpson *et al.*, 2013). Il en va de même pour le dermatophyte *Trichophyton redellii* qui entraîne des infections cutanées superficielles chez des chauves-souris américaines (Wisconsin) (Lorch *et al.*, 2015).

Un diagnostic sûr et efficace sera alors indispensable pour différencier ces infections mycosiques, par le biais d'un examen histopathologique notamment (Meteyer *et al.*, 2009).

IV. Diagnostic

A. Des lésions macroscopiques non diagnostiques

L'examen de la peau et des ailes des chauves-souris *Myotis lucifugus*, compte-tenu de leur petite taille (5-7 g), nécessite une lumière amplifiée et un rétro-éclairage des ailes étirées pour détecter d'éventuelles modifications macroscopiques (Meteyer *et al.*, 2009).

Mais ces lésions macroscopiques telles que les dépôts fongiques blanchâtres ou les lésions alaires ne sont pas spécifiques du syndrome du nez blanc et leur observation ne permet pas le diagnostic de certitude de la maladie.

Les méthodes actuelles classiques de détection de *P. destructans* incluent la réalisation de scotch-tests pour l'identification morphologique du champignon, d'écouvillonnages pour la culture fongique et les tests PCR (polymerase chain reaction) et de biopsies classiques ou par punch (surtout au niveau des ailes) pour les analyses histologiques et les tests PCR (Dobony *et al.*, 2011).

B. Des lésions microscopiques caractéristiques à l'examen histologique

Les sites de prélèvements histologiques à utiliser préférentiellement pour le diagnostic sont le museau rostral, le nez et la membrane alaire, qui est le site primaire d'infection (Cryan *et al.*, 2010 ; Meteyer *et al.*, 2009). Pour optimiser la recherche, le museau est coupé longitudinalement, la membrane alaire est enroulée et de multiples coupes sont réalisées pour augmenter la surface examinée.

La coloration à l'acide periodique-Schiff est essentielle pour mettre en évidence les hyphes et les conidies non pigmentées (Meteyer *et al.*, 2009).

1. Une description caractéristique des hyphes de *Pseudogymnoascus destructans*

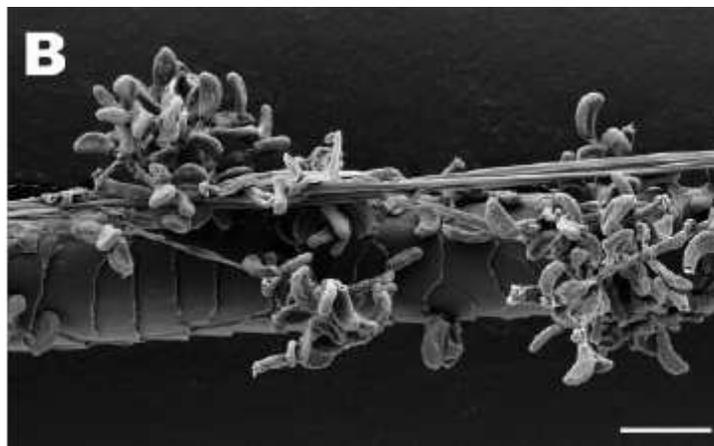
Les hyphes, sur les sections tissulaires, sont ramifiées et cloisonnées, avec une morphologie variable allant de formes avec des parois parallèles mesurant 2 µm de diamètre à des formes avec des parois irrégulières, bombées ou arrondies mesurant de 3 à 5 µm de diamètre.

Les conidies (figure 13) sont incurvées et mesurent approximativement 2,5 µm de diamètre et 7,5 µm de long et possèdent un centre basophile avec l'une ou leurs deux extrémités arrondies (Meteyer *et al.*, 2009).

Les spores étaient hyalines, incurvées de manière irrégulière, la plupart en forme de croissant (typiquement 6-8 µm de long et 3-4 µm de large) et affinées à chaque extrémité ; l'une d'entre elle clairement tronquée (Puechmaille *et al.*, 2010).

Figure 13 : Aspect en microscopie électronique à balayage d'un poil de chauve-souris colonisé par *Pseudogymnoascus destructans*

Présence de très nombreuses conidies incurvées caractéristiques rattachées aux hyphes par une de leurs extrémités ; barre = 10 μm (Wibbelt *et al.*, 2010)



2. Les lésions microscopiques chez les chauves-souris nord-américaines

a. Chez les chauves-souris hibernantes

Les modifications microscopiques les plus bénignes visualisées au sein des membranes alaires sont des érosions épidermiques en forme de cupule, remplies par des hyphes (figure 14A et B). Les ulcérations de la membrane basale épidermique et les infiltrations par les hyphes du tissu conjonctif sont fréquentes et peuvent concerner l'épaisseur complète de la membrane alaire (Meteyer *et al.*, 2009). Les hyphes peuvent parfois aussi envahir les lits capillaires, érodant sévèrement ces structures et causant des infarctus (Cryan *et al.*, 2010 ; Meteyer *et al.*, 2009). L'infarctus est la mort brutale des tissus suite à un manque d'approvisionnement en oxygène. Les changements caractéristiques présents dans les tissus infarcis sont visibles dans les zones alaires distantes de l'invasion fongique, incluant la perte des contours cellulaires des structures dermiques, la rétractation des tissus et une hyperéosinophilie (coloration rougeâtre intense et uniforme des tissus).

Bien que *P. destructans* n'ait pas un tropisme vasculaire marqué en n'envahissant pas directement les vaisseaux sanguins, la disparition de la vascularisation causée par le champignon aurait le même effet sur le tarissement du flux sanguin de la région (Cryan *et al.*, 2010). Les tissus nécrotiques sont prompts à se déchirer ou peuvent se détacher, entraînant une perte de surface alaire (Reichard et Kunz, 2009).

Parfois, le tissu conjonctif, les vaisseaux sanguins et lymphatiques, les structures glandulaires et les fibres musculaires et élastiques formant le tissu alaire normal sont remplacés par de nombreuses colonies, dès que *P. destructans* a digéré, utilisé et envahi la peau (Cryan *et al.*, 2010).

Lorsque le museau est touché (figure 15A et B), les hyphes infiltreront les follicules pileux, les glandes sébacées et apocrines (Meteyer *et al.*, 2009). Ces dernières se trouvent

parfois remplies d'hyphes et de conidies prolifératives (Chaturvedi *et al.*, 2011a ; Meteyer *et al.*, 2009) qui s'étendent au sein du tissu conjonctif environnant, effaçant les structures épithéliales des annexes (Meteyer *et al.*, 2009).

Typiquement, on peut noter l'absence d'inflammation cutanée chez les chauves-souris hibernantes, même en cas d'invasion importante du tissu sous-cutané des peaux glabres et du museau. La présence des très nombreuses conidies et d'hyphes aériennes à la surface de la peau est autant rapportée que les ulcérations épidermiques caractéristiques et l'invasions du tissu conjonctif (figure 14C et D). L'absence d'inflammation, dans la grande majorité des cas, est très surprenante (Meteyer *et al.*, 2009).

Si une inflammation est présente, elle se manifeste par la présence d'œdème et de granulocytes neutrophiles dans le tissu conjonctif environnant, avec occasionnellement la présence d'abcès intra-dermiques. La présence de bactéries est inconstante mais fréquente chez les chauves-souris présentant une inflammation (Meteyer *et al.*, 2009).

Aucune lésion tissulaire autre que cutanée n'a été mise en évidence microscopiquement (Meteyer *et al.*, 2009).

b. Chez les chauves-souris sorties d'hibernation

Contrairement aux chauves-souris hibernantes, les chauves-souris ayant récemment quitté leur état d'hibernation, présentent d'importantes lésions inflammatoires associées aux lésions alaires sévères.

Les modifications histologiques incluent une dermite suppurée associée à une folliculite, un œdème et des infiltrations macrophagiques diffuses (Meteyer *et al.*, 2009).

Sur l'épiderme intact, de fréquentes croûtes inflammatoires contenant des hyphes sont retrouvées (figure 15C).

Chez les chauves-souris collectées rapidement après l'hibernation, de petits paquets d'hyphes intradermiques entourées par une fine couche de matériel acellulaire (figure 15D) (Meteyer *et al.*, 2009) ainsi que des escarres croûteuses contenant des hyphes (Reichard et Kunz, 2009) peuvent être observés.

Figure 14 : Lésions histopathologiques cutanées de membrane alaire chez une petite chauves-souris brune (*Myotis lucifugus*) infectée par le syndrome du nez blanc

Lésions histopathologiques cutanées de membrane alaire de chauves-souris *M. lucifugus* infectée par le syndrome du nez blanc. Barre = 15 μm (Meteyer *et al.*, 2009).

A : Section histologique d'une membrane alaire présentant une invasion fongique (flèche) faiblement colorée à l'Hématoxyline-Eosine (HE) sans infiltration inflammatoire associée.

B : Hyphes fongiques, colorées en magenta brillant, associées à des érosions épidermiques en forme de coupe (tête de flèche) et des ulcères (flèche) envahissant le tissu sous-cutané. Coloration à l'acide periodique-Schiff (PAS).

C : Section de membrane alaire collectée d'une chauve-souris à l'intérieur d'une cave tout de suite après l'euthanasie. Présence d'une prolifération fongique exubérante à la surface de la peau (flèche) et pénétrant la membrane alaire (têtes de flèche) sans inflammation associée. Coloration à l'acide periodique-Schiff (PAS).

D : Présence de conidies incurvées de manière caractéristique à la surface de la membrane alaire mesurant approximativement 2,5 μm de diamètre et 7,5 μm de long, ayant une ou deux extrémités émoussées et une région centrale fortement basophile (têtes de flèche). Un amas local d'hyphes fongiques est présent dans l'épithélium alaire opposé. Coloration à l'acide periodique-Schiff (PAS).

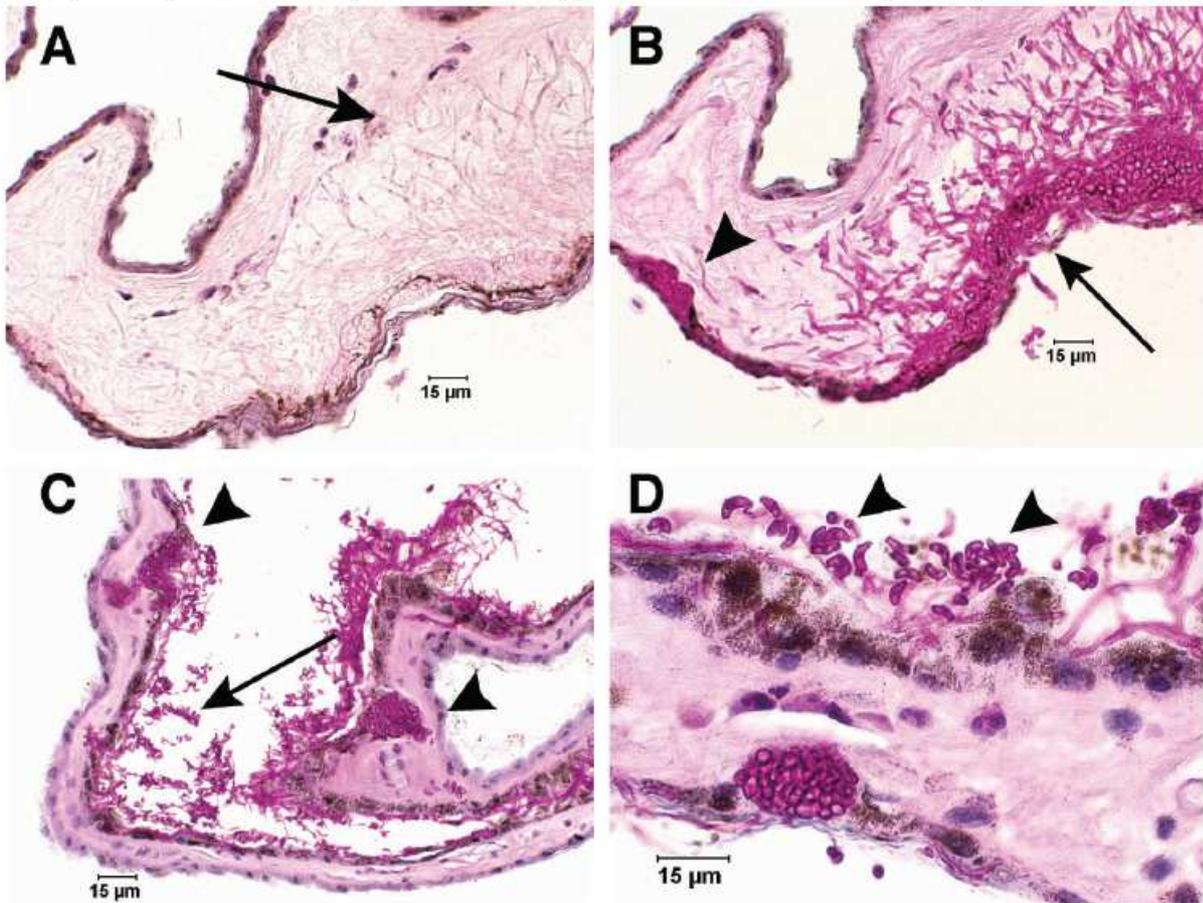


Figure 15 : Lésions histopathologiques cutanées (museau et ailes) chez des petites chauves-souris brunes (*Myotis lucifugus*) infectées par le syndrome du nez blanc

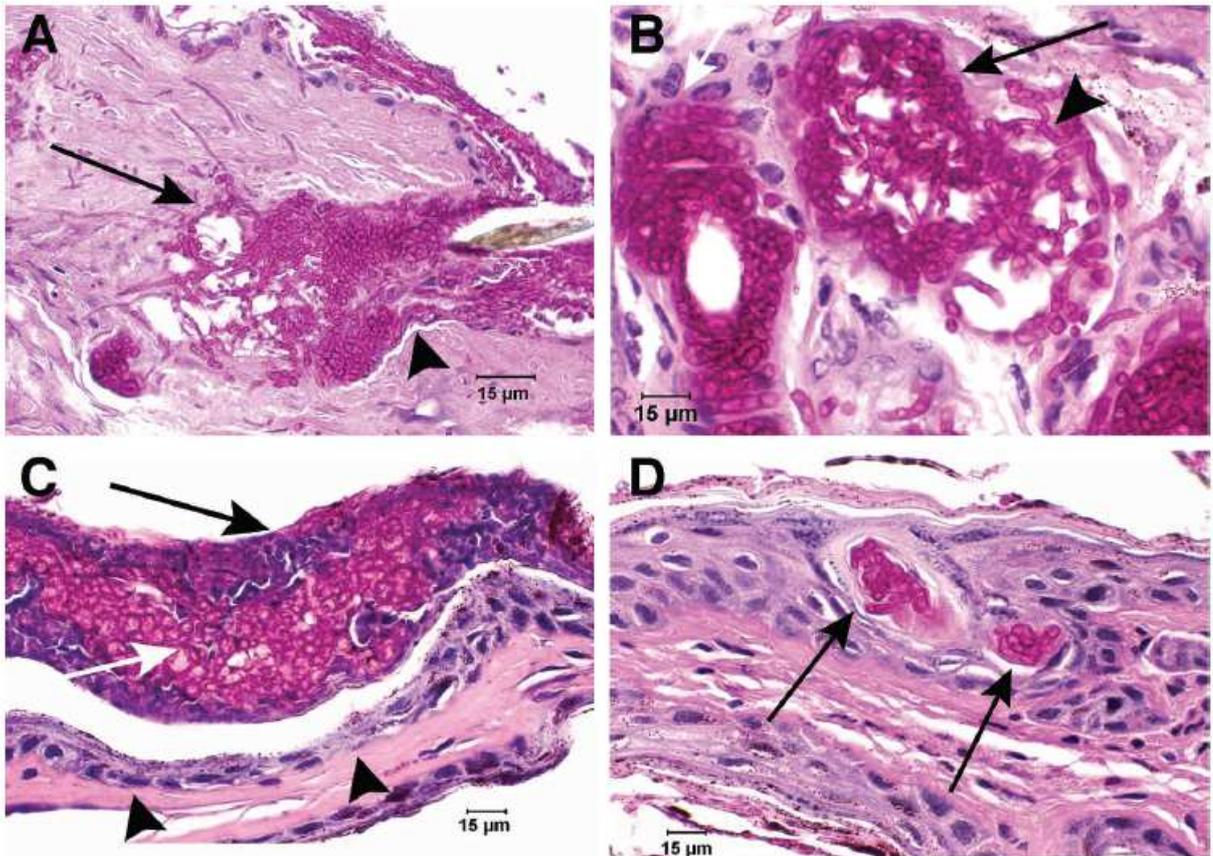
Lésions histopathologiques cutanées (museau et ailes) de chauves-souris *M. lucifugus* infectées par le syndrome du nez blanc. Coloration PAS. Barre = 15 µm (Meteyer *et al.*, 2009).

A : Section histologique de museau associée à la présence d'hyphes fongiques envahissant un follicule pileux (tête de flèche) et envahissant les tissus sous-cutanés environnants (flèche). Aucune réponse inflammatoire n'est présente et des bactéries colonisent la surface cutanée.

B : Hyphes fongiques obstruant l'épithélium folliculaire (flèche blanche) et une glande sébacée (flèche) du museau d'une chauve-souris. Les hyphes fongiques sont ramifiées, septaées (tête de flèche) et de morphologie variable allant de parois parallèles mesurant 2 µm de diamètre à des parois bosselées ou globuleuses mesurant 3 à 5 µm de diamètre. Aucune réponse inflammatoire n'est présente.

C : Membrane alaire d'une chauve-souris collectée en mai après l'émergence d'hibernation mais incapable de voler. Les cellules inflammatoires (flèche noire) entourent les hyphes fongiques (flèche blanche) formant une croûte cellulaire recouvrant l'épiderme intact (têtes de flèche). Aucune réponse inflammatoire n'est présente.

D : Chauves-souris différente mais avec une histoire similaire à celle de la photo C. Des amas quiescents sont entourés par une fine couche de matériel acellulaire au sein de l'épiderme alaire (flèches).



3. Les lésions microscopiques chez les chauves-souris européennes

Les lésions cutanées des chauves-souris européennes infectées par *P. destructans* sont similaires aux lésions épidermiques décrites chez les chauves-souris d'Amérique du Nord (Bandouchova *et al.*, 2015 ; Wibbelt *et al.*, 2013).

Deux chauves-souris ont des érosions épidermiques en forme de cupule comme décrites chez les chauves-souris d'Amérique du Nord et toutes les lésions observées sont superficielles et contenues aux couches superficielles de l'épiderme (*stratum corneum*) et de ses annexes, les hyphes restant principalement dans la couche cornée superficielle (Wibbelt *et al.*, 2013) sans s'étendre au derme (Frank *et al.*, 2014 ; Wibbelt *et al.*, 2013).

Dans les cas où les hyphes ont envahi les couches plus profondes de l'épiderme, une infiltration neutrophilique pustuleuse les ont encerclées avec la formation de miro-abcès bien délimités au sein des couches épidermiques (Wibbelt *et al.*, 2013).

L'ultramicroscopie a révélé des lésions plus sévères avec la présence d'œdème au sein du tissu conjonctif et des dérangements des fibroblastes et des fibres élastiques associés à une invasion cutanée par *P. destructans*.

L'infection fongique extensive induit une infiltration inflammatoire marquée par des neutrophiles à l'interface entre les parties endommagées de la membrane alaire remplacée par des hyphes et le tissu sain non encore envahi. Il n'y a pas de signes d'activité kératinolytique dans le *stratum corneum* (Bandouchova *et al.*, 2015).

Les lésions pathognomoniques du syndrome du nez blanc sont ainsi présentes chez les chauves-souris européennes et peuvent également inclure des croissances fongiques envahissantes sur toute l'épaisseur de la membrane alaire, égalant la sévérité des lésions des chauves-souris d'Amérique du Nord (Bandouchova *et al.*, 2015).

4. L'analyse histologique : une méthode diagnostique de référence

L'examen histologique représente toujours l'examen de référence pour le diagnostic et l'identification des lésions cutanées microscopiques caractéristiques du syndrome du nez blanc.

Cependant, cette méthode est coûteuse, chronophage et nécessite un entraînement spécialisé. Pour une analyse complète, elle requiert également une grande quantité de tissu alaire (approximativement 1,5 cm x 3,0 cm (Lorch *et al.*, 2010) nécessitant soit des analyses sur les animaux morts soit l'euthanasie (Muller *et al.*, 2013 ; Powers *et al.*, 2013).

Dès les premiers décès observés en Amérique du Nord, les études avec capture d'individus dans les hibernacula ont été fortement découragées à cause de l'impact négatif de ces perturbations sur l'hibernation des chauves-souris. Parallèlement, en Europe, les chauves-souris ne pouvant être euthanasiées sans permis à cause de leur statut protégé, la majorité des tests diagnostiques ont eu lieu sur des chauves-souris vivantes sans possibilité d'examen histopathologique (Pikula *et al.*, 2012).

Ceci a encouragé le développement de méthodes diagnostiques peu voire non invasives.

C. Des cultures fongiques peu sensibles

Des poils coupés, des scotch-tests (Wibbelt *et al.*, 2010) et du tissu alaire (morceau d'environ 1,5 cm x 1,5 cm) (Gargas *et al.*, 2009 ; Lorch *et al.*, 2010) peuvent être directement déposés dans des boîtes de Petri contenant différents milieux de culture. Classiquement, les géloses glucosée de pomme de terre (Chaturvedi *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2010), de Sabouraud Dextrose (Chaturvedi *et al.*, 2010 ; Gargas *et al.*, 2009 ; Lorch *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2010), d'extrait de malt (Martínková *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2010), de farine de maïs (Gargas *et al.*, 2009), Mycosel ou au Rose Bengale (Chaturvedi *et al.*, 2010) peuvent être utilisées. La gélose glucosée de pomme de terre est souvent utilisée pour induire la formation des spores (Chaturvedi *et al.*, 2010).

Ces géloses sont souvent complémentées en peptone mycologique (Puechmaille *et al.*, 2010) ou en antibiotiques (classiquement chloramphénicol et gentamycine (Lorch *et al.*, 2010) mais aussi amikacine, ampicilline, carbénicilline, céfazoline, méthane-sulfonate de colistine, kanamycine, ofloxacine, streptomycine, tétracycline et vancomycine (Chaturvedi *et al.*, 2010)) de manière à isoler et purifier *P. destructans*. Parfois, en cas de contamination bactérienne intense, un traitement à l'acide hydrochlorique peut être nécessaire (Chaturvedi *et al.*, 2010).

Les cultures peuvent être conservées en transférant le tampon mycélien sur des milieux de croissance frais tous les 60 à 90 jours (Lorch *et al.*, 2010).

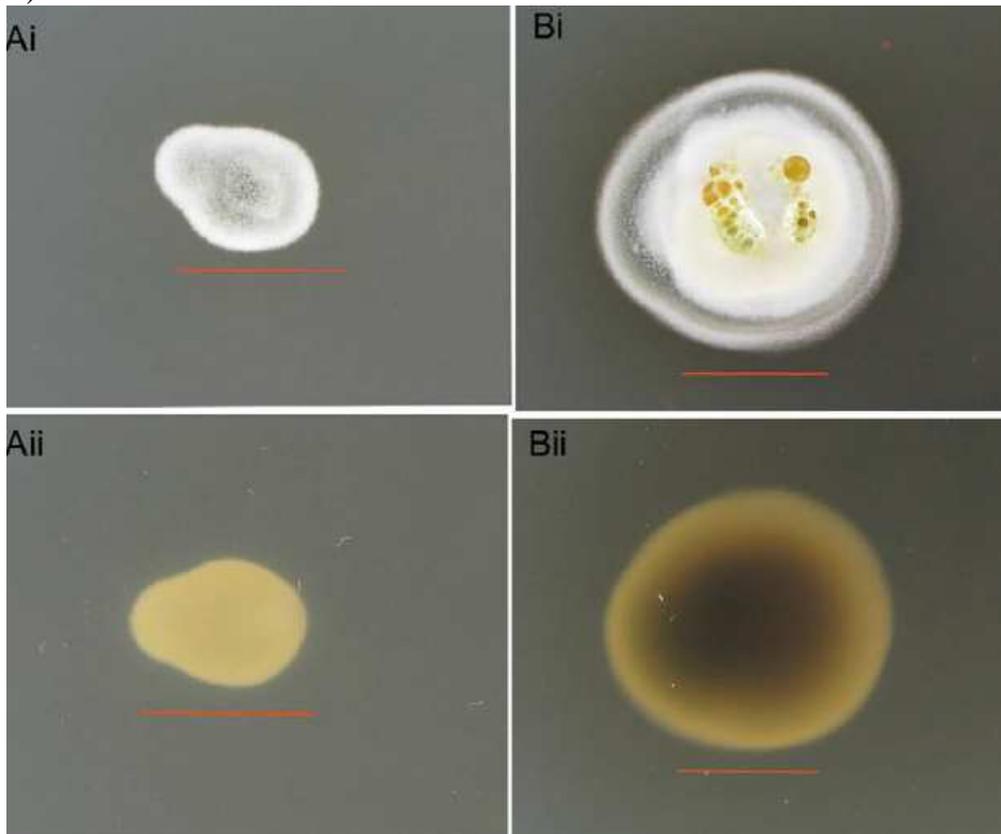
Les colonies présentent une croissance lente et psychrophile. En effet, le diamètre des colonies observé est, après 14 à 16 jours d'incubation, de 1 mm à 4 °C (Wibbelt *et al.*, 2010a), 5 mm à 7 °C, 8 mm à 14 °C, 1 mm à 23°C (Gargas *et al.*, 2009), aucune croissance n'étant observée à 24 et 25 °C (Gargas *et al.*, 2009 ; Wibbelt *et al.*, 2010a). Il a atteint 18 mm après un mois d'incubation à 15 °C, considérée comme la température idéale de culture (Martínková *et al.*, 2010).

Les colonies apparaissent blanches initialement mais après la production de spores et le vieillissement, elles foncent rapidement à partir du centre pour prendre une teinte grise terne, tirant souvent sur le vert (allant du vert olive au vert Andover (Gargas *et al.*, 2009)) (Gargas *et al.*, 2009 ; Martínková *et al.*, 2010 ; Puechmaille *et al.*, 2010) (figure 16 Ai et Bi). Côté *verso*, les colonies apparaissent incolores initialement puis prennent par la suite une teinte allant du beige au brun (Gargas *et al.*, 2009 ; Martínková *et al.*, 2010) (figure 16 Aii et Bii).

