

Avis de Soutenance

Monsieur Alexis TRE COURT

Micro-organismes, interactions, infections

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Développement et optimisation du diagnostic intégré histo-moléculaire fongique utilisant le séquençage haut débit pan-fongique à partir de tissus fixés en formol et inclus en paraffine, et application à la résolution de pièges diagnostiques courants

dirigés par Monsieur Jean MENOTTI

Soutenance prévue le **mercredi 03 décembre 2025** à 14h00

Lieu : Université Lyon 1 Faculté de Médecine de Lyon Sud Salle des thèses - 165 Chemin du Petit Revoyet 69921 Oullins-Pierre-Bénite
Salle : des thèses

Composition du jury proposé

M. Jean MENOTTI	Université Lyon 1	Directeur de thèse
Mme Fanny LANTERNIER	Université Paris Cité	Rapporteure
Mme Homa ADLE-BIASSETTE	Université Paris Cité	Rapporteure
M. Eric DANNAOUI	Université Paris Cité	Examineur
Mme Mojgan DEVOUASSOUX	Université Lyon 1	Co-encadrante de thèse
Mme Meja RABODONIRINA	Université Lyon 1	Examinatrice

Mots-clés : Histopathologie, Infection fongique, Séquençage massif et parallèle, Tissus fixés au formol, NGS panfongique,

Résumé :

Contexte. L'histopathologie permet le diagnostic d'infection fongique (IF) mais pas l'identification précise de genre/espèce fongique. Notre objectif était de développer une approche intégrée histo-moléculaire utilisant le séquençage massif et parallèle ciblé (MPS) pan-fongique sur tissus fixés en formol et inclus en paraffine (FFPE), et étudier son intérêt pour identifier des champignons en l'absence d'identification fongique sur tissu frais. Méthodes. L'extraction d'ADN a été optimisée sur un premier groupe de 30 tissus FFPE avec une infection à *Aspergillus fumigatus* ou *Mucorales* connue, en comparant l'efficacité des méthodes d'extraction Qiagen et Promega via des réactions de polymérisation en chaîne (PCR) ciblant *A. fumigatus* et les *Mucorales*. Ensuite, le MPS a été développé sur un second groupe de 74 tissus FFPE (avec identification fongique préalable sur tissus frais ; n=56 patients), en utilisant trois couples d'amorces pan-fongiques (ITS-3/ITS-4, MITS-2A/MITS-2B, et 28S-12-F/28S-13-R), deux types de séquençage (séquençage Sanger et MPS), et deux bases de données fongiques (UNITE et RefSeq). L'approche intégrée a ensuite été validée sur un troisième groupe de 49 tissus FFPE (diagnostic histopathologique d'IF sans identification mycologique sur tissu frais ; n=48 patients). Les identifications fongiques étaient réalisées en utilisant les couples d'amorces ITS-3/ITS-4 et MITS-2A/MITS-2B et la base de données UNITE.

Enfin, un quatrième groupe de 27 tissus FFPE (n=23 patients) avec un diagnostic histopathologique de cryptococcose (n=16 tissus FFPE) ou d'histoplasmoses (n=11 tissus FFPE), ont été inclus pour appliquer l'approche intégrée en utilisant une PCR spécifique *Histoplasma capsulatum* et/ou des PCR pan-fongiques (séquençage Sanger et/ou MPS). La morphologie fongique devait toujours être compatible avec l'identification moléculaire. Les probabilités d'identification des séquençages Sanger et MPS, des couples d'amorces et bases de données fongiques ont été comparées. Résultats. Dans le premier groupe, la méthode Qiagen montrait une tendance à être plus efficace que la méthode Promega pour l'extraction d'ADN (100% et 86,7% de PCR positives, respectivement [p=0,125]). Dans le deuxième groupe, le séquençage Sanger permettait l'identification fongique dans 34/74 (45,9%) des tissus FFPE au total ; 37,8% (28/74) avec ITS-3/ITS-4, 40,5% (30/74) avec MITS-2A/MITS-2B, et 24,3% (18/74) avec 28S-12-F/28S-13-R. Le MPS permettait l'identification fongique dans 61/74 (82,4%) tissus FFPE au total ; 73 % (54/74) avec ITS-3/ITS-4, dans 68,9 % (51/74) avec MITS-2A/MITS-2B, et dans 23 % (17/74) avec 28S-12-F/28S-13-R. La probabilité d'identification fongique variait également selon la base de données utilisée (81 % [60/74] avec UNITE contre 50 % [37/74] avec RefSeq [p=0,000002]), et était plus élevée pour le MPS (82,4 %) que pour le séquençage Sanger (45,9 % ; p<0,00001). Dans le troisième groupe, le séquençage Sanger permettait l'identification fongique dans 17/49 (34,7 %) tissus FFPE au total ; 32,7 % (16/49) avec ITS-3/ITS-4 et 22,4 % (11/49) avec MITS-2A/MITS-2B. Le MPS permettait l'identification fongique dans 35/49 (71,4 %) tissus FFPE au total ; 59,2 % (29/49) avec ITS-3/ITS-4 et 61,2 % (30/49) avec MITS-2A/MITS-2B. La probabilité d'identification fongique par MPS (35/49 [71,4 %]) était supérieure à celle du séquençage Sanger (17/49 [34,7 %] ; p<0,0001). Nous avons estimé que la mise en place de cette approche intégrée en pratique aurait permis une optimisation de la prise en charge pour 22/48 (45,8 %) patients. Dans le quatrième groupe, pour les 12/23 (52,2 %) patients sans identification mycologique sur tissu frais, un diagnostic intégré histo-moléculaire permettait l'identification fongique dans 9/12 (75 %) des tissus FFPE. Conclusions. Le diagnostic intégré histo-moléculaire utilisant le MPS améliore l'identification des champignons sur tissu FFPE et pourrait aider à la prescription d'une thérapie antifongique appropriée.