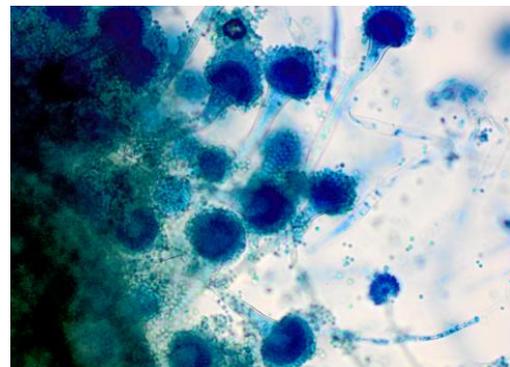


Utilisation des fongicides triazolés : impact non intentionnel sur une moisissure pathogène pour l'Homme

Les moisissures, champignons microscopiques, peuvent entraîner différents effets sur la santé. *Aspergillus fumigatus* est une moisissure ubiquitaire, retrouvée à la fois dans l'environnement intérieur et extérieur, qui est impliquée dans différentes pathologies respiratoires. Elle peut être à l'origine d'infection fongique grave comme l'Aspergillose Invasive (AI) chez les patients immunodéprimés, d'effet allergique avec colonisation comme l'Aspergillose Broncho-Pulmonaire Allergique (ABPA) chez les patients atteints de mucoviscidose ou encore de différentes pathologies allergiques comme l'asthme chez les personnes sensibilisées.

L'AI, pathologie aspergillaire la plus grave, est difficile à diagnostiquer et à traiter, avec un taux de mortalité pouvant atteindre 65%, et des options de traitement limitées (Van der Linden et al. 2011, Verweij et al. 2009). En effet, les possibilités de traitements antifongiques en médecine humaine sont restreintes, avec seulement 4 classes de molécules disponibles.

Pour les pathologies aspergillaires, ce sont les antifongiques triazolés qui sont recommandés en traitement de première intention. Leur mode d'action bloque une étape importante de la voie de biosynthèse de l'ergostérol, un stérol prédominant et essentiel des membranes fongiques. Ces molécules, par leur efficacité et leur possibilité d'administration par voie orale a facilité leur utilisation et a considérablement amélioré le taux de survie des patients atteints d'AI ces dernières années.



Aspergillus fumigatus (microscope optique) © S. Rocchi

Cependant, les avancées cliniques rendues possibles par l'utilisation des triazoles médicaux sont menacées par l'émergence de souches résistantes, avec 85% des patients mourant dans les 3 mois en cas d'infection par une souche résistante. Un pré requis pour qu'il y ait résistance est qu'il y ait des molécules triazolées en concentration suffisante pour créer un stress chez les populations fongiques, tout en permettant que certains individus puissent tolérer le composé, s'adapter et être ainsi sélectionnés. Ces phénomènes de résistance peuvent survenir lors du traitement au long cours des patients comme cela peut-être le cas pour les résistances aux antibiotiques. Mais dans la thématique des résistances aux antifongiques, une des voies importante d'acquisition de résistance est liée à l'utilisation de fongicides triazolés dans l'environnement (Snelders et al., 2012). C'est aujourd'hui le seul cas où des molécules de la même famille, avec des structures chimiques très similaires, sont utilisées à la fois pour sauver des vies humaines et pour protéger les cultures et les matériaux. Les cas d'*A. fumigatus* résistants aux triazoles (cliniques et environnementaux) sont décrits maintenant sur tous les continents, l'Europe étant au centre des préoccupations.

Une résistance qui émerge dans l'environnement suite à l'utilisation de fongicides

Avec l'augmentation de la population mondiale et de ses besoins alimentaires, couplés aux changements climatiques et environnementaux, l'utilisation d'intrants chimiques a permis l'intensification de l'agriculture et l'expansion de l'élevage. Aucun traitement curatif n'est possible pour les infections des cultures, largement dominées par les champignons. Par conséquent, la solution souvent trop privilégiée pour éviter les pertes économiques importantes est l'action préventive, avec les triazoles qui ciblent spécifiquement les champignons.

