



Prophylaxie et taux de CD4 au cours de la pneumopathie à *Pneumocystis jirovecii* chez les patients atteints de maladies auto-immunes et inflammatoires

Gildas Baulier

► To cite this version:

Gildas Baulier. Prophylaxie et taux de CD4 au cours de la pneumopathie à *Pneumocystis jirovecii* chez les patients atteints de maladies auto-immunes et inflammatoires. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01583767

HAL Id: dumas-01583767

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01583767>

Submitted on 7 Sep 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux

U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2017

N°3031

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 18 avril 2017 par

Gildas BAULIER

Née le 22 Mai 1986 à Lannion (22)

**Prophylaxie et taux de CD4 au cours de la pneumopathie à *Pneumocystis jirovecii*
chez les patients atteints de maladies auto-immunes et inflammatoires**

Directeur de thèse

Monsieur le Dr. Pierre DUFFAU

Rapporteur

Madame le Dr. Marie-Anne VANDENHENDE

Jury

Monsieur le Pr. Charles CAZANAVE

Président

Madame le Pr. Estibaliz LAZARO

Juge

Madame le Dr. Isabelle ACCOCEBERRY

Juge

Monsieur le Dr. Fabrice CAMOU

Juge

Monsieur le Dr. Pierre DUFFAU

Juge

REMERCIEMENTS

A mon président du jury

Monsieur le Professeur Charles Cazanave

Vous me faites l'honneur de présider mon jury de thèse. Je vous remercie de l'intérêt que vous portez à ce travail et de votre bienveillance. Votre expérience est pour moi source d'enseignement. J'ai beaucoup apprécié votre disponibilité et votre sympathie au cours des échanges que nous avons pu avoir. Veuillez trouver ici toute ma reconnaissance et l'expression de mon plus profond respect.

Aux membres du jury

Madame le Professeur Estibaliz Lazaro

Tu arrives à concilier excellence professionnelle, bonne humeur et enthousiasme permanent. Ton sens clinique et ta rigueur scientifique sont un modèle. Merci pour tout ce que tu m'as apporté au cours de mon internat.

Madame le Docteur Isabelle Accoceberry

Ce travail n'aurait pas pu être réalisé sans votre base de données. Une thèse sur la pneumocystose ne pouvait se concevoir sans le concours d'une mycologue. Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Monsieur le Docteur Fabrice Camou

Tu es un des médecins qui m'a le plus apporté au cours mon internat. Tu m'as également transmis ta passion de l'enseignement aux externes. Je suis fier d'être l'un de tes disciples.

A mon rapporteur de thèse

Madame le Dr Marie-Anne Vandenhende

Je vous remercie d'avoir accepté de vous prononcer sur l'intérêt de ce travail et de vos précieuses remarques et commentaires sur le manuscrit et l'article. Soyez assurée de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A mon directeur de thèse et membre du jury

Monsieur le Docteur Pierre Duffau

Je tiens à te remercier pour la confiance que tu m'accordes depuis le début de mon internat. Tu as toujours su prendre de ton temps et donner de bons conseils en cas de difficulté. Ton sens du diagnostic, ta finesse d'analyse et ton humanité avec les patients m'impressionnent et m'inspirent.

Au Dr Osorio-Perez,

Guiaste mis primeros pasos como joven médico. A la vez eres un amigo, un hermano y un modelo.

Au Dr Lifermann

Les adages "*Lifermanniens*" résonnent encore régulièrement dans ma tête tant cette rencontre a été marquante pour moi sur le plan professionnel comme humain. Merci.

Au Dr Guisset,

Merci pour ta bienveillance et ta gentillesse au quotidien. Je suis honoré de ta confiance accordée au cours de ces gardes de réanimation qui m'ont beaucoup apporté.

A toutes les équipes qui m'ont accueilli

L'équipe du service de maladies infectieuses de Dax : Dr Gerard, Dr André, Dr Caunègre, Dr Osorio Perez, à Elizabeth ma première cointerne, aux infirmières et aides soignantes qui ont rendu mon premier stage d'interne si agréable.

L'équipe du service de médecine interne et immunologie clinique du Pr Mercié : Pr Mercié, Dr Duffau et toute l'équipe soignante, mes cointernes Stephen, Mathilde et mon amie Judith.

L'équipe du service de médecine interne du Dr Lifermann : Dr Lifermann, Dr Laborde, Dr Shipley, ma cointerne de choc Alexia, les infirmières de l'HDJ, Isabelle Siberchicot et Carine Cazaillon pour leur humour et leur affection.

L'équipe du service de néphrologie du Pr Combe : Pr Combe, Dr Rigother pour la qualité de nos échanges, Dr Geneviève, Dr Delmas, l'équipe infirmière et aide soignante, à Gary pour sa bonne humeur permanente. Mes cointernes Fred, Aurélie et mon amie Laure.

L'équipe du service de réanimation de Saint-André du Dr Guisset : une seconde famille, les Dr Guisset, Camou, Mourrissoux, Issa, toutes les infirmières et infirmiers (Martine, Laurence, Cathy, Jeremie, Tanguy, Anna, les équipes de nuit A comme B...) Martine et Pascale pour leurs petites attentions du quotidien.

L'équipe du service de gériatrie du Pr Bourdel-Marchasson : Pr Bourdel-Marchasson pour ses connaissances en diabétologie et son humour, Dr Kobeh pour son amitié, les infirmières et aides-soignantes dévouées du 3^e Sud (Adeline, les Juliettes, Chloé, Lucie, Julia...), mes cointernes Audrey, Juliette, Sophie-Charlotte et Nicolas.

L'équipe du service de médecine interne du Pr Viallard : Pr Viallard pour la qualité de son enseignement, Pr Lazaro, Pr Pellegrin, Dr Greib, Dr Machelart, Dr Mirabel et mes cointernes : Manon, Alex, Joëlle, Baptiste, Léa, Reena, Victoire et Delphine.

L'équipe du service d'immunologie du Pr Blanco : Pr Blanco pour m'avoir fait découvrir qu'on pouvait tout à fait être PU-PH et champion de baby-foot, Dr Sarrat pour ses précieux conseils, Dr Ralazamahaleo, Dr Visentin, Dr Bordes pour sa passion pour l'auto-immunité, Delphine Turpin pour sa gentillesse au quotidien et Pr Moreau pour sa vision de l'immunologie et des traitements (« le Rituximab, c'est pas de l'aspirine triple banane !! »). Et mes cointernes : Momo Kraveesh, PE, Laura, Charlène, Mike Pizon, Marine pour ce joyeux semestre.

L'équipe de dermatologie du Pr Taieb : Au Pr Taïeb pour son intérêt pour la rareté, à Mme Doutre pour sa passion pour la dermatologie inflammatoire, au Dr Milpied pour son entrain et son humour à toute épreuve, à Anne-Sophie et Laure pour avoir rendu mon stage agréable et intéressant, ainsi que les infirmières et aides soignantes de 6A pour leur gentillesse.

A ma famille

Ma Maman, qui m'a toujours soutenu et aimé malgré la distance, les épreuves et les sacrifices. Je suis fier des valeurs d'humanité que tu nous as inculquées.

Mon frère Loïc, pour ton soutien indéfectible et ton regard toujours bienveillant sur ses petits frères.

Mon frère Erwan, qui chaque jour nous donne à tous une leçon de courage et de tolérance. Je suis fier de toi.

Jérôme, qui nous accompagne depuis si longtemps, j'admire ton engagement pour nous tous.

Mes grands-parents, oncles, tantes et cousins qui ont toujours soutenu et encouragé mes projets.

Arthur mon cousin avec qui nous partageons tant de choses depuis si longtemps.

A toute la famille Calmettes,

Pour l'accueil et l'attention que j'ai reçu de votre part. Merci Bernadette, Pierre, Sophie, Arnaud, Martin, Delphine, Isa et Cédric, et les nouvelles venues.

A Claire

Qui a changé ma vie en lui donnant chaque jour un sens et une saveur si particulière.

A mes amis,

Les Dijonnais : Valentin, Kévin, Victor et Clara. Vous êtes mes plus anciens amis, notre lien est précieux.

Maël et Antonin, des amis pour la vie, nos chemins se sont plusieurs fois rejoints, j'attends avec impatience la prochaine étape.

Les Anciens de Chatô qui ont beaucoup comptés, à Valentine pour m'avoir accompagné vers la médecine.

Julien, tout le monde ne peut pas se vanter d'avoir été le colocataire pendant 5 années du major de Normal'sup...Tu es bien plus que cela, un ami, un vrai.

Les "parisiens" : Judith, Eva, Mélanie, FX et Guillaume, notre groupe est soudé et uni, la distance n'a pas affaibli notre complicité.

La bande de Dax avec qui ce premier semestre restera inoubliable : ma cointerne Elizabeth, Clément, Marie, Xavier, Pauline, Estelle, Anne-Charlotte Camille, Eissa, Marie-Charlotte, Chrystelle, ma petite Laure De Roro et les autres...

Nicolas mon biologiste préféré, une belle rencontre. Et son coloc imaginaire Dadou...

Nahéma pour tout ce que tu apportes au quotidien : ton humour, tes conseils précieux, ta curiosité et ton amitié.

Noémie et Joëlle, pour ces moments passés à Paris pour la beauté de l'immunologie.

Hélène, Manon, Vivien, Renaud, et tous les autres internes de médecine interne pour leur confiance, et à Laure Barthod pour avoir pris la suite...

La bande des tata YoYo : Marion dont le savoir et l'énergie m'impressionnent (et non je ne suis pas si cynique !!), Claire pour sa passion pour les thrombus serpentins, Hélène et Arthur pour leur gentillesse et évidemment Judith qui est citée dans plusieurs chapitres tellement elle compte pour moi.

Mes anciens colocataires de choc : Antoine, Edouard, et Marie-Charlotte, des souvenirs à la pelle et surtout une belle amitié.

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION	11
2. GENERALITES	12
2.1. LA PNEUMONIE A <i>PNEUMOCYSTIS JIROVECI</i>	12
2.1.1. <i>Historique et taxonomie</i>	12
2.1.2. <i>Epidémiologie</i>	14
2.1.3. <i>Transmission et colonisation</i>	15
2.1.4. <i>Présentation clinico-radiologique des PCP du patient non-VIH</i>	16
2.1.4.1. Pneumocystose pulmonaire	16
2.1.4.2. Formes extra-pulmonaires.....	17
2.1.4.3. Facteurs pronostiques.....	17
2.2. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE AU COURS DE LA PNEUMOCYTOSE	18
2.2.1. <i>Echantillons biologiques</i>	18
2.2.2. <i>Méthodes directes</i>	19
2.2.2.1. Méthodes de coloration	19
2.2.2.2. Immunofluorescence	19
2.2.3. <i>Méthodes indirectes</i>	20
2.2.3.1. Béta-D-glucane	20
2.2.3.2. Méthodes de PCR.....	20
2.3. IMMUNITE ANTI-PNEUMOCYSTIS.....	22
2.3.1. <i>Enseignements et perspectives à partir de l'étude des déficits immunitaires</i>	23
2.3.2. <i>Immunité innée</i>	24
2.3.2.1. Les macrophages	24
2.3.2.2. Les polynucléaires neutrophiles (PNN)	25
2.3.2.3. Les cellules dendritiques.....	25
2.3.3. <i>Immunité adaptative</i>	26
2.3.3.1. Lymphocytes T CD4.....	26
2.3.3.2. Lymphocytes T CD8.....	27
2.3.3.3. Rôle des lymphocytes B	28

2.4.	TAUX DE CD4 ET DE LYMPHOCYTES AU COURS DE LA PNEUMOCYSTOSE	29
2.4.1.	<i>Taux de CD4 au cours des maladies auto-immunes</i>	29
2.4.2.	<i>Taux de CD4 au cours des maladies inflammatoires.....</i>	30
2.4.3.	<i>Taux de lymphocytes au cours de la PCP des MAI.....</i>	31
2.5.	EVALUATION DU RISQUE DE PNEUMOCYSTOSE AU COURS DES MAI.....	34
2.5.1.	<i>MAI à haut risque de pneumocystose.....</i>	34
2.5.2.	<i>MAI à faible risque de pneumocystose.....</i>	35
2.5.3.	<i>Risque lié à l'immunosuppression iatrogène</i>	36
2.6.	PROPHYLAXIES	38
2.6.1.	<i>Etats des lieux des recommandations de prophylaxie au cours des MAI.....</i>	38
2.6.2.	<i>Molécules utilisées en prophylaxie</i>	39
3.	OBJECTIFS.....	42
4.	ARTICLE.....	43
5.	CONCLUSION	61
6.	BIBLIOGRAPHIE.....	63

TABLEAUX ET FIGURES

GENERALITES

- Tableau 1 : comparaison des différentes études analysant le taux de CD4 au cours des PCP chez les patients NHIV33
- Tableau 2 : Stratégies de prophylaxie proposées dans la littérature. Adapté de Tadros *et al*.....39
- Tableau 3 : Résumé des prophylaxies anti-*Pneumocystis* médicamenteuses disponibles et leurs principales caractéristiques. Adapté de Godeau *et al*.....41
- Figure 1 : Cycle de vie de *Pneumocystis jirovecii*.....14
- Figure 2 : Kystes de PJ visualisés à partir d'un LBA par coloration de Gomori-Grocott.....19
- Figure 3 : Stratégie diagnostique de la PCP. Adaptée des recommandations ECIL 2016.....22
- Figure 4 : Incidence de la PCP, d'après Fillatre *et al*.....35

ARTICLE

- Table 1 : PCP patient characteristics.....56
- Table 2 : Univariate and multivariate analyses of risk factors for mortality during *Pneumocystis* pneumonia in AD patients.....57
- Supplementary Figure 1 : Flowchart of the study.....58
- Supplementary Table 1 : Characteristics of autoimmune and inflammatory disease patients.....59
- Supplementary method : Specimen processing and analysis.....60

ABBREVIATIONS

- ADN: Acide-DésoxyriboNucléique
- BDG : β -D-glucane
- CTC : Corticothérapie
- ECIL: European Conference on Infections in Leukaemia
- GG : Gomori-Grocott
- IFN- γ : Interferon Gamma
- IS : Immunosuppresseur
- LBA : Lavage Broncho-Alvéolaire
- MAI: Maladie Auto-immune et Inflammatoire
- MGG : May Grünwald Giemsa
- NVIH : Non infecté par le Virus de l'Immunodéficience Humaine
- PCP : Pneumocystose Pulmonaire
- PCR : Polymerase Chain Reaction
- PJ : *Pneumocystis Jirovecii*
- PNN : Polynucléaires Neutrophiles
- SDRA : Syndrome de Détresse Respiratoire Aigue
- SIDA: Syndrome d'Immunodéficience Acquise
- RT-PCR: Real Time PCR
- TMP/SMX : Trimethoprim/Sulfamethoxazole
- TNF- α : Tumor Necrosis Factor α
- VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

1. Introduction

La pneumocystose (PCP) est une infection opportuniste redoutable atteignant des sujets immunodéprimés. Elle est causée par un champignon appelé *Pneumocystis jirovecii* (PJ). Historiquement cette pathologie était principalement associée à l'épidémie du virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Dans les pays industrialisés et depuis le développement des anti-rétroviraux, les cas de PCP liés au VIH sont désormais moins fréquents que ceux des patients non sidéens (1).

Cette dernière population appelée non-VIH (NVIH) est très hétérogène et regroupe des patients atteints de cancers solides sous chimiothérapie, des patients greffés d'organes solides, des patients atteints d'hémopathies pouvant parfois être greffés de moelle et des sujets atteints de maladies auto-immunes et inflammatoires (MAI).

Il existe des prophylaxies médicamenteuses très efficaces contre la pneumocystose, notamment par Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (TMP/SMX) (2). La balance bénéfice-risque ne semble toutefois pas en faveur d'une prescription systématique chez tous les patients immunodéprimés (3). Des recommandations consensuelles et solides pour la prescription de prophylaxie chez les patients VIH existent. Ces recommandations sont basées sur le taux de CD4 qui permet de quantifier de façon reproductible le niveau d'immunodépression au cours du VIH (4). Des recommandations pour les patients greffés d'organe et atteints d'hémopathies ont également été publiées et intègrent essentiellement la durée et le type d'immunosuppression induite (5)(6). En revanche, il n'existe pas à l'heure actuelle de recommandations claires concernant les patients atteints de MAI. Des propositions calquées sur les pratiques dans le VIH à partir des taux de lymphocytes et de lymphocytes CD4 ont été suggérées pour sélectionner les patients candidats (7). Malheureusement les études sont rares et comprennent de faibles effectifs, aboutissant à des résultats parfois contradictoires.

Nous avons choisi d'étudier le taux de CD4 et de lymphocytes totaux chez les patients atteints de MAI ayant développé une PCP afin de savoir si ces biomarqueurs pouvaient guider la prescription d'une prophylaxie dans cette population de patients.

2. Généralités

2.1. LA PNEUMONIE A *PNEUMOCYSTIS JIROVECI*

2.1.1. Historique et taxonomie

La pneumocystose n'a pas toujours été classée comme une infection fongique. Au moment de sa première description en 1909, *Pneumocystis* avait été rattaché au genre des Trypanosomes. Carlos Chagas puis Antonio Carinii croyaient alors décrire un nouveau stade du cycle de *Trypanosoma Cruzi*. Trois ans plus tard en 1912, le couple Delanoë décrivait un agent infectant les poumons de rats qu'ils nommèrent *Pneumocystis carinii*. *Pneumocystis* qui restera d'ailleurs rattaché aux protozoaires jusqu'en 1988, Edman démontrant à cette époque grâce à des études génomiques son appartenance au genre champignon (8).

Toutefois ce champignon présentait des propriétés inhabituelles pour le genre, comme l'absence apparente d'ergosterol dans sa membrane lui conférant une résistance à l'amphotéricine B, ou la synthèse de novo des folates à partir de l'acide para-aminobenzoïque (9). Cette dernière caractéristique expliquant d'ailleurs la sensibilité de PJ au triméthoprime-sulfaméthoxazole.

Du fait d'un aspect identique en microscopie optique, on a longtemps pensé qu'il n'existait qu'une seule espèce de *Pneumocystis*. Au total il semble que le genre *Pneumocystis* comprennent finalement cinq espèces : *P. jirovecii* chez l'homme, *P. carinii* et *P. wakefieldiae* chez le rat, *P. murina* chez la souris et *P. oryctolagi* chez le lapin. Les sous-types de *Pneumocystis* diffèrent en fait fortement sur un plan génétique, antigénique ou structural et ne semblent pas transmissibles entre hôtes d'espèces différentes, permettant de rejeter l'hypothèse d'une zoonose (10)(11).

Désormais, le pathogène responsable de la PCP humaine porte le nom de *Pneumocystis jirovecii*, en hommage à Otto Jirovec qui fut le premier à décrire la PCP humaine en 1952 (12). Le terme de *Pneumocystis carinii* tend à être abandonner chez l'homme, la nomenclature faisait tout de même récemment encore débat chez les spécialistes de la question (13).

La forme infectante n'est toujours pas clairement déterminée (14). *Pneumocystis* est généralement isolé au niveau pulmonaire dans l'alvéole mais d'autres organes peuvent être plus rarement touchés comme la rate, les ganglions lymphatiques, la moelle osseuse ou le foie. C'est un pathogène extracellulaire mais lorsqu'il envahit l'alvéole pulmonaire, *Pneumocystis* provoque une nécrose des pneumocytes de type I et de l'épithélium alvéolaire entraînant une augmentation de la perméabilité capillaire conduisant à un œdème (15). Cette agression entraîne par la suite un épaississement des cloisons alvéolaires et un afflux de macrophages et d'éosinophiles. *Pneumocystis* existe sous plusieurs formes au cours de son cycle (16).

Du fait de son ancienne classification en temps que parasite, les termes mycologiques et parasitologiques cohabitent encore dans la littérature pour décrire les stades évolutifs de *Pneumocystis* résumés en **Figure 1**. Les formes végétatives (terme mycologique) sont encore appelées couramment trophozoïtes. Elles sont de morphologie et de tailles variées (2 à 12 μm) et pourvues de filopodes qui sont des elongations qui leur permettent de s'accrocher aux pneumocytes de type I. Les prékystes également appelés sporocytes, sont de plus petite taille et de forme ovoïde. Ils sont formés à partir de grands trophozoïtes. Ce sont d'abord des cellules mononuclées puis plurinuclées. Trois stades sont individualisables (précoces, intermédiaires et tardifs) en fonction du nombre de noyaux et de la structure de la paroi. Les kystes matures (le terme mycologique équivalent est asque) sont probablement les agents infectants. Ils libèrent des corps intra-kystiques qui ont la capacité d'évoluer en trophozoïtes (17).

