

Table des matières

LISTE DES ILLUSTRATIONS	15
INTRODUCTION.....	17
PARTIE 1.....	21
<i>STACHYBOTRYS CHARTARUM</i> ET LES SATRATOXINES.....	21
1. Généralités et taxonomie	23
2. Culture	24
<i>2.1. Croissance et morphologie macroscopique des colonies de Stachybotrys chartarum</i>	24
<i>2.2. Aspect microscopique</i>	25
3. Les mycotoxines produites par Stachybotrys chartarum	26
<i>3.1. Nature des mycotoxines</i>	26
<i>3.2. Caractéristiques des mycotoxines de Stachybotrys chartarum</i>	30
4. Autres mycotoxines et métabolites de Stachybotrys chartarum :	34
<i>4.1. Les autres mycotoxines</i>	34
<i>4.2. Les hémolysines</i>	35
<i>4.3. Les protéinases</i>	35
<i>4.4. Les β-D-glucanes</i>	35
<i>4.5. Les drimanes macrocycliques</i>	36
<i>4.6 : Quantification des trichothécènes macrocycliques</i>	36
5. Facteurs de croissance et toxinogénèse	37
<i>5.1. Température</i>	37
<i>5.2. pH</i>	37
<i>5.3. Disponibilité en eau</i>	37
<i>5.4. Croissance sur matériaux de construction et en environnement intérieur</i>	37
PARTIE 2.....	41
IMPACT DE <i>STACHYBOTRYS CHARTARUM</i> ET DES SATRATOXINES SUR LA SANTÉ DES ANIMAUX D'ÉLEVAGE.....	41
1. Définition	43
<i>1.1. Répartition géographique et saisonnière</i>	43
<i>1.2. Réceptivité des animaux :</i>	44
<i>1.3. Doses toxiques :</i>	45

2. Symptômes	46
2.1. Intoxication équine	46
2.2. Intoxication des bovidés	51
3. Lésions	52
4. Traitement.....	53
PARTIE 3.....	55
IMPACT DE <i>STACHYBOTRYS CHARTARUM</i> ET DES SATRATOXINES CHEZ LES ANIMAUX DE LABORATOIRE	55
1. Intérêt de l'étude de l'impact de <i>Stachybotrys chartarum</i> sur les animaux de laboratoires	57
2. Symptômes	57
2.1. Symptômes généraux.....	62
2.2. Symptômes de l'appareil respiratoire.....	63
2.3. Potentiel allergène de <i>Stachybotrys chartarum</i> chez les rongeurs	63
3. Lésions	65
PARTIE 4.....	67
IMPACT DE <i>STACHYBOTRYS CHARTARUM</i> ET DES SATRATOXINES SUR LA SANTÉ HUMAINE	67
1. Exposition de l'Homme.....	69
2. Toxicité liée à l'exposition aérienne	71
2.1. Historique	71
2.2. Analyse des études évoquant l'éventuel impact de <i>Stachybotrys chartarum</i> sur la santé humaine	73
2.3. Symptômes observés chez l'homme, suite à une exposition à <i>Stachybotrys chartarum</i>	77
2.4 <i>Stachybotrys chartarum</i> et Syndrome des bâtiments malsains (<i>Sick building syndrome</i> = <i>SBS</i>):	78
2.5. Difficultés d'interprétation des résultats de ces études.	79
3. Autres toxicités	81
3.1. Toxicité hématologique et immunologique	82
3.2. Autres toxicités.....	82
CONCLUSION	85
BIBLIOGRAPHIE	91

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Liste des figures :

Figure 1 :a) <i>S. chartarum</i> (ST164alpha) et b) <i>S.chlorohalonata</i> (ST 164beta) sur gélose CMA après 10 jours à 25°C (vue de dessous) [Bailly, 2010].....	24
Figure 2: Aspect de <i>Stachybotrys chartarum</i> sur différents milieux de culture [INSP du Québec].....	25
Figure 3: a) <i>Stachybotrys chartarum</i> X 1000 [D’après Texas Department of State Health Service. http://www.esi-texas.com/id2.html], b) <i>Stachybotrys chartarum</i> (vue microscopique X 400) [photo S. Bailly].....	26
Figure 4: Représentation générale des trichothécènes.....	28
Figure 5: Représentation semi-développée de la satratoxine H	29
Figure 6 : Représentation schématique de la voie des MAP kinases et de ses conséquences pour la cellule	33
Figure 7 : Evolution du nombre d’intoxications équine aux satratoxines rapportées au laboratoire de mycotoxicologie de l’ENVT	44
Figure 8 : Desquamation nasale (a) et nécrose labiale (b) chez un cheval exposé au <i>Stachybotrys chartarum</i> [Le Bars, 1996].....	47
Figure 9: Cheval présentant une hémorragie pulmonaire [Benazzou, 1991]	49
Figure 10 : Médiateurs et voies supposées intervenir lors de lésions des poumons suite à l’exposition de rongeurs à <i>Stachybotrys chartarum</i>	64

Liste des tableaux :

Tableau 1: Concentration de différentes toxines dans les spores de <i>Stachybotrys chartarum</i>	28
Tableau 2: Classification des trichothécènes [Bhatnagar et al, 2002].....	29
Tableau 3 : symptômes observés chez les chevaux atteints de stachybotriotoxicose lors d’une épidémie marocaine [Benazzou, 1991].....	50
Tableau 4 : Principaux symptômes observés après exposition de rongeurs de laboratoires à des spores non toxiques <i>Stachybotrys chartarum</i>	59
Tableau 5 : Principaux symptômes observés après exposition de rongeurs de laboratoires à des spores toxiques <i>Stachybotrys chartarum</i>	61
Tableau 6 : Principaux symptômes observés après exposition de rongeurs de laboratoires à des satratoxines de <i>Stachybotrys chartarum</i>	62
Tableau 7 : Etudes visant à évaluer les effets de <i>Stachybotrys chartarum</i> sur l’Homme.....	76

INTRODUCTION

Stachybotrys chartarum est un champignon relativement peu connu en Europe occidentale au contraire des pays de l'Europe de l'Est comme l'Ukraine ou la Russie. *Stachybotrys chartarum* est une moisissure tellurique de l'environnement. Elle est capable de se développer sur des substrats riches en cellulose lorsque leur teneur en eau est importante. Ainsi *Stachybotrys chartarum* est retrouvé dans les fourrages mal conservés ou sur certains matériaux de construction dans des bâtiments ayant subi un dégât des eaux.

Le développement de cette moisissure peut avoir des conséquences, sur la santé des animaux exposés par ingestion d'un aliment contaminé, mais aussi sur la santé humaine, lors d'exposition aux spores fongiques par voie respiratoire principalement.

Ainsi, *Stachybotrys chartarum* est soupçonné de jouer un rôle dans l'apparition de maladies respiratoires chez les personnes habitant ou travaillant dans des édifices ayant des problèmes d'humidité excessive.

Le but de ce travail est, dans un premier temps, de faire le point sur les connaissances disponibles sur *Stachybotrys chartarum* et ses toxines, et de présenter les données permettant d'évaluer l'impact réel de cette espèce fongique sur la santé des animaux et de l'Homme. En effet, depuis quelques années, une augmentation du nombre de suspicions d'intoxications animales (essentiellement de chevaux) a été notée par le laboratoire de mycotoxicologie de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse et l'implication potentielle du *Stachybotrys chartarum* dans le syndrome du bâtiment malsain a mis en évidence le rôle de cette moisissure toxigène dans l'exposition humaine non alimentaire aux mycotoxines.

PARTIE 1.

STACHYBOTRYS CHARTARUM ET

LES SATRATOXINES

1. Généralités et taxonomie

Stachybotrys chartarum est un contaminant ubiquiste retrouvé un peu partout dans le monde : dans le sol et les milieux riches en cellulose (foin, paille, grains, débris végétaux, racines mortes, pulpe de bois, tissus et papiers). Il peut aussi contaminer la canne à sucre, le coton, le ray-grass, le tabac, les isolants mousse, les textiles, et les matériaux se trouvant dans des bâtiments endommagés par l'eau [AFSSA, 2009]. La colonisation de tels substrats est rendue possible par le fort pouvoir cellulolytique de *Stachybotrys*. Cependant, cette moisissure est hygrophile et son développement nécessite une activité hydrique élevée qui pourra être rencontrée lors de défaut de séchage ou de ré-humidification des substrats.

Stachybotrys chartarum est une moisissure de couleur noir verdâtre, ce qui confère aux substrats colonisés une couleur plus sombre. Cependant, *Stachybotrys chartarum* n'est pas la seule espèce fongique noire et le diagnostic nécessite toujours la réalisation d'un examen microscopique. La vitesse de développement de *Stachybotrys* est modérée et il se développera plus facilement en l'absence de compétition avec d'autres espèces fongiques.

Les spores de *S. chartarum* ne se disséminent pas aisément dans l'air parce qu'elles sont produites en petits agrégats recouverts d'un mucilage séché. Elles sont plus facilement dispersées par l'eau (ruissellement, condensation).

Stachybotrys chartarum est un champignon appartenant à la famille des *Dematiaceae*. *Stachybotrys chartarum* était autrefois nommé *S. atra* ou *S. alternans*. Certaines souches de *Stachybotrys spp.* ont des stades télémorphes (stade de reproduction sexuée d'un champignon quand il en existe aussi une forme ou un stade asexué connu) rattachés à trois genres différents : *Chaetosphaeria pomiformis*, *Cordyceps sinensis* et *Melanopsamma pomiformis*.

Il convient de préciser qu'une nouvelle espèce, le *S. chlorohalonata*, a aussi été récemment identifiée. Celle-ci diffère très légèrement de *Stachybotrys chartarum* sur le plan morphologique, car elle produit des spores lisses et un pigment vert. Elle présente aussi une croissance plus lente sur milieu CYA (Czapek Yeast Agar). Sur le plan génétique *S. chlorohalonata* et *S. chartarum* diffèrent pour certaines séquences de gènes *tri5*, *chs1* *tub1* [Andersen et al, 2002]

Les photographies suivantes permettent de comparer l'aspect macroscopique d'une colonie de *Stachybotrys chartarum* et d'une colonie de *Stachybotrys chlorohalonata*. Les photographies sont réalisées après 10 jours de culture à 25°C sur une gélose à la farine de maïs. Les souches proviennent du même échantillon de paille, ayant entraîné des troubles chez des chevaux [Bailly,2010].

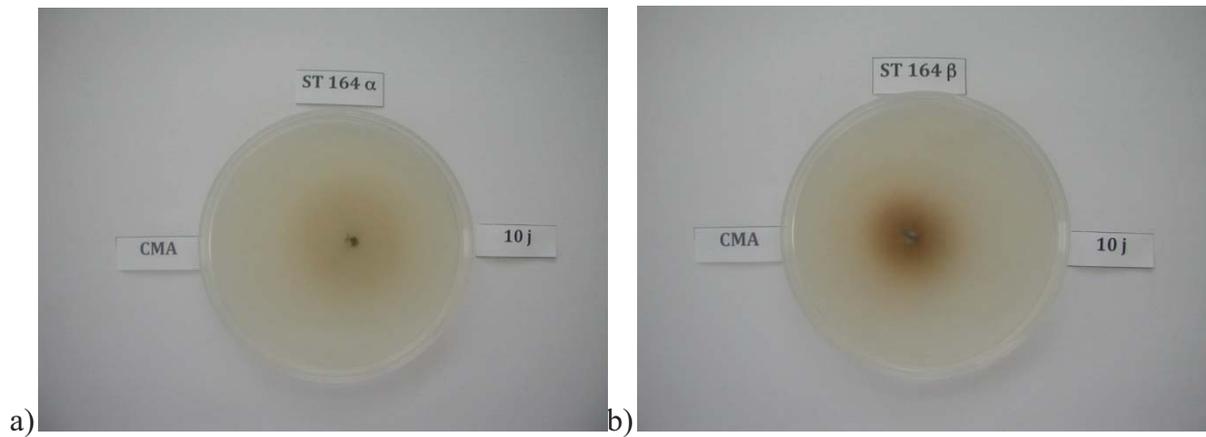


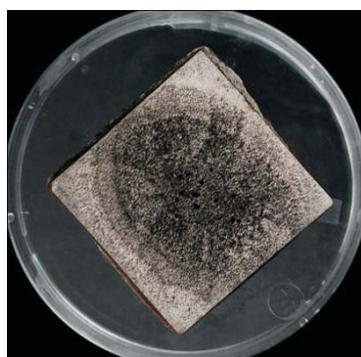
Figure 1 :a) *S. chartarum* (ST164alpha) et b) *S.chlorohalonata* (ST 164beta) sur gélose CMA après 10 jours à 25°C (vue de dessous) [Bailly, 2010]

2. Culture

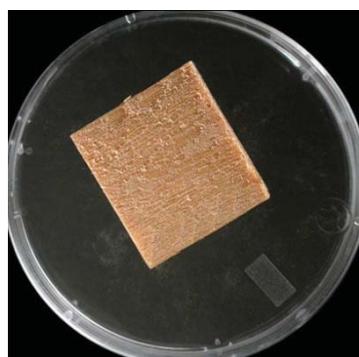
2.1. *Croissance et morphologie macroscopique des colonies de Stachybotrys chartarum*

La croissance des colonies de *Stachybotrys chartarum* est assez lente. Les colonies sporulent en environ 4 jours à condition que les milieux de culture apportent suffisamment d'eau libre.

Lorsque cette moisissure est en croissance active dans un environnement humide, elle est noire avec une apparence brillante et gluante, mais en séchant, elle apparaît rapidement plus poudreuse et peut ressembler à de la suie noire.



Stachybotrys chartarum sur panneau de gypse



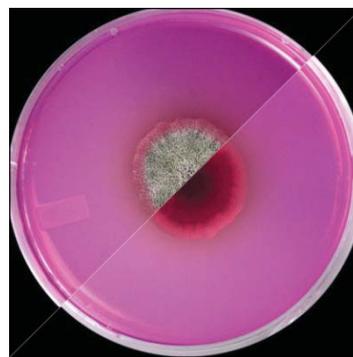
Stachybotrys chartarum sur bois



Stachybotrys chartarum sur panneau cartonné



Stachybotrys chartarum sur
gélose à l'extrait de malt



Stachybotrys chartarum sur
gélose rose bengale

Figure 2: Aspect de *Stachybotrys chartarum* sur différents milieux de culture [INSP du Québec]

Malgré sa croissance facile sur milieux de culture, *Stachybotrys chartarum* est souvent difficilement isolée, car elle croit plus lentement que de nombreuses autres espèces fongiques qui, en se développant vont gêner sa mise en évidence.

Le meilleur milieu de culture pour l'isolement de *Stachybotrys chartarum* est un papier filtre stérile posé sur un milieu Agar non nutritif (milieu FPWA) [Andersen et al., 2002]. Une fois isolé, il peut ensuite être cultivé facilement sur les milieux classiquement utilisés pour la culture fongique. Ainsi, la gélose à la farine de maïs (CMA) et la gélose à l'extrait de malt (MEA) sont les milieux recommandés pour l'identification des *Stachybotrys* [Storey et al., 2004].

Sur le plan macroscopique, les colonies ont un aspect diffus, une texture poudreuse ou cotonneuse. La couleur de la colonie est d'abord blanche puis elle devient noir verdâtre en vieillissant, lorsque les spores apparaissent. Le revers de la colonie est blanchâtre puis noirci [Nikulin et al., 1994 ; INSPQ, 2011 ; AFSSA, 2009].

D'autres milieux tels que le milieu ESA (modification d'Emmon du milieu Sabouraud) et le milieu de flocons de pomme de terre peuvent aussi être utilisés pour cultiver le *Stachybotrys*.

2.2. Aspect microscopique

Les hyphes sont septés (cloisonnés) et peuvent pousser en surface et en profondeur du milieu de culture. Ils peuvent former des cordons. Les agrégats de conidies ressemblent à de larges têtes noires, brillantes et mucilagineuses. En général, les conidies de *S. chartarum* sont foncées, ovales, mesurant en moyenne 4,5 x 9 µm; elles sont hyalines à paroi lisse et deviennent gris olivâtre, verruqueuses à maturité [Le Bars, 1977].

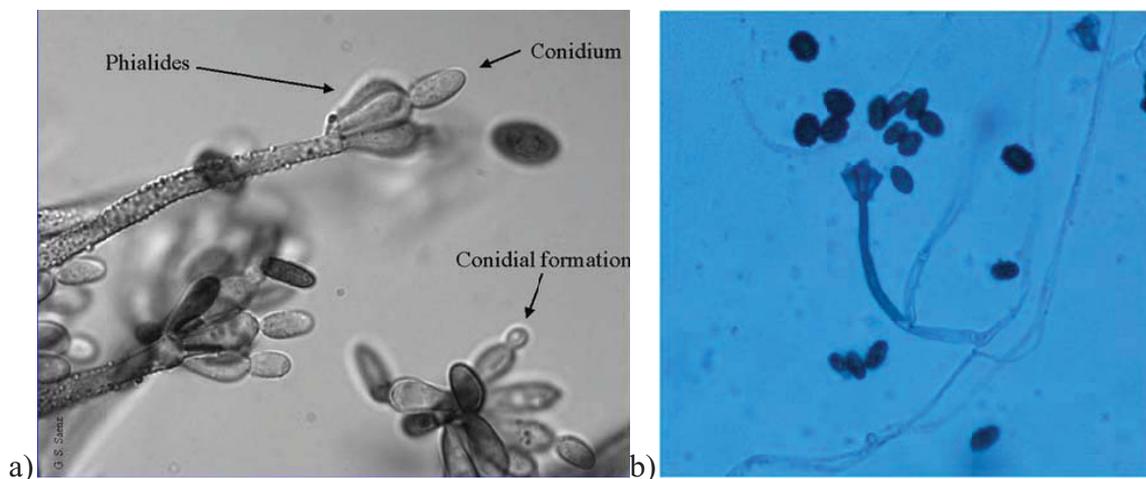


Figure 3: a) *Stachybotrys chartarum* X 1000 [D'après Texas Department of State Health Service. <http://www.esi-texas.com/id2.html>], b) *Stachybotrys chartarum* (vue microscopique X 400) [photo S. Bailly]

Les spores ont un diamètre moyen de 5 μm environ, lorsqu'elles sont dans l'eau, elles relâchent les trichothécènes en quelques minutes [Sorenson et al, 1996 ; Yike and Dearborn 2004].

3. Les mycotoxines produites par *Stachybotrys chartarum*

3.1. Nature des mycotoxines

En 1973, Eppley et Bailey ont été les premiers à isoler les trichothécènes macrocycliques produits par *Stachybotrys chartarum*. *S. chartarum* produit plusieurs types de mycotoxines appartenant aux familles suivantes : satratoxines, roridines, verrucarines et stachyboocines.

