

TITRE DU PROJET (limité chacun à 255 caractères)

Mécanismes émergents de la résistance aux azoles dans l'environnement chez *Aspergillus fumigatus* et *non-fumigatus*

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse¹ (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :

Nom : MILLON

Prénom : Laurence

Section CNU : 45-02

Grade : Professeur

HDR : Date de soutenance 2003 Discipline : Parasitologie-Mycologie

L'HDR devra être soutenue, ou sa soutenance autorisée, au moment du dépôt du présent projet.

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) :

UMR6249 Chrono-environnement, CHU Besançon, 25000 Besançon,

lmillon@chu-besancon.fr – Tel : 0370632353

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : UMR6249 Chrono-environnement (E. Gauthier)

Co-directeur de thèse éventuel :

Nom : ROCCHI

Prénom : Steffi

Section CNU : 87, 67, 68

Grade : Docteur

HDR : non ☒ ; oui ☐ Date de soutenance..... Discipline :

Coordonnées (adresse, courriel, téléphone) : UMR6249 Chrono-environnement, UFR Santé
19 rue Ambroise Paré 25000 Besançon, steffi.rocchi@univ-fcomte.fr, 0363082239

Unité d'appartenance (intitulé, label, n°, directeur) : UMR6249 Chrono-environnement (E. Gauthier)

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

- nom et label de l'unité de recherche (ainsi que l'équipe interne s'il y a lieu)

UMR6249 Chrono-environnement

- localisation

UFR Santé Besançon

- nom du directeur de thèse et du co-directeur s'il y a lieu

MILLON Laurence et ROCCHI Steffi

¹ ATTENTION : selon l'article 16 de l'arrêté du 25 mai 2016, le total d'encadrants ne peut pas dépasser 2, sauf si l'un des encadrants appartient au monde socio-économique, qui peut venir en sus, ou en cas de co-tutelle; Le décompte des co-encadrements se fera au prorata du nombre d'encadrants : 1 pour 1 encadrant, ½ pour deux encadrants.

- adresse courriel du contact scientifique

lmillon@chu-besancon.fr steffi.rocchi@univ-fcomte.fr

- titre du projet : Mécanismes émergents de la résistance aux azoles dans l'environnement chez *Aspergillus fumigatus* et non-*fumigatus*

Description du projet (2 pages maximum)

A la fois décomposeurs de la matière organique, pathogènes des végétaux et des animaux ou impliqués dans des relations symbiotiques, les microorganismes fongiques ont un rôle fondamental dans la régulation des processus clés des écosystèmes. Certains organismes fongiques sont responsables de plus de 1,6 million de décès par an chez l'Homme. Des associations entre pathogénicité chez l'Homme et capacité des espèces fongiques à survivre dans des conditions extrêmes dans l'environnement ont été décrites. Il apparaît donc important de comprendre l'écologie et les adaptations des organismes fongiques dans leur environnement naturel et de s'intéresser à leur distribution dans l'environnement. L'augmentation de l'aire de distribution de certains pathogènes ainsi que de leur virulence en réponse aux changements globaux est observée. En parallèle, les effets non intentionnels de l'utilisation des fongicides dans l'environnement sélectionnent des souches résistantes aux traitements. L'extrême gravité des infections fongiques impose de mieux comprendre les pratiques responsables de l'augmentation de la résistance.

Depuis 30 ans, on assiste à une augmentation de la résistance chez *Aspergillus fumigatus*, pathogène fongique défini comme prioritaire par l'OMS, à la fois chez des souches isolées de patients mais principalement chez des souches de l'environnement, qui vont potentiellement être inhalées et provoquer des infections. Le principal mécanisme de résistance est la survenue de mutations dans le gène (*Cyp51A*) codant pour la 14-alpha-déméthylase, cible des molécules azolées, avec aujourd'hui la prédominance de certaines mutations décrites à l'échelle mondiale. Ceci a été mis en lien avec l'utilisation des fongicides azolés pour la préservation des cultures et des matériaux. Mais une proportion croissante de souches résistantes dont les mécanismes sont encore à définir est aujourd'hui observée.

