



Government of Canada **Gouvernement du Canada**

**Évaluation préalable de
Trichoderma reesei
Souche ATCC 74252**

**Environnement et changement climatique Canada
Santé Canada**

Février 2018

Canada

No de cat. : En14-318/2018F-PDF

ISBN 978-0-660-25250-6

Le contenu de cette publication ou de ce produit peut être reproduit en tout ou en partie, et par quelque moyen que ce soit, sous réserve que la reproduction soit effectuée uniquement à des fins personnelles ou publiques mais non commerciales, sans frais ni autre permission, à moins d'avis contraire.

On demande seulement :

- de faire preuve de diligence raisonnable en assurant l'exactitude du matériel reproduit;
- d'indiquer le titre complet du matériel reproduit et l'organisation qui en est l'auteur;
- d'indiquer que la reproduction est une copie d'un document officiel publié par le gouvernement du Canada et que la reproduction n'a pas été faite en association avec le gouvernement du Canada ni avec l'appui de celui-ci.

La reproduction et la distribution à des fins commerciales est interdite, sauf avec la permission écrite de l'auteur. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec l'informathèque d'Environnement et Changement climatique Canada au 1-800-668-6767 (au Canada seulement) ou 819-997-2800 ou par courriel à ec.enviroinfo.ec@canada.ca.

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le ministre de l'Environnement et Changement climatique, 2016.

Also available in English

Sommaire

En vertu de l'article 74 de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement, 1999 (LCPE), la ministre de l'Environnement et la ministre de la Santé ont réalisé une évaluation préalable de la souche ATCC 74252 de *Trichoderma reesei*.

La souche ATCC 74252 de *Trichoderma reesei* (*T. reesei*) est un champignon qui partage des caractéristiques avec d'autres espèces du genre *Trichoderma* et d'autres souches de la même espèce. *T. reesei* est un champignon sporulant qui prolifère dans le sol et sur la matière végétale en décomposition. Comme il s'agit de l'un des principaux décomposeurs des végétaux, *T. reesei* peut donc dégrader un éventail de substrats végétaux. En raison de ses propriétés, l'espèce *T. reesei* peut être utilisée dans la fermentation de matières premières végétales et dans la production d'enzymes et de substances biochimiques utilisées pour produire des aliments, des aliments pour animaux, et des produits de santé. L'espèce *T. reesei* est généralement considérée comme un organisme sûr servant à la production, car elle est utilisée depuis longtemps sans danger pour fabriquer des carbohydrases, comme la cellulase.

Les espèces de *Trichoderma*, notamment *T. reesei*, peuvent produire des métabolites appelés peptaïbols. Certaines souches de *T. reesei* peuvent produire la paracelsine ainsi que d'autres peptaïbols. La paracelsine a été jugée nocive pour les invertébrés aquatiques, les cellules de mammifères et les souris dans les conditions expérimentales dans lesquelles les barrières naturelles ont été contournées. La paracelsine aurait aussi une activité antibiotique et antifongique. On croit que la souche ATCC 74252 de *T. reesei* ne produit pas de paracelsine et d'autres peptaïbols dans les conditions industrielles normalisées de fermentation en immersion actuellement employées pour cette souche, mais la production de ces substances pourrait survenir dans d'autres conditions de croissance.

L'espèce *T. reesei* n'est pas présente dans la nature au Canada. En dépit de sa présence répandue dans les sols des pays tropicaux, rien n'indique que l'espèce cause des effets nocifs chez les végétaux aquatiques ou terrestres ou chez les animaux sous les tropiques. En outre, les espèces de *Trichoderma*, dont *T. reesei*, inhibent divers agents phytopathogènes.

Aucune publication scientifique ne fait état de *T. reesei* comme agent anthropopathogène. Il est peu probable que la souche ATCC 74252 de *T. reesei* infecte les humains en bonne santé ou affaiblis, et, dans la faible éventualité d'une infection, cette souche est sensible aux principaux médicaments antifongiques utilisés en milieu clinique pour ce type d'infection. L'exposition répétée à des préparations commerciales d'enzymes produites par *T. reesei* et d'autres espèces de *Trichoderma* cause rarement des réactions allergiques chez les humains.

La présente évaluation porte sur les propriétés susmentionnées de la souche ATCC 74252 de *T. reesei* pour ce qui est des effets pour l'environnement et la santé humaine liés à l'utilisation de produits de consommation ou commerciaux et dans les procédés industriels assujettis aux exigences de la LCPE, y compris les rejets dans l'environnement attribuables au flux de déchets et de l'exposition accidentelle des humains dans le milieu environnemental. Pour mettre à jour les données sur les utilisations courantes de ce microorganisme, le gouvernement a mis sur pied un inventaire obligatoire permettant de recueillir des renseignements au terme de l'avis 71 de la LCPE, publié dans la Partie I de la Gazette du Canada le 3 octobre 2009 (avis de l'article 71). Les renseignements communiqués à la suite de la publication de l'avis indiquent que 10 000 à 100 000 kg de la souche ATCC 74252 de *T. reesei*, en masse de cellules sèches, ont été produits au Canada en 2008 à des fins industrielles.

D'après les renseignements disponibles, il est conclu que la souche ATCC 74252 de *T. reesei* ne satisfait pas aux critères énoncés aux alinéas 64a) ou 64b) de la LCPE, car elle ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ou dans des conditions de nature à avoir, immédiatement ou à long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique, ou à mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie. Il est aussi conclu que la souche ATCC 74252 de *T. reesei* ne satisfait pas aux critères énoncés à l'alinéa 64c) de la LCPE car elle ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou concentration ou dans des conditions de nature à constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines.

Il est conclu que la souche ATCC 74252 de *T. reesei* ne satisfait à aucun des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE.

Table des matières

.....	i
Sommaire	ii
1. Introduction	1
2. Décisions d'autorités compétentes sur le plan national et international	2
2.1 Plan national	2
2.2 Plan international	3
3. Évaluation des risques	4
3.1 Caractérisation de <i>Trichoderma reesei</i>	4
3.2 Gravité des risques	20
4. Évaluation de l'exposition	23
4.1 Sources d'exposition	23
4.2 Caractérisation de l'exposition	25
5. Caractérisation des risques	26
6. Conclusion	27
Références	29
ANNEXES	43
Annexe A : Résistance aux agents antifongiques et sensibilité de <i>T. longibrachiatum</i> ...	43
Annexe B : Rapports de cas d'infection attribuable à une souche de <i>T. longibrachiatum</i>	45
Annexe C : Rapports de cas d'infection attribuable à une espèce de <i>Trichoderma</i>	47

Liste des tableaux

Tableau 1-1. Comparaison entre <i>T. reesei</i> et <i>T. longibrachiatum</i> pour ce qui est de l'utilisation du substrat	6
Tableau 1-2. Effets toxiques de la paracelsine	14
Tableau A-1 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des souches de <i>T. longibrachiatum</i>	43

1. Introduction

En vertu de l'alinéa 74b) de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999) (LCPE), le ministre d'Environnement et Changement climatique Canada et le ministre de la Santé sont tenus de procéder à l'évaluation préalable des organismes vivants inscrits sur la Liste intérieure des substances (LIS) conformément à l'article 105 de la Loi, afin de déterminer s'ils constituent ou pourraient constituer un risque pour l'environnement ou la santé humaine (selon les critères établis dans l'article 64 de la LCPE)¹. La souche ATCC 74252 de *Trichoderma reesei* (T. reesei) a été ajoutée à la LI conformément au paragraphe 25(1) de la LCPE (1988) et à la LIS en vertu du paragraphe 105(1) de la LCPE(1999) parce qu'elle a été fabriquée ou importée au Canada entre le 1^{er} janvier 1984 et le 31 décembre 1986.

La présente évaluation préalable tient compte des renseignements sur les risques tirés du domaine public et des données de recherche non publiées des chercheurs d'Environnement et Changement climatique Canada², ainsi que des commentaires des pairs examinateurs scientifiques. Les données sur l'exposition proviennent du domaine public et des renseignements découlant de l'avis obligatoire relatif à l'article 71 de la LCPE publié le 3 octobre 2009 dans la Partie I de la Gazette du Canada. De plus amples précisions sur la méthode d'évaluation des risques utilisée sont accessibles dans le document intitulé « [Cadre d'évaluation scientifique des risques liés aux micro-organismes réglementés en vertu de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement \(1999\)](#) » (Environnement Canada et Santé Canada, 2011).

Dans le présent rapport, les données qui sont propres à la souche T. reesei ATCC 74252 inscrite sur la LI sont désignées comme telles. Lorsque les données sur la souche n'étaient pas disponibles, des données de substitution

¹ La détermination de la conformité à l'un ou plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE est basée sur une évaluation des risques potentiels pour l'environnement ou la santé humaine associés à l'exposition dans l'environnement en général. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, les expositions par l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant les substances. Une conclusion établie en vertu de la LCPE peut ne pas s'appliquer à l'évaluation basée sur des critères de risque définis dans le Règlement sur les produits contrôlés, évaluation qui fait partie d'un cadre réglementaire du Système d'information sur les matières dangereuses au travail (SIMDUT) pour les produits destinés à être utilisés au travail ni empêcher qu'une telle évaluation ait lieu.

² Essais menés par la Division de l'écotoxicologie et de la santé de la faune d'Environnement et Changement climatique Canada.

provenant de publications ont été utilisées. Dans la mesure du possible, on a effectué les recherches documentaires sur l'organisme à l'aide des synonymes, des noms communs, des noms périmés ainsi que *Hypocrea jecorina*. Le cas échéant, les organismes substitutifs ont été identifiés au niveau taxonomique fourni par la source. Les recherches documentaires ont été effectuées à l'aide de bases de données de publications scientifiques (SCOPUS, CAB Abstracts, Google Scholar et NCBI Pubmed), de recherches sur le Web et de termes-clés de recherche afin de cerner les risques pour la santé humaine et l'environnement et les caractéristiques de l'exposition. Les données relevées jusqu'en mars 2016 ont été prises en compte dans la présente évaluation préalable.

2. Décisions d'autorités compétentes sur le plan national et international

2.1 Plan national

L'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) a classé l'espèce *T. reesei* dans le groupe de risque 1 (risque faible pour l'individu et pour la collectivité), soit les organismes qui ne causent pas de maladie chez les humains et les animaux terrestres (communication personnelle, ASPC, 2014). *T. reesei* n'est considéré ni comme un agent pathogène des animaux aquatiques ni comme un agent phytoravageur réglementé au Canada par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) (communication personnelle, ACIA, 2014).

La liste des enzymes alimentaires autorisées de Santé Canada énonce les organismes sources autorisés (y compris *T. longibrachiatum* A83 [antérieurement désigné *T. reesei* A83] et *T. longibrachiatum* QM9414 [antérieurement désigné *T. reesei* QM9414]) desquels sont tirés des enzymes qui peuvent servir d'additifs alimentaires. Conformément à la partie B de l'article B.01.045 du Règlement sur les aliments et drogues, les additifs alimentaires doivent satisfaire les spécifications énoncées dans ce règlement, et lorsque des spécifications ne sont pas prévues dans la partie B, l'additif doit respecter les spécifications précisées dans l'édition la plus récente du Codex des produits chimiques alimentaires (CPCA). Dans le cas des enzymes alimentaires, les spécifications du CPCA propres aux préparations enzymatiques s'appliquent.

T. reesei figure dans la base de données d'ingrédients de produits de santé naturels ayant un rôle médicinal et classé comme produit de santé naturelle (PSN) relevant de l'annexe 1, article 1 (champignon) du Règlement sur les produits de santé naturels. *T. reesei* est également répertorié comme source de l'enzyme cellulase dans la monographie Cellulase de Santé Canada, ainsi que des enzymes bêta-glucanase, hémicellulose, pectinase et xylanases dans la monographie de Santé Canada sur les enzymes digestives (NHPID, 2016).

2.2 Plan international

Aux États-Unis, l'Environmental Protection Agency (EPA) a mis en place un règlement sur les nouvelles utilisations importantes pris en vertu de la Toxic Substances Control Act (TSCA) visant notamment une souche génétiquement modifiée de *T. reesei* de laquelle sont issus des enzymes utilisées pour la production d'éthanol. Comme il est indiqué dans l'avis relatif à une activité commerciale d'origine microbienne J-10-0002, l'utilisation de la souche à cette fin ne devrait pas présenter de risques déraisonnables pour la santé humaine et l'environnement. Les conditions d'utilisation précisées dans l'avis sont celles d'un procédé industriel typique normalisé de fermentation standard en immersion, utilisé pour produire des enzymes conformément aux pratiques industrielles normalisées de confinement et d'inactivation. Ainsi, une nouvelle utilisation importante de ce règlement a été définie par l'EPA des États-Unis, soit toute utilisation d'un micro-organisme autre que les utilisations en fermentation qui respecte toutes les conditions suivantes : fermentation en immersion en l'absence d'une matière végétale solide ou d'un substrat insoluble, et fermentation d'une matière végétale solide ou d'un substrat insoluble dans un bouillon de fermentation dont la fermentation n'est amorcée qu'après l'inactivation du micro-organisme telle que décrite. Ces conditions sont imposées, car il a été démontré que les souches de *T. reesei* produisent la paracelsine, un peptaïbol qui est un métabolite toxique, lorsque ces souches sont utilisées pour produire des enzymes dans le cadre d'une fermentation de substrats végétaux solides ou de substrats insolubles (U.S. EPA, 2012a).

De même, l'EPA des États-Unis a déterminé que *T. reesei* QM 6a (la souche parent de *T. reesei* ATCC 74252) et ses dérivés répondent aux critères prescrits pour les micro-organismes récepteurs exemptés de l'obligation d'une déclaration complète et des procédures de reddition de comptes en vertu de la TSCA pour ce qui est des nouveaux micro-organismes fabriqués mis sur le marché. Cette décision se justifie par le fait que (la souche QM 6a) [traduction] « ne présentera pas de risques déraisonnables de préjudices pour la santé ou l'environnement ». Les conditions de cette exemption relèvent des conditions industrielles normalisées de fermentation en immersion : aucune matière végétale solide ni substrat insoluble dans le bouillon de fermentation, et le matériel génétique ajouté doit être [traduction] « bien caractérisé, de taille limitée, faiblement mobilisable et exempt de certaines séquences » (U.S. EPA, 2012b).

3. Évaluation des risques

3.1 Caractérisation de *Trichoderma reesei*

3.1.1 Identification taxonomique et historique de la souche

Nom scientifique : *Trichoderma reesei*

Désignation taxonomique :

Règne : Champignon

Embranchement : Ascomycètes

Classe : Sordariomycètes

Ordre : Hypocreales

Famille : Hypocreaceae

Genre : *Trichoderma*

Espèce : *reesei*

Souche inscrite à la LI : ATCC 74252 (équivalente à ATCC 74444)

Synonymes, noms communs et noms périmés

T. longibrachiatum Rifai a été proposé comme synonyme de *T. reesei* par Simmons (synthèse dans Kuhls et al. 1997; Bissett, 1984). *T. reesei* M2C38 est l'autre nom de l'ATCC 74252 (Environnement Canada, 2013).