Ainsi une revue récente mentionne l'existence de plus de 30 mycotoxines produites par *Stachybotrys*, et qui pourraient avoir un impact sur la santé humaine ou animale compte tenu de résultats obtenus *in vitro* sur des lignées cellulaires [Integrated Laboratory Systems, 2004]

Les satratoxines sont considérées comme les plus délétères des toxines produites par la moisissure même si leur quantité totale est souvent relativement faible : inférieure à 10 mg/kg [Jarvis et al. 1986, Nelson et al. 2001, AFSSA, 2009].

Parmi les autres principaux composés synthétisés on trouve des isosatratoxines F, G et H, des roridines dont la E et des verrucarines. Généralement les souches de *S.chartarum* produisent 40 à 70 % de satratoxine H pour 30 à 40 % d'autres trichothécènes macrocycliques [Bata et al, 1985].

Les données bibliographiques disponibles concernent essentiellement la production des trichothécènes macrocycliques. Comme pour les autres mycotoxines, le potentiel toxigène est une caractéristique de souche et il apparaît qu'environ un tiers des souches de *S.chartarum* produisent des trichothécènes macrocycliques toxiques alors que les autres produisent d'autres composés (trichothécènes non macrocycliques) beaucoup moins toxiques. [AFSSA, 2009]

Les toxines sont produites au niveau des phialides, des conidies et des conidiophores. Les mycotoxines se trouvent dans les spores et le mycélium. Les concentrations retrouvées dans les spores peuvent être élevées (tableau 1). Bien entendu, les quantités de mycotoxines détectées dans les spores et le mycélium dépendent largement de la température et des valeurs a_w de l'environnement dans lequel se développe la colonie et qui vont conditionner directement le métabolisme secondaire des souches fongiques [Sorenson et al., 1996 ; Yike and Dearborn., 2004]

Structure chimique :

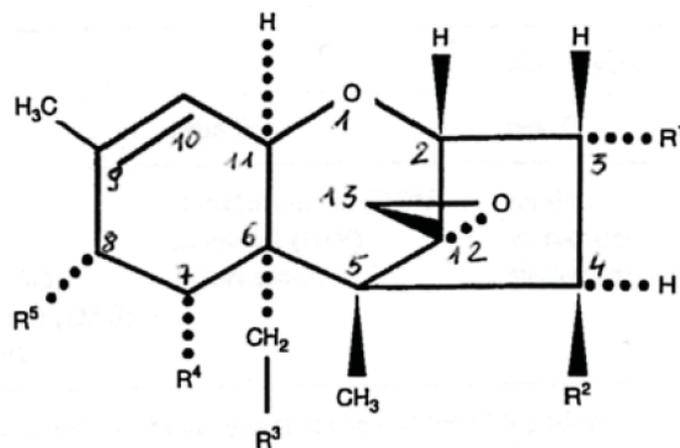
Les trichothécènes se caractérisent par la présence d'une structure de base commune : le système tétracyclique du scirpénol caractérisé par le noyau 12,13-époxy-trichothéc-9-ene. La classification des trichothécènes est établie en fonction de la présence ou l'absence de différents groupes fonctionnels caractéristiques.

Lorsqu'ils présentent un pont macrocyclique d'ester ou ester-éther entre C-4 et C-15, les trichothécènes sont généralement classés comme macrocycliques [(type C) et non macrocycliques (types A et B)].

Toxine	Quantification	Référence
Satratoxine G	4ng/10 ⁵ spores	Nikulin et al, 1996-1997
	1pg/spore	Yike, 2001
Satratoxine H	28 ng/10 ⁵ spores	Leino, 2003
	10 ng/10 ⁵ spores	Nikulin et al, 1996-1997
	6 ng/10 ⁵ spores	Leino, 2003
Trichoverrols A et B	10 ⁵ µg/10 ⁵ spores	Sorenson et al, 1987

Tableau 1: Concentration de différentes toxines dans les spores de *Stachybotrys chartarum*.

La figure 3 présente la structure générale d'un trichothécène et le tableau la classification de ces composés :



Trichothécènes	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
Toxine T-2	OH	OCOCH ₃	OCOCH ₃	H	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
Désoxynivalénol	OH	H	OH	OH	=O
Satratoxines F, G, H	H	MC*	MC*	H	H

Figure 4: Représentation générale des trichothécènes.

*MC= macrocycle, voir figure 2

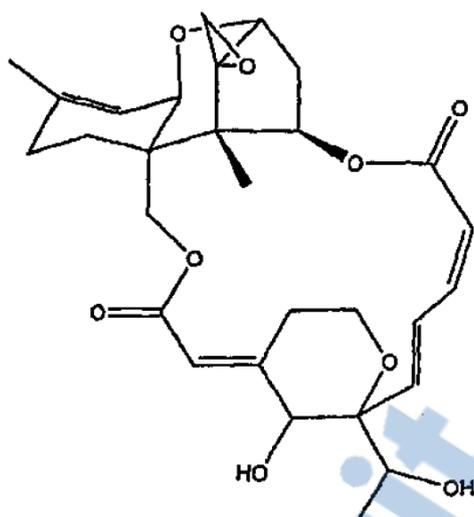


Figure 5: Représentation semi-développée de la satratoxine H

Non macrocycliques		Macrocycliques
Groupe A (Ont un hydrogène ou une chaîne type ester dans la position C-8)	Groupe B (ont un groupement cétone en position C-8)	Groupe C (ont un anneau macrocyclique)
Toxine T2 Toxine HT-2 Diacétoxyscirpénol T-2	Désoxynivalénol (ou vomitoxine) Nivalénol Fusarénone X	Verrucarrines Satratoxines Roridines

Tableau 2: Classification des trichothécènes [Bhatnagar et al, 2002]

Andersen et coll., (2002 et 2003) ont montré qu'il existe 2 chémotypes (différents de *Stachybotrys chartarum*). Ces deux chémotypes sont identifiés par leur production de métabolites. Ils présentent 1 nucléotide de différence pour les gènes *tri5* et *chs1*.

Le chémotype S produit des trichothécènes macrocycliques, des satratoxines (figure 3 et 4) et des roridines mais pas d'atranones. Le chémotype A produit des atranones et des dolabellanes (précurseurs des atranones) mais pas de trichothécènes macrocycliques.

Par contre certaines souches des deux chémotypes peuvent générer des trichothécènes simples : trichodermol et/ou trichodermine et des spirodrimananes (drimananes spirocycliques).

Les souches de *Stachybotrys chartarum* produisant des atranones (ie du chémotype A) ne sont pas toxiques envers les macrophages, mais provoquent des réponses inflammatoires intenses et sont des inhibiteurs modérés de la synthèse des protéines [Andersen et al., 2002 et 2003].

Les souches de *Stachybotrys chartarum* produisant les trichothécènes macrocycliques (ie du chémotype S) ne provoquent pas de réponse inflammatoire, mais chez ils sont très toxiques pour les macrophages et sont des inhibiteurs puissants de la synthèse des protéines. Leurs propriétés cytotoxiques sont très marquées [Andersen et al, 2002 et 2003].

Environ 30 à 40 % des souches de *Stachybotrys chartarum* sont productrices de drimanes spirirocycliques aux propriétés immunosuppressives [Andersen et al, 2002 et 2003].

3.2. Caractéristiques des mycotoxines de *Stachybotrys chartarum*

3.2.1. Stabilité

La toxicité des trichothécènes macrocycliques n'est pas altérée ni par la lumière du soleil, ni par les rayons ultraviolets ni les rayons X. Ces composés résistent jusqu'à une température de 120 °C ainsi qu'aux acides. Par contre, les trichothécènes sont sensibles aux produits alcalins et cette propriété peut parfois être utilisée pour la décontamination des habitats.

3.2.2. Propriétés toxicologiques et toxicocinétiques :

- Absorption :

De façon générale, chez les mammifères monogastriques (porc, souris rat), l'absorption digestive des trichothécènes macrocycliques est assez rapide (de l'ordre d'une demi-heure à une heure), et intense lors d'administration par voie orale [Prelusky et al., 1988, Poapolathep et al., 2003, Conrady-Lorck et al., 1988, Bauer et al., 1985 cité par Grevet, 2004].

Lorsqu'elles sont dissoutes dans un solvant tel que le DMSO (diméthyl-sulfoxyde), les trichothécènes traversent facilement la peau pour pénétrer dans l'organisme. Par contre, en l'absence de solvant, moins de 1% de la dose parvient à traverser l'épiderme et le derme. Cependant, il existe une importante dermatotoxicité par contact [Grevet, 2004]. Ces toxines sont d'ailleurs couramment appelées trichothécènes dermonécrosants.

- Distribution tissulaire et plasmatique :

D'une manière générale, quelles que soient l'espèce et la voie d'administration, les trichothécènes sont largement et rapidement distribués dans l'organisme.

Les volumes de distribution des trichothécènes macrocycliques sont importants et peuvent s'expliquer par une très large diffusion dans l'organisme, un effet de capture important par le foie et une séquestration spécifique par certains tissus [Prelusky & Trenholm, 1991, cité par Grevet, 2003].

- Métabolisme :

Le métabolisme subi par les trichothécènes sous l'action de la flore digestive, du foie et de l'intestin est très intense. Ces biotransformations sont dominées par des hydrolyses et des oxydations ainsi que la désoxydation de l'époxyde chez le rat, le porc et les ruminants. Ces voies métaboliques correspondent dans l'ensemble à une détoxification, puisque les composés oxydés se révèlent 2 à 10 fois moins toxiques que les composés originaux et que les composés perdant l'époxyde ne sont quasiment plus toxiques [Grevet, 2004].

- Excrétion :

L'excrétion des trichothécènes se fait principalement par la voie biliaire, sous forme de glucuronoconjugués. L'excrétion urinaire existe aussi, mais de façon moins importante. Elle est souvent à l'origine d'un cycle entéro-hépatique [Grevet, 2004].

3.2.3. Mécanisme d'action :

Les trichothécènes macrocycliques (type C) sont au moins 10 fois plus cytotoxiques que les trichothécènes du type A, eux-mêmes dix fois plus toxiques que les trichothécènes du type B [Nielsen 2002].

Les trichothécènes macrocycliques sont des inhibiteurs de la synthèse protéique qui ont pour cible principale les cellules présentant une activité mitotique élevée, telles que les leucocytes et les cellules des épithéliums [Chung et al., 2003 cité par AFSSA, 2009].

Ils interagissent directement avec les ribosomes ce qui conduit à une inhibition de l'initiation et de l'élongation lors de la traduction [Lee et al., 1999 cité par AFSSA,2009].

Les effets toxiques de trichothécènes macrocycliques pourraient également résulter d'une modification de production de cytokines, notamment de l'interleukine 2. Les satratoxines G, isosatratoxines F, satratoxines H roridines A et verrucarines A si elles sont administrées à faibles doses, stimulent fortement la production d'interleukine 2 et diminuent la viabilité cellulaire des EL-4 thymoma (modèle murin de lymphocytes T4), tandis qu'à fortes doses, tant la production de cytokines que la viabilité cellulaire sont inhibées. La roridine A et la verrucarine A semblent être les plus immunotoxiques suivies par la satratoxine G puis la satratoxine H et l'isosatratoxine F. L'étude montre par ailleurs que les trichothécènes macrocycliques sont au moins 100 fois plus toxiques que le déoxynivalénol [Lee et al, 1999 cité par AFSSA, 2009].

Une étude de Chung et al., (2003) a montré que la satratoxine G induit l'expression de la MIP-2 (macrophage inflammatory protein-2) ainsi que la transcription de son ARNm. La MIP-2 est une chémokine responsable du chémotactisme des neutrophiles sur le lieu de l'inflammation. L'augmentation de l'expression de MIP-2 et l'accumulation des neutrophiles provoquent des dommages tissulaires ainsi qu'une inflammation.

La cytotoxicité des trichothécènes macrocycliques est associée à un processus d'apoptose dans lequel l'activation des MAPK (mitogen activated protein kinase) jouerait un rôle. Toutefois les mécanismes par lesquels les trichothécènes activent ces protéines restent mal connus [Yang et al., 2000].

La voie générique des MAP kinases est résumée ci-après. Elle permet de mieux visualiser l'action des trichothécènes dans cette voie.

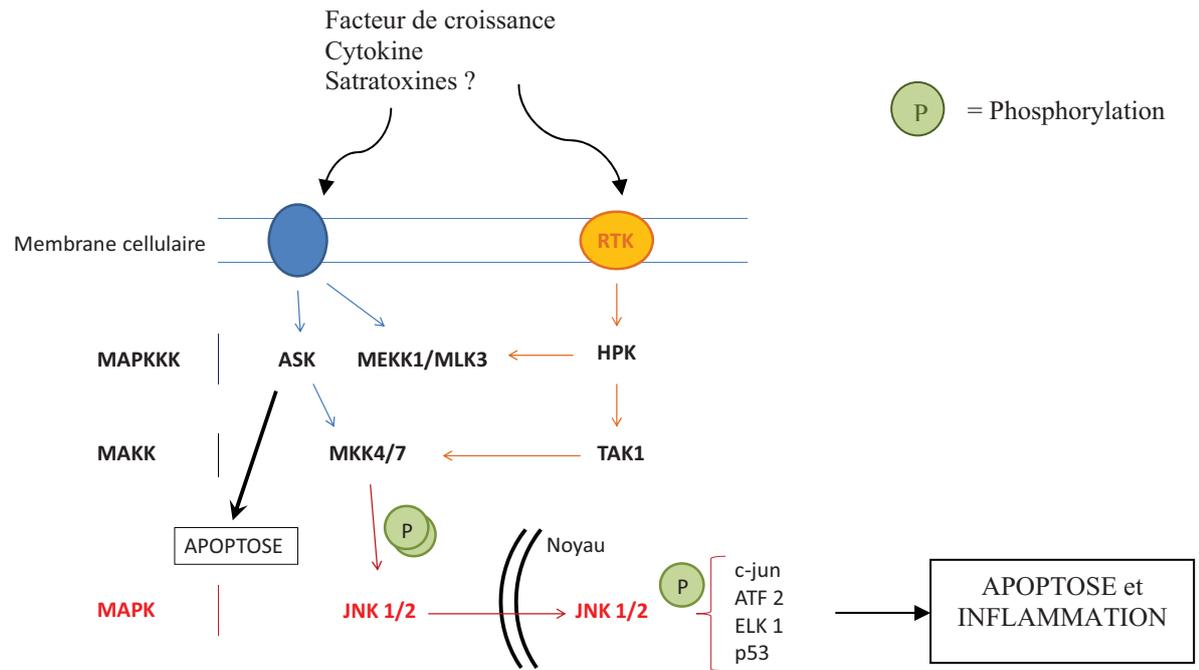


Figure 6 : Représentation schématique de la voie des MAP kinases et de ses conséquences pour la cellule

La cascade des MAP Kinase consiste en l'activation successive d'une série de trois protéines kinases : MAPKKK, MAPKK et MAPK kinase. Il existe trois cascades pouvant conduire à différents effets cellulaires et faisant intervenir différentes MAP kinase. Selon l'effecteur à l'origine de l'initiation de l'activation, les MAPK auront une cible et donc un effet différent : selon Yang et al., (2000) les satratoxines semblent être responsables d'apoptose cellulaire.

Celle qui est illustrée ici met en jeu la JNK (c-jun N terminal Kinase). La cascade débute par l'activation des MAPKKK comme l'ASK1 (Apoptosis Signal regulating Kinase) la MEKK1 ou la MLK3 (Mixed lineage kinase). L'activation est réalisée par une petite protéine liant un GTP (protéine de la famille Rho). L'HPK (hématopoïétique progenitor kinase 1) est un activateur de MAPKKK lui-même activé par les récepteurs tyrosine kinase (RTK).

Ces MAPKKK activent les MAKK c'est-à-dire la MKK4 et la MKK7. Ces dernières activent à leur tour une MAPK, la JNK, par une double phosphorylation. La JNK activée est transloquée dans le noyau où elle active des facteurs de transcription par phosphorylation (c-jun, ATF 2, ELK1 et p53). Ceux-ci induisent alors l'apoptose et une inflammation.

Yang et al, 2000 ont montré que la satratoxine G serait capable d'activer cette voie mais le mode d'action précis reste encore inconnu.

Les relations dose-effet des trichothécènes de *Stachybotrys chartarum* sont encore méconnues du fait des difficultés de production et d'isolement de ces toxines sous forme purifiées [Rao et al., 2000, Servantie et al., 1985, cité par AFSSA, 2009]. Les DL50 chez la souris dépendent de la nature de la toxine et de la voie d'exposition. Elles peuvent aller de 1 à 7 mg/kg p.c. La satratoxine H est la plus cytotoxique des trichothécènes macrocycliques aussi bien par voie orale que par inhalation [Bata et al., 1985].

4. Autres mycotoxines et métabolites de *Stachybotrys chartarum* :

D'autres composés sont présents dans les spores de *Stachybotrys chartarum* et ils participent également à certains signes cliniques observés.

De plus, d'autres métabolites, qui ne sont pas des mycotoxines, peuvent aussi avoir des effets biologiques chez les organismes exposés. Il s'agit notamment des hémolysines, des protéinases, des glucans, des drimanes spirocycliques et des composés organiques volatils.

4.1. Les autres mycotoxines

La deuxième grande famille de mycotoxines qui contribue aux divers effets sur la santé est la famille des atranones. Ces atranones sont des dollabellanes diterpènes.

Sept atranones différentes ont été identifiées en 2000 par Hinkley et al. (cité par Andersen, 2002). Selon Nielsen et al, (2002), ces composés seraient principalement impliqués dans les phénomènes inflammatoires alors que la cytotoxicité serait attribuable aux satratoxines.

L'étude de Flemming et al. (2004) et Hudson et al. (2005) a montré que la réponse des poumons aux spores des souches produisant des atranones, est différente de celle observée après exposition aux spores des souches produisant des satratoxines. En effet, les satratoxines déclenchent une inflammation en 24 heures, puis l'inflammation diminue graduellement, alors que les atranones provoquent une inflammation 96 heures après l'exposition. A priori, ce constat est attribuable aux propriétés pharmacocinétiques de ces 2 toxines. Cependant dans cette étude, il n'a pas été montré clairement si l'inflammation était due uniquement aux atranones ou si d'autres substances telles que des protéinases ou des glucans étaient aussi impliquées.

4.2. Les hémolysines

Les hémolysines sont des endotoxines capables de détruire les globules rouges. Parfois ces hémolysines sont aussi capables de détruire les globules blancs.

Les hémolysines peuvent être retrouvées dans les spores de plusieurs espèces fongiques et notamment dans celles de *Stachybotrys chartarum* [Vesper and Vesper, 2002] ont montré que la stachylisine, une hémolysine présente chez *Stachybotrys chartarum*, provoquait des hémorragies chez les annélidés.

La plupart des hémolysines sont des protéines mais parfois peuvent être des rhamnolipides (tensioactif lipidique). Dans le cas de *Stachybotrys chartarum*, la nature des hémolysines n'est pas précisée.