D'autres espèces d'*Aspergillus* sont aussi occasionnellement la cause d'infection et présentent un certain niveau de résistance intrinsèque aux azoles. Dans le contexte d'utilisation massive des azoles, la résistance intrinsèque démontrée par exemple pour *Aspergillus lentulus*, *Aspergillus thermomutatus*, *Aspergillus udagawae*, *Aspergillus oerlinghausensis* pourrait représenter une nouvelle menace si la colonisation par ces espèces devenait plus fréquente. Des recherches pour définir la distribution des *Aspergillus* non *fumigatus* résistants aux azoles dans l'environnement sont nécessaires.

Le projet de thèse s'intéressera 1) aux *Aspergillus fumigatus* résistants aux azoles mais ne présentant pas les mécanismes de résistance déjà décrits 2) aux *Aspergillus* non *fumigatus* qui se retrouvent dans l'environnement et qui ont un profil de sensibilité diminué aux azoles.

Le projet comportera trois volets :

- Une analyse rétrospective des souches conservées lors de précédentes études
- Une analyse des espèces retrouvées dans diverses matrices environnementales (sol, air, eaux)
- Des expériences en conditions contrôlées pour étudier l'impact de différents stress sur les espèces d'intérêt.

1) Analyse rétrospective

Sur la collection des *A. fumigatus* résistants aux antifongiques azolés de l'équipe de Mycologie (CHU Besançon – UMR6249 Chrono-environnement), 3% des souches résistantes ne présentent pas de mutations sur le gène *cyp51A*. Ce chiffre atteint aujourd'hui 11% aux Pays-Bas, premier pays concerné par la résistance aux azoles. La collection de souches actuelle sera complétée par les isolats de souches conservés dans le cadre du projet européen en cours GAP-AFR. Documenter les nouveaux mécanismes impliqués sera un des objectifs de la thèse ainsi que définir les profils de résistance vis-à-vis des antifongiques/fongicides actuellement utilisés mais également ceux à venir sur le marché.

2) Analyses environnementales

Jusqu'à maintenant, seules les souches d' *A. fumigatus* étaient étudiées par l'équipe de Mycologie de Besançon. L'étude des espèces aspergillaires non *fumigatus* sera dorénavant réalisée dans les prochains projets comportant des prélèvements environnementaux (projet GAP-AFR avec prélèvements d'air à l'échelle nationale en cours, projet CARMA sur les eaux communautaires à venir).

Etudier ces espèces dans l'environnement, définir les environnements qui leur sont propices et leur transfert à différentes échelles (locale, régionale, nationale) constituera le deuxième objectif de cette thèse et participera à la mise en place d'une surveillance de potentiels nouveaux pathogènes.

3) Expériences en conditions contrôlées

Le troisième objectif de la thèse sera d'étudier l'impact de divers paramètres sur le développement des souches sélectionnées et permettra à terme d'anticiper sur l'émergence de certaines espèces dans le contexte des changements globaux. Des mesures de croissance dans des conditions contrôlées seront effectuées afin de déterminer l'impact de divers facteurs de stress (température, pH, fongicides) sur le développement des espèces isolées dans les prélèvements environnementaux. Ces tests seront réalisés sur une sélection de souches isolées à partir d'échantillons afin de comparer 1) les isolats provenant de zones fortement traitées avec des fongicides azolés par rapport à ceux provenant de zones faiblement traitées avec des fongicides azolés (sur la base des ventes de fongicides) ; 2) les isolats provenant de France par rapport à ceux provenant des Pays-Bas (collection de l'équipe néerlandaise) afin de comparer nos isolats à ceux qui ont probablement été plus exposés aux azoles (résistance plus importante et plus longue aux Pays-Bas qu'en France).

Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)

Projet en cours :

- JPI AMR – GAP-AFR, étude nationale de la prévalence de la résistance chez *Aspergillus fumigatus*. Avril 2024 – Mars 2027 (230 000 €)

Projets déposés :

- AMI GBM – CARMA, étude des eaux communautaires – Projet sélectionné. Maturation du projet à venir pour début septembre 2026 (98 820 €)
- HARMi – ENVI-FUNGI-R, étude des pathogènes fongiques dans l'environnement) – réponse mai 2026 (149 000 €)

Projets en prévision :

- JPI AMR (collaboration Pays-Bas, UK) dépôt automne 2026
- Anses (collaboration Pays-Bas, Institut Pasteur Paris) 2026

Connaissances et compétences requises

Le candidat ou la candidate à ce projet de thèse devra avoir de connaissances solides en microbiologie/mycologie (culture, isolement, caractérisation) et biologie moléculaire. Il ou

elle devra par ailleurs faire preuve d'initiative, d'esprit de synthèse, de curiosité scientifique, de minutie, de persévérance. Ses capacités de synthèse et rédaction, en français mais également en anglais seront nécessaires.

Résumé en français et anglais (limité chacun à 1800 caractères)

Les microorganismes fongiques jouent un rôle majeur dans le fonctionnement des écosystèmes, mais certaines espèces sont aussi responsables d'infections humaines graves. Parmi elles, *Aspergillus fumigatus* constitue l'un des principaux pathogènes opportunistes. Depuis 30 ans, une augmentation préoccupante de la résistance aux antifongiques azolés est observée, en particulier dans l'environnement. La majorité des résistances est liée à des mécanismes déjà décrits, mais une proportion croissante de souches résistantes dont les mécanismes sont encore à étudier est aujourd'hui observée. Par ailleurs, d'autres espèces d'*Aspergillus* intrinsèquement moins sensibles aux azoles pourraient représenter une menace émergente dans un contexte d'utilisation massive de fongicides et de changements globaux.

Cette thèse vise à mieux comprendre l'écologie, la distribution et les mécanismes de résistance des *Aspergillus* environnementaux. Trois volets seront développés : (1) une analyse rétrospective de collections de souches résistantes afin d'identifier de nouveaux mécanismes moléculaires ; (2) l'étude de la diversité et de la distribution d'*Aspergillus fumigatus* et d'espèces non fumigatus dans différentes matrices environnementales (air, sols, eaux), à différentes échelles géographiques ; (3) des expérimentations en conditions contrôlées pour évaluer l'impact de stress environnementaux (température, pH, exposition aux fongicides) sur la croissance et la sélection de souches résistantes.

Ce travail contribuera à la surveillance de potentiels pathogènes émergents et à la compréhension des pratiques environnementales favorisant la résistance, dans une perspective intégrée santé–environnement.

Fungal microorganisms play a major role in the functioning of ecosystems, but certain species are also responsible for serious human infections. Among them, *Aspergillus fumigatus* is one of the main opportunistic pathogens. Over the past 30 years, a worrying increase in resistance to azole antifungals has been observed, particularly in the environment. Most resistance is linked to mechanisms that have already been described, but a growing proportion of resistant strains whose mechanisms have yet to be studied are now being observed. In addition, other *Aspergillus* species that are intrinsically less sensitive to azoles could represent an emerging threat in a context of widespread fungicide use and global change.

This project aims to better understand the ecology, distribution and resistance mechanisms of environmental *Aspergillus*. Three areas will be developed: (1) a retrospective analysis of collections of resistant strains to identify new molecular mechanisms; (2) the study of the diversity and distribution of *Aspergillus fumigatus* and non-fumigatus species in different environmental matrices (air, soil, water) at different geographical scales; (3) experiments under controlled conditions to assess the impact of environmental stresses (temperature, pH, exposure to fungicides) on the growth and selection of resistant strains.

This work will contribute to the monitoring of potential emerging pathogens and to understanding environmental practices that promote resistance, from an integrated health–environment perspective.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous :

2 choix possibles maximum –les intitulés sont ceux d'ABG),

— Biochimie

- Ecologie, Environnement
- Santé, médecine humaine, vétérinaire

Indiquez quelques mots clés concernant votre sujet) :

Mycologie, résistance aux antimicrobiens/antifongiques, environnement, fongicides