La culture fongique révèle fréquemment la présence de multiples espèces de champignons et bactéries à la surface des ailes des chauves-souris ou dans les échantillons environnementaux. La spécificité de ce test diagnostique est de 100 % mais comparativement à l'histologie, la sensibilité n'est que de 54 %. Cette faible sensibilité peut s'expliquer par la compétition avec d'autres micro-organismes présents sur les ailes des chauves-souris qui rivalisent avec *P. destructans* lorsqu'il s'agit de croître sur un milieu de croissance et qui masquent sa présence. La détection par culture exige également que le champignon soit présent à l'état viable, contrairement à l'examen histologique et à la PCR qui peuvent détecter le champignon à l'état non viable (Lorch *et al.*, 2010).

Figure 16 : Aspect morphologique et croissance des colonies fongiques de *Pseudogymnoascus destructans*

Les colonies fongiques ont été incubées à 4 °C (Figure 16 A) et à 15 °C (Figure 16 B) pendant 28 jours sur une gélose dextrosée de pomme de terre. L'aspect initial de la colonie (Figure 16 Ai) apparaît blanc, velouteux, glabre virant au vert grisâtre, de texture poudreuse. Les colonies plus âgées montrent des exsudats en surface (Figure 16 Bi). Côté *verso*, aucune pigmentation n'est présente initialement (Figure 16 Aii) puis par la suite, une pigmentation diffuse brun foncée apparaît (Figure 16 Bii). Barres = 10 mm (Chaturvedi *et al.*, 2010).



D. Des tests PCR (polymerase chain reaction) permettant la détection de *Pseudogymnoascus destructans* sur les chauves-souris et dans l'environnement

1. Un test diagnostique fiable et une méthode peu à non invasive

Par rapport au diagnostic histologique, l'examen de référence, le test PCR a une spécificité de 100 % et une sensibilité de 96 %, contre seulement 54 % avec les méthodes de culture fongique classiques (compétition entre plusieurs micro-organismes, nécessité de disposer du champignon vivant) (Lorch *et al.*, 2010).

La précision, la rapidité et le coût de cette méthode sont avantageux. La PCR apporte aux biologistes de terrain de précieuses informations sur le statut d'infection plus rapidement qu'avec les méthodes traditionnelles (Lorch *et al.*, 2010).

De plus, la faible quantité de prélèvement cutané nécessaire (approximativement 3 mm x 3 mm (Muller *et al.*, 2013)) pour le test PCR en temps réel prodigue un outil de diagnostic alternatif pour détecter rapidement le syndrome du nez blanc sur des animaux vivants, à l'aide de biopsies par punch de membrane alaire (Lorch *et al.*, 2010 ; Muller *et al.*, 2013).

2. Des tests toujours plus performants

a. Amélioration du seuil de détection

Les méthodes basées sur la PCR ont été développées et améliorées depuis plusieurs années car elles permettent de détecter *P. destructans* sur les ailes des chauves-souris infectées à partir de prélèvements tissulaires de petite taille (1 à 2 mg) (Lorch *et al.*, 2010).

Le seuil limite de détection par PCR est passé de 5 fg (Lorch *et al.*, 2010) à 3,3 fg d'ADN fongique purifié de *P. destructans* (Muller *et al.*, 2013).

b. Amélioration de la spécificité

Les premières méthodes PCR utilisées manquaient de spécificité pour relever le défi majeur qu'est la présence d'espèces très proches, ubiquitaires et souvent très nombreuses dans les sols ou sédiments des grottes (Reynolds et Barton, 2014).

En effet, des réactions croisées avaient lieu entre les amorces précédemment créées pour amplifier l'ADN de *P. destructans* et des espèces proches de *Geomyces* et *Pseudogymnoascus* (Lorch *et al.*, 2010), compliquant l'identification de *P. destructans* dans les échantillons environnementaux (Lorch *et al.*, 2013a) et pouvaient masquer sa présence s'il était en faible abondance (Lorch *et al.*, 2013b).

c. Développement des méthodes par PCR quantitative (PCRq)

Depuis 2013, les analyses PCRq ont été de plus en plus utilisées pour détecter le champignon responsable, *P. destructans*, à la fois dans des échantillons associés à l'environnement et à la chauve-souris et elle fournit un outil pour la quantification de l'ADN du champignon utile pour la recherche et la gestion.

Des méthodologies optimisées et standardisées ont été développées pour améliorer l'extraction des acides nucléiques fongiques à partir de sédiments, de guano, et d'écouvillons en utilisant des kits commerciaux associés à une combinaison de modifications chimiques, enzymatiques, et mécaniques et pour limiter les variations liées à différents facteurs (techniques d'extraction, d'analyse, le personnel, le laboratoire) (Smith *et al.*, 2006 ; Verant *et al.*, 2016).

Tout d'abord, le test PCRq TaqMan ciblant le gène codant pour l'alfa-L-rhamnosidase (test PCRq ALR) de *P. destructans*, est très sensible et spécifique, et permet de confirmer l'identification de *P. destructans* en moins de quatre heures (Chaturvedi *et al.*, 2011b).

Il a ensuite été développé un test PCRq TaqMan qui détecte l'ADN de *P. destructans* en ciblant une portion précise d'un complexe de gènes ARNr (test PCRq IGS). Ce test est plus rapide, sensible (approximativement 100 fois plus sensible que le test PCRq ALR ; *P. destructans* étant systématiquement détecté à des concentrations très faibles, (Muller *et al.*,

2013)) et spécifique (ce test PCRq IGS amplifie spécifiquement l'ADN génomique de *P. destructans* sans amplifier la séquence cible de 54 isolats fongiques très proches (Muller *et al.*, 2013), limitant ainsi les réactions croisées) (Minnis et Lindner, 2013).

Puis, un test PCRq basé sur un unique polymorphisme nucléotidique (SNP) spécifique pour *P. destructans* (test PCRq ITS1) a été développé. Cette méthode est une méthode à haut rendement, encore plus sensible pour l'identification de *P. destructans* et très spécifique pour l'identification d'autres espèces de *Pseudogymnoascus* ou *Geomyces* dans des échantillons environnementaux variés (dont les sédiments, les échantillons fécaux, les spécimens de biopsie alaire, et les écouvillons cutanés) d'Amérique du Nord (Reynolds et Barton, 2014).

Contrairement aux autres tests PCR, la PCRq en temps réel ITS 1 peut détecter d'autres espèces de *Pseudogymnoascus* et d'autres espèces de *Geomyces* en plus de *P. destructans*, ce qui en fait une technique de choix pour l'analyse de la communauté microbienne et d'autres applications en dehors de la recherche du syndrome du nez blanc (Reynolds et Barton, 2014).

Enfin, des améliorations ont été apportées au test PCR en temps réel ITS 1 développé précédemment pour affiner ses performances de quantification (Verant *et al.*, 2016).

E. Des tests diagnostiques en développement

1. Les tests de pyroséquençage

D'autres tests diagnostiques, tels que le test de pyroséquençage, pourraient être développés. Le test de pyroséquençage implique le séquençage de courtes séquences de nucléotides dans un pool d'échantillons contenant de multiples allèles, basé sur une séquence taxon spécifique récemment identifiée chez *P. destructans*. Ce test permettrait de détecter l'agent pathogène dans des échantillons de sol des grottes des chauves-souris (Lindner *et al.*, 2011). Il fournirait ainsi des expérimentations précises, peu onéreuses et de haut débit (Van de Wouw et Howlett, 2012).

2. Les biomarqueurs

L'infection par *P. destructans* entraîne une diminution des réserves lipidiques et plus spécifiquement des lipides insaturés (Pannkuk *et al.*, 2015a). Les espèces fongiques altèrent l'insaturation lipidique pour permettre la croissance psychrophile (Pannkuk *et al.*, 2014a).

Les biomarqueurs lipidiques peuvent fournir une méthode pour déterminer comment *P. destructans* interagit avec le tissu hôte, peuvent différencier les stades infectieux, et peuvent au final confirmer les mécanismes pathophysiologiques sous-jacents de la maladie (Warnecke *et al.*, 2013). L'identification des biomarqueurs dans les systèmes hôte-pathogène pourrait mener au développement de nouvelles technologies thérapeutiques et diagnostiques (Pannkuk *et al.*, 2015a).

Les lipides sébacés sécrétés par les tissus tégumentaires de l'hôte sont impliqués dans l'attachement initial et la reconnaissance des tissus de l'hôte par l'agent pathogène fongique et peuvent être utilisés comme biomarqueurs pour diagnostiquer la sévérité de l'infection fongique chez les chauves-souris (Pannkuk *et al.*, 2013). Ils ne permettent pas par contre de prédire la sensibilité des espèces au syndrome du nez blanc (Pannkuk *et al.*, 2014b).

Le ratio du cholestérol par rapport à d'autres classes de lipides sébacés (par exemple, les squalènes) peut être un biomarqueur de la sévérité des lésions alaires dus à la sur-

régulation de la synthèse du cholestérol cutané observé dans les tissus tégumentaires endommagés (Wu-Pong *et al.*, 1994). Cependant des taux élevés de cholestérol (inférieur ou égal à 70 %) trouvés chez les chauves-souris peuvent être biaisés à cause de la difficulté à isoler de manière adéquate les lipides sécrétés des ailes, sans contamination par le cholestérol des membranes cellulaires (Pannkuk *et al.*, 2013).

F. Des méthodes ou « astuces » aidant au diagnostic

Pour limiter au maximum les perturbations et la manipulation des individus au sein des hibernacula pendant l'hibernation, plusieurs auteurs proposent des solutions alternatives ou des astuces pour limiter autant que possible les interactions hommes-chauves-souris.

Ainsi, Frick *et al.* (2010b) proposent d'utiliser les colonies de maternités estivales pour fournir les données relatives au déclin des populations régionales. En effet, la mortalité des chauves-souris *M. lucifugus* dans les hibernacula hivernaux est reflétée par la diminution des niveaux d'activité en été (Dzal *et al.*, 2011).

Pour cibler au mieux les hibernacula contaminés en fonction des espèces hibernantes présentes, Janicki *et al.* (2015) utilisent le fait que les infections cryptiques par *P. destructans* sont communes à toutes les espèces de chauves-souris, et que les infections visibles n'ont lieu que rarement chez certaines espèces (*E. fuscus*, *M. grisescens*, et *M. sodalis*). En effet, grâce à la très grande prévalence de l'infection et aux très grands portages fongiques visibles chez certaines espèces (*M. Lucifugus*, *M. septentrionalis*, et *P. subflavus*), l'examen visuel sur un site d'au moins 17 individus *M. lucifugus* et *M. septentrionalis* ou 29 individus *P. subflavus* est toujours efficace pour déterminer si un site est contaminé ou non par *P. destructans*. De plus, parce que la probabilité de détection visuelle du champignon est plus élevée tard dans l'hiver, les surveillances doivent être réalisées aussi proches que possible de la fin de la période d'hibernation (Janicki *et al.*, 2015).

De la même manière, l'utilisation de la lumière ultraviolette à longue onde ou UVA (longueur d'onde de 366 à 385 nm) provoque une fluorescence distincte jaune-orangée (figure 17) des membranes des ailes de chauves-souris qui correspond directement aux lésions alaires causées par *P. destructans* (figure 18) (Turner *et al.*, 2014). La lumière UVA peut donc être utilisée comme une méthode non létale applicable sur le terrain pour dépister les chauves-souris infectées et pour guider l'échantillonnage de biopsies non létales ciblées pour un test moléculaire de suivi, des analyses de culture fongique, ou la confirmation histologique du syndrome du nez blanc (Turner *et al.*, 2014).

Figure 17 : Transillumination d'une aile de chauve-souris à la lumière UVA

Examen d'une aile de chauve-souris vivante mettant en évidence la fluorescence jaune-orangée caractéristique des lésions alaires causées par *P. destructans*. Le flou sur la photo est dû au mouvement de l'animal pendant la longue exposition (Turner *et al.*, 2014).

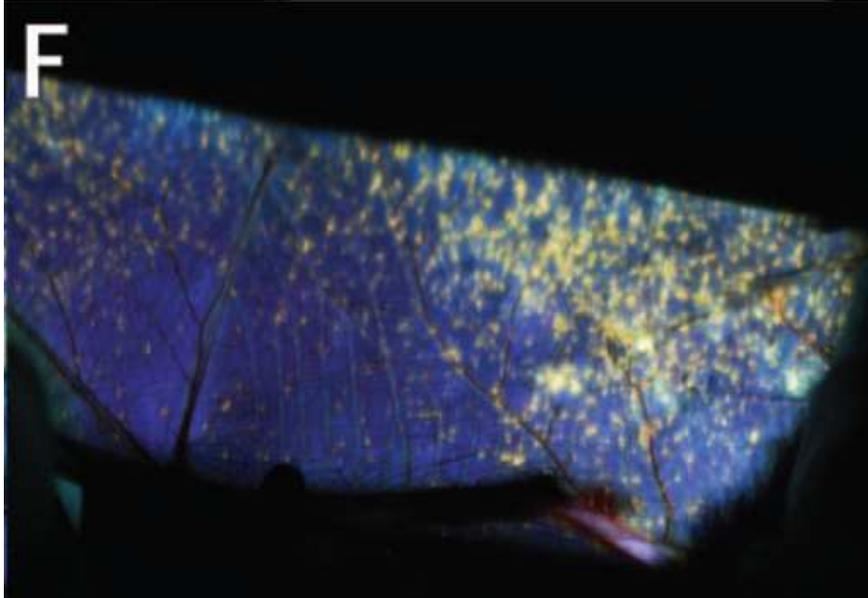


Figure 18 : Comparaison des lésions alaires à l'examen histologique et à la lumière UVA

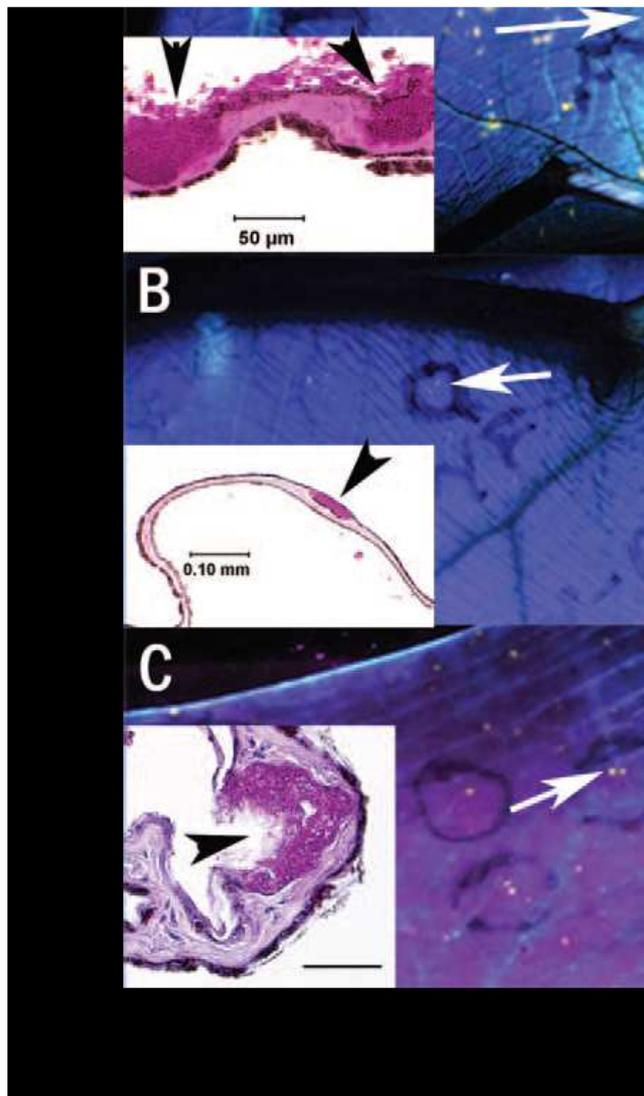
Examen en parallèle des coupes histologiques classiques de peau d'aile de chauves-souris infectées obtenues après coloration à l'acide périodique-Schiff (encarts côté gauche) et des sites de fluorescence obtenus avec la lumière ultraviolette lors de l'examen d'une aile de chauve-souris vivante (images principales). Le flou sur la photo est dû au mouvement de l'animal pendant la longue exposition (Turner *et al.*, 2014).

(B) : - Image principale : présence d'un cercle noir d'environ 1 cm² de surface alaire (flèche blanche courte) et d'un autre tronqué en partie mais associé à des points de fluorescence (flèche blanche longue) ;

- Encart : sections histologiques en regard des zones de fluorescence et de cette zone d'1 cm² de tissu alaire montrant des érosions en forme de coupe (têtes de flèche), emplies d'hyphes fongiques.

(C) : - Image principale : présence de cercles noirs entourant de nombreux points de fluorescence (flèche blanche) ;

- Encart : section histologique d'un échantillon de biopsie de 4 mm réalisée en regard d'une zone de fluorescence montrant une grande érosion en forme de coupe remplies d'hyphes fongiques (tête de flèche), barre = 50 µm.



V. Physiopathologie

A. Les relations entre hibernation, métabolisme et système immunitaire

1. Chez les Mammifères

L'hibernation entraîne, chez les Mammifères, une sous-régulation dramatique de leur métabolisme de 96 à 98 % (Meteyer *et al.*, 2009) ainsi qu'une diminution (Meteyer *et al.*, 2009) voire une quasi-suppression des réponses immunitaires (Burton et Reichman, 1999; Turner et Reeder, 2009). Cette régulation du système immunitaire a lieu tant que le métabolisme ne retrouve pas son niveau basal et tant que la température corporelle ne retourne pas à des valeurs euthermiques (Carey *et al.*, 2003).

La torpeur est aussi accompagnée par des réductions d'activité physique, des rythmes cardiaque et respiratoire et de la flore bactérienne digestive (Turner et Reeder, 2009). Le métabolisme pendant la torpeur se modifie avec le passage d'un catabolisme glucidique (glycolyse) à un catabolisme lipidique (Carey *et al.*, 2003 ; Melvin et Andrews, 2009 ; Neuweiler, 2000).

2. Chez les chauves-souris infectées

La température corporelle des chauves-souris en hibernation baisse de quelques degrés par rapport à la température ambiante de l'hibernaculum (généralement de 2 à 10 °C) (Bouma *et al.*, 2010 ; Meteyer *et al.*, 2009). La température d'hibernation des chauves-souris se situe donc dans l'intervalle de croissance optimale de *P. destructans* (entre 1 et 15 °C) (Gargas *et al.*, 2009 ; Cryan *et al.*, 2010).

Les chauves-souris deviennent ainsi des hôtes privilégiés pour *P. destructans* en fournissant des substances nutritives, des conditions environnementales idéales et peu ou pas de résistance à l'agent pathogène (Cryan *et al.*, 2010) qui peut envahir les tissus sans déclencher de réaction immunitaire (Bouma *et al.*, 2010) et donc de réaction inflammatoire (Cryan *et al.*, 2010).

De manière plus nuancée, il semblerait que les chauves-souris *M. lucifugus* infectées présentent un système immunitaire défectueux comparativement à celui des chauves-souris non infectées, mais pour certaines réponses immunes seulement (Wibbelt *et al.*, 2010b). En effet, des chauves-souris infectées par le syndrome du nez blanc montrent à la mi-hibernation des réponses immunitaires innées à la fois supérieures et réduites selon l'agent pathogène testé avec des capacités bactéricides plus élevées contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, mais plus faibles contre *Candida albicans* quand elles étaient comparées à celles des chauves-souris prélevées sur des sites non contaminés (Moore *et al.*, 2011).

Plus précisément, à l'échelle cellulaire, une diminution de l'activité anti-oxydante et du taux d'IL-4 (interleukine-4, cytokine induisant la différenciation des cellules T) a été mise en évidence (Moore *et al.*, 2013). Ces modifications pourraient refléter des coûts énergétiques élevés associés à des processus et des qualités intrinsèques d'immunocapacité des chauves-souris hibernantes pour lutter contre *P. destructans* (Moore *et al.*, 2013). L'étude de Rapin *et al.* (2014) semble corroborer cette hypothèse puisqu'elle a mis en évidence une augmentation significative dans les poumons de transcription de cathélicidine

(peptide anti-microbien). Les chauves-souris hibernantes pourraient donc répondre spécifiquement à une infection expérimentale à *P. destructans* en activant l'expression de gènes de réponse immunitaire innée (Rapin *et al.*, 2014).

Néanmoins, des études ultérieures seront nécessaires pour préciser ces phénomènes et leurs implications.

B. Le devenir des chauves-souris infectées ayant survécu à l'hibernation

a. La réactivation de la réponse immunitaire

Alors que les chauves-souris infectées se réveillent d'hibernation, leur température corporelle augmente à des valeurs euthermiques (34 à 39 °C, (Neuweiler, 2000)), bien au-dessus de celles permettant la croissance de *P. destructans* (Meteyer *et al.*, 2011).

Le métabolisme des chauves-souris infectées qui sortent d'hibernation retourne à son niveau basal, ce qui entraîne l'apparition d'une réponse neutrophilique contre *P. destructans* (Meteyer *et al.*, 2011). Cette réponse du système immunitaire et la séquestration de *P. destructans* chez les chauves-souris homéothermiques suggèrent que les chauves-souris ont un cycle de suppression et de réactivation de la réponse immunitaire cellulaire similaire au modèle mammifère de régulation immunitaire pendant et après l'hibernation (Bouma *et al.*, 2010).

b. Le syndrome inflammatoire de reconstitution immune (SIRI)

Cependant, paradoxalement, la restauration de la fonction immunitaire suite au réveil d'hibernation peut en fait contribuer à la dégradation substantielle de la pathologie du syndrome du nez blanc chez les chauves-souris infectées (Meteyer *et al.*, 2012).

En effet, deux à trois semaines après l'émergence d'hibernation, des chauves-souris précédemment infectées pouvaient être retrouvées mortes ou moribondes et incapables de voler. Malgré des soins et une volonté évidente de s'alimenter et de s'hydrater, ces chauves-souris mouraient en 30 heures. Elles présentaient des lésions alaires manifestes après seulement quelques semaines à une température euthermique avec des membranes alaires apparaissant sèches, raides, fragiles et contractées avec une perte d'élasticité (Meteyer *et al.*, 2012). Ces lésions macroscopiques apparaissaient de manière concomitante avec une inflammation visible à l'examen histologique (Meteyer *et al.*, 2011). Cette inflammation neutrophilique intense associée à un agent pathogène invasif était caractéristiquement absente chez les animaux torpides (Meteyer *et al.*, 2009). En plus de l'infiltration neutrophilique intense multifocale, l'examen histologique des ailes a également révélé des aires d'association de nécrose aiguë et d'œdème et des régions d'agrégation dense de neutrophiles dégénérés (Meteyer *et al.*, 2012).

Il est possible que ce phénomène touchant les chauves-souris nord-américaines infectées ayant survécu au réveil d'hibernation mais qui succombent après quelques semaines à une température euthermique soit dû à un syndrome inflammatoire de reconstitution immune, phénomène bien documenté chez l'Homme (Meteyer *et al.*, 2012).

Une fois que les chauves-souris deviennent euthermiques et que les températures corporelles retournent à la normale, la fonction immunitaire est rapidement rétablie. Les populations réanimées de cellules immunitaires rencontrent alors soudainement l'infection fongique qui a progressé en sévérité pendant l'hibernation (Meteyer *et al.*, 2012). La réponse résultante est une mobilisation neutrophilique exubérante sur les sites de l'infection (Meteyer *et al.*, 2011), responsable d'une nécrose avec œdème et séquestrant les hyphes dans un réseau de matériel cellulaire dégénératif (Fuchs *et al.*, 2007).

Comme chez l'Homme, l'intensité et l'étendue de l'infection des tissus détermineront si la réponse inflammatoire exubérante associée à la rapide reconstitution de l'immunité causera des sévères lésions tissulaires et la mort, ou éliminera l'agent pathogène et résultera en la guérison de l'hôte (Meteyer *et al.*, 2012).

c. La possible guérison

Si les chauves-souris infectées sont capables, suite au réveil d'hibernation, de survivre au processus de guérison de post-émergence (Meteyer *et al.*, 2011), les lésions alaires, en dépit de la nature parfois sévère de la blessure initiale, devraient pouvoir guérir si on leur donne suffisamment de temps (Fuller *et al.*, 2011).

La guérison est un processus exigeant physiologiquement qui nécessite du temps, de l'énergie (Fuller *et al.*, 2011 ; Meteyer *et al.*, 2011) et une température corporelle euthermique (approximativement 38 °C) (Cryan *et al.*, 2013b). La température corporelle euthermique des chauves-souris, bien supérieure aux températures permettant la croissance de *P. destructans*, associée à la réponse cellulaire immunitaire décrite précédemment et à une saison permettant la recherche fructueuse de nourriture, semble adéquate pour venir à bout de l'infection chez les chauves-souris port-hibernantes (Meteyer *et al.*, 2011).

Il existe des preuves convaincantes de la capacité des chauves-souris à guérir de telles blessures. En effet, en captivité, la guérison des chauves-souris naturellement infectées par *P. destructans* quand on leur prodigue des soins (tels que chaleur, eau et nourriture) suivant l'émergence de l'hibernation suggèrent que les chauves-souris sauvages peuvent également guérir du syndrome du nez blanc (Fuller *et al.*, 2011). De même, le déclin de la prévalence des lésions alaires observé plus tard dans la saison est certainement expliqué par la guérison (Fuller *et al.*, 2011).

Le temps de cicatrisation des lésions alaires observé est de moins de quatre semaines, mais il pourrait être augmenté en cas d'infections bactériennes ou fongiques concomitantes (Reichard et Kunz, 2009).

Il est possible que des hyphes ou des conidies restent accrochées à la peau ou à la fourrure des chauves-souris même après que celles-ci ont guéri de l'infection fongique. Si ces éléments fongiques restent viables, même si probablement dormants au cours de la saison d'été, il est probable que lorsque les chauves-souris retourneront en hibernation, les températures froides, l'humidité importante et la chute de la température corporelle des chauves-souris puissent permettre une nouvelle croissance du champignon. Ce phénomène permettrait ainsi une recrudescence du syndrome du nez blanc sans ré-infection (Meteyer *et al.*, 2011).

Ainsi, la guérison définitive des chauves-souris sauvages du syndrome du nez blanc suivant l'émergence de l'hibernation n'est pas garantie (Meteyer *et al.*, 2011).

C. La pathophysiologie du syndrome du nez blanc chez les chauves-souris hibernantes

1. La présence de lésions alaires

a. Les origines des lésions

(1) L'invasion par *Pseudogymnoascus destructans*

Pseudogymnoascus destructans sécrète des protéases pendant l'infection, qui permettent au mycélium de pénétrer dans les tissus sous-cutanés (Pannkuk *et al.*, 2015b). Une protéase sérine de type subtilisine dominante a été isolée et identifiée comme étant produite *in vitro* par *P. destructans* (Pannkuk *et al.*, 2015b) et pourrait fonctionner comme facteur de virulence et jouer le rôle de protéase extra-cellulaire permettant la pénétration initiale du tégument chiroptère en jouant un rôle dans la nécrose alaire (Cryan *et al.*, 2010).