4.3. Les protéinases

Les protéases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse de la liaison peptidique. Celles dont la stratégie catalytique implique l'intervention d'un résidu sérine très réactif constituent le groupe des protéases à sérine. Des études suggèrent la présence de protéase à sérine dans les spores de *S. chartarum*. Leur quantité varie en fonction de la croissance et de l'isolat [Yike et al., 2007, cité par Pestka, 2008].

Les protéases fongiques participent aux phénomènes inflammatoires en se fixant sur des récepteurs activés par des protéases. La protéase la mieux caractérisée est la stachyrase A. Elle peut hydrolyser plusieurs types de collagène, des inhibiteurs des protéinases pulmonaires et plusieurs neuropeptides [Kordula et al, 2002].

4.4. Les β -D-glucanes

Les β -glucanes sont des polysaccharides de D-glucose reliés par des liaisons bêta. Les liaisons peuvent être bêta 1-3, bêta 1-4 ou bêta 1-6. Les β -glucanes sont un groupe diversifié de molécules. On les trouve essentiellement dans la cellulose des plantes, le son des céréales, certains champignons et bactéries.

Ainsi les β -D-Glucanes sont des composants communs à tous les champignons et notamment à *S.chartarum*. Ils accentuent les effets inflammatoires [Beijer et al., 2002 ; Young et al.,2003].

4.5. Les drimanes macrocycliques

Les drimanes spirocycliques produites par *S.chartarum* en assez grande quantité sont aux nombres de 40. Cette famille comprend les spironolactames et les spironolactones. Ces molécules participent à l'inhibition des enzymes protéolytiques, perturbent le complément, inhibent la production du TNF α , l'antagoniste du récepteur à l'endothéline, ils stimulent le plasminogène, la fibrinolyse, la trombolyse ainsi que les effets cytotoxiques et neurotoxiques [Andersen, 2002 ; Nielsen et al., 2002]

Quant aux composés organiques volatils, ils causent une irritation, une bronchoconstriction et une irritation pulmonaire, mais qui semble tout à fait négligeable.

Les effets combinés de toutes ces molécules et des trichothécènes macrocycliques peuvent s'associer à d'autres facteurs environnementaux. Par exemple le LPS provenant des bactéries Gram négatif potentialise la toxicité des trichothécènes, entraînant des lésions plus importantes et une mortalité plus élevée chez les souris [Andersen et al., 1997].

4.6 : Quantification des trichothécènes macrocycliques

Plusieurs méthodes analytiques ont été développées pour quantifier les différentes mycotoxines produites par *Stachybotrys chartarum*.

Les premières techniques décrites sont basées sur la séparation d'extraits méthanoliques par chromatographie sur couche mince (solvant de migration : acétate d'éthylhexane 70 :30) puis révélation des toxines par pulvérisation des plaques avec du 4-pa-nitrobenzyl-pyridine [Jarvis et al., 1986].

Puis d'autres techniques basées sur la chromatographie liquide haute pression (HPLC) éventuellement couplée à la spectrométrie de masse ont été mises au point [Jarvis et al., 1998 ; Bloom et al., 2007]. L'intérêt de ces méthodologies est leur plus grande sensibilité ainsi que leur spécificité. Ainsi, elles rendent possible la détection des toxines directement à partir de prélèvements d'air intérieur. La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse rend aussi possible la multidétection de plusieurs mycotoxines à partir du même échantillon et après une phase d'extraction commune [Nielsen et al., 2003]. Néanmoins, leur utilisation pratique se heurte désormais à l'absence de standards disponibles pour la plupart des toxines de *Stachybotrys*. Ainsi, seules la verrucarine A et la roridine sont disponibles commercialement.

Récemment, un Kit ELISA de détection de l'ensemble des trichothécènes macrocyclique a été développé et est désormais disponible [Chung et al., 2003].

5. Facteurs de croissance et toxinogénèse

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires. Leur production est donc étroitement liée au développement fongique, mais ne sera observée que dans des conditions environnementales plus étroites que celles permettant la croissance des moisissures. Les paramètres qui modifient le développement fongique vont donc aussi directement influencer la production de mycotoxines.

Comme tout micromycète, *Stachybotrys chartarum* se développera lorsque certaines conditions environnementales sont réunies. Les facteurs influençant sa croissance sont décrits ci-après.

5.1. Température

Ce mycète est mésophile c'est-à-dire qu'il se développe à des températures allant de 2 à 40°C avec une croissance optimale de 23°C-27°C [Nikulín et al., 1994].

5.2. pH

Stachybotrys chartarum se développe de façon optimale à un pH compris entre 5,6 et 6,0, mais il peut croître dans une gamme de pH comprise entre 3,0 et 9,8 [Le Bars, 1977].

5.3. Disponibilité en eau

Stachybotrys chartarum est une moisissure hygrophile, c'est à dire qu'elle exige une très grande quantité d'eau libre pour croître : a_w d'au moins 0,94 (activité optimale > 0,98).

5.4. Croissance sur matériaux de construction et en environnement intérieur

Stachybotrys chartarum est une moisissure qui peut, grâce à son fort pouvoir cellulolytique, se développer sur des substrats ayant une teneur élevée en cellulose. Ainsi, des substrats tels que le foin, la paille, l'osier et les morceaux de bois, mais aussi beaucoup d'autres matériaux de construction comme les panneaux cartonnés de plafond, les panneaux de gypse, les papiers pare-vapeur, les papiers peints, les supports d'isolation, les panneaux de fibre agglomérée, les recouvrements en papier des panneaux de gypse, les panneaux de particules et le bois ainsi que sur des objets communs tels que les boîtes de carton, les documents papier, le jute permettent la croissance de cette espèce fongique, à condition que l'activité hydrique y soit suffisante.

Ainsi, ce mycète a pu être isolé à partir d'échantillons d'air provenant de bâtiments endommagés par des infiltrations d'eau. Shelton *et al.* ont étudié la flore fongique pouvant être observée en milieu extérieur et à l'intérieur de bâtiments dans diverses régions des États-Unis. Ils ont montré que *Stachybotrys chartarum* était présent dans 0 à 27 % des bâtiments, alors qu'il n'était présent que dans moins de 2 % des échantillons d'air extérieur.

À l'intérieur des bâtiments, *Stachybotrys* se développe surtout sur des surfaces recouvertes de papier, qui ont été humidifiées, soit par une pénétration directe d'eau, soit par une condensation importante à la surface du matériau. Ainsi, les panneaux de gypse utilisés fréquemment pour les murs et les plafonds intérieurs, s'ils sont fortement mouillés, peuvent être colonisés par *Stachybotrys*. À une humidité relative se situant entre 84 % et 100 %, ce mycète se développe rapidement sur le papier peint et le placoplâtre et peut même y produire des mycotoxines. En raison de ses caractéristiques écologiques, la présence du *Stachybotrys* dans les bâtiments peut donc être un excellent indicateur de l'existence de dommages chroniques occasionnés par l'eau.

Comme les spores de *S. chartarum* sont habituellement recouvertes de mucilage séché, l'aérosolisation de ces dernières dans l'air ambiant se produit seulement une fois que les colonies sont desséchées et qu'elles deviennent plus sensibles aux mouvements d'air. Ceci explique qu'il est souvent difficile de trouver du *Stachybotrys* dans les échantillons d'air intérieur, sauf si une agitation mécanique des zones contaminées est venue mettre les spores en suspension. Par ailleurs, les spores meurent rapidement en séchant et une grande proportion des spores aéroportées ne sont plus viables. Toutefois, les spores mortes peuvent toujours être vecteur de mycotoxines.

Plusieurs études ont démontré la contamination possible des habitations et des bâtiments par cette moisissure.

- *S. chartarum* a été identifié en moyenne dans 6 % des 12 000 échantillons d'air provenant de 1 717 bâtiments situés sur l'ensemble du territoire américain [Shelton et al., 2002]

- Une étude a été réalisée sur 200 maisons ayant subi un dégât des eaux, dans la région de Houston au Texas. 9,6 % des 821 échantillons d'air prélevés à l'intérieur des pièces se sont avérés positifs pour *Stachybotrys* sp., alors que la moisissure était retrouvée sur 28 % des échantillons prélevés dans les cavités murales et 2,7 % des échantillons d'air extérieur. Le décompte médian des spores était de 13 ufc/m³ pour l'air extérieur, de 53 ufc/m³ pour l'air des pièces et de 14,190 ufc/m³ pour l'air des cavités murales. Cette étude a permis de conclure que les spores de *Stachybotrys* détectées dans les cavités des murs ne contribuaient pas de façon significative à la contamination de l'air des pièces [Kuhn et al., 2005]
- Une autre étude, réalisée cette fois-ci au Danemark, sur 72 échantillons de matériaux de construction provenant de 23 bâtiments a montré que les fuites d'eau, une humidité importante, ou des installations de plomberies défectueuses étaient les principales anomalies responsables de la présence de moisissures dans ces bâtiments. Les genres fongiques les plus fréquemment rencontrés sont *Penicillium* (68%), *Aspergillus* (56%), *Chaetomium* (22%), *Ulocladium*, (21%), *Stachybotrys* (19%) et *Cladosporium* (15%). *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus versicolor*, et *Stachybotrys chartarum* sont les espèces les plus fréquentes d'une manière générale. Ainsi *S. chartarum* est la moisissure la plus fréquemment identifiée sur les échantillons de matériaux, suivie d'*A. versicolor*. De plus, des mycotoxines appartenant à la famille des trichothécènes ont été détectées sur les différents types de matériaux de construction naturellement contaminés par le *Stachybotrys* [Gravesen et al., 1999].
- Une enquête réalisée dans 24 écoles finlandaises endommagées à l'occasion de différents dégâts des eaux et 8 écoles saines a montré que le *Stachybotrys* était trouvé plus fréquemment dans les échantillons prélevés dans les écoles présentant des problèmes d'humidité que dans les écoles témoins, ce qui confirme bien son statut d'indicateur de l'humidité. Des mycotoxines ont aussi été retrouvées dans des bâtiments contaminés par des moisissures à des concentrations nettement plus élevées que dans des bâtiments témoins [Meklin et al., 2002].

- Dans une autre étude finlandaise, 15 des 79 échantillons (19 %) de matériaux de construction, moisissus à la suite d'un dégât des eaux, contenaient des quantités décelables de trichothécènes variant de 2,5 à 3 500 ng/g. Il est cependant important de noter que les métabolites et les composés organiques volatils (COV) sont produits en moins grandes concentrations sur des matériaux de construction (comme les panneaux de gypse) que sur des milieux de culture synthétiques; cette différence est probablement liée à la valeur nutritive des substrats [Gao et al., 2002].

Stachybotrys chartarum est donc une moisissure que l'on trouve très souvent, notamment dès que le substrat est suffisamment humide et riche en cellulose. Ainsi il peut aussi contaminer facilement les fourrages mal conservés et être ensuite ingéré par des bovins, ovins ou encore des chevaux.

Les effets, sur la santé des animaux de rente, d'une telle ingestion sont décrits dans la partie ci-après.

PARTIE 2.

IMPACT DE *STACHYBOTRYS* *CHARTARUM* ET DES SATRATOXINES SUR LA SANTÉ DES ANIMAUX D'ÉLEVAGE

1. Définition

La Stachybotryotoxicose est la mycotoxicose qui se développe à la suite de l'ingestion d'un aliment contaminé par des toxines produites par une souche toxigène de *Stachybotrys chartarum* lors de son développement. Elle peut affecter toutes les espèces animales, mais le cheval semble l'espèce la plus sensible.

Historiquement, cette intoxication, bien décrite sur le plan symptomatique, mais pour laquelle l'origine toxique n'était pas connue, était appelée « maladie d'étiologie inconnue ». Ce nom fut remplacé ensuite par « maladie massive » à cause de son allure extensive, et c'est en 1938 qu'elle fut classée comme mycotoxicose par les chercheurs russes [Le Bars, 1977].

1.1. Répartition géographique et saisonnière

Cette toxicose a été décrite pour la première fois en Ukraine en 1931. Après ce premier épisode, celle-ci a pris l'allure d'une enzootie pendant environ une décennie, puis seuls des cas sporadiques ont continué à se manifester dans les pays d'Europe de l'est. Les principaux pays touchés étaient l'Ukraine, la Bulgarie, l'ex-Tchécoslovaquie et la Hongrie. C'est en 1976 que les premiers cas ont été diagnostiqués en France, chez un troupeau de daims. Il convient de souligner que cette toxicose peut prendre plusieurs formes cliniques et reste très peu connue en Europe de l'Ouest. Aussi, il est fort probable qu'elle soit sous-diagnostiquée. Ainsi, depuis quelques années, de nombreux cas cliniques ont été rapportés en France, principalement sur des équidés, mais aussi sur des ruminants [Bailly et al., 2010] (figure 5).

Cette augmentation du nombre de cas pourrait être liée :

- à un diagnostic plus sensible de la contamination des aliments
- à une véritable augmentation des cas cliniques. Cette dernière hypothèse pourrait quant à elle être mise en relation avec certaines évolutions des pratiques agricoles et notamment le stockage du foin en grosses balles de plusieurs centaines de kilos qui ne sont pas stockées à l'abri des intempéries. En effet, la ré-humidification qui ne manque pas de survenir lors de pluies, pourrait favoriser le développement du *Stachybotrys chartarum*.

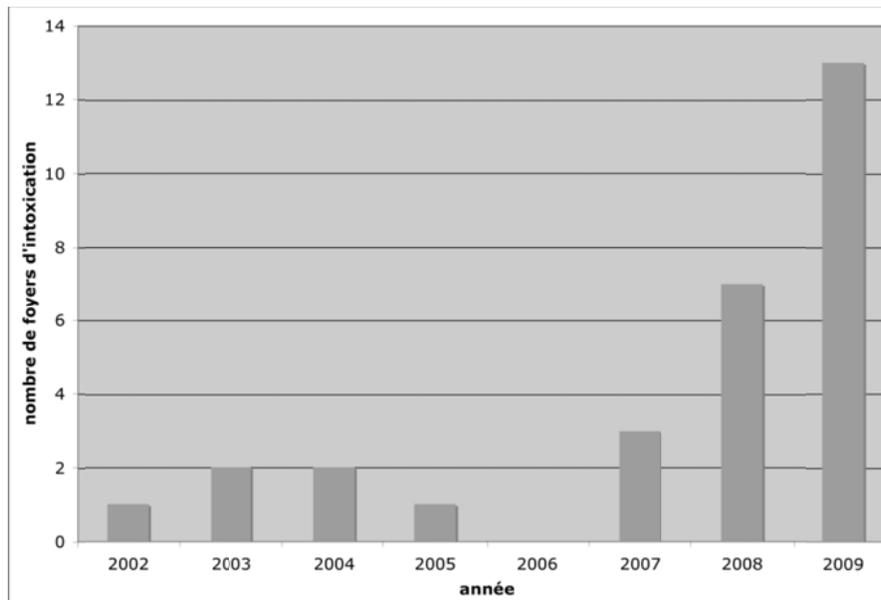


Figure 7 : Evolution du nombre d'intoxications équines aux satratoxines rapportées au laboratoire de mycotoxicologie de l'ENVT

Il a été assez rapidement identifié que cette maladie est saisonnière, puisque les premiers cas apparaissent toujours après la rentrée à l'étable. La mortalité est généralement la plus élevée entre février et avril.

Néanmoins, en fonction du climat et des conditions météorologiques de la zone ou du pays où la maladie se déclare, des décalages peuvent survenir. Par exemple, dans la plaine du Gharb au Maroc, une intoxication massive d'équidés s'est déclarée entre mi-octobre et fin décembre [Benazzou, 1997].

1.2. Réceptivité des animaux :

Tous les organismes animaux sont sensibles à la Stachybotryotoxicose. Ainsi plusieurs espèces ont été utilisées pour étudier les effets des satratoxines, par exemple des crustacés (*Artemia salina*), des embryons de poule, des rats, des souris et des cobayes. Lors de contamination naturelle, les chevaux semblent les plus sensibles. Cependant, des cas ont aussi pu être rapportés chez le poulet, l'oie, le lapin, le porc, les ovins et les bovins [Le Bars., 1977].

A priori, l'organisme humain est aussi sensible à ces toxines. L'implication du *Stachybotrys chartarum* dans certaines pathologies humaines est d'ailleurs suspectée (voir partie 4).

Lors de contamination naturelle, l'exposition des animaux fait le plus souvent suite à la consommation d'un aliment toxique, c'est-à-dire contaminé par les toxines produites par *Stachybotrys chartarum*. Ainsi, la voie de pénétration des toxines dans l'organisme est essentiellement digestive. L'inhalation de spores ou de poussières contaminées par des spores fongiques peut aussi entraîner une exposition aux toxines, mais l'importance de cette voie d'exposition reste difficile à établir.

1.3. Doses toxiques :

Les doses toxiques ne sont pas encore connues avec précision, mais on sait par exemple que 100 grammes de paille contaminée peuvent entraîner la mort d'un porc de 56 kg en 12 heures et que 171 grammes de paille contaminée provoquent la mort d'une brebis en 25 heures [Forgacs et Carll, 1962]. Cependant, il n'existe pas de reproduction expérimentale de la maladie permettant de préciser avec exactitude les effets doses. De plus, la plupart des souches de *Stachybotrys chartarum* sont capables de produire plusieurs toxines différentes. Aussi, les symptômes observés sont certainement associés à l'exposition à un mélange de plusieurs toxines. Ainsi, les différentes formes cliniques pouvant être observées chez les animaux pourraient être liées à :

- l'exposition à une seule toxine, la variation de la concentration dans les aliments entraînant l'apparition d'effets variables
- l'exposition à des toxines différentes en fonction du potentiel toxinogène de la souche contaminant les aliments (voir précédemment l'existence des différents chémotypes)
- l'exposition à des mélanges de toxines. Dans ce cas, ce sont des variations dans la nature et la proportion des différents constituants du mélange de toxines qui pourraient expliquer les différentes formes cliniques observées.

2. Symptômes

Les articles décrivant les symptômes de la Stachybotryotoxicose chez les animaux d'élevage sont relativement peu nombreux et ils concernent essentiellement les équidés. Ces différentes descriptions rapportent l'existence de plusieurs formes cliniques.

2.1. Intoxication équine

Chez le Cheval la Stachybotryotoxicose se présente sous deux formes : une forme typique (qui évolue en trois phases) et une forme atypique (évoluant en une seule phase). À l'heure actuelle, on ne sait pas si l'émergence d'une forme clinique ou de l'autre dépend de la quantité de toxine ingérée, de la nature des toxines présentes dans les aliments ou bien de différentes sensibilités individuelles des animaux à ces composés toxiques.

- *FORME TYPIQUE ou FORME AIGUË:*

Cette forme apparaît lorsque le cheval a ingéré de façon prolongée des quantités sublétales de l'aliment contaminé.

Phase 1 :

Dans les 2 à 10 jours après le début de l'exposition, les premiers signes visibles sont une stomatite et une nécrose des commissures labiales (figure 6).

Dans certains cas, l'intoxication peut aussi entraîner une toux nocturne et un jetage séreux discret.