La souche parent de *T. reesei* ATCC 74252, *T. reesei* QM 6a (ATCC 13631) a été déposée comme étant *Trichoderma viride* (ATCC 2014). *Hypocrea jecorina* est le téléomorphe de *T. reesei* (synthèse dans Kubicek et al., 2003).

Historique de la souche

La souche ATCC 74252 de *T. reesei* est une souche brevetée, est issue de *T. reesei* RUT-C30 (ATCC 56765). Y compris la souche ATCC 74252 de *T. reesei* et *T. reesei* RUT-C30, presque toutes les souches de *T. reesei* produisant de la cellulase dans le cadre d'un procédé industriel proviennent de la souche type *T. reesei* QM 6a (ATCC 13631) (Environnement Canada, 2013; Nevalainen et al., 1994). La souche ATCC 74252 a été déposée à l'origine comme un organisme exclusif auprès de

l'American Type Culture Collection sous la désignation *T. longibrachiatum* Rifai, à la suite de son identification, par John Bissett, ministre de l'Agriculture, Ottawa, Ontario en 1994. En septembre 1997, la souche ATCC 74252 a été renommée *T. reesei*, car des données moléculaires substantielles indiquaient que *T. longibrachiatum* et *T. reesei* étaient des espèces distinctes. La souche ATCC 74252 a alors été déposée de nouveau auprès de l'American Type Culture Collection sous la désignation ATCC 74444 comme étant *T. reesei*, accompagnée d'un énoncé indiquant que les deux souches étaient les mêmes (EFSA, 2012). Aux fins du présent rapport d'évaluation préalable, la souche ATCC 74252 de *Trichoderma reesei* sera dorénavant désignée par le nom suivant, lequel comprend le numéro de la souche qui a été déposée auprès de l'ATCC à l'origine : la souche ATCC 74252 de *T. reesei*.

T. reesei QM 6a, la souche parent de la souche ATCC 74252 de *T. reesei*, a été à l'origine isolée à partir d'une toile de coton trouvée sur l'île de Bougainville, dans les îles Salomon, au cours de la Deuxième Guerre mondiale (ATCC, 2014; Kuhls et al., 1996; Reese, 1976).

3.1.1.1 Caractéristiques phénotypiques et moléculaires

Morphologie

Les renseignements fournis par le proposant indiquent que la souche ATCC 74252 de *T. reesei* forme des colonies très minces d'une couleur vert pâle après quatre jours de croissance sur une gélose nutritive. la souche ATCC 74252 de *T. reesei* présente la même morphologie, prolifération et sporulation sur gélose dextrosée à la pomme de terre (GDP) que *T. reesei* RUT-C30, ainsi que des hyphes à la structure identique.

Il existe un degré élevé de similarité morphologique entre *T. reesei* et les espèces de *Trichoderma* apparentées. *T. reesei* a été décrite la première fois comme étant une espèce distincte du clade des *longibrachiatum* de *Trichoderma* par examen morphologique (Simmons, 1977, cité dans Bissett, 1984). On peut différencier *T. reesei* de *T. longibrachiatum* et *T. pseudokoningii* par ses grandes conidies et sa croissance plus lente sur gélose nutritive spéciale (Samuels et al., 1994).

T. reesei fait maintenant partie du même clade phylogénétique que *T. parareesei* et *T. gracile* (Druzhinina et al., 2012, cité dans Samuels et al., 2012). La courbe de croissance de *T. reesei*, de *T. parareesei* et de *T. gracile* est la même entre 25 et 35 °C et à 35 °C sur gélose dextrosée à la pomme de terre. Toutefois, *T. reesei* produit moins de conidies sur ce type de gélose et sur gélose nutritive synthétique (GNS) (Samuels et al., 2012).

Utilisation du substrat

Il est possible de distinguer les espèces de *Trichoderma* selon leur utilisation du substrat. Le profil d'utilisation des nutriments de 96 sources de carbone peut servir à identifier les espèces de *Trichoderma* (Bochner et al., 2001; Kubicek et al., 2003). Par exemple, la gentiobiose et la salicine sont des sources de carbone utilisées par deux souches de *H. jecorina* (AF486007 et TUB F-1034), mais pas par les autres espèces de *Trichoderma* examinées (Kubicek et al., 2003). Par ailleurs, la croissance en présence de saccharose peut permettre de différencier les espèces de *Trichoderma* (Kubicek et al., 2003). À l'origine, d'après le comportement de la souche QM 6a, M. Simmons croyait que l'incapacité à utiliser le saccharose ou le nitrate était un facteur permettant de distinguer *T. reesei* (Simmons, 1977, cité dans Lieckfeldt et al., 2000). Cependant, à mesure que des souches de *T. reesei* capables de croître en présence de saccharose et de nitrate comme seules sources de carbone et d'azote ont été découvertes, on a constaté que cette incapacité à utiliser le saccharose et le nitrate est une caractéristique propre à la souche QM 6a (Lieckfeldt et al., 2000). L'utilisation de certains substrats par la souche QM 6a de *T. reesei* et *T. longibrachiatum* est présentée au tableau 1-1.

Tableau 1-1. Comparaison entre *T. reesei* et *T. longibrachiatum* pour ce qui est de l'utilisation du substrat

Caractéristique	<i>T. reesei</i> QM 6a	<i>T. longibrachiatum</i>	Références
Croissance en présence de saccharose	-	+	Danielson and Davey, 1973; Lieckfeldt et al., 2000
Utilisation du nitrate	-	+	Danielson and Davey, 1973; Lieckfeldt et al., 2000
Utilisation du nitrite	-	ND	Lieckfeldt et al., 2000
Croissance en présence de salicine	+	-	Atanasova, 2014; Kubicek et al., 2003
Croissance en présence de gentiobiose	+	-	Atanasova, 2014; Kubicek et al., 2003
Croissance en présence de tagatose	-	ND	Kubicek et al., 2003

(-) : Absence d'une croissance ou d'une utilisation détectable, (+) : Présence d'une croissance ou d'une utilisation détectable,
ND : Non déterminé

T. reesei RUT-C30 croît moins bien en présence d'oligosaccharides et de polysaccharides formant des réseaux comme la dextrine, l'amidon et le maltose. Les renseignements fournis par le proposant indiquent que la souche ATCC 74252 de *T. reesei* se comporte comme *T. reesei* QM 6a pour ce qui est de son incapacité à utiliser le saccharose, le nitrate et le nitrite, comme substrats de croissance.

Techniques moléculaires

T. reesei et *T. longibrachiatum* peuvent être différenciées à l'aide d'un éventail de techniques moléculaires : typage génétique (Meyer et al., 1992), hybridation de l'ADN du gène *cbh2* (Morawetz et al., 1992), comparaison de régions codantes et de régions flanquantes du gène de l'endoglucanase I (Gonzalez et al., 1992, cité dans Nevalainen et al., 1994) et analyse de la séquence des espaceurs internes transcrits 1 (ITS1) et 2 (ITS2) de l'ARN ribosomique (Kuhls et al., 1996, cité dans Kuhls et al., 1997). Les études moléculaires faisant appel à ces techniques et les profils morphométriques et des isoenzymes publiés par Samuels et al. (1994) ont permis de conclure que *T. reesei* et *T. longibrachiatum* doivent être considérées comme étant des espèces distinctes (Kuhls et al., 1996, cité dans Kuhls et al., 1997).

À l'aide de la technique du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) faisant appel à des sondes d'oligonucléotides, on a relevé une homologie d'environ 25 % entre *T. reesei* et *T. longibrachiatum* (Meyer et al., 1992). Toutefois, *T. reesei* et *T. longibrachiatum* présentent les différences suivantes dans les premiers introns du gène de leur endoglucanase I (*egl I*) : 123 paires de base (pb) pour *T. longibrachiatum* contre 70 pb pour *T. reesei*, et insertion de 50 pb dans la séquence consensus signalant un site d'épissage de *T. longibrachiatum* (séquence conservée à 80 % chez *T. reesei*) (Gonzalez et al., 1992). L'analyse des régions ITS1 et ITS2 a révélé une différence de séquence sur 6 pb (2,6 %) entre la région ITS1 de *T. reesei* et celle de *T. longibrachiatum* (à l'intérieur de la fourchette de variabilité des séquences interspèces de *T. longibrachiatum* pour les espèces anamorphes) (Kuhls et al., 1996, cité dans Kuhls et al., 1997).

Des données moléculaires prouvent aussi que *T. reesei* est la forme anamorphe du champignon *H. jecorina* (Kubicek et al., 2008; Kuhls et al., 1996). Les séquences des ITS de l'ARN ribosomique de *T. reesei* et de *H. jecorina* sont identiques. Par PCR et typage génétique, on a montré que la variation interspécifique entre les deux espèces est équivalente à la variation intraespèces de *H. jecorina*, ce qui laisse croire qu'il s'agit du même organisme, sous forme anamorphe ou téléomorphe, qui se distingue uniquement par le mode de reproduction et certaines caractéristiques phénotypiques mineures (Kuhls et al., 1996).

TrichoKEY2.0, un outil d'identification par technique moléculaire, est offert en ligne pour permettre d'identifier rapidement les espèces d'*Hypocrea* et de *Trichoderma* à l'aide d'une combinaison de plusieurs oligonucléotides des séquences de l'ITS1 et de l'ITS2 de l'ARN ribosomique ([International Subcommittee on Trichoderma and Hypocrea Taxonomy](#)). Le génome de *T. reesei* a été séquencé (Martinez et al., 2008, cité dans Samuels et al., 2012).

3.1.2 Propriétés biologiques et écologiques

Le nom *T. reesei* plutôt que *H. jecorina* a été accepté pour ce champignon, qui peut être sous forme anamorphe ou téléomorphe (Bissett et al., 2015). C'est pourquoi dans la présente évaluation préliminaire, on a utilisé les données des publications sur la forme tant anamorphe que téléomorphe, au besoin, pour caractériser la souche ATCC 74252 de *T. reesei*.

3.1.2.1 Cycle de vie

Le cycle de vie de *T. reesei* est typique de celui des Ascomycètes. *T. reesei* est la forme anamorphe, soit le stade de reproduction asexué, tandis que *H. jecorina* est la forme téléomorphe ou stade de reproduction sexué de l'espèce (Kuhls et al., 1996). La reproduction asexuée se caractérise par la production des spores végétatives que sont les conidies (Nevalainen et al., 1994). L'espèce produit des conidies entre 20 et 30 °C sur gélose nutritive synthétique et sur gélose dextrosée à la pomme de terre, mais sa reproduction est faible à une température supérieure à 35 °C (Samuels et al., 1998). La transcription des gènes de la cellulase et de l'hémicellulase de *T. reesei* est induite par la formation de conidies, ce qui augmente la vitesse de germination lorsqu'une source de carbone à base de cellulose ou d'hémicellulose est disponible (Metz et al., 2011).

T. reesei est une espèce hétérothallique, ainsi que la souche industrielle *T. reesei* QM 6a possédant le locus lié à la reproduction MAT1-2 (Seidl et al., 2009). Au cours d'expériences sur la reproduction menées avec des isolats de *T. reesei* QM 6a et de *H. jecorina* possédant le locus MAT1-1, des fructifications sexuées (stroma) dotées de périthèces enchâssés à la surface se sont formées à l'interface du mycélium de chacun des deux isolats – des spores sexuées (ascospores) ont aussi été observées à l'intérieur des périthèces (Seidl et al., 2009; Samuels et al., 1994).

3.1.2.2 Répartition naturelle

Les espèces de *Trichoderma* sont des « Ascomycètes à spores vertes se propageant dans le sol » généralement présentes sur la matière végétale en décomposition (Schuster et Schmoll, 2010). Les espèces du genre *Trichoderma* sont présentes dans le sol sous tous les climats. Les espèces typiques de ce genre sont des décomposeurs de la matière végétale et présentent une croissance rapide

typique ainsi que la capacité à utiliser un large éventail de substrats (Hoyos-Carvajal et al., 2009).

Il est rare d'isoler la forme anamorphe sans la forme téléomorphe, *H. jecorina* (Kubicek et al., 2003). *T. reesei* semble occuper une niche écologique étroite, compte tenu de son efficacité limitée à produire des conidies, de la capacité à métaboliser une faible diversité de sources de carbone des souches et de sa présence rare dans la nature (Druzhinina et al., 2010). La matière végétale ligneuse était présente dans tous les endroits où Samuels et al. ont prélevé des échantillons de *H. jecorina* (Samuels et al., 1998).

H. jecorina est généralement considérée comme un organisme pantropical et sa présence se limite à la zone définie par une latitude de 20° de part et d'autre de l'équateur (Samuels et al., 1998). Des souches de *H. jecorina* (ou les échantillons) ont été isolées d'échantillons prélevés dans les régions suivantes :

- Amérique centrale et Amérique du Sud équatoriale :
 - Serra Araca (Amazone, Brésil),
 - Île Combu (Belém, Para, Brésil),
 - Sierra de la Neblina (Amazone, Vénézuéla),
 - Municipalité de Marino (Sucre, Venezuela),
 - Parc international Amistad (Puntarenas, Costa Rica),
 - diverses régions de la Guinée française;
- Océanie :
 - Parc national de l'Est Dumoga-Bone (Sulawesi du Nord, Indonésie),
 - diverses régions de la province du Nord de Nouvelle-Calédonie,
 - Membakut du Bornéo du Nord britannique (Samuels et al., 1998).

Dans ces zones géographiques, *H. jecorina* a été abondamment isolé à partir de végétaux, notamment l'écorce et le bois sans écorce d'arbres dicotylédones, mais rarement sur les palmiers, ainsi que de cacaoyers atteints de la maladie du balai de sorcière au Brésil (Lieckfeldt et al., 2000; Samuels et al., 1998).

H. jecorina a aussi été isolé en milieu aquatique à partir des milieux suivants :

- argile de mer des côtes du Lianyungang, Jiangsu, Chine (Sun et al., 2006; méthodes d'identification non révélées),
- sol d'un lac réservoir en Guinée française (Lieckfeldt et al., 2000).

T. reesei ne persiste ni ne croît en Europe (Atanasova et al., 2010, cité dans Kredics et al., 2014). Jusqu'à maintenant, la région la plus au nord où on a prélevé un échantillon de la forme anamorphe de *T. reesei* dans était à Chitan, à Taïwan (Kubicek et al., 2003).

3.1.2.3 Conditions de croissance

T. reesei est un organisme aérobic obligatoir (Breakspear et Momany, 2007). L'ATCC (ATCC, 2014) recommande de mettre *T. reesei* en culture sur une gélose dextrosée à la pomme de terre, une gélose de Sabouraud modifiée (Emmons) ou une gélose ou un bouillon destinés à la culture des levures ou des moisissures. La température de croissance optimale de toutes les espèces de *Trichoderma* est entre 25 et 30 °C (synthèse dans Gams et Bissett, 1998). *T. reesei* peut proliférer dans une vaste gamme de pH (2,5 à 9) (Adav et al., 2011). Toutes les souches de *T. reesei* dérivées de la souche QM 6a peuvent croître dans un milieu inorganique enrichi uniquement d'une source de carbone organique. Aucune vitamine, aucun acide aminé ni autre facteur de croissance n'est nécessaire (Sternberg, 1976).