Les triazoles, avec plus de 30 molécules disponibles (Fisher et al., 2018), sont ainsi largement utilisés en agriculture pour protéger les cultures céréalières, maraichères et viticoles des moisissures phytopathogènes, mais aussi dans la culture des plantes ornementales et pour préserver les matériaux comme le bois. Lorsque les fongicides triazolés sont appliqués pour la préservation contre les champignons phytopathogènes sur les champs de céréales par exemple, ils ont un impact non intentionnel sur les souches d'*A. fumigatus* naturellement présentes dans les sols. Les souches qui se sont adaptées *via* des mutations leur conférant une résistance aux traitements, vont, par pression de sélection, être favorisées au détriment des souches sensibles. Deux mutations majoritaires sur le gène *cyp51A* (codant pour l'enzyme impliquée dans la voie de biosynthèse de l'ergostérol) sont décrites dans les mécanismes de résistance liés à l'utilisation de fongicides triazolés dans l'agriculture. Il s'agit des mutations TR₃₄/L98H et TR₄₆/Y121F/T289A. Les souches présentant ces mutations montrent des profils de résistance multiple aux triazoles utilisés en médecine humaine. Ceci entraîne, dans certaines zones, la présence importante de populations fongiques tolérantes aux fongicides et résistantes aux antifongiques triazolés médicaux, compromettant ainsi la survie de personnes à risque.

Cinq molécules appliquées dans les agrosystèmes (époconazole, tébuconazole, propiconazole, difénoconazole, bromuconazole) ont particulièrement été mises en cause dans la littérature (Snelders et al., 2012). Mais il n'est pas exclu que d'autres molécules triazolées parmi les 30 disponibles puissent exercer une pression de sélection sur *A. fumigatus*. Ces fongicides sont utilisés à l'échelle mondiale, en particulier en Europe et en Asie, où ils représentent l'une des classes de pesticides les plus couramment utilisées (Chen et al., 2016 ; Chowdhary et al., 2015), et les cas de résistance sont bien conformes à cette tendance. En effet, les cas cliniques et environnementaux de résistance aux triazoles chez *A. fumigatus* montrent des inégalités de distribution, l'Europe étant au centre des préoccupations.

Une prévalence élevée d'*A. fumigatus* résistants aux triazoles est aujourd'hui observée en pratique clinique (>10%) et dans l'environnement aux Pays-Bas et au Royaume-Uni, mais aussi au Danemark et en Allemagne. Toutefois, le phénomène a récemment pris de l'ampleur et s'est étendu à tous les pays d'Europe et à tous les continents...

Etat des lieux de la problématique en Bourgogne-Franche-Comté

Au CHRU de Besançon, trois cas d'Aspergillose invasive avec souche résistante (TR₃₄/L98H) ont été diagnostiqués : Le 1^{er} cas français, survenu chez un agriculteur, ayant utilisé de l'époconazole pendant plusieurs années dans ces parcelles (Rocchi et al., 2014). Le 2^{ème} cas Franc-Comtois a été décrit chez un ouvrier du bois, où le propiconazole et le tebuconazole sont largement utilisés dans l'industrie du bois (Jeanvoine et al., 2017 ; Jeanvoine et al., 2016) et le troisième plus récemment chez un patient habitant une ferme entourée de champs cultivés. Depuis le 1^{er} cas décrit à Besançon en 2014, l'équipe de mycologie du CHRU (Laboratoire Chrono-Environnement) s'intéresse à cette thématique avec une recherche particulière de ces souches résistantes qui est réalisée, qu'il s'agisse des prélèvements cliniques ou de prospections dans l'environnement. En effet, l'extrême gravité des infections fongiques, sous-estimées aujourd'hui, ne s'améliorera pas à l'avenir compte tenu du nombre croissant de personnes sensibles. Ceci impose donc de mieux comprendre les mécanismes et les pratiques responsables de l'émergence de résistance ainsi que les modes de diffusion des clones résistants.