Souvent ces signes sont accompagnés de sialorrhée et de conjonctivite pouvant évoluer vers l'apparition de foyers hémorragiques au niveau de la troisième paupière [Benazzou et al., 1991]. Lors de cette phase, si on retire l'aliment toxique, la rémission de l'animal est possible en quelques semaines.

À ce stade, les signes généraux sont absents et le cheval garde un bon appétit.



Figure 8 : Desquamation nasale (a) et nécrose labiale (b) chez un cheval exposé au *Stachybotrys chartarum* [Le Bars, 1996]

Phase 2 :

Si l'exposition persiste, des troubles généraux s'installent : hyperthermie (39.8 à 41.4°C), appétit diminué, apathie. Les crottins sont peu nombreux, secs, peu abondants et accompagnés de ténésme.

Les troubles déjà présents lors de la première phase s'accroissent : le jetage nasal devient épais et forme des croûtes au niveau des ailes du nez. Des ulcérations nasales apparaissent et la stomatite est de plus en plus marquée.

D'autre part, des troubles hématologiques surviennent : des hémorragies spectaculaires caractérisées par de l'épistaxis apparaissent, des pétéchies et des suffusions se dessinent sur les différentes muqueuses (conjonctivale, nasale, labiale, vaginale), parfois même du sang en nature est retrouvé dans les selles. Les hémorragies cutanées se manifestent sous forme de grand sillon le long des fissures cutanées au niveau des membres et de la tête [Benazzou et al., 1991].

Ces symptômes s'accompagnent de modifications des paramètres hématologiques. On note une thrombocytopénie, une leucopénie et un accroissement du temps de coagulation et de rétractation du caillot.

Cette phase dure environ 15 à 20 jours [Le Bars, 1977].

Pendant cette période, il apparaît fréquemment des troubles sécrétoires comme du ptyalisme et un larmolement, ainsi que des troubles circulatoires qui se manifestent par de l'œdème labial et pulmonaire.

Cette liste de symptômes n'est pas exhaustive mais répertorie les symptômes rencontrés dans plus de 80 % des cas [Benazzou et al., 1991].

Phase 3 :

Lors de cette phase, la dyscrasie sanguine s'accroît fortement. L'hyperthermie installée lors de la phase précédente est souvent fatale en 1 à 6 jours. Le pouls devient faible et irrégulier.

Les animaux peuvent aussi à ce stade présenter des coliques et une aggravation du tableau clinique et notamment une dyspnée avec odeur nauséabonde de l'air expiré (dans 29 % des cas) [Benazzou et al., 1991].

Lors de cette phase, des infections secondaires peuvent compliquer le tableau clinique. Puis le cheval passe en décubitus et meurt rapidement.

- *FORME ATYPIQUE ou FORME SURAIGUE :*

Cette seconde forme semble associée à l'ingestion d'une dose importante de toxines. Les principaux signes cliniques qui sont visibles sont alors des signes nerveux. On note principalement des pertes des réflexes, une hyperesthésie, de l'hyperirritabilité, une cécité.

Les chevaux ont tendance à éviter les moindres mouvements, leurs membres sont soit écartés, soit croisés et ils s'appuient généralement à un support. Ils boivent avidement, mais avalent avec difficulté. En général il survient un pic d'hyperthermie. L'activité cardiaque d'abord intensifiée s'affaiblit ensuite.

La mort survient en 2 à 4 jours après une agonie prolongée, où l'on observe de l'incoordination et périodiquement des tremblements et des spasmes cloniques. La mort est attribuée à un déficit respiratoire.

Pour cette forme-là, on ne note pas de dyscrasie sanguine [Le Bars., 1977].



Figure 9: Cheval présentant une hémorragie pulmonaire [Benazzou, 1991]

Le tableau 3 ci-après regroupe, par ordre de fréquence décroissante, les différents symptômes observés lors d'une épidémie de Stachybotryotoxicose survenue chez des chevaux au Maroc en 1991.

SYMPTOMES	NOMBRE DE CAS (%)
Atteinte de l'état général : hyperthermie atteinte générale	89
Troubles cutané-muqueux :	
- Cutanés	25
- Muqueux (buccal et nasal)	18
- Prurit nasal	4
Troubles respiratoires :	
- Jetage, toux	90
- Dyspnée	89
- Odeur nauséabonde de l'air expiré	29
Syndrome hémorragique :	
- Epistaxis	93
- Peau	13
- Œil	95
- Anus	91
- Bouche	7
- Muqueuse vaginale	2
- Nasaux	2
Troubles circulatoires :	
- Larmoiement	73
- Œdème labial-nasal	40
- Œdème des membres	2
- Œdème 3 ^{ème} paupière	2
- Œdème salière	2
Troubles digestifs :	
- Ptyalisme	82
- Prolapsus rectal	2
- Coliques	80
Troubles nerveux :	
- Marche en reculant	4
- Marche en cercle	2
- Immobilité	2
- Relâchement du pénis	2
Autres troubles :	
- Anémie conjonctivale	2
- Congestion conjonctivale	2

Tableau 3 : symptômes observés chez les chevaux atteints de stachybotriotoxicose lors d'une épidémie marocaine [Benazzou, 1991]

- *AUTRES FORMES*

À côté de ces deux formes cliniques bien caractérisées, les toxines de *Stachybotrys* ont aussi été suspectées d'intervenir dans l'apparition de troubles atypiques: ces formes peuvent être soit frustes soit, au contraire évoluer rapidement vers la mort des animaux. Ainsi, les signes cliniques rapportés vont de la mort brutale des animaux en quelques heures sans signes cliniques préalables jusqu'à une simple diminution des performances sportives (refus de l'obstacle, refus de l'effort), troubles de la posture plus ou moins associés à une myosite subaiguë (élévation des créatines kinases et des ASAT plasmatiques) et un œdème des membres.

Dans une exploitation touchée par la stachybotrytoxycose, les animaux atteints peuvent exprimer la maladie sous des formes variables.

Dans un cas décrit dans la littérature, l'épisode de Stachybotryotoxicose débuta par une nécrose cutanée au niveau labial, suivie 8 jours après d'une brutale aggravation de la maladie puis de la mort de tout le cheptel équin en 2 jours [Benazzou, 1991].

2.2. Intoxication des bovidés

Bien que cette espèce soit sensible aux toxines produites par le *Stachybotrys*, le nombre de cas cliniques rapportés chez les bovins est beaucoup plus limité que celui existant dans l'espèce équine. Des données disponibles, il ressort les principaux éléments suivants :

- Les animaux en pleine production sont plus touchés que ceux en entretien tels que les génisses non gravides [Ursiny, Groch, 1967].
- Chez la vache, il existe deux stades de la Stachybotryotoxicose [Izmailov et Morochkine, 1962].

Le premier stade est qualifié de latent ou préclinique, car la seule manifestation du processus pathologique est une leucopénie accompagnée d'une augmentation du temps de coagulation du sang et de rétractation du caillot. Cette phase peut durer 3 à 30 jours. Si l'aliment toxique est retiré, les animaux guérissent.

Si l'exposition persiste, la phase clinique apparaît. Elle se manifeste par un état dépressif de l'animal, accompagné d'une atonie digestive et, très souvent, de diarrhée profuse et d'une chute de la production laitière. On note aussi un pouls faible et rapide, de l'ataxie et des tremblements musculaires, ainsi qu'une hyperthermie. Parfois on remarque aussi de la sialorrhée, de l'anorexie, des lésions nécrotiques de la muqueuse des lèvres et une diminution de la sensibilité tactile. Très souvent les vaches pleines avortent et la dyscrasie sanguine s'accroît. Il y a une forte leucopénie, de 200 à 600 leucocytes par mm³ de sang, ainsi qu'un défaut de rétractabilité du caillot ou de coagulation sanguine.

Cette deuxième phase peut durer 2 à 12 jours et est le plus souvent fatale [Le Bars, 1977].

3. Lésions

D'un point de vue lésionnel, cette intoxication se caractérise principalement par un syndrome hémorragique et nécrotique au niveau cutanéomuqueux. Les lésions hémorragiques apparaissent sous la forme d'ecchymoses ou de suffusions, de pétéchies. Celles-ci sont généralement localisées au niveau des séreuses (au niveau de la plèvre costale, du mésentère, de l'épicarde, du diaphragme). On peut en retrouver aussi au niveau des nœuds lymphatiques, dans le parenchyme pulmonaire et hépatique mais aussi dans le cerveau, la moelle épinière et les méninges [Le Bars et al., 1977].

Dans l'épidémie survenue au Maroc en 1991, le tissu conjonctif sous-cutané, les muqueuses oculaires intestinales et vaginales, les muscles, le colon, le caecum, la rate et le cœur étaient aussi touchés.

Chez la vache, il est noté quasi systématiquement une congestion intense de la caillette, voire des hémorragies et parfois une péricardite exsudative avec des points de congestion au niveau des sillons coronaires et des foyers hémorragiques de l'endocarde [Le Bars, 1977].

D'autre part, un processus nécrotique s'installe. On observe des foyers nécrotiques circulaires ou ovoïdes tout le long du tractus digestif, en commençant par les lèvres, le palais et les amygdales, parfois l'œsophage puis l'estomac. Le gros intestin présente 2 types de lésions : soit des petites papules gris-jaunâtre au niveau de la muqueuse, soit des lésions profondes et étendues de la sous-muqueuse et de la musculature.

Une dégénérescence graisseuse au niveau du foie, du cœur et des muscles est fréquemment présente. Les poumons sont souvent congestionnés et la moelle osseuse est presque absente.

4. Traitement

Il n'existe pas d'antidote susceptible d'être administré aux animaux développant des troubles suite à l'ingestion des toxines du *Stachybotrys chartarum*. Les principales mesures qui peuvent être prises vont donc viser à arrêter l'exposition des animaux et soutenir l'organisme.

Il est, dans un premier temps, important de faire cesser l'exposition aux toxines en retirant l'aliment contaminé. Comme il n'existe pas de possibilité de décontamination des aliments, ces derniers doivent être détruits par incinération. Il convient de souligner que, compte tenu de la toxicité potentielle des mycotoxines produites chez l'homme, un certain nombre de précautions doivent être prises lors de la manipulation des fourrages contaminés (port de masques et de gants). Il est important de retirer les aliments suspects dès les premiers signes de suspicion, car en début de maladie, le retrait de la source de *Stachybotrys chartarum* rend possible la régression de la maladie.

En parallèle, un traitement médical symptomatique peut être associé. Il consiste essentiellement à stimuler et à réguler le système cardio-vasculaire ainsi qu'à traiter les infections secondaires possibles par antibiothérapie. Pour ce dernier cas, l'utilisation d'amoxicilline suffit généralement [Lefebvre et al, 1994].

La seule solution efficace pour lutter contre l'apparition de cette maladie, est d'éviter autant que possible la ré-humidification des fourrages pendant le stockage (attention aux foins récoltés humides, aux ré-humidifications liées à des infiltrations d'eau ou à des phénomènes de condensation lors de stockage sous bâche). En cas de doute, il convient de ne pas distribuer aux animaux les parties noires de la paille ou du foin, et ne pas hésiter à retirer un lot suspect et le faire brûler. Ce dernier point se heurte néanmoins fréquemment à des contraintes pratiques et à la nécessité d'alimenter les animaux tout en ayant des stocks de fourrages suffisants pour pouvoir détruire une partie suspecte.

Certains auteurs recommandent de traiter les emplacements de stockage de la paille et du foin par du chlorure de sodium additionnés d'iodure de potassium, ou encore de traiter la paille avec une solution de bicarbonate de sodium et de sel iodé, pour une détoxification en moins de six heures [Matoussevich et coll, 1960].

PARTIE 3.
IMPACT DE *STACHYBOTRYS*
***CHARTARUM* ET DES**
SATRATOXINES CHEZ LES
ANIMAUX DE LABORATOIRE

1. Intérêt de l'étude de l'impact de *Stachybotrys chartarum* sur les animaux de laboratoires

Afin de mieux évaluer le danger potentiel pour l'homme pouvant être associé à l'exposition aux toxines de *Stachybotrys chartarum*, un certain nombre d'études ont été conduites chez les rongeurs de laboratoire. Il convient de souligner que, pour ces études, la voie d'exposition des animaux ainsi que le matériel biologique utilisé sont très différents des modalités pouvant conduire à l'exposition des animaux d'élevage. En effet, nous avons précédemment évoqué que, en ce qui concerne l'exposition humaine, le danger est principalement lié à la capacité de la moisissure à coloniser des substrats riches en cellulose et ainsi à se développer à l'intérieur des habitats. Dans ce cas, c'est la mise en suspension des spores sur les poussières et leur inhalation qui peut représenter un danger pour les personnes exposées. Ainsi, pour les essais sur rongeur de laboratoire, la voie d'exposition majoritairement utilisée est la voie aérienne. De plus, ce sont souvent les spores de *Stachybotrys* qui sont directement instillées dans les voies aériennes et non les toxines seules. Bien entendu, ces différences expliquent en partie les différences notables observées dans les signes cliniques. Cependant, elles permettent de faire un lien plus direct avec les pathologies qui pourraient être observées dans l'espèce humaine (voir partie 4).

Dans les paragraphes suivants, nous appellerons spores toxiques, les spores provenant des souches de *Stachybotrys chartarum* qui produisent des trichothécènes macrocycliques. Par différence, les spores dites « non toxiques » sont récoltées à partir de souches non toxigènes.

2. Symptômes

Tout d'abord, il convient de rappeler que *Stachybotrys chartarum* n'est pas un agent de mycose et les spores de cette espèce fongique ne sont pas capables de germer dans les poumons de rongeurs adultes. En effet, une étude menée par Eri Ochiai (2005) et al. montre que si des souris et des rats adultes reçoivent des spores de *Stachybotrys chartarum* de façon répétée et rapide par voie intranasale, les spores sont incapables de germer dans les poumons. En cas d'exposition unique, on observe une infiltration intraalvéolaire par les neutrophiles.

Si l'exposition est répétée, cela entraîne une infiltration éosinophilique des alvéoles et du tissu périvasculaire.

Par contre, si les animaux sont très jeunes (4 jours d'âge), la germination des spores dans les poumons est alors possible et accompagnée d'une inflammation avec exsudat hémorragique.

Les principaux symptômes, répertoriés chez des rongeurs ayant été exposés à *Stachybotrys chartarum* par voie respiratoire, sont répertoriés dans les tableaux ci-dessous. Les données sont regroupées selon que les rongeurs aient reçu des spores non toxiques, des spores toxiques ou des satratoxines seules.

<u>Espèce</u>	<u>Modalité d'exposition, durée, dose</u>	<u>Symptômes principaux</u>	<u>Lésions</u>	<u>Références</u>
<i>Stachybotrys chartarum</i> non toxigène chez des Souris	10 ⁶ spores Voie nasale en une fois	RAS	Inflammation légère alvéolaire interstitielle	Nikulin et al 1996., Reijula et al., 1996
<i>Stachybotrys chartarum</i> non toxigène, chez des Souris	10 ⁵ ou 10 ³ spores 2 fois par semaine instillation nasale	thrombocytopénie hyperhémoglobinémie polycythémie forte leucocytose augmentation de l'hématocrite	Inflammation légère des bronchioles et des alvéoles (souris recevant 10 ⁵ spores)	Nikulin et al., 1997
<i>Stachybotrys chartarum</i> non toxigène chez des souris.	Voie intratrachéale 50µl de solution à 10 ⁷ spores/µl	composition et la concentration des phospholipides constituant le surfactant alvéolaire changées altération de production du surfactant altération de l'homéostasie du surfactant sécrétion surfactant augmentée.		Mason et al., 1998 et 2001 McCrae et al, 2001
<i>Stachybotrys chartarum</i> non toxigène chez des souris	Voie intranasale, 2 fois par semaine pendant 3 semaines : 10 ³ ou 10 ⁵ spores	Composition du LBA Monocytose Neutrophilie, Lymphocytose Groupes ayant reçu 10 ⁵ spores : augmentation des ARNm des cytokines pro-inflammatoires et des chémokines dans les poumons des souris.		Leino et al., 2003

<u>Espèce</u>	<u>Modalité d'exposition, durée, dose</u>	<u>Symptômes principaux</u>	<u>Lésions</u>	<u>Références</u>
<i>Stachybotrys chartarum</i> non toxigène chez des rats	42 rats voie intratrachéale 2.10 ⁶ , 4.10 ⁶ , 1.10 ⁷ ou 2.10 ⁷ spores par ml, soit 150 µl/100g de poids corporel. spores au préalable traitées au méthanol (c'est-à-dire dont les toxines ont été extraites).	Hyperalbuminémie pour une concentration supérieure à 4.10 ⁶ spores/ ml		Rao et al.,2000
<i>Stachybotrys chartarum</i> non toxigène Rats nouveaux-nés	(âgés de 4 jours) 10 ⁵ à 8.10 ⁵ spores par gramme de poids corporel. Voie intratrachéale	Pas de décès jusqu'à la dose de 4.10 ⁵ spores par gramme de poids corporel		Yike et al. en 2001

Tableau 4 : Principaux symptômes observés après exposition de rongeurs de laboratoires à des spores non toxiques *Stachybotrys chartarum*.