D'après les renseignements fournis par le proposant, la souche ATCC 74252 de *T. reesei* croît bien sur GDP à pH 5,5, à une température située entre 28 et 30 °C et sans lumière. *T. reesei* produit des spores qui forment un réseau de mycélium, qui, au bout de six à sept jours, produit des spores vertes.

3.1.2.4 Survie, persistance et dispersion dans l'environnement

On a étudié la survie de l'organisme pendant six mois en utilisant un dérivé de la souche QM 6a (QM 6a#4, marquée à l'aide d'un gène de résistance à l'hygromycine-B recombinant) qui a été incubé dans une chambre de croissance contenant un sol intact, tenant lieu de microcosme confiné dans un laboratoire (Providenti et al., 2004). Différents types de sol (loam sableux à loam argileux) et les effets de la rhizosphère ont été mis à l'essai, et après quatre mois, des carottes de sol ont été prélevées et soumises à une simulation d'hivernage pendant deux semaines à 4 °C, suivi de trois semaines à -20 °C et de deux semaines à 4 °C.

Des résultats des études en microcosme de sol ont donné les résultats suivants :

- Les populations de *T. reesei* dans tous les sols ont diminué au cours des quatre mois, mais la souche QM 6a#4 était toujours présente. L'ADN inactivé au préalable de la souche *T. reesei* QM 6a#4 n'a pas été détecté par PCR après trois jours d'incubation.
- La souche QM 6a#4 est demeurée viable après l'hivernage.
- Dans le sol de la rhizosphère, on a constaté trois fois plus de champignons de la souche QM 6a#4 après le dégel (probablement en raison de la libération des nutriments provenant des racines mortes), ce qui indique une prolifération de *T. reesei*.

Ces résultats laissent penser que *T. reesei* est rarement isolée dans les zones tempérées, mais il est possible que des populations introduites puissent survivre et hiverner au Canada (Providenti et al., 2004). *T. reesei* a aussi été décelée dans des échantillons d'air prélevés en Europe, endroit où on n'a jamais observé sa

croissance, ce qui indique une possible dispersion des spores sur une longue distance. Cependant, il se peut que les spores n'entrent pas en croissance végétative si les conditions sont sous-optimales (Atanasova et al., 2010, cité dans Kredics et al., 2014).

3.1.2.5 Résistance aux agents antifongiques

La plupart des espèces de *Trichoderma* sont sensibles aux agents antifongiques suivants : amphotéricine B, fluconazole, itraconazole, kétoconazole et miconazole (Kredics et al., 2003). D'après les publications sur les espèces de *Trichoderma* pathogènes, le traitement d'infections graves à *Trichoderma* peut, dans certains cas, nécessiter une combinaison de traitements, par exemple un traitement antifongique en association avec une chirurgie éliminant la source de l'infection et le traitement de toute maladie sous-jacente qui pourrait avoir prédisposé le patient à l'infection (Furukawa et al., 1998; Gautheret et al., 1995; Munoz et al., 1997; Richter et al., 1999).

Aucune publication ne fait état d'une sensibilité de *T. reesei* à des agents antifongiques; toutefois, on a signalé une sensibilité de *T. longibrachiatum* à certains d'entre eux. Comme ces deux espèces sont étroitement apparentées, les données sur la sensibilité de *T. longibrachiatum* aux agents antifongiques ont été ajoutées à des fins de référence au tableau A-1 de l'annexe A. Le proposant a montré que *T. reesei* ATCC 74252 est résistante au 5-flucytosine et à l'itraconazole, mais est sensible à la caspofungine et au voriconazole. Comme la souche ATCC 74252 de *T. reesei*, *T. longibrachiatum* est résistante à la 5-flucytosine et est sensible à la caspofungine et au voriconazole. Le profil de sensibilité de *T. longibrachiatum* à l'itraconazole est fonction de la souche.

3.1.2.6 Propriétés pathogènes et toxicogènes

On en connaît peu sur la virulence de *T. reesei* ou des espèces du genre *Trichoderma*. Certaines espèces comme *T. citrinoviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* et *T. longibrachiatum* sont connues pour être des agents étiologiques de quelques infections contractées par des patients ayant un système immunitaire affaibli (Kredics et al., 2003).

T. longibrachiatum, qui est étroitement apparentée à *T. reesei*, présente les facteurs de virulence potentiels suivants :

- La capacité à croître à des températures pouvant aller jusqu'à 40 °C et dans une vaste gamme de pH (2 à 9), ce qui le rend capable de survivre dans un hôte (Antal et al., 2005). Ce sont des traits également partagés par *T. reesei* et d'autres espèces du clade des *longibrachiatum* (Richter et al., 1999);

- La capacité à métaboliser des acides aminés basiques (L-asparagine, acide aspartique, glutamine, acide glutamique, ornithine) en tant que sources de carbone et d'azote (Antal et al., 2005);
- Une cytotoxicité, comme l'indique des composés produits par des isolats cliniques de *T. longibrachiatum* UAMH 9515, ATCC 208859 et CM-382 dosés à l'aide de l'épreuve sur l'immobilisation des spermatozoïdes de porc (Antal et al., 2005).

3.1.2.7 Enzymes produites

Les cellulases produites par les espèces de *Trichoderma* sont utilisées depuis longtemps dans la production d'aliments (Sukumaran et al., 2005). Bon nombre d'enzymes fabriquées par *T. reesei* sont « généralement reconnues comme étant sans danger » (GRAS) par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis pour être utilisées comme ingrédients dans les aliments (U.S. FDA, 2014a; U.S. FDA, 2014b; U.S. FDA, 2014c; U.S. FDA, 2014d; U.S. FDA, 2014e; U.S. FDA, 2014f; U.S. FDA, 2014g). *T. reesei* produit trois types d'enzymes qui dégradent ensemble la cellulose pour la transformer en glucose : β -glucosidases, $\text{exo-}\beta$ -1,4 glucanases et $\text{endo-}\beta$ -1,4-glucanases (Bissett, 1979).

T. reesei produit aussi des xylanases, qui dégradent uniquement les xylanes (hémicelluloses ayant des unités xylopyranose liées par des liaisons β -1,4 et qui sont communes à toutes les plantes annuelles) (Tenkanen et al., 1992). Cependant, son génome ne comporte pas de gènes codant les lignases essentielles pour amorcer la digestion des végétaux (Maheshwari, 2008). Ce déficit peut limiter sa capacité à agir comme phytopathogène. *T. reesei* produit aussi des enzymes lignocellulolytiques, mais la lignine agit comme une barrière empêchant l'action des enzymes lignocellulolytiques chez les plantes (Dashtban et al., 2009). L'endochitinase fabriquée par *T. reesei* lyse les hyphes du champignon phytopathogène *Ganoderma philipii* (Harjono et Widyastuti, 2001).

Les protéases apparentées à la chymoélastase, à la trypsine et à la chymotrypsine sont des facteurs de virulence présumés de *T. longibrachiatum* (Kredics et al., 2004). Les protéases décelées chez *T. reesei* sont les suivantes :

- Protéase à sérine apparentée à la trypsine (Dienes et al., 2007).
- Endopeptidase dibasique (Goller et al., 1998).
- Protéases extracellulaires insensibles à la pepstatine et protéases à aspartate sensible au N-chlorosuccinimide de *T. reesei* QM 9414 (Haab et al., 1990).
- Protéase à aspartate extracellulaire sensible à la pepstatine de *T. reesei* D38 (Eneyskaya et al., 1999).

3.1.2.8 Métabolites secondaires et mycotoxines :

T. reesei, à l'instar d'autres espèces de *Trichoderma*, produit des métabolites appelés peptaïbols, que l'on désigne aussi par le terme peptaïbiotiques (Bruckner et Graf, 1983). Les peptaïbols forment une famille de polypeptides amphipathiques produits par des champignons du sol, qui contiennent l'acide aminé α -aminoisobutyrique et un acide aminé ayant une extrémité C-terminale hydroxylée (Chugh et Wallace, 2001). *T. reesei* QM 6a, la souche parent de la souche ATCC 74252, et une souche dérivée, soit la souche QM 9414, produisent le peptaïbol appelé paracelsine (Solfrizzo et al., 1994). Ces deux souches produisent également d'autres types de peptaïbols (Degenkolb et al., 2012; Neuhof et al., 2007).

Les conditions de croissance dans lesquelles *T. reesei* produit des peptaïbols ou des peptaïbiotiques ne sont pas bien connues. La formation de conidies et les facteurs favorisant cette formation ont été associés à la production de peptaïbols chez de nombreuses espèces de *Trichoderma*. Parmi ces facteurs, citons la croissance en présence de lumière, la croissance en présence de matières insolubles, la croissance sur substrat solide, l'absence de nutriments, les lésions d'origine mécanique et la mise en culture sur de longues périodes (Degenkolb et al., 2012; Komon-Zelazowska et al., 2007; Röhrich et al., 2014; Solfrizzo et al., 1994). Les espèces de *Trichoderma* produisent des peptaïbols lorsqu'elles sont mises en culture à la surface d'un substrat solide (Berg et al., 2003; Landreau et al., 2002; Rebuffat et al., 1991; Wiest et al., 2002). La production de peptaïbols est possible en immersion, mais dans des conditions particulières qui comprennent généralement le recours à un milieu complexe. Le fait de modifier le milieu de fermentation ou les conditions de fermentation (comme le pH, la température, la durée, la quantité d'oxygène et la présence ou l'absence de matières insolubles) pourrait avoir une incidence sur la production de peptaïbiotiques (Brewer et al., 1987).

Les conditions de fermentation en immersion normalisées par l'industrie en absence de matières végétales solides ou d'un substrat insoluble dans le bouillon de fermentation ne sont pas associées à la production de paracelsine (synthèse dans U.S. EPA, 2012b). Dans l'industrie, les fermentations normalisées ont généralement lieu dans un milieu simple en l'absence de lumière, des conditions qui ne sont pas censées induire la production de paracelsine et d'autres peptaïbols. On n'a recensé aucune donnée dans les publications scientifiques sur la stabilité de la paracelsine et d'autres peptaïbols dans l'environnement.

Les peptaïbols peuvent s'associer aux canaux ioniques dans les membranes plasmiques, avoir une activité antibiotique (Chugh et Wallace, 2001) et contribuer au mycoparasitisme des espèces de *Trichoderma* (Röhrich et al., 2014). Il a été établi que les peptaïbols de *T. longibrachiatum* perturbent l'embryogenèse des huîtres à des concentrations nanomolaires (Poirier et al., 2007b). La paracelsine de *T. reesei* QM 9414 a une activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus lactis* et

Streptococcus thermophiles (Bruckner et Graf, 1983) et inhibe Phoma destructiva (Grigoriev et al., 2003). Les effets toxiques de la paracelsine sont résumés au tableau 1-2. Comme l'un des essais de toxicité a été réalisé avec un extrait de culture et non la paracelsine seule, les auteurs ont conclu que la paracelsine pourrait avoir une certaine toxicité, mais les effets des autres constituants de l'extrait ne peuvent pas être exclus.

Tableau 1-2. Effets toxiques de la paracelsine

Organisme	Effet toxique	Référence
Érythrocyte ^a humain	CL ₅₀ = 37 µM (équivalent à 71,08 µg/mL)	Bruckner et al., 1984
Souris	Dose létale 5 mg/kg (injection intrapéritonéale)	Bruckner et al., 1984
Souris ^b	Dose toxique 20 mg/kg ^c	Grigoriev et al., 2003
Cellules PC12 (lignée cellulaire provenant d'un phéochromocytome de la médulla surrénale d'un rat)	CL ₅₀ = 21,8 µM (équivalent à 34,88 µg/mL)	Raya et al., 1993
Artemia salina (crevette des salines), larve, 36 heures d'exposition ^d	DL ₅₀ = 2,2 µM (équivalent à 4 µg/mL)	Solfrizzo et al., 1994
Artemia salina (crevette des salines), 24 heures d'exposition ^e	CL ₅₀ = 21,26 µM (équivalent à 40,84 µg/mL)	Favilla et al., 2006
Artemia salina (crevette des salines), 36 heures d'exposition ^e	CL ₅₀ = 9,66 µM (équivalent à 18,56 µg/mL)	Favilla et al., 2006
Daphnia magna (puce d'eau), 24 heures d'exposition ^e	CL ₅₀ = 7,70 µM (équivalent à 14,79 µg/mL)	Favilla et al., 2006
Daphnia magna (puce d'eau), 36 heures d'exposition ^e	CL ₅₀ = 5,60 µM (équivalent à 10,76 µg/mL)	Favilla et al., 2006

^a Induction d'une hémolyse à la CL₅₀, ce qui indique une toxicité pour les cellules de mammifères

^b Exposition à la paracelsine A, un analogue de la paracelsine

^c Induction d'une hypothermie accompagnée d'une diminution spontanée de l'activité motrice après une seule administration intrapéritonéale

^d Exposition à un extrait de culture de *T. reesei*

^e Exposition à un mélange commercial d'homologues de la paracelsine (pureté de 88,4 %)

3.1.3 Effets

3.1.3.1 Environnement

Malgré une utilisation de longue date des souches de *T. reesei* en production industrielle à grande échelle, aucune infection naturelle ni aucun effet toxique n'ont été signalés chez les végétaux, les vertébrés ou les invertébrés dans l'environnement. Certains effets nocifs ont été signalés dans un cadre expérimental, comme il est indiqué plus loin.

Microbiote

Les espèces de *Trichoderma* sont des mycoparasites efficaces, des antagonistes et des agents servant à la lutte biologique. L'antibiose, la lyse, la compétition, le mycoparasitisme, l'induction de la croissance végétale (Baker, 1988; Chet, 1987; Henis, 1984; Lynch, 1990; Papavizas, 1985) ainsi que la sécrétion de métabolites figurent parmi les mécanismes proposés de lutte biologique et d'inhibition des agents phytopathogènes du sol. Les métabolites sécrétés par les espèces de *Trichoderma* agissent comme fongicides biologiques et peuvent tuer les champignons pathogènes (Navazio et al., 2007; Spiegel et Chet, 1998; Vinale et al., 2006; Vinale et al., 2009). Plus précisément, les peptaïbols ont une activité antibiotique et contribuent au mycoparasitisme des espèces de *Trichoderma* (Chugh et Wallace, 2001; Röhrich et al., 2014). La paracelsine a un effet inhibiteur (Grigoriev et al., 2003) et antibactérien (Bruckner et Graf, 1983) contre certaines espèces de micro-organismes.

Les cellulases produites par *T. reesei* inhibent fortement les infections causées par le virus de la marbrure bénigne du piment chez les plantes (Oka et al., 2008). *T. reesei* s'est avérée avoir un effet antagoniste efficace contre les phytopathogènes *Rhizoctonia solani* (Grosch et al., 2006) et *Bipolaris oryzae*, qui causent l'helminthosporiose du riz (Harish et al., 2008). *T. reesei* est capable de parasiter *Pythium ultimum*, un phytopathogène agressif du sol (do Nascimento Silva et al., 2009; Harish et al., 2008).

Plantes aquatiques

Dans les publications scientifiques, aucun effet nocif de *T. reesei* n'a été signalé chez les plantes aquatiques.