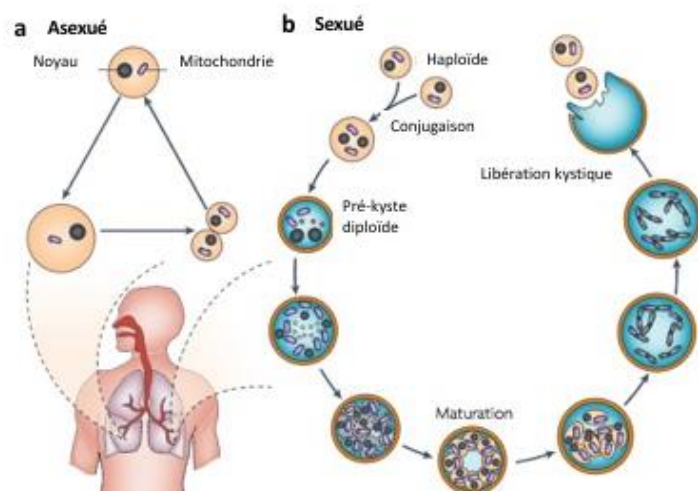


Figure 1 : Cycle de vie de *Pneumocystis jirovecii*

Les deux formes prédominantes de PJ sont la forme kystique et la forme trophique. On suppose qu'il existe deux formes de reproduction de PJ : un cycle asexué par division des formes trophiques (a) et un cycle sexué (b) avec 3 stades intermédiaires kystiques contenant 2, 4 puis 8 noyaux quand il devient un kyste mature. Il est supposé que lorsqu'un kyste mature se rompt, il libère des noyaux qui peuvent avoir une croissance végétative ou se conjuguer pour former un pré-kyste diploïde. Adapté de Thomas *et al.* (17)

2.1.2. Epidémiologie

Les premières observations de pneumocystose humaine ont concerné essentiellement des populations d'enfants dénutris dans la période de l'après-guerre (18). En juin 1981, la survenue de 5 cas groupés de PCP est rapportée à Los Angeles par les *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) dans leur rapport hebdomadaire de morbi-mortalité (19). Il s'agissait de patients homosexuels masculins particulièrement immunodéprimés avec une lymphopénie CD4 profonde en lien avec une infection par le virus du VIH, qui sera isolé quelques années plus tard. Ces cas vont par la suite se multiplier et marquer le début de la pandémie mondiale de VIH. Au milieu des années 1990, la PCP va considérablement reculer chez ces patients grâce à l'arrivée des traitements anti-rétroviraux. En France elle reste encore la manifestation la plus fréquente de la phase SIDA avec la tuberculose (377 PCP sur 1510 cas de SIDA déclarés à l'Institut de veille sanitaire en 2010 (InVS) soit 25%).

Les progrès des chimiothérapies anti-cancéreuses, l'augmentation de l'incidence des hémopathies malignes, des greffes de moelle osseuse et d'organes solides ainsi que l'augmentation des traitements immunosuppresseurs pour les MAI ont fait émerger de nouveaux facteurs de risque de pneumocystose chez des patients historiquement peu concernés par cette maladie. Le nombre absolu de PCP dans la population non VIH n'est pas connu et il n'existe pas encore de système national de déclaration pour ces populations. Une étude récente menée à Lyon entre 2005 et 2013 traduit bien ce renversement dans l'épidémiologie de la PCP avec une diminution des cas liés au VIH et une augmentation croissante des cas chez les patients non infectés par le VIH(1).

2.1.3. Transmission et colonisation

Pneumocystis jirovecii (*PJ*) est particulièrement adapté à son hôte humain et des formes de colonisation ont été mises en évidence grâce aux techniques de PCR y compris chez des sujets immunocompétents (20). La prévalence chez les adultes sains reste tout de même très faible, allant jusqu'à 20% dans certaines études (21). Des populations sont plus à risque de colonisation notamment les patients atteints de MAI (22). On retrouve également des colonisations chez les patients atteints du VIH, d'une maladie pulmonaire chronique obstructive (30 à 50%), de diabète, d'hémopathies, de sarcoïdose (23). Il semble même que le personnel hospitalier exposé à *PJ* soit plus fréquemment colonisé et puisse participer à la contamination des patients (24).

On connaît encore très imparfaitement les conséquences d'une colonisation à *PJ* qui pourrait entretenir un état inflammatoire favorisant la progression de maladies respiratoires chroniques voire jouer un rôle dans la mort subite du nourrisson (23).

L'origine de l'agent pathogène au cours des pneumocystoses aiguës n'est pas totalement élucidée. Des études sérologiques montrent que dès l'âge de 4 ans, 2/3 des enfants sains ont développé des anticorps spécifiques dirigés contre *PJ* (25). Cela pourrait indiquer que la pathologie se développe à partir d'une réactivation d'une infection acquise dans l'enfance. Mais l'expérience de patients contractant à plusieurs reprises une pneumocystose avec des souches différentes laisse penser qu'une contamination *de novo* est possible (26). Cette hypothèse a été confortée par de récentes épidémies de

pneumocystose au sein d'unités d'oncologie et de transplantation rénale. L'analyse génotypique des souches de *PJ* à partir du cas index était en faveur d'une transmission interindividuelle (27)(28). De plus, de l'ADN de *PJ* a pu être identifié dans l'air circulant autour de patients colonisés, rendant la contamination aérienne plausible (29).

La transmission interindividuelle est désormais l'hypothèse la plus admise pour expliquer les infections. Les patients colonisés pourraient jouer le rôle de réservoir de *PJ*. Même si la forme pathogène n'a pas encore été isolée et qu'aucune recommandation n'existe à ce sujet, il paraît raisonnable d'isoler sur le plan respiratoire les patients atteints de pneumocystose afin d'éviter une propagation de la maladie (30).

2.1.4. Présentation clinico-radiologique des pneumocystoses du patient non-VIH

2.1.4.1. Pneumocystose pulmonaire

La pneumocystose pulmonaire n'a en général pas de présentation caricaturale et il faut savoir l'évoquer systématiquement devant une dyspnée fébrile chez un patient immunodéprimé étant donné la gravité du pronostic. La toux est retrouvée dans 50 à 80% des cas, la dyspnée dans 75 à 90% des cas et l'hyperthermie dans 60 à 90% (31).

L'évolution est parfois insidieuse et trainante comme au cours de l'infection par le VIH, mais généralement elle a le masque d'une pneumopathie interstitielle hypoxémiante évolutive en 7 à 14 jours. Le délai médian diagnostique par rapport au début des symptômes est d'ailleurs de 35 jours chez les patients infectés par le VIH contre 5 jours chez les patients séronégatifs (32).

Sur le plan radiologique les patterns sont similaires chez les patients VIH ou non VIH avec un aspect de verre dépoli bilatéral de distribution hétérogène (« patchy ») et principalement périphérique. Une évolution vers la condensation est possible (33). Les barotraumatismes sont particulièrement redoutés en réanimation avec la survenue de pneumothorax et pneumomédiastin particulièrement délétères (34). Les atteintes unilatérales, nodulaires ou cavitaires sont exceptionnelles et doivent faire avant tout faire évoquer des diagnostics différentiels chez des patients aux comorbidités multiples

(35)(36). Les lésions kystiques ne sont pas décrites chez les patients non VIH. La radiographie de thorax est sans anomalie décelable dans environ 40% des cas mais on considère qu'un scanner totalement normal permet d'exclure le diagnostic (33).

2.1.4.2. Formes extra-pulmonaires

Pneumocystis jirovecii est un champignon à tropisme respiratoire. Les atteintes viscérales sont exceptionnelles et secondaires à une dissémination hématogène. Ces formes sont essentiellement diagnostiquées au cours de l'infection par le VIH et notamment lorsque la prophylaxie est réalisée avec des aérosols de Pentamidine. Tous les organes peuvent être potentiellement atteints, mais la localisation splénique est la plus fréquente. Des abcès hépatiques, rénaux, pancréatiques, du système nerveux central, des thyroïdites voire des localisations cutanées ou muqueuses ainsi que des formes pseudo-tumorales digestives ont été rapportées (37)(38).

2.1.4.3. Facteurs pronostiques

La mortalité au cours de la pneumocystose chez les patients non-VIH est nettement plus sombre qu'au cours du VIH. Dans l'étude de Roux *et al.* menée de 2007 à 2010 dans 17 hôpitaux universitaires français, les auteurs retrouvaient une mortalité globale de 27% pour les pneumocystoses des patients non infectés par le VIH, contre 4% pour les pneumocystoses liées au VIH (39). Dans les critères de cette étude, les pneumocystoses uniquement documentées par PCR étaient exclues. Les raisons invoquées pour expliquer cette différence majeure de pronostic étaient : une évolution plus rapide avec un diagnostic parfois difficile, des comorbidités plus lourdes, un déficit immunitaire moins réversible qu'au cours du VIH et une réaction inflammatoire plus intense au niveau pulmonaire.

Dans une autre étude rétrospective menée au CHU de Rennes dans un service de réanimation de 1990 à 2010, la mortalité des pneumocystoses chez les non-VIH s'élevait à 52,9%, et même 80,9% en cas d'intubation orotrachéale, et jusqu'à 86,8% en cas de syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA)(40). Une analyse plus exhaustive de la

littérature permet de retrouver d'autres facteurs de risque de mauvais pronostic comme les scores de sévérité en réanimation, la présence d'un état de choc, le recours à une intubation oro-trachéale, l'importance des signes cliniques au diagnostic, la présence d'un SDRA (40)(41)(42)(43)(44). Ces facteurs ne sont pas modifiables et traduisent simplement la gravité du patient, à l'exception du délai diagnostique et de mise en route d'un traitement curatif (39).

Au vu du pronostic excessivement sombre des pneumocystoses chez les patients non-VIH, la nécessité d'un diagnostic précoce (et donc de l'usage de la PCR) et d'une caractérisation des populations cibles pour la prophylaxie apparaissent capitales.

2.2. STRATEGIE DIAGNOSTIQUE AU COURS DE LA PNEUMOCYSTOSE

Le diagnostic des PCP est difficile à faire au cours des MAI. En plus d'une présentation clinique peu spécifique, le diagnostic microbiologique est un challenge. En effet, la charge fongique est faible chez ces patients et *Pj* est un organisme non cultivable de façon simple (45)(46). Cette difficulté diagnostique est un enjeu important car le retard à l'initiation du traitement est un facteur pronostique majeur.

2.2.1. Echantillons biologiques

L'étude d'une expectoration directe ou induite à la suite d'un aérosol de sérum salé isotonique permet parfois d'isoler le pathogène. Sa sensibilité est moindre par rapport à celle du lavage broncho alvéolaire (LBA) mais cette stratégie est moins invasive et sans risque pour le patient. Il est possible de répéter le recueil des expectorations afin d'augmenter la sensibilité de cet examen.

Dans le cadre des pneumopathies de l'immunodéprimé, la fibroscopie bronchique avec lavage broncho alvéolaire est une technique d'intérêt. Elle permet de recueillir des prélèvements en quantité suffisante pour la recherche de diagnostics différentiels (47). Elle est plus sensible que l'expectoration induite pour la détection de *Pneumocystis* (48). Il existe cependant un risque potentiel d'aggravation des patients après la réalisation d'un LBA même si les complications semblent minimales (49). La biopsie pulmonaire n'a plus sa place en dehors d'exceptionnelles formes granulomateuses (50).

2.2.2. Méthodes directes

2.2.2.1. Méthodes de coloration

La coloration de May Grünwald Giemsa (MGG) permet de visualiser les formes végétatives et intrakystiques de *Pneumocystis* au sein d'amas spumeux éosinophiles. En revanche, elle ne permet pas de colorer la paroi des kystes. En cas de faible inoculum fongique, il est souvent difficile de visualiser le pathogène, une seconde technique doit être alors utilisée pour visualiser la paroi des kystes. La plus fréquemment utilisée est le Gomori-Grocott (GG) colorant par imprégnation argentique. D'autres techniques notamment le bleu de toluidine sont performantes. On peut alors visualiser des images aux contours sombres avec un aspect en nid d'abeille. Ce sont des techniques délicates qui nécessitent une bonne expérience de la part du laboratoire. Elles permettent d'affirmer avec certitude le diagnostic de pneumocystose, la spécificité étant de 100%, en revanche la sensibilité chez le non-VIH du fait d'un inoculum plus faible est très inférieure à celle des patients VIH (51).

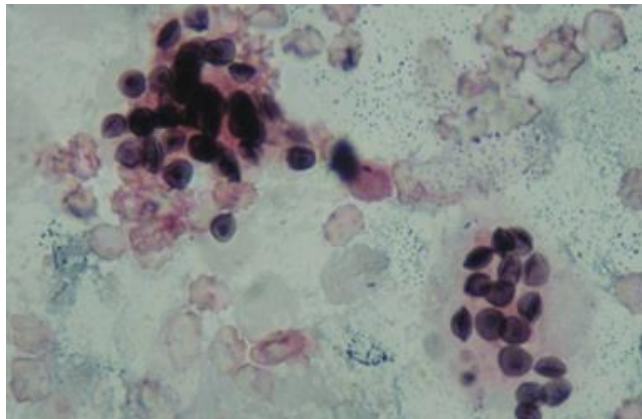


Figure 2 : Kystes de PJ visualisés à partir d'un LBA par coloration de Gomori-Grocott (grossissement x1000). Image issue de Mu *et al.* (34).

2.2.2.2. Immunofluorescence (IF)

Le pathogène peut être mis en évidence par IF directe en utilisant des anticorps spécifiques (notamment de la paroi de *PJ*) couplés à un fluorochrome puis révélés en microscopie à fluorescence. Plusieurs kits commerciaux sont disponibles et présentent

une meilleure sensibilité que les méthodes de coloration, tout en conservant une excellente spécificité (52). L'IF a cependant certains inconvénients : c'est une technique longue à réaliser et coûteuse qui nécessite d'avoir un recrutement important afin d'utiliser les réactifs avant leur péremption, l'opérateur doit être suffisamment entraîné pour détecter au sein de la fluorescence résiduelle les kystes de *Pneumocystis* (53). Elle n'est pas réalisée en routine au CHU de Bordeaux.

2.2.3. Méthodes indirectes

2.2.3.1. Béta-D-glucane

Le Béta-D-glucane (BDG) est un composant de la paroi de *Pneumocystis jirovecii* ainsi que de nombreuses autres espèces fongiques. Il peut se doser dans le sang et augmente en cas de PCP. Une méta-analyse publiée en 2013 retrouvait une sensibilité de 94% et une spécificité de 86% (54). Toutefois ce marqueur se retrouve dans d'autres infections fongiques comme l'aspergillose ou les candidémies qui peuvent survenir chez le même profil de patients immunodéprimés. Le BDG peut se positiver également en cas de bactériémie, de dialyse, de perfusion d'albumine ou d'immunoglobulines. Ainsi, malgré son excellente sensibilité, l'utilisation de ce test est limitée par un manque de spécificité. Du fait d'une excellente valeur prédictive négative (98,5%), les recommandations ECIL (European Conference on Infections in Leukaemia) préconisent son utilisation avec un grade A-II quand un prélèvement respiratoire n'est pas réalisable afin d'éliminer une PCP. Il pourrait potentiellement permettre de différencier colonisation et infection en fonction du seuil utilisé (55).

2.2.3.2. Méthodes de PCR

La mise au point en 1990 de méthodes de détection par PCR a révolutionné l'approche de la pneumocystose (56). La PCR a apporté un formidable gain en sensibilité, avec une spécificité toutefois relativement faible, estimée à 59% lorsque le diagnostic de certitude est établi par une méthode directe (57). La sensibilité est variable selon le type de prélèvements et le type de patients. Des études retrouvent des sensibilités pour les expectorations et le LBA respectivement de 80 et 100% chez les patients VIH, de 86 et

97% chez des transplantés d'organe solide, 100 et 95% chez des patients ayant un cancer et 100% et 98% chez d'autres types de patients immunodéprimés (58).

Fréquemment la PCR est la seule documentation pour les pneumocystoses des patients atteints de MAI. Mais la simple positivité d'une PCR *Pneumocystis* ne permet pas de poser le diagnostic de pneumocystose. La colonisation chez les patients atteints de MAI est en effet fréquente (22). Elle l'est probablement davantage chez les patients lymphopéniques ou sous corticothérapie prolongée plus à risque de pneumocystose également (59). Pour porter le diagnostic de pneumocystose, l'analyse précise du terrain et du tableau clinico-radiologique associés reste essentielle.

Depuis 2002, des méthodes de PCR quantitative en temps réel (qPCR) ont été développées (60). Le principe est une amplification de séquences d'ADN faiblement représentées mais très spécifiques (ADN mitochondrial, gène de la dihydrofolate reductase...) permettant d'améliorer la sensibilité de la technique. Ces techniques permettent la détermination d'un cycle seuil (CT pour Cycle Threshold) L'utilisation d'un étalonnage par une gamme de concentrations connues permet alors une quantification de l'ADN de *PJ*. Il semble que la concentration d'ADN de *Pneumocystis jirovecii* mesurée par RT-PCR quantitative soit plus élevée chez les patients ayant une pneumocystose que chez les patients colonisés. La détermination d'un seuil pourrait ainsi permettre de distinguer colonisation et infection (61). Malheureusement, ce seuil n'est pas encore consensuel du fait d'un manque de standardisation des techniques, certains centres utilisant encore régulièrement des kits « maison ».

Au CHU de Bordeaux, la détection de *PJ* par une PCR quantitative en temps réel (qPCR) commercialisée a été mise en place en janvier 2013 remplaçant la PCR «maison» pré existante. Les travaux de Issa *et al.* présentés à l'ID-Week 2017 et reprenant les cas de pneumocystoses et de colonisations au CHU de Bordeaux retrouvaient une sensibilité de 77% en utilisant comme seuil optimal 10100 copies/ml. De plus, comme le souligne les travaux d'Azoulay *et al.*, la valeur prédictive négative de la PCR est grande, même pour des prélèvements obtenus sans fibroscopie (51). Il paraît donc raisonnable d'écarter le diagnostic de pneumocystose devant une PCR négative sur un prélèvement de bonne qualité.

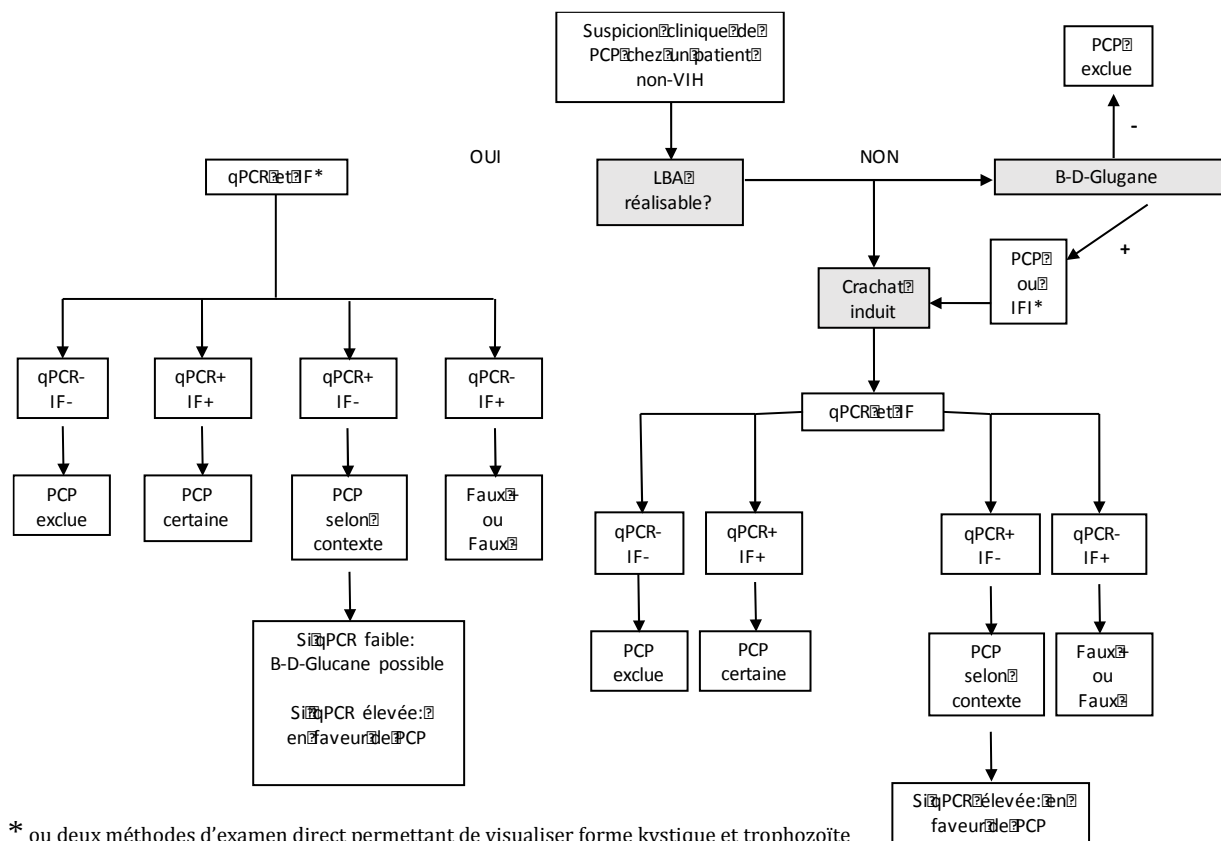


Figure 3 : Stratégie diagnostique de la PCP, adaptée des recommandations ECIL 2016 (52)

2.3. IMMUNITÉ ANTI-PNEUMOCYSTIS

Même s'il existe un questionnement autour de l'impact de la colonisation chez l'immunocompétent, la pneumocystose est avant tout une pathologie de l'immunodéprimé. Si les déficits cellulaires en lymphocytes T-CD4, notamment au cours de l'infection par le VIH, semblent les plus à risque, les expériences récentes de pneumocystoses survenues chez des patients sous thérapies immunosuppressives ou atteints de déficits immunitaires monogéniques ont permis d'affiner les connaissances sur la réponse immunitaire anti-*Pneumocystis*. Il a par ailleurs été évoqué que le système immunitaire puisse être à l'origine de réponses inflammatoires pathologiques induisant d'importants dommages pulmonaires responsables du pronostic sévère de cette pathologie chez les patients atteints de MAI.