L'invasion fongique entraîne ainsi des érosions de l'épiderme, une destruction des glandes apoclines et sébacées et des follicules pileux, ainsi que des vaisseaux sanguins et du tissu conjonctif (Meteyer *et al.*, 2009).

Étant donné le niveau de dégâts physiques produits par l'infection par *P. destructans*, il a été suggéré qu'elle pouvait physiquement irriter les chauves-souris (Brownlee-Bouboulis et Reeder, 2013) et exacerber un comportement de nettoyage.

(2) Le toilettage

Le toilettage, entre individus et par frottements de museau, pourrait aggraver la pénétration traumatique du champignon dans les tissus infectés (Chaturvedi *et al.*, 2010). Les chauves-souris nettoient ou « grattent » leurs ailes pour enlever les hyphes irritantes et les tissus endommagés physiquement (Pannkuk *et al.*, 2015b).

(3) Les autres causes

Ces autres causes, anecdotiques, regroupent les lésions suite à la rencontre avec des objets dans leur environnement, et aux blessures liées aux tentatives avortées de prédation (Davis, 1968). Les chauves-souris à la fois captives et sauvages peuvent également être sujettes aux lésions alaires induites par les humains résultant de biopsies des ailes collectées par les chercheurs pour les études génétiques (Turmelle *et al.*, 2011 ; Worthington-Wilmer et Barratt, 1996) ou de blessures associées au marquage des chauves-souris (Fuller *et al.*, 2011).

b. Des conséquences physiologiques majeures

En plus de la fonction de locomotion, les ailes des chauves-souris jouent un rôle important dans leur écologie, allant de la protection microbienne à la fécondité (Fuller *et al.*, 2011 ; Kluger et Heath, 1970). Le patagium intervient, notamment dans la régulation de l'eau, la circulation et la thermorégulation (Wibbelt *et al.*, 2010a).

(1) L'hypothèse de déshydratation

Alors que les hyphes de *P. destructans* envahissent et érodent le tissu alaire, plus spécifiquement les glandes sébacées qui produisent des sécrétions intervenant dans l'imperméabilité, la surface épidermique ulcérée des membranes alaires perd ses fonctions de barrière pour maintenir l'homéostasie des fluides corporels. Les pertes d'eau par évaporation seraient ainsi accélérées et provoqueraient une sévère déshydratation associée à des déséquilibres électrolytiques, qui à leur tour augmenteraient la fréquence des réveils pendant l'hibernation (ou réduirait le temps passé en torpeur) (Cryan *et al.*, 2010).

L'infection cutanée pourrait également réduire la respiration cutanée à travers les membranes alaires, qui semble être une source significative d'échanges gazeux pour les chauves-souris pendant la torpeur (Makanya et Mortola, 2007). L'augmentation de la fréquence respiratoire compenserait les échanges gazeux cutanés altérés, aggravant par la suite la perte d'eau générale par évaporation (Cryan *et al.*, 2010).

Cette hypothèse de déshydratation a reçu un soutien circonstancié (Willis *et al.*, 2011) et semble être la cause des réveils la plus probable (Thomas et Geiser, 1997).

En conséquence, si le taux de perte d'eau par évaporation devenait assez élevé pour excéder la capacité à obtenir de l'eau par condensation à l'intérieur des hibernacula (Willis *et al.*, 2011), les chauves-souris infectées seraient forcées de se réveiller de torpeur plus souvent parce qu'elles auraient besoin d'augmenter leur volume d'eau corporelle (Cryan *et al.*, 2010 ; Németh *et al.*, 2010). La preuve de l'abreuvement en excès appuyée par les observations de terrain de chauves-souris infectées par le syndrome du nez blanc buvant de l'eau et mangeant de la neige pendant les périodes de réveil suggère que cela reste une hypothèse probable (Brownlee-Bouboulis et Reeder, 2013).

La déshydratation, augmentant la fréquence des réveils de torpeur pour chercher de l'eau, pourrait également expliquer les vols hivernaux des chauves-souris infectées hors des hibernacula (Cryan *et al.*, 2010).

(a) *Le cas particulier de Myotis lucifugus*

L'hypothèse de déshydratation prédit aussi que les individus non infectés des espèces les plus sensibles au syndrome du nez blanc telles que les chauves-souris *M. lucifugus* montrent des taux élevés de pertes d'eau par évaporation comparativement aux espèces moins sensibles, quelles que soient les valeurs d'humidité relative de l'air (Willis *et al.*, 2011). Même dans un air quasiment saturé (99,4 % d'humidité relative), les chauves-souris *M. lucifugus* solitaires pendant les longues périodes de torpeur profondes perdaient quand même de l'eau plus rapidement que leur taux de production d'eau métabolique. Ainsi, même dans des hibernacula aussi humides, les chauves-souris *M. lucifugus* subiraient des pertes hydriques qui nécessiteraient qu'elles se réveillent pour boire (Willis *et al.*, 2011).

Ainsi, les espèces qui ont des taux intrinsèquement élevés de pertes d'eau par évaporation pendant la torpeur, avant l'infection par *P. destructans*, pourraient être davantage à risque pour n'importe quelle augmentation additionnelle de pertes d'eau. En

plus des conséquences physiologiques directes d'une augmentation du risque de déshydratation, les espèces de chauves-souris comme *M. lucifugus* avec des taux relativement élevés de pertes d'eau par évaporation pourraient également devenir plus facilement infectées, à cause de leur dépendance probable aux micro-habitats humides qui favorisent la croissance fongique, ainsi qu'à cause de leur tendance à se regrouper en large groupe pour réduire les coûts d'énergie et les pertes d'eau par évaporation (Cryan *et al.*, 2010). En plus de l'augmentation du risque d'infection, l'utilisation de microclimats humides pourrait également accélérer la progression de la maladie en autorisant une croissance plus rapide de *P. destructans*.

(2) L'hypothèse de déshydratation hypotonique

Cela a amené à « l'hypothèse de déshydratation hypotonique » selon laquelle les chauves-souris infectées montreraient une perte accrue d'eau et d'électrolytes à cause des lésions alaires, qu'elles compenseraient en buvant l'eau à l'intérieur des hibernacula mais sans accès à la nourriture, donc en souffrant au final d'un déficit en électrolytes (Cryan *et al.*, 2013a).

Les chauves-souris hibernantes sont des insectivores stricts et obtiennent les minéraux indispensables, incluant les électrolytes, de leurs proies depuis le début du printemps jusqu'à la fin de l'automne (Studier *et al.*, 1994). Si certains électrolytes sont perdus pendant l'hibernation, les chauves-souris pourraient être incapables de les remplacer quand les insectes sont inactifs et non disponibles en tant que proies (Cryan *et al.*, 2013a).

Les mesures de natrémie et de chlorémie des *M. lucifugus* infectées naturellement et expérimentalement sont compatibles avec cette hypothèse (Cryan *et al.*, 2013a).

Les chauves-souris infectées présentaient aussi des modifications hématologiques (telle qu'une augmentation de l'hématocrite et une hypoglycémie) et un équilibre acido-basique perturbé (telle qu'une diminution de la pression partielle en CO₂ plus faible et en bicarbonate également) (Warnecke *et al.*, 2013).

Ces découvertes indiquent une déshydratation hypotonique, une hypovolémie et une acidose métabolique (Warnecke *et al.*, 2013).

La déshydratation et l'hypovolémie peuvent causer une acidose métabolique à cause de la production d'acide lactique anaérobie dans les tissus avec une réduction du flux sanguin. Le pH plasmatique n'est pas significativement réduit par l'infection probablement à cause de l'effet tampon du bicarbonate et de la réponse rapide des chémorécepteurs périphériques à l'acidose provoquant une augmentation de la fréquence respiratoire (Nestler, 1990). Cela est compatible avec la diminution de pCO₂ observée. L'augmentation de la fréquence respiratoire augmenterait par la suite la perte d'eau par évaporation et ainsi la fréquence des réveils (Warnecke *et al.*, 2013).

(3) Conclusion

Ainsi les schémas de torpeur altérés seraient le résultat combiné de la déshydratation hypotonique et de la compensation respiratoire de l'acidose métabolique ; aggravé par la famine, l'hypovolémie, l'acidose métabolique ou plusieurs combinaisons des trois (Warnecke *et al.*, 2013).

2. L'augmentation de la fréquence des réveils (ou les diminutions de périodes de torpeur)

a. Des schémas d'hibernation altérés

Pour les grands murins (*M. Myotis*) sauvages et en bonne santé, les périodes de torpeur durent 12 à 15 jours (avec des périodes occasionnelles de 30 jours ou plus), périodiquement interrompues par des périodes de réveil à l'euthermie ou proche de la température euthermique (environ 37 °C (Geiser, 2004 ; Thomas *et al.*, 1990b)) qui durent une à deux heures (et occasionnellement plus longtemps (Jonasson et Willis, 2012)).

Les chauves-souris, contrairement à d'autres hibernants (Thomas *et al.*, 1990b) voient leurs périodes de réveil habituellement mesurées en minutes plutôt qu'en heures (ou même en jours) (Reeder *et al.*, 2012).

Les schémas d'hibernation des chauves-souris infectées par le syndrome du nez blanc sont altérés. Elles sortent de torpeur approximativement deux à quatre fois plus fréquemment que les chauves-souris non infectées (Boyles et Willis, 2010 ; Reeder *et al.*, 2012). Les périodes de torpeur sont significativement encore plus réduites en cas d'atteintes alaires importantes ou d'infection sévère (Warnecke *et al.*, 2012) chez des chauves-souris infectées expérimentalement.

b. Une consommation excessive des réserves lipidiques

La petite chauve-souris brune (*M. lucifugus*) doit survivre plus de 190 jours exclusivement sur ses réserves graisseuses (Jonasson et Willis, 2011 ; Thomas *et al.*, 1990b). Les périodes de réveil, à température euthermique, comptent pour approximativement 1 à 1,2 % du budget de temps total d'hibernation (Wibbelt *et al.*, 2013). Puisque le métabolisme augmente énormément avec l'augmentation de la température corporelle, approximativement 80 à 90 % de l'énergie (dépôts graisseux) utilisée pendant l'hibernation est consommée pendant ces réveils périodiques de torpeur.

Chaque réveil représente plus de 5 % du budget énergétique hivernal (Thomas *et al.*, 1990b). Le montant des réserves graisseuses dépensées pendant chaque épisode de réveil (n'incluant pas le vol ou d'autres activités) pour les petites chauves-souris brunes hibernantes est d'approximativement 107,9 mg (Thomas *et al.*, 1990b).

En conséquence, chaque réveil additionnel raccourcit le temps pendant lequel une chauve-souris est capable d'hiberner d'à peu près neuf jours (Warnecke *et al.*, 2012). L'augmentation de la fréquence des réveils et les coûts énergétiques élevés qui en découlent, réduisent prématurément les réserves graisseuses des chauves-souris, induisant l'émaciation avant la fin de la période d'hibernation (Wibbelt *et al.*, 2013).

Ceci est en adéquation avec l'observation de chauves-souris captives infectées, qui devenaient émaciées au bout de 3 à 4 mois d'inoculation (Warnecke *et al.*, 2012 ; Warnecke *et al.*, 2013).

Un lien évident a été trouvé entre la durée des périodes de torpeur significativement raccourcies chez les petites chauves-souris brunes sauvages et à la fois la sévérité de l'infection à *P. destructans* et la célérité de l'infection donc à la date de la mort (Brownlee-Bouboulis et Reeder, 2013).

c. Des comportements hivernaux aberrants

A l'approche de l'épuisement critique des réserves graisseuses, certaines chauves-souris pourraient émerger et tenter de se nourrir ou de se déplacer vers des micros-climats plus cléments au sein de l'hibernaculum, probablement pour préserver leur énergie (Reichard et Kunz, 2009).

Des chauves-souris peuvent également quitter prématurément les hibernacula affectés et être observées en train de voler hors des hibernacula pendant la journée en hiver (Blehert *et al.*, 2009) cherchant probablement de la nourriture (Warnecke *et al.*, 2012) ou des juchoirs alternatifs pour le reste de l'hiver et le début du printemps (Reichard et Kunz, 2009). Pour la plupart, les chauves-souris des zones tempérées pendant l'hiver se nourrissent d'arthropodes, principalement d'insectes (Warnecke *et al.*, 2012) et il y a peu de proies disponibles au milieu de l'hiver (Fenton, 2012), les insectes n'étant pas encore présents dans les zones alentours. Ceci signifie virtuellement qu'elles n'ont aucune chance de reconstituer leurs réserves lipidiques (Fenton, 2012) et comme elles ne font pas de réserves de nourriture, elles pourraient mourir de faim. Elles doivent donc survivre sur leurs réserves graisseuses (Thomas *et al.*, 1990b).

Néanmoins, ce scénario apparaît insuffisant pour expliquer le grand nombre d'animaux morts; de nombreuses carcasses ayant été retrouvées dans les profondeurs des grottes et des mines (Chaturvedi *et al.*, 2010).

3. Une synchronisation des réveils entre les individus d'un même hibernaculum

a. L'hypothèse séduisante de la thermorégulation sociale

Beaucoup d'hétérothermes baissent les coûts énergétiques des réveils par le réchauffement passif en torpeur grâce à l'augmentation de la température ambiante ou aux radiations solaires (Turner *et al.*, 2012 ; Warnecke *et al.*, 2010).

Les conditions environnementales au sein des hibernacula des espèces de chauves-souris infectées par le syndrome du nez blanc sont stables, éliminant cette possibilité. Quelques espèces telle que les petites chauves-souris brunes (*M. lucifugus*) se juchent souvent en nombre, ce qui pourrait les aider à conserver l'eau et à prolonger les périodes de torpeur, à réduire les dépenses d'énergie de thermorégulation pendant la torpeur si la température ambiante de l'hibernaculum tombe en dessous de la température corporelle de torpeur critique la plus faible, et/ou à réduire les dépenses d'énergie pendant les réveils si les individus synchronisent étroitement le réchauffement et partagent les coûts via la thermorégulation sociale (Arnold, 1988 ; Boratyński *et al.*, 2012 ; Boyles et Brack, 2009 ; Czenze *et al.*, 2013 ; Studier *et al.*, 1970).

Il y a des preuves de réveils synchronisés chez *M. lucifugus* et bien que leurs implications énergétiques ne soient pas complètement comprises, cela pourrait refléter la thermorégulation sociale (Czenze *et al.*, 2013). Par l'absorption passive de chaleur des adjacents, individus normothermes pendant le réchauffement, les chauves-souris pourraient réduire la dépense d'énergie pendant les réveils et conserver leurs réserves lipidiques (Arnold, 1988). Cette synchronisation pourrait être bénéfique si elle autorisait la

thermorégulation sociale mais pourrait également refléter des conséquences au détriment des essaïms constitués de beaucoup d'individus (Turner *et al.*, 2015).

b. Le reflet des perturbations des animaux torpides par les congénères normothermes en phase de réveil

Les chauves-souris en torpeur sont sensibles aux perturbations mêmes non tactiles (Luo *et al.*, 2014 ; Speakman *et al.*, 1991 ; Thomas, 1995) et il est possible que les réveils synchronisés reflètent des perturbations par les congénères normothermes actifs (Thomas, 1995). L'infection à *P. destructans* amène à des changements pas seulement de la fréquence des réveils périodiques au cours de l'hibernation mais aussi dans le timing des réveils par les individus et leur synchronisation au sein des groupes de chauves-souris. Les changements dans la physiologie des réveils n'aident pas les chauves-souris à compenser l'augmentation de la dépense énergétique thermorégulatrice et au lieu de cela, une synchronisation accrue des réveils semble refléter la perturbation des chauves-souris torpides par les congénères infectés normothermes. Cette perturbation peut contribuer à l'augmentation générale de la fréquence des réveils et pourrait impacter négativement la survie (Turner *et al.*, 2015). Ainsi, ces changements dans la physiologie et le comportement des réveils des chauves-souris infectées ne reflètent pas une réponse éco-énergétique et adaptative à l'infection (Turner *et al.*, 2015).

La vocalisation altérée des chauves-souris pourrait être une autre source de perturbation. Bien qu'aucune vocalisation n'a été enregistrée, les individus normothermes infectés par *P. destructans* pourraient avoir produit des appels sociaux ou d'écholocation qui pourraient avoir perturbé les individus en torpeur et induit des réveils (Fenton *et al.*, 1976 ; Gadziola *et al.*, 2012 ; Russ *et al.*, 2004).

L'essaimage pendant l'hibernation est habituellement considéré comme étant avantageux d'un point de vue énergétique (Boratyński *et al.*, 2012 ; Boyles et Brack, 2009 ; Studier *et al.*, 1970) mais, pour les chauves-souris atteintes du syndrome du nez blanc, éviter d'autres individus dans l'hibernaculum en s'isolant pourrait être même plus important, en réduisant le risque individuel d'être perturbé par les congénères normothermes (Turner *et al.*, 2015).

4. L'augmentation des phases d'activité pendant les périodes de réveil

a. Des phases de « repos euthermique » importantes

Comme c'est le cas avec les hibernants non chauve-souris (Daan *et al.*, 1991), les chauves-souris peuvent rester immobiles un moment pendant les périodes de réveil (typiquement soit au début soit à la fin de la période). Il est généralement admis que la torpeur est incompatible avec le sommeil et qu'une des fonctions des périodes d'euthermie pendant l'hibernation pourrait être de corriger les déficits en sommeil (Trachsel *et al.*, 1991).

Ainsi, les périodes d'inactivité pendant les périodes de réveil (encore appelées « repos euthermique») pourraient servir à répondre aux besoins de sommeil. En plus d'aider la restauration des déficits en sommeil, les réveils de torpeur entraîneraient la restauration d'un bon nombre de systèmes physiologiques, incluant le système immunitaire et l'homéostasie

(Luis et Hudson, 2006) . Il est probable que certaines de ces restaurations aient lieu pendant les périodes de « repos euthermique », en particulier celles qui ont lieu au début des phases de réveil (Brownlee-Bouboulis et Reeder, 2013).

Ces périodes de réchauffement cyclique reflètent un acte continu de rétablissement de l'équilibre entre la nécessité physiologique et la disponibilité énergétique, et le fait que chaque mammifère hibernant se réveille périodiquement, suggère que les réveils sont obligatoires et très certainement bénéfiques (Carey *et al.*, 2003).

b. Le remplacement des phases de « repos euthermique » par des activités de toilettage

Les chauves-souris infectées ont altéré significativement leur comportement pendant les périodes de réveil comparativement aux chauves-souris non infectées. Spécifiquement, les chauves-souris infectées par le syndrome du nez blanc sont significativement plus actives pendant les périodes de réveil par rapport aux chauves-souris non infectées (Brownlee-Bouboulis et Reeder, 2013).

L'augmentation du niveau d'activité pendant les périodes de réveil rendrait chaque période plus coûteuse en énergie. Elle empêcherait certainement aussi les « corrections » métaboliques nécessaires au rétablissement de l'homéostasie. Étant donné le lien relativement étroit entre le nombre de réveils et la mort (Reeder *et al.*, 2012), une augmentation même modérée de l'activité et donc de l'énergie dépensée par réveil (par exemple une augmentation de 1,5 fois le métabolisme basal ou la perte des dépôts graisseux) diminuera le temps de survie (Brownlee-Bouboulis et Reeder, 2013).

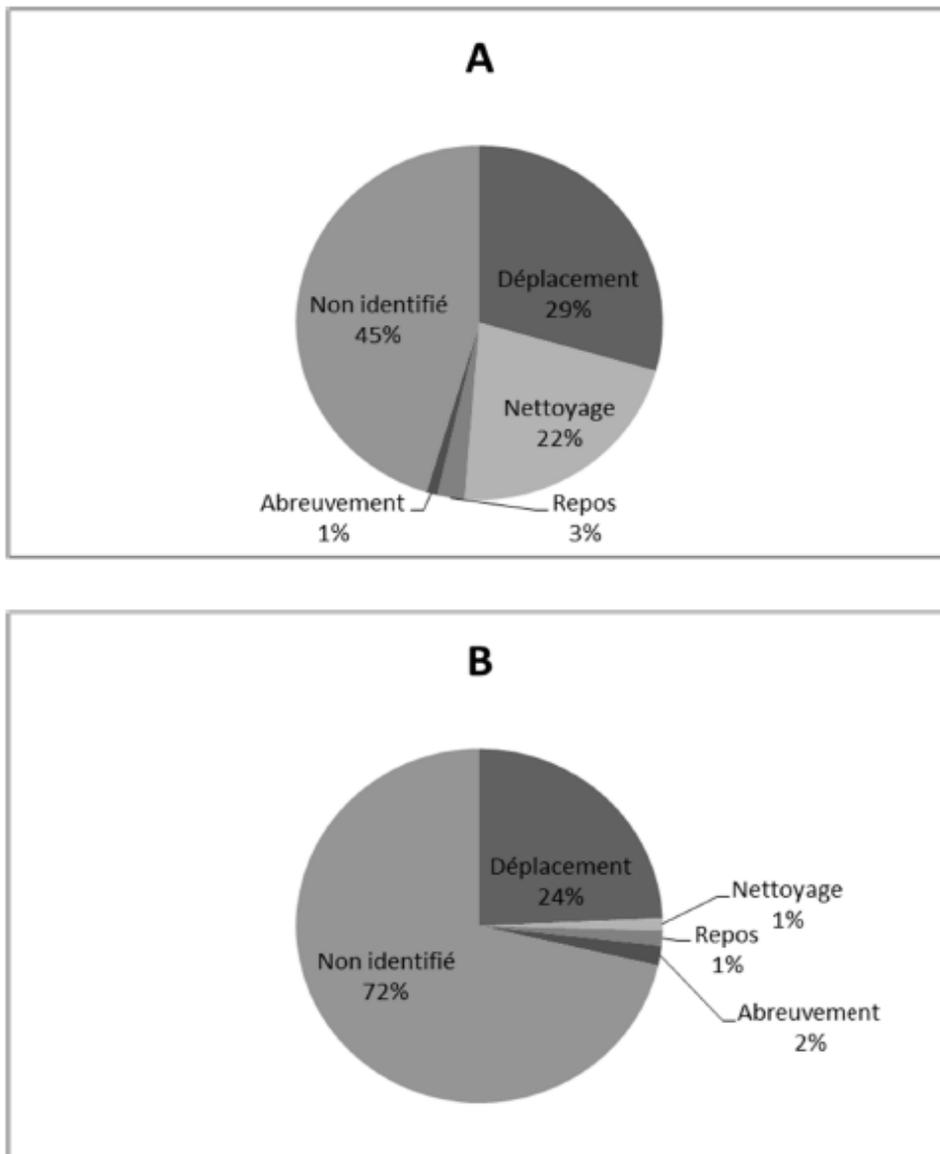
Comme illustrée par la figure 19, l'augmentation du temps détectable chez les chauves-souris infectées par le syndrome du nez blanc (54,7 % comparativement aux 28,6 % chez les chauves-souris non-infectées) est presque complètement expliquée par l'augmentation importante et significative du pourcentage de temps passé à se toiletter (21,9 % *versus* 1,1 %) et par l'augmentation modérée (mais non significative statistiquement) du pourcentage de temps total passé à se déplacer (29,4 % *versus* 24,3 %), au détriment du temps qui aurait été autrement dépensé en inactivité (Brownlee-Bouboulis et Reeder, 2013).

L'augmentation du temps dédié au toilettage pourrait être liée à la présence du champignon. Des niveaux d'activité élevés chez les chauves-souris infectées augmentent probablement le stress énergétique (Brownlee-Bouboulis et Reeder, 2013). Il est possible qu'un nettoyage exacerbé puisse affecter l'état général de l'animal en consommant ses réserves d'énergie (Giorgi *et al.*, 2001). Il est aussi possible que le manque de « repos euthermique » puisse menacer la capacité d'une chauve-souris à rétablir l'homéostasie de nombreux systèmes physiologiques (Brownlee-Bouboulis et Reeder, 2013).

Une autre conséquence d'un toilettage exacerbé pourrait être l'augmentation de l'expansion géographique du syndrome du nez blanc, puisqu'il semble que les chauves-souris infectées ingèrent des spores fongiques qui peuvent rester viables même après avoir été digérées. Ainsi, les spores de *P. destructans* pourraient être dispersées vers de nouveaux lieux alors que le tube digestif des chauves-souris survivantes qui émergent des hibernacula redevient actif (Brownlee-Bouboulis et Reeder, 2013).

Figure 19 : Représentation du budget moyen d'activité pendant les périodes de réveils chez les chauves-souris hibernantes

Pour (A) (n= 16) chauves-souris *M. lucifugus* infectées par le syndrome du nez blanc et (B) (n= 15) chauves-souris *M. lucifugus* non infectées par le syndrome du nez blanc mettant en évidence une augmentation significative du temps consacré au nettoyage, d'après Brownlee-Bouboulis et Reeder (2013).

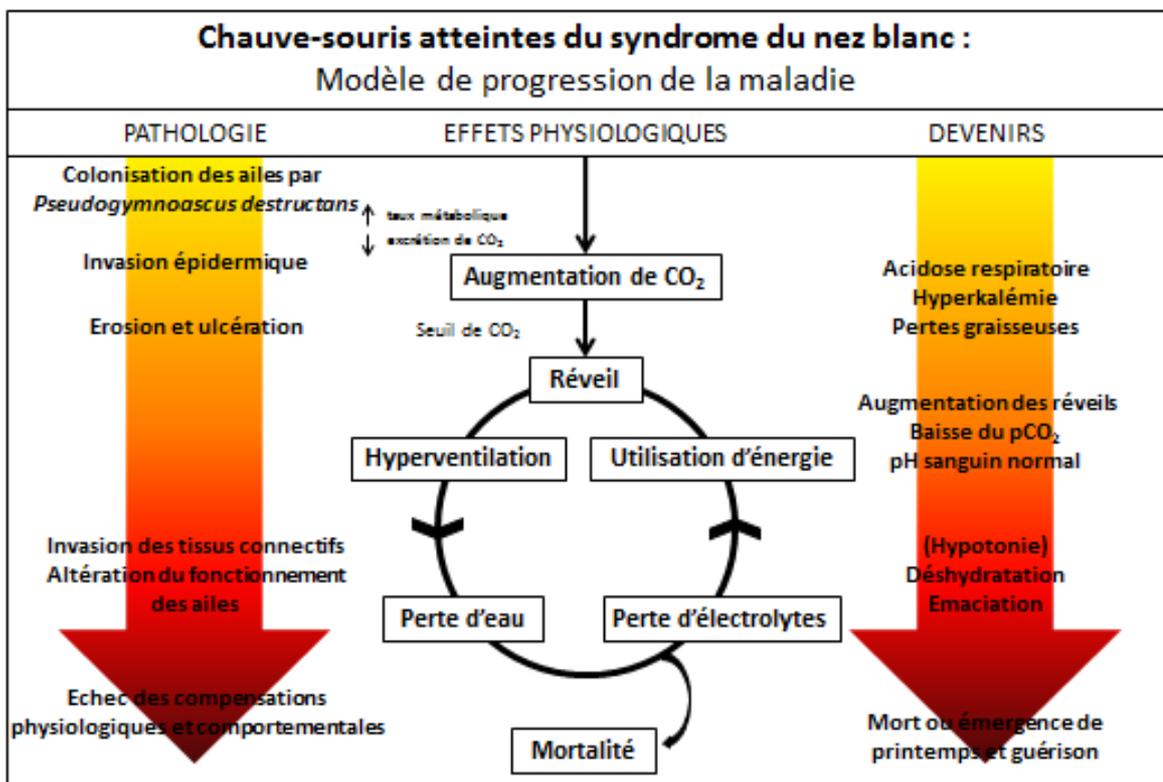


5. Modèle récapitulatif de progression de la maladie

Un modèle mécanistique de progression de la maladie chez les chauves-souris hibernantes a été développé à partir des connaissances actuelles sur la progression des séquelles alaires physiologiques et pathologiques induites par le champignon (figure 20).