Plantes terrestres

Les espèces de *Trichoderma* augmentent la résistance systémique des plantes (Shoresh et al., 2010; Yedidia et al., 1999) et peuvent aussi avoir des effets bénéfiques sur la croissance végétale en favorisant la croissance des racines et en protégeant la plante contre les substances chimiques toxiques (Harman, 2000).

Il est peu probable que *T. reesei* soit un agent pathogène des plantes vivantes, car son génome ne contient pas les gènes nécessaires pour la production de lignases (essentielle pour une première digestion des végétaux) (Maheshwari, 2008).

Des scientifiques d'Environnement Canada ont mené des études de pathogénicité et de toxicité avec le trèfle des prés (*Trifolium pratense*) exposé à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* dans un sol naturel (prélevé sur le terrain) ou artificiel à la concentration de $1,2 \times 10^6$ unités formatrices de colonies (UFC) de *T. reesei* par gramme de sol. Le trèfle a été cultivé à partir de semences pendant 14 jours. Aucun

effet important de *T. reesei* n'a été observé sur la longueur ou la masse des pousses ou la longueur des racines. Toutefois, les plantes présentaient une masse considérablement plus élevée des racines par rapport aux plantes témoins, ce qui indique un effet bénéfique possible de *T. reesei* envers les racines de cette plante³. On ignore si la paracelsine et d'autres peptaïbols sont produits dans les conditions utilisées au cours de ces expériences.

Vertébrés aquatiques

Aucun effet nocif de *T. reesei* chez les vertébrés aquatiques n'a été recensé dans les publications scientifiques.

Vertébrés terrestres

À la suite de recherches poussées dans les publications scientifiques, on n'a relevé aucun cas d'infection par *T. reesei* chez les vertébrés terrestres dans les conditions naturelles. Dans les conditions expérimentales, *T. reesei* peut avoir des effets nocifs chez les animaux ayant un système immunitaire affaibli, notamment les souris, les cochons d'Inde et les lapins. Cependant, le décès de certains animaux d'expérience n'a été observé qu'après l'administration intraveineuse de doses massives de provocation ($1,0 \times 10^5$ spores viables et $1,0 \times 10^7$ spores viables ou tuées) (Hjortkjaer et al., 1986). D'autres données sur les études de pathogénicité chez les animaux réalisées avec *T. reesei* sont fournies à la section 1.1.3.2 sur la santé humaine.

La paracelsine produite par *T. reesei* est mortelle pour les souris à la dose de 5 mg/kg administrée par injection intrapéritonéale (ip), et la paracelsine A (un analogue de la paracelsine) est toxique pour ces animaux à la dose de 20 mg/kg administrée par injection ip (Bruckner et al., 1984; Grigoriev et al., 2003) (tableau 1-2). On a aussi observé que la paracelsine est toxique pour les cellules de mammifères, à la CL_{50} de 71,08 µg/mL et 34,88 µg/mL pour les érythrocytes humains et les cellules PC12, respectivement (Bruckner et al., 1984; Raya et al., 1993) (tableau 1-2). Toutefois, l'injection ip n'est pas un mode d'exposition qui s'applique dans l'environnement comparativement à l'ingestion par voie orale, qui est l'exposition la plus probable chez les vertébrés terrestres. Ce mode d'exposition est particulièrement important, car les peptaïbols sont extrêmement résistants au clivage protéolytique et ne peuvent pas traverser la paroi intestinale pour atteindre la circulation sanguine (Degenkolb et al., 2008). Ce mode d'exposition ne peut

³ Données non publiées produites par la division de l'écotoxicologie et de la santé de la faune d'Environnement et Changement climatique Canada.

permettre de prédire les effets de la paracelsine à la suite d'une ingestion par des vertébrés terrestres.

Invertébrés aquatiques

Les peptaïbols et les espèces de *Trichoderma* productrices de peptaïbols isolés dans une région où on pratique la conchyliculture en France étaient fortement toxiques pour les larves de moules (Poirier et al., 2007a), dans le premier compte rendu d'un isolement de peptaïbols provenant d'espèces de *Trichoderma* présentes dans la nature.

La paracelsine produite par *T. reesei* pourrait être toxique pour la crevette des salines (*Artemia salina*) et la puce d'eau (*Daphnia magna*), comme il a été déterminé lors d'essais de toxicité. Chez *A. salina*, la CL_{50} de la paracelsine est de 4 µg/mL pour la larve et la CL_{50} d'un mélange commercial d'homologues de la paracelsine est de 40,84 µg/mL et de 18,56 µg/mL pour une exposition de 24 heures et de 36 heures, respectivement, pour l'adulte (Favilla et al., 2006; Solfrizzo et al., 1994) (tableau 1-2). Chez *D. magna*, la CL_{50} d'un mélange commercial d'homologues de la paracelsine est de 14,79 µg/mL pour une exposition de 24 heures et de 10,76 µg/mL pour une exposition de 36 heures (Favilla et al., 2006) (tableau 1-2).

Invertébrés terrestres

Chez les invertébrés terrestres, aucun effet nocif de *T. reesei* n'a été signalé dans les publications scientifiques.

Des scientifiques d'Environnement Canada ont mené des études de pathogénicité et de toxicité avec le collembole (*Folsomia candida*) et le lombric (*Eisenia andrei*) exposés à la souche ATCC 74252 de *T. reesei*. Les essais sur *F. candida* ont été réalisés sur une période de 28 jours dans un sol naturel ($1,1 \times 10^6$ UFC de *T. reesei* par gramme de sol) et un sol artificiel ($1,4 \times 10^6$ UFC de *T. reesei* par gramme de sol). L'ajout de *T. reesei* ATCC 74252 n'a eu aucun effet considérable sur la survie de *Folsomia candida* adulte ou sur la reproduction de l'espèce. Les essais sur *Eisenia andrei* ont été effectués sur une période de 56 jours dans un sol artificiel à la concentration de $1,2 \times 10^6$ cellules de *T. reesei* par gramme de sol. L'ajout de la souche ATCC 74252 de *T. reesei* n'a eu aucun effet important ni sur la reproduction d'*Eisenia andrei* ni sur la masse individuelle des juvéniles produits⁴. On ignore si la

⁴ Données non publiées produites par la division de l'écotoxicologie et de la santé de la faune d'Environnement et Changement climatique Canada.

paracelsine et d'autres peptaïbols ont été produits dans les conditions utilisées au cours de ces expériences.

3.1.3.2 Santé humaine

Des recherches approfondies dans la littérature scientifique ont révélé que *T. reesei* n'est pas un agent anthropopathogène connu. Malgré son utilisation de longue date, *T. reesei* n'a jamais été l'objet d'une déclaration de cas (Degenkolb et al., 2015).

Certaines espèces du genre *Trichoderma*, soit *T. citrinoviride*, *T. pseudokoningii*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. viride* et *T. longibrachiatum* se sont révélées être des agents étiologiques dans quelques rapports de cas portant sur une infection chez des patients immunodéprimés (Kredics et al., 2003, cité dans Schuster et Schmoll, 2010). Parmi toutes les espèces de *Trichoderma*, *T. longibrachiatum* et *H. orientalis* sont les isolats les plus fréquents en milieu clinique (Schuster et Schmoll, 2010). On a aussi signalé que *T. viride* cause des problèmes respiratoires chez l'humain en raison de la production de composés organiques volatils (Larsen et al., 1998). Les cas d'infection à *T. longibrachiatum* déclarés entre 1980 et 2013 sont résumés à l'annexe B. Un sommaire des infections par *Trichoderma* chez l'humain est présenté à l'annexe C. La plupart des infections à *Trichoderma* déclarées ont été contractées par des personnes présentant des facteurs de risque sous-jacents, comme une neutropénie grave prolongée, l'administration d'agents antimicrobiens à large spectre, un traitement aux stéroïdes, une lésion des muqueuses et la transplantation d'organe (Alanio et al., 2008; Furukawa et al., 1998; Katta et al., 2005; Kredics et al., 2003; Kuhls et al., 1999; Richter et al., 1999). On peut traiter avec succès les infections à *Trichoderma* au moyen d'agents antifongiques classiques (Espinell-Ingroff et al., 2008; Kratzer et al., 2006). Genencor a mené une étude de pathogénicité pour le compte de la FDA aux États-Unis avec la souche A83 de *T. reesei*, laquelle a été administrée à des rats. Une dose ip de $2,2 \times 10^7$ UFC a été injectée à des rats Sprague Dawley. Aucun décès n'est survenu, et on n'a noté aucun signe d'effets nocifs dans les cages et à la nécropsie (Genencor, 2007). Toutefois, dans les rapports d'expériences de provocation, *T. reesei* a agi comme un agent pathogène (Hjortkjaer et al., 1986; Nevalainen et al., 1994).

Des études de pathogénicité ont été effectuées par Hjortkjaer et al. (1986) sur des souris, des cobayes et des lapins immunodéprimés recevant de la cortisone, et auxquels on a inoculé par voie intraveineuse (IV) ou intrapéritonéale (IP) $1,0 \times 10^5$ ou $1,0 \times 10^7$ spores de *T. reesei* (viables ou inactivées). Les décès chez la souris sont survenus à la dose IV de $1,0 \times 10^7$ spores viables ou inactivées. Chez les lapins, on a constaté des décès à la dose de $1,0 \times 10^5$ ou $1,0 \times 10^7$ spores viables administrées par voie IV. Cependant, deux de ces décès ont été attribués à une maladie spontanée non liée à la provocation. Aucun effet n'a été relevé dans les groupes ayant reçu 10^5 spores viables par voie IP. À la suite de la provocation avec *T. reesei*, on a noté des lésions chez les trois espèces étudiées :

- Chez la souris, tous les groupes soumis à la provocation ont développé des lésions dans le foie, les reins et les poumons, et des abcès abdominaux ont été observés chez tous les groupes ayant reçu une administration IP.
- Chez le lapin, on a noté une bronchopneumonie chronique et des lésions rénales chroniques dans les groupes ayant reçu des spores viables par voie IV, et des abcès péritonéaux chez tous les animaux ayant reçu $1,0 \times 10^7$ spores viables par voie IP et chez certains animaux ayant reçu $1,0 \times 10^7$ spores inactivées par voie IP.
- Chez le cobaye, tous les groupes soumis à la provocation ont développé une pneumonie interstitielle, et quatre animaux ayant reçu par voie IV $1,0 \times 10^5$ ou $1,0 \times 10^7$ spores viables ont développé des nécroses au foie.

Pour toutes les espèces, on a réussi à isoler *T. reesei* dans divers organes jusqu'à 40 jours après l'administration de $1,0 \times 10^5$ ou $1,0 \times 10^7$ spores viables par voie IV ou $1,0 \times 10^7$ spores viables par voie IP. Il est à noter que toutes les souris ayant reçu une dose de spores vivants par voie IV présentaient une prolifération fongique dans les cinq organes dans lesquels on a prélevé des échantillons. L'examen microscopique a révélé des hyphes de *T. reesei* chez un lapin, des spores chez deux souris et des hyphes munies de spores chez une troisième souris, tous ces animaux ayant reçu $1,0 \times 10^7$ spores viables par voie IV. Par conséquent, *T. reesei* peut causer des effets nocifs et une infection chez les animaux immunodéprimés, mais ces effets n'apparaissent que lorsque de grandes quantités d'inoculum sont administrées (Hjortkjaer et al., 1986).

La toxicité et l'immunogénicité des enzymes et des métabolites produits par *T. reesei* peuvent avoir des conséquences sur la santé humaine. La paracelsine produite par *T. reesei* est mortelle pour la souris à la dose de 5 mg/kg administrée par injection ip, et la paracelsine A (un analogue de la paracelsine) est toxique pour la souris à la dose de 20 mg/kg administrée aussi par injection ip (Bruckner et al., 1984; Grigoriev et al., 2003) (tableau 1-2). Dans le cas des cellules de mammifères, on a aussi observé une toxicité de la paracelsine à la CL_{50} de 71,08 $\mu\text{g/mL}$ et de 34,88 $\mu\text{g/mL}$ pour des érythrocytes humains et les cellules PC12, respectivement (Bruckner et al., 1984; Raya et al., 1993) (tableau 1-2). Toutefois, l'injection ip n'est pas un mode d'exposition pertinent alors que l'ingestion par voie orale est la voie d'exposition la plus probable chez les vertébrés. Cette donnée est particulièrement importante compte tenu du fait que les peptaïbols sont extrêmement résistants au clivage protéolytique et ne peuvent traverser la paroi intestinale pour atteindre la circulation sanguine (Degenkolb et al., 2008). Cette voie d'exposition ne peut permettre de prédire l'effet de la paracelsine après ingestion chez les vertébrés terrestres.

La DL_{50} d'une exposition à court terme par voie orale à une préparation de cellulase de *T. reesei* (Celluclast^{MD}) est supérieure à la dose de 16, 8 et 5 g/kg de poids corporel chez la souris, le rat et le chien, respectivement, et elle est considérée comme ayant une toxicité faible selon le Système général harmonisé de

classification et d'étiquetage des produits chimiques de l'EPA (Santé Canada, 2014; Hjortkjaer et al., 1986). Hjortkjaer et al. (1986) ont examiné le risque d'irritation cutanée associée aux cellulases provenant d'une souche de *T. reesei*. Une étude sur l'irritation cutanée d'une durée d'une journée a été menée sur dix adultes en bonne santé exposés à diverses concentrations de cellulase. La dose irritante médiane (DI₅₀) s'est avérée être d'environ 0,75 % (p/v), soit la concentration la plus élevée mise à l'essai. À cette dose, cinq volontaires sur dix ont présenté une réaction (Hjortkjaer et al., 1986). La β -glucanase de *T. reesei* était uniquement associée à un risque de sensibilisation cutanée, et on n'a relevé aucun signe de toxicité orale ou par inhalation, de mutagénicité ni d'irritation oculaire ou cutanée (Coenen et al., 1995).

À l'instar d'autres enzymes produites par des micro-organismes utilisés en industrie, les cellulases sont des allergènes potentiels. Parmi les allergies associées à *Trichoderma*, citons des cas de dermatite, de rhinite et d'asthme résultant d'une exposition professionnelle à une espèce de *Trichoderma* ou à une préparation commerciale d'enzymes (Halprin et al., 1973; Hytonen et al., 1994; Ransom et Schuster, 1981; Tarvainen et al., 1991), et de détresse respiratoire retardée chez des employés affectés à l'entretien d'une usine de fabrication de pâtes et papier à partir de copeaux de bois (Cohn et al., 1984). En ce qui concerne la plupart des autres cas, les patients avaient eu des réactions allergiques antérieures à des allergènes de l'environnement ou présentaient une sensibilité à d'autres enzymes en raison de leur travail.

Dans le cadre d'un essai de sensibilisation cutanée réalisé chez 25 volontaires adultes sur une période de dix jours, chaque personne a reçu un timbre sur l'avant-bras contenant 0,3 g de cellulase appliquée sous un pansement occlusif durant 48 heures. Après une période de dix jours, un timbre a été appliqué pendant 48 heures dans le cadre d'une épreuve de provocation. L'observation immédiatement après le retrait du timbre ou 24 heures plus tard n'a révélé aucune sensibilisation cutanée de contact (Hjortkjaer et al., 1986).

3.2 Gravité des risques

Depuis les années 1960, les espèces de *Trichoderma* ont servi à produire, à des fins commerciales, des carbohydrases utilisés dans l'industrie alimentaire et forestière, et pour fabriquer des aliments pour les animaux et des produits de santé. Compte tenu de cette utilisation sans danger en milieu industriel, de nombreux auteurs de publications scientifiques considèrent actuellement *T. reesei* comme étant un organisme sûr pouvant être utilisé pour la production (Miettinen-Oinonen et Suominen, 2002; Nevalainen et al., 1994; Sukumaran et al., 2005).

3.2.1 Environnement

Les risques associés à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* pour l'environnement ont été établis comme étant faibles ou moyens sur la base des motifs suivants :

1. *T. reesei* agit comme un fongicide biologique inhibant les agents phytopathogènes d'origine fongique par divers mécanismes, dont l'antibiose, la lyse, la compétition ou l'antagonisme, le mycoparasitisme, la sécrétion de métabolites, et chez les végétaux, une augmentation de la résistance systémique et la stimulation de la croissance. La paracelsine produite par *T. reesei* QM 9414 a une activité antibactérienne et antifongique.
2. Selon certaines sources, *T. reesei* ne serait pas un agent pathogène des végétaux aquatiques et terrestres, et il se peut qu'il ne possède pas les enzymes nécessaires à la pathogénicité. Cet organisme peut toutefois avoir des effets bénéfiques sur la croissance végétale et la résistance systémique à l'infection et à des produits chimiques toxiques. Les épreuves de pathogénicité et de toxicité menées avec la souche ATCC 74252 de *T. reesei* n'ont pas montré d'effets délétères envers *Trifolium pratense* et ont révélé un effet bénéfique potentiel de la souche sur les racines de *Trifolium pratense*.
3. Les publications scientifiques ne font pas état d'effets nocifs chez les vertébrés aquatiques.
4. Des recherches approfondies dans les publications scientifiques n'ont révélé aucun cas d'effets nocifs ou d'infections à *T. reesei* chez les vertébrés terrestres dans des conditions naturelles. Dans les conditions expérimentales, *T. reesei* peut causer des effets nocifs chez des animaux immunodéprimés, dont la souris, le cobaye et le lapin, mais, les décès n'ont été observés qu'après l'administration ip d'une dose massive dans le cadre d'une épreuve de provocation ($1,0 \times 10^5$ spores viables et $1,0 \times 10^7$ spores viables ou inactivées). La paracelsine produite par *T. reesei* est toxique pour les cellules de mammifères et les souris.
5. On n'a jamais observé d'effets nocifs de *T. reesei* chez les invertébrés aquatiques. Cependant, la paracelsine produite par *T. reesei* est toxique pour *A. salina*, sous forme de larve ou adulte, et pour *D. magna*, sous forme adulte. Les peptaïbols, comme la paracelsine, sont aussi très toxiques pour les larves de moules. On ignore si la souche ATCC 74252 de *T. reesei* produit des peptaïbols comme la paracelsine, mais il est raisonnable de présumer qu'elle le peut, car il s'agit d'une caractéristique de la souche QM 6a, de laquelle elle est dérivée.
6. En dépit de sa présence naturelle dans les sols des pays tropicaux, des recherches approfondies dans les publications scientifiques n'ont révélé aucun cas d'effets nocifs ou d'infections à *T. reesei* chez des invertébrés terrestres. Les épreuves de pathogénicité et de toxicité réalisées avec la souche ATCC 74252 de *T. reesei* n'ont montré aucun effet nocif envers *F. candida* et *E. andrei*, adulte ou juvénile.

3.2.2 Santé humaine

Les risques associés à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* pour l'humain sont considérés faibles, compte tenu des motifs suivants :

1. Il n'existe aucun cas d'infection attribuable à *T. reesei* chez l'humain dans les publications scientifiques.
2. Les espèces étroitement apparentées comme *T. longibrachiatum* ont causé des infections, mais seulement chez des personnes gravement immunodéprimées.
3. Dans les conditions expérimentales, *T. reesei* peut causer des effets nocifs chez des animaux immunodéprimés, dont la souris, le cobaye et le lapin. Cependant, les décès n'ont été observés qu'après l'administration iv de doses massives dans le cadre d'une épreuve de provocation ($1,0 \times 10^5$ spores viables et $1,0 \times 10^7$ spores viables ou inactivées).
4. Dans l'éventualité peu probable d'une infection à la souche ATCC 74252 de *T. reesei*, cet organisme est sensible aux traitements antifongiques dont l'efficacité contre d'autres espèces de *Trichoderma* a été éprouvée.
5. On n'a pas observé d'effets nocifs de *T. reesei* chez l'humain, mais la paracelsine produite par *T. reesei* est toxique pour les cellules de mammifères et les souris dans les conditions expérimentales où les barrières naturelles ont été contournées. On ignore si la souche ATCC 74252 de *T. reesei* produit de la paracelsine, mais il est raisonnable de présumer qu'elle le peut, car il s'agit d'un trait de la souche QM 6a, de laquelle elle est dérivée.
6. *T. reesei* a été utilisée depuis longtemps dans la production d'enzymes sans qu'il y ait des cas d'infection. Toutefois, l'exposition professionnelle répétée à des préparations commerciales d'enzymes (p. ex. cellulases) produites par *T. reesei* ont entraîné des cas d'allergies liées à *Trichoderma* comme des dermatites, des rhinites et l'asthme.

Les risques liés aux micro-organismes utilisés en milieu de travail doivent être catégorisés selon le Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT)⁵.

⁵ La détermination de la conformité à l'un ou plusieurs des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE est basée sur une évaluation des risques potentiels pour l'environnement ou la santé humaine associés à l'exposition dans l'environnement en général. Pour les humains, cela inclut, sans toutefois s'y limiter, les expositions par l'air, l'eau et l'utilisation de produits contenant les substances. Une conclusion établie en vertu de la LCPE peut ne pas s'appliquer à l'évaluation basée sur des critères de risque définis dans le Règlement sur les produits contrôlés, évaluation qui fait partie d'un cadre réglementaire du Système d'information sur les matières dangereuses

4. Évaluation de l'exposition

4.1 Sources d'exposition

La présente évaluation examine l'exposition à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* résultant de son ajout à des produits de consommation ou commerciaux et de son utilisation dans des procédés industriels au Canada.

Les réponses à un questionnaire facultatif envoyé en 2007 à un sous-ensemble d'entreprises de biotechnologie ainsi que les renseignements obtenus d'autres programmes fédéraux réglementaires et non réglementaires indiquent que la souche ATCC 74252 de *T. reesei* a été utilisée à des fins commerciales en 2006. Une masse de 1 000 à 10 000 kg de cellules sèches de la souche ATCC 74252 de *T. reesei* a été produite en 2006 à des fins industrielles.

Le gouvernement a procédé à une collecte obligatoire de renseignements en application de l'article 71 de la LCPE, dont l'avis a été publié dans la Partie I de la Gazette du Canada le 3 octobre 2009 (Avis en vertu de l'article 71). L'Avis en vertu de l'article 71 s'appliquait à toute personne qui, au cours de l'année civile 2008, avait fabriqué ou importé la souche ATCC 74252 de *T. reesei*, que ce soit seule, dans un mélange ou dans un produit. En 2008, une masse de 10 000 à 100 000 kg de cellules sèches de la souche ATCC 74252 de *T. reesei* a été produite à des fins industrielles.

Une recherche dans le domaine public (fiches signalétiques, publications scientifiques et brevets) a permis de relever les applications commerciales, industrielles et de consommation suivantes pour d'autres souches de *T. reesei*. Ces applications représentent des utilisations potentielles de la souche ATCC 74252 de *T. reesei*, car cette souche partage probablement des caractéristiques (modes d'action) avec d'autres souches commercialisées de *T. reesei* :

Utilisation en tant qu'organisme de production dans les contextes suivants :

- enzymes utilisées dans la dégradation de la biomasse cellulosique (Merino et al., 2008; Peciulyte et al., 2014; Schuster et Schmoll, 2010);
- enzymes utilisées pour produire des additifs alimentaires ou des additifs pour la nourriture destinée aux animaux d'élevage (Galante et al., 1998; Nevalainen et al., 1994; Schuster et Schmoll, 2010; Rhode Jr. et al., 1998);

au travail (SIMDUT) pour les produits destinés à être utilisés au travail ni empêcher qu'une telle évaluation ait lieu.

- enzymes comme les α -glucanases utilisées dans le cadre de soins buccaux (Kim et al., 2009);
- enzymes utilisées à l'étape de l'empâtage et de la filtration lors du brassage de boissons alcoolisées (Elvig et Festersen, 2005);
- enzymes utilisées pour attendrir la viande (Robbins et al., 1986);
- enzymes utilisées pour traiter le tissu en coton (Clarkson et al., 1992);
- protéines utilisées dans l'industrie du textile, du détergent et des pâtes et papier (Baeck et al., 2000; Foreman et al., 2010);
- production de glycoprotéines, de protéines antimicrobiennes, de protéines hétérologues (chymosine de veau) et de fragments d'anticorps immunologiquement actifs (Bobrowicz et al., 2007; Harkki et al., 1989; Masri et al., 2013; Nevalainen et al., 2005; Nyyasonen et al., 1993; Uusitalo et al., 1991);
- production de carburants ou d'alcools (Bonaccorsi et al., 2006);
- revêtements protecteurs contre les champignons et fongicides (Batdorf et Brendle, 1998; Schuster et Schmoll, 2010);
- synthèse de nanoparticules d'argent (Mansoori, 2013; Vahabi et Dorcheh, 2014).

T. reesei est reconnue pour être une source des préparations d'aminopeptidase, ainsi que de cellulase, de β -glucanase, de β -d-glucosidase et d'hémicellulose et de pentosanase dans le Codex des produits chimiques alimentaires (FCC 2016).

Par ailleurs, *T. reesei* peut être utilisée pour biograder les hydrocarbures aromatiques polycycliques et en biorestoration (Cocaign et al., 2013; Zafra et Cortés-Esponosa, 2015). En outre, la souche *T. reesei* ATCC 28217 est décrite dans un brevet portant sur un pesticide microbien parmi de nombreuses autres souches de micro-organismes destinés à être appliqués directement sur le sol, les végétaux ou les semences (Bok et al., 1996).

La souche ATCC 74252 de *T. reesei* figure sur la LIS et peut être utilisée au Canada sans notification préalable, mais il s'agit d'une souche brevetée à laquelle seule l'entreprise déclarante a accès. Par conséquent, le recours à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* pour toute utilisation potentielle établie au Canada se limite aux souches accessibles au public.

4.2 Caractérisation de l'exposition

Comme la souche ATCC 74252 de *T. reesei* est une souche brevetée uniquement accessible par l'entremise du déclarant, on y a beaucoup moins souvent recours pour les usages potentiels définis à la section 2.1 Sources d'exposition que les souches accessibles au public. Toutefois, comme le déclarant pourrait vendre la souche ou l'utiliser d'une autre façon, des scénarios d'exposition possibles dans le futur ont aussi été envisagés. La souche ATCC 74252 de *T. reesei* est le plus souvent utilisée comme organisme de production à l'échelle industrielle. On prévoit que le rejet des installations de production sera limité, notamment en raison de la mise en œuvre de bonnes pratiques de fabrication, au cours desquelles des mesures doivent être prises pour réduire au minimum le rejet des micro-organismes utilisés en production.

4.2.1 Environnement

L'exposition environnementale globale à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* est faible, compte tenu des renseignements fournis en réponse à l'avis en vertu de l'article 71, dans lesquels les utilisations déclarées se limitaient à des processus industriels où des mesures de confinement sont appliquées. Les procédés industriels qui utilisent actuellement la souche ATCC 74252 de *T. reesei* ne devraient pas rejeter de la paracelsine dans l'environnement.

Si les usages potentiels cernés à la section 2.1 étaient mis en œuvre au Canada, la souche ATCC 74252 de *T. reesei* pourraient être utilisée dans le cadre de la biorestauration, de la biodégradation ou comme souche constitutive d'un pesticide. Dans ce cas, le micro-organisme vivant pourrait alors être rejeté dans l'environnement au cours de son application sur le sol, les végétaux et les semences, et ainsi exposer les végétaux terrestres et les invertébrés, et dans une moindre mesure, les vertébrés terrestres qui se nourrissent sur le lieu de l'application, et les espèces aquatiques par l'entremise du ruissellement provenant des plantes et des sols traités. Le degré d'exposition environnementale à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* dépendra de la quantité rejetée ainsi que de la survie du champignon, de sa persistance et de sa dispersion dans l'environnement récepteur. Les pesticides contenant la souche ATCC 74252 de *T. reesei* destinés à être utilisés au Canada seraient assujettis à une évaluation des risques pour la santé humaine et l'environnement et à une homologation en vertu de la Loi sur les produits antiparasitaires.

Bien que les espèces de *Trichoderma* soient des champignons communs du sol présents partout dans le monde, *T. reesei* est connue pour être un organisme pantropical présent dans un habitat étroit, délimité par une latitude de 20° de part et d'autre de l'équateur. La souche ATCC 74252 de *T. reesei* croît de façon optimale à une température située entre 28 °C et 30 °C. Des études sur des microcosmes de sol ont montré que *T. reesei* peut survivre au froid (4 °C à – 20 °C) pendant

sept semaines si des nutriments sont ajoutés à son milieu, ce qui indique qu'il pourrait hiverner dans les régions du Canada où les hivers sont doux. Néanmoins, comme la dispersion de spores à partir d'échantillons d'air signalée en Europe n'a pas abouti à l'établissement de *T. reesei* en Europe, il est probable que les populations introduites ne peuvent pas persister à long terme. En outre, la persistance d'un nombre de micro-organismes introduits supérieur à la population naturelle est peu probable, compte tenu de la compétition naturelle qui aurait lieu entre *T. reesei* et les micro-organismes de l'environnement (Dobbs et Hinson, 1953).

4.2.2 Chez l'humain

L'exposition globale estimée des humains à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* est faible compte tenu des renseignements fournis en réponse à l'avis en vertu de l'article 71, dans lesquels les utilisations déclarées se limitaient à des processus industriels disposant de mesures de confinement.

Si les utilisations potentielles indentifiées dans la section 2.1 devaient être réalisées au Canada, la souche ATCC 74252 de *T. reesei* pourrait être utilisée en biorestauration, dans des procédés de biorestauration, de biodégradation ou comme souche constitutive d'un pesticide. Dans ce cas, elle pourrait être rejetée dans l'environnement à la suite de son application sur le sol, les végétaux et les semences. Le degré d'exposition des humains à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* dépendrait de la quantité libérée et de la proximité des non-utilisateurs sur le lieu d'application. Il ne devrait pas y avoir d'exposition associée à l'utilisation de produits de santé naturels contenant des enzymes produites par *T. reesei*. Les préparations d'enzymes devraient respecter les spécifications du produit fini.

5. Caractérisation des risques

Dans la présente évaluation, le risque est caractérisé selon un paradigme qui veut qu'un risque et l'exposition à ce risque soient tous deux nécessaires pour qu'il y ait un risque. La conclusion de l'évaluation des risques se fonde sur le risque et sur ce que l'on connaît de l'exposition attribuable aux utilisations actuelles.

On estime que le risque associé à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* est faible ou moyen pour l'environnement, en raison de la production possible de paracelsine et d'autres peptaïbols dans certaines conditions de croissance, et que ce risque devrait être faible pour la santé humaine. À l'heure actuelle, il ne devrait pas y avoir de risques pour l'environnement et la santé humaine associés à une exposition à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* ou à la paracelsine, car on utilise actuellement la souche ATCC 74252 de *T. reesei* dans des installations où on a prévu des mesures de confinement et où les conditions de croissance, selon les données les plus récentes, ne devraient pas entraîner la production de paracelsine et d'autres

peptaïbols. Le risque associé aux utilisations actuelles devrait donc être faible à la fois pour l'environnement et la santé humaine.

L'évaluation des risques associés aux utilisations actuelles est suivie d'un examen de l'estimation des risques associés à des expositions futures prévues (découlant de nouvelles utilisations ou de conditions de croissance modifiées). La souche ATCC 74252 de *T. reesei* est une souche brevetée, dont le risque d'une utilisation accrue par rapport aux souches accessibles au public est limité. Toutefois, il est toujours possible que le déclarant décide d'utiliser ou de vendre la souche ATCC 74252 de *T. reesei* à de nouvelles fins.

Le risque associé à la souche ATCC 74252 de *T. reesei* est lié à sa capacité présumée de produire de la paracelsine ou d'autres peptaïbols, qui sont possiblement toxiques pour les invertébrés aquatiques et les mammifères. La paracelsine et d'autres peptaïbols ne sont pas réputés être produits dans des conditions de croissance actuelles, qui respectent les paramètres suivants : fermentation en immersion en l'absence de lumière et de matière végétale solide ou d'un substrat insoluble, et fermentation d'une matière végétale solide ou d'un substrat insoluble dans un bouillon dont la fermentation n'est amorcée qu'après l'inactivation de *T. reesei*. La paracelsine et d'autres peptaïbols pourraient, toutefois, être produits dans d'autres conditions de croissance. Ces autres conditions de croissance pourraient être la fermentation en immersion liquide en présence de matière insoluble, ainsi que la fermentation à l'état solide. Le rejet de grandes quantités de paracelsine ou d'autres peptaïbols dans l'environnement pourrait poser un risque aux invertébrés aquatiques.

Si la souche ATCC 74252 de *T. reesei* devenait une souche constitutive d'un pesticide, il y aurait risque d'un rejet à grande échelle dans l'environnement. Au Canada, les agents antiparasitaires microbiens et les préparations commerciales pesticides contenant la souche ATCC 74252 de *T. reesei* seraient sujettes à une évaluation avant leur homologation en vertu de la LPA. Les risques pour l'environnement et la santé humaine associés aux usages de la souche ATCC 74252 de *T. reesei* seraient alors évalués exhaustivement, et toute mesure d'atténuation des risques nécessaire devrait être appliquée par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire.

6. Conclusion

À la lumière des renseignements présentés dans cette évaluation préalable, on peut conclure que la souche ATCC 74252 de *Trichoderma reesei* ne pénètre pas dans l'environnement en une quantité ou une concentration ou dans des conditions de nature à :

- avoir, immédiatement ou à long terme un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique;

- mettre ou pouvoir mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie humaine;
- constituer ou pouvoir constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaine.

Nous estimons donc que la souche ATCC 74252 de *Trichoderma reesei* ne satisfait à aucun des critères énoncés à l'article 64 de la LCPE.

Références

Adav SS, Ravindran A, Chao LT, Tan L, Singh S, Sze SK. 2011. Proteomic analysis of pH and strains dependent protein secretion of *Trichoderma reesei*. *J Proteome Res* 10(10):4579-96.

Alanio A, Brethon B, Feuilhade de Chauvin M, de Kerviler E, Leblanc T, Lacroix C, Baruchel A, Menotti J. 2008. Invasive pulmonary infection due to *Trichoderma longibrachiatum* mimicking invasive aspergillosis in a neutropenic patient successfully treated with voriconazole combined with caspofungin. *Clin Infect Dis* 46(10):e116-8.

Antal Z, Kredics L, Pakarinen J, Doczi I, Andersson M, Salkinoja-Salonen M, Manczinger L, Szekeres A, Hatvani L, Vagvolgyi C, et al. 2005. Comparative study of potential virulence factors in human pathogenic and saprophytic *Trichoderma longibrachiatum* strains. *Acta Microbiol Immunol Hung* 52(3-4):341-50.

Atanasova L. 2014. Chapter 2: Ecophysiology of *Trichoderma* in genomic perspective. In: *Biotechnology and biology of Trichoderma*. Gupta VJ, Schmolli M, Herrera-Estrella A, et al, editors. Waltham, Massachusetts: Elsevier. pp 25-37.

Atanasova L, Jaklitsch WM, Komon-Zelazowska M, Kubicek CP, Druzhinina IS. 2010. Clonal species *Trichoderma parareesei* sp. nov. likely resembles the ancestor of the cellulase producer *Hypocrea jecorina*/*T. reesei*. *Appl Environ Microbiol* 76(21):7259-67.

ATCC. *Trichoderma reesei* Simmons, anamorph (ATCC® 13631™) [Internet]; c2014 [consulté le 2015-02-02]. <http://www.atcc.org/Products/All/13631.aspx>.

Baeck AC, Smets J, et Busch A. 2000. Compositions de détergents à lessive et/ou de soin des tissus, comprenant une entité chimique qui contient un auxiliaire de dépôt, et un polymère. Brevet CA 2342586.

Baker R. 1988. *Trichoderma* spp. as plant growth regulators. *CRC Crit Rev Biotechnol* 7:97-106.

Batdorf V, Brendle WJ. 1998. Revêtement protecteur fongicide pour les appareils de traitement de l'air. Brevet CA 2119418.

Berg A, Grigoriev PA, Degenkolb T, Neuhof T, Härtl A, Schlegel B, Gräfe U. 2003. Isolation, structure elucidation and biological activities of trichofumins A, B, C and D, new 11 and 13mer peptaibols from *Trichoderma* sp. HKI 0276. *J Pept Sci* 9(11-12):810-6.

- Bissett FH. 1979. Analysis of cellulase proteins by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 178(2):515-23.
- Bissett J. 1984. A revision of the genus *Trichoderma*. I. section *longibrachiatum* sect. nov. *Can J Bot* 62(5):924-31.
- Bissett J, Gams W, Jaklitsch W, Samuels GJ. 2015. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA FUNGUS* 6(2):263-95.
- Bobrowicz P, Cook WJ, Kett W. 2007. Production de glycoprotéines à O-glycosylation réduite. Brevet CA 2628725.
- Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E. 2001. Phenotype microarrays for high-throughput phenotypic testing and assay of gene function. *Genome Res* 11(7):1246-55.
- Bok SH, Lee HW, Son LH, Kim SU, Lee JW, Kim DY, Kwon YK. 1996. Procédé amélioré de fabrication de pesticides microbiens enrobés et pesticides produits au moyen de ce procédé. Brevet CA 2087613.
- Bonaccorsi ED, Ferreira AJS, Chambergo FS, Ramos ASP, Mantovani MC, Simon Farah JP, Sorio CS, Gombert AK, Tonso A, El-Dorry H. 2006. Transcriptional response of the obligatory aerobic *Trichoderma reesei* to hypoxia and transient anoxia: Implications for energy production and survival in the absence of oxygen. *Biochem* 45(12):3912-24.
- Breakspear A, Momany M. 2007. The first fifty microarray studies in filamentous fungi. *Microbiol* 153(1):7-15.
- Brewer D, Mason FG, Taylor A. 1987. The production of alamethicins by *Trichoderma* spp. *Can J Microbiol* 33(7):619-25.
- Bruckner H, Graf H. 1983. Paracelsin, a peptide antibiotic containing alpha-aminoisobutyric acid, isolated from *Trichoderma reesei* simmons. part A. *Experientia* 39(5):528-30.
- Bruckner H, Graf H, Bokel M. 1984. Paracelsin; characterization by NMR spectroscopy and circular dichroism, and hemolytic properties of a peptaibol antibiotic from the cellulolytically active mold *Trichoderma reesei*. part B. *Experientia* 40(11):1189-97.
- Chet I. 1987. *Trichoderma*- application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi . In: *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. Chet I. editor, New York, John Wiley, pp 137-160.

Chouaki T, Lavarde V, Lachaud L, Raccurt CP, Hennequin C. 2002. Invasive infections due to *Trichoderma* species: Report of 2 cases, findings of in vitro susceptibility testing, and review of the literature. *Clin Infect Dis* 35(11):1360-7.

Chugh JK and Wallace BA. 2001. Peptaibols: Models for ion channels. *Biochem Soc Trans* 29(Pt 4):565-70.

Clarkson KA, Weiss G, Larenas EA. 1992. Méthodes de traitement par cellulases de tissus renfermant du coton. Brevet CA 2093424.

Cocaign A, Bui L-C, Silar P, Tong LCO, Busi F, Lamouri A, Mougin C, Rodrigues-Lima F, Dupret J-M, Dairou J. 2013. Biotransformation of *Trichoderma* spp. and their tolerance to aromatic amines, a major class of pollutants. *Appl Environ Microbiol* 79(15):4719-4726.

Coenen TM, Schoenmakers AC, Verhagen H. 1995. Safety evaluation of beta-glucanase derived from *Trichoderma reesei*: Summary of toxicological data. *Food Chem Toxicol* 33(10):859-66.

Cohn KK, Marcero DH, Wojinski SF. 1984. The use of GC/MS analysis and fungal culturing in a pulp mill industrial hygiene program. *Am Ind Hyg Assoc J* 45(9):594-7.

Danielson RM and Davey CB. 1973. Carbon and nitrogen nutrition of *Trichoderma*. *Soil Biol Biochem* 5(5):505-15.

Dashtban M, Schraft H, Qin W. 2009. Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities & perspectives. *Int J Biol Sci* 5(6):578-95.

Degenkolb T, Karimi Aghcheh R, Dieckmann R, Neuhof T, Baker SE, Druzhinina IS, Kubicek CP, Brückner H, Von Döhren H. 2012. The production of multiple small peptaibol families by single 14-module peptide synthetases in *Trichoderma/Hypocrea*. *Chem Biodivers*. 9(3):499-535.

Degenkolb T, Nielsen KF, Dieckmann R, Branco-Rocha F, Chaverri P, Samuels GJ, Thrane U, Döhren, Vilcinskis A, Brückner H. 2015. Peptaibol, secondary-metabolite, and hydrophobin pattern of commercial biocontrol agents formulated with species of the *Trichoderma harzianum* complex. *Chem Biodivers* 12 (4): 662-684.

Degenkold T, von Döhren H, Nielsen KF, Samuels GJ, Brückner H. 2008. Recent advances and future prospects in peptaibiotics, hydrophobin, and mycotoxin research, and their importance for chemotaxonomy of *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Chem Biodivers*. 5(5): 671-680.

Dienes D, Börjesson J, Hägglund P, Tjerneld F, Lidén G, Réczey K, Stålbbrand H. 2007. Identification of a trypsin-like serine protease from *Trichoderma reesei* QM 9414. *Enzyme Microb Technol* 40(5):1087-94.

Dobbs CG, Hinson WH. 1953. A widespread fungistasis in soils. *Nature* 172:197-99.

do Nascimento Silva R, Steindorff A, Ulhoa C, Félix CR. 2009. Involvement of G-alpha protein GNA3 in production of cell wall-degrading enzymes by *Trichoderma reesei* (*Hypocrea jecorina*) during mycoparasitism against *Pythium ultimum*. *Biotechnol Lett* 31(4):531-6.

Druzhinina IS, Komon-Zelazowska M, Atanasova L, Seidl V, Kubicek CP. 2010. Evolution and ecophysiology of the industrial producer *Hypocrea jecorina* (anamorph *Trichoderma reesei*) and a new sympatric agamospecies related to it. *PLoS One* 5(2):e9191.

Druzhinina IS, Komoń-Zelazowska M, Ismaiel A, Jaklitsch W, Mullaw T, Samuels GJ, Kubicek CP. 2012. Molecular phylogeny and species delimitation in the section *longibrachiatum* of *Trichoderma*. *Fungal Genet Biol* 49(5):358-68.

EFSA. 2012. Scientific opinion on the safety and efficacy of Roxazyme® G2 G/L (endo-1,4- beta-xylanase, endo-1,4-beta-glucanase and endo-1,3(4)-beta-glucanase) as feed additive for poultry and piglets. *EFSA Journal* 10(11):2930.

Elvig N, Festersen R. 2005. Procédé d'empâtage et composition enzymatique utile dans ledit procédé. Brevet CA 2586779.

Eneyskaya EV, Kulminskaya AA, Savel'ev AN, Savel'eva NV, Shabalin KA, Neustroev KN. 1999. Acid protease from *Trichoderma reesei*: Limited proteolysis of fungal carbohydrases. *Appl Microbiol Biotechnol* 52(2):226-31.

Environnement Canada. 2013. Résumé de l'évaluation des risques effectuée conformément au Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement, *Trichoderma longibrachiatum* RM4-100, RSN 6823 [Internet]; c2013 [consulté le 2016-01-11]. <http://www.ec.gc.ca/subsnouvelles-news subs/default.asp?lang=Fr&n=7C33A581-1>.

Espinel-Ingroff A. 2001a. Comparison of the E-test with the NCCLS M38-P method for antifungal susceptibility testing of common and emerging pathogenic filamentous fungi. *J Clin Microbiol* 39(4):1360-7.

Espinel-Ingroff A. 2001b. In vitro fungicidal activities of voriconazole, itraconazole, and amphotericin B against opportunistic moniliaceous and dematiaceous fungi. *J Clin Microbiol* 39(3):954-8.

Espinel-ingroff A, Johnson E, Hockey H, Troke P. 2008. Activities of voriconazole, itraconazole and amphotericin B in vitro against 590 moulds from 323 patients in the voriconazole phase III clinical studies. *J Antimicrob Chemother* 61(3):616-20.

Favilla M, Macchia L, Gallo A, Altomare C. 2006. Toxicity assessment of metabolites of fungal biocontrol agents using two different (*Artemia salina* and *Daphnia magna*) invertebrate bioassays. *Food Chem Toxicol* 44(11):1922-31.

FCC 2106. Food Chemicals Codex, 10th Edition. The United States Pharmacopeial Convention. [Online version; accessed 2016-08-24].

Foreman et al. 2010. Isolated polypeptide having arabinofuranosidase activity. Patent US 7,666,648.

Furukawa H, Kusne S, Sutton DA, Manez R, Carrau R, Nichols L, Abu-Elmagd K, Skedros D, Todo S, Rinaldi MG. 1998. Acute invasive sinusitis due to *Trichoderma longibrachiatum* in a liver and small bowel transplant recipient. *Clin Infect Dis* 26(2):487-9.

Galante YM, De Conti A, Monteverdi R. 1998. Application of *Trichoderma* enzymes in the food and feed industries. In: *Trichoderma and Gliocladium*. Harman GE. and Kubicek CP., editors. London: Taylor and Francis. pp 11-326.

Gams W and Bissett J. 1998. Morphology and identification of *Trichoderma*. In: *Trichoderma and Gliocladium*. Harman GE and Kubicek CP, editors. Taylor and Francis. pp 3-34.

Gautheret A, Dromer F, Bourhis J, Andreumont A. 1995. *Trichoderma pseudokoningii* as a cause of fatal infection in a bone marrow transplant recipient . *Clin Infect Dis* 20(4):1063-4.

Genencor, 2007. Chymosin Enzyme Preparation from *Trichoderma reesei* expressing the Chymosin B gene from *Bos Taurus* is Generally Recognized as Safe [Internet]; [consulté le 2016-02-10]. www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-foods-gen/documents/document/ucm264067.pdf

Goller SP, et al. 1998. Role of endoproteolytic dibasic proprotein processing in maturation of secretory proteins in *Trichoderma reesei*. *Appl Environ Microbiol* 64(9):3202-8.

Gonzalez R, Ramon D, Perez-Gonzalez JA. 1992. Cloning, sequence analysis and yeast expression of the *egl1* gene from *Trichoderma longibrachiatum*. *Appl Microbiol Biotechnol* 38(3):370-5.

- Grigoriev PA, Schlegel B, Kronen M, Berg A, Hartl A, Grafe U. 2003. Differences in membrane pore formation by peptaibols. *J Pept Sci* 9(11-12):763-8.
- Grosch R, Scherwinski K, Lottmann J, Berg G. 2006. Fungal antagonists of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*: Selection, control efficacy and influence on the indigenous microbial community. *Mycol Res* 110(12):1464-74.
- Haab D, Hagspiel K, Szakmary K, Kubicek CP. 1990. Formation of the extracellular proteases from *Trichoderma reesei* QM 9414 involved in cellulase degradation. *J Biotechnol* 16(3-4):187-98.
- Halprin GM, Buckley CE3, Zitt MJ, McMahon SM. 1973. Changes in arteriovenous complement activity induced by inhalation challenge. *Am Rev Respir Dis* 108(2):343-52.
- Harish S, Saravanakumar D, Radjacommar R, Ebenezar EG, Seetharaman K. 2008. Use of plant extracts and biocontrol agents for the management of brown spot disease in rice. *Biocontrol* 53(3):555-67.
- Harjono WS, Widyastuti M. 2001. Antifungal activity of purified endochitinase produced by biocontrol agent *Trichoderma reesei* against *Ganoderma philipii*. *Pakistan J Biological Sci* 4:1232-4.
- Harkki A, Uusitalo J, Bailey M, Penttila M, Knowles JKC. 1989. A novel fungal expression system: Secretion of active calf chymosin from the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *Biotechnol* 7(6):596-603.
- Harman GE. 2000. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis* 84(4):377.
- Health Canada. 2014. Health Hazard Classification For Mammalian Toxicity Endpoints. Internal Guidance Document.
- Henis Y. 1984. Ecological principles of biocontrol of soilborn plant pathogen: *Trichoderma* model. In: *Current Perspectives in Microbial Ecology*. Klug MJ. And Reddy CA, editors, Washington D.C. American Society for Microbiology pp353-361.
- Hennequin C, Chouaki T, Pichon JC, Strunski V, Raccurt C. 2000. Otitis externa due to *Trichoderma longibrachiatum*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19(8):641-2.
- Hjortkjaer RK, Bille-Hansen V, Hazelden KP, McConville M, McGregor DB, Cuthbert JA, Greenough RJ, Chapman E, Gardner JR, Ashby R. 1986. Safety evaluation of celluclast, an acid cellulase derived from *Trichoderma reesei*. *Food Chem Toxicol* 24(1):55-63.

Hoyos-Carvajal L, Orduz S, Bissett J. 2009. Genetic and metabolic biodiversity of *Trichoderma* from Colombia and adjacent neotropic regions. *Fungal Genet Biol* 46(9):615-31.

Hytonen M, Vanhanen M, Keskinen H, Tuoni T, Tupasela O, Nordman H. 1994. Pharyngeal edema caused by occupational exposure to cellulase enzyme. *Allergy* 49(9):782-4.

International Subcommission of *Trichoderma* and *Hypocrea* Taxonomy [Internet]; c2006 [consulté le 2015-10-10]. <http://isth.info/>

Katta R, Bogle MA, Levy ML. 2005. Primary cutaneous opportunistic mold infections in a pediatric population. *J Am Acad Dermatol* 53(2):213-9.

Kim S, Lantz S, Pepsin M. 2009. Alpha-glucanase et composition pour soin buccal la contenant. Brevet CA 2721074.

Komon-Zelazowska M, Neuhof T, Dieckmann R, Von Döhren H, Herrera-Estrella A, Kubicek CP, Druzhinina IS. 2007. Formation of atroviridin by *Hypocrea atroviridis* is conidiation associated and positively regulated by blue light and the G protein GNA3. *Eukaryot Cell* 6(12):2332-42.

Kratzer C, Tobudic S, Schmoll M, Graninger W, Georgopoulos A. 2006. In vitro activity and synergism of amphotericin B, azoles and cationic antimicrobials against the emerging pathogen *Trichoderma* spp. *J Antimicrob Chemother* 58(5):1058-61.

Kredics L, Antal Z, Doczi I, Manczinger L, Kevei F, Nagy E. 2003. Clinical importance of the genus *Trichoderma*. A review. *Acta Microbiol Immunol Hung* 50(2-3):105-17.

Kredics L, Antal Z, Szekeres A, Manczinger L, Dóczi I, Kevei F, Nagy E. 2004. Production of extracellular proteases by human pathogenic *Trichoderma longibrachiatum* strains. *Acta Microbiol Immunol Hung* 51(3):283-95.

Kredics L, Hatvani L, Naeimi S, Kormoczi P, Manczinger L, Vagvolgyi C, Druzhinina I. 2014. Chapter 1: Biodiversity of the genus *Hypocrea/Trichoderma* in different habitats. In: *Biotechnology and biology of Trichoderma*. Gupta VK, Schmoll M, Herrera-Estrella A, et al, editors. Waltham, Massachusetts: Elsevier. pp 3-24.

Kubicek CP, Bissett J, Druzhinina I, Kullnig-Gradinger C, Szakacs G. 2003. Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma*: A case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genetics and Biology* 38(3):310-9.

- Kubicek CP, Komon-Zelazowska M, Druzhinina IS. 2008. Fungal genus *Hypocrea*/*Trichoderma*: From barcodes to biodiversity. *J Zhejiang Uni Sci B* 9(10):753-63.
- Kuhls K, Lieckfeldt E, Borner T, Gueho E. 1999. Molecular reidentification of human pathogenic *Trichoderma* isolates as *Trichoderma longibrachiatum* and *Trichoderma citrinoviride*. *Med Mycol* 37(1):25-33.
- Kuhls K, Lieckfeldt E, Samuels GJ, Kovacs W, Meyer W, Petrini O, Gams W, Borner T, Kubicek CP. 1996. Molecular evidence that the asexual industrial fungus *Trichoderma reesei* is a clonal derivative of the ascomycete *Hypocrea jecorina*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(15):7755-60.
- Kuhls K, Lieckfeldt E, Samuels GJ, Meyer W, Kubicek CP, Borner T. 1997. Revision of *Trichoderma* sect. *longibrachiatum* including related teleomorphs based on analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Mycologia* 89(3):442-60.
- Landreau A, Pouchus YF, Sallenave-Namont C, Biard J-, Boumard M-, Robiou Du Pont T, Mondeguer F, Goulard C, Verbist J-. 2002. Combined use of LC/MS and a biological test for rapid identification of marine mycotoxins produced by *Trichoderma koningii*. *J Microbiol Methods* 48(2-3):181-94.
- Larsen FO, Clementsen P, Hansen M, Maltbaek N, Ostenfeldt-Larsen T, Nielsen KF, Gravesen S, Skov PS, Norn S. 1998. Volatile organic compounds from the indoor mould *Trichoderma viride* cause histamine release from human bronchoalveolar cells. *Inflamm Res* 47 (Suppl 1):S5-6.
- Lieckfeldt E, Kullnig C, Samuels GJ, Kubicek CP. 2000. Sexually competent, sucrose- and nitrate-assimilating strains of *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*) from South American soils. *Mycologia* 92(3):374-80.
- BDPSNH 2016. Base de données des produits de santé naturels homologués. URL : <https://produits-sante.canada.ca/lnhpd-bdpsnh/index-fra.jsp> [Consultée le 2016-08-24].
- Lynch JM. 1990. Fungi as antagonists. In: *New directions in biological control: Alternatives for suppressing agriculture pests and diseases*. Baker RR and Dunn PE, editors. New York: pp 243-253.
- Maheshwari R. 2008. Genome sequence of a fungus for the biofuel industry. *Curr Sci* 95(2):161-2.
- Mansoori GA. 2013. Synthesis of nanoparticles by fungi. Patent US 8394421.

Martinez D, Berka RM, Henrissat B, Saloheimo M, Arvas M, Baker SE, Chapman J, Chertkov O, Coutinho PM, Cullen D et al. 2008. Genome sequencing and analysis of the biomass-degrading fungus *Trichoderma reesei* (syn. *Hypocrea jecorina*). *Nat Biotechnol.* 26(5):553-60.

Masri et al. 2013. Modified family 5 cellulases and uses thereof. Patent US 8,609,388.

Merino S, Mcfarland K, Cherry J, et Teter S. 2008. Compositions pour degrader de la matière cellulosique. Brevet CA 2689910.

Metz B, Seidl-Seiboth V, Haarmann T, Kopchinskiy A, Lorenz P, Seiboth B, Kubicek CP. 2011. Expression of biomass-degrading enzymes is a major event during conidium development in *Trichoderma reesei*. *Eukaryotic Cell* 10(11):1527-35.

Meyer W, Morawetz R, Borner T, Kubicek CP. 1992. The use of DNA-fingerprint analysis in the classification of some species of the *Trichoderma* aggregate. *Curr Genet* 21(1):27-30.

Miettinen-Oinonen A, Suominen P. 2002. Enhanced production of *Trichoderma reesei* endoglucanases and use of the new cellulase preparations in producing the stonewashed effect on denim fabric. *Appl Environ Microbiol* 68(8): 3956-64.

Molnár-Gábor E, Dóczy I, Hatvani L, Vágvölgyi C, Kredics L. 2013. Isolated sinusitis sphenoidalis caused by *Trichoderma longibrachiatum* in an immunocompetent patient with headache. *J Medl Microbiol* 62(Pt 8):1249-52.

Morawetz R, Gruber F, Messner R, Kubicek C. 1992. Presence, transcription and translation of cellobiohydrolase genes in several *Trichoderma* species. *Curr Genet* 21(1):31-6.

Munoz FM, Demmler GJ, Travis WR, Ogden AK, Rossmann SN, Rinaldi MG. 1997. *Trichoderma longibrachiatum* infection in a pediatric patient with aplastic anemia. *J Clin Microbiol* 35(2):499-503.

Myoken Y, Sugata T, Fujita Y, Asaoku H, Fujihara M, Mikami Y. 2002. Fatal necrotizing stomatitis due to *Trichoderma longibrachiatum* in a neutropenic patient with malignant lymphoma: A case report. *Int J Oral Maxillofac Surg* 31(6):688-91.

Navazio L, Baldan B, Moscatiello R, Zuppini A, Woo S, Mariani P, Lorito M. 2007. Calcium-mediated perception and defense responses activated in plant cells by metabolite mixtures secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. *BMC Plant Biol* 7(1):41.

Neuhof T, Dieckmann R, Druzhinina IS, Kubicek CP, von Döhren H. 2007. Intact-cell MALDI-TOF mass spectrometry analysis of peptaibol formation by the genus *Trichoderma*/*Hypocrea*: can molecular phylogeny of species predict peptaibol structures? *Microbiol* 153(10):3417-3437.

Nevalainen H, Suominen P, Taimisto K. 1994. On the safety of *Trichoderma reesei*. *J Biotechnol* 37(3):193-200.

Nevalainen KMH, Te'o VSJ, Bergquist PL. 2005. Heterologous protein expression in filamentous fungi. *Trends Biotechnol* 23(9):468-74.

BDIPSN 2016. Base de données sur les ingrédients de produits de santé naturels. URL : <http://webprod.hc-sc.gc.ca/nhp/bdipsn/search-rechercheReg.do?lang=fra> [Consultée le 2016-08-24].

Nyyssonen E, Penttilä M, Harkki A, Saloheimo A, Knowles JKC, Keränen S. 1993. Efficient production of antibody fragments by the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *Biotechnol* 11(5):591-5.

Oka N, Ohki T, Honda Y, Nagaoka K, Takenaka M. 2008. Inhibition of Pepper mild mottle virus with commercial cellulases. *J Phytopathol* 156(2):65-7.

Papavizas GC. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annu Rev Phytopathol* 23(1):23-54.

Peciulyte A, Anasontzis GE, Karlström K, Larsson PT, Olsson L. 2014. Morphology and enzyme production of *Trichoderma reesei* Rut C-30 are affected by the physical and structural characteristics of cellulosic substrates. *Fungal Genet Biol* 72:64-72.

Poirier L, Montagu M, Landreau A, Mohamed-Benkada M, Grovel O, Sallenave-Namont C, Biard JF, Amiard-Triquet C, Amiard JC, Pouchus YF. 2007a. Peptaibols: Stable markers of fungal development in the marine environment. *Chem Biodivers* 4(6):1116-28.

Poirier L, Quiniou F, Ruiz N, Montagu M, Amiard JC, Pouchus YF. 2007b. Toxicity assessment of peptaibols and contaminated sediments on *Crassostrea gigas* embryos. *Aquat Toxicol* 83(4):254-62.

Providenti MA, Mautner SI, Chaudhry O, Bombardier M, Scroggins R, Gregorich E, Smith ML. 2004. Determining the environmental fate of a filamentous fungus, *Trichoderma reesei*, in laboratory-contained intact soil-core microcosms using competitive PCR and viability plating. *Can J Microbiol* 50(8):623-31.

Ransom JH and Schuster M. 1981. Allergic reactions to enzymes used in plant cloning experiments. *J Allergy Clin Immunol* 67(5):412-5.

Raya SA, Trembovler V, Shohami E, Lazarovici P. 1993. Cytolysins increase intracellular calcium and induce eicosanoids release by pheochromocytoma PC12 cell cultures. *Nat Toxins* 1(5):263-70.

Rebuffat S, Prigent Y, Auvin-Guette C, Bodo B. 1991. Tricholongins BI and BII, 19-residue peptaibols from *Trichoderma longibrachiatum*. Solution structure from two-dimensional NMR spectroscopy. *Eur J Biochem* 201(3):661-74.

Reese ET. 1976. History of the cellulase program at the U.S. army Natick Development Center. *Biotechnol Bioeng Symp* (6):9-20.

Rhode Jr., Handel. 1998. Carbohydrase enzyme food supplement composition. Patent US 5817350 A.

Richter S, Cormican MG, Pfaller MA, Lee CK, Gingrich R, Rinaldi MG, Sutton DA. 1999. Fatal disseminated *Trichoderma longibrachiatum* infection in an adult bone marrow transplant patient: species identification and review of the literature. *J Clin Microbiol* 37(4):1154-60.

Robbins et al. 1986. Meat tenderization with a proteolytic enzyme from *Trichoderma reesei*. Patent US 4600589.

Röhrich CR, Jaklitsch WM, Voglmayr H, Iversen A, Vilcinskas A, Nielsen KF, Thrane U, von Dohren H, Bruckner H, Degenkolb T. 2014. Front line defenders of the ecological niche! Screening the structural diversity of peptaibiotics from saprotrophic and fungicolous *Trichoderma/Hypocrea* species. *Fungal Divers* 69(1):117-46.

Samuels GJ, Ismaiel A, Mulaw TB, Szakacs G, Druzhinina IS, Kubicek CP, Jaklitsch WM. 2012. The longibrachiatum clade of *Trichoderma*: A revision with new species. *Fungal Divers* 55(1):77-108.

Samuels GJ, Petrini O, Kuhls K, Lieckfeldt E, Kubicek CP. 1998. The *Hypocrea schweinitzii* complex and *Trichoderma* sect. longibrachiatum. *Stud Mycol* 41(41):1-54.

Samuels GJ, Petrini O, Manguin S. 1994. Morphological and macromolecular characterization of *Hypocrea schweinitzii* and its *Trichoderma* anamorph. *Mycologia* 86(3):421-35.

Sandoval-Denis M, Sutton DA, Cano-Lira J, Gené J, Fothergill AW, Wiederhold NP, Guarro J. 2014. Phylogeny of the clinically relevant species of the emerging fungus *Trichoderma* and their antifungal susceptibilities. *J Clin Microbiol* 52(6):2112-25.

Santillan Salas CF, Joshi AY, Dhiman N, Banerjee R, Huskins WC, Wengenack NL, Henry NK. 2011. Fatal post-operative *Trichoderma longibrachiatum* mediastinitis and

peritonitis in a paediatric patient with complex congenital cardiac disease on peritoneal dialysis. *J Med Microbiol* 60(12):1869-71.

Schuster A, Schmoll M. 2010. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Appl Microbiol Biotechnol* 87(3):787-99.

Scott BR, Liu C, Lavigne J, Tomashek J. 2010. Nouvelles enzymes beta-glucosidases. Brevet CA 2763836.

Seguin P, Degeilh B, Grulois I, Gacouin A, Maugendre S, Dufour T, Dupont B, Camus C. 1995. Successful treatment of a brain abscess due to *Trichoderma longibrachiatum* after surgical resection. *Eur J Clin Microbiol and Infect Dis* 14(5):445-8.

Seidl V, Seibel C, Kubicek CP, Schmoll M. 2009. Sexual development in the industrial workhorse *Trichoderma reesei*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(33):13909-14.

Shoresh M, Harman GE, Mastouri F. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annu Rev Phytopathol* 48:21-43.

Simmons EG. 1977. Classification of some cellulase-producing *Trichoderma* species. In: Abstracts of the 2nd international mycological congress. Bigelow HE and Simmons EG, editors. Tampa, Fla: University of South Florida. 618 p.

Solfrizzo M, Altomare C, Visconti A, Bottalico A, Perrone G. 1994. Detection of peptaibols and their hydrolysis products in cultures of *Trichoderma* species. *Natural Toxins* 2(6): 360-365.

Spiegel Y and Chet I. 1998. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. *Integ Pest Manag Rev* 3(3):169-75.

Sternberg D. 1976. Production of cellulase by *Trichoderma*. *Biotechnol Bioeng Symp* (6)(6):35-53.

Sukumaran RK, Singhanian RR, Pandey A. 2005. Microbial cellulases - Production, applications and challenges. *J Sci Ind Res* 64: 832-44.

Sun Y, Tian L, Huang YF, Sha Y, Pei YH. 2006. A new cyclotetrapeptide from marine fungus *Trichoderma reesei*. *Pharmazie* 61(9):809-10.

Tang P, Mohan S, Sigler L, Witterick I, Summerbell R, Campbell I, Mazzulli T. 2003. Allergic fungal sinusitis associated with *Trichoderma longibrachiatum*. *J Clin Microbiol* 41(11):5333-6.

Tanis BC, van der Pijl H, van Ogtrop ML, Kibbelaar RE, Chang PC. 1995. Fatal fungal peritonitis by *Trichoderma longibrachiatum* complicating peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 10(1):114-6.

Tarvainen K, Kanerva L, Tupasela O, Grenquist-Norden B, Jolanki R, Estlander T, Keskinen H. 1991. Allergy from cellulase and xylanase enzymes. *Clin Exp Allergy* 21(5):609-15.

Tenkanen M, Puls J, Poutanen K. 1992. Two major xylanases of *Trichoderma reesei*. *Enzyme Microb Technol* 14(7):566-74.

Trabelsi S, Hariga D, Khaled S. 2010. First case of *Trichoderma longibrachiatum* infection in a renal transplant recipient in Tunisia and review of the literature. *Tunis Med* 88(1):52-7.

U.S. EPA. 2012a. *Trichoderma reesei*; Proposed Significant New Use Rule. *Federal Register* 77(114):35331-35336.

U.S. EPA. 2012b. Microorganisms; general exemptions from reporting requirements; revisions to recipient organisms eligible for tier I and tier II exemptions. *Federal Register* 77(172):54499.

U.S. FDA. GRAS Notices, GRN No. 32: Pectin lyase derived from *Trichoderma reesei* carrying a gene encoding pectin lyase from *Aspergillus niger* [Internet]; c2014a [consulté le 2015-01-29].
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=32&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=reesei.

U.S. FDA. GRAS Notices, GRN No. 230: Chymosin enzyme preparation from *Trichoderma reesei* expressing the bovine prochymosin B gene [Internet]; c2014b [consulté le 2015-01-29].
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=230&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=reesei.

U.S. FDA. GRAS Notices, GRN No. 315: Transglucosidase enzyme preparation from *Trichoderma reesei* expressing the gene encoding transglucosidase from *Aspergillus niger* [Internet]; c2014c [consulté le 2015-01-29].
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=315&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=reesei.

U.S. FDA. GRAS Notices, GRN No. 333: Acid fungal protease enzyme preparation from *Trichoderma reesei* expressing the gene encoding acid fungal protease from *T. reesei* [Internet]; c2014d [consulté le 2015-01-29].
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=333&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=reesei.

U.S. FDA. GRAS Notices, GRN No. 372: Glucoamylase enzyme preparation from *Trichoderma reesei* expressing the glucoamylase gene from *T. reesei* (glucoamylase enzyme preparation) [Internet]; c2014e [consulté le 2015-01-29]. http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=372&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=reesei.

U.S. FDA. GRAS Notices, GRN No. 490: Phospholipase A2 enzyme preparation from *Trichoderma reesei* [Internet]; c2014f [consulté le 2015-01-29]. http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=490&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=reesei.

U.S. FDA. GRAS Notices, GRN No. 524: Phospholipase A2 enzyme preparation from *Trichoderma reesei* carrying a phospholipase A2 gene from *Aspergillus nishimuriae* [Internet]; c2014g [consulté le 2015-01-29]. http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=524&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=reesei.

Uusitalo JM, Helena Nevalainen KM, Harkki AM, Knowles JKC, Penttilä ME. 1991. Enzyme production by recombinant *Trichoderma reesei* strains. *J Biotechnol* 17(1):35-49.

Vahabi K and Dorcheh SK. 2014. Biosynthesis of silver nano-particles by *Trichoderma* and its medical applications. In *Biotechnology and Biology of Trichoderma*. Gupta VK, Schmoll M, Herrera-Estrella A, Upadhyay, Druzhinina I and Tuohy MG., editors. The Netherlands: Elsevier pp 393-404.

Vinale F, Flematti G, Sivasithamparam K, Lorito M, Marra R, Skelton BW, Ghisalberti EL. 2009. Harzianic acid, an antifungal and plant growth promoting metabolite from *Trichoderma harzianum*. *J Nat Prod* 72(11):2032-5.

Vinale F, Marra R, Scala F, Ghisalberti EL, Lorito M, Sivasithamparam K. 2006. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Lett Appl Microbiol* 43(2):143-8.

Wiest A, Grzegorski D, Xu B, Goulard C, Rebuffat S, Ebbole DJ, Bodo B, Kenerley C. 2002. Identification of peptaibols from *Trichoderma virens* and cloning of a peptaibol synthetase. *J Biol Chem* 277(23):20862-8.

Yedidia I, Benhamou N, Chet I. 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol Agent *Trichoderma harzianum*. *Appl Environ Microbiol* 65(3):1061-70

Zafra G, Cortés-Espinosa DV. 2015. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Trichoderma* species: a mini review. *Environ Sci Pollut Res* 22(24):19426-19433.

ANNEXES

Annexe A : Résistance aux agents antifongiques et sensibilité de *T. longibrachiatum*

Tableau A-1 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) des souches de *T. longibrachiatum*

Agent antifongique	CMI (µg/mL)	Interprétation fondée sur des publications	Références
5-fluorocytosine	≥ 64	Résistante	Furukawa et al., 1998; Munoz et al., 1997; Myoken et al., 2002; Trabelsi et al., 2010
Akacid Plus®	0,06 - 0,5	Sensible	Kratzer et al., 2006
Amphotéricine B	0,016 - 8	Sensible ou intermédiaire ou résistante (selon la souche)	Antal et al., 2005; Espinel-Ingroff 2001a; Espinel-Ingroff 2001b; Furukawa et al., 1998; Kratzer et al., 2006; Molnár-Gábor et al., 2013; Munoz et al., 1997; Myoken et al., 2002; Richter et al., 1999; Santillan Salas et al., 2011; Seguin et al., 1995; Tanis et al., 1995; Trabelsi et al., 2010
Caspofungine	≤ 0,5	Sensible	Molnár-Gábor et al., 2013; Santillan Salas et al., 2011; Trabelsi et al., 2010
Digluconate de chlorhexidine	1 - 8	Sensible ou intermédiaire (selon la souche)	Kratzer et al., 2006
Fluconazole	Pour la plupart > 64, 12,5, 16	Résistante	Antal et al., 2005; Furukawa et al., 1998; Kratzer et al., 2006; Molnár-Gábor et al., 2013; Munoz et al., 1997;

Agent antifongique	CMI (µg/mL)	Interprétation fondée sur des publications	Références
			Myoken et al., 2002; Richter et al., 1999; Seguin et al., 1995
Itraconazole	0,3 - > 32	Sensible ou intermédiaire ou résistante (selon la souche)	Antal et al., 2005; Espinel-Ingroff 2001a; Hennequin et al., 2000; Molnár-Gábor et al., 2013; Munoz et al., 1997; Myoken et al., 2002; Seguin et al., 1995
Kétoconazole	0,008 – 1	Sensible	Antal et al., 2005
Posaconazole	0,5 - ≥ 2	Sensible ou intermédiaire ou résistante (selon la souche)	Santillan Salas et al., 2011; Trabelsi et al., 2010
Voriconazole	0,5 - 2	Sensible	Espinel-Ingroff 2001a; Espinel-Ingroff 2001b; Kratzer et al., 2006; Myoken et al., 2002; Santillan Salas et al., 2011; Trabelsi et al., 2010

Annexe B : Rapports de cas d'infection attribuable à une souche de *T. longibrachiatum*

Tableau B-1 : Résumé des rapports de cas d'infection humaine par *T. longibrachiatum*

État immunitaire	Réaction	Traitement	Issue	Référence
Inconnu; antécédents d'atopie et d'asthme	Sinusite allergique d'origine fongique	Immunothérapie contre les allergènes et itraconazole par voie orale, corticostéroïdes et itraconazole par voie intranasale	Guérison	Tang et al., 2003
Immunodéprimé; transplantation d'organe	Sinusite aiguë invasive	Amphotéricine B et débridement des sinus	Guérison	Furukawa et al., 1998
Immunodéprimé; transplantation allogénique de moelle osseuse	Infection disséminée	Amphotéricine B, itraconazole	Décès	Richter et al., 1999
Immunodéprimé; chirurgie cardiaque	Médiastinite et péritonite	Caspofungine et voriconazole, déoxycholate d'amphotéricine	Décès	Santillan Salas et al., 2011
Inconnu; otite chronique	Otite externe	Amoxicilline et ofloxacine topique, nystatine et polymyxine B et oxytétracycline	Guérison	Hennequin et al., 2000
Immunodéprimé; anémie aplasique grave et neutropénie prolongée	Infection sous-cutanée et cutanée invasive	Amphotéricine B, Amphotéricine B à base de lipides, greffe de moelle osseuse	Guérison	Munoz et al., 1997
Immunodéprimé; leucémie lymphoblastique aiguë et neutropénie grave	Infection pulmonaire invasive	Voriconazole et Caspofungine	Guérison	Alanio et al., 2008
Immunodéprimé; leucémie et neutropénie prolongée	Abcès au cerveau	Réception neurochirurgicale, itraconazole et amphotéricine B	Guérison	Seguin et al., 1995
Immunodéprimé; lymphome malin et neutropénie	Stomatite nécrosante	Amphotéricine B et itraconazole	Décès	Myoken et al., 2002
Immunodéprimé; dialyse péritonéale continue ambulatoire	Péritonite fongique	Amphotéricine B	Décès	Tanis et al., 1995
Immunodéprimé;	Épanchement	Débridement	Guérison	Chouaki et al.,

transplantation de foie	sous-capsulaire du foie	chirurgical, povidone iodé		2002
Immunodéprimé; transplantation de poumon	Infection décelée par lavage bronchoalvéolaire et drainage de la cavité pleurale	Amphotéricine B à base de lipides	Décès	Chouaki et al., 2002
Immunodéprimé; transplantation de rein	Infection cutanée	Voriconazole	Guérison	Trabelsi et al., 2010
Immunodéprimé; transplantation de moelle osseuse	Infection invasive	Amphotéricine B en liposomes, flucytosine	Décès	Gautheret et al., 1995 ^a
Immunocompétent	Sinusite sphénoïdale	Chirurgie, lavage nasal avec une solution de stéroïdes, amphotéricine B, aspiration	Guérison	Molnár-Gábor et al., 2013

^aIdentifié de nouveau comme étant *T. longibrachiatum* dans Kuhls et al., 1999 par analyse de l'ADN et comparaison de la séquence des espaceurs internes transcrits.

Annexe C : Rapports de cas d'infection attribuable à une espèce de Trichoderma

Tableau C-1 : Cas déclarés d'infection par une espèce de Trichoderma isolée chez l'humain (adaptation de Sandoval-Denis et al., 2014)

Espèce	Nombre d'isolats provenant de tissu superficiel	Nombre d'isolats provenant des voies respiratoires	Nombre d'isolats provenant d'un tissu profond
<i>T. longibrachiatum</i>	3	10	6
<i>T. citrinoviride</i>	3	5	5
<i>T. bissettii</i>	4	3	2
<i>T. orientale</i>	1	3	4
<i>H. lixit/T. harzianum</i>	2	3	1
<i>T. koningiopsis</i>	1	1	0
<i>T. asperelloides</i>	1	0	0
<i>T. erinaceum</i>	1	0	0
<i>T. sinuosum</i>	1	0	0
<i>T. asperellum</i>	0	1	0
<i>T. gansii</i>	0	1	0
<i>T. atroviride</i>	0	0	1