2.3.1. Enseignements et perspectives à partir de l'étude des déficits immunitaires

Le rôle prépondérant des lymphocytes T est bien confirmé par la fréquence des pneumocystoses chez les patients atteints de déficits immunitaires combinés sévères (SCID) ou de lymphopénies CD4 idiopathiques (62)(63). Mais l'immunité humorale joue probablement un rôle plus important que ce que l'expérience du VIH ne laisse suspecter. En effet, des cas de pneumocystoses ont été décrits chez des patients atteints d'agammaglobulinémie liée à l'X (mutation de la Bruton Tyrosine Kinase). Ces cas sont survenus principalement au diagnostic du déficit immunitaire suggérant un rôle protecteur de l'immunité humorale (64). En effet la survenue de cas de pneumocystoses était anecdotique après l'initiation d'une supplémentation en immunoglobulines chez ces patients.

Par ailleurs, la pneumocystose est fréquente au cours des syndromes hyper-IgM qui présentent une mutation du CD40 Ligand à l'origine de l'absence de switch isotypique IgM/IgG. Dans une série rétrospective de 79 patients, 48% avaient présenté une pneumocystose au cours de leur suivi. Celle-ci était le plus souvent inaugurale, révélant le déficit immunitaire et survenant avant l'âge de 2 ans (65). Le CD40 ligand est exprimé sur les cellules T et est essentiel à la coopération B-T ainsi qu'à la commutation de classe des immunoglobulines. Ainsi ce type de patients présente des taux élevés en IgM, et effondrés en IgG, IgA et IgE. Le CD40 Ligand permet également la maturation des cellules présentatrices d'antigène, la stimulation des fonctions effectrices des macrophages et le priming antigénique des lymphocytes T.

La pneumocystose a également été décrite au cours de déficit sur la voie NF- κ B, au cours de syndromes avec gain de fonction de sa voie inhibitrice I κ B- α , de déficit en NF- κ B Essential Modulator (NEMO), du syndrome de Wiskott- Aldrich et aussi de déficit en CMH de classe II (66)(67)(68)(69)(70). L'étude des déficits immunitaires permet d'avoir une vision intégrative et moins centrée sur le rôle des CD4 et de saisir la complexité de la réponse immune anti-*Pneumocystis*.

2.3.2. Immunité innée

La réponse innée est la première ligne de défense. Elle intervient tout d'abord au sein de l'alvéole pulmonaire afin de maintenir son intégrité. Plusieurs acteurs cellulaires sont impliqués.

2.3.2.1. Les macrophages

Ils forment la première ligne de défense contre *Pneumocystis*. L'implication du système immunitaire inné est encore incomplètement comprise mais on sait que la déplétion en macrophages alvéolaires chez le rat est à l'origine d'un défaut d'élimination de *Pneumocystis* (71). Une corrélation inverse a d'ailleurs été mise en évidence entre le nombre de macrophages et la sévérité de la pneumocystose (72).

Au cours des MAI notamment le lupus, il existe une altération globale du fonctionnement des macrophages (73). La clairance des pathogènes au niveau pulmonaire est ainsi diminuée chez ces patients (30).

La surface membranaire des macrophages est couverte de différents récepteurs, notamment des Pattern Recognition Receptors (PRR) dont font partie les récepteurs au mannose. Ces derniers reconnaissent des glycoprotéines de surface dont la Major Surface Glycoprotein (MSG) (74). Ils peuvent déclencher un mécanisme de phagocytose et être à l'origine d'une activation de la voie NF- κ B. Cette voie semble centrale dans la défense contre *Pneumocystis*. Elle peut être également amplifiée par l'activation des récepteurs aux β -D-glucanes dont la dectine-1 qui fait partie de la famille des lectines (75). La dectine-1 reconnaît des sucres présents dans la paroi de *Pneumocystis jirovecii* comme le β -D-glucane.

L'activation de ce type de récepteurs produit une augmentation de la sécrétion de MIP-2 (Macrophage Inflammatory Protein 2) et de TNF- α (Tumor Necrosis Factor α) via une activation de la voie NF- κ B (76). Les TLR (Toll-Like Receptors) macrophagiques comme le TLR-2, peuvent également induire la production de cytokines pro-inflammatoires (77). D'autres récepteurs membranaires macrophagiques sont impliqués dans des voies de régulation, comme le Scavenger Receptor A (SRA) (78).

2.3.2.2. Les polynucléaires neutrophiles (PNN)

Leur rôle protecteur est moins évident, l'incidence de la pneumocystose au cours des neutropénies même prolongées reste d'ailleurs faible contrairement à d'autres infections fongiques comme l'aspergillose ou la candidose (79). Un rôle délétère dans la constitution des lésions inflammatoires qui font la gravité de la pneumocystose a été évoqué après la publications de plusieurs études retrouvant une corrélation entre le taux de polynucléaires neutrophiles, d'IL8 et la sévérité de l'atteinte pulmonaire (80)(81)(45). Leur rôle a été étudié dans plusieurs modèles murins présentant des déficits quantitatifs ou qualitatifs en neutrophiles (déficit en recrutement ou en capacité à produire des espèces réactives de l'oxygène). Toutes ces souris présentaient les mêmes dommages alvéolaires que les souris avec des neutrophiles fonctionnels (82). Le taux de neutrophiles serait plutôt un indicateur de la sévérité de la pathologie qu'une cause directe de dommage pulmonaire.

2.3.2.3. Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques sont les cellules présentatrices de l'antigène les plus efficaces de l'organisme. Au niveau pulmonaire, elles sont situées directement dans l'alvéole ainsi qu'au contact des cellules épithéliales respiratoires (83). Hors contexte d'infection, elles sont présentes en faible quantité dans un état immature. Au cours d'un challenge infectieux leur nombre augmente très rapidement. Elles mûrissent notamment au contact du β -D-glucane qui induit l'expression de molécules de costimulation et elles acquièrent alors des capacités de présentation antigénique. La susceptibilité des nouveaux nés pour la PCP pourrait être expliquée en partie par l'immaturité des cellules dendritiques à cet âge (84). Elles sont à l'origine d'une orientation Th-1 grâce à la sécrétion de cytokines comme l'IL-1 β et le TNF- α . Elles induisent également la prolifération des cellules T via la molécule Fas (83). Elles auraient au final un rôle protecteur dépendant du type d'exposition antigénique et du statut immunitaire de l'hôte.

2.3.3. Immunité adaptative

2.3.3.1. Les lymphocytes T CD4

La réponse immunitaire de l'hôte au cours de la PCP résulte d'une interaction complexe entre les lymphocytes T CD4, CD8, les macrophages, les cellules dendritiques, les neutrophiles ainsi que des médiateurs solubles. Parmi ces acteurs, les CD4 jouent un rôle prépondérant qui a été soulevé au cours l'épidémie de VIH (85). En effet il existe une corrélation inverse entre le taux de CD4 et la prévalence de la PCP chez ces patients.

Les modèles murins KO pour RAG 1 ou 2 (souris SCID) ou déplétés en CD4 démontrent clairement que la perte des lymphocytes CD4 induit une susceptibilité accrue à la PCP (86).

Les voies de différenciation prépondérantes au cours de la PCP ne sont pas connues. La voie Th17 avec l'axe IL17-IL23 semble essentielle, son blocage conduit à une susceptibilité accrue à la PCP (87). Des défauts de co-stimulation semblent suffisants pour rendre une souris vulnérable à *Pj*. Chez des souris KO pour le récepteur CD28, la survie de l'animal à l'infection se faisant au prix d'une augmentation des taux d'IL10 et d'IFN- γ (interferon gamma) ainsi que d'un afflux de CD8 naïves (88). Les auteurs supposent que des déficits en molécules de costimulation pourraient se traduire par une dérégulation de l'environnement cellulaire et cytokinique pouvant conduire à une susceptibilité à la PCP en l'absence de lymphopénie CD4 (89).

Une sous-population particulière des lymphocytes CD4⁺/CD25⁺/Foxp3⁺ appelés T reg, possède un profil régulateur. Ces cellules ont la propriété de diminuer la prolifération lymphocytaire, la production de cytokines et l'activité des lymphocytes CD4 et CD8 effecteurs (90). Le transfert adoptif de T reg chez des souris SCID infectées par *Pneumocystis* permet une protection pulmonaire lorsque ces souris sont ultérieurement repeuplées en CD4 effecteurs (91). Il a par ailleurs été démontré qu'au cours de l'infection à *Pneumocystis* chez la souris immunocompétente, la perte des cellules T Reg secondaire à l'administration d'un anticorps anti CD25⁺ était à l'origine de dommages pulmonaires importants secondaires à une majoration de la production de cytokines Th2 (92). Elles jouent donc possiblement un rôle dans la constitution des lésions inflammatoires au cours de la PCP chez les patients atteints de MAI.

2.3.3.2. Les lymphocytes T CD8

Le rôle des CD8 est moins clair. Ils ont peut-être un rôle délétère dans la constitution des lésions pulmonaires. En effet les souris SCID ne développent que très tardivement, au cours de l'infection, des lésions pulmonaires significatives (93). Des animaux déplétés en lymphocytes CD4 et CD8 développent la même charge fongique que les animaux déplétés en CD4 seuls et le transfert de lymphocytes CD8 sensibilisés à *Pneumocystis* auraient même plutôt des effets délétères inflammatoires (94). Il est possible que ces lésions inflammatoires soient liées à augmentation des taux de TNF-alpha, le blocage du récepteur au TNF permettant de corriger la situation chez ces mêmes animaux (95).

Cependant certaines équipes ont retrouvé que les CD8 pourraient contribuer à la neutralisation du pathogène en fonction de leur phénotype cytotoxique. Il semble que le phénotype Tc 1, qui est associé à un haut niveau de sécrétion d'IFN- γ endogène soit impliqué. En effet l'administration à haute dose d'IFN- γ par aérosols ou par transfection d'un gène lié à adénovirus peut permettre la clairance du pathogène y compris chez des animaux déplétés en CD4. Ceci a été associé à une augmentation du recrutement des CD8 de polarisation Tc 1 produisant l'IFN- γ (96). Le transfert adoptif de lymphocytes CD8 Tc 1 chez des souris déplétées en CD4 conduit d'ailleurs à une augmentation de la clairance de *Pneumocystis* par une majoration de l'activité des macrophages médiée par le GM-CSF(97). Le transfert de CD8 Tc2 a un effet inverse (98).

Les CD8 Tc1 produisent au total plus de GM-CSF et moins de cytokine Th2 (IL4, IL5, IL10 et IL13) que les CD8Tc 2 lorsqu'ils sont stimulés par des antigènes de *Pneumocystis*. La dualité du rôle des CD8 est donc possiblement en lien avec des états de polarisation alternatifs (99).

2.3.3.3. Rôle des lymphocytes B

L'expérience acquise au cours de l'étude des déficits immunitaires B et de pneumocystoses chez des patients traités par thérapie déplétive anti-CD20 (Rituximab) a permis ces dernières années de préciser l'importance du rôle de ces cellules dans l'immunité anti-*Pneumocystis*. Les données des modèles murins de PCP ont confirmé ces suppositions.

En effet les cellules B ont de multiples casquettes et ce sont en premier lieu des cellules présentatrices d'antigène. L'absence de molécule de CMH de classe II à la surface des cellules B conduit à un défaut d'immunité T CD4 et à une susceptibilité à la PCP (100)(101). De plus, lorsque des souris sont traitées avec un anti CD20, il se produit le même effet avec une altération majeure de l'immunité cellulaire (102).

En plus des capacités de présentation antigénique, les lymphocytes B sont les acteurs centraux de l'immunité humorale. Une immunisation précoce se met en place dans la plupart des cas. En effet des anticorps sériques anti-*Pneumocystis* sont détectés plus de 2/3 des enfants sains à l'âge de 4 ans (25). Au cours d'une pneumocystose, des anticorps IgA et IgG sont produits et se complexent à *Pneumocystis* pouvant conduire à une opsonisation ou à une activation du complément permettant d'éliminer le pathogène (103) (75)(104). Des études montrent que les IgM reconnaissant la Major Surface Glycoprotein (MSG) permettent une protection partielle en cas d'immunodépression (105). Ceci est confirmé par l'administration intranasale d'IgM anti-*Pneumocystis* chez des animaux infectés immunodéprimés (106). Des expériences de transfert passif avec l'utilisation d'un sérum anti-*Pneumocystis* ont aussi permis de diminuer la charge fongique chez des souris SCID infectées (107).

Une immunisation active a également été mise en évidence. En effet des souris déficientes en CD4 exposées de façon répétée à des antigènes de *Pneumocystis*, ont pu résister à un challenge infectieux en produisant des IgG de haute affinité malgré la déplétion CD4 (108). La vaccination a également prouvé son efficacité sur des modèles animaux lorsqu'elle permet la production d'anticorps dirigés contre des antigènes de surface de *Pneumocystis* (109)(110).

Toutes ces études traduisent bien le rôle essentiel des cellules B tant dans la présentation antigénique et l'activation CD4 que comme cellules effectrices via l'immunité humorale.

2.4. TAUX DE CD4 ET DE LYMPHOCYTES AU COURS DE LA PNEUMOCYSTOSE

La lymphopénie est définie par un taux de lymphocytes circulants $<1500/\text{mm}^3$ chez l'adulte. Les mécanismes et les étiologies pouvant être à l'origine d'une lymphopénie peuvent être nombreux et associés (insuffisance de production, excès de catabolisme, séquestration, génétique, traitements...). Celle-ci est fréquemment rapportée au cours des maladies auto-immunes et inflammatoires, mais les mécanismes sont finalement peu compris (111). Il est possible que la lymphopénie en elle-même joue un rôle dans le développement de l'auto-immunité en favorisant la sélection de clone auto-réactifs (112). Bien évidemment une part de la lymphopénie est liée aux traitements (corticoïdes et immunosuppresseurs) mais l'activité de la pathologie sous-jacente est souvent impliquée.

Il faut garder en mémoire que le taux de lymphocytes circulants n'est qu'un instantané et ne traduit pas directement le stock tissulaire en lymphocytes. D'autre part, la population de lymphocytes CD4 est extrêmement hétérogène et de nombreux sous-types aux activités variées ont été isolés : mémoires, effecteurs (avec différents profils Th1, Th2, Th17...) ou régulateurs. Ces sous-populations ne sont pas détaillées dans une mesure standard de CD4.

2.4.1. Taux de CD4 au cours des maladies auto-immunes

C'est essentiellement au cours du lupus érythémateux systémique (LES) que la lymphopénie a été étudiée. Ainsi on l'observe dans 15 à 82% des cas selon les études (113). Elle fait d'ailleurs partie des critères de classification ACR (American College of Rheumatology) et SLICC (Systemic Lupus International Collaborating Clinics) lorsqu'elle est inférieure à $1000/\text{mm}^3$ (114). Des lymphopénies totales plus profondes ($<500/\text{mm}^3$) s'observent dans environ 10% des cas et sont peut-être à relier à des formes de lupus

d'origine génétique ou associées à des déficits immunitaires primitifs (115). Les mécanismes à l'origine de cette lymphopénie sont imparfaitement connus. On suspecte un excès d'apoptose voire une activité cytotoxique liée à des anticorps anti-lymphocytes dirigés contre des sphingolipides et des L-sélectines (116).

Peu d'études ont évalué la prévalence de la lymphopénie dans les rhumatismes inflammatoires débutants. Une équipe britannique a rapporté une série de 66 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) non traitée, 15% avaient une lymphopénie persistante avec un taux médian de lymphocytes à 698/mm³ et de CD4 à 321/mm³ (117).

Au cours de la dermatomyosite, une étude menée dans le service de dermatologie de l'hôpital Saint-Louis à Paris retrouvait une lymphopénie globale chez 85% des patients avant traitement, le taux médian de lymphocytes totaux était de 835/mm³ et de 382/mm³ pour les CD4 (118). La baisse des T-CD8 était la plus marquée, mais toutes les sous-populations lymphocytaires B et T étaient concernées ce qui avait déjà été constaté dans d'autres séries (119). Le taux de lymphocytes totaux se corrigeait en quelques semaines après initiation d'un traitement par corticoïdes dans la majorité des cas ce qui allait en faveur d'un mécanisme lié principalement à l'activité de la maladie.

Au cours de la granulomatose avec polyangéite (GPA), une étude française menée en 2000 sur 19 patients retrouvait un taux moyen de lymphocytes totaux de 836/mm³ au diagnostic avant tout traitement. L'activité de la maladie corrélait avec la profondeur de la lymphopénie (120).

2.4.2. Taux de CD4 au cours des maladies inflammatoires

Au cours de la sarcoïdose, la lymphopénie est fréquente, pouvant toucher les CD4 avec un rapport CD4/CD8 toutefois normal voire augmenté. Il est possible que cette baisse des CD4 soit secondaire à une séquestration au niveau des granulomes et que le taux circulant ne reflète ainsi pas le stock tissulaire. Une inhibition périphérique secondaire à une expansion de lymphocytes T régulateurs à aussi été évoquée (121)(122). Une étude française menée en 1990 retrouvait un taux moyen de CD4 à 300/mm³ (123). La survenue d'infections opportunistes au cours de la sarcoïdose est toutefois rare, seuls

7 cas de PCP ont été rapportés dans la littérature. Toutes sont survenues sous corticothérapie ou immunosuppresseurs (124). Les difficultés dans ce cadre nosologique sont de ne pas méconnaître un déficit immunitaire sous-jacent dans le cadre d'une association avec une maladie granulomateuse, et de faire le diagnostic d'une infection opportuniste au cours d'une pathologie avec des présentations cliniques parfois très polymorphes.

Au cours des maladies inflammatoires cryptogénétiques intestinales (MICI), on retrouve régulièrement une lymphopénie, surtout si la pathologie est sévère. Les mécanismes sont multiples par excès de TNF α , d'endotoxines et par pertes digestives. Dans la maladie de Crohn, la lymphopénie profonde est corrélée à un mauvais pronostic et concerne 30% des patients qui nécessitent une chirurgie (125).

2.4.3. Taux de lymphocytes au cours de la PCP des MAI

Il y a finalement peu d'études ayant analysé le taux de lymphocytes et de CD4 spécifiquement au cours de la PCP chez les patients atteints de MAI. Malheureusement la plupart des séries de la littérature sont hétérogènes car les patients sont regroupés dans la catégorie dite « non-VIH ». De plus, les critères diagnostiques de la PCP sont variables et excluent souvent les PCP documentées uniquement par PCR. L'étude la plus citée dans la littérature est celle de Mansharamani *et al.* publiée en 2000 à partir de l'analyse rétrospective de 22 patients. Elle suggérait que le taux de CD4 puisse être utilisé comme biomarqueur pour sélectionner les patients non-VIH nécessitant une prophylaxie (7). Cette étude ne comportait que 5 patients atteints de MAI et les critères diagnostiques de PCP n'incluaient pas la PCR mais l'IF qui manque de sensibilité.

Une méta-analyse publiée en juin 2016 a repris les données de 17 études rétrospectives comprenant le taux de CD4 au cours de la PCP. Les données de 515 patients étaient analysées. Près de la moitié avaient une hémopathie, la proportion de MAI n'était pas fournie, et les taux de CD4 étaient disponibles pour 221 des cas (42,9%). Un taux inférieur à 200 CD4/mm³ était retrouvé chez 73,1% des patients (126). Les données de cette méta-analyse ont été reprises dans le **tableau 1** et complétées, en précisant les méthodes diagnostiques, les taux de CD4 disponibles pour chaque étude et la proportion

de patients atteints de MAI.

On remarque ainsi une hétérogénéité majeure au sein de ces études. La plupart des études utilisant la méthode PCR comprennent moins de 20% de patients atteints de MAI. La seule étude intégrant la méthode PCR avec une proportion de MAI >50% est l'étude d'Enomoto *et al.* publiée en 2009, mais l'effectif était faible (11 patients atteints de MAI). On remarque toutefois que la moyenne des CD4 était supérieure à 300/mm³ dans cette étude (329/mm³)(32).