<u>Espèce</u>	<u>Modalité d'exposition, durée, dose</u>	<u>Symptômes principaux</u>	<u>Lésions</u>	<u>Références</u>
<i>Stachybotrys chartarum</i> toxigène chez des Souris	10 ⁶ spores Voie nasale en une fois	Léthargie Perte de poids Mort (2/4)	Sévère inflammation alvéolaire interstitielle Exsudat hémorragique dans les alvéoles et bronchioles Foyers de nécrose.	Nikulin et al., et Reijula et al., 1996
<i>Stachybotrys chartarum</i> , toxigène.chez des souris	10 ⁵ ou 10 ³ spores (contenant satratoxine G et H) 2 fois par semaine instillation nasale	Thrombocytopénie Hyperhémoglobinémie polycythémie forte leucocytose augmentation de l'hématocrite	Inflammation sévère des bronchioles et des alvéoles. Hémorragie alvéolaire.	Nikulin et al., 1997

<p><i>Stachybotrys chartarum</i> toxino-gène chez des souris</p>	<p>Voie intratrachéale 1^{er} groupe : environ 70000 spores par souris Groupe témoin : 70000 spores de <i>Cladosporium cladosporoides</i> (non toxino-gène) ou saline Les souris ont été sacrifiées 12, 24, 48 et 72 heures après l'exposition.</p>		<p>Réaction inflammatoire granuleuse dans les poumons de toutes les souris. 12 à 24 heures 1^{er} groupe: granulomes avec infiltrat de cellules inflammatoires pléiomorphes, (fibroblastes, macrophages, polymorphonucléocytes, accumulation de débris cellulaires et de macrophages (avec ou sans spores à l'intérieur) quelques lymphocytes 24 à 48 heures après l'exposition : capillaires alvéolaires de certaines souris dilatés et engorgés d'érythrocytes, hémossidérine détectable dans les poumons.</p>	<p>Rand et al. en 2002</p>
<p><i>Stachybotrys chartarum</i> toxino-gène</p>	<p>Voie intranasale, 2 fois par semaine pendant 3 semaines : 10³ ou 10⁵ spores</p>	<p>Composition LBA : Monocytose Neutrophilie Lymphocytose Groupes ayant reçu 10⁵ spores : augmentation des ARNm des cytokines pro-inflammatoires et des chémokines dans les poumons des souris</p>	<p>.</p>	<p>Leino et al., 2003</p>
<p><i>Stachybotrys chartarum</i> produisant des trichothécènes macrocycliques et <i>S.chartarum</i> produisant des atranones.</p>	<p>Voie intratrachéale 30, 300 ou 3000 spores/g de poids corporel de chacun des chémotypes sur des lots différents Sacrifiées 3, 6, 24, 48 ou 96 heures après.</p>	<p><u>300 spore/g de poids corporel</u> : LBA : similaire pour les deux souches. <u>3000 spores/g de poids corporel</u> LBA souche toxino-gène : -hyperprotéïnémie, -hyperalbuminémie LBA souche produisant atranones : Hyperalbuminémie : réponse dose-dépendante de la quantité de spores reçues.</p>		<p>Flemming et al, 2004</p>

<i>Stachybotrys chartarum</i> toxinogène	42 rats voie intratrachéale 2.10 ⁶ , 4.10 ⁶ , 1.10 ⁷ ou 2.10 ⁷ spores par ml, soit 150 µl/ 100g de poids corporel.	24 heures après exposition : perte de poids dose- dépendante LBA : augmentation de l'enzyme lactate-deshydrogenase, augmentation de la concentration en hémoglobine neutrophilie, hyperalbuminémie		Rao et al.,2000
<i>Stachybotrys chartarum</i> toxinogène	Rats nouveaux-nés (âgés de 4 jours) 1 ^{er} groupe : 10 ⁵ à 8.10 ⁵ spores gramme de poids corporel. Voie intratrachéale	14 jours après l'exposition : Mort principalement pendant les 3 premiers jours après l'exposition Chez les survivants : altération de la croissance dose-dépendante, apnées, volume respiratoire augmenté augmentation de la fréquence respiratoire	Rats décédés : hémorragie pulmonaire. LBA: nombre de macrophages augmenté, neutrophilie, lymphocytose, hyper- hémoglobinémie, augmentation des IL-1β, du TNF-α	Yike et al. en 2001
<i>Stachybotrys chartarum</i> toxinogène	39 rats : Dose unique : 9.6 millions de spores toxiques voie intratrachéale	LBA réalisé 0, 6, 24 ou 48 heures après la contamination : neutrophilie, hyperalbuminémie, leucocytose, hyperhémoglobinémie augmentation des lactate- deshydrogénase.		Rao et al.,2000
<i>S.chartarum,</i> Toxinogène chez des Rats.	Voie intratrachéale. Spore pour un groupe, protéines issues des spores (après avoir été passées à l'autoclave)	Réduction de l'espace alvéolaire : -Volume final=42% du volume initial pour le groupe des spores intactes -Volume final=57% du volume final pour l'autre groupe	Inflammation pulmonaire alvéolaire pour tous les rats mais plus sévère dans le groupe ayant reçu les spores intactes.	Yike et al. 2005

Tableau 5 : Principaux symptômes observés après exposition de rongeurs de laboratoires à des spores toxiques *Stachybotrys chartarum*.

<u>Espèce</u>	<u>Modalité d'exposition, durée, dose</u>	<u>Symptômes principaux</u>	<u>Lésions</u>	<u>Références</u>
<i>Stachybotrys chartarum</i> toxigène chez des souris.	Voie intratrachéale iso-satratoxine F (50 µl de solution à 10 ⁷ M).	Changements de la composition du surfactant et de la concentration des constituants.		Mason et al., 1998 et 2001 McCrae et al, 2001
<i>Stachybotrys chartarum</i> toxigène chez des souris	voie intratrachéale 35ng par kilo de poids corporel d'iso-satratoxine F Les souris ont été sacrifiées 12, 24, 48 et 72 heures après l'exposition.		24 à 48 heures après l'exposition : capillaires alvéolaires de certaines souris dilatés et engorgés d'érythrocytes, hémossidérine détectable dans les poumons.	Rand et al. en 2002
Satratoxine G ou Roridine	Voie intranasale Différente dose allant de 25µg/kg de poids corporel à 500µg/kg	24 heures après une exposition aiguë : rhinite neutrophilique.	Apoptose des neurones sensitifs de l'olfaction Atrophie de l'épithélium olfactif chez des souris adultes (effets dose-dépendants) plus les doses sont élevées plus les lésions sont importantes.	Islam et al 2006

Tableau 6 : Principaux symptômes observés après exposition de rongeurs de laboratoires à des satratoxines de *Stachybotrys chartarum*.

De l'ensemble de ces données, il ressort les points suivants :

2.1. Symptômes généraux

D'une manière générale les symptômes observés chez les souris et les rats sont sensiblement les mêmes, que l'exposition soit nasale ou trachéale.

Généralement les animaux perdent du poids, sont léthargiques et parfois meurent. On note parfois une altération de la croissance dose-dépendante.

Une particularité du rat est l'augmentation de l'enzyme lactate-déshydrogénase après exposition à des spores toxiques de *Stachybotrys chartarum* par voie intratrachéale [Rao et al., 2000]. La lactate déshydrogénase (LDH) joue un rôle important dans le métabolisme des sucres et l'augmentation de son taux signe une souffrance cellulaire non spécifique.

2.2. Symptômes de l'appareil respiratoire

Dans de nombreuses études, après une exposition par voie intratrachéale le plus souvent, les souris et les rats subissent un lavage bronchoalvéolaire donc le liquide est recueilli et analysé.

Le liquide de ce lavage bronchoalvéolaire révèle de façon quasi systématique une neutrophilie et une hyperalbuminémie. De façon moins systématique, on note une lymphocytose et une monocytose, ainsi qu'une hyperhémoglobinémie.

L'exposition aux spores et toxines de *Stachybotrys chartarum*, entraîne aussi une modification du surfactant : modification de sa composition et de la concentration en phospholipides qui le composent (diminution de la phosphatidylcholine, agent important pour le maintien des tensions de surface). La sécrétion du surfactant est augmentée. Ces changements ont pour conséquence une modification de l'homéostasie du surfactant, l'empêchant ainsi de remplir parfaitement son rôle.

Tous ces changements sont observés aussi bien lors d'une exposition à des spores qu'à une exposition directe à des satratoxines, comme la satratoxine F [Mason et al., 2001]. L'instillation nasale de mycotoxines (satratoxine G, roridine A) provoque une rhinite neutrophilique chez la souris.

2.3. Potentiel allergène de Stachybotrys chartarum chez les rongeurs

Certaines moisissures sont connues pour leur potentiel allergisant et leur impact possible sur une exacerbation de l'asthme.

Dans une étude sur des souris en 2002, Korpi et coll., ont évalué le potentiel allergène de *S. chartarum*. Deux lots de souris ont été exposés : 1 lot de souris naïves, et un lot de souris ayant déjà été sensibilisées aux spores de *Stachybotrys chartarum* (par voie injectable). L'inhalation d'aérosols contenant des extraits de *S. chartarum* (mycelium et spores) a provoqué une irritation des voies respiratoires à la fois chez les souris du lot naïf et chez celles du lot pré-exposé, mais ce dernier présente des signes plus importants. Les symptômes engendrés par cette exposition sont comparables à ceux observés lors de crises d'asthme chez l'homme [Viana et al., 2002].

En contraste avec cette étude, l'étude de Leino et al, (2003) montre chez des souris, qu'après des contacts répétés par des spores de *S. chartarum* par voie nasale, aucun anticorps anti *S. chartarum* n'est détectable dans le sérum de ces souris.

Cependant, il faut souligner les différences entre ces études qui peuvent expliquer ces variations entre les résultats : la voie d'exposition et/ou la dose administrée ne sont pas similaires. Ainsi, dans la première étude (Viana et al.), c'est un mélange de spores et de mycélium isolés à partir de 5 souches différentes qui a été administré par voie intratrachéale. Dans le second cas (Leino et al.) seules les spores d'une souche unique de *S.chartarum* ont été administrées par voie intranasale. De plus, les milieux de culture utilisés pour préparer le matériel biologique étaient différents, ce qui pourrait avoir des conséquences sur la nature et la quantité de toxines présentes.

L'ensemble des effets des produits de *Stachybotrys chartarum* sont résumés dans le schéma suivant :

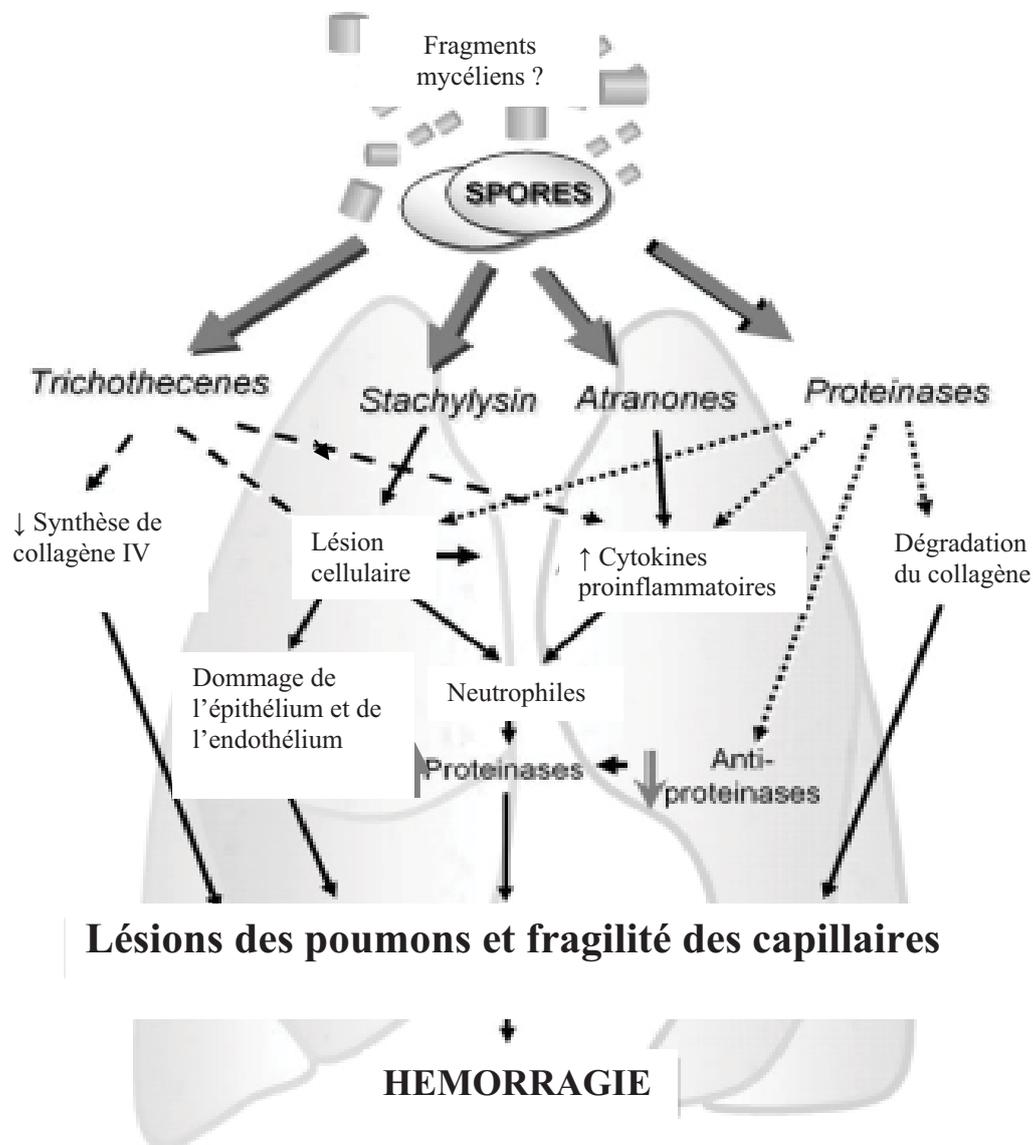


Figure 10 : Médiateurs et voies supposées intervenir lors de lésions des poumons suite à l'exposition de rongeurs à *Stachybotrys chartarum*.

3. Lésions

Suite à une exposition aux spores, toxiques ou non, de *Stachybotrys chartarum*, la plupart des études décrivent une inflammation alvéolaire, interstitielle, et aussi bronchiolaire. La présence d'un exsudat hémorragique ou tout simplement d'une hémorragie pulmonaire n'est pas rare. Des foyers de nécrose au niveau de poumons sont parfois rapportés [Nikulin et Reijula, 1996].

Par contre, l'exposition aux satratoxines par voie intra-trachéale n'induit a priori pas de changements histologiques au niveau des poumons. Cependant, l'exposition à des satratoxines G par voie intranasale chez les souris provoque une atrophie de l'épithélium olfactif avec apoptose des neurones sensitifs de l'olfaction [Pestka et al., 2008].

En conclusion, le tableau clinique observé chez les animaux après exposition à des spores de *S.chartarum* par voie respiratoire est dominé par la présence de lésions inflammatoires pulmonaires. Ces lésions sont plus sévères en cas d'exposition à spores contenant des trichothécènes macrocycliques.

Les souris semblent plus sensibles à l'inhalation de spores de *Stachybotrys chartarum* que les rats. Il est probable que des composants des spores autres que les trichothécènes contribuent également aux lésions observées.

Au final :

Une dose sans effet pour les spores toxiques et les spores non toxiques de *S.chartarum* a été définie chez la souris : ainsi moins de 30 spores de deux chémotypes (un qui produit des trichothécènes macrocycliques, l'autre des atranones)/grammes de poids corporel n'ont pas d'effets significatifs sur la santé de la souris, suite à une instillation trachéale [Flemming., 2004]. Il semblerait que pour les petites doses de spores de *S.chartarum*, d'autres éléments que les mycotoxines présents dans les spores (probablement des protéases, voir partie 1) contribuent directement à l'apparition de lésions pulmonaires.

Les effets des trichothécènes macrocycliques et des autres produits de *Stachybotrys chartarum* peuvent être associés à d'autres facteurs environnementaux. Par exemple le LPS provenant des bactéries gram – peut être médiateur de l'inflammation pendant l'exposition, d'autre part le LPS potentialise la toxicité des trichothécènes, ce qui génère l'apparition de lésions plus importantes ainsi qu'une mortalité plus élevée chez les souris. [Andersson et al., 1997].

L'ensemble des études réalisées chez les animaux de laboratoire tend donc à montrer que *Stachybotrys chartarum* et ses produits ont un potentiel allergisant, inflammatoire et cytotoxique. Ce constat permet d'avancer l'hypothèse que *Stachybotrys chartarum* pourrait aussi avoir des effets néfastes chez l'homme.

PARTIE 4.
IMPACT DE *STACHYBOTRYS*
***CHARTARUM* ET DES**
SATRATOXINES SUR LA SANTÉ
HUMAINE

La première évocation d'une toxicité possible de *Stachybotrys* chez l'homme a été avancée à l'occasion d'accidents toxiques aigus survenus chez des chevaux. En effet, lors de ces intoxications équinés, les marchands de fourrage et autres personnes en contact étroit avec la paille contaminée, qui servait de litière et/ou nourriture aux chevaux, ont développé des symptômes dermatologiques et respiratoires, similaires à ceux présentés par les animaux.

Dans tous ces cas de toxicité rapportés chez l'homme, les premières manifestations apparaissent sur la peau et sont caractérisées par le développement d'une dermatite sur le scrotum, sur les cuisses, et plus rarement sur les mains. Les lésions évoluent de l'hyperhémie jusqu'à la formation de croûte puis de nécrose. Certaines personnes ont aussi présenté des ulcères buccaux et des signes respiratoires tels qu'une angine catarrhale, une rhinite hémorragique, de la toux, des maux de gorge, une gêne respiratoire. De la fièvre et une leucopénie transitoire ont parfois été notées.

La localisation des lésions non directement associées aux zones de contact avec les fourrages contaminés suggère que l'exposition n'a pas seulement lieu par contact direct et passage percutané, mais plutôt par inhalation après aérosolisation de spores contenant des toxines [Drobotko, 1945 ; Kuhn et Ghannoum, 2003].

Dans les chapitres suivants, nous décrirons la toxicité de *Stachybotrys chartarum* chez l'homme en listant les effets organe par organe, au travers des différentes études qui ont été menées à ce sujet.

1. Exposition de l'Homme

La différence majeure entre l'exposition de l'homme et l'animal est la voie d'exposition. En effet la Stachybotryotoxicose chez l'animal est due à l'ingestion de mycotoxines contenues dans les aliments. Pour l'Homme, la voie d'exposition préférentielle semble être l'inhalation de spores de *Stachybotrys chartarum*, les expositions cutanées ou liées à l'ingestion des toxines apparaissant comme plus rares.

En effet, l'exposition humaine est le plus souvent associée au développement de *Stachybotrys* à l'intérieur des habitations sur les papiers peints, le bois ou les matériaux de construction, plus spécifiquement lorsque ces derniers ont fait l'objet d'une humidification (condensation, dégât des eaux, infiltration...), (voir Partie 1).

Les cas les plus fréquemment rapportés sont les expositions à *S.chartarum* dans les bâtiments ayant subi un dégât des eaux, ceux-ci comprenant les maisons, les bureaux, les hôpitaux, les hôtels et les écoles [Auger et al., 1994 (cité par Johanning et al., 1996); Flappan et al., 1999; Hodgson et al., 1998; Trout et al., 2001]. Lors d'investigations dans ces différents sites, on remarque que *Stachybotrys chartarum* est le colonisateur principal des lieux (10^3 à 10^5 conidies par mètre cube d'air).

De nombreuses études montrent la présence de *Stachybotrys chartarum* dans les habitations, elles ont été détaillées en partie 1.

Compte tenu des particularités écologiques de la moisissure, un certain nombre de domaines d'activité et de situations de travail ont été identifiées comme plus à risque en ce qui concerne l'exposition à *Stachybotrys chartarum* :

- usines de transformation du coton
- les fermes, manipulation de céréales ou de foin
- les laboratoires de mycologie,
- production d'aliments pour animaux,
- nettoyage et démolition de vieilles maisons.

L'exposition professionnelle aux mycotoxines se produit donc à l'occasion d'activités impliquant la manipulation de substrats contaminés ou dans des locaux propices au développement des moisissures toxigènes et à la sécrétion de leurs toxines (par exemple des bâtiments ayant subi des dégâts des eaux).

L'exposition de l'Homme par inhalation de spores ou de fragments de mycélium dans les bâtiments contaminés, se produit lorsque la poussière et les surfaces contaminées sont brassées mécaniquement.