Figure 20 : Modèle mécanistique de progression de la maladie chez des chauves-souris infectées par le syndrome du nez blanc

La colonisation initiale et l'invasion de l'épiderme alaire par *P. destructans* résultent en une augmentation de la dépense énergétique, une acidose respiratoire chronique (pCO₂ et bicarbonates élevés) et une hyperkaliémie. L'érosion et l'ulcération de l'épiderme stimulent l'augmentation des réveils de torpeur ce qui élimine l'excès de CO₂ et normalise le pH sanguin, mais contribue à la déshydratation et à la perte des réserves graisseuses. Alors que la pathologie alaire devient plus extensive et sévère, ces effets sont exacerbés par les pertes d'électrolytes et d'eau à travers l'épiderme (déshydratation hypotonique) qui stimulent des réveils plus fréquents et créent un rétrocontrôle actif entraînant la mort quand les réserves d'énergie et les mécanismes compensatoires sont épuisés (Verant *et al.*, 2014).



6. Des mécanismes encore mal connus lors des stades précoces de l'infection

a. Des mobilisations de réserves énergétiques très précoces

L'utilisation de l'énergie lipidique, démontrée par les modifications de composition corporelle, est deux fois plus élevée chez les chauves-souris infectées que chez les chauves-souris témoins (les chauves-souris infectées ont utilisé 0,65 kJ/jour contre 0,31 kJ/jour pour les chauves-souris témoins) (Verant *et al.*, 2014). Ces différences sont apparues dans les stades précoces de l'infection quand les schémas de réveils de torpeur étaient équivalents entre les chauves-souris infectées et non-infectées (sans augmentation du taux ou de la durée des réveils de torpeur). Ceci suggère que *P. destructans* a des impacts physiologiques complexes sur ses hôtes, avant même le déclenchement des signes physiques indicatifs d'une infection à un stade avancé (Warnecke *et al.*, 2012).

De plus, les chauves-souris avec des lésions cutanées faibles à modérées associées à une infection précoce ont démontré une acidose respiratoire chronique sévère caractérisée par une élévation significative du taux de CO₂ dissout, une acidémie, une hyperkaliémie et un taux de bicarbonates élevé. Mais le sodium, le chlore et d'autres paramètres d'hydratation étaient équivalents au témoin (Verant *et al.*, 2014).

Une fois que le taux de CO₂ s'élève au-delà du seuil de tolérance, les chémorécepteurs simulent l'hyperventilation ce qui résulte en l'augmentation des réveils de torpeur qui servent à éliminer l'excès de CO₂, permettant une normalisation du pH sanguin (Bickler, 1984 ; Malan *et al.*, 1973 ; Snapp et Heller, 1981 ; Szewczak et Jackson, 1992 ; Thomas *et al.*, 1990a). La haute demande énergétique de ces réveils contribue ensuite probablement davantage à l'accélération de la diminution des réserves lipidique. De plus, l'augmentation de la fréquence respiratoire et l'augmentation de la différence de pression avec des températures corporelles plus élevées pendant les réveils contribueraient à une perte d'eau par évaporation plus importante (Thomas et Cloutier, 1992) et une déshydratation (Verant *et al.*, 2014).

Alors que le syndrome du nez blanc progresse vers des lésions alaires sévères et extensives, la déshydratation peut être davantage exacerbée par les pertes en électrolytes et en eau à travers l'épiderme endommagé des ailes (Cryan *et al.*, 2013a ; Muñoz-Garcia *et al.*, 2012), rejoignant l'hypothèse de déshydratation défendue par (Cryan *et al.*, 2010) et stimulant davantage les réveils d'hibernation pour boire (Chaturvedi *et al.*, 2010 ; Foley *et al.*, 2011 ; Thomas et Cloutier, 1992). Des rétrocontrôles positifs sont ensuite établis mettant en lien l'aggravation de la pathologie constatée sur les ailes associée à la maladie avec une augmentation de la fréquence des réveils, des pertes en eau et de l'utilisation d'énergie résultant en des changements physiologiques aigus rejoignant l'hypothèse de déshydratation hypotonique, incluant une hypocapnie, une hypoglycémie, une hyponatrémie, une hypochlorémie et une émaciation (Cryan *et al.*, 2013a ; Reeder *et al.*, 2012 ; Warnecke *et al.*, 2013). Une fois les mécanismes compensatoires, tels que la régulation du pH cellulaire, la régulation métabolique et respiratoire et/ou les adaptations comportementales, sont épuisées, cette suite de perturbations finies par conduire à la mortalité (Verant *et al.*, 2014) à moins que la chauve-souris n'ait des réserves énergétiques suffisantes pour persister jusqu'à

l'émergence du printemps et se débarrasser de l'infection à la suite d'un retour à un état métabolique actif (Meteyer *et al.*, 2011).

b. Réaction immunitaire et dépense énergétique

Moore *et al.* (2011) dans leur étude proposent une théorie qui conforterait ces observations. En effet, le système immunitaire serait affecté par et dépendant de la condition corporelle relative d'un individu, en particulier en regard de son énergie disponible, et la stimulation immunologique diminuerait les réserves énergétiques et réduirait la condition corporelle (Moore *et al.*, 2011).

Il est possible que le système immunitaire se réactive au contact de *P. destructans* lorsque les chauves-souris se réveillent périodiquement de torpeur. Cela provoquerait une augmentation du métabolisme, de la mobilisation graisseuse et des dépenses énergétiques (Demas *et al.*, 1997 ; Martin *et al.*, 2003 ; Ots *et al.*, 2001).

Les réserves d'énergie diminuent ainsi progressivement après chaque réveil périodique de torpeur. Plus les réserves énergétiques diminuent, plus les individus présentent des indices de masse corporelle faibles et moins les réponses immunitaires sont performantes. Lorsque les individus ont complètement épuisé leurs réserves d'énergie et que les réponses immunitaires sont devenues insignifiantes, *P. destructans* pourrait coloniser les tissus de l'hôte sans rencontrer de résistance. Des réductions extrêmes de réserves d'énergie pourraient résulter en l'incapacité des chauves-souris à se réveiller de torpeur et la mort (Moore *et al.*, 2011).

7. La présence de facteurs influençant le risque d'infection

a. Facteurs en relation avec l'hôte

(1) Influence du sexe

Les chauves-souris *M. lucifugus* femelles adultes sont entrées en hibernation avec des réserves lipidiques plus importantes et les ont consommées plus lentement qu'un mâle adulte ou qu'un jeune de l'année. En effet, parce que la copulation a lieu tout au long de l'automne et de l'hiver, et l'ovulation au printemps après l'émergence d'hibernation, les mâles bénéficieraient de stratégies de torpeur hivernales favorisant les réveils fréquents alors que les femelles se réveilleraient moins fréquemment et émergeraient de l'hibernation avec des réserves lipidiques nécessaires pour l'ovulation (Buchanan, 1987 ; Gustafson et Shemesh, 1976 ; Humphries *et al.*, 2003 ; Jonasson et Willis, 2012).

En conséquence, les femelles adultes ont significativement plus de chances de survivre à l'hibernation (Johnson *et al.*, 2014) que les mâles ou les jeunes de l'année, bien que certaines femelles survivantes puissent ne pas avoir suffisamment de réserves énergétiques pour supporter la reproduction (Jonasson et Willis, 2011).

Ainsi les impacts négatifs du syndrome du nez blanc s'étendent probablement au-delà de la période d'hibernation en limitant les migrations de printemps et en réduisant potentiellement les chances de reproduction pendant l'été (Reichard et Kunz, 2009).

(2) Influence de la condition corporelle

Les individus, quel que soit leur sexe, possédant de meilleures conditions corporelles au début de l'hibernation ont significativement plus de chances de survivre à l'hibernation (Johnson *et al.*, 2014). Ils peuvent ainsi supporter des réveils plus fréquents pendant la durée d'un hiver, les rendant plus aptes à la survie suite à la diminution des périodes de torpeur associée au syndrome du nez blanc (Reeder *et al.*, 2012 ; Warnecke *et al.*, 2012).

(3) Influence des espèces

Certaines espèces, telles que la grande chauve-souris brune (*E. fuscus*) (Francl *et al.*, 2011) ou l'oreillard de Rafinesque (*C. rafinesquii*) (Johnson *et al.*, 2012) semblent être plus résistantes au syndrome du nez blanc.

Les périodes de torpeur des chauves-souris *E. fuscus* ont été étudiées sur un site infecté par le syndrome du nez blanc et elles ne se sont pas révélées significativement différentes de la longueur de celles observées chez les individus sains de cette espèce (Francl *et al.*, 2011). Elles appartenaient toutes à l'intervalle normal de sept à 25 jours précédemment rapporté pour cette espèce (Brack et Twente, 1985).

De plus, la quantité de graisse corporelle moyenne des *E. fuscus* en février était presque deux fois supérieure à celle des *M. lucifugus* hibernant sur le même site infecté par le syndrome du nez blanc pendant la même durée (Francl *et al.*, 2011).

Ces découvertes indiquent que les chauves-souris *E. fuscus* sont plus résistantes au syndrome du nez blanc (Frank *et al.*, 2014) et qu'elles survivent habituellement à la période d'hibernation avec des restants de réserves de graisse corporelle (Francl *et al.*, 2011).

Un début d'explication se situe peut-être dans la composition en acides gras de leur épiderme. Les épidermes des espèces de chauves-souris *M. lucifugus* et *E. fuscus* contiennent les mêmes sept types d'acides gras, potentiels inhibiteurs de la croissance de *P. destructans*, mais l'épiderme de *M. lucifugus* contient moins d'acide palmitoléique et oléique que celui d'*E. fuscus*. Les différences dans la capacité de certains acides gras saturés à inhiber la croissance de *P. destructans* à des températures basses, ainsi que les quantités respectives d'acides gras pourraient contribuer à la capacité d'*E. fuscus* à mieux résister aux infections cutanées par *P. destructans* que *M. lucifugus* (Frank *et al.*, 2016).

De manière générale, les épidermes alaires des espèces de chauves-souris sensibles à l'infection cutanée par *P. destructans* possèdent relativement peu de quantité d'acides gras inhibant la croissance du champignon que ceux d'autres espèces de chauves-souris plus résistantes (Frank *et al.*, 2016).

(4) Influence des comportements

Les populations de chauves-souris d'Amérique du Nord qui déclinent à cause du syndrome du nez blanc sont connues pour se reproduire, se jucher, et hiberner communément dans de larges agrégations de systèmes de grottes. Les hibernacula infectés en Amérique du Nord peuvent regrouper plusieurs milliers d'individus (de 1 000 à 50 000) que ce soit dans des grottes ou des mines (Foley *et al.*, 2011 ; Puechmaille *et al.*, 2011b ;

Wibbelt *et al.*, 2010) et certains peuvent atteindre des dizaines voire des centaines de milliers d'individus pendant l'hiver (Barbour et Davis, 1982).

Ce comportement de regroupement augmente le taux d'infection en accroissant le contact entre les individus infectés (Cryan *et al.*, 2010), favorise la dissémination de *P. destructans* (Eskew et Todd, 2013) ainsi que le risque de perturbation des groupes d'individus (Wibbelt *et al.*, 2010).

Le risque d'infection a globalement doublé pour une colonie de taille 10 fois supérieure, et les grandes colonies ont expérimenté une mortalité plus précoce que les petites colonies (Wilder *et al.*, 2011).

Les différences de comportement entre les principales espèces affectées (*M. lucifugus* et *M. myotis*) pendant l'hibernation pourraient jouer un rôle important (Wibbelt *et al.*, 2010). En effet, les chauves-souris des régions méditerranéennes chaudes d'Europe ont des périodes d'hibernation plus courtes (Puechmaille *et al.*, 2011b). Elles ont tendance à hiberner seules ou en petits groupes, les hibernacula européens excédant rarement 1 000 individus, à quelques exceptions près (Wibbelt *et al.*, 2010).

b. Facteurs en relation avec l'agent pathogène

La dose de l'agent pathogène a peu d'influence sur le taux d'infection, une exposition même à un faible nombre de conidies (500) étant suffisante pour causer une infection létale (Johnson *et al.*, 2014).

c. Facteurs en relation avec l'environnement

(1) Influence de la température

(a) Dans les hibernacula

Les chauves-souris hibernant dans des hibernacula froids (approximativement 4 °C) ont plus de chance de survivre à l'hibernation (Johnson *et al.*, 2014). En effet, les températures plus froides favorisent les économies d'énergie (en partant du principe que la température ambiante reste au-dessus du seuil hypothalamique) (Carey *et al.*, 2003 ; Geiser, 2004) et une croissance fongique plus lente (Verant *et al.*, 2012).

(b) En dehors des hibernacula

Les conditions climatiques hors des hibernacula pourraient influencer le devenir de la maladie pour les chauves-souris qui émergent transitoirement d'hibernation pendant l'hiver. Les chauves-souris qui hibernent dans les régions du sud où les températures sont relativement chaudes (Hallam et Federico, 2012), dans des zones avec des hivers plus courts ou pour lesquelles les opportunités de se nourrir au milieu de l'hiver leur permettent de compléter leurs réserves d'énergie pour permettre une réponse immunitaire euthermique plus précoce, semblent avoir de meilleures chances de survie (Cryan *et al.*, 2013b).

(2) Influence de la pollution et des toxiques

La pollution, sous la forme d'un excès d'émission de CO₂ responsable des changements climatiques, est suspectée de rendre les chauves-souris plus sensibles à la maladie (McCrink-Goode, 2014).

Les pesticides ont été incriminés comme étant un facteur significatif du déclin des populations de chauves-souris dans les années 1970 à 1990 (Clark, 2001). En effet, ils peuvent entraîner une augmentation du métabolisme (Swanepoel *et al.*, 1999), une accélération du catabolisme graisseux chez des chauves-souris affamées (Clark et Stafford, 1981), des altérations biochimiques et comportementales, une réduction de l'espérance de vie des jeunes (Clark et Stafford, 1981), une immunosuppression, *etc.* De plus, de potentiels effets synergiques ou additifs des multiples contaminants à des concentrations élevées sont à craindre. Dans les tous les cas, les chauves-souris sont exposées à des concentrations élevées de toxiques variés avec des effets potentiels synergiques/additifs délétères (Kannan *et al.*, 2010).

L'exposition à des doses élevées de contaminants toxiques, dont les pesticides, pourrait être un facteur favorisant au développement du syndrome du nez blanc via une immunosuppression et des désordres endocriniens, rendant les chauves-souris plus vulnérables aux infections par des organismes pathogènes opportunistes, tels que *P. destructans*.

Dans cette perspective, les concentrations de plusieurs toxiques (pour les tissus adipeux : les biphényles polychlorés ou BPCs, les polybromo-diphényles éthers ou PBDEs, les biphényles polybromés ou PBBs et les pesticides organochlorés et pour le foie : les composants perfluorés ou PFCs) ont été analysées chez des chauves-souris *Myotis lucifugus* infectées par le syndrome du nez blanc et chez des chauves-souris saines, mais sans différence significative mise en évidence (Kannan *et al.*, 2010).

L'absence de preuves d'éléments toxiques responsables des lésions observées lors de l'autopsie de chauves-souris infectées a aussi été confirmée dans une autre étude (Courtin *et al.*, 2010).

VI. Conséquences

Les conséquences des maladies émergentes de la vie sauvage sont mondiales et profondes (Sleeman, 2013), l'impact du syndrome du nez blanc sur la biodiversité et l'économie agricole reste inconnu mais sera probablement d'une importance majeure (Boyles *et al.*, 2011).

A. Un impact écologique majeur

Les chauves-souris représentent plus de 20 % de la biodiversité des Mammifères (Puechmaille *et al.*, 2010). Nous risquons ainsi une perte irréversible et sans précédents de la biodiversité des Mammifères avec le déclin et l'extinction d'espèces sauvages (Sleeman, 2013).

Elles jouent aussi un rôle majeur au sein d'écosystèmes entiers (López-Hoffman *et al.*, 2014; Puechmaille *et al.*, 2010). Nous risquons une perte conséquente d'intégrité écologique

(Sleeman, 2013). Les chauves-souris jouent, en effet, un rôle significatif dans le contrôle des populations de nuisibles qui détruisent les cultures humaines. Elles jouent aussi un rôle essentiel dans la pollinisation et la dispersion de certaines plantes. Leur rôle dans l'écosystème est ainsi inestimable, et pourtant si peu apprécié (Hoffmaster *et al.*, 2016).

1. Un rôle régulateur

Ces chauves-souris sont insectivores (Kunz *et al.*, 2011). Elles jouent un rôle essentiel dans la régulation des populations de nuisibles en consommant de grands volumes d'insectes (Russell *et al.*, 2014). Les conséquences d'un tel déclin sur les populations d'insectes ne sont pas connues (Barlow *et al.*, 2009). Néanmoins, de par leur rôle écologique essentiel dans le contrôle des insectes, il est à craindre des répercussions écologiques considérables telles que des dégâts importants sur les cultures agricoles et une augmentation de l'incidence des maladies vectorielles (Puechmaille *et al.*, 2010).

2. Un rôle pollinisateur

Les chauves-souris sont d'importants pollinisateurs de plantes (Blehert *et al.*, 2009 ; Hoffmaster *et al.*, 2016). Il a été rapporté que la pollinisation par les chauves-souris concerne environ 528 espèces de plantes à travers le monde (Kunz *et al.*, 2011), avec des plantes telles que les *Agavaceae* et les *Cactaceae*, qui se reposent de manière significative sur les chauves-souris pour leur pollinisation (Hoffmaster *et al.*, 2016).

3. Un rôle disséminateur

Les chauves-souris assistent la reproduction des plantes en dispersant les graines et le pollen ingéré et en redistribuant les nutriments par la production de guano. Elles participent également à la dispersion des espèces de plantes telles que les figes et les palmiers en les ingérant puis les portant vers de nouvelles localisations (Kunz *et al.*, 2011).

Alors que les graines germent dans leur tractus digestif, les chauves-souris voyageront souvent sur des distances substantielles avant de larguer les graines, les autorisant à prendre racine et croître dans leur nouvel environnement. Par exemple, les chauves-souris disperseront les fruits jamaïcains consommés à près de 250 m de l'arbre parent (Morrison, 1978). D'autres espèces de chauves-souris disperseront les graines jusqu'à 2 km (Fleming, 1989) et le pollen, parfois sur de longues distances (de 800 m à 18 km de l'arbre d'origine) (Eduardo *et al.*, 2008).

4. Des rôles mésestimés

En assistant la pollinisation et la dispersion des graines, les chauves-souris jouent un rôle essentiel dans la maintenance de la santé et de la biodiversité des écosystèmes. Bien que l'ordre des Chiroptères ait montré qu'il prodiguait des bénéfices significatifs aux humains à la fois d'un point de vue environnemental et économique, les chauves-souris sont souvent mésestimées (Hoffmaster *et al.*, 2016).

En effet, beaucoup d'espèces sont en déclin (Hoffmaster *et al.*, 2016), certaines telles que *M. sodalis*, *M. lucifugus*, *M. septentrionalis* et *P. subflavus*, avant l'émergence du syndrome du nez blanc à cause d'une variété de menaces incluant les perturbations humaines des colonies (Hoffmaster *et al.*, 2016 ; Thomas, 1995), de l'altération des hibernacula, des lieux de chasse et des communautés de proies à cause des changements

climatiques (Frick *et al.*, 2010b), de l'utilisation de pesticides agricoles et d'autres composants chimiques (Hoffmaster *et al.*, 2016), de la perte des habitats d'été résultant de la déforestation (Carter et Feldhamer, 2005; Menzel *et al.*, 2001; Sparks *et al.*, 2005; Thogmartin *et al.*, 2012b) et du développement de l'énergie éolienne responsable de collisions en vol avec des véhicules, des immeubles, et des éoliennes (Ingersoll *et al.*, 2016 ; Kunz *et al.*, 2007 ; Russell *et al.*, 2009 ; Russell *et al.*, 2014).

B. Des conséquences économiques désastreuses

Les conséquences économiques du syndrome du nez blanc pèsent de plus en plus lourd sur le système de santé publique et a des impacts négatifs sur l'économie mondiale (Sleeman, 2013).

Une étude ciblée sur une seule espèce de chauve-souris dans le sud du Texas a estimé que le coût de contrôle des nuisibles à lui seul représenterait une valeur annuelle de près de 750 000 dollars américains (Cleveland *et al.*, 2006).

La perte économique des services d'écosystèmes induits par la réduction des populations de chauves-souris causées par le syndrome du nez blanc a été estimée à 3,7 milliards de dollars américains par an (Boyles *et al.*, 2011 ; Fisher *et al.*, 2012 ; Russell *et al.*, 2014) alors que la perte économique des services de suppression des insectes prodigués par les chauves-souris à l'agriculture commerciale sur le continent des États-Unis irait de trois à plus de 50 milliards de dollars américains annuellement (Blehert, 2012) avec une valeur moyenne de 22,9 milliards de dollars américains par an (Boyles *et al.*, 2011).

Une des plantes pollinisée par les chauves-souris, *Agave Tequilana*, est un composant critique de la production de tequila, qui est une industrie multimillionnaire au Mexique (Kunz *et al.*, 2011).

Les impacts économiques résultant de la perte des chauves-souris seraient extrêmes. Servant de contrôleur naturel pour les nuisibles dans beaucoup de zones agricoles, la perte des services de gestion des nuisibles prodigués par les chauves-souris résulterait par la suite en une augmentation compensatoire de l'utilisation des insecticides chimiques, accélérant ultérieurement la menace mondiale de pollution dans son ensemble (McCrink-Goode, 2014).

On estime que les chauves-souris font économiser aux cultivateurs de maïs un milliard de dollars américains globalement en chassant les nuisibles de l'agriculture (Maine et Boyles, 2015). De plus, il a été trouvé que les chauves-souris inhibent indirectement la croissance fongique et les composés toxiques nuisibles au maïs par l'élimination de ces nuisibles (Maine et Boyles, 2015). Le maïs est juste un des nombreux exemples de cultures que les chauves-souris impactent de manière positive.

En 2011, 722 millions de tonnes de riz ont été produites mondialement. Sachant que des cultures comme le riz nourrissent des millions de personnes, le bénéfice énorme des chauves-souris sur l'économie devient clair. À cause de la valeur de cette culture, de grandes mesures ont été prises pour limiter les dégâts causés par les nuisibles de l'agriculture, dont on estime qu'ils auraient causé la perte de 10 millions de tonnes de riz en 1991. Les effets des chauves-souris sur le contrôle des nuisibles autour des cultures de riz ont été examinés. Les zones les moins perturbées par les nuisibles étaient clairement les zones où des boxes à chauves-souris avaient été installés. Ces boxes à chauves-souris prodiguent des juchoirs nécessaires aux chauves-souris, base à partir de laquelle elles

peuvent chasser les nuisibles. De plus, il semble que l'utilisation de ces boxes à chauves-souris seraient plus rentables économiquement pour les fermiers que celle des pesticides. En effet, le boxe à chauves-souris coûterait aux fermiers 28 dollars américains et durerait au moins 10 ans avec peu de maintenance, alors que les pesticides coûteraient aux agriculteurs 23 dollars américain par an et par hectare et nécessiterait une réplication chaque saison (Hoffmaster *et al.*, 2016 ; Puig-Montserrat *et al.*, 2015).

VII. Traitements et perspectives

La guérison des individus infectés à la sortie d'hibernation est possible s'ils survivent à la réactivation du système immunitaire. Néanmoins, les chauves-souris Vespertilionidés seront bientôt en danger critique si la résistance soit par une source anthropogénique ou par l'évolution, n'émerge pas rapidement (Maher *et al.*, 2012).

A. Les interventions anthropogéniques

Des options de gestion adaptables proposées pour le syndrome du nez blanc ou d'autres maladies émergentes de la faune sauvage ont été répertoriées et analysées. Cela inclut des programmes de surveillance prospective des chauves-souris infectées et des hibernacula contaminés, le traitement des individus, l'accroissement de la résistance des populations au syndrome du nez blanc (par des vaccins, des immuno-modulateurs ou d'autres méthodes), la modification de l'environnement des hibernacula pour éliminer *P. destructans* et pour lutter contre la famine et la déshydratation associées au syndrome du nez blanc, l'abattage des individus ou des populations, le contrôle de la propagation anthropogénique de *P. destructans*, la conservation de la diversité génétique des chauves-souris et l'éducation du public au sujet des chauves-souris et des problématiques de conservation de cette espèce en relation avec le syndrome du nez blanc (Foley *et al.*, 2011).

Néanmoins, il n'y a aucune information sur des actions de gestion spécifique aux chauves-souris hibernantes permettant de réduire la mortalité. La localisation de la plupart des sites de juchoir et les détails des mouvements migratoires des individus sont largement inconnus pour beaucoup d'espèces de chauves-souris. D'autres lacunes incluent le manque d'informations approfondies sur le comportement alimentaire et de juchoir ; les distances des vols annuels saisonniers et nocturnes ; les capacités de transmission des populations, les taux de survie et de reproduction en fonction de l'âge et les seuils potentiels des effets Allee (Foley *et al.*, 2011).

1. L'abattage

Jusqu'à présent, les mesures pour contrôler la maladie ont été inefficaces. L'abattage des chauves-souris dans les hibernacula a été proposé comme un moyen de casser le cycle de transmission ou de ralentir la progression du syndrome du nez blanc.

Cependant, les simulations indiquent que cette mesure ne contrôlera pas l'infection, essentiellement parce que les taux de contact sont élevés au sein des colonies de chauves-souris, que les contacts ont lieu dans de multiples zones et que des mouvements périodiques ont lieu entre les différentes zones.