Année de publication, 1 ^{er} auteur	Patients inclus (n)	Patients atteints de MAI (n) et %	Patients sous CTC (%)	Méthodes diagnostiques de la PCP	Mortalité (%)	Taux de CD4 disponibles (n)	Taux de CD 4 /mm ³ (médiane)	% CD4<200/mm ³	% CD4<300/mm ³
1994 Godeau	34	34 (100%)	94,1	ED	32,4	5	400	40%	40%
2000 Glück,	7	-	100	-	0	7	80	100%	100%
2000 Mansharmani	22	5 (22,7%)	72,7	ED/IF	-	22	61	91%	73%
2002 Roblot	103	27 (26,2%)	55,3	ED/IF	37,9	25	100	80%	57%
2005 De Castro	13	0 (0%)	61,5	ED/IF	30,8	10	123	90%	90%
2005 Festic	30	11 (37%)	76,7	ED	66,7	6	70	100%	-
2007 Overgaard	50	7 (14%)	74,0	IF/PCR	14	17	280	53%	18%
2008 Monnet	27	6 (22%)	96,3	ED/IF	59,3	6	244	50%	50%
2008 Su	34	-	-	PCR	50	6	NR	67%	67%
2009 Enomoto	17	11 (64,7%)	100	ED/PCR	52,9	17	329*	65%	-
2011 Fily	46	6 (13%)	65,2	ED/IF/PCR	19,6	26	107	69%	54%
2012 Martin-Garrido	30	3 (10%)	73,3	ED/PCR	30	10	26	90%	80%
2014 Guo	46	11 (23,9%)	69,6	ED/PCR/B-D-Glucan	15,2	27	182	59%	-
2014 Roblot	56	11 (20%)	80,4	ED/IF	-	37	120	70%	-

*valeur fournie en moyenne dans l'article original

Tableau 1 : Comparaison des différentes études analysant le taux de lymphocytes CD4 au cours de PCP chez les patients non-VIH. Adapté de Messiaen *et al.* (125).

La proportion de patients atteints de MAI est indiquée ainsi que les méthodes diagnostiques utilisées et le taux de mortalité.

2.5. EVALUATION DU RISQUE DE PNEUMOCYSTOSE AU COURS DES MAI

Les différentes analyses rétrospectives de séries de cas de PCP ont pu identifier certains facteurs de risque de PCP au cours des MAI. On retrouve essentiellement la lymphopénie (totale et CD4), la corticothérapie et les traitements immunosuppresseurs (127). Les autres facteurs de risque isolés sont la présence d'une hypoalbuminémie, d'une dénutrition, d'un âge élevé, et la présence d'une atteinte pulmonaire sous-jacente (128)(129)(130). Il est cependant très difficile d'évaluer la part respective de la lymphopénie, du risque intrinsèque de la pathologie de fond de celui lié à l'immunosuppression iatrogène, dans l'appréciation du risque global de PCP. Il est également difficile d'analyser un événement rare survenant au cours de pathologies qui le sont tout autant. Il existe toutefois quelques études d'incidence permettant une appréciation du risque de PCP au cours des MAI.

2.5.1. MAI à haut risque de pneumocystose

Parmi les pathologies les plus à risque figure la granulomatose avec polyangéite (GPA). Dans des séries historiques, l'incidence annuelle de la pneumocystose au cours de la GPA était très élevée, située entre 8 et 12% (3)(131)(132). Dans l'étude de Fillatre *et al.* publiée en 2015 (**Figure 4**), l'incidence retrouvée était bien plus faible, autour de 0,7% (133). Mais dans cette population dont le haut risque est bien connu, la prophylaxie était fréquemment prescrite, encouragée notamment par les recommandations de prise en charge de l'EULAR (European League Against Rheumatism) (134). Il est à noter que la prophylaxie est particulièrement efficace chez ce type de patient : aucun cas de PCP chez des patients sous prophylaxie n'a été décrit sur une série française rétrospective comprenant 82 vascularites nécrosantes diagnostiquées au cours des quinze dernières années (135).

Chez les patients atteints de périartérite noueuse, l'incidence annuelle sur les séries anciennes était estimée entre 6,5 et 12 % contre 0,935% pour l'étude de Fillatre *et al.* (127)(131)(133). Encore une fois, la discordance entre séries anciennes et récentes est probablement expliquée par la généralisation de la prescription de prophylaxie dans cette population.

Les dermatomyosites et autres myopathies inflammatoires sont également considérées comme à haut risque de PCP avec une incidence annuelle à 2,7%, probablement en raison de l'exposition importante aux corticoïdes (136)(137). Dans d'autres séries, les incidences annuelles retrouvées étaient comprises entre 0,27 et 1,5% (3)(127). Chez les patients atteints de myopathies inflammatoires, la PCP est l'infection opportuniste la plus fréquente (137).

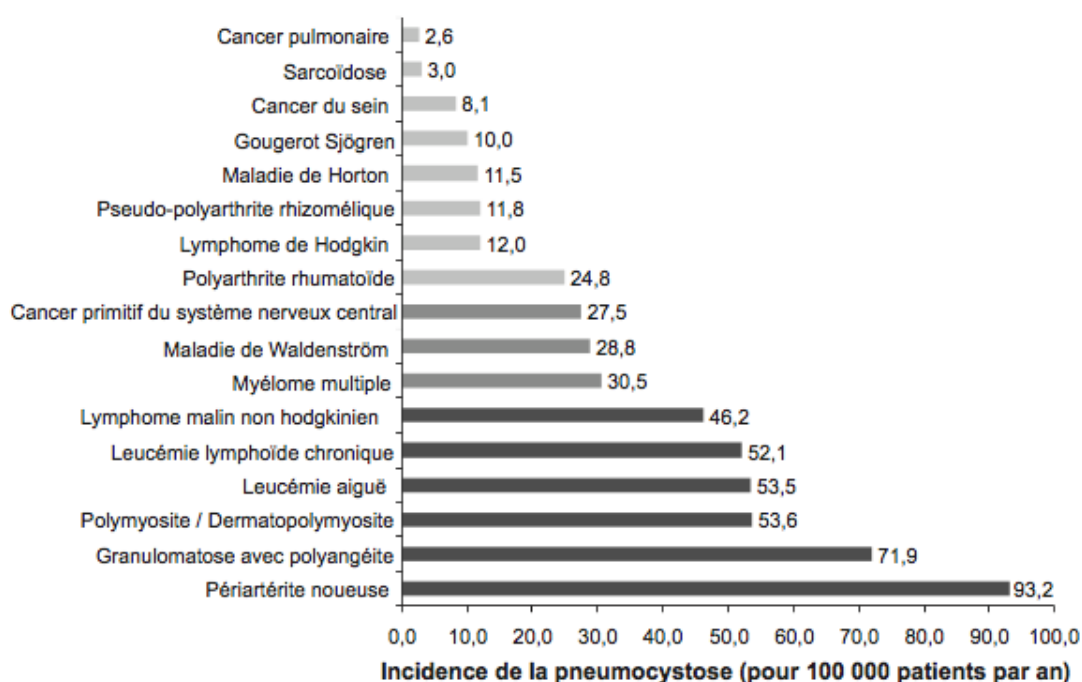


Figure 4 : Incidence de la PCP, d'après Fillatre *et al.* (133)

2.5.2. MAI à faible risque de pneumocystose

La maladie de Horton et la pseudo-polyarthrite rhizomélisque sont des pathologies fortement exposées aux corticoïdes. Le risque évalué demeure toutefois faible (138). Dans l'étude de Fillatre *et al.* les incidences annuelles observées étaient de 0,0115 à 0,118% (133).

Au cours de la sarcoïdose, malgré une corticothérapie fréquente, l'incidence annuelle est encore plus basse car estimée à 0,003%(133).

Au cours de la polyarthrite rhumatoïde, MAI la plus fréquente, l'incidence annuelle de la pneumocystose retrouvée oscille entre 0,020 et 0,130% (133)(127)(139). Cette variation d'un facteur un à cinq entre les séries est possiblement explicable par la variété des traitements administrés au cours de la PR. Cette population bien qu'exposée aux corticoïdes reçoit généralement des doses inférieures à 20mg/jour. Des cas groupés similaires à ceux survenant dans les unités de transplantation rénale ont été décrits au Japon (140).

Toutes les autres MAI, y compris le lupus sont généralement considérées à faible risque tout comme les cytopénies auto-immunes (133).

Le bénéfice d'une prophylaxie systématique au cours des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin a été évalué au cours de la maladie de Crohn. Devant la faible incidence annuelle retrouvée (environ 0,01% dans l'étude de Fillatre *et al.*) l'analyse du risque ne plaide pas en faveur d'une prescription systématique (141).

2.5.3. Risque lié à l'immunosuppression iatrogène

La PCP est rarissime chez les patients atteints de MAI sans traitement immunosuppresseur ou corticoïdes préalables (127). Dans la plupart des séries rétrospectives, on retrouve un traitement par corticoïdes dans environ 90% des cas (142)(143)(41)(127). La corticothérapie est le seul traitement reçu pour 17 à 28% des patients atteints de MAI (41)(127). La durée médiane de traitement avant la survenue d'une PCP est de 3 à 4 mois. Les PCP survenant dans le premier mois sont rares sauf peut-être au cours des dermatomyosites (144). La plupart du temps, la dose de corticoïdes est supérieure à 15mg/jour. Il est malheureusement difficile d'étudier le risque de PCP liée à la dose cumulative de CTC (145).

Un autre traitement considéré à haut risque est le Cyclophosphamide (CYC). L'étude de Godeau *et al.* sur une série de patients avec GPA, montrait une association entre la dose cumulée de CYC et le risque de PCP. Cependant, il n'y avait pas de significativité retenue en analyse multivariée (145). Une méta-analyse chez des patients lupiques traités par CYC retrouvait une incidence faible au cours du lupus de 0,1558% (146).

Il n'y a pas d'étude évaluant le sur-risque lié aux autres immunosuppresseurs, mais simplement des cas rapportés. Des PCP ont été diagnostiquées depuis de nombreuses années au cours de PR sous faibles doses de méthotrexate parfois sans corticothérapie associée (147)(148)(149). Sous Azathioprine (AZT) la majeure partie des cas rapportés concernent des patients atteints de maladie de Crohn sévère traités avec une association d'anti-TNF α , de corticothérapie et d'AZT (150)(151)(152). Le mycophénolate-mofétil (MMF) est généralement considéré à faible risque, 10 cas ont été rapportés dans une série chinoise (153).

Les biothérapies comme les anti-TNF ont souvent été incriminées, mais les études divergent largement dans la littérature (154). Il semble exister une surreprésentation des cas japonais (154). L'incidence de la PCP sous anti-TNF est en effet de 0,88% au Japon contre moins de 0,001% en Amérique du Nord (155). L'observatoire RATIO colligeant les infections opportunistes survenues chez les patients sous anti-TNF en France de 2004 à 2007 recensait 6 pneumocystoses (156). La plus grande série est américaine et provient du registre de la FDA (Food and Drug Administration). Quatre-vingt cas ont été recensés entre 1998 et 2003, principalement des PR traitées par méthotrexate et corticothérapie (157).

Le risque de PCP sous Rituximab n'a pas été clairement évalué au cours des MAI. De nombreux signaux d'alerte ont été émis ces dernières années devant la survenue de cas de PCP sous Rituximab, essentiellement chez des patients atteints d'hémopathies malignes. L'ECIL, dans ses dernières recommandations, préconise d'ailleurs une prophylaxie systématique lors d'un traitement par Rituximab (6). Une étude plus rassurante menée aux Etats-Unis a été publiée en 2016 par Baretto *et al.*, retrouvant une incidence à 1,58% chez les patients traités par R-CHOP pour un lymphome (158).

Une étude rétrospective réalisée au CHU de Poitiers entre 2006 et 2014 étudiant les complications infectieuses survenant sous Rituximab au cours des MAI retrouvait 2 cas de pneumocystose. La prophylaxie anti-PCP n'était retrouvée dans cette série que dans 39% des dossiers consultés (159). Au cours des anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) traitées par Rituximab un seul cas de PCP était retrouvé après méta-analyse regroupant 409 patients traités par anti-CD20 (160). En ce qui concerne les

autres biothérapies, d'arrivée plus récente sur le marché, une analyse de la littérature retrouvait un seul cas survenue sous Tocilizumab, et aucun sous Anakinra, Ustekinumab ou Abatacept (154).

2.6. PROPHYLAXIES

2.6.1. Etat des lieux des recommandations de prophylaxie au cours des MAI

Il existe des recommandations de haut niveau de preuve, basées sur des études randomisées au cours de l'infection par le VIH. Ainsi une prophylaxie anti-*Pneumocystis* doit être proposée à tout patient infecté par le VIH ayant moins de 200 CD4/mm³ et être poursuivie jusqu'à ce que ce taux soit >200/mm³ pendant une durée de 3 mois (4). Des recommandations d'experts existent pour les pathologies hématologiques (ECIL) et pour la greffe d'organe solide notamment rénale (6)(5).

Il n'existe à ce jour pas ou peu de recommandations concernant la prophylaxie de la PCP au cours des MAI, ce qui se traduit par une grande hétérogénéité de pratiques chez les prescripteurs (161). Dans toute prescription médicamenteuse, il faut s'interroger sur le rapport bénéfice-risque auquel est soumis le patient. Une méta-analyse publiée en 2007 concluait que la prophylaxie par TMP-SMX n'était acceptable que lorsque l'incidence de la PCP était >3,5%, car une fois prescrit le TMP-SMX doit être arrêté pour effet secondaire grave dans 3,1% des cas (162). Ceci revient finalement à ne prescrire une prophylaxie qu'aux patients atteints de GPA ou de PAN. Les experts s'accordent d'ailleurs sur ces dernières indications et l'EULAR conseille une prophylaxie par TMP-SMX à tout patient atteint de GPA traité par CYC ou Rituximab.

Une stratégie moins stringente a été proposée par l'American Thoracic Society qui préconise une prophylaxie en cas de corticothérapie supérieure à 20mg par jour pendant plus de 4 semaines, ce qui revient à traiter l'essentiel des patients atteints de MAI (163). Des stratégies intermédiaires combinant plusieurs facteurs de risque ont été proposées

et sont résumées dans le **tableau 2**. Les taux de lymphocytes et de CD4 y sont fréquemment mentionnés avec des seuils variables.

La question de la durée est encore moins bien déterminée. Il est admis qu'il faut poursuivre la prophylaxie tant que l'immunosuppression est maintenue (164).

Etude	Type d'étude	Ly /mm ³	CD4 /mm ³	Dose de CTC et durée	Autres FDR	Recommandations
Katsuyama <i>et al.</i>	Analyse rétrospective parmi 702 PR	-	-	-	Age > 65 ans Atteinte pulmonaire Corticothérapie	Patients avec au moins deux facteurs de risque
Okada <i>et al.</i>	Etude cas-control de 84 MAI avec CTC > 40 mg, les patients avec au moins un FDR surajouté recevaient une prophylaxie	-	-	-	Fibrose pulmonaire Lymphopénie	Patients avec CTC > 40 mg et un autre FDR
Ogawa <i>et al.</i>	Analyse rétrospective de 124 MAI sous CTC +/- prophylaxie	< 500	-	> 30 mg/jour	Utilisation d'un IS	CTC > 30 mg avec • soit un IS • soit moins de 500 lymphocytes totaux/mm ³
Demourelle <i>et al.</i>	Cas clinique : lupus développant une PCP	< 350	-	> 20 mg/jour pendant 1 mois	Atteinte pulmonaire Plus de 2 IS associés	Patient avec au moins deux facteurs de risque
Inokuma <i>et al.</i>	Recommandations Ministère Japonais de la Santé	< 500	-	CTC seule si : > 1,2 mg/kg/jour CTC + IS si : > 0,8 mg/kg/jour	Age > 50 ans	Patients > 50 ans avec : • CTC seule si > 1,2 mg/kg/jour • CTC > 0,8 mg/kg/jour si IS associé • lymphopénie < 500/mm ³ avec IS
Sowden <i>et al.</i>	Revue de la littérature	< 600	< 200	> 15 mg/jour pendant plus de 3 mois	-	Faire un taux de CD4 un mois après début des CTC si dose > 15 mg/jour, prophylaxie si : • CD4 < 200 ou • lympho < 600/mm ³
Fillatre <i>et al.</i>	Revue de la littérature + étude d'incidence	< 600	< 300	> 15 mg/jour pendant plus de 3 mois	Stratification en MAI à risque de PCP : • faible • intermédiaire • élevé	Prophylaxie si : • MAI à risque élevé • MAI intermédiaire : faire dosage des CD4 uniquement si lympho < 600/mm ³ et CTC > 15 mg/jour pendant plus de 3 mois et débuter prophylaxie si CD4 < 300/mm ³ • MAI à faible risque : pas de prophylaxie

Tableau 2 : Stratégies de prophylaxie proposées dans la littérature, adapté de Tadros *et al.* (165)

2.6.2. Molécules utilisées en prophylaxie

Le traitement prophylactique de référence de première intention est le Triméthoprime-Sulfaméthoxazole (TMP-SMX). Son efficacité a été validée aussi bien au cours du VIH que chez les patients atteints de MAI. Son efficacité est supérieure aux aérosols de Pentamidine, à l'Atovaquone et la Dapsone au cours du VIH (166). Au cours des MAI, les aérosols mensuels de Pentamidine ont été comparés au TMP-SMX : 3 cas de

PCP sur 18 patients sont survenus dans le groupe Pentamidine et aucun dans le groupe TMP-SMX (167). Son spectre plus large lui permet également de couvrir d'autres infections opportunistes comme la toxoplasmose. Il a également probablement un effet sur le contrôle de l'activité de la GPA grâce à son effet anti-staphylococcique (168).

La tolérance du TMP-SMX chez les patients atteints de MAI n'a malheureusement pas été évaluée spécifiquement. La méta-analyse de Green *et al.*, la plus citée dans la littérature, rapporte un taux de 3,1% d'effets secondaires graves au cours de la prophylaxie par TMP-SMX chez des patients non-VIH. Cependant, la population analysée comporte plus d'un tiers de patients pédiatriques avec une leucémie aigue lymphoblastique et très peu de patients atteints de MAI (162). Chez ces derniers, la tolérance est probablement différente. Il existe d'ailleurs un questionnement autour de la possibilité de poussées lupiques induites par le TMP-SMX (169). La présence d'anti-RNP a également été identifiée comme facteur de risque de réactions cutanées au TMP-SMX (170). Les auteurs recommandent tout de même le TMP-SMX en première intention. Un schéma d'introduction à doses progressives a été évaluée et permettrait de diminuer la fréquence des effets secondaires (171). Les modalités d'administration classiques du TMP-SMX sont soit une administration quotidienne d'une dose de 400 mg soit une double dose à 800 mg trois fois par semaine sans modification de l'efficacité (172).

L'utilisation du TMP-SMX en association avec le méthotrexate est généralement déconseillée du fait d'une majoration potentielle des effets secondaires hématologiques (pancytopénie), ces deux médicaments agissant sur le métabolisme des folates (173)(174). Un certains nombre d'auteurs rapportent toutefois un profil de sécurité satisfaisant sous couvert d'une surveillance biologique plus stricte et d'une supplémentation en folates (175)(176). L'ensemble des molécules utilisables en prophylaxie est résumé dans le **tableau 3**.

Traitement	Posologie	Risque de PCP	Effets indésirables
En 1ère intention			
TMP/SMX (400mg/80mg)	1cp/jour	0% Debouverie et al. 2014	Allergie (1-8%) Lyell (0,2cas/10 ⁶) Photosensibilisation Neutropénie Troubles digestifs (1-2%)
TMP/SMX (800mg/160mg)	1cp 3 fois par semaine		
En cas d'allergie			
ATOVAQUONE Suspension buvable 750mg/5ml	1500mg/jour à prendre avec des aliments riches en graisse	9% Meyers et al. 2001	Eruptions cutanées (23%) Nausées (21%) Douleurs abdominales (19%) Céphalées (17%) Fièvre (14%) Vomissements (14%)
PENTAMIDINE	Aérosol toutes les 3-4 semaines	9% Fishman et al. 2001	Toux et bronchospasme (bronchodilatateur à prescrire 15 min avant)
DAPSONE	100mg/jour	3% Vasconcelles et al. 2000	Anémie hémolytique, troubles digestifs (50%), Syndrome des sulfones (fièvre, éruption, hépatite, méthémoglobinémie, adénopathies)

Tableau 3 : Résumé des prophylaxies médicamenteuses anti-*Pneumocystis* disponibles et leurs principales caractéristiques. Adapté de Godeau *et al.* (177)

3. Objectifs

La pneumocystose est une pathologie opportuniste sévère pouvant survenir au cours des maladies auto-immunes et inflammatoires (MAI). L'enjeu de la prophylaxie est capital car celle-ci est simple et efficace, mais non dénuée d'effets secondaires. Des facteurs de risque de PCP au cours des MAI ont été identifiés parmi lesquels un taux de CD4 bas. A l'heure actuelle, les données sont cependant insuffisantes pour produire des recommandations solides, contrairement au VIH où le taux de CD4 détermine la prescription de la prophylaxie.