Les trois cas d'*A. fumigatus* résistants aux triazoles décrits chez les patients ont à chaque fois un lien avec des domaines professionnels utilisant des fongicides. Un lien a aussi été mis en évidence entre la présence de souches d'*A. fumigatus* résistantes aux traitements médicaux à base de triazoles et la présence de fongicides triazolés dans les sols de différentes exploitations (agricoles et scieries) même

plusieurs années après traitement (Rocchi et al., 2018 ; Jeanvoine et al., 2017 ; Rocchi et al., 2014). Dans chacun des sites professionnels prospectés, les souches résistantes ont été retrouvées dans les sols présentant des concentrations de triazoles faibles à moyennes (sur l'échelle de concentrations retrouvées), les concentrations les plus fortes entraînant une élimination complète de toutes formes viables fongiques et les plus faibles n'exerçant visiblement pas une pression de sélection assez importante pour entraîner une résistance.

Actuellement, plus de 150 souches résistantes, dont la résistance provient de l'environnement, ont pu être caractérisées au CHRU de Besançon : 52% provenant d'environnements professionnels, 28% de prélèvements cliniques, 10% des couloirs du CHRU, 7% de l'environnement extérieur proche du CHRU et 3% de domiciles de patients. Des recherches sont en cours afin de définir le lien entre ces souches.

Quelles mesures face à l'urgence de la situation ?

Bien que de nombreuses études fassent maintenant état de souches résistantes en lien avec l'exposition aux triazoles dans l'environnement, les conditions environnementales exactes d'apparition de ces souches résistantes ne sont pas connues.

Le climat ainsi que le recouvrement végétal pourrait jouer leurs rôles et influencer la distribution hétérogène des souches résistantes observée, avec une utilisation plus importante des fongicides dans les régions pluvieuses qui pourrait être une explication à la plus grande prévalence de souches résistantes retrouvées aux Pays-Bas.

L'acquisition de résistance aux triazoles dans les sols agricoles exposés régulièrement, dépend aussi probablement d'interactions entre les propriétés abiotiques (type de sol, nature du fongicide, pratique culturale) et biotiques (nature de la culture, organismes vivants dans le sol). En plus d'influencer la présence des communautés fongiques, les propriétés physico-chimiques et biologiques du sol sont connues pour réguler les processus impliqués dans la dissipation des pesticides (adsorption, transfert et biodégradation), conditionnant ainsi l'exposition des organismes vivants dans le sol et les conséquences écotoxicologiques issues de cette exposition, dont l'émergence de populations résistantes. A l'échelle des populations fongiques elles-mêmes, *A. fumigatus* a trois modes de reproduction différents (asexuel, sexuel et parasexuel) et le rôle possible de la reproduction sexuée dans l'émergence de la résistance a été mentionné (Zhang et al., 2017). Il existe probablement aussi des génotypes particuliers suivant les pays, voir les régions, qui expliqueraient les disparités observées.

Pour maintenir notre capacité à contrôler les infections fongiques, que ce soit en santé humaine, en santé animale ou en agriculture, la lutte contre la résistance antifongique doit devenir une priorité. Des recherches à plusieurs échelles, définies selon un continuum allant de l'environnement à l'exposition du patient et à sa santé sont nécessaires pour traiter de la problématique dans son ensemble. Il est important de mieux comprendre les conditions dans lesquelles la résistance se développe et évaluer la propagation de la résistance jusqu'aux patients et d'améliorer les techniques pour mieux diagnostiquer les infections et sauver les patients. En parallèle, pour préserver l'efficacité des antifongiques triazolés dans le traitement des aspergilloses, mais aussi pour lutter contre l'observation croissante de souches phytopathogènes résistantes qui ravagent les cultures, des mesures de réduction d'utilisation ou de substitution des fongicides devront être mises en place.