De manière générale, l'abattage est inefficace dans le contrôle des maladies de la faune sauvage. Dans certaines situations, l'abattage a même exacerbé la progression de la maladie (Foley *et al.*, 2011).

L'efficacité des mesures d'abattage repose sur la capacité à capturer, diagnostiquer avec fiabilité et écarter la majorité des animaux infectés pendant les premiers stades de l'infection. Il n'y a à l'heure actuelle aucun test permettant l'identification des infections sub-cliniques, ainsi le diagnostic sur le terrain est impossible (Foley *et al.*, 2011). L'abattage n'est, de plus, pas préconisé s'il existe un réservoir environnemental de l'agent pathogène, comme cela est le cas pour *P. destructans* (Hallam et Mcracken, 2011).

L'abattage pourrait aussi entraîner l'élimination d'individus résistants à la maladie et mener à une extinction locale. Pour les chauves-souris, l'utilisation de l'abattage pour séparer les populations infectées et non-infectées (tels que la construction d'un cordon sanitaire) semble impossible (Foley *et al.*, 2011).

L'abattage peut enfin être perçu négativement par le public.

2. La modification des comportements humains

Les services publics américains ont bloqué très rapidement l'accès au public de beaucoup de grottes et de mines, dont certaines avec des activités touristiques et récréatives importantes, par mesures préventives pour limiter le rôle de l'Homme dans la propagation de la maladie (Chaturvedi *et al.*, 2011a).

Les endroits, contaminés ou non, où un grand nombre d'hommes et de chauves-souris risquaient de se côtoyer ont été fermés au public, pour ralentir la propagation de l'infection (Foley *et al.*, 2011).

Des protocoles stricts de décontamination adéquats ont été mis en place en parallèle pour les hommes et l'équipement (Hallam et Federico, 2012). Les personnes qui entrent dans des sites non contaminés devaient désinfecter leurs vêtements et équipements. Les personnes étudiant ou manipulant les chauves-souris devaient également appliquer de stricts protocoles pour désinfecter l'équipement et prévenir une infection inter-espèce (Constantine, 1986).

La décontamination et les restrictions sur l'usage d'équipements qui ont été utilisés dans des grottes en Asie aideraient à réduire la probabilité d'introduire *P. destructans* chez des populations de chauves-souris non infectées (par exemple l'ouest de l'Amérique du Nord, la Nouvelle-Zélande, le sud de l'Australie et les zones tempérées de l'Amérique du Sud). Ces mesures réduiraient également le risque d'introduction de nouvelles souches de *P. destructans* dans des régions où les chauves-souris sont déjà infectées (par exemple l'est de l'Amérique du Nord et l'Europe) (Hoyt *et al.*, 2016).

L'application de contrôles plus stricts dans les transferts internationaux et le commerce de matériel biologique est aussi une nécessité (Hoffmaster *et al.*, 2016).

Enfin, l'éducation du public pourrait encourager les gens à rapporter les cas de syndrome du nez blanc, éviter la propagation accidentelle du champignon et la perturbation des hibernacula. Dans des situations telles que des grottes très touristiques avec peu de chauves-souris hibernantes, les bénéfices potentiels de l'éducation du public au sujet des chauves-souris et du syndrome du nez blanc pourraient être plus importants que la probabilité de la transmission humaine de *P. destructans* depuis et vers ces sites (Foley *et al.*, 2011).

3. La vaccination

L'augmentation de la résistance des populations de chauves-souris pourrait interrompre la transmission et réduire la progression du syndrome du nez blanc (Foley *et al.*, 2011).

Les infections fongiques restent une menace à cause de l'absence de vaccins à larges spectres et d'antigènes protecteurs (Wüthrich *et al.*, 2015). Il n'existe actuellement pas de vaccins antifongiques approuvés (Blehert, 2012) même s'il existe des précédents dans les vaccinations contre les infections fongiques chez l'Homme et les chats (Wüthrich *et al.*, 2000).

La calnexine (antigène immuno-dominant localisé à la surface des levures, des hyphes et des spores et conservé au sein de nombreux membres du taxon fongique ascomycète) serait une cible prometteuse pour le développement de futurs vaccins (Wüthrich *et al.*, 2015).

4. L'utilisation des molécules antifongiques

a. Les molécules antifongiques

Les souches de *P. destructans* sont sensibles, de manière équivalente aux champignons pathogènes humains, à certaines molécules antifongiques telles que l'amphotéricine B, le fluconazole, l'itraconazole, le kétoconazole et le voriconazole (Chaturvedi *et al.*, 2011a).

A l'inverse, il est résistant à la flucytosine et aux échinocandines (caspofongine, anidulafongine et micafongine), résistance plutôt répandue au sein des champignons filamenteux. Cette découverte suggère que *P. destructans* partage des caractéristiques importantes avec des agents pathogènes fongiques causant d'importantes infections humaines (Chaturvedi *et al.*, 2011a).

L'utilisation d'un certain nombre d'antifongiques (dont l'éconazole, le sulconazole, le pyrithione de zinc et le ciclopirox olamine), d'un fongicide (l'acétate de phénylmercure) et de plusieurs biocides dont le chlorure de benzalkonium entraîne aussi une inhibition importante de la croissance (Chaturvedi *et al.*, 2011a).

(1) Cas particulier de la terbinafine

La terbinafine pourrait être une molécule alternative intéressante. Il s'agit d'une molécule fongicide qui inhibe la synthèse d'ergostérol, composant essentiel des parois fongiques. Bien qu'aucune étude sur l'utilisation de cette molécule chez les chauves-souris n'ait été publiée, des études ont été réalisées chez d'autres espèces animales (Bechert *et al.*, 2010a ; Bechert *et al.*, 2010b ; Hosseini-Yeganeh et McLachlan, 2001 ; Hosseini-Yeganeh et McLachlan, 2002 ; Moriello, 2004).

Geomyces pannorum, champignon très proche de *P. destructans*, est sensible à la terbinafine (Gianni *et al.*, 2003). Néanmoins, aucun rapport publié concernant la sensibilité de *P. destructans* à la terbinafine n'est disponible. La terbinafine a également été utilisée pour traiter des infections mycosiques réfractaires chez les humains (Revankar *et al.*, 2008).

Elle possède enfin un meilleur profil de sécurité avec moins d'effets secondaires (Balfour et Faulds, 1992) que beaucoup d'autres molécules antifongiques utilisées communément (Balfour et Faulds, 1992 ; Chaturvedi *et al.*, 2011a ; Villars et Jones, 1992) et souvent associées à de la toxicité (Blehert, 2012).

b. Les problématiques liées au traitement des chauves-souris ou de l'environnement

N'importe quel schéma de traitement des chauves-souris infectées ou de décontamination de l'environnement doit faire face à de nombreux défis (Chaturvedi *et al.*, 2011a). En effet, la nature potentiellement hasardeuse, difficile d'accès et grandement éparse des hibernacula des chauves-souris nécessite des traitements actifs à de faibles concentrations et persistants chez l'hôte et dans l'environnement (Cornelison *et al.*, 2014a).

(1) En relation avec les molécules utilisées

(a) La toxicité

Ces médicaments sont réputés pour leur toxicité et leurs effets secondaires (Bleher, 2012 ; Chaturvedi *et al.*, 2011a ; Souza *et al.*, 2012). En effet, l'utilisation de ces molécules antifongiques a causé une mortalité plus élevée dans les groupes traités que dans les groupes témoins (Frick *et al.*, 2010b).

D'autres traitements proposés devraient éviter les effets toxiques de l'application directe des produits chimiques, mais n'ont pas encore été validés *in situ* (Hallam et McCracken, 2011).

(b) La température

Nous disposons de très peu d'informations sur l'efficacité des médicaments actuellement disponibles pour une utilisation chez des chauves-souris en hibernation ou pour un champignon psychrophile ; ces médicaments étant habituellement testés dans les conditions physiologiques (Chaturvedi *et al.*, 2011a).

(2) En relation avec l'hôte

(a) L'administration des médicaments

L'administration de médicaments à une population d'animaux sauvages infectés se révèle être une tâche ardue (Chaturvedi *et al.*, 2011a). Le traitement des infections fongiques nécessite souvent des semaines à des mois de médicalisation. Les animaux non domestiqués sont susceptibles de développer du stress quand ils sont contraints et manipulés de manière répétée et ce stress peut entraîner la mort d'animaux de compagnie exotiques ou d'animaux sauvages hospitalisés (Thuesen *et al.*, 2009). Le stress peut aussi mener à une immunosuppression et à l'augmentation de la sensibilité aux infections. Ainsi, le stress associé à une manipulation répétée nécessaire au traitement d'une infection, pourrait inhiber la capacité de l'animal à établir une réponse immunitaire appropriée (Cheng *et al.*, 1990 ; Glaser *et al.*, 1987 ; Zhang *et al.*, 1998).

A moins que les populations de chauves-souris ne déclinent de manière drastique, la délivrance des traitements manuellement par individu n'est pas faisable. De plus, la proportion nécessaire d'animaux infectés à traiter pour diminuer la propagation de la maladie et inverser la tendance est inconnue (Foley *et al.*, 2011).

(b) La captivité

Les chauves-souris infectées pourraient être traitées en captivité mais les problématiques de quarantaine, de manipulation et de relâche restent entières (Foley *et al.*, 2011).

Pour maintenir la diversité génétique des chauves-souris et espérer réduire la propagation du syndrome du nez blanc et la mortalité des chauves-souris, la mise en captivité pendant l'hiver pourrait être initiée pour les espèces les plus touchées ; certaines espèces de chauves-souris ayant été élevées en captivité avec succès. Néanmoins, de telles populations captives ne prodigueraient que des niveaux relativement bas de diversité génétique (Foley *et al.*, 2011).

(3) En relation avec l'environnement

Enfin, n'importe quelle proposition de décontamination des sites infectés rencontre un obstacle de taille en la délivrance du traitement et nécessite un équilibre précautionneux vu les probables effets néfastes attendus sur l'environnement. Il est utile de répéter que les grottes sont le lieu d'une riche diversité de vie, incluant de nombreuses espèces de champignons et de bactéries (Chaturvedi *et al.*, 2011a).

Les fumigènes fongicides dans les grottes pourraient être utilisés pendant les allers-retours entre les hibernacula et les sites de juchoir pour épargner les chauves-souris (Foley *et al.*, 2011). Néanmoins, ils affecteraient de manière certaine la flore microbienne des grottes (Chaturvedi *et al.*, 2011a).

Beaucoup de grottes et de mines contaminées se trouvent de plus sur des terrains privés où l'accès peut être restreint. Par ailleurs, de nombreuses grottes et mines utilisées par les chauves-souris ont un volume interne important et une complexité structurale qui rend leur traitement complet extrêmement difficile (Foley *et al.*, 2011).

5. Les méthodes alternatives

a. Les implants

Des implants sous-cutanés de molécules antifongiques (telle que la terbinafine) placés dans le dos des petites chauves-souris brunes (*M. lucifugus*) pourraient prodiguer un traitement à long terme chez des chauves-souris infectées par *P. destructans* qui nécessiteraient d'être manipulées une fois seulement au début du traitement (Souza *et al.*, 2012).

b. La lutte biologique

Les agents de lutte biologique sont intéressants dans le traitement et la prévention du syndrome du nez blanc pour une application sur ou près des chauves-souris et de leur zone de juchoir (Cornelison *et al.*, 2014b ; Hoyt *et al.*, 2015a).

(1) Les champignons

(a) *Trichoderma polysporum*

Une souche psychrotolérante de *Trichoderma polysporum*, en particulier *Tp WPM 39143* (Zhang *et al.*, 2015), semble être un candidat prometteur en tant qu'agent de biocontrôle de *P. destructans* dans les sites contaminés par le syndrome du nez blanc.

Cette souche a produit des composés inhibiteurs qui entravaient la croissance de *P. destructans* à la fois en milieux de culture et sur des matrices de sol (Zhang *et al.*, 2015).

(b) *Candida albicans*

Quelques isolats de *Candida albicans*, levure commune co-existante avec *P. destructans* dans l'environnement des grottes de l'est des Etats-Unis (Lorch *et al.*, 2013b), inhibent *in vitro* la germination des conidies et la croissance hyphale de *P. destructans* à des concentrations présentes dans la nature (Raudabaugh et Miller, 2015).

Les sesquiterpènes trans-trans-farnésols, faisant partie des composés du quorum sensing de *C. albicans*, pourraient avoir le potentiel d'inhiber la croissance de *P. destructans* et ainsi être utilisés comme des agents de contrôle biologique de *P. destructans* (Raudabaugh et Miller, 2015).

Des tests *in vivo* sont nécessaires pour évaluer la tolérance des chauves-souris à ces composés et les conséquences sur le microbiome des grottes, en particulier les autres espèces fongiques (Raudabaugh et Miller, 2015).

(c) *Epicoccum nigrum*

Des études sont actuellement en cours pour évaluer *Epicoccum nigrum* comme agent de biocontrôle potentiel (Raudabaugh et Miller, 2015).

(2) Les probiotiques

Le microbiote cutané, et plus précisément certaines bactéries bénéfiques ou probiotiques (Schrezenmeir et De Vrese, 2001), peut fournir des fonctions vitales à leur hôte. Elles incluent la production de protéines cutanées, d'acides gras libres pour réduire l'invasion de micro-organismes transitoires et l'inhibition de micro-organismes pathogènes (Roth et James, 1988). Les probiotiques peuvent s'établir sur l'hôte et, contrairement aux fongicides chimiques, peuvent être capables de co-évoluer avec l'agent pathogène (Thomas et Willis, 1998).

(a) Le genre *Pseudomonas*

Certaines bactéries, notamment du genre *Pseudomonas*, ubiquitaires dans l'environnement, bien connues pour posséder des propriétés antifongiques et se trouvant naturellement sur les chauves-souris, peuvent inhiber la croissance de *P. destructans in vitro* pendant au moins 35 jours (Hoyt *et al.*, 2015a).

Les bactéries *Pseudomonas fluorescens* ont déjà été mises en évidence sur plusieurs mammifères (incluant les chauves-souris), ainsi que sur les amphibiens, les poissons et les plantes et sont connues pour produire des composés inhibant de nombreux agents pathogènes fongiques.

Certaines souches dans le groupe de *P. fluorescens* sont également capables de produire des enzymes lytiques, qui peuvent coloniser les mycéliums et les conidies, les rendant non viables.

De nombreux isolats d'espèces *Pseudomonas* sont mobiles. Ils pourraient ainsi utiliser le réseau mycélien des colonies fongiques pour se disperser et coloniser l'agent pathogène (Hoyt *et al.*, 2015a).

Tous ces attributs rendent les bactéries *P. fluorescens* idéales comme candidat potentiel d'agent de lutte biologique contre *P. destructans* (Hoyt *et al.*, 2015a).

(b) Le genre *Streptomyces*

Un isolat *Streptomyces* obtenu à partir de sédiments riches en cuivre dans une mine de fer au Soudan a montré une activité antagoniste contre *P. destructans*.

Des études du génome de la souche *S. Albus SM254* ont été initiées pour identifier les voies biosynthétiques responsables de la production des métabolites antifongiques (Badalamenti *et al.*, 2016).

(c) Bilan

Les probiotiques n'ont pas encore été largement implémentés dans le contrôle des maladies de la faune sauvage, certainement à cause des risques perçus et pour l'instant du manque de succès démontré (Hoyt *et al.*, 2015a).

(3) Les composés organiques volatils (COV)

(a) Définition

Les études de l'écologie des sols ont mis en évidence une abondance naturelle de composés organiques volatils (ou COV, tels que le décanal, le 2-ethyl-1-hexanol, le nonanal, le benzothiazole, le benzaldéhyde et le N,N-dimethyloctylamine) fongistatiques (Cornelison *et al.*, 2014a).

Des molécules fongistatiques volatiles sont retrouvées dans les environnements terrestres autour du globe (Zou *et al.*, 2007). A cause de la complexité biologique et chimique de ces environnements, l'origine des COV est souvent inconnue mais typiquement attribuée aux bactéries (Kerr, 1999; Zou *et al.*, 2007). Les COV sont produits notamment par les espèces *Bacillus* et *Pseudomonas* et montrent un large spectre d'activité antifongique (Chuankun *et al.*, 2004 ; Fernando *et al.*, 2005). La présence des COV est particulièrement intéressante, puisque même à de faibles concentrations, ils sont capables d'inhiber la croissance fongique dans un écosystème varié, compartimenté et dense (Ezra et Strobel, 2003 ; Fernando *et al.*, 2005 ; Kerr, 1999).

L'évaluation d'une association de deux ou trois COV à des concentrations équivalentes montre une activité synergique dans plusieurs cas. L'association de trois COV ayant une activité anti-*P. destructans* montre une augmentation du pouvoir fongistatique par inhibition de la croissance à partir des conidies ainsi que des extensions mycéliennes radiales. Ces associations, naturellement présentes dans les sols des hibernacula notamment, sont prometteuses pour combattre *in situ* le syndrome du nez blanc (Cornelison *et al.*, 2014a).

(b) *Rhodococcus rhodochrous*

La souche *Rhodococcus rhodochrous* DAP96253 est une bactérie gram positive, tellurique, ubiquitaire avec une diversité physiologique et métabolique très importante (Bell *et al.*, 1998 ; Larkin *et al.*, 2005 ; Nagasawa *et al.*, 1993 ; Pierce *et al.*, 2011 ; Sunairi *et al.*, 1997). Elle est caractérisée par une activité fongistatique basée sur la production de composés organiques volatils ou COV (Chuankun *et al.*, 2004 ; Kerr, 1999). La production de COV permet aux bactéries telluriques d'entrer en compétition avec les champignons telluriques pour s'appropriier les ressources environnementales (Cornelison *et al.*, 2014b).

Les souches de *Rhodococcus rhodochrous* induites par l'urée inhibent complètement la croissance des conidies de *P. destructans* à partir de 15 °C et possèdent un important pouvoir fongistatique à 4 °C. Elles ont inhibé la croissance de *P. destructans* à partir des

conidies quand elles étaient cultivées *in vitro* dans un espace partagé mais sans contact direct avec des tissus de chauves-souris infectées (Cornelison *et al.*, 2014b).

L'évaluation des souches de *R. rhodochrous* a démontré le potentiel prometteur de cet organisme en tant qu'agent de lutte biologique contre *P. destructans*. Cette démonstration d'antagonisme contact-indépendant de *P. destructans* représente une étape significative dans le développement d'outils biologiques de traitement du syndrome du nez blanc (Cornelison *et al.*, 2014b).

(c) *Mise en pratique*

Les technologies actuelles de dissémination des COV et des huiles essentielles dans les environnements intérieurs sont exploitées par plusieurs entreprises. Bien que ces prestations soient prometteuses, une validation scientifique appropriée est nécessaire. Les systèmes de dispensateurs de fragrances sont compatibles avec une large portée de COV et d'huiles essentielles et leurs prétentions d'efficacité sont séduisantes pour une potentielle application à des COV anti-*P. destructans* dans le traitement du syndrome du nez blanc chez les chauves-souris hibernantes (Cornelison *et al.*, 2014a).

(4) **Des implications préoccupantes**

(a) *Difficultés d'application*

Alors que l'efficacité des souches de *R. rhodochrous* induites par l'urée semble prometteuse dans la gestion *in situ* du syndrome du nez blanc, la nécessité de compléter en médias de croissance pose des difficultés d'application sur le terrain (Cornelison *et al.*, 2014b).

(b) *Impacts écologiques*

L'évaluation des impacts écologiques de l'utilisation des agents de lutte biologique doit être menée rapidement afin de circonvier le potentiel désastre écologique en relation avec l'augmentation de la microflore de la grotte (Cornelison *et al.*, 2014b).

Les conséquences liées à l'augmentation du nombre des micro-organismes sur un hôte relèvent de l'inefficacité ou d'une accidentelle dangerosité (Bletz *et al.*, 2013). Le risque d'inefficacité peut être minimisé en utilisant des probiotiques hébergés par des espèces tolérantes ou résistantes phylogénétiquement proches des espèces sévèrement impactées. Ces probiotiques auront ainsi plus de chance de coloniser la peau des espèces cibles. Le risque de dangerosité peut être minimisé en utilisant des bactéries qui se trouvent naturellement dans l'environnement des hôtes (Bletz *et al.*, 2013).

(c) *Cas particulier de l'huile d'orange de Valence*

L'huile d'orange de Valence sans terpènes pressée à froid *in vitro* permet l'inhibition complète de *P. destructans*. Elle persiste de plus jusqu'à six mois à des températures d'incubation optimales à la suite d'une application unique (10 µL) (Boire *et al.*, 2016).

Elle affecte plusieurs processus cellulaires clés tels que la maintenance et l'intégrité des membranes ainsi que la production et le métabolisme de l'ATP chez les organismes cibles (Burt, 2004 ; Crandall *et al.*, 2012 ; Muthaiyan *et al.*, 2012).

L'huile d'orange de Valence est relativement non toxique et il est possible qu'une solution 100 % naturelle puisse être utilisée comme un pré-traitement environnemental pour éradiquer *P. destructans* des habitats des chauves-souris. Elle peut ainsi fournir des moyens

chimiques nouveaux pour contrôler ce champignon dans l'environnement, sans perturber des bactéries bénéfiques telles que *Rhodococcus rhodochrous* (Boire *et al.*, 2016) qui possède une activité fongistatique contact-indépendante contre *P. destructans* (Cornelison *et al.*, 2014b).

Des recherches additionnelles sont nécessaires pour déterminer si les composants volatiles de l'huile d'orange de Valence sont suffisants pour tuer *P. destructans* et pour évaluer les éventuels effets indésirables sur le comportement et la santé des chauves-souris et les impacts généraux sur le microbiome (Boire *et al.*, 2016).

6. Les autres mesures

a. Modifications des conditions environnementales

Les stratégies de contrôle pourraient inclure l'altération des microclimats des hibernacula pour les rendre plus froids et plus secs (Langwig *et al.*, 2012 ; Langwig *et al.*, 2015c).

L'élimination des matériaux organiques en décomposition dans les hibernacula pourrait limiter la croissance environnementale de *P. destructans*, mais seulement sous certaines conditions (Reynolds *et al.*, 2015).

b. Modifications des sources de nourriture

Plusieurs actions pourtant évidentes pour prévenir la famine (supplémentation en nourriture) et la déshydratation (supplémentation en eau) posent problème. En effet, les chauves-souris insectivores hibernantes n'apprendront probablement pas à se nourrir à partir d'une nouvelle source de nourriture pendant l'hiver et la physiologie de leur système digestif ne s'ajustera probablement pas à la disponibilité de la nourriture à cette période (Foley *et al.*, 2011).

Par contre, il serait intéressant d'augmenter la disponibilité et la qualité des proies pendant la pré-hibernation ou pendant les réveils. Les cultures agricoles qui nécessitent peu de traitements chimiques et qui servent de lieux de prolifération aux insectes pourraient être plantées près des zones d'alimentation utilisées par les chauves-souris au moment de la pré-hibernation (Hallam et Federico, 2012). Comme la composition de ces insectes est riche en lipides, cela augmenterait l'accumulation de réserves énergétiques de bonne qualité chez les chauves-souris pendant la période de pré-hibernation (Anthony et Kunz, 1977 ; Wilson et Barclay, 2006).

c. Cas particulier des sidérophores

La présence de sidérophores fongiques (molécule qui extrait le fer de l'environnement) a été découverte sur les ailes des chauves-souris infectées par le syndrome du nez blanc. Les sidérophores interviennent dans la croissance fongique et la virulence.

Les méthodes qui interfèrent avec leur biosynthèse ou leur activité pourraient se révéler efficaces pour limiter l'infection à *P. destructans* (Mascuch *et al.*, 2015). Celles-ci incluent la liaison d'antibiotiques ou d'antifongiques aux sidérophores, la compétition avec des analogues qui ne peuvent pas lier le fer ou sont inutilisables pour l'organisme, l'utilisation de chélateurs du fer tels que l'EDTA, la perturbation des voies de synthèse des sidérophores endogènes à travers le blocage d'enzymes bio-synthétiques ou de transporteurs (Haas *et al.*, 2008 ; Miethke et Marahiel, 2007 ; Miller *et al.*, 2009 ; Schrettl et Haas, 2011).

B. La théorie du « sauvetage évolutif »

1. Effets attendus de l'immigration

Les petites chauves-souris brunes (*M. lucifugus*) hibernantes sont philopatriques, relativement peu d'individus changeant d'hibernacula entre les années (Norquay *et al.*, 2013).

Chaque hibernaculum peut être considéré comme une population unique faiblement connectée au sein d'une grande métapopulation. Ceci rend très peu probable le fait que l'immigration sauvera les populations déclinantes soit par l'influx de nouveaux individus soit par le sauvetage génétique (Maslo et Fefferman, 2015).

2. Amélioration du taux de survie annuelle

Depuis plusieurs années, les déclinés de populations des petites chauves-souris brunes (*M. lucifugus*) semblent ralentir dans les zones contaminées par le syndrome du nez blanc (Maslo et Fefferman, 2015). Les taux de croissance de certaines populations infectées par le syndrome du nez blanc se sont significativement améliorés au cours du temps depuis la détection initiale de la maladie (Langwig *et al.*, 2012). En effet, les taux de survie annuelle des chauves-souris *M. lucifugus* infectées ont évolué de 0,68 à 0,75 pour les mâles et de 0,65 à 0,70 pour les femelles (Lilley *et al.*, 2016).

Bien que les mécanismes responsables de ces augmentations ne soient pas connus, certaines chauves-souris pourraient mettre en place une réponse immunitaire acquise suite à l'infection initiale. Ceci leur conférerait une protection qui diminuerait ainsi la mortalité. Derrière cette hypothèse d'immunité adaptative, les individus continuent de naître sensibles, impliquant que la persistance de la population est impossible sans une intervention pérenne. Une réponse évolutive au syndrome du nez blanc signifierait au contraire que les chauves-souris nées après le début de l'infection héritent de cette protection (Maslo et Fefferman, 2015).

Cependant, l'augmentation limitée des taux de croissance pour chaque hibernaculum semble largement dépendre de la taille de la colonie avant l'émergence du syndrome du nez blanc. Les petites populations (N pré-syndrome du nez blanc $< 1\ 000$) continuent de décliner au cours du temps, alors que les populations au-delà de ce seuil montrent des taux de croissance qui augmentent au cours des trois ans suivant le goulot initial (Maslo et Fefferman, 2015).

Ces résultats suggèrent qu'il existe soit une forte pression de sélection pour la résistance génétique des chauves-souris *M. lucifugus* soit une réponse immunologique adaptée à l'infection. Cela est compatible avec la théorie du « sauvetage évolutif » mais aussi avec la variation génétique basée sur une plus grande probabilité d'obtenir des individus robustes génotypiquement au sein des populations de grande taille (Maslo *et al.*, 2015).