L'absence de recommandations chez les patients atteints de MAI résulte certainement d'un manque d'études ciblées sur cette catégorie de patients. Il est d'ailleurs difficile de connaître le taux de CD4 au cours de la PCP des MAI. La littérature est à ce sujet contradictoire du fait d'une utilisation variable de la PCR dans les critères diagnostiques de la PCP et de populations étudiées hétérogènes ne comportant pas exclusivement des patients atteints de MAI.

Nous avons donc réalisé une étude rétrospective ciblée sur les patients atteints de MAI. Tous les cas de PCP survenus au CHU de Bordeaux de 2013 à 2016 ont été analysés à partir d'un registre de PCR *PJ* réalisé au laboratoire de mycologie. Nous avons comparé le profil clinico-biologique et le pronostic de la PCP entre 3 catégories de patients : ceux atteints de MAI, les patients VIH et les autres non-VIH (hémopathies, greffes, cancers).

Les objectifs de notre étude étaient de :

- Préciser le profil clinico-biologique des patients avec une MAI développant une pneumocystose et notamment leur taux de CD4
- Comparer les patients MAI avec les patients VIH et les autres non-VIH
- Déterminer des facteurs de risque de mortalité
- Evaluer si le taux de CD4 pouvait guider la prophylaxie chez les patients atteints de MAI

4. Article

Guidelines for prophylaxis of *Pneumocystis pneumonia* cannot rely solely on CD4-cell count in autoimmune and inflammatory diseases

G. Baulier¹, N. Issa², F. Gabriel³, I. Accoceberry³, A. Ozanne⁴, F. Camou², P. Duffau¹

¹ Médecine interne et immunologie clinique, hôpital Saint-André, groupe hospitalier Saint-André, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

² Réanimation médicale, hôpital Saint-André, groupe hospitalier Saint-André, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

³ Laboratoire de mycologie, groupe hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

⁴ ISPED, Centre INSERM U897, Epidemiologie-Biostatistique, Université Bordeaux

Abstract

Objectives: While the role of CD4 cell count in the development of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PCP) in HIV patients is well established, the role in non-HIV immunocompromised (NHIV) patients is poorly understood. Clear guidelines with respect to prophylaxis in NHIV does not exist, especially for autoimmune and inflammatory diseases (AD). Few publications have focused on PCP in AD, and the majority pooled AD with other types of heterogeneous NHIV patient populations. Our study details the specific characteristics of AD patients developing PCP, assesses the potential risk factors for mortality, and determines if CD4-count is a reliable factor for guidance of PCP prophylaxis in AD.

Methods: This single-center French retrospective study was conducted from January 2013 to February 2016. Patients diagnosed with an active PCP infection were included, and categorized according to HIV, AD, or other NHIV status.

Results: A total of 129 patients were included: 27 had AD, 39 HIV and 65 other NHIV conditions. The median CD4 count was 322/mm³ in AD, which is significantly higher than in HIV patients (21/mm³; $p < 0.0001$). No difference was observed in CD4 counts between AD and other NHIV patients (236/mm³; $p = 0.22$). Fifty percent ($n = 10$) of AD patients had CD4 counts greater than 300/mm³. In a multivariate analysis, the presence of positive ME ($p = 0.0033$; OR=19.6; 95% CI [1.904-201.7]) and corticosteroid >40mg/day ($p = 0.0007$; OR=42; 95% CI [3.758-469.4]) were associated with mortality.

Conclusion: The complexity of immune deficiency in AD patients cannot be explained by CD4 lymphopenia alone. A comprehensive analysis of the global immunodepression of AD patients is needed to determine the best candidates for PCP prophylaxis.

Introduction

Pneumocystis jirovecii pneumonia (PCP) has historically been associated with human immunodeficiency virus (HIV). Since the introduction of highly active antiretroviral therapy, the incidence of PCP in people living with HIV in western countries has dramatically decreased. Nowadays, the majority of PCP infections occurs in non-HIV (NHIV) immunosuppressed patients (1). These immunocompromised patients represent a heterogeneous population suffering from hematologic malignancies, solid malignancies, solid organ transplants and autoimmune or inflammatory diseases (AD). The ways in which PCP in NHIV differs from HIV patients include: misleading clinical presentations and delayed or difficult diagnosis due to negative microscopic examinations (ME). Prognosis of PCP in NHIV is worse, with an overall 30-50% mortality (2).

Prophylaxis has proven efficient and safe for PCP in HIV while no clear recommendations have emerged regarding the target population for prophylaxis in NHIV (3). The large variation in prophylactic prescriptions for patients with AD reveals a large gap in knowledge regarding guidelines for PCP in this patient population (4). In HIV patients, it has been established that the level of immunosuppression follows a CD4 count gradient and PCP prophylaxis is recommended for patients with a CD4 count below 200/mm³ (5). As lymphopenia is quite common in AD patients (6), it is tempting to use the recommendations for HIV patients by evaluating the CD4 count (7). However, a defined gradient of immunosuppression using the CD4 count has not been established in AD patients. Very few studies have focused on CD4 count in AD patients with active PCP, and published results are contradictory due to small sample sizes and different definitions of PCP depending on the use of PCR (9)(10). Other factors that are essential in the defense against *Pneumocystis jirovecii* such as humoral immunity or antigen presentation are

altered by underlying diseases or treatment and could explain an increased susceptibility to PCP (8).

Therefore, the aims of our study were to (i) detail specific characteristics of AD patients developing PCP, (ii) determine if the CD4 count could be used to guide PCP prophylaxis in AD, and (iii) determine potential risk factors contributing to mortality in AD.

Methods

Data collection

This single center French study was conducted at the Bordeaux University Hospital. It was performed with the permission of the National Commission of Information Technology and Freedom (CNIL, Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés). Retrospective data collection covered the period from January 2013 to February 2016. All qPCR *Pneumocystis jirovecii* analyses performed during this period were included. All cases with at least a single significant positive qPCR *P. jirovecii* sample (>1000 cp/mL) were reviewed (sputum, bronchial aspiration fluid (BA), bronchoalveolar lavage fluid (BAL)). All cases were analyzed by three independent specialists from the departments of infectious diseases, intensive care, and general medicine.

Diagnosis of PCP infection was confirmed using the the following criteria: clinical signs of pneumonia (cough, fever, dyspnea), radiological findings compatible with PCP (ground glass opacities and/or acute interstitial lung disease), and introduction of specific treatment against of *P. jirovecii*. In the absence of these criteria, cases were considered as colonization and excluded. In the case of multiple positive samples for a single patient, the first sample was selected.

Sample treatment

The specimen treatment protocol is described in the supplementary methods.

Data classification

Patients were classified in two groups according to the ME, regardless of the qPCR value: certain PCP (positive ME) and possible PCP (negative ME). The date of the PCP diagnosis was considered as the date of first positive PCR. Patient characteristics and blood results were retrieved from the hospital database. Corticosteroid (CS) dosages are expressed as the prednisone equivalent.

Statistical analysis

Independent t-tests and Khi-2 tests were used to compare the characteristics between groups. A p-value less than 0.05 (two-tailed) was considered statistically significant. Logistic regression models were used to estimate the association between explanatory variables and 3-month mortality (binary dependent variable). Odds ratio (OR) and a confidence interval at 95% (CI) were determined. All the explanatory variables and interaction terms associated with fatal prognosis were examined. Variables with a p-value less than 0.05 were included in the final multivariate model. Tests were performed using GraphPad Prism software (GraphPad, San Diego, CA, USA) and multivariate logistic regression model using the free software R 3.2.2, package STAT.

Results

Population characteristics

3,554 qPCR were performed during the study period (**Supplementary Figure 1**). We identified a total of 129 patients who presented with active PCP (54 certain PCP with positive ME, and 75 possible PCP with negative ME). Among them, 37 (28.7%) patients were HIV positive, 27 (20.9%) had AD, 65 (50.4%) had other NHIV conditions (hematologic malignancies (n=31), solid organ transplant (n=24), solid malignancies (n=7), and pulmonary fibrosis (n=3)). Detailed patient characteristics are shown in **Table 1**.

AD patients were older than HIV or NHIV patients (median ages: 71, 45 and 62 years respectively; AD vs HIV $p<0.0001$; AD vs NHIV $p=0.0127$). Underlying lung diseases were more frequent in AD than HIV or NHIV patients (44%; 2.7% and 20%; AD vs HIV $p<0.0001$; AD vs NHIV $p=0.0164$). AD patients had heavier exposure to corticosteroids than NHIV patients (97% vs 57%; $p<0.0001$). Detailed characteristics of each AD patient are described in **Supplementary Table 1**.

The most common underlying diseases were rheumatoid arthritis (n=6; 22%), giant cell arteritis (n=3; 11%), antineutrophil cytoplasmic autoantibody (ANCA)-associated vasculitis (n=3; 11%), and cryoglobulinemia vasculitis (n=3; 11%). Diagnosis of the underlying disease was made an average of 6 years before PCP infection [range: 19 days-28 years]. Activity of AD was not controlled at the time of PCP in 33% (n=9) of the cases. 44% (n=12) had specific pulmonary manifestations of AD diagnosed before PCP. 97% of the patients (n=26) were taking corticosteroids at the time of PCP with a median dosage of 29.9mg/day and for a median duration of 6.1 months. Corticosteroids were

prescribed for more than one month in 96% of the cases (n =25), and 62% (n=16) took >20mg/day for more than a month. Corticosteroids were the only immunosuppressant treatment in 5 cases (18.5%), and were often associated with other immunosuppressant drugs including methotrexate in 33.3% (n=9), rituximab in 26% (n=7), azathioprine in 14.8% (n=4), cyclophosphamide in 11% (n=3), mycophenolate in 3.7% (n=1), cyclosporine 3.7% (n=1) and tocilizumab in 3.7% (n=1). None of the AD patients were exposed to anti-TNF treatment. From the 129 cases studied here, only one patient (n=1; 0.77%) had prophylaxis before PCP.

Certain PCP (positive ME) were less frequent in AD (n=8; 29.62%) than in HIV (n=28; 75.67%)(p=0.0002), without any significant difference between AD and NHIV (n=18; 27.1%) (p=0.8509). qPCR values in AD were significantly lower than in HIV (median values: 44050 vs 513000/mm³; p=0.0432) but did not differ from NHIV patients (median value: 20725/mm³; p=0.55).

Lymphocyte and CD4 cell counts

Total lymphocyte counts were available for each of the 129 patients (**Table 1**). The median value was 611/mm³ (sd: 856/mm³; range: 120-4300/mm³) in AD. The total lymphocyte counts were not significantly different when compared with HIV (median:595/mm³; sd:582/mm³; range: 100-2640/mm³; p=0.3601) or NHIV patients (median: 480/mm³; sd:731/mm³; range: 50-4120/mm³; p=0.1630).

The CD4 lymphocyte counts were available for 20 AD patients (74%) at the time of PCP infection. The median count was 322/mm³ (sd: 280.12/mm³; range: 6-655/mm³) and was significantly higher when compared to HIV patients (median: 21/mm³; sd:62.86/mm³; range: 1-268/mm³; p<0.0001). While 50% (n=10) of AD patients had

>300 CD4/mm³, and 25% had normal CD4 counts (>450/mm³), no difference was observed in CD4 counts between AD and NHIV patients (median: 236/mm³; sd: 234.8/mm³; p=0.22)..

Prognosis factors

Intensive care was necessary for 55.5% (n=15) and orotracheal intubation was required for 33.3% (n=9) of the AD cases. Prognosis of PCP was severe with a 3-month mortality rate after PCP of 44.4% for AD. This rate was significantly higher for AD than HIV (18.9%; p=0.027) but not significantly different from other NHIV (26.1%; p=0.086). Factors associated with mortality in AD patients as determined by univariate analysis are described in **Table 2**. The presence of positive ME (OR=21.28; 95% CI [1.56-894.26.], p=0.002) and CS>40mg/day (OR=7.6; 95% CI [1.03-99.18], p=0.01) were independently associated with mortality as determined by multivariate analysis.

Discussion

In NHIV patients, PCP prophylaxis strategies have been inspired by data from HIV and based on CD4 or total lymphocytes counts. Value limits such as 200 CD4/mm³ and total lymphocyte count less than 600/mm³ have been suggested (11). Our study demonstrates that in AD and other NHIV, total lymphocyte and CD4 counts are not reliable tools to guide prophylaxis. A majority (60%) of AD with PCP infection had more than 600 lymphocytes/mm³ and 300 CD4/mm³. CD4 counts were normal (>450/mm³) in 25% of the cases. Contradictory results are found in the literature with lower CD4 values (10)(2). Of note, these two studies did not include qPCR in the diagnostic criteria. This technique could be very useful, as most of the PCP in AD showed negative ME. Combined diagnosis

strategies using clinical and radiological criteria has demonstrated improved sensitivity and specificity for PCP diagnosis (12).

The difficulties to delineate the target population for prophylaxis are emphasized by the extreme heterogeneity in NHIV patients. Even if CD4 and lymphocyte counts are comparable among AD and NHIV patients, the risk factors such as corticosteroid exposure, immunosuppressive treatments, and presence of an underlying lung-disease are different. To our knowledge, only one study has compared AD patients to NHIV patients but CD4 counts were not assessed in this study and sample size was small (n=11) (13). Not only did NHIV patients constitute a heterogeneously presenting population, but underlying conditions in AD demonstrated extreme diversity. Of 27 AD cases, we identified no less than 14 different autoimmune or inflammatory pathologies. Rheumatoid arthritis (RA) was the most frequent disease in our study. Although frequently described in the literature, no patients with lupus or inflammatory bowel disease were identified in our cohort (1).

One of the main limitations of our study is that we only studied patients who developed an active PCP infection - meaning that the highest risk patients, such as those with ANCA vasculitis, periarteritis nodosa or a low CD4 count ($<200/\text{mm}^3$) could not contract PCP, as systematic prophylaxis is consensual in these particular populations (1). In fact, we identified only three patients with ANCA vasculitis in our cohort. In our study, prophylaxis appeared very effective as evidenced by the fact that only one patient developed PCP while receiving prophylactic treatment. It is worth noting that Rituximab was one of the most prescribed immunosuppressive treatments in our cohort and has well-known pleiotropic effects on the immune system. However, there is an ongoing controversy regarding the risk for PCP infection while receiving anti-CD20 therapy.

Furthermore, clear recommendations about systematic prophylaxis under Rituximab are lacking (18). In our study, no patients had previous exposure to anti-TNF agents, and only one patient received anti-IL6 therapy (Tocilizumab). This confirms that cytokine-targeted therapies may be less risky (14) than other immunosuppressors and CD-20 depletion therapy like Rituximab.

We observed that PCP is still a potentially fatal disease, particularly for patients with AD. The prognosis was worse compared to HIV patients, and a positive ME was associated with higher mortality for patients with AD. This is in contrast to the better prognosis in HIV patients despite a high frequency of positive ME. The difference in severity could be explained by age and a higher incidence of comorbidities in AD patients (15), as well as the increased prevalence of inflammatory lung damage with a PCP infection (16). Surprisingly, the prognosis did not change in AD patients with lower CD4 levels, while the majority of patients had CD4 counts $>300/\text{mm}^3$.

These data suggest that the risk of immunosuppression is not limited to lymphopenia. In addition, other factors of immunity may be altered including B cells. Murine B-cells exposed to anti-CD20 treatment are unable to respond against *Pneumocystis*, suggesting a critical role in the generation of protective CD4 T-cell responses (17). Furthermore, PCP can be the initial manifestation of several primary humoral immunodeficiencies such as X-linked agammaglobulinemia or common variable immunodeficiency (19). Such PCP infections are rarely described during follow-up, suggesting a protective role of immunoglobulin supplementation. Moreover, CD40 and CD40 ligand deficiency both present higher risk of PCP, demonstrating that lymphocyte cooperation is essential for the production of high affinity immunoglobulins. These fundamental aspects of humoral and cellular immunity against *Pneumocystis jirovecii* are

often impaired in AD by the underlying disease or iatrogenic immunosuppression, but first and foremost by corticosteroids (20). Since AD patients have multiple alterations to the immune system, it cannot be summarized with a single CD4-count.

Conclusion

Contrary to HIV, PCP can occur in NHIV patients even with normal total lymphocyte or CD4 counts. PCP prognosis is more severe in NHIV patients, especially those with AD. Taken together, the CD4 count should not be the guiding factor for prophylaxis in AD patients receiving corticosteroids or immunosuppressive drugs; and positive ME should be recognized as a key factor since it carries a worsened prognosis for PCP.

Key messages

- PCP can occur with normal CD4 count in AD and other NHIV patients.
- Guidelines for PCP prophylaxis in AD cannot rely solely on CD4 count.
- Corticosteroid (>40mg/day) and positive microscopic exam are independent risk factors for fatal prognosis in AD.

Acknowledgements

We thank JetPub Scientific Communications for English language editing and helpful comments.

Conflicts of interest statement

Authors declare no conflict of interest.

References:

1. Fillatre P, Decaux O, Jouneau S, Revest M, Gacouin A, Robert-Gangneux F, et al. Incidence of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia among groups at risk in HIV-negative patients. *Am J Med.* dec 2014;127(12):1242.e11-17.
2. Roux A, Canet E, Valade S, Gangneux-Robert F, Hamane S, Lafabrie A, et al. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with or without AIDS, France. *Emerg Infect Dis.* sept 2014;20(9):1490-7.
3. Stern A, Green H, Paul M, Vidal L, Leibovici L. Prophylaxis for *Pneumocystis pneumonia* (PCP) in non-HIV immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev.* 1 oct 2014;(10):CD005590.
4. Cettomai D, Gelber AC, Christopher-Stine L. A survey of rheumatologists' practice for prescribing *pneumocystis* prophylaxis. *J Rheumatol.* apr 2010;37(4):792-9.
5. Guidelines on Post-Exposure Prophylaxis for HIV and the Use of Co-Trimoxazole Prophylaxis for HIV-Related Infections Among Adults, Adolescents and Children: Recommendations for a Public Health Approach: December 2014 supplement to the 2013 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Geneva: World Health Organization; 2014. (WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee). available on: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK298964/>
6. Sowden E, Carmichael AJ. Autoimmune inflammatory disorders, systemic corticosteroids and *pneumocystis pneumonia*: a strategy for prevention. *BMC Infect Dis.* 16 oct 2004;4:42.
7. Limper AH, Knox KS, Sarosi GA, Ampel NM, Bennett JE, Catanzaro A, et al. An official American Thoracic Society statement: Treatment of fungal infections in adult pulmonary and critical care patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 jan 2011;183(1):96-128.
8. Bozzette SA, Finkelstein DM, Spector SA, Frame P, Powderly WG, He W, et al. A randomized trial of three antipneumocystis agents in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. NIAID AIDS Clinical Trials Group. *N Engl J Med.* 16 march 1995;332(11):693-9.
9. Overgaard UM, Helweg-Larsen J. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PCP) in HIV-1-negative patients: a retrospective study 2002-2004. *Scand J Infect Dis.* 2007;39(6-7):589-95.
10. Mansharamani NG, Balachandran D, Vernovsky I, Garland R, Koziel H. Peripheral blood CD4 + T-lymphocyte counts during *Pneumocystis carinii* pneumonia in immunocompromised patients without HIV infection. *Chest.* sept 2000;118(3):712-20.
11. Tadros S, Teichtahl AJ, Ciciriello S, Wicks IP. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in

systemic autoimmune rheumatic disease: A case-control study. *Semin Arthritis Rheum.* 28 sept 2016;

12. Robert-Gangneux F, Belaz S, Revest M, Tattevin P, Jouneau S, Decaux O, et al. Diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in immunocompromised patients by real-time PCR: a 4-year prospective study. *J Clin Microbiol.* sept 2014;52(9):3370-6.

13. Teichtahl AJ, Morrisroe K, Ciciriello S, Jennens I, Tadros S, Wicks I. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in connective tissue diseases: Comparison with other immunocompromised patients. *Semin Arthritis Rheum.* aug 2015;45(1):86-90.

14. Bruce ES, Kearsley-Fleet L, Watson KD, Symmons DPM, Hyrich KL. Risk of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with rheumatoid arthritis treated with inhibitors of tumour necrosis factor α : results from the British Society for Rheumatology Biologics Register for Rheumatoid Arthritis. *Rheumatol Oxf Engl.* july 2016;55(7):1336-7.

15. Kim SJ, Lee J, Cho Y-J, Park YS, Lee C-H, Yoon HI, et al. Prognostic factors of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients without HIV infection. *J Infect.* july 2014;69(1):88-95.

16. Limper AH, Offord KP, Smith TF, Martin WJ. *Pneumocystis carinii* pneumonia. Differences in lung parasite number and inflammation in patients with and without AIDS. *Am Rev Respir Dis.* nov 1989;140(5):1204-9.

17. Elsegeiny W, Eddens T, Chen K, Kolls JK. Anti-CD20 antibody therapy and susceptibility to *Pneumocystis* pneumonia. *Infect Immun.* may 2015;83(5):2043-52.