Contacts

Steffi ROCCHI^{1,2}, Laurence MILLON^{1,2}, Nadia CRINI¹, Grégorio CRINI¹

¹UMR 6249 Chrono-environnement, Université Bourgogne Franche-Comté, 16 route de Gray, 25000 Besançon

²Parasitologie Mycologie, Centre Hospitalier Régional Universitaire, 25030 Besançon cedex

Logos organismes



Bibliographie citée

- Chen, Y., Z. Lu, J. Zhao, Z. Zou, Y. Gong, F. Qu, Z. Bao, G. Qiu, M. Song, Q. Zhang, L. Liu, M. Hu, X. Han, S. Tian, F. Chen, C. Zhang, Y. Sun, P. E. Verweij, L. Huang & L. Han, 2016. Epidemiology and Molecular Characterizations of Azole Resistance in Clinical and Environmental *Aspergillus fumigatus* Isolates from China. *Antimicrob Agents Chemother*, 60, 5878-84.
- Chowdhary, A., C. Sharma, S. Kathuria, F. Hagen & J. F. Meis, 2015. Prevalence and mechanism of triazole resistance in *Aspergillus fumigatus* in a referral chest hospital in Delhi, India and an update of the situation in Asia. *Front Microbiol*, 6, 428.
- Fisher, M. C., N. J. Hawkins, D. Sanglard & S. J. Gurr, 2018. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. *Science*, 360, 739-742.
- Jeanvoine, A., S. Rocchi, G. Reboux, N. Crini, G. Crini & L. Millon, 2017. Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in sawmills of Eastern France. *J Appl Microbiol*.
- Jeanvoine, A., S. Rocchi, G. Reboux, F. Grenouillet, M. Benassarou, C. Chirouze & L. Millon, 2016. Sinus aspergillosis due to an azole-resistant *Aspergillus fumigatus* strain carrying the TR34/L98H mutation in immunocompetent host. *Infect Dis (Lond)*, 48, 765-6.
- Rocchi, S., E. Daguindau, F. Grenouillet, E. Deconinck, A. P. Bellanger, D. Garcia-Hermoso, S. Bretagne, G. Reboux & L. Millon, 2014. Azole-resistant *Aspergillus fumigatus* isolate with the TR34/L98H mutation in both a fungicide-sprayed field and the lung of a hematopoietic stem cell transplant recipient with invasive aspergillosis. In *J Clin Microbiol*, 1724-6. United States.
- Rocchi, S., M. Poncot, N. Morin-Crini, A. Laboissiere, B. Valot, C. Godeau, C. Lechenault-Bergerot, G. Reboux, G. Crini & L. Millon, 2018. Determination of azole fungal residues in soils and detection of *Aspergillus fumigatus*-resistant strains in market gardens of Eastern France. *Environ Sci Pollut Res Int*.
- Snelders, E., S. M. T. Camps, A. Karawajczyk, G. Schaftenaar, G. H. J. Kema, H. A. van der Lee, C. H. Klaassen, W. J. G. Melchers & P. E. Verweij, 2012. Triazole Fungicides Can Induce Cross-Resistance to Medical Triazoles in *Aspergillus fumigatus*. *PLoS ONE*, 7, e31801.
- Van der Linden, J., E. Snelders, G. A. Kampinga, B. J. Rijnders, E. Mattsson, Y. J. Debets-Ossenkopp, J. Kuijper, F. H. Van Tiel, W. J. Melchers & P. E. Verweij, 2011. Clinical implications of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*, the Netherlands, 2007–2009. *Emerg Infect Dis*, 17, 1846-54.
- Verweij, P. E., E. Snelders, G. H. Kema, E. Mellado & W. J. Melchers, 2009. Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a side-effect of environmental fungicide use? *Lancet Infect Dis*, 9, 789-95.
- Zhang, J., E. Snelders, B. J. Zwaan, S. E. Schoustra, J. F. Meis, K. van Dijk, F. Hagen, M. T. van der Beek, G. A. Kampinga, J. Zoll, W. J. G. Melchers, P. E. Verweij & A. J. M. Debets, 2017. A Novel Environmental Azole Resistance Mutation in *Aspergillus fumigatus* and a Possible Role of Sexual Reproduction in Its Emergence. *MBio*, 8.