Cependant, même si les taux de survie augmentent, ils ne sont pas suffisants actuellement pour supporter une guérison sur le long terme. Ces données, combinées avec l'augmentation de la vulnérabilité des petites populations, soulèvent de sérieuses questions concernant la future persistance régionale de cette espèce (Maslo *et al.*, 2015).

Au moment opportun, une gestion active ciblant l'augmentation de la survie améliorera probablement temporairement la guérison des chauves-souris *M. lucifugus*. Cependant, la capacité de cette espèce à répondre de manière adaptée à l'infection par une amélioration continue de la survie et de la reproduction déterminera au final leur probabilité de persistance sur le long terme (Maslo *et al.*, 2015), information qui pourrait bien être « écrite » dans leur génome (Zhang *et al.*, 2013).

Cela rappelle la situation qu'ont certainement connue les chauves-souris européennes. Suite au véritable goulot induit par le syndrome du nez blanc dans le passé en Europe, les populations actuelles consistent en des descendants de survivants, qui ont résisté génétiquement à l'émergence initiale de l'agent pathogène et qui ont co-évolué avec celui-ci (Maslo et Fefferman, 2015).

3. Modification des schémas d'hibernation

Les schémas d'hibernation des populations survivantes des chauves-souris *M. lucifugus* contaminées il y a 10 ans, ont été comparés aux schémas des populations avant l'arrivée du syndrome du nez blanc et au pic de mortalité (Lilley *et al.*, 2016).

En dépit de l'infection par *P. destructans*, les populations rémanentes ont montré des réveils moins fréquents de torpeur et des températures corporelles de torpeur plus faibles que les chauves-souris qui étaient mortes du syndrome du nez blanc au pic de mortalité. Les schémas d'hibernation des populations rémanentes ressemblent aux schémas pré-syndrome du nez blanc avec quelques modifications. Par conséquent, les populations rémanentes de chauves-souris *M. lucifugus* ne présentent pas d'augmentation de la fréquence des réveils typique des chauves-souris mourant du syndrome du nez blanc, en dépit de la présence d'un agent pathogène fongique sur leur peau (Lilley *et al.*, 2016).

Ces schémas peuvent refléter les adaptations comportementales des populations survivantes de chauves-souris *M. lucifugus* de l'est des Etats-Unis pouvant contribuer à la survie :

- *un retour à une fréquence typique pré-syndrome du nez blanc des réveils de torpeur,
- *une durée altérée de réveil,
- *et/ou la sélection de microclimats plus froids pour l'hibernation (Lilley *et al.*, 2016).

En plus de ces facteurs, la survie peut être favorisée par des augmentations de réserves graisseuses avant l'hibernation (Lilley *et al.*, 2016). L'isolement et la réduction des comportements de regroupement pourraient représenter une partie des réponses d'adaptation par les chauves-souris à l'infection par *P. destructans* (Turner *et al.*, 2015).

Il semblerait bien que les chauves-souris *M. lucifugus* puissent s'adapter au syndrome du nez blanc en modifiant leur comportement de thermorégulation et en sélectionnant ou en bénéficiant de grottes avec des microclimats moins hospitaliers à l'agent pathogène fongique (Lilley *et al.*, 2016).

4. Bilan

Au final, plusieurs projets en cours sont investis dans les vaccinations potentielles et les traitements antifongiques à partir d'agents de lutte biologique pour les chauves-souris infectées (Chaturvedi *et al.*, 2011a ; Cornelison *et al.*, 2014a). Cependant, même si ces

traitements se révèlent efficaces, leur courte période de vie et les contraintes logistiques rendent leur application difficile.

Néanmoins, selon le scénario du « sauvetage évolutif », il serait seulement nécessaire d'administrer des traitements (soutien de la reproduction en captivité temporaire, application de traitement antifongique (Cornelison *et al.*, 2014a), approvisionnement en sources de nourriture supplémentaires au sein des hibernacula ou des juchoirs d'été connus, décontamination des hibernacula infectés (Foley *et al.*, 2011)) au cours d'une période de temps relativement courte pour aider les chauves-souris à traverser le goulot initial du syndrome du nez blanc jusqu'à ce qu'elles initient leur guérison naturelle (Maslo et Fefferman, 2015).

C. Perspectives

1. Des notions d'écologie communautaire

Les maladies infectieuses émergentes entraîneront une diminution de la biodiversité avec des implications plus vastes pour l'Homme et la santé des écosystèmes, à moins que des mesures ne soient prises pour renforcer la biosécurité de la faune sauvage (Fisher *et al.*, 2012). Elles naissent souvent d'interactions entre espèces multiples et à travers des niveaux imbriqués d'organisation biologique. Les avancées récentes dans l'écologie communautaire pourraient être adoptées pour améliorer la compréhension mécanistique des interactions écologiques sous-tendant les infections émergentes et pour répondre aux défis contemporains, incluant le syndrome du nez blanc. Ces outils analytiques pourraient identifier les facteurs gouvernant les assemblages complexes de multiples hôtes, parasites et vecteurs et révéler comment les processus sont liés à travers des échelles allant de l'hôte individuel à la région. Ils pourraient également déterminer les vecteurs des hétérogénéités entre individus, espèces et régions pour permettre le ciblage de stratégies de contrôle (Johnson *et al.*, 2015).

Les nouvelles techniques de diagnostic moléculaire ont ouvert des voies dans la découverte des agents pathogènes et la mise en place de banques de données référencées autorise des prévisions pouvant assister le ciblage de la surveillance. La collection systématique à long terme de données concernant la santé de la faune sauvage et l'intégration à d'autres bases de données est également essentielle. Les programmes de recherche multidisciplinaire devraient être étendus pour augmenter notre compréhension des vecteurs des maladies émergentes et pour permettre le développement d'une meilleure prévention des maladies et de meilleurs outils de gestion, tels que les vaccins (Sleeman, 2013).

Au final, nous avons besoin de créer un réseau de santé de la faune et la flore sauvages et des poissons au niveau national. Il dessinerait le cadre opérationnel (gestions, chartes, procédures, *etc.*) par lequel les entités impliquées dans la santé de la vie sauvage collaboreraient pour atteindre des futurs optimaux pour l'humain, l'animal et l'écosystème (Sleeman, 2013).

2. Une prise en charge « globalistique »

Une prise en charge globalistique pourrait diminuer les effets synergistiques ou interactifs composant les menaces pesant sur les chauves-souris (Harvell *et al.*, 2002 ; Kannan *et al.*, 2010). Par exemple, l'amélioration de différents facteurs ou l'intervention immédiate sur des menaces moins difficiles à gérer pourrait rendre les chauves-souris plus résistantes au syndrome du nez blanc (Ingersoll *et al.*, 2016).

3. Des inquiétudes futures

Les séquences de gènes générées par les animaux infectés et non infectés par le syndrome du nez blanc suggèrent que les chauves-souris *M. Lucifugus* pourraient potentiellement servir de réservoir naturel pour de nouvelles espèces de mycoplasmes (Mascarelli *et al.*, 2014).

À l'heure actuelle, des informations minimales concernant la prévalence, la spécificité de l'hôte ou les voies de transmission des espèces de mycoplasmes hémotropes chez les chauves-souris sont disponibles.

Au final, le rôle potentiel des espèces de mycoplasmes hémotropes en tant que cofacteurs dans le développement de maladies, incluant le syndrome du nez blanc chez les chauves-souris *M. lucifugus*, reste à élucider (Mascarelli *et al.*, 2014).

CONCLUSION

Depuis 10 ans, le syndrome du nez blanc est responsable de la disparition de plus de six millions de chauves-souris hibernantes insectivores nord-américaines, entraînant des conséquences désastreuses sur le plan écologique (perte de biodiversité et effondrement d'écosystèmes entiers) et économique (perte pour l'économie américaine de plusieurs milliards de dollars américains par an avec une impaction sur le plan mondial).

Cela fait maintenant plus d'une décennie que le premier cas du syndrome du nez blanc a été rapporté et que les chercheurs s'intéressent à cette maladie, mais de nombreuses zones d'ombre persistent, aussi bien concernant l'agent pathogène et son pouvoir pathogène que la population hôte, ses différences de résistance inter-espèces et intercontinentales.

Le déclin des populations de chauves-souris nord-américaines se poursuit, à tel point que plusieurs espèces risquent l'extinction. Malgré tout, plusieurs indices récents semblent annoncer une inversion de la tendance avec des taux de survie en augmentation même si insuffisants pour l'instant pour espérer une guérison sur le long terme.

Les meilleurs espoirs de traitement se trouvent actuellement dans les vaccinations potentielles et les traitements antifongiques à partir d'agents de lutte biologique pour les chauves-souris infectées et les hibernacula contaminés. Cependant, même si ces traitements se révélaient efficaces et sans danger pour le microbiome et la population hôte, la courte période de vie des traitements, la nature sauvage, cryptique et très éparse de la population hôte, son caractère hibernant et les contraintes logistiques limitent grandement leurs applications à travers des échelles temporelles et spatiales et tempèrent fortement l'espoir qu'une gestion anthropogénique de la maladie est possible.

En accord avec le scénario du « sauvetage évolutionnaire », il leur revient peut-être d'initier leur propre guérison naturelle. Néanmoins, le temps presse et le sort des populations de chauves-souris en déclin pourrait dépendre de la capacité d'individus résistants à traverser le goulot initial provoqué par le syndrome du nez blanc.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALVES, D.M.C.C., TERRIBILE, L.C., BRITO, D. (2014) The Potential Impact of White-Nose Syndrome on the Conservation Status of North American Bats. *PLoS One*. 2014;**9**:e107395.
2. ANTHONY, E.L.P., KUNZ, T.H. (1977) Feeding Strategies of the Little Brown Bat, *Myotis Lucifugus*, in Southern New Hampshire. *Ecology*. 1977;**58**:775-786.
3. ARNOLD, W. (1988) Social thermoregulation during hibernation in alpinemarmots (*Marmota marmota*). *J. Comp. Physiol. B*. 1988;**158**:151-156.
4. BADALAMENTI, J.P., ERICKSON, J.D., SALOMON, C.E. (2016) Complete Genome Sequence of *Streptomyces albus* SM254, a Potent Antagonist of Bat White-Nose Syndrome Pathogen *Pseudogymnoascus destructans*. *Genome Announc.* 2016;**4**:e00290.
5. BALFOUR, J.A., FAULDS, D. (1992) Terbinafine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in superficial mycoses. *Drugs*. 1992;**43**:259-284.
6. BANDOUCHOVA, H., BARTONICKA, T., BERKOVA, H. *et al.* (2015) *Pseudogymnoascus destructans*: Evidence of Virulent Skin Invasion for Bats Under Natural Conditions, Europe. *Transbound. Emerg. Dis.* 2015;**62**:1-5.
7. BARBOUR, R.W., DAVIS, W.H. (1982) *Bats of America*, The University Press of Kentucky;1982.
8. BARLOW, A., FORD, S., GREEN, R., MORRIS, C., REANEY, S. (2009) Investigations into suspected white-nose syndrome in two bat species in Somerset. *Vet. Rec.* 2009;**165**:481-482.
9. BARLOW, A., WORLEDGE, L., MILLER, H. *et al.* (2015) First confirmation of *Pseudogymnoascus destructans* in British bats and hibernacula. *Vet. Rec.* 2015;**177**:73.
10. BECHERT, U., CHRISTENSEN, J.M., POPPENGA, R., FAHMY, S.A., REDIG, P. (2010a) Pharmacokinetics of terbinafine after single oral dose administration in red-tailed hawks (*Buteo jamaicensis*). *J. Avian Med. Surg.* 2010;**24**:122-130.
11. ECHERT, U., CHRISTENSEN, J.M., POPPENGA, R., LE, H., WYATT, J., SCHMITT, T. (2010b) Pharmacokinetics of orally administered terbinafine in African penguins (*Spheniscus demersus*) for potential treatment of aspergillosis. *J. Zoo. Wildl. Med.* 2010;**41**:263-274.
12. BELL, K.S., PHILP, J.C., AW, D.W., CHRISTOFI, N. (1998) The genus *Rhodococcus*. *J. Appl. Microbiol.* 1998;**85**:195-210.
13. BERBEE, M.L. (2001) The phylogeny of plant and animal pathogens in the *Ascomycota*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2001;**59**:165-187.
14. BERNARD, R.F., FOSTER, J.T., WILLCOX, E.V., PARISE, K.L., MCCRACKEN, G.F. (2015) Molecular Detection of the Causative Agent of White-nose Syndrome on Rafinesque's Big-eared Bats (*Corynorhinus rafinesquii*) and Two Species of Migratory Bats in the Southeastern USA. *J. Wildl. Dis.* 2015;**51**:519-522.
15. BICKLER, P.E. (1984) CO_x balance of a heterothermic rodent: comparison of sleep, torpor, and awake states. *Am. J. Physiol.* 1984;**246**:49-55.
16. BLEHERT, D.S. (2012) Fungal disease and the developing story of bat white-nose syndrome. *PLoS Pathog.* 2012;**8**:e1002779.

17. BLEHERT, D.S., HICKS, A.C., BEHR, M. *et al.* (2009) Bat White-Nose Syndrome: An Emerging Fungal Pathogen? *Science*. 2009;**323**:227-227.
18. BLETZ, M.C., LOUDON, A.H., BECKER, M.H. *et al.* (2013) Mitigating amphibian chytridiomycosis with bioaugmentation: characteristics of effective probiotics and strategies for their selection and use. *Ecol. Lett.* 2013;**16**:807-820.
19. BOIRE, N., ZHANG, S., KHUVIS, J. *et al.* (2016) Potent Inhibition of *Pseudogymnoascus destructans*, the Causative Agent of White-Nose Syndrome in Bats, by Cold-Pressed, Terpeneless, Valencia Orange Oil. *PloS One*. 2016;**11**:e0148473.
20. BORATYŃSKI, J.S., RUSIŃSKI, M., KOKUREWICZ, T., BERESZYŃSKI, A., WOJCIECHOWSKI, M.S. (2012) Clustering behaviour in wintering greater mouse-eared bats (*Myotis myotis*) - the effect of micro-environmental conditions. *Acta Chiropt.* 2012;**14**:417-424.
21. BOUMA, H.R., CAREY, H.V., KROESE, F.G.M. (2010) Hibernation: the immune system at rest? *J. Leukoc. Biol.* 2010;**88**:619-624.
22. BOYLES, J.G., BRACK, V. (2009) Modeling survival rates of hibernating mammals with individual-based models of energy expenditure. *J. Mammal.* 2009;**90**:9-16.
23. BOYLES, J.G., CRYAN, P.M., MCCRACKEN, G.F., KUNZ, T.H. (2011) Economic importance of bats in agriculture. *Science*. 2011;**332**:41-42.
24. BOYLES, J.G., WILLIS, C.K. (2010) Could localized warm areas inside cold caves reduce mortality of hibernating bats affected by white-nose syndrome? *Front. Ecol. Environ.* 2010;**8**:92-98.
25. BRACK, V. (2007) Temperatures and locations used by hibernating bats, including *Myotis sodalis* (Indiana bat), in a limestone mine: implications for conservation and management. *Environ. Manage.* 2007;**40**:739-746.
26. BRACK, V., TWENTE, J.W. (1985) The duration of the period of hibernation of three species of vespertilionid bats. *Can. J. Zool.* 1985;**63**:2952-2954.
27. BROCK, M. (2008) Physiology and Metabolic Requirements of Pathogenic Fungi. *The Mycota*. 2008;**6**:63-82.
28. BROWNLEE-BOUBOULIS, S.A., REEDER, D.M. (2013) White-Nose Syndrome-affected little brown *Myotis* (*Myotis lucifugus*) increase grooming and other active behaviors during arousals from hibernation. *J. Wildl. Dis.* 2013;**49**:850-859.
29. BUCHANAN, G.D. (1987) Timing of ovulation and early embryonic development in *Myotis lucifugus* (Chiroptera: Vespertilionidae) from northern central Ontario. *Am. J. Anat.* 1987;**178**:335-340.
30. BURT, S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int. J. Food Microbiol.* 2004;**94**:223-253.
31. BURTON, R.S., REICHMAN, O.J. (1999) Does immune challenge affect torpor duration? *Funct. Ecol.* 1999;**13**:232-237.
32. CAREY, H.V., ANDREWS, M.T., MARTIN, S.L. (2003) Mammalian hibernation: cellular and molecular responses to depressed metabolism and low temperature. *Physiol. Rev.* 2003;**83**:1153-1181.
33. CARTER, T.C., FELDHAMER, G.A. (2005) Roost tree use by maternity colonies of Indiana bats and northern long-eared bats in southern Illinois. *For. Ecol. Manag.* 2005;**219**:259-268.
34. CHABASSE, D., GUIGUEN, C., COUATARMANACH, A., LAUNAY, H., REECHT, V., DE BIEVRE, C. (1987) Keratinophilic fungal flora isolated from

- small wild mammals and rabbit-warren in France. Discussion on the fungal species found. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 1987;**62**:357-368.
35. CHATURVEDI, S., RAJKUMAR, S.S., LI, X., HURTEAU, G.J., SHTUTMAN, M., CHATURVEDI, V. (2011a) Antifungal testing and high-throughput screening of compound library against *Geomyces destructans*, the etiologic agent of geomycosis (WNS) in bats. *PloS One*. 2011;**6**:e17032.
 36. CHATURVEDI, S., RUDD, R.J., DAVIS, A. *et al.* (2011b) Rapid Real-Time PCR Assay for Culture and Tissue Identification of *Geomyces destructans*: the Etiologic Agent of Bat Geomycosis (White Nose Syndrome). *Mycopathologia*. 2011;**172**:247-256.
 37. CHATURVEDI, V., CHATURVEDI, S. (2011) Editorial: What is in a Name? A Proposal to Use Geomycosis Instead of White Nose Syndrome (WNS) to Describe Bat Infection Caused by *Geomyces Destructans*. *Mycopathologia*. 2011;**171**:231-233.
 38. CHATURVEDI, V., SPRINGER, D.J., BEHR, M.J. *et al.* (2010) Morphological and Molecular Characterizations of Psychrophilic Fungus *Geomyces destructans* from New York Bats with White Nose Syndrome (WNS). *PLoS ONE*. 2010;**5**:e10783.
 39. CHENG, G.J., MORROW-TESCH, J.L., BELLER, D.I., LEVY, E.M., BLACK, P.H. (1990) Immunosuppression in mice induced by cold water stress. *Brain. Behav. Immun.* 1990;**4**:278-291.
 40. CHIBUCOS, M.C., CRABTREE, J., NAGARAJ, S., CHATURVEDI, S., CHATURVEDI, V. (2013) Draft Genome Sequences of Human Pathogenic Fungus *Geomyces pannorum* Sensu Lato and Bat White Nose Syndrome Pathogen *Geomyces (Pseudogymnoascus) destructans*. *Genome Announc.* 2013;**1**:e01045.
 41. CHUANKUN, X., MINGHE, M., LEMING, Z., KEQIN, Z. (2004) Soil volatile fungistasis and volatile fungistatic compounds. *Soil Biol. Biochem.* 2004;**36**:1997-2004.
 42. CLARK, D.R. (2001) DDT and the decline of free-tailed bats (*Tadarida brasiliensis*) at Carlsbad Cavern, New Mexico. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2001;**40**:537-543.
 43. CLARK, D.R., STAFFORD, C.J. (1981) Effects of DDE and PCB (Aroclor 1260) on experimentally poisoned female little brown bats (*Myotis lucifugus*): lethal brain concentrations. *J Toxicol Env. Health.* 1981;**7**:925-934.
 44. CLAWSON, R.L. (2002) Trends in population size and current status, *in: The Indiana bat: Biology and management of an endangered species*. Kurta J. Kennedy Eds, p. 2-8.
 45. CLEVELAND, C.J., BETKE, M., FEDERICO, P. *et al.* (2006) Estimation of the Economic Value of the Pest Control Service Provided by the Brazilian Free-tailed Bat in the Winter Garden Region of South-Central Texas. *ESA*. 2006;**4**:238-243.
 46. CONSTANTINE, D. (1986) Disease exchange between bats and researchers: problems and precautions. *Aust. Mammal.* 1986;**8**:325-329.
 47. CORNELISON, C.T., GABRIEL, K.T., BARLAMENT, C.K., CROW, S.A. (2014a) Inhibition of *Pseudogymnoascus destructans* Growth from Conidia and Mycelial Extension by Bacterially Produced Volatile Organic Compounds. *Mycopathologia*. 2014;**177**:1-10.
 48. CORNELISON, C.T., KEEL, M.K., GABRIEL, K.T. *et al.* (2014b) A preliminary report on the contact-independent antagonism of *Pseudogymnoascus destructans* by *Rhodococcus rhodochrous* strain DAP96253. *BMC Microbiol.* 2014;**14**:246.

49. COURTIN, F., STONE, W.B., RISATTI, G., GILBERT, K., VAN KRUININGEN, H.J. (2010) Pathologic Findings and Liver Elements in Hibernating Bats With White-Nose Syndrome. *Vet. Pathol.* 2010;**47**:214-219.
50. CRANDALL, P.G., RICKE, S.C., O'BRYAN, C.A., PARRISH, N.M. (2012) In vitro effects of citrus oils against *Mycobacterium tuberculosis* and non-tuberculous *Mycobacteria* of clinical importance. *J. Environ. Sci. Health B.* 2012;**47**:736-741.
51. CRYAN, P.M., METEYER, C.U., BLEHERT, D.S. *et al.* (2013a) Electrolyte depletion in white-nose syndrome bats. *J. Wildl. Dis.* 2013;**49**:398-402.
52. CRYAN, P.M., METEYER, C.U., BOYLES, J.G., BLEHERT, D.S. (2013b) White-nose syndrome in bats : illuminating the darkness. *BMC Biol.* 2013;**11**:47.
53. CRYAN, P.M., METEYER, C.U., BOYLES, J.G., BLEHERT, D.S. (2010) Wing pathology of white-nose syndrome in bats suggests life-threatening disruption of physiology. *BMC Biol.* 2010;**8**:135.
54. CZENZE, Z.J., PARK, A.D., WILLIS, C.K.R. (2013) Staying cold through dinner : cold-climate bats rewarm with conspecifics but not sunset during hibernation. *J. Comp. Physiol. B.* 2013;**183**:859-866.
55. DAAN, S., BARNES, B.M., STRIJKSTRA, A.M. (1991) Warming up for sleep? Ground squirrels sleep during arousals from hibernation. *Neurosci. Lett.* 1991;**128**:265-268.
56. DAVIS, R. (1968) Wing defects in a population of pallid bats. *Am. Midl. Nat.* 1968;**79**:388-395.
57. DAVIS, W.H., HITCHCOCK, H.B. (1965) Biology and Migration of the Bat, *Myotis lucifugus*, in New England. *J. Mammal.* 1965;**46**:296-313.
58. DEMAS, G.E., CHEFER, V., TALAN, M.I., NELSON, R.J. (1997) Metabolic costs of mounting an antigen-stimulated immune response in adult and aged C57BL/6J mice. *Am. J. Physiol.* 1997;**273**:1631-1637.
59. DIXON, M.D. (2011) Post-Pleistocene range expansion of the recently imperiled eastern little brown bat (*Myotis lucifugus lucifugus*) from a single southern refugium. *Ecol. Evol.* 2011;**1**:191-200.
60. DOBONY, C., HICKS, A.C., LANGWIG, K.E., RAINBOLT, R. (2011) Little Brown *Myotis* Persist Despite Exposure to White-Nose Syndrome. *ResearchGate.* 2011;**2**:190-195.
61. DUSBÁBEK, F. (1972) The zone of bat *acarinia* in Central Europe. *Folia Parasitol.* 1972;**19**:139-154.
62. DZAL, Y., MCGUIRE, L.P., VESELKA, N., FENTON, M.B., (2011) Going, going, gone : the impact of white-nose syndrome on the summer activity of the little brown bat (*Myotis lucifugus*). *Biol. Lett.* 2011;**7**:392-394.
63. EDUARDO, A., DE LACERDA, B., KANASHIRO, M., SEBBENN, A.M. (2008) Long-pollen Movement and Deviation of Random Mating in a Low-density Continuous Population of a Tropical Tree *Hymenaea courbaril* in the Brazilian Amazon. *Biotropica.* 2008;**40**:462-470.
64. ESKEW, E.A., TODD, B.D. (2013) Parallels in Amphibian and Bat Declines from Pathogenic Fungi. *Emerg. Infect. Dis.* 2013;**19**:379-385.
65. EZRA, D., STROBEL, G.A. (2003) Effect of substrate on the bioactivity of volatile antimicrobials produced by *Muscodor albus*. *Plant Sci.* 2003;**165**:1229-1238.
66. FELDHAMER, G.A. (2007) *Mammalogy: Adaptation, Diversity, Ecology.* 3rd ed. Johns Hopkins University Press;2007.

67. FELDMANN, R. (1984) *Teichfledermaus: Myotis dasycneme*, Die Säugetiere Westfalens. Münster, Westfälisches Museum für Naturkunde;1984.
68. FENTON M.B. (2012) Bats and white-nose syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012;**109**:6794-6795.
69. FENTON, M.B., BELWOOD, J.J., FULLARD, J.H., KUNZ, T.H. (1976) Responses of *Myotis lucifugus* (Chiroptera: Vespertilionidae) to calls of conspecifics and to other sounds. *Can. J. Zool.* 1976;**54**:1443-1448.
70. FENTON, M.B. (1970) Population studies of *Myotis lucifugus* (Chiroptera: Vespertilionidae) in Ontario. *Life Sciences.* 1970;**77**:1-33.
71. FERNANDO, W.G.D., RAMARATHNAM, R., KRISHNAMOORTHY, A.S., SAVCHUK, S.C. (2005) Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. *Soil Biol. Biochem.* 2005;**37**:955-964.
72. FISHER, M.C., HENK, D.A., BRIGGS, C.J. *et al.* (2012) Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature.* 2012;**484**:186-194.
73. FLEMING, T.H. (1989) *The short-tailed fruit bat. A study in plant-animal interactions.* Chicago, University of Chicago Press;1989.
74. FOLEY, J., CLIFFORD, D., CASTLE, K., CRYAN, P., OSTFELD, R.S. (2011) Investigating and managing the rapid emergence of white-nose syndrome, a novel, fatal, infectious disease of hibernating bats. *Conserv. Biol. J. Soc. Conserv. Biol.* 2011;**25**:223-231.
75. FRANCL, K.E., SPARKS, D.W., BRACK JR, V., TIMPONE, J. (2011) White-nose syndrome and wing damage index scores among summer bats in the northeastern United States. *J. Wildl. Dis.* 2011;**47**:41-48.
76. FRANK, C.L., INGALA, M.R., RAVENELLE, R.E. *et al.* (2016) The Effects of Cutaneous Fatty Acids on the Growth of *Pseudogymnoascus destructans*, the Etiological Agent of White-Nose Syndrome (WNS). *PloS One.* 2016;**11**:e0153535.
77. FRANK, C.L., MICHALSKI, A., MCDONOUGH, A.A. *et al.* (2014) The Resistance of a North American Bat Species (*Eptesicus fuscus*) to White-Nose Syndrome (WNS). *PLoS ONE.* 2014;**9**:e113958.
78. FRICK, W.F., POLLOCK, J.F., HICKS, A.C. *et al.* (2010a) An Emerging Disease Causes Regional Population Collapse of a Common North American Bat Species. *Science.* 2010;**329**:679-682.
79. FRICK, W.F., REYNOLDS, D.S., KUNZ, T.H. *et al.* (2010b) Influence of climate and reproductive timing on demography of little brown myotis (*Myotis lucifugus*). *J. Anim. Ecol.* 2010;**79**:128-136.
80. FUCHS, T.A., ABED, U., GOOSMANN, C. *et al.* (2007) Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J. Cell Biol.* 2007;**176**:231-241.
81. FULLER, N.W., REICHARD, J.D., NABHAN, M.L., FELLOWS, S.R., PEPIN, L.C., KUNZ, T.H. (2011) Free-Ranging Little Brown *Myotis* (*Myotis lucifugus*) Heal from Wing Damage Associated with White-Nose Syndrome. *EcoHealth.* 2011;**8**:154-162.
82. GADZIOLA, M.A., GRIMSLEY, J.M.S., FAURE, P.A., WENSTRUP, J.J. (2012) Social Vocalizations of Big Brown Bats Vary with Behavioral Context. *PLoS One.* 2012;**7**:e44550.
83. GARGAS, A., TREST, M.T., CHRISTENSEN, M., VOLK, T.J., BLEHERT, D.S. (2009) *Geomyces destructans* sp. nov. associated with bat white-nose syndrome. *Mycotaxon.* 2009;**108**:147-154.

84. GEISER, F. (2004) Metabolic rate and body temperature reduction during hibernation and daily torpor. *Annu. Rev. Physiol.* 2004;**66**:239-274.
85. GIANNI, C., CARETTA, G., ROMANO, C. (2003) Skin infection due to *Geomyces pannorum* var. *pannorum*. *Mycoses.* 2003;**46**:430-432.
86. GIORGI, M.S., ARLETTAZ, R., CHRISTE, P., VOGEL, P. (2001) The energetic grooming costs imposed by a parasitic mite (*Spinturnix myotis*) upon its bat host (*Myotis myotis*). *Proc. Biol. Sci.* 2001;**268**:2071-2075.
87. GLASER, R., RICE, J., SHERIDAN, J. (1987) Stress-related immune suppression: health implications. *Brain. Behav. Immun.* 1987;**1**:7-20.
88. GUSTAFSON, A.W., SHEMESH, M. (1976) Changes in plasma testosterone levels during the annual reproductive cycle of the hibernating bat, *Myotis lucifugus lucifugus* with a survey of plasma testosterone levels in adult male vertebrates. *Biol. Reprod.* 1976;**15**:9-24.
89. HAAS, H., EISENDLE, M., TURGEON, B.G. (2008) Siderophores in fungal physiology and virulence. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2008;**46**:149-187.
90. HALLAM, T.G., FEDERICO, P. (2012) The Panzootic White-nose Syndrome: An Environmentally Constrained Disease?: Constraints for White-nose Syndrome. *Transbound. Emerg. Dis.* 2012;**59**:269-278.
91. HALLAM, T.G., MCCRACKEN, G.F. (2011) Management of the Panzootic White-Nose Syndrome through Culling of Bats: Culling and White-Nose Syndrome. *Conserv. Biol.* 2011;**25**:189-194.
92. HARVELL, C.D., MITCHELL, C.E., WARD J.R. (2002) Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science.* 2002;**296**:2158-2162.
93. HOFFMASTER, E., VONK, J., MIES, R. (2016) Education to Action: Improving Public Perception of Bats. *Anim.* 2016;**6**:1-9.
94. HOSSEINI-YEGANEH, M., MCLACHLAN, A.J. (2002) Physiologically Based Pharmacokinetic Model for Terbinafine in Rats and Humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002;**46**:2219-2228.
95. HOSSEINI-YEGANEH, M., MCLACHLAN, A.J. (2001) Tissue distribution of terbinafine in rats. *J. Pharm. Sci.* 2001;**90**:1817-1828.
96. HOYT, J.R., CHENG, T.L., LANGWIG, K.E., HEE, M.M., FRICK, W.F., KILPATRICK, A.M. (2015a) Bacteria isolated from bats inhibit the growth of *Pseudogymnoascus destructans*, the causative agent of white-nose syndrome. *PloS One.* 2015;**10**:e0121329.
97. HOYT, J.R., LANGWIG, K.E., OKONIEWSKI, J., FRICK, W.F., STONE, W.B., KILPATRICK, A.M. (2015b) Long-Term Persistence of *Pseudogymnoascus destructans*, the Causative Agent of White-Nose Syndrome, in the Absence of Bats. *EcoHealth.* 2015;**12**:330-333.
98. HOYT, J.R., SUN, K., PARISE, K.L. *et al.* 2016. Widespread Bat White-Nose Syndrome Fungus, Northeastern China. *Emerg. Infect. Dis.* 2016;**22**:140-142.
99. HUMPHRIES, M.M., THOMAS, D.W., KRAMER, D.L. (2003) The role of energy availability in Mammalian hibernation: a cost-benefit approach. *Physiol. Biochem. Zool.* 2003;**76**:165-179.
100. HUMPHRIES, M.M., THOMAS, D.W., SPEAKMAN, J.R. (2002) Climate-mediated energetic constraints on the distribution of hibernating mammals. *Nature.* 2002;**418**:313-316.

101. INGERSOLL, T.E., SEWALL, B.J., AMELON, S.K. (2016) Effects of white-nose syndrome on regional population patterns of 3 hibernating bat species. *Conserv. Biol. J. Soc. Conserv. Biol.* 2016;**30**:1048-1059.
102. IZZO, A.D., MAZZOLA, M. (2009) Hybridization of an ITS-based macroarray with ITS community probes for characterization of complex communities of fungi and fungal-like protists. *Mycol. Res.* 2009;**113**:802-812.
103. JANICKI, A.F., FRICK, W.F., KILPATRICK, A.M., PARISE, K.L., FOSTER, J.T., MCCRACKEN, G.F. (2015) Efficacy of Visual Surveys for White-Nose Syndrome at Bat Hibernacula. *PLoS One.* 2015;**10**:e0133390.
104. JOHNSON, J.S., LACKI, M.J., THOMAS, S.C., GRIDER, J.F. (2012) Frequent Arousals from Winter Torpor in Rafinesque's Big-Eared Bat (*Corynorhinus rafinesquii*). *PLoS One.* 2012;**7**:e49754.
105. JOHNSON, J.S., REEDER, D.M., MCMICHAEL, J.W. (2014) Host, Pathogen, and Environmental Characteristics Predict White-Nose Syndrome Mortality in Captive Little Brown *Myotis (Myotis lucifugus)*. *PLoS One.* 2014;**9**:e112502.
106. JOHNSON, L.J.A.N., MILLER, A.N., MCCLEERY, R.A. (2013) Psychrophilic and Psychrotolerant Fungi on Bats and the Presence of *Geomyces* spp. on Bat Wings Prior to the Arrival of White Nose Syndrome. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013;**79**:5465-5471.
107. JOHNSON, P.T.J., DE ROODE, J.C., FENTON, A. (2015) Why infectious disease research needs community ecology. *Science.* 2015;**349**:1259504.
108. JONASSON, K.A., WILLIS, C.K.R. (2012) Hibernation energetics of free-ranging little brown bats. *J. Exp. Biol.* 2012;**215**:2141-2149.
109. JONASSON, K.A., WILLIS, C.K.R. 2011. Changes in body condition of hibernating bats support the thrifty female hypothesis and predict consequences for populations with white-nose syndrome. *PLoS One.* 2011;**6**:e21061.
110. KANNAN, K., YUN, S.H., RUDD, R.J., BEHR, M. (2010) High concentrations of persistent organic pollutants including PCBs, DDT, PBDEs and PFOS in little brown bats with white-nose syndrome in New York, USA. *Chemosphere.* 2010;**80**:613-618.
111. KERR, J.R. (1999) Bacterial inhibition of fungal growth and pathogenicity. *Microb. Ecol. Health Dis.* 1999;**11**:129-142.
112. KHANKHET, J., VANDERWOLF, K.J., MCALPINE, D.F. *et al.* (2014) Clonal Expansion of the *Pseudogymnoascus destructans* Genotype in North America Is Accompanied by Significant Variation in Phenotypic Expression. *PLoS One.* 2014;**9**:e104684.
113. KLUGER, M.J., HEATH, J.E. (1970) Vasomotion in the bat wing: a thermoregulatory response to internal heating. *Comp. Biochem. Physiol.* 1970;**32**:219-226.
114. KOCHKINA, G.A., IVANUSHKINA, N.E., AKIMOV, V.N., GILICHINSKIĬ, D.A., OZERSKAIA, S.M. (2007) Halo- and psychrotolerant *Geomyces* fungi from arctic cryopegs and marine deposits. *Mikrobiologiya.* 2007;**76**:39-47.
115. KUBATOVA, A., KOUKOL, O., NOVAKOVA, A. (2011) *Geomyces destructans*, phenotypic features of some Czech isolates. *Czech Mycol.* 2011;**63**:65-75.
116. KUNZ, T.H., ARNETT, E.B., ERICKSON, W.P. (2007) Ecological impacts of wind energy development on bats: questions, research needs, and hypotheses. *Front. Ecol. Environ.* 2007;**5**:315-324.

117. KUNZ, T.H., BRAUN DE TORREZ, E., BAUER, D., LOBOVA, T., FLEMING, T.H. (2011) Ecosystem services provided by bats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2011;**1223**:1-38.
118. LANGWIG, K.E., FRICK, W.F., BRIED, J.T., HICKS, A.C., KUNZ, T.H., KILPATRICK, A.M. (2012) Sociality, density-dependence and microclimates determine the persistence of populations suffering from a novel fungal disease, white-nose syndrome. *Ecol. Lett.* 2012;**15**:1050-1057.
119. LANGWIG, K.E., FRICK, W.F., REYNOLDS, R. *et al.* (2015a) Host and pathogen ecology drive the seasonal dynamics of a fungal disease, white-nose syndrome. *Proc. Biol. Sci.* 2015;**282**:20142335.
120. LANGWIG, K.E., HOYT, J.R., PARISE, K.L. *et al.* (2015b). Invasion dynamics of white-nose syndrome fungus, midwestern United States, 2012-2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2015;**21**:1023-1026.
121. LANGWIG, K.E., VOYLES, J., WILBER, M.Q. *et al.* (2015c) Context-dependent conservation responses to emerging wildlife diseases. *Front. Ecol. Environ.* 2015;**13**:195-202.
122. LARKIN, M.J., KULAKOV, L.A., ALLEN, C.C.R. (2005) Biodegradation and *Rhodococcus*-masters of catabolic versatility. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2005;**16**:282-290.
123. LEOPARDI, S., BLAKE, D., PUECHMAILLE, S.J. (2015) White-Nose Syndrome fungus introduced from Europe to North America. *Curr. Biol.* 2015;**25**:217-219.
124. LILLEY, T.M., JOHNSON, J.S., RUOKOLAINEN, L. *et al.* (2016) White-nose syndrome survivors do not exhibit frequent arousals associated with *Pseudogymnoascus destructans* infection. *Front. Zool.* 2016;**13**:12.
125. LIN, X., HEITMAN, J. (2005) Chlamydospore formation during hyphal growth in *Cryptococcus neoformans*. *Eukaryot. Cell.* 2005;**4**:1746-1754.
126. LINDNER, D.L., GARGAS, A., LORCH, J.M. *et al.* (2011) DNA-based detection of the fungal pathogen *Geomyces destructans* in soils from bat hibernacula. *Mycologia.* 2011;**103**:241-246.
127. LOPEZ-HOFFMAN, L., WIEDERHOLT, R., SANSONE, C. (2014) Market forces and technological substitutes cause fluctuations in the value of bat pest-control services for cotton. *PloS One.* 2014;**9**:e87912.
128. LORCH, J.M., GARGAS, A., METEYER, C.U. (2010) Rapid polymerase chain reaction diagnosis of white-nose syndrome in bats. *J. Vet. Diagn. Investig.* 2010;**22**:224-230.
129. LORCH, J.M., LINDNER, D.L., GARGAS, A., MULLER, L.K., MINNIS, A.M., BLEHERT, D.S. (2013) A culture-based survey of fungi in soil from bat hibernacula in the eastern United States and its implications for detection of *Geomyces destructans*, the causal agent of bat white-nose syndrome. *Mycologia.* 2013;**105**:237-252.
130. LORCH, J.M., METEYER, C.U., BEHR, M.J. *et al.* (2011) Experimental infection of bats with *Geomyces destructans* causes white-nose syndrome. *Nature.* 2011;**480**:376-378.
131. LORCH, J.M., MINNIS, A.M., METEYER, C.U. *et al.* (2015) The fungus *Trichophyton redellii* sp. Nov. Causes skin infections that resemble white-nose syndrome of hibernating bats. *J. Wildl. Dis.* 2015;**51**:36-47.
132. LORCH, J.M., MULLER, L.K., RUSSELL, R.E., O'CONNOR, M., LINDNER, D.L., BLEHERT, D.S. (2013) Distribution and Environmental Persistence of the

- Causative Agent of White-Nose Syndrome, *Geomyces destructans*, in Bat Hibernacula of the Eastern United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013;**79**:1293-1301.
133. LUCAN, R.K., BANDOUCHOVA, H., BARTONICKA, T. *et al.* (2016) Ectoparasites may serve as vectors for the white-nose syndrome fungus. *Parasit. Vectors.* 2016;**9**:16.
 134. LUIS, A.D., HUDSON, P.J. (2006) Hibernation patterns in mammals: a role for bacterial growth?. *Funct. Ecol.* 2006;**20**:471-477.
 135. LUO, J., CLARIN, B.M., BORISSOV, I.M., SIEMERS, B.M. (2014) Are torpid bats immune to anthropogenic noise?. *J. Exp. Biol.* 2014;**217**:1072–1078.
 136. MAHER, S.P., KRAMER, A.M., PULLIAM, J.T., ZOKAN, M.A., BOWDEN, S.E., BARTON, H.D., *et al.* (2012) Spread of white-nose syndrome on a network regulated by geography and climate. *Nat. Commun.* 2012;**3**:1306.
 137. MAINE, J.J., BOYLES, J.G. (2015) Bats initiate vital agroecological interactions in corn. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2015;**112**:12438-12443.
 138. MAKANYA, A.N., MORTOLA, J.P. (2007) The structural design of the bat wing web and its possible role in gas exchange. *J. Anat.* 2007;**211**:687-697.
 139. MALAN, A., ARENS, H., WAECHTER, A. (1973) Pulmonary respiration and acid-base state in hibernating marmots and hamsters. *Respir. Physiol.* 1973;**17**:45-61.
 140. MARSHALL, W.A. (1998) Aerial Transport of Keratinaceous Substrate and Distribution of the Fungus *Geomyces pannorum* in Antarctic Soils. *Microb. Ecol.* 1998;**36**, 212-219.
 141. MARTIN, LB., SCHEUERLEIN, A., WIKELSKI, M. (2003) Immune activity elevates energy expenditure of house sparrows: a link between direct and indirect costs?. *Proc. Biol. Sci.* 2003;**270**:153-158.
 142. MARTÍNKOVÁ, N., BAČKOR, P., BARTONIČKA, T., BLAŽKOVÁ, P., ČERVENÝ, J., FALTEISEK, L., *et al.* (2010) Increasing Incidence of *Geomyces destructans* Fungus in Bats from the Czech Republic and Slovakia. *PLoS One.* 2010;**5**:e13853.
 143. MASCARELLI, P.E., KEEL, M.K., YABSLEY, M., LAST, L.A., BREITSCHWERDT, E.B., MAGGI, R.G. (2014) Hemotropic mycoplasmas in little brown bats (*Myotis lucifugus*). *Parasit. Vectors.* 2014;**7**:117.
 144. MASCUCH, S.J., MOREE, W.J., HSU, C-C., TURNER, G.G., CHENG, T.L., BLEHERT, D.S. *et al.* (2015) Direct detection of fungal siderophores on bats with white-nose syndrome via fluorescence microscopy-guided ambient ionization mass spectrometry. *PLoS One.* 2015;**10**:e0119668.
 145. MASLO, B., FEFFERMAN, N.H. (2015) A case study of bats and white-nose syndrome demonstrating how to model population viability with evolutionary effects: Evolutionary Rescue and PVA. *Conserv. Biol.* 2015;**29**:1176-1185.
 146. MASLO, B., VALENT, M., GUMBS, J.F., FRICK, W.F. (2015) Conservation implications of ameliorating survival of little brown bats with white-nose syndrome. *Ecol. Appl.* 2015;**25**:1832-1840.
 147. MCCALLUM, H. (2012) Disease and the dynamics of extinction. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2012;**367**:2828-2839.
 148. MCCRINK-GOODE, M. (2014) Pollution: A global threat. *Environ. Int.* 2014;**68**:162-170.
 149. MELVIN, R.G., ANDREWS, M.T. (2009) Torpor induction in mammals: recent discoveries fueling new ideas. *Trends Endocrinol. Metab.* 2009;**20**:490-498.

150. MENZEL, M.A., MENZEL, J.M., CARTER, T.C., FORD, W.M., EDWARDS, J.W. (2001) *Review of the forest habitat relationships of the Indiana bat (Myotis sodalis)* US Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Research Station.
151. MERCANTINI, R., MARSELLA, R., CERVELLATI, M.C. (1989a) Keratinophilic fungi isolated from Antarctic soil. *Mycopathologia*. 1989;**106**:47-52.
152. MERCANTINI, R., MARSELLA, R., PRIGNANO, G. (1989b) Isolation of keratinophilic fungi from the dust of ferry boats and trains in Italy. *Mycoses*. 1989;**32**:590-594.
153. METEYER, C.U., BARBER, D., MANDL, J.N. (2012) Pathology in euthermic bats with white nose syndrome suggests a natural manifestation of immune reconstitution inflammatory syndrome. *Virulence*. 2012;**3**:583-588.
154. METEYER, C.U., BUCKLES, E.L., BLEHERT, D.S. *et al.* (2009) Histopathologic criteria to confirm white-nose syndrome in bats. *J. Vet. Diagn. Investig.* 2009;**21**:411-414.
155. METEYER, C.U., VALENT, M., KASHMER, J. *et al.* (2011). Recovery of little brown bats (*Myotis lucifugus*) from natural infection with *Geomyces destructans*, white-nose syndrome. *J. Wildl. Dis.* 2011;**47**:618-626.
156. MIETHKE, M., MARAHIEL, M.A. (2007) Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2007;**71**:413-451.
157. MILLER, M.J., ZHU, H., XU, Y. *et al.* (2009) Utilization of microbial iron assimilation processes for the development of new antibiotics and inspiration for the design of new anticancer agents. *Biometals Int. J. Role Met. Ions Biol. Biochem. Med.* 2009;**22**:61-75.
158. MILLER-BUTTERWORTH, C.M., VONHOF, M.J., ROSENSTERN, J., TURNER, G.G., RUSSELL, A.L. (2014) Genetic Structure of Little Brown Bats (*Myotis lucifugus*) Corresponds with Spread of White-Nose Syndrome among Hibernacula. *J. Hered.* 2014;**105**:354-364.
159. MINNIS, A.M., LINDNER, D.L. (2013) Phylogenetic evaluation of *Geomyces* and allies reveals no close relatives of *Pseudogymnoascus destructans*, comb. nov., in bat hibernacula of eastern North America. *Fungal Biol.* 2013;**117**:638-649.
160. MITCHELL, K.M., CHURCHER, T.S., GARNER, T.W., FISHER, M.C. (2008) Persistence of the emerging pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* outside the amphibian host greatly increases the probability of host extinction. *R. Soc. B Biol. Sci.* 2008;**275**:329-334.
161. MOORE, M.S., REICHARD, J.D., MURTHA, T.D. *et al.* (2013) Hibernating Little Brown *Myotis (Myotis lucifugus)* Show Variable Immunological Responses to White-Nose Syndrome. *PLoS One*. 2013;**8**:e58976.
162. MOORE, M.S., REICHARD, J.D., MURTHA, T.D. *et al.* (2011). Specific Alterations in Complement Protein Activity of Little Brown *Myotis (Myotis lucifugus)* Hibernating in White-Nose Syndrome Affected Sites. *PLoS One*. 2011;**6**:e27430.
163. MORIELLO, K.A. (2004) Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of published studies. *Vet. Dermatol.* 2004;**15**:99-107.
164. MORRISON, D.W. (1978) Foraging Ecology and Energetics of the Frugivorous Bat *Artibeus Jamaicensis*. *Ecology*. 1978;**59**:716-723.
165. MULLER, L.K., LORCH, J.M., LINDNER, D.L., O'CONNOR, M., GARGAS, A., BLEHERT, D.S. (2013) Bat white-nose syndrome: a real-time TaqMan polymerase

- chain reaction test targeting the intergenic spacer region of *Geomyces destructans*. *Mycologia*. 2013;**105**:253-259.
166. MUÑOZ-GARCIA, A., BEN-HAMO, M., PINSHOW, B., WILLIAMS, J.B., KORINE, C. (2012) The relationship between cutaneous water loss and thermoregulatory state in Kuhl's pipistrelle *Pipistrellus kuhlii*, a Vespertilionid bat. *Physiol. Biochem. Zool.* 2012;**85**:516-525.
 167. MUTHAIYAN, A., MARTIN, E.M., NATESAN, S., CRANDALL, P.G., WILKINSON, B.J., RICKE, S.C. (2012) Antimicrobial effect and mode of action of terpeneless cold-pressed Valencia orange essential oil on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Appl. Microbiol.* 2012;**112**:1020-1033.
 168. NAGASAWA, T., SHIMIZU, H., YAMADA, H. (1993) The superiority of the third-generation catalyst, *Rhodococcus rhodochrous* J1 nitrile hydratase, for industrial production of acrylamide. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1993;**40**:189-195.
 169. NÉMETH, I., NYITRAI, V., NÉMETH, A., ALTBÄCKER, V. (2010) Diuretic treatment affects the length of torpor bouts in hibernating European ground squirrels (*Spermophilus citellus*). *J. Comp. Physiol. B.* 2010;**180**:457-464.
 170. NESTLER, J. (1990) Relationships between respiratory quotient and metabolic rate during entry to and arousal from daily torpor in deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Physiol. Zool.* 1990;**63**:504-515.
 171. NEUWEILER, G. (2000) *Biology of Bats*. New York, Oxford University Press;2000.
 172. NORQUAY, K.J.O., MARTINEZ-NUÑEZ, F., DUBOIS, J.E., MONSON, K.M., WILLIS, C.K.R. (2013) Long-distance movements of little brown bats (*Myotis lucifugus*). *J. Mammal.* 2013;**94**:506-515.
 173. NOVÁKOVÁ, A. (2009) Microscopic fungi isolated from the Domica Cave system (Slovak Karst National Park, Slovakia). A review. *Int. J. Speleol.* 2009;**38**:71-82.
 174. O'REAGAN, S.M., MAGORI, K., PULLIAM, J.T., ZOKAN, M.A., KAUL R.B., BARTON, H.D. *et al.* (2015) Multi-scale model of epidemic fade-out: Will local extirpation events inhibit the spread of white-nose syndrome?. *Ecol. Appl.* 2015;**25**:621-633.
 175. OTS, I., KERIMOV, A.B., IVANKINA, E.V., ILYINA, T.A., HÖRAK, P. (2001) Immune challenge affects basal metabolic activity in wintering great tits. *Proc. Biol. Sci.* 2001;**268**:1175-1181.
 176. PALMER, J.M., KUBATOVA, A., NOVAKOVA, A., MINNIS, A.M., KOLARIK, M., LINDNER, D.L. (2014) Molecular Characterization of a Heterothallic Mating System in *Pseudogymnoascus destructans*, the Fungus Causing White-Nose Syndrome of Bats. *G3*. 2014;**4**:1755-1763.
 177. PANNKUK, E.L., BLAIR, H.B., FISCHER, A.E. *et al.* (2014a) Triacylglyceride composition and fatty acyl saturation profile of a psychrophilic and psychrotolerant fungal species grown at different temperatures. *Fungal Biol.* 2014;**118**:792-799.
 178. PANNKUK, E.L., FULLER, N.W., MOORE, P.R., GILMORE, D.F., SAVARY, B.J., RISCH, T.S. (2014b). Fatty Acid Methyl Ester Profiles of Bat Wing Surface Lipids. *Lipids*. 2014;**49**:1143-1150.
 179. PANNKUK, E.L., GILMORE, D.F., FULLER, N.W., SAVARY, B.J., RISCH, T.S. (2013) Sebaceous lipid profiling of bat integumentary tissues: quantitative analysis of free fatty acids, monoacylglycerides, squalene, and sterols. *Chem. Biodivers.* 2013;**10**:2122-2132.

180. PANNKUK, E.L., MCGIRE, L.P., WARNECKE, L., TURNER, J.M., WILLIS, C.K.R., RISCH, T.S. (2015a) Glycerophospholipid Profiles of Bats with White-Nose Syndrome. *Physiol. Biochem. Zool.* 2015;**88**: 425-432.
181. PANNKUK, E.L., RISCH, T.S., SAVARY, B.J. (2015b) Isolation and identification of an extracellular subtilisin-like serine protease secreted by the bat pathogen *Pseudogymnoascus destructans*. *PLoS One.* 2015;**10**:e0120508.
182. PETIT, E.J., PUECHMAILLE, S.J. (2015) Will reduced host connectivity curb the spread of a devastating epidemic?. *Mol. Ecol.* 2015;**24**:5491-5494.
183. PIERCE, G.E., DRAGO, G.K., GANGULY, S. *et al.* (2011) Preliminary report on a catalyst derived from induced cells of *Rhodococcus rhodochrous* strain DAP 96253 that delays the ripening of selected climacteric fruit: bananas, avocados, and peaches. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2011;**38**:1567-1573.
184. PIKULA, J., BANDOUCHOVA, H., NOVOTNÝ, L. *et al.* (2012) Histopathology confirms white-nose syndrome in bats in Europe. *J. Wildl. Dis.* 2012;**48**:207-211.
185. POWERS, L.E., HOFMANN, J.E., MENGELKOCH, J., FRANCIS, B.M. (2013) Temporal variation in bat wing damage in the absence of White-Nose Syndrome. *J. Wildl. Dis.* 2013;**49**:946-954.
186. PUECHMAILLE, S.J., FRICK, W.F., KUNZ, T.H. *et al.* (2011a) White-nose syndrome: is this emerging disease a threat to European bats?. *Trends Ecol. Evol.* 2011;**26**:570-576.
187. PUECHMAILLE, S.J., VERDEYROUX, P., FULLER, H., GOUILH, M.A., BEKAERT, M., TEELING, E.C. (2010) White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) in Bat, France. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;**16**:290-293.
188. PUECHMAILLE, S.J., WIBBELT, G., KORN, V. *et al.* (2011b) Pan-European Distribution of White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) Not Associated with Mass Mortality. *PLoS One.* 2011;**6**:e19167.
189. PUIG-MONTSERRAT, X., TORRE, I., LOPEZ-BAUCELLS, A. *et al.* (2015) Pest control service provided by bats in Mediterranean rice paddies: linking agroecosystems structure to ecological functions. *Mamm. Biol.* 2015;**80**:237-245.
190. RACHOWICZ, L.J., HERO, J.-M., ALFORD, R.A. *et al.* (2005) The Novel and Endemic Pathogen Hypotheses: Competing Explanations for the Origin of Emerging Infectious Diseases of Wildlife. *Conserv. Biol.* 2005;**19**:1441-1448.
191. RAJKUMAR, S. (2011) Clonal Genotype of *Geomyces destructans* among Bats with White Nose Syndrome, New York, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2011;**17**:1273–1276.
192. RAPIN, N., JOHNS, K., MARTIN, L. *et al.* (2014) Activation of Innate Immune-Response Genes in Little Brown Bats (*Myotis lucifugus*) Infected with the Fungus *Pseudogymnoascus destructans*. *PLoS One.* 2014;**9**:e112285.
193. RASHID, A., (2001) Arthroconidia as vectors of dermatophytosis. *Cutis.* 2001;**67**:23.
194. RAUDABAUGH, D.B., MILLER A.N. (2015) Effect of Trans, Trans-Farnesol on *Pseudogymnoascus destructans* and Several Closely Related Species. *Mycopathologia.* 2015;**180**:325-332.
195. RAUDABAUGH, D.B., MILLER, A.N. (2013) Nutritional Capability of and Substrate Suitability for *Pseudogymnoascus destructans*, the Causal Agent of Bat White-Nose Syndrome. *PLoS One.* 2013;**8**:e78300.

196. REEDER, D.M., FRANK, C.L., TURNER, G.G., *et al.* (2012) Frequent Arousal from Hibernation Linked to Severity of Infection and Mortality in Bats with White-Nose Syndrome. *PLoS One*. 2012;**7**:e38920.
197. REICHARD, J.D., KUNZ, T.H. (2009) White-Nose Syndrome Inflicts Lasting Injuries to the Wings of Little Brown *Myotis (Myotis lucifugus)*. *Acta Chiropterologica* 2009;**11**:457-464.
198. REN, P., HAMAN, K.H., LAST, L.A., RAJKUMAR, S.S., KEEL, M.K., CHATURVEDI, V. (2012) Clonal spread of *Geomyces destructans* among bats, midwestern and southern United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2012;**18**:883-885.
199. REVANKAR, S.G., NAILOR, M.D., SOBEL, J.D. (2008) Use of terbinafine in rare and refractory mycoses. *Future Microbiol.* 2008;**3**:9-17.
200. REYNOLDS, H.T., BARTON, H.A. (2014) Comparison of the White-Nose Syndrome Agent *Pseudogymnoascus destructans* to Cave-Dwelling Relatives Suggests Reduced Saprotrophic Enzyme Activity. *PLoS One*. 2014;**9**:e86437.
201. REYNOLDS, H.T., BARTON, H.A. (2013) White-Nose Syndrome: Human Activity in the Emergence of an Extirpating Mycosis. *Microbiol. Spectr.* 2013;**1**(2).
202. REYNOLDS, H.T., INGERSOLL, T., BARTON, H.A. (2015) Modeling the environmental growth of *Pseudogymnoascus destructans* and its impact on the white-nose syndrome epidemic. *J. Wildl. Dis.* 2015;**51**:318-331.
203. RICE, A.V., CURRAH, R.S. (2006) Two new species of *Pseudogymnoascus* with *Geomyces* anamorphs and their phylogenetic relationship with *Gymnostellatospora*. *Mycologia*. 2006;**98**:307-318.
204. ROBSON, G.D., PUCI, J., THRONSET, W., DUNN-COLEMAN, N. (2008) Oxidative stress, fragmentation and cell death during bioreactor growth of filamentous fungi, *in: Stress in Yeasts and filamentous Fungi*. Elsevier Saunders, p. 129-142.
205. ROTH, R.R., JAMES, W.D. (1988) Microbial ecology of the skin. *Annu. Rev. Microbiol.* 1988;**42**:441-464.
206. RUSS, J.M., JONES, G., MACKIE, I.J., RACEY, P.A. (2004) Interspecific responses to distress calls in bats (*Chiroptera: Vespertilionidae*): a function for convergence in call design?. *Anim. Behav.* 2004;**67**:1005-1014.
207. RUSSELL, A., BUTCHKOSKI, C., SAIDAK, L., MCCRACKEN, G. (2009) Road-killed bats, highway design, and the commuting ecology of bats. *Endanger. Species Res.* 2009;**8**:49-60.
208. RUSSELL, R.E., TINSLEY, K., ERICKSON, R.A., THOGMARTIN, W.E., SZYMANSKI, J. (2014) Estimating the spatial distribution of wintering little brown bat populations in the eastern United States. *Ecol. Evol.* 2014;**4**:3746-3754.
209. SARA D.M.J. (2002) Chauves-souris et zoonoses. Thèse Méd. Vét. ENVA, France, 120 p.
210. SCHRETTL, M., HAAS, H. (2011) Iron homeostasis-Achilles' heel of *Aspergillus fumigatus*?. *Curr. Opin. Microbiol.* 2011;**14**:400-405.
211. SCHREZENMEIR, J., DE VRESE, M. (2001) Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001;**73**:361-364.
212. SIMONOVICOVA, A., PANGALLO, D., CHOVANOVA, K., LEHOTSKA. (2011) *Geomyces destructans* associated with bat disease WNS detected in Slovakia. *Biologia*. 2011;**66**:562-564.

213. SIMPSON, V.R., BORMAN, A.M., FOX, R.I., MATHEWS, F. (2013) Cutaneous mycosis in a Barbastelle bat (*Barbastella barbastellus*) caused by *Hyphopichia burtonii*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2013;**25**:551–554.
214. SLEEMAN, J.M. (2013) Has the Time Come for Big Science in Wildlife Health?. *EcoHealth.* 2013;**10**:335-338.
215. SLINKINA, N.N., PIVKIN, M.V., POLOKHIN, O.V. (2010) Filamentous fungi of the submarine soils of the Sakhalin Gulf (Sea of Okhotsk). *Russ. J. Mar. Biol.* 2010;**36**:413-418.
216. SMITH, C.J., NEDWELL, D.B., DONG, L.F., OSBORN, A.M. (2006) Evaluation of quantitative polymerase chain reaction-based approaches for determining gene copy and gene transcript numbers in environmental samples. *Environ. Microbiol.* 2006;**8**:804-815.
217. SMYTH, C., SCHLESINGER, S., OVERTON, B.E., BUTCHKOSKI, C. (2013) The Alternative Host Hypothesis and Potential Virulence Genes in *Geomyces destructans*. *Bat Res. News.* 2013;**54**:17-24.
218. SNAPP, B.D., HELLER, H.C. (1981) Suppression of metabolism during hibernation in ground squirrels (*Citellus lateralis*). *Physiol. Zool.* 1981;**54**:297-307.
219. SOUZA, M.J., CAIRNS, T., YARBROGH, J., COX, S.K. (2012) In Vitro Investigation of a Terbinafine Impregnated Subcutaneous Implant for Veterinary Use. *J. Drug Deliv.* 2012;**2012**:1-4.
220. SPARKS, D.W., RITZI, C.M., DUCHAMP, J.E., WHITAKER, J.O. (2005) Foraging habitat of the indiana bat (*Myotis sodalis*) at an urban–rural interface. *J. Mammal.* 2005;**86**:713-718.
221. SPEAKMAN, J.R., WEBB, P.I., RACEY, P.A. (1991) Effects of disturbance on the energy expenditure of hibernating bats. *J. Appl. Ecol.* 1991;**28**:1087-1104.
222. STATES, J.S., CHRISTENSEN, M. (2001) Fungi Associated with Biological Soil Crusts in Desert Grasslands of Utah and Wyoming. *Mycologia.* 2001;**93**:432-439.
223. STORM, J., BOYLES, J. (2011) Body temperature and body mass of hibernating little brown bats *Myotis lucifugus* in hibernacula affected by white-nose syndrome. *Acta Theriol.* 2011;**2**:123-127.
224. STUDIER, E.H. (1981) Energetic advantages of slight drops in body temperature in little brown bats, *Myotis lucifugus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1981;**70**:537–540.
225. STUDIER, E.H., PROCTER, J.W., HOWELL, D.J. (1970) Diurnal body weight loss and tolerance of weight loss in five species of *Myotis*. *J. Mammal.* 1970;**51**:302-309.
226. STUDIER, E.H., SEVICK, S.H., KEELER, J.O., SCHENCK, R.A. (1994) Nutrient levels in guano from maternity colonies of big brown bats. *J. Mammal.* 1994;**75**:71-83.
227. SUNAIRI, M., IWABUCHI, N., YOSHIZAWA, Y., MUROOKA, H., MORISAKI, H., NAKAJIMA, M. (1997) Cell-surface hydrophobicity and scum formation of *Rhodococcus rhodochrous* strains with different colonial morphologies. *J. Appl. Microbiol.* 1997;**82**:204-210.
228. SWANEPOEL, R.E., RACEY, P.A., SHORE, R.F., SPEAKMAN, J.R. (1999) Energetic effects of sublethal exposure to lindane on pipistrelle bats (*Pipistrellus pipistrellus*). *Environ. Pollut.* 1999;**104**:169-177.
229. SZEWCZAK, J.M., JACKSON, D.C. (1992) Acid-base state and intermittent breathing in the torpid bat, *Eptesicus fuscus*. *Respir. Physiol.* 1992;**88**:205-215.

230. TAYLOR, L.H., LATHAM, S.M., WOOLHOUSE, M.E. (2001) Risk factors for human disease emergence. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2001;**356**:983–989.
231. THOGMARTIN, W.E., KING, R.A., MCKANN, P.C., SZYMANSKI, J.A., PRUITT, L. (2012a) Population-level impact of white-nose syndrome on the endangered Indiana bat. *J. Mammal.* 2012;**93**:1086-1098.
232. THOGMARTIN, W.E., KING, R.A., SZYMANSKI, J.A., PRUITT, L. (2012b) Space-time models for a panzootic in bats, with a focus on the endangered Indiana Bat. *J. Wildl. Dis.* 2012;**48**:876-887.
233. THOMAS, D.W. (1995) Hibernating bats are sensitive to nontactile human disturbance. *J. Mammal.* 1995;**76**:940-946.
234. THOMAS, D.W., CLOUTIER, D. (1992) Evaporative water-loss by hibernating little brown bats, *Myotis lucifugus*. *Physiol. Zool.* 1992;**65**:443-456.
235. THOMAS, D.W., CLOUTIER, D., GAGNE, D. (1990a) Arrhythmic breathing, apnea and non-steady state oxygen uptake in hibernating little brown bats (*Myotis lucifugus*). *J. Exp. Biol.* 1990;**149**:395-406.
236. THOMAS, D.W., DORAIS, M., BERGERON, J.M. (1990b) Winter energy budgets and cost of arousals for hibernating little brown bats, *Myotis lucifugus*. *J. Mammal.* 1990;**71**:475-479.
237. THOMAS, D.W., GEISER, F. (1997) Periodic arousals in hibernating mammals: is evaporative water loss involved? *Funct. Ecol.* 1997;**11**:585-591.
238. THOMAS, M.B., WILLIS, A.J. (1998) Biocontrol-risky but necessary?. *Trends Ecol. Evol.* 1998;**13**:325-329.
239. THUESEN, L.R., BERTELSEN, M.F., BRIMER, L., SKAANILD, M.T. (2009) Selected pharmacokinetic parameters for Cefovecin in hens and green iguanas. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2009;**32**:613-617.
240. TRACHSEL, L., EDGAR, D.M., HELLER, H.C. (1991) Are ground squirrels sleep deprived during hibernation?. *Am. J. Physiol.* 1991;**260**:1123-1129.
241. TURMELLE, A.S., KUNZ, T.H., SORENSON, M.D. (2011) A tale of two genomes: contrasting patterns of phylogeographic structure in a widely distributed bat. *Mol. Ecol.* 2011;**20**:357-375.
242. TURNER G.G., METEYER, C.U., BARTON, H. *et al.* (2014) Nonlethal screening of bat-wing skin with the use of ultraviolet fluorescence to detect lesions indicative of white-nose syndrome. *J. Wildl. Dis.* 2014;**50**:566-573.
243. TURNER, G.G., REEDER, D.M. (2009) Update of white-nose syndrome in bats. *Bat Res. News.* 2009;**50**:47-53.
244. TURNER, G.G., REEDER, D.M., COLEMAN, J.T.H. (2011) A five-year assessment of mortality and geographic spread of white-nose syndrome in North American bats and a look to the future. *Bat Res. News.* 2011;**52**:13-27.
245. TURNER, J.M., WARNECKE, L., KÖRTNER, G., GEISER, F. (2012) Opportunistic hibernation by a freeranging marsupial. *J. Zool.* 2012;**286**:277-284.
246. TURNER, J.M., WARNECKE, L., WILCOX, A. *et al.* (2015) Conspecific disturbance contributes to altered hibernation patterns in bats with white-nose syndrome. *Physiol. Behav.* 2015;**140**:71-78.
247. VAN DE WOUW, A.P., HOWLETT, B.J. (2012) Estimating frequencies of virulent isolates in field populations of a plant pathogenic fungus, *Leptosphaeria maculans*, using high-throughput pyrosequencing. *J. Appl. Microbiol.* 2012;**113**:1145-1153.

248. VANDERWOLF, K.J., MALLOCH, D., MCALPINE, D.F. (2016) Ectomycota Associated with Arthropods from Bat Hibernacula in Eastern Canada, with Particular Reference to *Pseudogymnoascus destructans*. *Insects*. 2016;**7**(2):16.
249. VANDERWOLF, K.J., MALLOCH, D., MCALPINE, D.F., FORBES, G.J. (2013) A world review of fungi, yeasts, and slime molds in caves. *Int. J. Speleol.* 2013;**42**:77-96.
250. VANDERWOLF, K.J., MCALPINE, D.F., MALLOCH, D., FORBES, G.J. (2013) Ectomycota Associated with Hibernating Bats in Eastern Canadian Caves prior to the Emergence of White-Nose Syndrome. *Northeast. Nat.* 2013;**20**:115-130.
251. VERANT, M.L., BOHUSKI, E.A., LORCH, J.M., BLEHERT, D.S. (2016) Optimized methods for total nucleic acid extraction and quantification of the bat white-nose syndrome fungus, *Pseudogymnoascus destructans*, from swab and environmental samples. *J. Vet. Diagn. Investig.* 2016;**28**:110-118.
252. VERANT, M.L., BOYLES, J.G., WALDREP, W., WIBBELT, G., BLEHERT, D.S. (2012) Temperature-dependent growth of *Geomyces destructans*, the fungus that causes bat white-nose syndrome. *PLoS One*. 2012;**7**:e46280.
253. VERANT, M.L., METEYER, C.U., SPEAKMAN, J.R., CRYAN, P.M., LORCH, J.M., BLEHERT, D.S. (2014) White-nose syndrome initiates a cascade of physiologic disturbances in the hibernating bat host. *BMC Physiol.* 2014;**14**:10.
254. VILLARS, V.V., JONES, T.C. (1992) Special features of the clinical use of oral terbinafine in the treatment of fungal diseases. *Br. J. Dermatol.* 1992;**126**:61-69.
255. VONHOF, M.J., RUSSELL, A.L., MILLER-BUTTERWORTH, C.M. (2015) Range-Wide Genetic Analysis of Little Brown Bat (*Myotis lucifugus*) Populations: Estimating the Risk of Spread of White-Nose Syndrome. *PLoS One*. 2015;**10**(7):e0128713.
256. WARNECKE, L., SCHLEUCHER, E., GEISER, F. (2010) Basking behaviour in relation to energy use and food availability in one of the smallest marsupials. *Physiol. Behav.* 2010;**101**:389-393.
257. WARNECKE, L., TURNER, J.M., BOLLINGER, T.K. *et al.* (2012) Inoculation of bats with European *Geomyces destructans* supports the novel pathogen hypothesis for the origin of white-nose syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012;**109**:6999-7003.
258. WARNECKE, L., TURNER, J.M., BOLLINGER, T.K. *et al.* (2013) Pathophysiology of white-nose syndrome in bats: a mechanistic model linking wing damage to mortality. *Biol. Lett.* 2013;**9**:20130177.
259. WEBB, P.I., SPEAKMAN, J.R., RACEY, P.A. (1996) How hot is a hibernaculum? A review of the temperatures at which bats hibernate. *Can. J. Zool.* 1996;**74**:761-765.
260. WIBBELT, G., KURTH, A., HELLMANN, D. *et al.* (2010a) White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) in Bats, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;**16**:1237-1243.
261. WIBBELT, G., MOORE, M.S., SCHOUNTZ, T., VOIGT, C.C. (2010b) Emerging diseases in *Chiroptera*: why bats?. *Biology Letters*. 2010;**6**:438-440.
262. WIBBELT, G., PUECHMAILLE, S.J., OHLENDORF, B. *et al.* (2013) Skin Lesions in European Hibernating Bats Associated with *Geomyces destructans*, the Etiologic Agent of White-Nose Syndrome. *PLoS One*. 2013;**8**:e74105.

263. WILDER, A.P., FRICK, W.F., LANGWIG, K.E., KUNZ, T.H. (2011) Risk factors associated with mortality from white-nose syndrome among hibernating bat colonies. *Biol. Lett.* 2011;**7**:950-953.
264. WILDER, A.P., KUNZ, T.H., SORENSON, M.D. (2015) Population genetic structure of a common host predicts the spread of white-nose syndrome, an emerging infectious disease in bats. *Mol. Ecol.* 2015;**24**:5495-5506.
265. WILLIS, C.K.R., MENZIES, A.K., BOYLES, J.G., WOJCIECHOWSKI, M.S. (2011) Evaporative Water Loss Is a Plausible Explanation for Mortality of Bats from White-Nose Syndrome. *Integr. Comp. Biol.* 2011;**51**:364-373.
266. WILSON, J.M., BARCLAY, R.M.R. (2006) Consumption of Caterpillars by Bats During an Outbreak of Western Spruce Budworm. *Am. Midl. Nat.* 2006;**155**:244-249.
267. WORTHINGTON-WILMER, J., BARRATT, E. (1996) A non-lethal method of tissue sampling for genetic studies of chiropterans. *Bat Res. News.* 1996;**37**:1-3.
268. WU-PONG, S., ELIAS, P.M., FEINGOLD, K.R. (1994) Influence of altered serum cholesterol levels and fasting on cutaneous cholesterol synthesis. *J. Invest. Dermatol.* 1994;**102**:799-802.
269. WÜTHRICH, M., BRANDHORST, T.T., SULLIVAN, T.D. *et al.* (2015) Calnexin Induces Expansion of Antigen-Specific CD4+ T Cells that Confer Immunity to Fungal Ascomycetes via Conserved Epitopes. *Cell Host Microbe.* 2015;**17**:452-465.
270. WÜTHRICH, M., FILUTOWICZ, H.I., KLEIN, B.S. (2000) Mutation of the WI-1 gene yields an attenuated *Blastomyces dermatitidis* strain that induces host resistance. *J. Clin. Invest.* 2000;**106**:1381-1389.
271. YAZDANPARAST, S.A., BARTON, R.C. (2006) Arthroconidia production in *Trichophyton rubrum* and a new ex vivo model of onychomycosis. *J. Med. Microbiol.* 2006;**55**:1577-1581.
272. ZELENKOVÁ, H. (2006) *Geomyces pannorum* as a possible causative agent of dermatomycosis and onychomycosis in two patients. *Acta Dermatovenerol. Croat.* 2006;**14**:21-25.
273. ZHANG, D., KISHIHARA, K., WANG, B., MIZOBE, K., KUBO, C., NOMOTO, K. (1998) Restraint stress-induced immunosuppression by inhibiting leukocyte migration and Th1 cytokine expression during the intraperitoneal infection of *Listeria monocytogenes*. *J. Neuroimmunol.* 1998;**92**:139-151.
274. ZHANG, T., CHATURVEDI, V., CHATURVEDI, S. (2015) Novel *Trichoderma polysporum* Strain for the Biocontrol of *Pseudogymnoascus destructans*, the Fungal Etiologic Agent of Bat White Nose Syndrome. *PLoS One.* 2015;**10**:e0141316.
275. ZHANG, T., VICTOR, T.R., RAJKUMAR, S.S. *et al.* (2014) Mycobiome of the Bat White Nose Syndrome Affected Caves and Mines Reveals Diversity of Fungi and Local Adaptation by the Fungal Pathogen *Pseudogymnoascus (Geomyces) destructans*. *PloS One.* 2014;**9**:e108714.
276. ZOU, C-S., MO, M-H., GU, Y-Q., ZHOU, J-P., ZHANG, K-Q. (2007) Possible contributions of volatile-producing bacteria to soil fungistasis. *Soil Biol. Biochem.* 2007;**39**:2371-2379.
277. ZUKAL, J., BANDOUCHOVA, H., BARTONICKA, T. *et al.* (2014) White-Nose Syndrome Fungus: A Generalist Pathogen of Hibernating Bats. *PLoS One.* 2014;**9**:e97224.

278. ZUKAL, J., BANDOUCHOVA, H., BRICHTA, J. *et al.* (2016) White-nose syndrome without borders: *Pseudogymnoascus destructans* infection tolerated in Europe and Palearctic Asia but not in North America. *Sci. Rep.* 2016;**6**:19829.

LE SYNDROME DU NEZ BLANC (« WHITE-NOSE SYNDROME ») DES CHAUVES-SOURIS : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

NOM et PRENOM : COMESSE Laetitia

RESUME :

Depuis 2006, le « syndrome du nez blanc », une mycose émergente, a entraîné la mort de plus de six millions de chauves-souris hibernantes insectivores en Amérique du Nord.

L'agent étiologique pathogène *Pseudogymnoascus destructans*, précédemment nommé *Geomyces destructans*, est un champignon ascomycète psychrophile saprophyte qui envahit la peau des chauves-souris en profondeur, ce qui se traduit macroscopiquement par la présence de proliférations fongiques blanchâtres poudreuses exubérantes inconstantes sur le nez (et qui donnent son nom à la maladie), les oreilles et les ailes des chauves-souris infectées et microscopiquement par la présence caractéristique d'érosions cutanées en forme de coupe remplies d'hyphes fongiques sans aucune réaction inflammatoire associée.

La torpeur entraînerait une suppression de la réponse immunitaire permettant la colonisation cutanée par *P. destructans* sans résistance. Les lésions alaires consécutives provoqueraient une déshydratation hypotonique responsable d'une augmentation de la fréquence des réveils consommant excessivement les réserves lipidiques, réserves que les chauves-souris seraient incapables de reconstituer à cause du manque de nourriture en plein hiver.

Plusieurs devenirs sont ainsi possibles pour les chauves-souris hibernantes. Si elles consomment toutes leurs réserves lipidiques avant la fin de l'hibernation, la mort est assurée. Par contre, si les réserves lipidiques tiennent jusqu'à la sortie d'hibernation et que les chauves-souris survivent à la réactivation du système immunitaire, la guérison est possible. Néanmoins, se posera rapidement le problème du prochain hiver, *P. destructans* pouvant survivre sous formes de spores dans l'environnement et sur l'hôte.

P. destructans, natif d'Europe de l'ouest où les chauves-souris auraient co-évolué avec l'agent pathogène, aurait été transporté accidentellement par voie anthropogénique en Amérique du Nord. Toutes les espèces de chauves-souris nord-américaines hibernantes ne sont pas impactées avec la même sévérité. Les espèces du genre *Myotis* sont particulièrement touchées si bien qu'elles sont en voie d'extinction. Les conséquences écologiques et économiques de tels déclin de populations sont désastreuses. Pour l'instant, aucun traitement n'est disponible et il ne serait pas impossible que les chauves-souris nord-américaines doivent initier une guérison par elles-seules, par le biais de l'évolution génétique.

MOTS-CLES : PARASITE / MYCOSE / CHAMPIGNON / NEZ / ÉVOLUTION / CHIROPTÈRE / CHAUVE-SOURIS

JURY :

Président :

Directeur : Dr REYES-GOMEZ

Assesseur : Pr GUILLOT

WHITE-NOSE SYNDROME IN BATS: A LITERATURE REVIEW

NAME and FIRSTNAME : COMESSE Laetitia

ABSTRACT :

Since 2006, the « white-nose syndrome », an emerging mycosis, lead to the death of more than six millions insectivorous hibernating bats in North America.

The etiologic pathogen *Pseudogymnoascus destructans*, previously known as *Geomyces destructans*, is a saprophytic psychrophilic ascomycete fungus that deeply invades bats' skin, and macroscopically provokes inconstant exuberant powdery white fungal growth on infected bats' muzzle (giving the disease its name), ears and wings and microscopically generates pathognomonic cup-like epidermal full of fungal hyphae erosions but no inflammatory response.

Torpor bouts would provoke a lack of immune response allowing epidermal invasion by *P. destructans* meeting no resistance. Resulting wing damage would cause a hypotonic dehydration responsible for increased frequency of arousals leading to an excessive depletion of fat reserves, which bats would be unable to replenish due to the lack of food in winter time.

Several outcomes are indeed possible for hibernating bats. If all fat reserves are spent before the end of hibernation, death is inevitable. On the other hand, if fat reserves hold until the end of hibernation and if bats survive to the reactivation of their immune system, recovery is possible. Nevertheless, the forthcoming winter will be crucial for bats' survival, as *P. destructans*' spores may survive in the environment and on the host.

Pseudogymnoascus destructans, native from Western Europe where bats would have co-evolved with the pathogen, would have been accidentally brought through anthropogenic routes in North America. All hibernating North American bat species are not equally impacted. *Myotis* species are notably affected and are therefore classified endangered. Economical and ecological consequences of such population declines are disastrous. For the time being, no treatment is available and it is possible that bats should initiate self-recovery through genetic evolution.

KEYWORDS : PARASITE / MYCOSIS / FUNGUS / NOSE / EVOLUTION / CHIROPTERA / BAT

JURY :

Président :

Directeur : Dr REYES-GOMEZ

Assesseur : Pr GUILLOT