18. Barreto JN, Ice LL, Thompson CA, Tosh PK, Osmon DR, Dierkhising RA, et al. Low incidence of *pneumocystis* pneumonia utilizing PCR-based diagnosis in patients with B-cell lymphoma receiving rituximab-containing combination chemotherapy. *Am J Hematol.* nov 2016;91(11):1113-7.

19. Lanternier F, Cypowyj S, Picard C, Bustamante J, Lortholary O, Casanova J-L, et al. Primary immunodeficiencies underlying fungal infections. *Curr Opin Pediatr.* dec 2013;25(6):736-47.

20. Baschant U, Lane NE, Tuckermann J. The multiple facets of glucocorticoid action in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* nov 2012;8(11):645-55.

Table 1: PCP patient characteristics

	HIV n=37	AD n=27	NHIV n=65	AD vs HIV p-value	AD vs NHIV p-value
Median Age (years)	45 (8.16)	71 (12.65)	62 (13.06)	<0.0001	0.018
Sex ratio (M/W)	4.3	1.1	2.1	0.0127	0.16
Biological parameters (mean value) :					
Hemoglobin (g/dL)	11.29 (1.88)	11.62 (1.73)	10.36 (1.88)	0.4754	0.0036
Polynuclear cells (/mm ³)	6441 (5883)	7660 (3340)	5601 (4082)	0.3381	0.0231
Creatinine (μmol/L)	61.4 (17.26)	119.4 (108.4)	147 (153.9)	0.0021	0.3992
Gamma globulin (g/L)	18.4 (6.98)	7.41 (4.27)	7.18 (4.50)	<0.0001	0.8392
Albumin (g/L)	28.6 (6.09)	30.8 (5.70)	31.9 (6.66)	0.1839	0.4997
CRP (mg/L)	77 (92.51)	102.3 (67.57)	118.3 (88.93)	0.2450	0.4140
Underlying lung disease, n (%)	1 (2.7%)	12 (44%)	13 (20%)	<0.0001	0.0164
Corticosteroid exposure, n (%)	-	26 (97%)	37 (57%)	-	<0.0001
Median CS dose (mg)	-	22.5 (23.16)	7.5 (32.74)	-	0.8700
CS ≥ 20mg, n (%)	-	17 (62.9%)	13 (35.1%)	-	0.0420
CS ≥ 40mg, n (%)	-	10 (37%)	11 (31.4%)	-	0.6000
CS alone, n (%)	-	6 (22.2%)	4 (6.2%)	-	0.0691
Median exposure to CS (months)	-	6 (206)	17 (217)	-	0.6900
Immunosuppressive drug exposure, n (%)					
Chemotherapy	-	-	20 (30.7%)	-	0.0005
Rituximab	-	7 (25.9%)	10 (15.4%)	-	0.2355
Cyclophosphamide	-	3 (11.1%)	3 (4.6%)	-	0.2505
Anti-Metabolite (AZA, MTX)	-	13 (40.7%)	3 (4.6%)	-	<0.0001
Anti-Calcieneurin	-	1 (3.7%)	25 (38.5%)	-	0.0007
Other biologics	-	1 (3.7%)	-	-	0.1187
Lymphocyte count (/mm³)					
Median (SD)	595 (582)	680 (856)	480 (784)	0.3601	0.1630
Range	[100-2640]	[120-4300]	[50-4120]	-	-
Ly > 600/mm ³ , n (%)	18 (48.6%)	17 (63%)	25 (41%)	0.2559	0.0569
Ly > 1200/mm ³ , n (%)	7 (18.9%)	5 (18.5%)	5 (8.2%)	0.9677	0.1594
CD4 count (/mm³)					
Number of CD4-count available	n=36	n=20	n=39		
Median (SD)	18.5 (62.86)	302 (280.1)	236 (234.8)	<0.0001	0.2200
Range	[0-268]	[12-1202]	[7-1138]	-	-
CD4 > 200/mm ³ , n (%)	2 (5.5%)	14 (70%)	21 (54%)	<0.0001	0.2318
CD4 > 300/mm ³ , n (%)	-	10 (50%)	14 (36%)	-	0.2966
CD4 > 450/mm ³ , n (%)	-	5 (25%)	8 (20.5%)	-	0.6938
CD4/CD8, mean (SD)	0.15 (0.28)	3.6 (7.78)	1.7 (1.62)	0.0087	0.1700
PCP prophylaxis, n (%)	-	1 (3.7%)	-	0.2380	0.2900
PCR value (copies/mL)					
Median	513000	44050	20725	0.0432	0.7857
SD	(2.7x10 ⁷)	(2.5x10 ⁶)	(2.8x10 ⁶)		
Range	[1510-1x10 ⁸]	[1080-1x10 ⁷]	[1120-2x10 ⁷]		
Positive microscopic examination, n (%) (pneumocystosis-specific)	28 (75.7%)	8 (29.6%)	18 (27.1%)	0.0002	0.8509
Clinical progression, n (%)					
Intensive care unit	13 (35.1%)	15 (55.5%)	26 (40%)	0.1039	0.1717
Orotracheal intubation	8 (21.6%)	9 (33.3%)	12 (18.5%)	0.2948	0.1217
3-months mortality after PCP	7 (18.9%)	12 (44.4%)	17 (26.1%)	0.0273	0.0855

Legend: PCP: *Pneumocystis pneumonia*; ME: microscopic examination; CS: corticosteroid; AZA: azathioprine; MTX: methotrexate; AD: auto-immune and inflammatory diseases; NHIV: non-HIV; SD: standard deviation

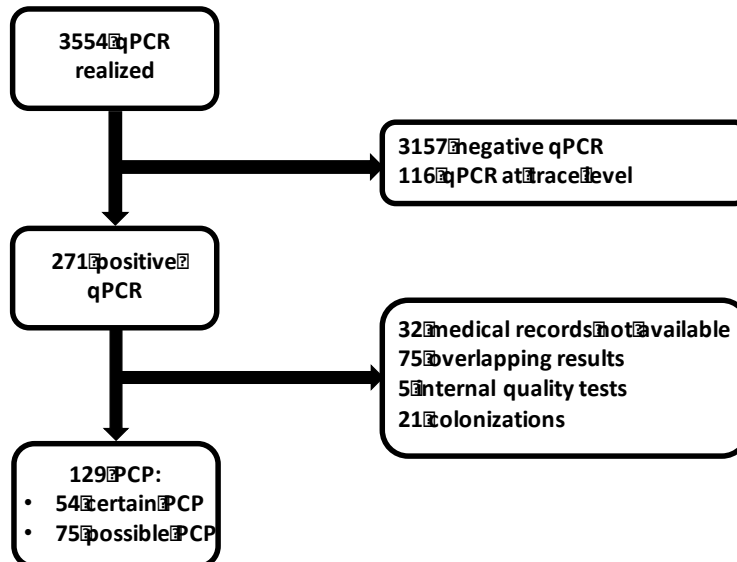
Table 2: Univariate and multivariate analyses of risk factors for mortality during *Pneumocystis pneumonia* in AD patients

	Case: death (% of total cases)	Control: survival (% of total control)	Univariate analysis OR [95%CI], p	Multivariate analysis OR [95%CI], p
Sex (male)	7 (58.3%)	7 (46.6%)	1.60 [0.35-7.40] p=0.55	-
Age:				
> 65 years	5 (41.6%)	12 (80%)	0.18 [0.03-0.98] p=0.04	0.29[0.04-2.15] p=0.30
> 75 years	1 (8.3%)	5 (33.3%)	0.25 [0.05-1.25] p=0.08	-
Active AD	5 (41.6%)	4 (26.6%)	1.96[0.39-9.94] p=0.41	-
Underlying lung disease	6 (50%)	6 (40%)	1.50 [0.32-6.95] p=0.60	-
Positive ME (PCP-specific)	7 (58.3%)	1 (6.6%)	19.60 [1.90-201.70] p=0.003	21.28[1.56-894.26] p=0.002
Bacterial or viral Co-infection	5 (41.6%)	3 (20%)	2.86 [0.52-15.77] p=0.22	-
Lymphocyte count:				
<600/mm ³	4 (33.3%)	5 (33.3%)	1 [0.20-5.01] p=1.00	-
<400/mm ³	3 (25%)	2 (13.3%)	2.17[0.30-15.71] p=0.44	-
CD4 count:				
<300/mm ³	7 (58.3%)	3 (20%)	5.44[0.80-36.88] p=0.07	-
<200/mm ³	5 (41.6%)	1 (6.6%)	9 [0.81-100] p= 0.06	-
<100/mm ³	4 (33.3%)	1 (6.6%)	6[0.53-58] p= 0.12	-
CS exposure:				
>20mg/day	10 (83.3%)	7 (46.6%)	5 [0.79-32] p=0.07	-
>40mg/day	9 (75%)	4 (26.6%)	7.5 [1.3-43] p=0.02	7.6[1.03-99.18]p=0.01
>1 month	11 (91.6%)	13 (86.6%)	0.28 [0.01-7.7] p=0.29	-
>3 months	8 (66.6%)	12 (80%)	0.17 [0.016-1.8] p=0.11	-
>1 year	2 (16.6%)	7 (46.6%)	0.17 [0.026-1.1] p=0.06	-
Immunosuppressive drug exposure:				
Rituximab	3 (25%)	4 (26.6%)	0.92 [0.16-5.2] p=0.92	-
Methotrexate	2 (16.6%)	7 (46.6%)	0.23 [0.04-1.40] p=0.10	-
Clinical progression:				
Intensive Care Unit	9 (75%)	7 (46.6%)	3.4 [0.66-18] p=0.14	-
OTI	7 (58.3%)	2 (13.3%)	9.1 [1.4-60] p=0.01	1.78[0.17-18.75] p=0.61

Legend: OR: Odds ratio; CI: confidence intervals; p: p-value; ME: microscopic examination; CS: Corticosteroid; OTI: OroTracheal Intubation

Supplementary figure 1: Flowchart of the study

Between January 2013 and January 2016:



Supplementary Table 1: Characteristics of autoimmune and inflammatory disease patients

Patient	Sex	Age ¹ (years)	AD	Duration ² (months)	Lung ³ disease	Active ⁴ AD	CS ⁵ dosage ⁶ (mg/day)	CS ⁵ duration ⁷ (months)	IS ⁸ exposure	Ly ⁹ count ¹⁰ /mm ³	CD4 ¹¹ count ¹² /mm ³	Prophylaxis	BAL	PCP	Coinfection	ICU	OTI	3-month mortality
1	W	76	RA	69	-	Yes	NA	NA	MTX	400	359	-	-	possible	-	-	-	-
2	M	56	RA	342	-	-	9	288	MTX	630	12	-	-	possible	-	Yes	-	-
3	M	64	RA	332	-	-	40	2	CYC/RTX	160	62	-	-	possible	S. aureus	Yes	Yes	Yes
4	M	71	RA	274	-	-	7	198	MTX/RTX	910	208	-	-	possible	-	-	-	-
5	M	73	RA	-	Yes	Yes	5	-	MTX	1360	282	-	-	possible	Influenza virus	-	-	-
6	W	47	RA	111	-	Yes	40	2	-	4300	95	-	-	possible	Influenza virus	-	-	Yes
7	M	57	ANCA vasculitis	7	Yes	-	80	6	CYC	1170	186	-	Yes	certain	P. aeruginosa	-	-	Yes
8	W	53	ANCA vasculitis	18	Yes	-	45	18	MTX	670	390	-	Yes	possible	-	-	Yes	-
9	M	73	ANCA vasculitis	191	Yes	-	10	191	AZA	1110	582	-	Yes	possible	-	-	-	-
10	W	78	Giant-cell arteritis	28	-	-	20	4	MTX	560	ND	-	-	possible	H. influenzae	Yes	-	-
11	W	86	Giant-cell arteritis	3	-	Yes	40	3	-	640	240	-	-	possible	-	-	-	Yes
12	M	89	Giant-cell arteritis	75	Yes	-	2	75	MTX/TOCI	1020	655	-	-	possible	-	-	-	-
13	M	71	Type II cryoglobulinemia	5	Yes	-	60	3	-	118	26	Pentamidine	Yes	certain	-	Yes	Yes	Yes
14	M	51	Type II cryoglobulinemia	6	-	-	30	6	RTX	430	ND	-	-	possible	-	-	-	-
15	W	65	Type II cryoglobulinemia	3	-	-	30	3	RTX	310	322	-	-	possible	-	-	-	-
16	W	57	Dermatomyositis	1	Yes	Yes	80	1	AZA	856	532	-	Yes	certain	-	Yes	Yes	Yes
17	W	72	Dermatomyositis	58	Yes	Yes	5	20	-	1430	599	-	Yes	possible	-	Yes	-	-
18	M	64	Autoimmune hepatitis	3	-	-	40	3	AZA	550	ND	-	Yes	certain	-	Yes	Yes	Yes
19	M	66	Autoimmune hepatitis	8	-	Yes	20	8	AZA	130	ND	-	Yes	certain	E. coli	Yes	Yes	Yes
20	M	69	Glomerulonephropathy	3	-	Yes	20	3	ACN	500	ND	-	-	certain	A. baumannii	Yes	Yes	-
21	M	32	Neurosarcoidosis	4	Yes	-	60	3	MTX	680	62	-	Yes	certain	-	Yes	-	Yes
22	W	72	Spondyloarthritis	225	Yes	-	5	221	MTX	840	257	-	Yes	certain	-	Yes	Yes	Yes
23	W	71	Autoimmune hemolytic anemia	15	-	-	60	2	RTX	750	369	-	-	possible	S. pneumoniae	Yes	Yes	Yes
24	M	85	Acquired hemophilia	3	-	-	25	3	RTX	710	342	-	-	possible	-	-	-	-
25	W	71	Myasthenia gravis	50	-	-	20	47	MMF	1510	ND	-	-	possible	-	Yes	-	-
26	W	79	Interstitial pneumonia	55	Yes	-	15	6	-	2620	ND	-	Yes	possible	-	Yes	-	-
27	M	61	Systemic sclerosis	64	Yes	Yes	10	60	CYC/RTX	489	392	-	Yes	possible	-	Yes	-	Yes

M: Man; W: Woman; RA: Rheumatoid arthritis; IS: Immunosuppressive treatment; Ly: Lymphocyte; CS: Corticosteroid; MTX: Methotrexate; RTX: Rituximab; CYC: Cyclophosphamide; AZA: Azathioprine; TOCI: Tocilizumab; ACN: Anticalcineurin; MMF: Mycophenolate mofetil; ICU: Intensive Care Unit; OTI: Orotracheal-Intubation; BAL: Broncho-Alveolar Lavage

Supplementary method

Specimen processing and analysis:

The samples were treated in the Mycology Laboratory of Bordeaux University Hospital. All respiratory specimens, with the exception of BAL, were diluted 1:1 (v/v) in a 7.5% Sputasol solution (Oxoid), vortexed, and incubated for 30 minutes at 37°C. After centrifugation (2800g, 10 min), the pellet was resuspended in 500 µL of the supernatant, and two drops were spotted on two slides for microscopy, and 200 µL was used for PCR. One slide was subjected to May-Grünwald-Giemsa staining, and the other to silver staining (1). Both were examined by experienced microscopists for the presence of asci and/or other trophic forms. DNA extraction of 200 µmol was performed on MagNa Pure 96 (Roche Diagnostics), PCR amplification on MagNa 480 (Roche Diagnostics) using a LightMix *Pneumocystis jirovecii* kit (TIB MOLBIOL) according to the manufacturer's instructions. The target gene was a multi-copy gene coding for Major Surface Glycoprotein (216-240 base pairs).

1. Musto L, Flanigan M, Eldabawi A. Ten-minute silverstain for *P. carinii* and fungi in tissue sections. Arch Pathol Lab Med 1982 ; 106 : 292-94.

5. Conclusion

Chez des patients au système immunitaire perturbé à la fois par la MAI et les thérapeutiques immunosuppressives, l'immunodéficience ne peut se résumer à un taux de lymphocytes ou de CD4. Cette notion est confirmée par notre étude qui retrouve une majorité de PCP survenant au delà de 200/mm³ CD4. La rareté des MAI et de ce type d'infection opportuniste, ainsi que la gravité de la PCP rendent très difficile la conception d'un essai randomisé évaluant des stratégies de prophylaxies. Il est donc important de poursuivre des études sur des populations homogènes de patients en séparant les MAI des autres pathologies non-VIH.

Les enseignements à tirer de ce travail sont multiples :

- Devant un tableau clinique cohérent sur un terrain compatible, il faut savoir évoquer la PCP quel que soit le taux de CD4 ou de lymphocytes puis l'éliminer ou la confirmer avec les moyens techniques adaptés.
- La mise en place d'une prophylaxie anti-*Pneumocystis* doit être le fruit d'une réflexion intégrative prenant en compte les différents facteurs de risque de PCP retrouvés au cas par cas.
- Un certain nombre de situations doivent appeler à la prescription systématique d'une prophylaxie :
 - Lymphopénie CD4 <200/mm³ associée à un traitement par CTC ou IS
 - Vascularites à ANCA et périartérite noueuse tant qu'une CTC ou qu'un traitement IS est prescrit (même le Rituximab en entretien)
 - Dermatomyosites en cas de corticothérapie >20mg/jour
 - Association de plus de deux IS

- La CTC doit être considérée comme un traitement immunosuppresseur à part entière.
- La prophylaxie primaire doit être maintenue si l'immunosuppression iatrogène est toujours en cours quel que soit le taux de CD4.
- Le TMP-SMX est la molécule de choix (a fortiori au cours de la GPA), les aérosols de Pentamidine doivent être évités si possible.
- En cas de négativité de l'examen direct, La PCR quantitative doit être interprétée en fonction du contexte clinique et de la qualité du prélèvement.
- La positivité de l'examen direct est un critère de gravité ainsi que la présence d'une corticothérapie supérieure à 40mg/jour.
- Une prophylaxie secondaire doit être prescrite après un épisode de PCP quel que soit le taux de CD4, et maintenue tant que l'immunosuppression est en cours.

6. Bibliographie

1. Bienvenu A-L, Traore K, Plekhanova I, Bouchrik M, Bossard C, Picot S. Pneumocystis pneumonia suspected cases in 604 non-HIV and HIV patients. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. mai 2016;46:11-7.
2. Hughes WT, Kuhn S, Chaudhary S, Feldman S, Verzosa M, Aur RJ, et al. Successful chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonitis. *N Engl J Med*. 29 déc 1977;297(26):1419-26.
3. Stern A, Green H, Paul M, Vidal L, Leibovici L. Prophylaxis for *Pneumocystis pneumonia* (PCP) in non-HIV immunocompromised patients. *Cochrane Database Syst Rev*. 1 oct 2014;(10):CD005590.
4. Masur H, Brooks JT, Benson CA, Holmes KK, Pau AK, Kaplan JE, et al. Prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: Updated Guidelines from the Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health, and HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. mai 2014;58(9):1308-11.
5. Chapman JR. The KDIGO clinical practice guidelines for the care of kidney transplant recipients. *Transplantation*. 27 mars 2010;89(6):644-5.
6. Maertens J, Cesaro S, Maschmeyer G, Einsele H, Donnelly JP, Alanio A, et al. ECIL guidelines for preventing *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother*. sept 2016;71(9):2397-404.
7. Mansharamani NG, Balachandran D, Vernovsky I, Garland R, Koziel H. Peripheral blood CD4 + T-lymphocyte counts during *Pneumocystis carinii* pneumonia in immunocompromised patients without HIV infection. *Chest*. sept 2000;118(3):712-20.
8. Edman JC, Kovacs JA, Masur H, Santi DV, Elwood HJ, Sogin ML. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. *Nature*. 11 août 1988;334(6182):519-22.
9. Joffrion TM, Cushion MT. Sterol biosynthesis and sterol uptake in the fungal pathogen *Pneumocystis carinii*. *FEMS Microbiol Lett*. oct 2010;311(1):1-9.
10. Gigliotti F, Harmsen AG, Haidaris CG, Haidaris PJ. *Pneumocystis carinii* is not universally transmissible between mammalian species. *Infect Immun*. juill 1993;61(7):2886-90.
11. Wakefield AE, Stringer JR, Tamburrini E, Dei-Cas E. Genetics, metabolism and host specificity of *Pneumocystis carinii*. *Med Mycol*. 1998;36 Suppl 1:183-93.
12. Jirovec O. *Pneumocystis carinii*, as the agent of interstitial plasma cell pneumonia in man. *Bol Inst Pueric*. avr 1964;21:5-16.
13. Gigliotti F. *Pneumocystis carinii* nomenclature: response to Cushion and Stringer. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 avr 2006;42(8):1208-9.
14. Gigliotti F, Limper AH, Wright T. *Pneumocystis*. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 3 nov 2014;4(12):a019828.
15. Aliouat-Denis C-M, Chabé M, Demanche C, Aliouat EM, Viscogliosi E, Guillot J, et al. *Pneumocystis* species, co-evolution and pathogenic power. *Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis*. sept 2008;8(5):708-26.
16. Wyder MA, Rasch EM, Kaneshiro ES. Quantitation of absolute *Pneumocystis carinii* nuclear DNA content. Trophic and cystic forms isolated from infected rat lungs are haploid organisms. *J Eukaryot Microbiol*. juin 1998;45(3):233-9.
17. Thomas CF, Limper AH. Current insights into the biology and pathogenesis of

Pneumocystis pneumonia. *Nat Rev Microbiol.* avr 2007;5(4):298-308.