Malgré les données disponibles chez l'animal, la nature exacte du danger associé à l'exposition humaine par voie respiratoire ou cutanée reste mal connue. L'absence de données quantitatives (effet dose) concernant la toxicité des molécules produites rendant difficile l'interprétation des dosages parfois réalisés dans les environnements contaminés. Ainsi, de nombreuses études visent à quantifier l'exposition aux spores de *Stachybotrys* et quelques-unes mesurent l'exposition possible aux toxines.

Dans ces études, la concentration des spores dans l'air est très variable et directement fonction du niveau de contamination du substrat initial sur lequel le champignon se développe. Les valeurs obtenues varient ainsi de 10^4 germes/m³ d'air à 10^9 /m³ d'air, dans les situations extrêmes.

Quelques-uns de ces résultats sont résumés dans les paragraphes suivants.

- L'institut de recherche Robert Savé en santé et sécurité de travail du Québec [IRSST, 2001] a montré que les moisissures peuvent être rencontrées en concentrations élevées (de l'ordre de 10^6 à 10^9 UFC/m³) au contact du foin moisi.
- À Cincinnati, l'analyse de l'air prélevé dans 39 maisons a montré que 16 % des échantillons contenaient *Stachybotrys chartarum* à une concentration supérieure à 1000 UFC/m³ [Green et al., 2003].
- Lors d'une grande étude en 1996-1998 menée dans différents états des États-Unis, un échantillonnage de l'air ambiant intérieur et extérieur, a montré que 6 % des 1717 structures où l'air a été prélevé (46% de bureaux, 18% d'écoles, 13% d'hôpitaux, 4 % de maisons, 1% de sites industriels et 18 % d'autres), *Stachybotrys chartarum* est présent. Dans ces lieux contaminés, la médiane de concentration dans l'air intérieur était de 12 UFC par mètre cube (intervalle de confiance de 95 %, les valeurs s'étendant de 12 à 118 UFC/m³) (Shelton et al., 2002).
- Cooley et al. (1998), ont réalisé une étude sur 48 écoles. Ils ont montré que *Stachybotrys chartarum* était présent dans 11 des 48 écoles, mais, par contre, *S. chartarum* n'a jamais été isolé des échantillons d'air prélevés dans ces écoles. Ce résultat laisse supposer que lorsque *Stachybotrys chartarum* se développe dans un bâtiment, les spores ne se retrouvent pas systématiquement dans l'air et que cette mise en suspension est liée à un brassage mécanique.

Il convient de noter que les différentes méthodologies utilisées pour la recherche et l'identification du contaminant peuvent peut-être expliquer certaines différences observées dans la prévalence. Par exemple, Harrington (2003) a montré que lorsque l'on met en culture un échantillon d'air sur un milieu RBA à 22-23°C, *Stachybotrys* représente seulement 16 % des moisissures totales après 10 jours d'incubation, alors que si l'on met le même échantillon sur un milieu FPNA (nutrient-poor medium), *S. chartarum* représente 92% des espèces de moisissures totales [Pestka, 2008].

2. Toxicité liée à l'exposition aérienne

2.1. Historique

De nombreuses études, évaluant l'impact sur la santé humaine de *Stachybotrys chartarum*, ont été faites suite à l'épidémie de Stachybotryotoxicose équine en Russie au début du 20^{ème} siècle [Drobotko cité par Kuhn et Ghannoum., 2003].

Tout d'abord plusieurs enquêtes épidémiologiques ont montré qu'il pourrait y avoir un lien entre l'exposition de l'homme à *Stachybotrys chartarum* et certains symptômes.

La présence de trichothécènes toxiques dans des maisons à Chicago fut le premier cas qui a fait l'objet d'un rapport. Les habitants d'un groupe de maisons contaminées par des moisissures se plaignaient de maux de tête, maux de gorge, de symptômes pseudogrippaux, d'un rhume récurrent, de diarrhée, de fatigue, d'une dermatite et de dépression. Un échantillonnage de l'air de ces maisons a montré la présence de spores de *Stachybotrys chartarum* [Croft et al., 1986; cité par Nelson, 2001].

Ensuite plusieurs enquêtes épidémiologiques ont suivi : une première a suggéré une association entre une haute exposition à *Stachybotrys chartarum* et des effets toxiques inflammatoires chez des enfants et aussi chez des personnes travaillant dans certains bureaux.

De la même façon un lien entre *S.chartarum* et un syndrome de fatigue chronique extrême a été mis évidence chez les travailleurs des hôpitaux [Auger et al., 1994 cité par Johanning et al., 1996; Johanning, 1998; Montaña et al., 1997 (les deux cités par Johanning et al., 1999); Etzel et al., 1998; Hodgson et al., 1998; Sorenson et al., 1996].

Dans certains bureaux, dans lesquels de la satratoxine H et des lactones spirocycliques ont été détectés sur des échantillons de plaques de plâtre, les salariés présentaient des désordres respiratoires et du système nerveux central, des modifications des muqueuses, de quelques paramètres cellulaires et du système immunitaire humoral [Johanning et al., 1996].

Ainsi des études de plus en plus nombreuses montrent la présence quasi systématique de *Stachybotrys chartarum* dans les bâtiments endommagés par des dégâts des eaux principalement.

Reste à savoir s'il existe réellement une maladie spécifiquement liée à l'exposition possible à ce contaminant, plus qu'une simple inflammation des voies respiratoires supérieures et si ces symptômes sont dus à l'exposition aux moisissures ou à leurs toxines.

Plusieurs études ont cherché à mettre en évidence un lien possible entre l'exposition à *Stachybotrys chartarum* et une maladie respiratoire.

Deux catégories de personnes plus particulièrement exposées ont fait l'objet d'étude : les agriculteurs, qui manipulent des fourrages potentiellement contaminés par des moisissures, et les personnes habitant des bâtiments dans lesquels se développent des moisissures.

2.2. Analyse des études évoquant l'éventuel impact de *Stachybotrys chartarum* sur la santé humaine

2.2.1. Implication de *Stachybotrys chartarum* dans la santé de l'homme lors d'un épisode de Stachybotryotoxicose dans un club hippique.

Simultanément à un épisode de Stachybotryotoxicose chez 60 chevaux dans un club hippique en 1986, des signes cliniques sont apparus chez les personnes manipulant la paille (palefreniers, cavaliers et moniteurs) : elles présentaient des rhinites et des conjonctivites ainsi qu'une toux qui perduraient quelques heures après l'arrêt du travail le soir. Ces symptômes évoquent une hypersensibilité immédiate et semi retardée.

D'autres symptômes sont aussi rapportés : une asthénie, de la fatigabilité, des myalgies et une contre-performance sportive.

Une souche de *Stachybotrys chartarum* a été mise en évidence sur la paille que ces personnes manipulaient. Cette souche a été déposée sur la peau de rats et a provoqué une dermonécrose [Recco et al.,1986].

Ces événements laissent supposer que *Stachybotrys chartarum* pourrait avoir un rôle dans l'apparition des troubles rapportés chez ces personnes.

2.2.2. Implication de *Stachybotrys chartarum* dans des hémorragies pulmonaires chez des enfants

Historiquement, le premier cas très médiatisé d'implication possible de *Stachybotrys chartarum* dans des pathologies humaines date de la fin des années 90 aux USA. Des épisodes d'hémorragies pulmonaires chez des enfants de Cleveland dans l'Ohio aux États-Unis ont fait l'objet de plusieurs enquêtes dont notamment celles de Dearborn et al, en 1998 et celle de Montana et al, en 1997.

Ces études concernent 37 enfants du Cleveland dans l'Ohio aux États-Unis présentant une hémorragie pulmonaire idiopathique des hémorragies pulmonaires, entre les années 1993 et 1998. Pour certains, ces hémorragies sont même qualifiées d'hémosidrose pulmonaire idiopathique.

Ces enfants montraient de sévères problèmes respiratoires ce qui a nécessité leur hospitalisation aux soins intensifs. Le taux de cholinestérase sérique de ces enfants est plus bas qu'un enfant non malade et les frottis sanguins montrent une hémolyse.

Suite à leur hospitalisation, ces enfants sont rentrés chez eux, mais 50 % d'entre eux ont vu leurs symptômes réapparaître, et cela même plusieurs jours à plusieurs mois après l'apparition des tout premiers symptômes.

Les enquêtes réalisées alors dans l'environnement des enfants atteints ont permis de mettre en évidence certains facteurs de risque :

- Les maisons des enfants ont subi un dégât des eaux dans les mois précédant la maladie.
- Ils sont exposés à *Stachybotrys chartarum* et à d'autres moisissures détectées dans l'air ambiant de leur maison.

La connaissance de l'action biologique des mycotoxines produite par *Stachybotrys chartarum*, notamment des satratoxines G et H, ont orienté vers l'établissement d'un lien de cause à effet entre les symptômes observés chez ces enfants et l'exposition au *Stachybotrys* et à ses toxines. Cependant, la démonstration de ce lien n'a pu ensuite être démontrée avec certitude à cause notamment de nombreux autres paramètres interférents (tabagisme passif par exemple).

Ce premier cas a amené d'autres scientifiques à étudier l'effet potentiel de cette moisissure qui est souvent présente dans notre environnement.

2.2.3. Autres études disponibles

Les plaintes pour des problèmes respiratoires présentés par les personnes travaillant ou habitant dans des locaux potentiellement contaminés par des moisissures sont relativement fréquentes. Dans de nombreux cas, ces symptômes respiratoires peuvent être associés à une exposition à *Stachybotrys chartarum* mais aussi à d'autres champignons et, compte tenu des nombreux paramètres pouvant interférer dans l'apparition de ces problèmes respiratoires, la preuve directe du lien de causalité reste à établir.

Un certain nombre de descriptions de cas de ce type est répertorié dans le tableau 7 ci-après.

Malade	Symptômes	Contexte environnemental	Analyse de l'environnement	Références
1 enfant	Hémorragie pulmonaire État de choc Anémie Anomalies de la fonction endocrine, hépatique et rénale	Nourri au biberon Parents fumeurs	Mise en évidence de : <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Ascospores</i> , <i>Periconia</i> <i>Chaetonium</i> , bacilles gram – et <i>Rhodotorula</i>	Knapp et al., Flappan et al., 1999 (1)
Adultes	Problème respiratoire de l'appareil supérieur Douleurs des articulations et des muscles Rougeurs de la peau	Employés à l'ancien Cowlitz County Health Department Building à Longview	Inspection du bâtiment: présence de <i>Stachybotrys</i> , <i>Aspergillus</i> et <i>Penicillium</i>	Boudrea et Perkner et al., 1997 (2)
1 enfant	hémorragies pulmonaires	---	<i>Stachybotrys chartarum</i> isolé du poumon, présence de stachyrase A = chymotripsine like protéinase	Kordula et al., en 2002 (3)
55 personnes (39 femmes et 15 hommes) âge moyen de 34,8 ans.	Problèmes : respiratoires dermatologiques oculaires de constitution, fatigue De façon générale : groupe témoin (n=21) peu ou pas de symptômes par rapport aux employés. Proportion de lymphocytes T mature moins importante chez les employés que chez les personnes du groupe témoin.	Ont travaillé pendant environ 3 ans dans un bâtiment victime d'un dégât des eaux.	Présence de satratoxine H et de lactones spirocycliques	Johanning et al, 1996 (4)
1 enfant du Delaware	Hémorragie pulmonaire aiguë		Division de la santé publique du Delaware : dans chambre de l'enfant : ADN de <i>Stachybotrys chartarum</i> et d'autre moisissure : <i>Aspergillus</i> et <i>Penicillium</i>	Weiss et al 2002 (5)

Malade	Symptômes	Contexte environnemental	Analyse de l'environnement	Références
30 % du personnel. Plus de la moitié du personnel.	jetage nasal congestion des démangeaisons larmolement excessif fréquence d'infections respiratoires ↑ (amygdalite, bronchite, pneumonie) Intensification de l'asthme	Étude de 2 mois, 48 écoles le long du golfe du Mexique et sur la côte nord-atlantique des États-Unis,	Exposition à <i>Stachybotrys chartarum</i> dans l'air ambiant	Flanningan et al., 1991 ; Kozak et al. 1979 tous deux cités par Johanning et al., 1996]. (6)
Adultes	Plaintes (non détaillé)	Evaluation des risques sanitaires du palais de justice du comté de Martin à Stuart	Contamination importante par <i>Stachybotrys</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> .	Weber et Martinez, 1996 (7)
Adultes	diarrhée crampes d'estomac vomissements vertiges faiblesse fatigue	Employés dans un Mc Donald à Durham, rénovation des bâtiments	Présence de moisissures et de toxines sur les matériaux utilisés pour la rénovation.	Weber et Page, 1999 (8)
1 enfant	Hémorragie pulmonaire Fonction rénale altérée	Nourri selon un régime strict Parents fumeurs	4 mois après symptômes : traces d'un dégât des eaux dans la maison. Présence de plusieurs moisissures dont <i>Penicillium</i> et <i>Trichoderma</i> mais pas <i>Stachybotrys</i> .	Novotny et al., 2000 (9)
Adultes	Toux Eternuements Urticaire Souffle court Otites, sinusites Asthme Méningites virales Pseudo-tumeurs cérébrales	Étude au Kaiser permanente dans le Northlake à Atlanta	Présence de mycotoxines dans les échantillons. Présence de <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> et <i>Alternaria</i> mais pas de <i>Stachybotrys</i> .	Deitchman et al., 1994 (10)
Adultes	Problèmes respiratoires Problèmes neurocomportementaux	Employés dans un bâtiment ayant subi un dégât des eaux dans le nord-ouest du Pacifique	1 seule des 19 cultures montre la présence de <i>Stachybotrys chartarum</i>	Kuhn et Ghannoum, 2003

Tableau 7 : Etudes visant à évaluer les effets de *Stachybotrys chartarum* sur l'Homme.

De ces études il ressort que les personnes exposées sont des enfants ou des adultes, mais en général, les conditions d'exposition sont différentes : les adultes sont le plus souvent exposés sur leur lieu de travail alors que pour les enfants, l'exposition est en général domestique.

2.3. Symptômes observés chez l'homme, suite à une exposition à *Stachybotrys chartarum*.

Les symptômes recensés sont multiples et variables. Ils peuvent être bénins (congestion ou toux) ou plus graves (alvéolite, bronchiectasie voire fibrose pulmonaire). L'asthme est un symptôme qui est souvent rapporté par les malades.

Chez les adultes, on note en général une atteinte de l'appareil respiratoire supérieur. Par exemple on rapporte du jetage nasal, une congestion des voies respiratoires supérieures, de la fatigue, mais aussi des signes dermatologiques comme des rougeurs de la peau. (1), (2), (3), (4), (5), (6), (9) (10).

Il arrive aussi de constater des symptômes digestifs tels que des crampes d'estomac, des vomissements ou de la diarrhée [Weber et Page., 1999]

Dans la majorité des cas les symptômes disparaissent peu à peu après l'arrêt de l'exposition à *Stachybotrys chartarum*.

Chez l'enfant le symptôme récurrent est l'hémorragie pulmonaire ou parfois l'hémosidérose pulmonaire (1), (3), (5), (9). Par rapport à l'adulte, la maladie chez l'enfant semble plus sévère puisqu'elle nécessite souvent une hospitalisation.

Certains de ces symptômes ressemblent à ceux observés chez les rongeurs. Cependant, chez les rongeurs, on note très souvent une perte de poids et un état général qui se dégrade pouvant entraîner la mort. À l'heure actuelle, aucun décès lié à l'exposition à *Stachybotrys chartarum* n'est rapporté chez l'homme, une prise en charge relativement rapide des patients pouvant permettre l'arrêt de l'exposition et une amélioration consécutive de leur état de santé.

Les mécanismes responsables des lésions du poumon potentiellement induites par *Stachybotrys chartarum*, ne sont pas clairs. La première hypothèse est une inhibition de la synthèse du collagène de type IV dans les poumons de jeunes en croissance. Ceci engendre une fragilité des capillaires qui, lorsqu'ils sont exposés à des facteurs de stress (la fumée de cigarette par exemple), se rompent et provoquent une hémorragie [Dearborn et al., 1999].

L'autre hypothèse avance que les saignements de nez et l'hémosidérose pulmonaire seraient liés à l'action de la stachylysine. Cette hypothèse découle d'expériences faites sur des vers de terre chez qui la stachylysine est hémolytique. De nombreuses souches de *Stachybotrys* produisent de la stachylysine dans le milieu TSB (bouillon de soja tryptique) et toutes produisent de la stachylysine lorsqu'elles poussent sur le milieu TSB avec 0,7% de sang de mouton. Ainsi il est possible que la stachylysine soit impliquée dans l'hémorragie pulmonaire chez êtres humains exposés à *Stachybotrys chartarum* [Vesper et Vesper., 2002].

Stachybotrys chartarum est soupçonné d'être allergène pour l'Homme, car d'une manière générale les moisissures sont associées à l'exacerbation de l'asthme. Les symptômes pulmonaires dus à l'allergie aux moisissures sont bien connus : on peut voir une simple inflammation des voies aériennes (rhinite avec conjonctivite), de l'asthme, de l'hypersensibilité pulmonaire [Kuhn et Ghannoum., 2003]. Nous avons vu dans la partie 3, qu'une sensibilisation à *Stachybotrys chartarum* chez la souris pourrait conduire à une amplification des signes cliniques par rapport au groupe témoin lors d'une deuxième exposition.

Il convient aussi de souligner que, dans certains cas, la présence de signes cliniques évocateurs n'a pas pu être reliée avec une exposition au *Stachybotrys*. Par exemple dans les études de Novotny en 2000 et Deitchman en 1994, les personnes malades présentent des troubles respiratoires et des symptômes similaires à ceux rapportés dans les cas où *Stachybotrys chartarum* est impliqué. Cependant, l'analyse de l'environnement de ces malades a mis en évidence l'exposition à certaines moisissures, mais pas à *Stachybotrys chartarum*.

2.4 Stachybotrys chartarum et Syndrome des bâtiments malsains (Sick building syndrome = SBS):

Le syndrome des bâtiments malsains est un terme utilisé pour décrire les symptômes présentés parfois par les occupants d'immeubles. Décrit dans les années 70, ce syndrome est caractérisé par l'apparition, chez les personnes habitant ou travaillant dans les bâtiments incriminés, de troubles hétérogènes dominés par des troubles neurologiques (céphalées, fatigue, difficulté de concentration), une irritation des muqueuses et des troubles respiratoires et cutanés [Redlich *et al.*, 1997]. Ces symptômes disparaissent le plus souvent 30 minutes à 1 heure après que la personne a quitté le bâtiment concerné [Vance *et al.*, 2007].

Selon l’OMS, ce syndrome pourrait être observé dans presque 30% des bâtiments neufs dans le monde, 10 à 30% des occupants de ces bâtiments pouvant alors présenter des troubles d’intensité variable. Le nombre de descriptions de tels incidents toxiques ne cesse de s’accroître et est passé de 70 descriptions entre 1973 et 1993 à plus de 130 depuis 2001 [Burge, 2004].

Les conséquences médicales et économiques sont très importantes et estimées à 10-20 milliards de dollars par an aux États-Unis (absentéisme, baisse de production, traitements médicaux, travaux d’aménagement des locaux). S’il n’existe pas de telles données pour la France, la proportion du parc immobilier français contaminée par des moisissures, estimée à 37% par l’OQAI, laisse à penser que les conséquences médicales et économiques du syndrome du bâtiment malsain pourraient être importantes [Moularat et al., 2008].

Le syndrome du bâtiment malsain est polyfactoriel et l’étiologie exacte des troubles observés n’est pas encore clairement identifiée. Cependant, la mise en évidence fréquente de la présence de *Stachybotrys chartarum* dans les bâtiments concernés laisse penser que les mycotoxines produites par cette espèce fongique pourraient jouer un rôle important dans ce syndrome [Straus., 2009]. Cependant, comme dans le cas historique d’apparition d’hémorragies pulmonaires infantiles, les résultats des enquêtes menées lors de l’apparition de troubles sont souvent difficiles à interpréter et n’ont pas encore permis d’identifier avec certitude la cause exacte de ces pathologies.

2.5. Difficultés d’interprétation des résultats de ces études.

L’ensemble des études précitées pose un certain nombre de problèmes d’interprétation qui empêche l’établissement d’un lien direct et univoque entre exposition au *Stachybotrys* et troubles de la santé humaine.

- Exemple du cas de Cleveland

L’étude du cas historique de Cleveland permet de mettre en évidence un certain nombre de points qui rendent difficile l’établissement de conclusions définitives. Ces biais peuvent aussi être observés dans d’autres études de ce type.

Tout d’abord l’ensemble des enfants (témoins et malades) faisant partie de l’étude sont très différents en ce qui concerne le sexe, la race, le poids à la naissance, l’allaitement maternel ou non, le tabagisme des personnes vivant avec eux et la présence ou non d’un ventilateur électrique dans la maison de l’enfant (facteur qui détermine en partie la possible aérosolisation des spores dans l’air de la maison).

D'autre part, l'étude n'a pas pris en compte le statut médical des autres personnes vivant avec ces enfants alors qu'elles ont été exposées aux mêmes moisissures.

Enfin, le CDCP (Center for disease control and prevention) signale qu'après un examen rapproché des données, *Stachybotrys chartarum* était présent aussi dans quasiment le même nombre de maisons témoins que celles touchées par les dégâts des eaux, la nature exacte de ces derniers n'étant d'ailleurs pas bien définie. Enfin l'échantillonnage a été fait des semaines, voire des mois, après les dégâts, ce qui rend plus délicate leur interprétation.

Pour ces raisons, le CDCP a déclaré que faute de preuves suffisantes, un lien entre *Stachybotrys chartarum* et l'IPH de l'enfant ne pouvait être établi.

D'autres problèmes d'interprétation peuvent gêner l'établissement d'un lien direct et univoque entre l'exposition au *Stachybotrys* et/ou à ses toxines et l'apparition de diverses pathologies humaines

- Problèmes relatifs à l'exposition

Le nombre de spores observées dans les environnements « malsains » est rarement aussi élevé que celui utilisé et nécessaire pour induire des troubles lors de reproductions expérimentales (voir partie 2).

De plus, si le rôle des spores dans l'exposition humaine est certainement primordial, il est difficile de mettre en évidence une corrélation entre le nombre de spores par mètre cube d'air et la concentration de ces spores dans les voies respiratoires des personnes présentant des troubles [Kuhn et Ghannoum., 2003]. Ainsi, il est très difficile d'évaluer l'exposition réelle de l'Homme aux spores de *Stachybotrys chartarum*. Par ailleurs, les tests sérologiques ne sont pas forcément un bon indicateur puisque ce sont a priori les toxines et non les organismes qui sont responsables de la maladie.

De plus, même si la charge en micro-organismes est suffisante dans l'environnement étudié, la taille de la spore fongique doit être mise en relation avec l'aspect physique des voies respiratoires. Il a été montré que les spores de *Stachybotrys chartarum* pouvaient atteindre les voies respiratoires profondes. Cependant ceci est basé sur un travail impliquant des spores largement traitées pour la préparation expérimentale, ce qui a pu modifier les caractéristiques des spores par rapport à ce qui peut être observé en cas d'exposition naturelle. En effet les spores sont récupérées après filtration d'un échantillon d'air, il y a donc une sélection des particules de faibles diamètres. Le générateur sélectionnant les particules dans l'échantillon se base sur 2 critères : il prend en compte le nombre de particules et la masse des particules en

fonction de leur taille. Il semble que la taille des spores est souvent une limite à leur pénétration dans les voies aériennes basses. En effet, les spores de *Stachybotrys chartarum* ont une taille de 5 à 7 µm sur 8 à 12 µm. Dans les études sur des souris, des particules de 4 à 5 µm ont été déposées dans le nez et jusque dans le tube digestif, au final le dépôt pulmonaire était inférieur à 1 % [Kuhn et Ghannoum., 2003]. Il semble en réalité que les spores ou les fragments mycéliens ont probablement besoin d'être inférieurs à 1 µm de diamètre pour atteindre les voies respiratoires profondes lors d'inhalation [Kuhn et Ghannoum., 2003].

- Problèmes liés à la multicontamination des habitats

Dans chacune des enquêtes, des échantillons d'air et /ou de surface sont prélevés dans les lieux de travail et les maisons des patients puis ils sont mis en culture. Si *Stachybotrys chartarum* est quasi systématiquement mis en évidence, ce n'est jamais la seule moisissure présente. Ainsi, on note aussi généralement la présence simultanée d'espèces fongiques appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*.

La présence d'autres espèces fongiques complexifie considérablement l'interprétation des résultats des enquêtes, car certaines des espèces présentes sont connues comme étant toxigènes et peuvent de ce fait, elles aussi, avoir un impact lors d'inhalation des spores. Par exemple, *Trichoderma viridae* est aussi une espèce capable de produire des trichothécènes, *Penicillium* et *Alternaria* produisent d'autres toxines qui ont pu être associées à l'apparition d'hémorragie pulmonaire chez l'animal (rubratoxine). Les aflatoxines synthétisées par certaines espèces d'*Aspergillus* sont responsables de toxicité systémique après inhalation, et entraînent notamment une destruction des cellules trachéobronchique chez les animaux de laboratoire (hamsters et cochon d'Inde).

Ainsi, pour l'instant, il est encore impossible d'établir un lien de causalité directe entre l'exposition aux spores de *Stachybotrys chartarum* et des modifications de l'état général des personnes exposées, et ce malgré les nombreuses preuves épidémiologiques indirectes et les effets connus des toxines chez les animaux.

3. Autres toxicités

À côté de la toxicité pulmonaire, qui est la plus importante, *Stachybotrys chartarum* et ses mycotoxines sont aussi suspectés d'être impliqués dans d'autres troubles.



3.1. Toxicité hématologique et immunologique

Compte tenu des altérations sanguines observées chez les animaux exposés aux toxines de *Stachybotrys*, il est important de définir l'éventuelle toxicité hématologique de ces composés chez l'homme.

De nombreuses mycotoxines ont des propriétés immunosuppressives. En 1993, Sakamoto et al., ont isolé un composé immunosuppresseur à partir de cultures de *Stachybotrys chartarum*. Cette substance est une cyclosporine-like protéine capable d'augmenter les temps de survie d'une greffe de peau chez le rat [Kuhn et Ghannoum, 2003].

Par ailleurs, les trichothécènes sont souvent associés à une diminution de la résistance aux infections par d'autres organismes comme *Salmonella*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Listeria*, l'*Herpes simplex*, *Candida*, et *Cryptococcus*. Ainsi, à l'occasion d'une épidémie de Stachybotryotoxicose chez des moutons, il a été rapporté l'isolement fréquent de *Pasteurella haemolytica* dans différents organes. Cependant on ne sait pas si ce résultat est lié à un phénomène d'immunosuppression ou lié à une perte de la fonction de barrière de la muqueuse [Kuhn et Ghannoum., 2003].

Les trichothécènes en général, ont montré un pouvoir radiomimétique au niveau des tissus à division cellulaire rapide en bloquant la synthèse d'ADN et d'ARN ; par contre ceci n'a pas été prouvé pour les satratoxines en particulier. On peut aboutir à une diminution de synthèse des immunoglobulines, d'anticorps et une diminution de l'activité du complément chez les modèles animaux [Kuhn et Ghannoum., 2003].

3.2. Autres toxicités

La neurotoxicité et la cancérogénicité de plusieurs mycotoxines est décrite. Ainsi on sait que certaines aflatoxines produites par *Aspergillus* sont cancérigènes, que les verrucologènes et le penitrem A produites par *Penicillium* sont neurotoxiques (tremblements, ataxie, faiblesse et convulsions chez l'animal) [Kuhn et Ghannoum., 2003].

Il est donc légitime de se demander si les satratoxines sont neurotoxiques ou bien cancérigènes.

À cette date, les résultats des études animales ne sont pas concluants : il n'y a aucunes preuves liant les mycotoxines produites par *Stachybotrys* et l'existence d'un cancer chez l'homme ou encore une satratoxine impliquée lors de troubles neurologiques [Kuhn et Ghannoum., 2003].

Certaines toxicités sont supposées : en effets des études ont relevé, chez les enfants atteints d'hémorragie pulmonaire idiopathique et ayant été exposés à *Stachybotrys chartarum*, quelques anomalies de la fonction rénale. Ces anomalies comprennent une acidose sans augmentation du trou anionique, une modification de la concentration des électrolytes et une aminoacidurie. Cependant, il n'y a pas de preuves liant ces changements avec les satratoxines produites par *Stachybotrys chartarum* [Kuhn et Ghannoum., 2003].

Stachybotrys semble être dermatotoxique. En 2001, Nelson rapporte des cas de travailleurs dans une structure horticole : les employés travaillant au contact de pots en cellulose ont présenté une forte inflammation au niveau des doigts aboutissant à une desquamation. Un échantillonnage de la surface de ces pots a montré la présence de *Stachybotrys chartarum*.

La littérature disponible aujourd'hui, ne permet pas d'établir avec certitude un lien entre l'exposition de l'Homme à *Stachybotrys chartarum* et l'apparition de signes cliniques.

Cependant, les études abordées dans cette partie laissent supposer que les toxines et les spores de *Stachybotrys chartarum* pourraient en partie être responsables de signes cliniques respiratoires principalement.

Si *Stachybotrys chartarum* a effectivement un impact sur la santé humaine, il est fort probable qu'il n'agisse pas seul mais en synergie avec d'autres moisissures telles que *Penicillium* et *Aspergillus*.

CONCLUSION

Stachybotrys chartarum est une espèce fongique qui se caractérise par sa capacité à coloniser des substrats pauvres en nutriments et riches en cellulose. Cette espèce fongique est susceptible de produire plusieurs mycotoxines qui sont probablement parmi les plus toxiques identifiées à ce jour.

L'impact de ce contaminant et de ses toxines sur la santé des animaux et notamment sur les animaux d'élevage est clairement établi. Malheureusement, cette moisissure reste encore mal connue des vétérinaires et il est probable que son implication en santé animale soit largement sous-estimée. De plus, en dehors des formes aiguës typiques de l'intoxication, d'autres formes se caractérisent par des symptômes plus frustes, plus difficiles à diagnostiquer.

Compte tenu de leur stabilité, il n'existe pas de procédé de détoxification des fourrages contaminés et il est important d'agir en amont en prévenant le développement fongique lors du stockage.

Stachybotrys chartarum semble aussi être un agent pathogène potentiel sur la santé humaine. Cette espèce fongique de par sa capacité à coloniser les habitations pourrait être responsable d'une exposition humaine non alimentaire aux mycotoxines. Ainsi, de nombreuses études semblent montrer l'existence d'un lien entre l'exposition à ce contaminant et certaines pathologies humaines dont le syndrome du bâtiment malsain.

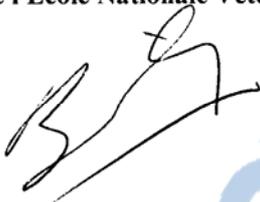
À l'heure actuelle, le manque de données sur la nature et la proportion des composés toxiques produits au cours de la croissance fongique ne permet pas une caractérisation fine de l'exposition. De même, la détermination de relations dose-effet toxique des mélanges de toxines sur des modèles représentatifs des différentes voies d'exposition possibles (inhalation et contact) est aussi nécessaire pour définir des doses seuils et mieux évaluer le rôle exact de *Stachybotrys chartarum* dans le syndrome du bâtiment malsain.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

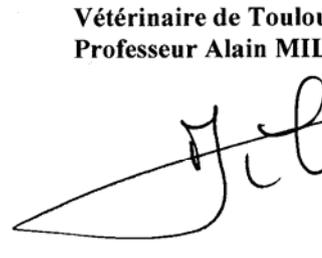
En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, Jean-Denis BAILLY, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **CATTI Charlotte** intitulée « *Stachybotrys chartarum et les satratoxines : impact sur la santé animale et humaine* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

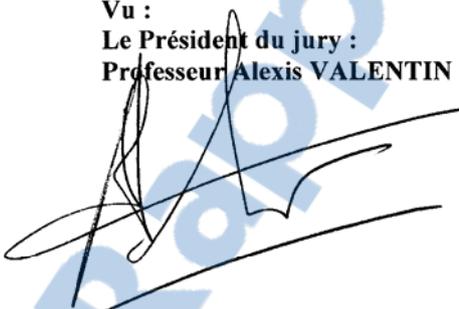
Fait à Toulouse, le 4 Novembre 2011
Docteur Jean-Denis BAILLY
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
Le Directeur de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILO



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Alexis VALENTIN



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
14 NOV. 2011
Professeur Gilles FOURTANIER



Conformément à l'Arrêté du 20 avril 2007, article 6, la soutenance de la thèse ne peut être autorisée qu'après validation de l'année d'approfondissement.

BIBLIOGRAPHIE

AFSSA. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaines et animales. Rapport final , Mars 2009.

Andersen, B.N.K.F.J.B. 2002 Characterization of *Stachybotrys* from water damaged buildings based on morphology, growth, and metabolite production. *Mycologia*, 94, 392-403.

Andersen, B., Nielsen K. F and Szaro U. T. T., Taylor J. W., Jarvis B. 2003. The Mycological Society of America, Lawrence, *Mycologia*, 95(6): 1227–1238.

Andersson, M.A., Nikulin M., Koljalg U., Anderson M.C., Rainey F., Reijula K., Hintikka E.L., and Salkinoja-Salonen M. 1997. Bacteria, molds, and toxins in water-damaged buildings materials. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 387-93.

Auger P.L., Gourdeau P., and Mille D. 1994. Clinical experience with patients suffering from chronic fatigue-like syndrome and repeated upper respiratory infections in relation to air-borne molds. *Am J Ind Med*, 25:41-42. Cited by Johanning et al. (1996).

Bailly S., Querin A., Guerre P., Bailly J. D. 2010. La *Stachybotryotoxicose*, une mycotoxicose d'actualité en France. *Inst. Du Cheval Franc. de l'équitation*.

Bata A., Harrach B., Ujszaski K., Kis-Tamas A., and Lasztity R. 1985. Macrocyclic trichothecene toxins produced by *Stachybotrys atra* strains isolated in middle Europe. *App. Environ. Microbio.*, p678-681.

Bhatnagar D., Yu J., Ehrlich K.C. 2002. Toxins of filamentous fungi. *Chem. Immunol.* 81 pp 167-206.

Beijer L., Thorn J., and Rylander R. 2002. Effects after inhalation of (1→3)- beta-D-Glucan and relation to mould exposure in the home. *Mediators. Inflamm.* 11,146-53.

Benazzou H., Kichou F., Abidi M., Ouragh L., El Haleq A., Tber A. (1991). Equine *stachybotryotoxicosis*: first outbreak in Morocco-automne 1991.

Bloom E., Bal K., Nyman E., Must A., Larsson L. 2007. Mass spectrometry based strategy for direct detection and quantification of some mycotoxins produced by *Stachybotrys* and *Aspergillus* spp. In indoor environments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73, 4211-4217.

Boudrea Y., and Perkner J. 1997. Health Hazard Evaluation Report HETA 97-0048-2641, Cowlitz County Health Department, Longview, WA. Hazard Evaluations and Technical Assistance Branch, NIOSH, Cincinnati, OH, 28 pp. NTIS Accession Number: PB98115900/XAB. Abstract from DIALOG NTIS 2044608.

Brasel T. L., Campbell A. W., Demers R. E., Ferguson B. S., Fink, J., Vojdani A., Wilson S. C., and Straus D. C. 2004. Detection of trichothecene mycotoxins in sera from individuals exposed to *Stachybotrys chartarum* in indoor environments. *Arch Environ Health.* 59[6], 317-323.

Burge H.A., and Ammann H.A. 1999. Fungal toxins and b-(1,3)-D-glucans. In: Macher, J., Ammann, H.A., Burge, H.A., Milton, D.K., and Morey, P.R., Eds. *Bioaerosols: Assessment and Control*. ACGIH, Cincinnati, OH, pp. 24-1 to 24-13. Cite par Integrated laboratory system, 2004.

- Chung YJ., Jarvis BB., Tak H., Petska JJ. 2003. Immunochemical assay for satratoxin G and other macrocyclic trichothecenes associated with indoor air contamination by *Stachybotrys chartarum*. *Toxicol. Mech. Meth.* 13, 247-252.
- Cooley J.D., Wong W.C., Jumpers C.A., and Straus D.C. 1998. Correlation between the prevalence of certain fungi and sick building syndrome. *Occup Environ Med*, 55(9):579-584. Abstract from CIS 99:02061.
- Croft W.A., Jarvis B.C., and Yatawara C.S. 1986. Airborne outbreak of trichothecene toxicosis. *Atmos Environ*, 20:549-552. Cité par Nelson (2001).
- Dearborn D.G., Yike I., Sorenson W.G., Miller M.J., and Etzel R.A. 1999. Overview of investigations into pulmonary hemorrhage among infants in Cleveland, Ohio. *Environ Health Perspect*, 107(Suppl. 3):495-499.
- Deitchman S., Martinez K., and Upham S. 1994. Health Hazard Evaluation Report No. HETA-92-0244-2373, Kaiser Northlake Atrium, Atlanta, GA. Hazard Evaluations and Technical Assistance Branch, NIOSH, U.S. Department of Health and Human Services, Cincinnati, OH, 24 pp. Abstract from NIOSH 00219210.
- Drobotko V. G. 1945. Stachybotryotoxicosis: A new disease of horses and humans. *Amer. Rev. of Soviet Med.* 2 (3):238-242
- Emanuel D. A., Wenzel F. J., and Lawton B.R.. 1975. Pulmonary mycotoxicosis. *Chest* 67:293-297.
- Eppley R. M., and Bailey W. J. 1973. 12,13-Epoxy-9-trichothecenes as the probable mycotoxins responsible for stachybotryotoxicosis. *Science* 181:758-760.
- Etzel R.A., Montaña E., Sorenson W.G., Kullman G.J., Allan T.M., and Dearborn D.G. 1998. Acute pulmonary hemorrhage in infants associated with exposure to *Stachybotrys atra* and other fungi. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 152:757-762. Abstract from BIOSIS 98:30300.
- Flannigan B., McCabe M.E., and McCarry F. 1991. Allergenic and toxigenic microorganisms in houses. *J Appl Bacteriol*, 70(Suppl.):61-73. Cited by Johanning et al. (1996).
- Flappan S., Portnoy M.J., Jones P., Barnes C. 1999. Infant pulmonary hemorrhage in a suburban home with water damage and mold (*Stachybotrys atra*). *Environ. Health Perspect.* 107:927-930.
- Flemming J., Hudson B., and Rand T.G. 2004. Comparison of inflammatory and cytotoxic lung responses in mice after intratracheal exposure to spores of two different *Stachybotrys chartarum* strains. *Toxicol.Sci*, 78, 267-75.
- Forgacs J., Carll W.T., Hering A.S et Hinshaw W.R. 1962. Toxicity of *Stachybotryotys atra* for animals. *Trans. N.Y.Acd.Sci.*, 1958, 20,787-808.
- Gao P. and Martin J. 2002. Volatile metabolites produced by three strains of *Stachybotrys chartarum* cultivated on rice and gypsum board. *Appl.Occup.Environ Hyg.* 17[6], 430-436.
- Godish T. J. and Godish D. R. 2006. Mold infestation of wet spray-applied cellulose insulation. *J Air Waste Manag.Assoc.* 56[1], 90-95.

- Gravesen S., Nielsen P. A., Iversen R., and Nielsen K. F. 1999. Microfungal contamination of damp buildings--examples of risk constructions and risk materials. *Environ Health Perspect.* 107 Suppl 3:505-8., 505-508.
- Green C.F., Scarpino P.V., and Gibbs S.G. 2003. Assessment and modeling of indoor fungal and bacterial bioaerosol concentrations. *Aerobiologia*, 19:159-169.
- Grevet. These. 2004. Mode d'action et toxicité des trichothécènes. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. 230 pages.
- Hinkley S. F, Mazzola E. P, Fettinger J. C, Lam Y. K. T, Jarvis B. B., 2000. Atranones A-G, from the toxigenic mold *Stachybotrys chartarum*. *Phytochem* **55**: 663-673. Cité par Andersen, 2002.
- Hodgson M.J., Morey P., Leung W.Y., Morrow L., Miller B., Jarvis B., Robbins H., Halsey J. F., and Storey. E. 1998. Building-associated pulmonary disease from exposure to *Stachybotrys chartarum* and *Aspergillus versicolor*. *J. Occup. Med.* 40:241-249.
- Hossain M. A., Ahmed M. S., and Ghannoum M. A. 2004. Attributes of *Stachybotrys chartarum* and its association with human disease. *J Allergy Clin Immunol.* 113[2], 200-208.
- Hudson N., Flemming J., Sun G., and Rand T.G. 2005. Comparison of immunomodulateur mRNA and protein expression in the lungs of *Stachybotrys chartarum* spore-exposed mice. *J. Toxiol. Environ. Health A*, 68, 1321-35
- Institut national de santé public du Québec (INSPQ). 2011. <http://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiche.asp?no=29>
- Integrated Laboratory Systems. 2004. *Stachybotrys chartarum* (or *S. atra* or *S. alternans*) [CAS No. 67892-26-6]; Review of Toxicological Literature. National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS). 1-66. United States.
- IRSST (Institut de Recherché Robert Sauvé): www.irsst.qc.ca. 2001
- Islam Z., Harkema J.R., and Pestka J.J. 2006. Satratoxine G from the black mold *Stachybotrys chartarum* evokes olfactory sensory neuron loss and inflammation in the murine nose and brain. *Environ.Health Perspect.* 114, 1099-1107
- Izmailov I.A., and Morochkine B.F. 1962: *Veterinaya*, 38, 4, 27-28.
- Jarvis BB., Lee YW., Comezoglu N., Yatawara CS. 1986. Trichothecenes produced by *Stachybotrys atra* from eastern europe. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 915-918.
- Jarvis BB., Sorenson WG., Hintikka EL., Nikulin M., Zhou Y., Jiang J., Wang S., Hinkley S., Etzel RA., Dearborn D. 1998. Study of toxin production by isolates of *Stachybotrys chartarum* and *Memnoniella echinata* isolated during a study of pulmonary hemosiderosis in infants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 3620-3625.
- Johanning E., Biagini R., Hull D., Morey P., Jarvis B., Landsbergis P. 1996. Health and immunology study following exposure to toxigenic fungi (*Stachybotrys chartarum*) in a water-damaged office environment. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 68 :207-218.

- Johanning E., Landsbergis P., Gareis M., Yang C.S., and Olmsted E. 1999. Clinical experience and results of a sentinel health investigation related to indoor fungal exposure. *Environ Health Perspect*, 107(Suppl. 3):489-494.
- Knapp J.F., Michael J.G., Hegenbarth, M.A., Jones P.E., and Black P.G. 1999. Case records of the Children Mercy Hospital, case 02-1999: a month old infant with respiratory distress and shock. *Pediatr. Emerg. Care* 15:288-293.
- Kordula T., Banbula A., Macomson J., and Travis J. 2002. Isolation and properties of Stachyrase A, a chymotrypsin-like serine proteinase from *Stachybotrys chartarum*. *Infect. Immun.* 70, 419-421.
- Korpi A., Kasanen J.P., Raunio P., Kosma V M., Virtanen T and Pasanen A L. 2002. Effects of aerosols from nontoxic *Stachybotrys chartarum* on murine airways. *Inhal.Toxicol.* 14, 521-540.
- Kozak P.P., Gallup J., Cummins L.H., and Gillman S.A. 1979. Currently available methods for home mold surveys. *Ann Allergy* 45:167-176. Cited by Johanning et al. 1996.
- Kuhn R. C., Trimble M. W., Hofer V., Lee M., and Nassof R. S. 2005. Prevalence and airborne spore levels of *Stachybotrys* spp. in 200 houses with water incursions in Houston, Texas. *Can J Microbiol.* 51[1], 25-28.
- Le Bars J. 1977. La *Stachybotryotoxicose*: une mycotoxicose fatale due à *Stachybotrys atra* cda, *Revue Med.Vét.* , 128,1, 51-69.
- Le Bars J., Le Bars P. 1996. Recente acute and subacute mycotoxicosis recognized in France. *Vet. Res.*, 27, 382-394.
- Lefèbvre H.P., Le Bars J., Legrand C., Le Bars P., Dossin O., Toutain P.L., and Braun J.P. 1994. Three cases of equine stachybotryotoxicosis. *Revue Med.Vet.* 145, 4, 267-269.
- Leino M., M. Makela M., Rejula K., Haahtela T., Mussalo-Rauhamaa H., Tuomi T., Hintikka E.L., and Alenius H. 2003. Intranasal exposure to a damp building mould, *Stachybotrys chartarum*, induces lung inflammation in mice by satratoxin-independent mechanisms. *Clin. Exp. Allergy* 33, 1603-1610.
- Mason C.D., Rand T.G., Outlon M., MacDonald J.M.,and Sott J.E. 1998. Effects of *Stachybotrys chartarum* (*atra*) conidia and isolated toxin on lung surfactant production and homeostasis. *Nat.Toxins* 6, 27-33.
- Mason C.D., Rand T.G., Outlon M., MacDonald J.M., and Anthes M. 2001. Effects of *Stachybotrys chartarum* on surfactant convertase activity in juvenile mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 172, 21-28.
- Matoussevitch V.F., Feklistoff M.N., Rojdiectvienskii V.A. 1960. *Veterinariya*, 37,9,71.
- Meklin T., Husman T., Vepsalainen A., Vahteristo M., Koivisto J., Halla-Aho J., Hyvarinen A., Moschandreas D., and Nevalainen A. 2002. Indoor air microbes and respiratory symptoms of children in moisture damaged and reference schools. *Indoor Air.* 12[3], 175-183.
- Montaña E., Etzel R.A., Allan T., Horgan T.E., and Dearborn D.G. 1997. Environmental risk factors associated with pediatric idiopathic pulmonary hemorrhage and hemosiderosis in a Cleveland community. *Pediatrics*, 99(1):1-8. Cited by Johanning et al. (1999).

- Moularat S, Robine E, Ramalho O and Oturan M 2008. "Detection of fungal development in closed spaces through the determination of specific chemical targets." *Chemosphere* 72(2): 224-232.
- Nelson B. D. 2001. *Stachybotrys chartarum*: the toxic indoor mold. Cité par AFSSA, 2009.
- Nielsen K.F., Huttunen K., Hyvarinen A., Andersen B., Jarvis B.B., and Hirvonen MR. 2002. Metabolite profiles of *Stachybotrys* isolates from water damaged buildings and their induction of inflammatory mediators and cytotoxicity in macrophages. *Mycopathologia* 154, 201-205.
- Nielsen KF., Smedsgaard J. 2003. Fungal metabolite screening : database of 474 mycotoxins and fungal metabolites for dereplication by standardised liquid chromatography-UV-mass spectrometry methodology. *J. Chrom A.*, 1002, 111-136.
- Nikulin M., Panasen A.-L., Berg S and Hintikka E.-L. 1994. *Stachybotrys atra* growth and toxin production in some building materials and fodder under different relative humidities. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 3421-3424.
- Nikulin M., Reijula K., Jarvis B.B., and Hintikka E.L. 1996. Experimental lung mycotoxicosis in mice induced by *Stachybotrys atra*. *Int. J. Exp. Pathol.* 77, 213-218.
- Nikulin M., Reijula K., Jarvis B.B., Veijalainen P., and Hintikka E.L. 1997. Effects of intranasal exposure to spores of *Stachybotrys atra* in mice. *Fundam. Appl. Toxicol.* 35, 182-188.
- Novotny W. E and Dixit A. 2000. pulmonary hemorrhage in an infant following 2 weeks of fungal exposure. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med* 154:271-275.
- Ochiai E., Kamei K., Hiroshima K., Watanabe A., Hashimoto Y., Sato A, Ando A. 2005. The Pathogenicity of *Stachybotrys chartarum*. *Nihon Ishinkin Gakkai zasshi Japanese journal of medical mycology* .Vol: 46, Issue: 2, p: 109-117.
- Patterson T. F., McGinnis M. R., and ed. 2009. The fungi description. Site Doctor Fungus. Mycoses Study Group.
- Perry L. P., Iwata M., Tazelhaar H. D., Colby T. V., and Yousem S. A. 1998. Pulmonary toxicosis: a clinicopathologic study of three cases. *Mod. Pathol.* II:432-436.
- Pestka J.J., Yike I., Dearborn D.G., Ward M.D.W., and Harkema J.R. 2008. *Stachybotrys chartarum*, Trichothecene Mycotoxins, and Damp Building-Related illness: new insights into a public health enigma. *Toxicol. Sciences* 104(1), 4-26.
- Prat. Vet. Equine .1997.
- Rand T.G., Mahoney M., White K., and Outlon M. 2002. Microanatomical changes in alveolar type II cells in juvenile mice intratracheally exposed to *Stachybotrys chartarum* spores and toxin. *Toxicol. Sci.*, 65, 239-45
- Rao C.Y., Brain J.D., and Burge H.A. 2000a. Reduction of pulmonary toxicity of *Stachybotrys chartarum* spores by methanol extraction of mycotoxins. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2817-2821.

- Recco P., Servantie J., De Graeve P., De graeve J., Le Bars J., Rouch Y. 1986. A propos d'une Stachybotryotoxicose d'allure endémique dans un club hippique de la région toulousaine. Approche épidémiologique, clinique et diagnostic. Bull. Soc. Fr. Mycol. Méd. XV n°1, pp. 223-236
- Redlich C A DrMD, Sparer J., CIH, Cullen MR ProfMD: 1997. Sick-building syndrome. Volume 349, Issue 9057, p 1013-1016.
- Servantie J., Le Bars J., Bonnefoi M., 1985. Stachybotryotoxicose équine : première description en France. Rev. Med. Vet., 136, 687-692.
- Shelton B. G., Kirkland K. H., Flanders W. D., and Morris G. K. 2002. Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. Appl. Environ Microbiol. 68[4], 1743-1753.
- Shwartz D.A., and Blaski C. A. 1998. Toxic inhalations, p.925-940 in A. P. Fishman.
- Sorenson B., Kullman G., and Hintz P. 1996. Health Hazard Evaluation Report HETA 95-0160-2571, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Environmental Health. Respiratory Disease Hazard Evaluation and Technical Assistance Program, NIOSH, Morgantown, WV, 52 pp. NTIS Accession Number PB96-197595. Abstract from DIALOGNTIS 1972435.
- Storey E, Dangman K H, Schenck P, DeBernardo R L, Yang, C S, Bracker A, and Hodgson M J. 2004. Guidance for clinicians on the recognition and management of health effects related to mold exposure and moisture indoors. -58 p. Farmington, Center for Indoor Environment and Health, University of Connecticut Health Center.
- Straus, D.C. 2009. Molds, mycotoxins, and sick building syndrom. Toxicology and Industrial Health 25: 617-635
- Trout D., Berstein J., Martinez K., Biagini R., and Wallingford. 2001. Bioaerosol lung damage in a worker with repeated exposure to fungi in a water-damaged building, Environ. Health. Perspect. 109:641-644.
- Ursiny J., Groch L., 1967 Vet. Med. Praha, 12, 311-321.
- Vance P.H., Weissfeld B.A et A.S. 2007. The controversies surrounding sick building syndrome. Microbiol. Special. In corpo., Vol 29, n.10.
- Vertinskii K.L. 1940. Stachybotryotoxicosis in horses. Veterinariya 17:61-68.
- Vesper S., et Vesper M.J., Stachylisine may be a cause of hemorrhaging in human exposed to Stachybotrys chartarum. Infect. Immun. 70 (4) 2002. 2065-2069.
- Viana M.E., Coates N.H., Gavett S.H., Selgrade M.K., Vesper S.J., nad Ward, M.D. 2002. An extract of *Stachybotrys chartarum* causes allergic asthma-like responses in a BALBC/c mouse model. Toxicol.Sci. 70, 98-109.
- Weber A.M., and Martinez K.F. 1996. Health Hazard Evaluation Report HETA 93-1110-2575, Martin County Courthouse and Constitutional Office Building, Stuart, FL. Hazard Evaluation Services Branch, NIOSH, Cincinnati, OH, 33 pp. NTIS Accession Number PB97-124465. Abstract from DIALOGNTIS 1990670

Weber A.M., and Page E.H. 1999. Health Hazard Evaluation Report HETA 98-0026-2745, Ronald McDonald House of Durham, Durham, NC. Hazard Evaluations and Technical Assistance Branch, NIOSH, Cincinnati, OH, 58 pp. NTIS Accession Number PB2000-103340/XAB. Abstract from DIALOGNTIS 215723.

Weiss A., and Chidekel A.S. 2002. Acute pulmonary hemorrhage in a Delaware infant after exposure to *Stachybotrys atra*. Del Med J, 74:363-368.

Yang G. H, Jarvis B. B, Chung Y. J, Pestka J. J. 2000. Toxicol Appl Pharmacol. Apr 15;164(2):149-60.

Yike I., Miller M., Sorenson W. G., Walenga R., Tomaszefski J. F. Jr., Dearborn D. G. 2001. Infant animal model of pulmonary mycotoxicosis induced by *Stachybotrys chartarum*. Mycopathologie. 154 pp 139-152.

Yike I., Rand T. G., and Dearborn D. G. 2005. Acute inflammatory responses to *Stachybotrys chartarum* in the lungs of infant rats: time course and possible mechanisms. Toxicol.Sci. 84,408-417.

Yike I., Miller M. J., Sorenson W.G., Walenga R., and Dearborn D.G. 2002. Infant animal model of pulmonary mycotoxicosis induced by *Stachybotrys chartarum*, *Mycopathologia* 154, 139-52.

Yike I., Dearborn D.G. 2004. Pulmonary effects of *Stachybotrys chartarum* in animal studies. Adv. Appl. Microbiol., 55 pp 241-273.

Young S.H., Robinson V.A., Barger M., Whitmer M., Portern D.W., Frazer D.G., and Castranova V. 2003. Exposure to particulate 1→3-beta-glucans in rats. J. Toxicol. Environ. Health A 66, 25-38.

Toulouse, 2011

NOM : CATTI

PRENOM : CHARLOTTE

TITRE : *STACHYBOTRYS CHARTARUM* ET LES SATRATOXINES : IMPACT SUR LA SANTE ANIMALE ET HUMAINE

RESUME : *Stachybotrys chartarum* est une moisissure qui peut se développer sur des substrats riches en cellulose humide. Elle peut être retrouvée dans les fourrages et coloniser certains matériaux dans les habitations. De nombreuses souches de *Stachybotrys chartarum* sont toxigènes. Elles produisent des trichothécènes macrocycliques retrouvées dans les spores fongiques. Chez l'animal, l'ingestion de fourrages contaminés peut entraîner l'apparition de troubles dominés par des ulcérations et des hémorragies. Chez l'homme, l'exposition à ce contaminant se fait essentiellement par inhalation des spores. *Stachybotrys chartarum* semble responsable de troubles dominés par des symptômes respiratoires et pouvant aller jusqu'à l'apparition d'hémorragie pulmonaire chez l'enfant. On suspecte aussi *Stachybotrys chartarum* d'être en partie responsable du syndrome du bâtiment malsain. Néanmoins, à l'heure actuelle, le lien direct de cause à effet entre exposition à ce contaminant et pathologie humaine reste à établir.

MOTS-CLES : *Stachybotrys chartarum* – Satratoxine – Trichothécènes — Moisissure –Habitat – Fourrage – Toxicité

ENGLISH TITLE : *STACHYBOTRYS CHARTARUM* AND SATRATOXINS : IMPACT ON ANIMAL AND HUMAN HEALTH

ABSTRACT: *Stachybotrys chartarum* is a mold which can develop on wet cellulose-rich substrata. It can be found in the fodder and colonize certain materials in the housing. Numerous strains of *Stachybotrys chartarum* are toxigenic. They produce macrocyclic trichothecenes found in fungal spores. In the case of animal, ingestion of contaminated fodder can cause disorders dominated by ulceration and bleeding. In humans, exposure to this contaminant is essentially caused by inhalation of the spores. *Stachybotrys chartarum* appears responsible for disorders dominated by respiratory symptoms which can go up to pulmonary hemorrhage in children. *Stachybotrys chartarum* is suspected to be in part responsible for the sick building syndrome. Nevertheless, today, the direct causal link between exposure to this contaminant and human pathology remains to be proved.

KEY WORDS: *Stachybotrys chartarum* – Satratoxin – Trichothecene – Mould – Housing – Fodder – Toxicity