18. Vanek J, Jirovec O. [Parasitic pneumonia. Interstitial plasma cell pneumonia of premature, caused by pneumocystis Carinii]. *Zentralblatt Bakteriell Parasitenkd Infekt Hyg Zweite Naturwissenschaftliche Abt Allg Landwirtsch Tech Mikrobiol.* 12 mai 1952;158(1-2):120-7.

19. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pneumocystis pneumonia--Los Angeles. 1981. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 30 août 1996;45(34):729-33.

20. Ponce CA, Gallo M, Bustamante R, Vargas SL. Pneumocystis colonization is highly prevalent in the autopsied lungs of the general population. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 févr 2010;50(3):347-53.

21. Morris A, Norris KA. Colonization by *Pneumocystis jirovecii* and its role in disease. *Clin Microbiol Rev.* avr 2012;25(2):297-317.

22. Mekinian A, Durand-Joly I, Hatron P-Y, Moranne O, Denis G, Dei-Cas E, et al. *Pneumocystis jirovecii* colonization in patients with systemic autoimmune diseases: prevalence, risk factors of colonization and outcome. *Rheumatol Oxf Engl.* mars 2011;50(3):569-77.

23. Morris A, Wei K, Afshar K, Huang L. Epidemiology and clinical significance of pneumocystis colonization. *J Infect Dis.* 1 janv 2008;197(1):10-7.

24. Valade S, Azoulay E, Damiani C, Derouin F, Totet A, Menotti J. *Pneumocystis jirovecii* airborne transmission between critically ill patients and health care workers. *Intensive Care Med.* sept 2015;41(9):1716-8.

25. Pifer LL, Hughes WT, Stagno S, Woods D. *Pneumocystis carinii* infection: evidence for high prevalence in normal and immunosuppressed children. *Pediatrics.* janv 1978;61(1):35-41.

26. Keely SP, Stringer JR. Multi-locus genotype switching in *Pneumocystis carinii* sp. f. *hominis*: evidence for reinfection. *J Eukaryot Microbiol.* oct 1996;43(5):50S.

27. Yiannakis EP, Boswell TC. Systematic review of outbreaks of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: evidence that *P. jirovecii* is a transmissible organism and the implications for healthcare infection control. *J Hosp Infect.* mai 2016;93(1):1-8.

28. Gianella S, Haeberli L, Joos B, Ledergerber B, Wüthrich RP, Weber R, et al. Molecular evidence of interhuman transmission in an outbreak of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia among renal transplant recipients. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc.* févr 2010;12(1):1-10.

29. Fréal E, Valade S, Guigue N, Hamane S, Chabé M, Le Gal S, et al. Diffusion of *Pneumocystis jirovecii* in the surrounding air of patients with *Pneumocystis* colonization: frequency and putative risk factors. *Med Mycol.* 2 nov 2016;

30. Catherinot E, Lanternier F, Bougnoux M-E, Lecuit M, Couderc L-J, Lortholary O. *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *Infect Dis Clin North Am.* mars 2010;24(1):107-38.

31. Carmona EM, Limper AH. Update on the diagnosis and treatment of *Pneumocystis* pneumonia. *Ther Adv Respir Dis.* févr 2011;5(1):41-59.

32. Enomoto T, Azuma A, Kohno A, Kaneko K, Saito H, Kametaka M, et al. Differences in the clinical characteristics of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in immunocompromised patients with and without HIV infection. *Respirol Carlton Vic.* janv 2010;15(1):126-31.

33. Kanne JP, Yandow DR, Meyer CA. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: high-resolution CT findings in patients with and without HIV infection. *AJR Am J Roentgenol.* juin 2012;198(6):W555-561.

34. Mu X-D, Jia P, Gao L, Su L, Zhang C, Wang R-G, et al. Relationship between Radiological Stages and Prognoses of *Pneumocystis* Pneumonia in Non-AIDS

Immunocompromised Patients. *Chin Med J (Engl)*. sept 2016;129(17):2020-5.

35. Pierre-Louis N, Dlugos B. A rare cause of cavitary lung lesions. *JAAPA Off J Am Acad Physician Assist*. janv 2017;30(1):28-31.

36. Demirkazik FB, Akin A, Uzun O, Akpınar MG, Ariyürek MO. CT findings in immunocompromised patients with pulmonary infections. *Diagn Interv Radiol Ank Turk*. juin 2008;14(2):75-82.

37. Zhou Y, Shetty J, Pins MR. Small-intestine pneumocystis jiroveci pseudotumor as an acquired immunodeficiency syndrome-presenting illness: report of a case and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med*. sept 2012;136(9):1001-3.

38. Zavascki AP, Maia AL, Goldani LZ. Pneumocystis jiroveci thyroiditis: report of 15 cases in the literature. *Mycoses*. nov 2007;50(6):443-6.

39. Roux A, Canet E, Valade S, Gangneux-Robert F, Hamane S, Lafabrie A, et al. Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with or without AIDS, France. *Emerg Infect Dis*. sept 2014;20(9):1490-7.

40. Fillatre P, Chevrier S, Revest M, Gacouin A, Jouneau S, Leroy H, et al. Human herpes virus co-infection is associated with mortality in HIV-negative patients with Pneumocystis jirovecii pneumonia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. févr 2013;32(2):189-94.

41. Arend SM, Kroon FP, van't Wout JW. Pneumocystis carinii pneumonia in patients without AIDS, 1980 through 1993. An analysis of 78 cases. *Arch Intern Med*. 11 déc 1995;155(22):2436-41.

42. Zahar JR, Robin M, Azoulay E, Fieux F, Nitenberg G, Schlemmer B. Pneumocystis carinii pneumonia in critically ill patients with malignancy: a descriptive study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 oct 2002;35(8):929-34.

43. Festic E, Gajic O, Limper AH, Aksamit TR. Acute respiratory failure due to pneumocystis pneumonia in patients without human immunodeficiency virus infection: outcome and associated features. *Chest*. août 2005;128(2):573-9.

44. Guo F, Chen Y, Yang S-L, Xia H, Li X-W, Tong Z-H. Pneumocystis pneumonia in HIV-infected and immunocompromised non-HIV infected patients: a retrospective study of two centers in China. *PloS One*. 2014;9(7):e101943.

45. Limper AH, Offord KP, Smith TF, Martin WJ. Pneumocystis carinii pneumonia. Differences in lung parasite number and inflammation in patients with and without AIDS. *Am Rev Respir Dis*. nov 1989;140(5):1204-9.

46. Thomas CF, Limper AH. Current insights into the biology and pathogenesis of Pneumocystis pneumonia. *Nat Rev Microbiol*. avr 2007;5(4):298-308.

47. Brownback KR, Thomas LA, Simpson SQ. Role of bronchoalveolar lavage in the diagnosis of pulmonary infiltrates in immunocompromised patients. *Curr Opin Infect Dis*. août 2014;27(4):322-8.

48. Flori P, Belleste B, Durand F, Raberin H, Cazorla C, Hafid J, et al. Comparison between real-time PCR, conventional PCR and different staining techniques for diagnosing Pneumocystis jiroveci pneumonia from bronchoalveolar lavage specimens. *J Med Microbiol*. juill 2004;53(Pt 7):603-7.

49. Svensson T, Lundström KL, Höglund M, Cherif H. Utility of bronchoalveolar lavage in diagnosing respiratory tract infections in patients with hematological malignancies: are invasive diagnostics still needed? *Ups J Med Sci*. mars 2017;122(1):56-60.

50. Sato M, Ito S, Ogura M, Kamei K, Miyairi I, Miyata I, et al. Atypical Pneumocystis jiroveci pneumonia with multiple nodular granulomas after rituximab for refractory nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol Berl Ger*. janv 2013;28(1):145-9.

51. Azoulay E, Bergeron A, Chevret S, Bele N, Schlemmer B, Menotti J. Polymerase chain reaction for diagnosing pneumocystis pneumonia in non-HIV immunocompromised patients with pulmonary infiltrates. *Chest*. mars 2009;135(3):655-61.
52. Alanio A, Hauser PM, Lagrou K, Melchers WJG, Helweg-Larsen J, Matos O, et al. ECIL guidelines for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother*. sept 2016;71(9):2386-96.
53. Procop GW, Haddad S, Quinn J, Wilson ML, Henshaw NG, Reller LB, et al. Detection of *Pneumocystis jirovecii* in respiratory specimens by four staining methods. *J Clin Microbiol*. juill 2004;42(7):3333-5.
54. Karageorgopoulos DE, Qu J-M, Korbila IP, Zhu Y-G, Vasileiou VA, Falagas ME. Accuracy of β -D-glucan for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a meta-analysis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. janv 2013;19(1):39-49.
55. Tasaka S, Kobayashi S, Yagi K, Asami T, Namkoong H, Yamasawa W, et al. Serum (1 $\rightarrow$ 3) β -D-glucan assay for discrimination between *Pneumocystis jirovecii* pneumonia and colonization. *J Infect Chemother Off J Jpn Soc Chemother*. nov 2014;20(11):678-81.
56. Wakefield AE, Pixley FJ, Banerji S, Sinclair K, Miller RF, Moxon ER, et al. Detection of *Pneumocystis carinii* with DNA amplification. *Lancet Lond Engl*. 25 août 1990;336(8713):451-3.
57. Ribes JA, Limper AH, Espy MJ, Smith TF. PCR detection of *Pneumocystis carinii* in bronchoalveolar lavage specimens: analysis of sensitivity and specificity. *J Clin Microbiol*. avr 1997;35(4):830-5.
58. Sing A, Trebesius K, Roggenkamp A, Rüssmann H, Tybus K, Pfaff F, et al. Evaluation of diagnostic value and epidemiological implications of PCR for *Pneumocystis carinii* in different immunosuppressed and immunocompetent patient groups. *J Clin Microbiol*. avr 2000;38(4):1461-7.
59. Nevez G, Raccurt C, Vincent P, Jounieaux V, Dei-Cas E. Pulmonary colonization with *Pneumocystis carinii* in human immunodeficiency virus-negative patients: assessing risk with blood CD4+ T cell counts. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. nov 1999;29(5):1331-2.
60. Larsen HH, Masur H, Kovacs JA, Gill VJ, Silcott VA, Kogulan P, et al. Development and evaluation of a quantitative, touch-down, real-time PCR assay for diagnosing *Pneumocystis carinii* pneumonia. *J Clin Microbiol*. févr 2002;40(2):490-4.
61. Fauchier T, Hasseine L, Gari-Toussaint M, Casanova V, Marty PM, Pomares C. Detection of *Pneumocystis jirovecii* by Quantitative PCR To Differentiate Colonization and Pneumonia in Immunocompromised HIV-Positive and HIV-Negative Patients. *J Clin Microbiol*. juin 2016;54(6):1487-95.
62. Zonios DI, Falloon J, Bennett JE, Shaw PA, Chait D, Baseler MW, et al. Idiopathic CD4+ lymphocytopenia: natural history and prognostic factors. *Blood*. 15 juill 2008;112(2):287-94.
63. Duncan RA, von Reyn CF, Alliegro GM, Toossi Z, Sugar AM, Levitz SM. Idiopathic CD4+ T-lymphocytopenia--four patients with opportunistic infections and no evidence of HIV infection. *N Engl J Med*. 11 févr 1993;328(6):393-8.
64. Kanegane H, Nakano T, Shimono Y, Zhao M, Miyawaki T. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia as an atypical presentation of X-linked agammaglobulinemia. *Int J Hematol*. juin 2009;89(5):716-7.
65. Winkelstein JA, Marino MC, Ochs H, Fuleihan R, Scholl PR, Geha R, et al. The X-linked hyper-IgM syndrome: clinical and immunologic features of 79 patients. *Medicine*

(Baltimore). nov 2003;82(6):373-84.

66. Picard C, Casanova J-L, Puel A. Infectious diseases in patients with IRAK-4, MyD88, NEMO, or I κ B α deficiency. *Clin Microbiol Rev.* juill 2011;24(3):490-7.

67. Schimke LF, Rieber N, Rylaarsdam S, Cabral-Marques O, Hubbard N, Puel A, et al. A novel gain-of-function IKBA mutation underlies ectodermal dysplasia with immunodeficiency and polyendocrinopathy. *J Clin Immunol.* août 2013;33(6):1088-99.

68. Su Y-S, Lu J-JJ, Perng C-L, Chang F-Y. Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with and without human immunodeficiency virus infection. *J Microbiol Immunol Infect Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi.* déc 2008;41(6):478-82.

69. Picard C, Fischer A. Hematopoietic stem cell transplantation and other management strategies for MHC class II deficiency. *Immunol Allergy Clin North Am.* mai 2010;30(2):173-8.

70. Imai K, Morio T, Zhu Y, Jin Y, Itoh S, Kajiwarra M, et al. Clinical course of patients with WASP gene mutations. *Blood.* 15 janv 2004;103(2):456-64.

71. Limper AH, Standing JE, Hoyte JS. The role of alveolar macrophages in Pneumocystis carinii elimination from the lower respiratory tract. *J Eukaryot Microbiol.* oct 1996;43(5):12S.

72. Fleury J, Escudier E, Pocholle MJ, Carre C, Bernaudin JF. Cell population obtained by bronchoalveolar lavage in Pneumocystis carinii pneumonitis. *Acta Cytol.* oct 1985;29(5):721-6.

73. Majai G, Kiss E, Tarr T, Zahuczky G, Hartman Z, Szegedi G, et al. Decreased apopto-phagocytic gene expression in the macrophages of systemic lupus erythematosus patients. *Lupus.* févr 2014;23(2):133-45.

74. Ezekowitz RA, Williams DJ, Koziel H, Armstrong MY, Warner A, Richards FF, et al. Uptake of Pneumocystis carinii mediated by the macrophage mannose receptor. *Nature.* 9 mai 1991;351(6322):155-8.

75. Steele C, Marrero L, Swain S, Harmsen AG, Zheng M, Brown GD, et al. Alveolar macrophage-mediated killing of Pneumocystis carinii f. sp. muris involves molecular recognition by the Dectin-1 beta-glucan receptor. *J Exp Med.* 1 déc 2003;198(11):1677-88.

76. Lebron F, Vassallo R, Puri V, Limper AH. Pneumocystis carinii cell wall beta-glucans initiate macrophage inflammatory responses through NF-kappaB activation. *J Biol Chem.* 4 juill 2003;278(27):25001-8.

77. Tachado SD, Zhang J, Zhu J, Patel N, Cushion M, Koziel H. Pneumocystis-mediated IL-8 release by macrophages requires coexpression of mannose receptors and TLR2. *J Leukoc Biol.* janv 2007;81(1):205-11.

78. Hollifield M, Bou Ghanem E, de Villiers WJS, Garvy BA. Scavenger receptor A dampens induction of inflammation in response to the fungal pathogen Pneumocystis carinii. *Infect Immun.* août 2007;75(8):3999-4005.

79. Walsh TJ, Gamaletsou MN. Treatment of fungal disease in the setting of neutropenia. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program.* 2013;2013:423-7.

80. Benfield TL, van Steenwijk R, Nielsen TL, Dichter JR, Lipschik GY, Jensen BN, et al. Interleukin-8 and eicosanoid production in the lung during moderate to severe Pneumocystis carinii pneumonia in AIDS: a role of interleukin-8 in the pathogenesis of P. carinii pneumonia. *Respir Med.* avr 1995;89(4):285-90.

81. Jensen BN, Lisse IM, Gerstoft J, Borgeskov S, Skinhøj P. Cellular profiles in bronchoalveolar lavage fluid of HIV-infected patients with pulmonary symptoms: relation to diagnosis and prognosis. *AIDS Lond Engl.* mai 1991;5(5):527-33.

82. Swain SD, Wright TW, Degel PM, Gigliotti F, Harmsen AG. Neither neutrophils nor reactive oxygen species contribute to tissue damage during Pneumocystis pneumonia in mice.

Infect Immun. oct 2004;72(10):5722-32.

83. Carmona EM, Vassallo R, Vuk-Pavlovic Z, Standing JE, Kottom TJ, Limper AH. Pneumocystis cell wall beta-glucans induce dendritic cell costimulatory molecule expression and inflammatory activation through a Fas-Fas ligand mechanism. J Immunol Baltim Md 1950. 1 juill 2006;177(1):459-67.

84. Garvy BA, Qureshi MH. Delayed inflammatory response to Pneumocystis carinii infection in neonatal mice is due to an inadequate lung environment. J Immunol Baltim Md 1950. 1 déc 2000;165(11):6480-6.

85. Phair J, Muñoz A, Detels R, Kaslow R, Rinaldo C, Saah A. The risk of Pneumocystis carinii pneumonia among men infected with human immunodeficiency virus type 1. Multicenter AIDS Cohort Study Group. N Engl J Med. 18 janv 1990;322(3):161-5.

86. Shellito J, Suzara VV, Blumenfeld W, Beck JM, Steger HJ, Ermak TH. A new model of Pneumocystis carinii infection in mice selectively depleted of helper T lymphocytes. J Clin Invest. mai 1990;85(5):1686-93.

87. Rudner XL, Happel KI, Young EA, Shellito JE. Interleukin-23 (IL-23)-IL-17 cytokine axis in murine Pneumocystis carinii infection. Infect Immun. juin 2007;75(6):3055-61.

88. Beck JM, Blackmon MB, Rose CM, Kimzey SL, Preston AM, Green JM. T cell costimulatory molecule function determines susceptibility to infection with Pneumocystis carinii in mice. J Immunol Baltim Md 1950. 15 août 2003;171(4):1969-77.

89. Rose CM, Kimzey SL, Green JM. The host response of CD28-deficient mice to Pneumocystis infection. Microb Pathog. janv 2006;40(1):23-8.

90. Zwar TD, van Driel IR, Gleeson PA. Guarding the immune system: suppression of autoimmunity by CD4+CD25+ immunoregulatory T cells. Immunol Cell Biol. déc 2006;84(6):487-501.

91. Hori S, Carvalho TL, Demengeot J. CD25+CD4+ regulatory T cells suppress CD4+ T cell-mediated pulmonary hyperinflammation driven by Pneumocystis carinii in immunodeficient mice. Eur J Immunol. mai 2002;32(5):1282-91.

92. McKinley L, Logar AJ, McAllister F, Zheng M, Steele C, Kolls JK. Regulatory T cells dampen pulmonary inflammation and lung injury in an animal model of pneumocystis pneumonia. J Immunol Baltim Md 1950. 1 nov 2006;177(9):6215-26.

93. Wright TW, Gigliotti F, Finkelstein JN, McBride JT, An CL, Harmsen AG. Immune-mediated inflammation directly impairs pulmonary function, contributing to the pathogenesis of Pneumocystis carinii pneumonia. J Clin Invest. nov 1999;104(9):1307-17.

94. Gigliotti F, Crow EL, Bhagwat SP, Wright TW. Sensitized CD8+ T cells fail to control organism burden but accelerate the onset of lung injury during Pneumocystis carinii pneumonia. Infect Immun. nov 2006;74(11):6310-6.

95. Wright TW, Pryhuber GS, Chess PR, Wang Z, Notter RH, Gigliotti F. TNF receptor signaling contributes to chemokine secretion, inflammation, and respiratory deficits during Pneumocystis pneumonia. J Immunol Baltim Md 1950. 15 févr 2004;172(4):2511-21.

96. Kolls JK, Habetz S, Shean MK, Vazquez C, Brown JA, Lei D, et al. IFN-gamma and CD8+ T cells restore host defenses against Pneumocystis carinii in mice depleted of CD4+ T cells. J Immunol Baltim Md 1950. 1 mars 1999;162(5):2890-4.

97. McAllister F, Steele C, Zheng M, Shellito JE, Kolls JK. In vitro effector activity of Pneumocystis murina-specific T-cytotoxic-1 CD8+ T cells: role of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Infect Immun. nov 2005;73(11):7450-7.

98. McAllister F, Mc Allister F, Steele C, Zheng M, Young E, Shellito JE, et al. T cytotoxic-1 CD8+ T cells are effector cells against pneumocystis in mice. J Immunol Baltim Md 1950. 15 janv 2004;172(2):1132-8.

99. Kelly MN, Shellito JE. Current understanding of *Pneumocystis* immunology. *Future Microbiol.* janv 2010;5(1):43-65.
100. Opata MM, Hollifield ML, Lund FE, Randall TD, Dunn R, Garvy BA, et al. B Lymphocytes Are Required during the Early Priming of CD4⁺ T Cells for Clearance of *Pneumocystis* Infection in Mice. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 juill 2015;195(2):611-20.
101. Lund FE, Hollifield M, Schuer K, Lines JL, Randall TD, Garvy BA. B cells are required for generation of protective effector and memory CD4 cells in response to *Pneumocystis* lung infection. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 mai 2006;176(10):6147-54.
102. Elsegeiny W, Eddens T, Chen K, Kolls JK. Anti-CD20 antibody therapy and susceptibility to *Pneumocystis* pneumonia. *Infect Immun.* mai 2015;83(5):2043-52.
103. Walzer PD, Rutledge ME. Humoral immunity in experimental *Pneumocystis carinii* infection. I. Serum and bronchial lavage fluid antibody responses in rats. *J Lab Clin Med.* juin 1981;97(6):820-33.
104. Wells J, Haidaris CG, Wright TW, Gigliotti F. Complement and Fc function are required for optimal antibody prophylaxis against *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Infect Immun.* janv 2006;74(1):390-3.
105. Gigliotti F, Hughes WT. Passive immunoprophylaxis with specific monoclonal antibody confers partial protection against *Pneumocystis carinii* pneumonitis in animal models. *J Clin Invest.* juin 1988;81(6):1666-8.
106. Gigliotti F, Haidaris CG, Wright TW, Harmsen AG. Passive intranasal monoclonal antibody prophylaxis against murine *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Infect Immun.* mars 2002;70(3):1069-74.
107. Roths JB, Sidman CL. Single and combined humoral and cell-mediated immunotherapy of *Pneumocystis carinii* pneumonia in immunodeficient scid mice. *Infect Immun.* mai 1993;61(5):1641-9.
108. Harmsen AG, Chen W, Gigliotti F. Active immunity to *Pneumocystis carinii* reinfection in T-cell-depleted mice. *Infect Immun.* juill 1995;63(7):2391-5.
109. Zheng M, Shellito JE, Marrero L, Zhong Q, Julian S, Ye P, et al. CD4⁺ T cell-independent vaccination against *Pneumocystis carinii* in mice. *J Clin Invest.* nov 2001;108(10):1469-74.
110. Kling HM, Norris KA. Vaccine-Induced Immunogenicity and Protection Against *Pneumocystis* Pneumonia in a Nonhuman Primate Model of HIV and *Pneumocystis* Coinfection. *J Infect Dis.* 15 mai 2016;213(10):1586-95.
111. Lymphopenia and autoimmunity: A double-edged sword [Internet]. [cité 5 mars 2017]. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/docelsec.u-bordeaux.fr/science/article/pii/S0198885916301343?np=y&npKey=57cbeed437e0bab42b1429228635a1d9986801ef7737756ed9cc45da9ec9a423>
112. Baccala R, Theofilopoulos AN. The new paradigm of T-cell homeostatic proliferation-induced autoimmunity. *Trends Immunol.* janv 2005;26(1):5-8.
113. Carli L, Tani C, Vagnani S, Signorini V, Mosca M. Leukopenia, lymphopenia, and neutropenia in systemic lupus erythematosus: Prevalence and clinical impact--A systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum.* oct 2015;45(2):190-4.
114. Petri M, Orbai A-M, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* août 2012;64(8):2677-86.
115. Martin M, Guffroy A, Argemi X, Martin T. [Systemic lupus erythematosus and lymphopenia: Clinical and pathophysiological features]. *Rev Med Interne.* 14 févr 2017;
116. Li C, Mu R, Lu X, He J, Jia R, Li Z. Antilymphocyte antibodies in systemic lupus

erythematosus: association with disease activity and lymphopenia. *J Immunol Res.* 2014;2014:672126.

117. Symmons DP, Farr M, Salmon M, Bacon PA. Lymphopenia in rheumatoid arthritis. *J R Soc Med.* août 1989;82(8):462-3.

118. Viguier M, Fouéré S, de la Salmonière P, Rabian C, Lebbe C, Dubertret L, et al. Peripheral blood lymphocyte subset counts in patients with dermatomyositis: clinical correlations and changes following therapy. *Medicine (Baltimore).* mars 2003;82(2):82-6.

119. Behan WM, Behan PO, Micklem HS, Durward WF. Abnormalities of lymphocyte subsets in polymyositis. *Br Med J Clin Res Ed.* 16 juill 1983;287(6386):181-2.

120. Izzedine H, Cacoub P, Launay-Vacher V, Bagnis C, Deray G. Lymphopenia in Wegener's granulomatosis. A new clinical activity index? *Nephron.* oct 2002;92(2):466-71.

121. Miyara M, Amoura Z, Parizot C, Badoual C, Dorgham K, Trad S, et al. The immune paradox of sarcoidosis and regulatory T cells. *J Exp Med.* 20 févr 2006;203(2):359-70.

122. Hudspith BN, Flint KC, Geraint-James D, Brostoff J, Johnson NM. Lack of immune deficiency in sarcoidosis: compartmentalisation of the immune response. *Thorax.* avr 1987;42(4):250-5.

123. Desrues B, Delaval P, Genetet N, Pencole C, Merdrignac G, Dassonville J, et al. Does peripheral blood T-lymphocyte population distribution in sarcoidosis provide a prognostic clue? *Sarcoidosis.* sept 1991;8(2):129-33.

124. Jamilloux Y, Bernard C, Lortholary O, Kerever S, Lelièvre L, Gerfaud-Valentin M, et al. [Opportunistic infections and sarcoidosis]. *Rev Med Interne.* 14 sept 2016;

125. Heimann TM, Bolnick K, Aufses AH. Prognostic significance of severe preoperative lymphopenia in patients with Crohn's disease. *Ann Surg.* févr 1986;203(2):132-5.

126. Messiaen PE, Cuyx S, Dejagere T, van der Hilst JC. The role of CD4 cell count as discriminatory measure to guide chemoprophylaxis against *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in human immunodeficiency virus-negative immunocompromised patients: A systematic review. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc.* 30 déc 2016;

127. Godeau B, Coutant-Perronne V, Le Thi Huong D, Guillevin L, Magadur G, De Bandt M, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia in the course of connective tissue disease: report of 34 cases. *J Rheumatol.* févr 1994;21(2):246-51.

128. Sepkowitz KA. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients without AIDS. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* nov 1993;17 Suppl 2:S416-422.

129. Lehman JS, Kalaaji AN. Role of primary prophylaxis for pneumocystis pneumonia in patients treated with systemic corticosteroids or other immunosuppressive agents for immune-mediated dermatologic conditions. *J Am Acad Dermatol.* nov 2010;63(5):815-23.

130. Kronbichler A, Jayne DRW, Mayer G. Frequency, risk factors and prophylaxis of infection in ANCA-associated vasculitis. *Eur J Clin Invest.* mars 2015;45(3):346-68.

131. Ward MM, Donald F. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with connective tissue diseases: the role of hospital experience in diagnosis and mortality. *Arthritis Rheum.* avr 1999;42(4):780-9.

132. Rodriguez M, Fishman JA. Prevention of infection due to *Pneumocystis* spp. in human immunodeficiency virus-negative immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev.* oct 2004;17(4):770-782, table of contents.

133. Fillatre P, Decaux O, Jouneau S, Revest M, Gacouin A, Robert-Gangneux F, et al. Incidence of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia among groups at risk in HIV-negative patients. *Am J Med.* déc 2014;127(12):1242.e11-17.

134. Yates M, Watts RA, Bajema IM, Cid MC, Crestani B, Hauser T, et al. EULAR/ERA-EDTA recommendations for the management of ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis.*

1 sept 2016;75(9):1583-94.

135. Debouverie O, Roy-Péaud F, Béraud G, Blanchard-Delaunay C, Roblot F, Pourrat O, et al. [Infectious events during the course of systemic necrotizing vasculitis: a retrospective study of 82 cases]. *Rev Med Interne*. oct 2014;35(10):636-42.

136. Dalakas MC, Hohlfield R. Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet Lond Engl*. 20 sept 2003;362(9388):971-82.

137. Marie I, Ménard J-F, Hachulla E, Chérin P, Benveniste O, Tiev K, et al. Infectious complications in polymyositis and dermatomyositis: a series of 279 patients. *Semin Arthritis Rheum*. août 2011;41(1):48-60.

138. Berger CT, Greiff V, John S, Koenig KF, Bigler MB, Recher M, et al. Risk factors for pneumocystis pneumonia in giant cell arteritis: a single-centre cohort study. *Clin Exp Rheumatol*. avr 2015;33(2 Suppl 89):S-122-125.

139. Mori S, Sugimoto M. Pneumocystis jirovecii Pneumonia in Rheumatoid Arthritis Patients: Risks and Prophylaxis Recommendations. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med*. 2015;9(Suppl 1):29-40.

140. Mori S, Cho I, Sugimoto M. A cluster of Pneumocystis jirovecii infection among outpatients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. juill 2010;37(7):1547-8.

141. Okafor PN, Farraye FA, Okafor AT, Erim DO. Cost-effectiveness of Prophylaxis Against Pneumocystis jirovecii Pneumonia in Patients with Crohn's Disease. *Dig Dis Sci*. déc 2015;60(12):3743-55.

142. Gerrard JG. Pneumocystis carinii pneumonia in HIV-negative immunocompromised adults. *Med J Aust*. 6 mars 1995;162(5):233-5.

143. Yale SH, Limper AH. Pneumocystis carinii pneumonia in patients without acquired immunodeficiency syndrome: associated illness and prior corticosteroid therapy. *Mayo Clin Proc*. janv 1996;71(1):5-13.

144. Bachelez H, Schremmer B, Cadranet J, Mouly F, Sarfati C, Agbalika F, et al. Fulminant Pneumocystis carinii pneumonia in 4 patients with dermatomyositis. *Arch Intern Med*. 14 juill 1997;157(13):1501-3.

145. Godeau B, Mainardi JL, Hachulla E, Guillevin L, Roudot-Thoraval F, Remy P, et al. [Is the risk of pneumocystosis predictable in Wegener's disease?]. *Rev Med Interne*. 1993;14(10):1025.

146. Gupta D, Zachariah A, Roppelt H, Patel AM, Gruber BL. Prophylactic antibiotic usage for Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with systemic lupus erythematosus on cyclophosphamide: a survey of US rheumatologists and the review of literature. *J Clin Rheumatol Pract Rep Rheum Musculoskelet Dis*. oct 2008;14(5):267-72.

147. Stenger AA, Houtman PM, Bruyn GA, Eggink HF, Pasma HR. Pneumocystis carinii pneumonia associated with low dose methotrexate treatment for rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 1994;23(1):51-3.

148. Roux N, Flipo RM, Cortet B, Lafitte JJ, Tonnel AB, Duquesnoy B, et al. Pneumocystis carinii pneumonia in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate. A report of two cases. *Rev Rhum Engl Ed*. juin 1996;63(6):453-6.

149. Krebs S, Gibbons RB. Low-dose methotrexate as a risk factor for Pneumocystis carinii pneumonia. *Mil Med*. janv 1996;161(1):58-60.

150. Desales AL, Mendez-Navarro J, Méndez-Tovar LJ, Ortiz-Olvera NX, Cullen G, Ocampo J, et al. Pneumocystosis in a patient with Crohn's disease treated with combination therapy with adalimumab. *J Crohns Colitis*. mai 2012;6(4):483-7.

151. Lee JC, Bell DC, Guinness RM, Ahmad T. Pneumocystis jirovecii pneumonia and pneumomediastinum in an anti-TNFalpha naive patient with ulcerative colitis. *World J*

Gastroenterol. 21 avr 2009;15(15):1897-900.

152. Itaba S, Iwasa T, Sadamoto Y, Nasu T, Misawa T, Inoue K, et al. Pneumocystis pneumonia during combined therapy of infliximab, corticosteroid, and azathioprine in a patient with Crohn's disease. *Dig Dis Sci.* juin 2007;52(6):1438-41.

153. Zhang Y, Zheng Y. Pneumocystis jirovecii pneumonia in mycophenolate mofetil-treated patients with connective tissue disease: analysis of 17 cases. *Rheumatol Int.* déc 2014;34(12):1765-71.

154. Vallabhaneni S, Chiller TM. Fungal Infections and New Biologic Therapies. *Curr Rheumatol Rep.* mai 2016;18(5):29.

155. Grubbs JA, Baddley JW. Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients receiving tumor-necrosis-factor-inhibitor therapy: implications for chemoprophylaxis. *Curr Rheumatol Rep.* oct 2014;16(10):445.

156. COL2-04 Risque d'infections opportunistes (IO) sous traitement par anti TNF : résultats finaux des 3 ans de surveillance de l'observatoire RATIO - 1-s2.0-S0399077X09742696-main.pdf [Internet]. [cité 6 mars 2017]. Disponible sur: http://ac.els-cdn.com/S0399077X09742696-main.pdf?_tid=70cfc818-0271-11e7-a4d7-00000aacb35f&acdnat=1488807370_289a73814968f07e47a329bd5b24639a

157. Kaur N, Mahl TC. Pneumocystis jirovecii (carinii) pneumonia after infliximab therapy: a review of 84 cases. *Dig Dis Sci.* juin 2007;52(6):1481-4.

158. Barreto JN, Ice LL, Thompson CA, Tosh PK, Osmon DR, Dierkhising RA, et al. Low incidence of pneumocystis pneumonia utilizing PCR-based diagnosis in patients with B-cell lymphoma receiving rituximab-containing combination chemotherapy. *Am J Hematol.* nov 2016;91(11):1113-7.

159. Catroux M, Lauda-Maillen M, Pathe M, De Boisgrollier de Ruolz A-C, Cazenave-Roblot F, Roblot P, et al. [Infectious events during the course of autoimmune diseases treated with rituximab: A retrospective study of 93 cases]. *Rev Med Interne.* mars 2017;38(3):160-6.

160. Reynaud Q, Durieu I, Dutertre M, Ledochowski S, Durupt S, Michallet A-S, et al. Efficacy and safety of rituximab in auto-immune hemolytic anemia: A meta-analysis of 21 studies. *Autoimmun Rev.* avr 2015;14(4):304-13.

161. Cettomai D, Gelber AC, Christopher-Stine L. A survey of rheumatologists' practice for prescribing pneumocystis prophylaxis. *J Rheumatol.* avr 2010;37(4):792-9.

162. Green H, Paul M, Vidal L, Leibovici L. Prophylaxis of Pneumocystis pneumonia in immunocompromised non-HIV-infected patients: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Mayo Clin Proc.* sept 2007;82(9):1052-9.

163. Limper AH, Knox KS, Sarosi GA, Ampel NM, Bennett JE, Catanzaro A, et al. An official American Thoracic Society statement: Treatment of fungal infections in adult pulmonary and critical care patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 1 janv 2011;183(1):96-128.

164. Cooley L, Dendle C, Wolf J, Teh BW, Chen SC, Boutlis C, et al. Consensus guidelines for diagnosis, prophylaxis and management of Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients with haematological and solid malignancies, 2014. *Intern Med J.* déc 2014;44(12b):1350-63.

165. Tadros S, Teichtahl AJ, Ciciriello S, Wicks IP. Pneumocystis jirovecii pneumonia in systemic autoimmune rheumatic disease: A case-control study. *Semin Arthritis Rheum.* 28 sept 2016;

166. Warnock AC, Rimland D. Comparison of trimethoprim-sulfamethoxazole, dapsone, and pentamidine in the prophylaxis of Pneumocystis carinii pneumonia. *Pharmacotherapy.* déc 1996;16(6):1030-8.

167. Kimura M, Tanaka S, Ishikawa A, Endo H, Hirohata S, Kondo H. Comparison of trimethoprim-sulfamethoxazole and aerosolized pentamidine for primary prophylaxis of Pneumocystis jirovecii pneumonia in immunocompromised patients with connective tissue

disease. *Rheumatol Int.* mai 2008;28(7):673-6.

168. Stegeman CA, Tervaert JW, de Jong PE, Kallenberg CG. Trimethoprim-sulfamethoxazole (co-trimoxazole) for the prevention of relapses of Wegener's granulomatosis. Dutch Co-Trimoxazole Wegener Study Group. *N Engl J Med.* 4 juill 1996;335(1):16-20.

169. Pope J, Jerome D, Fenlon D, Krizova A, Ouimet J. Frequency of adverse drug reactions in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* mars 2003;30(3):480-4.

170. Maezawa R, Kurasawa K, Arai S, Okada H, Owada T, Fukuda T. Positivity for anti-RNP antibody is a risk factor for adverse effects caused by trimethoprim-sulfamethoxazole, a prophylactic agent for *P. jiroveci* pneumonia, in patients with connective tissue diseases. *Mod Rheumatol.* janv 2013;23(1):62-70.

171. Takenaka K, Komiya Y, Ota M, Yamazaki H, Nagasaka K. A dose-escalation regimen of trimethoprim-sulfamethoxazole is tolerable for prophylaxis against *Pneumocystis jiroveci* pneumonia in rheumatic diseases. *Mod Rheumatol.* juill 2013;23(4):752-8.

172. Ioannidis JP, Cappelleri JC, Skolnik PR, Lau J, Sacks HS. A meta-analysis of the relative efficacy and toxicity of *Pneumocystis carinii* prophylactic regimens. *Arch Intern Med.* 22 janv 1996;156(2):177-88.

173. Groenendal H, Rampen FH. Methotrexate and trimethoprim-sulphamethoxazole--a potentially hazardous combination. *Clin Exp Dermatol.* sept 1990;15(5):358-60.

174. Chevrel G, Brantus JF, Sainte-Laudy J, Miossec P. Allergic pancytopenia to trimethoprim-sulphamethoxazole for *Pneumocystis carinii* pneumonia following methotrexate treatment for rheumatoid arthritis. *Rheumatol Oxf Engl.* mai 1999;38(5):475-6.

175. Thomas CF, Limper AH. *Pneumocystis pneumonia*. *N Engl J Med.* 10 juin 2004;350(24):2487-98.

176. Iikuni N, Kitahama M, Ohta S, Okamoto H, Kamatani N, Nishinarita M. Evaluation of *Pneumocystis pneumonia* infection risk factors in patients with connective tissue disease. *Mod Rheumatol.* 2006;16(5):282-8.

177. Khellaf M, Godeau B. [*Pneumocystis pneumonia* among patients with systemic diseases]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. févr 2009;38(2):251-9.

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous, ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.

Prophylaxie et taux de CD4 au cours de la pneumopathie à *Pneumocystis jirovecii* chez les patients atteints de maladies auto-immunes et inflammatoires

RESUME :

Introduction : Le rôle des lymphocytes T-CD4 au cours de la pneumocystose (PCP) chez les patients immunodéprimés non-HIV (NHIV) est moins évident que chez les sujets infectés par le VIH. Il n'existe pas de recommandations solides concernant la prophylaxie anti-*Pneumocystis* dans ces populations. Ceci est particulièrement vrai pour les maladies auto-immunes et inflammatoires (MAI). Trop peu d'études se sont jusque là focalisées sur la PCP au cours des MAI, et bien souvent ces patients si particuliers sont associés avec d'autres catégories de patients (hémopathies malignes, cancer, patients greffés...). Nous avons mené une étude afin de : détailler les caractéristiques des patients atteints de MAI développant une PCP, déterminer de nouveaux facteurs de risque de mortalité et conclure si le taux de lymphocytes CD4, à l'instar du VIH, pouvait être utilisé pour guider l'indication de prophylaxie au cours des MAI.

Méthodes : Tous les patients ayant présenté une PCP au CHU de Bordeaux entre 2013 et 2016 ont été inclus. Chaque patient avait au moins un échantillon biologique respiratoire avec une qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction) de valeur significative associée à une présentation clinico-radiologique compatible avec une PCP. Le diagnostic de PCP était considéré comme certain si l'examen microscopique était positif (EM) et possible s'il était négatif.

Résultats : Cent vingt neuf patients ont été inclus dans l'étude, dont 27 MAI, 37 VIH et 65 autres NVIH. Le taux de CD4 médian était de 322/mm³ chez les patients avec MAI et était significativement plus élevé que chez les patients VIH (21/mm³ ; p<0,0001). Aucune différence n'était retrouvée entre le taux de CD4 des MAI et celui des autres patients NVIH (236/mm³; p=0.22). La moitié (n=10) des patients MAI avait plus de 300 CD4/mm³. En analyse multivariée, la présence d'un EM positif (p= 0.0033; OR=19.6; 95% CI [1.904-201.7]) et d'une corticothérapie>40mg/jour (p= 0.0007; OR=42; 95% CI [3.758-469.4]) étaient associées avec la mortalité.

Conclusion : Une vision plus intégrative est nécessaire pour comprendre l'immunodépression au cours des MAI afin de sélectionner les meilleurs candidats pour la prophylaxie anti-*Pneumocystis*. La lymphopénie CD4 ne permet pas d'en résumer la complexité

Guidelines for prophylaxis of *Pneumocystis* pneumonia cannot rely solely on CD4-cell count in autoimmune and inflammatory diseases

DISCIPLINE : Médecine interne

MOTS CLES : Pneumocystose, prophylaxie, Lymphocyte T-CD4, Maladies auto-immunes et inflammatoires

UFR des Sciences Médicales, Université de Bordeaux
146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex