

Prévalence et impact des mutations du gène  
de la **DHPS** des souches de **Pneumocystis**  
**jiroveci** isolées chez les patients VIH au  
cours d'une pneumocystose pulmonaire

Florian Busato, A. Berry, M. Alvarez, E. Bonnet, L. Porte, J.-F. Magnaval, P. Massip, B. Marchou

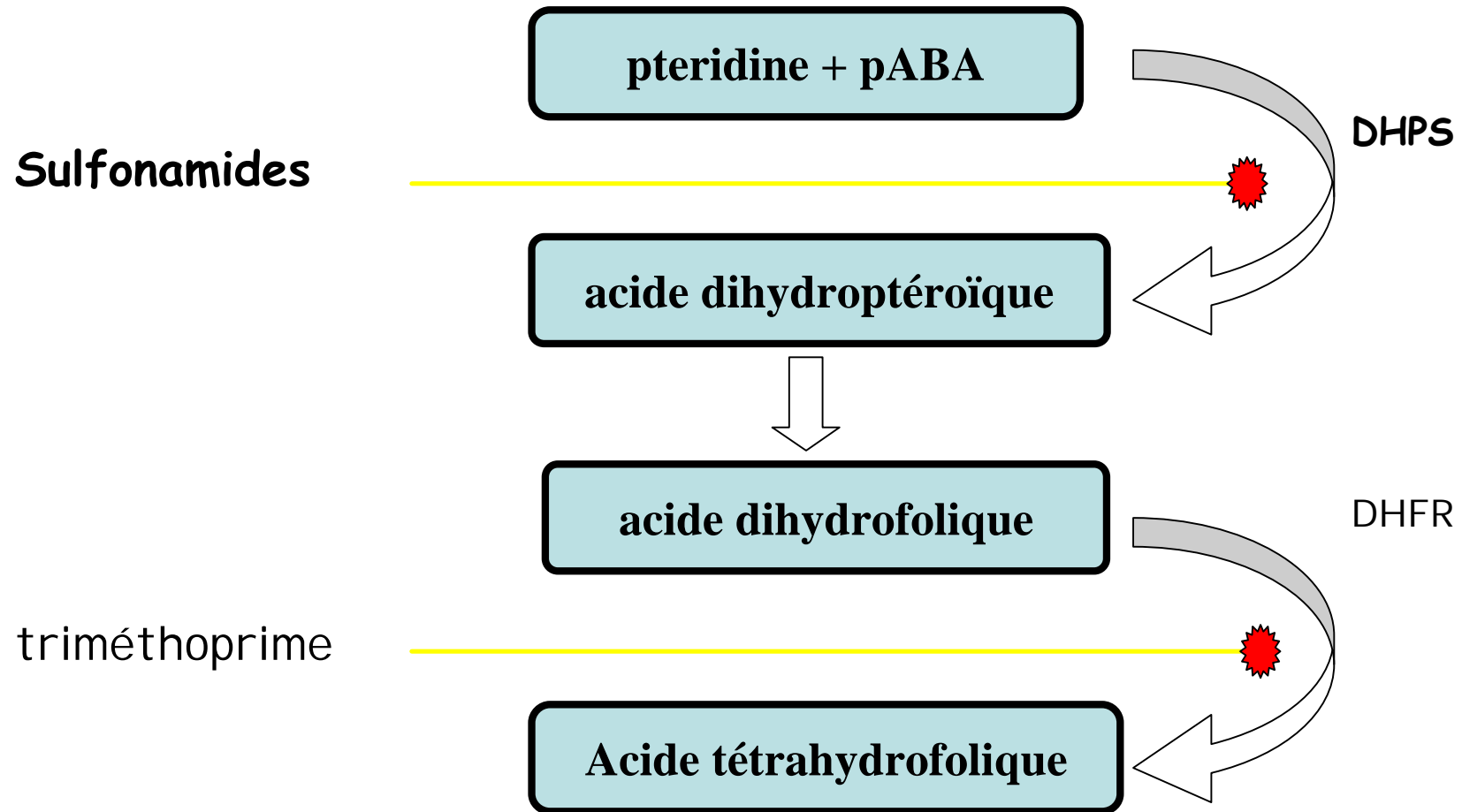
**Service des Maladies Infectieuses et Tropicales**  
**Laboratoire de Parasitologie-Mycologie**



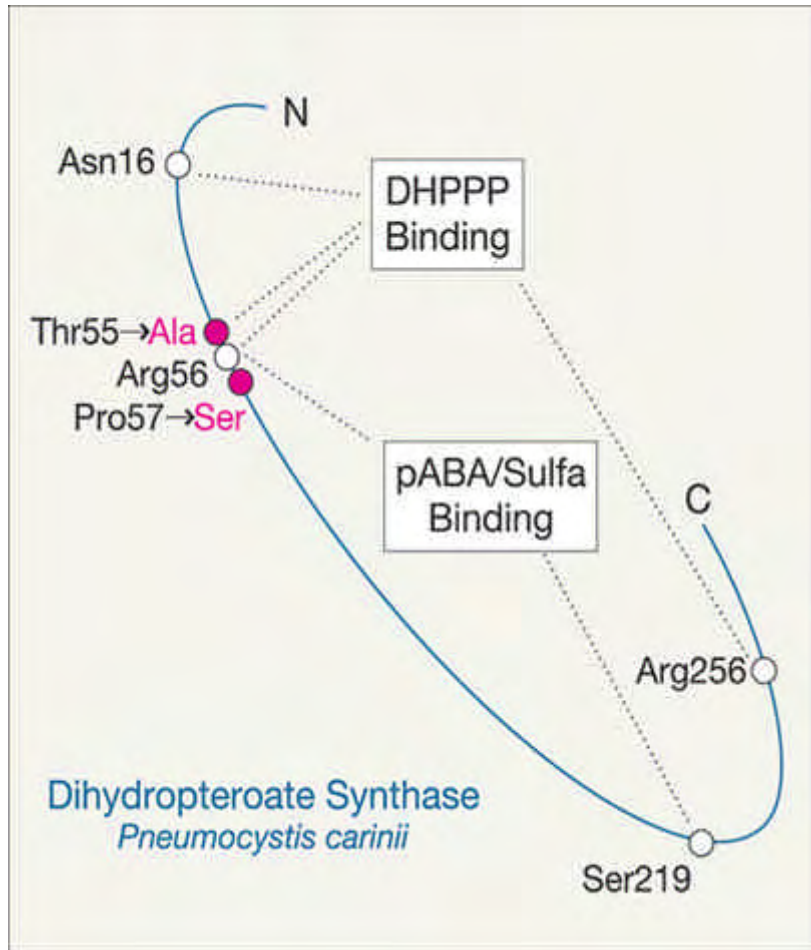
# Contexte

- Diminution de l'incidence de la pneumocystose liée l'avènement des HAART, et grâce à l'utilisation préventive des **sulfonamides** (TMP-SMX et dapsons)
- Association démontrée entre l'exposition aux sulfonamides et la présence de **mutations ponctuelles de la DHPS** (? DHFR), faisant craindre une résistance à ces molécules
- Mécanisme d'action sulfonamides: inhibition compétitive de la **DHPS** (dihydropteroate synthase) intervenant dans le métabolisme de l'acide folique de *P.jiroveci*

# Métabolisme acide folique



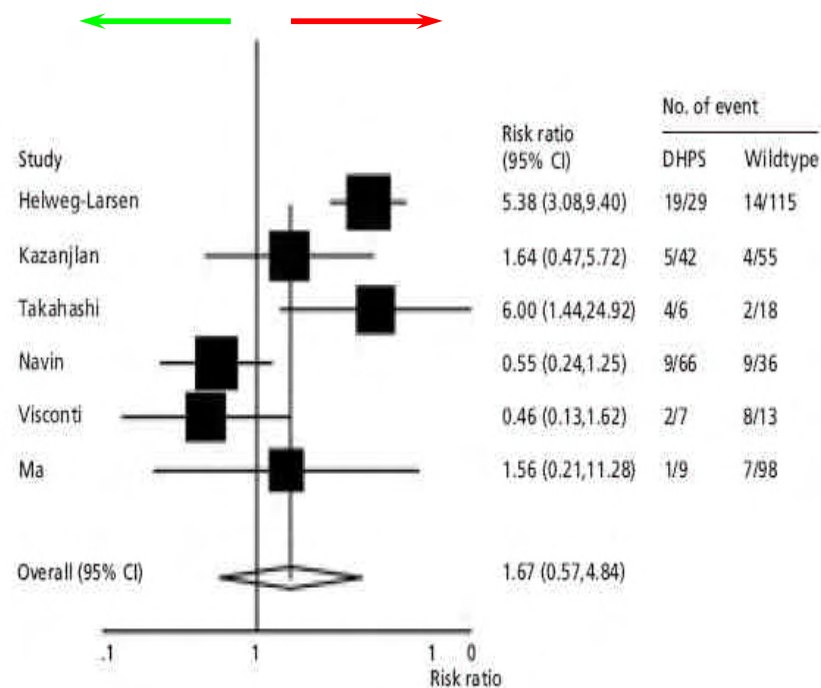
# Mutations au site actif de la DHPS



Géno DHPS	Aminoacide position 55	Aminoacide position 57
<b>Wild-type</b>		
1	Thréonine	Proline
<b>Mutant</b>		
2	Alanine	Proline
3	Thréonine	Sérine
4 (double mutant)	Alanine	Sérine
<b>Mixed</b>		
5	Thréonine	Pro/Ser
6	Thr/Ala	Pro/Ser
7	Thr/Ala	Proline
8	Alanine	Pro/Ser

DHPS dihydropteroate synthase

# Impact clinique des mutations de la DHPS



- Résultats **contradictoires ++**
- Hétérogénéité de la définition des critères d'évaluation et de la méthodologie statistique
- Méta-analyse discutable de ce fait
- **Question non résolue ++**

## Risque relatif de décès

# Matériel et méthodes

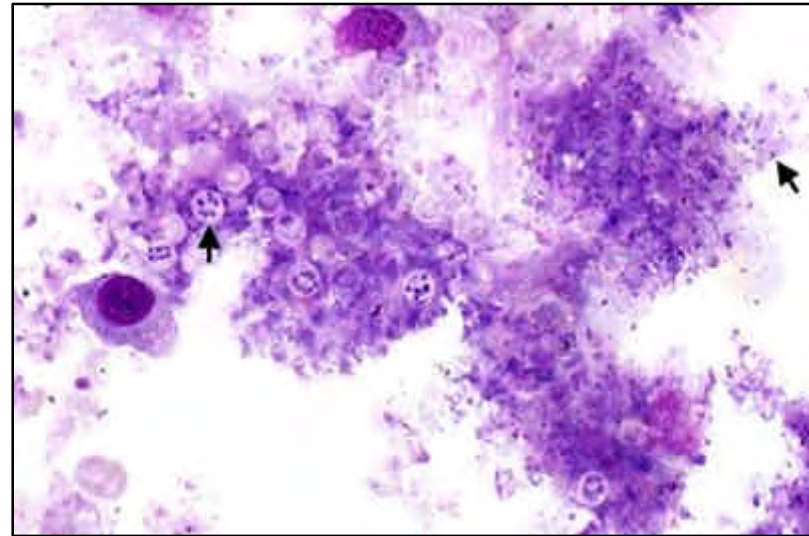
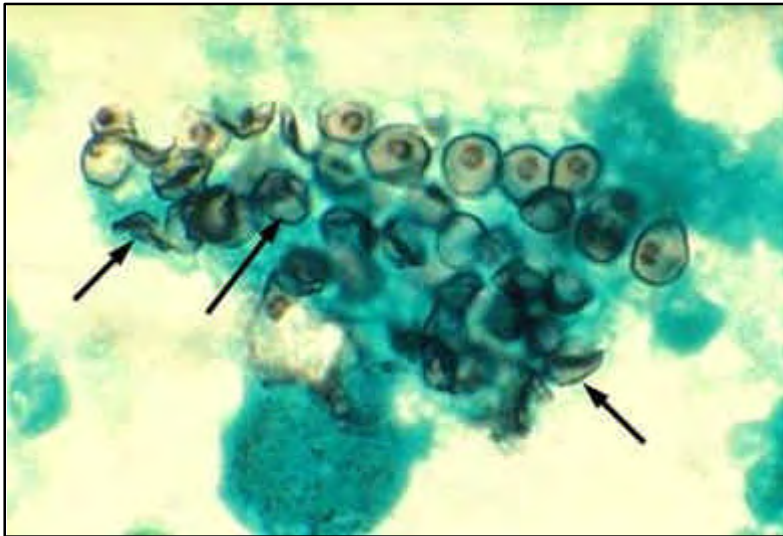
## Patients et prélèvements

- Étude de cohorte historique descriptive
- Adultes VIH présentant une PCP confirmée entre le 01/01/1996 et le 31/07/2003
- Échantillon obtenu par LBA
- Moyens diagnostiques: bleu de Toluidine, MGG et IF
- Recueil de données standardisé

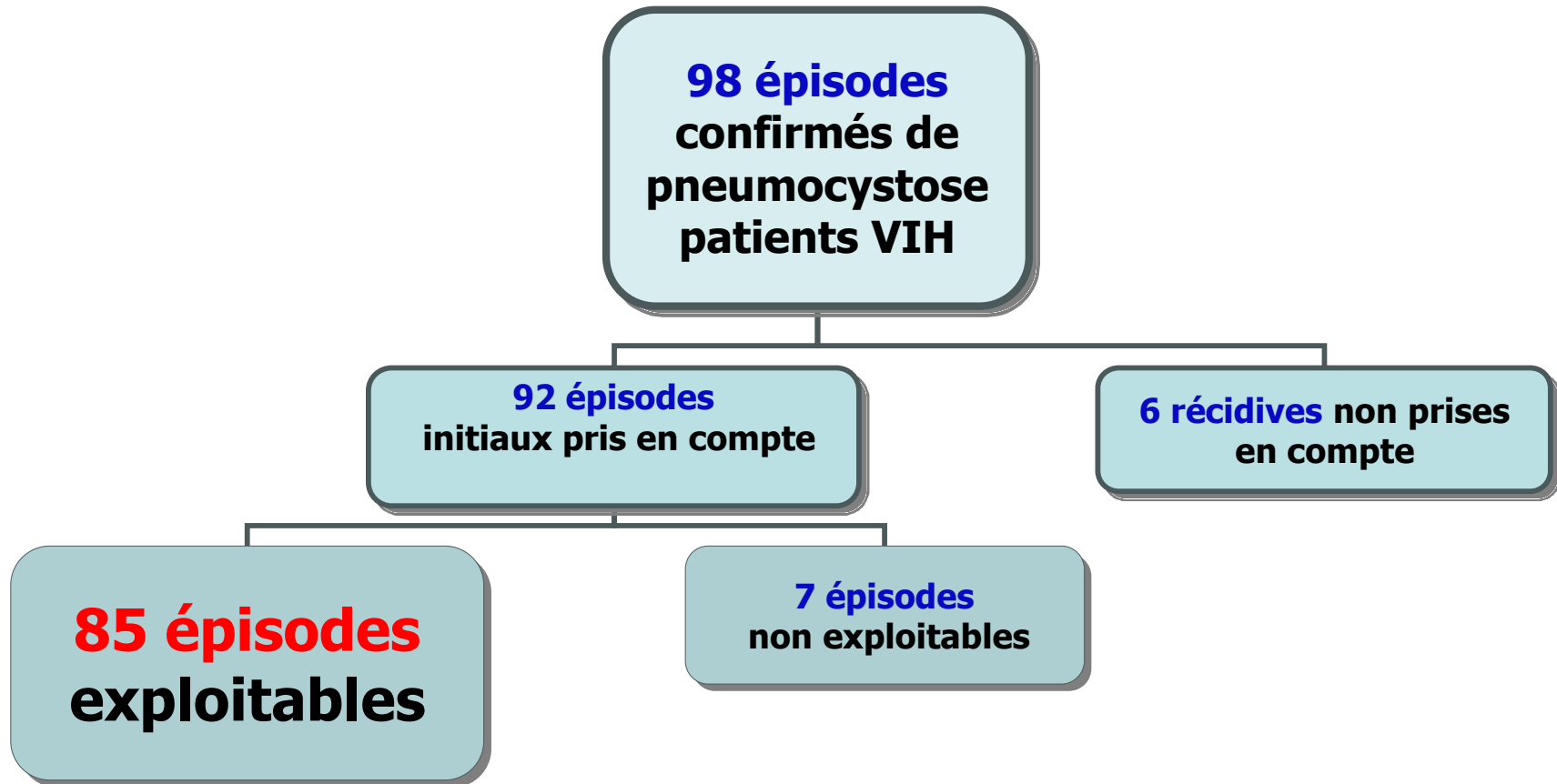
## Détermination génotype DHPS

- Séquençage classique  
(seuil détection ~ 20%)  
= technique de référence
- PCR quantitative en temps réel (Système LightCycler®)  
(seuil détection ~ 10%)  
= technique développée au cours de cette étude

# Résultats



# Population étudiée





# Détermination du génotype DHPS

Exhaustivité : 80%	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	Total
n patients	20	7	4	12	9	9	17	7	85
<b>Génotype DHPS obtenu</b>	16	6	0	7	7	9	17	6	<b>68</b>
<i>Souche « sauvage »</i>	12	6	0	7	6	9	17	6	63
<i>Souche « mutée »</i>	<b>4</b>	0	0	0	<b>1</b>	0	0	0	<b>5</b>

# Caractéristiques des patients

<b>Paramètres</b>	<b>Souche mutée</b>	<b>Souche sauvage</b>	<b><i>p</i></b>
Nombre	5	63	
Hommes, %	60	77.6	<i>ns</i>
IMC, kg/m <sup>2</sup>	17.2 ± 2.2	19.8 ± 2.5	0.048
CD4, mm <sup>3</sup>	26	48	<i>ns</i>
Réanimation, %	20.0	11.1	<i>ns</i>
Ventilation mécanique, %	20.0	9.5	<i>ns</i>
Mortalité hospitalière, % (n)	20.0 (1)	12.7(8)	<i>ns</i>

# Patients porteurs de souches mutées

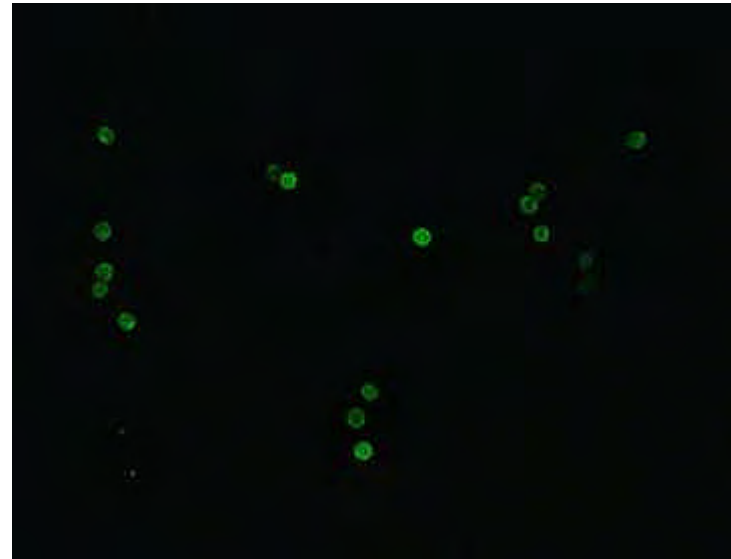
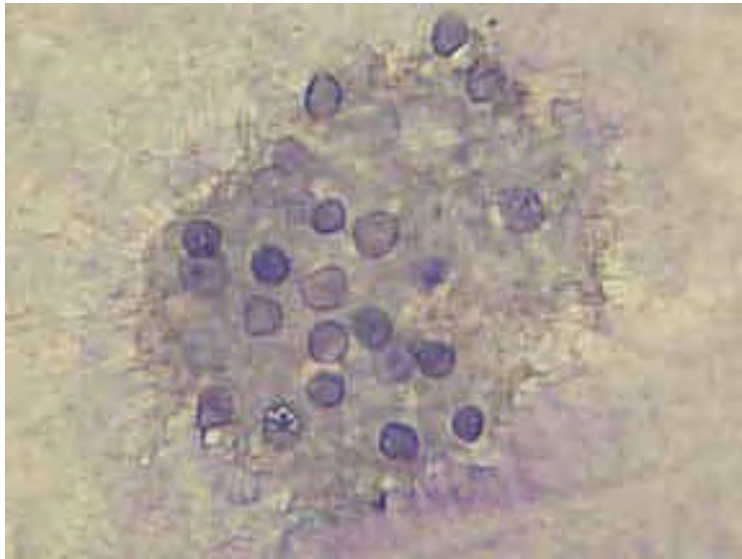
Souche sauvage <b>Thr55 Pro57</b>		Acide aminé		Prophyl. PPC	Atcd PPC
		Codon 55	Codon 57		
1	(1996)	Ala	Ser	Oui *	Non
2	(1996)	Ala	Ser	Oui *	Oui <sup>n°2</sup>
3	(1996)	Ala	Ser	Oui *	Oui <sup>n°4</sup>
4	(1996)	Thr / Ala	Ser	Non	Non
5	(2000)	Ala	Ser	Non	Non

\* TMP-DIS (1), Pent.aérosol. (2 & 3) après TMP-SMX (3 patients) dans les 6 mois précédents

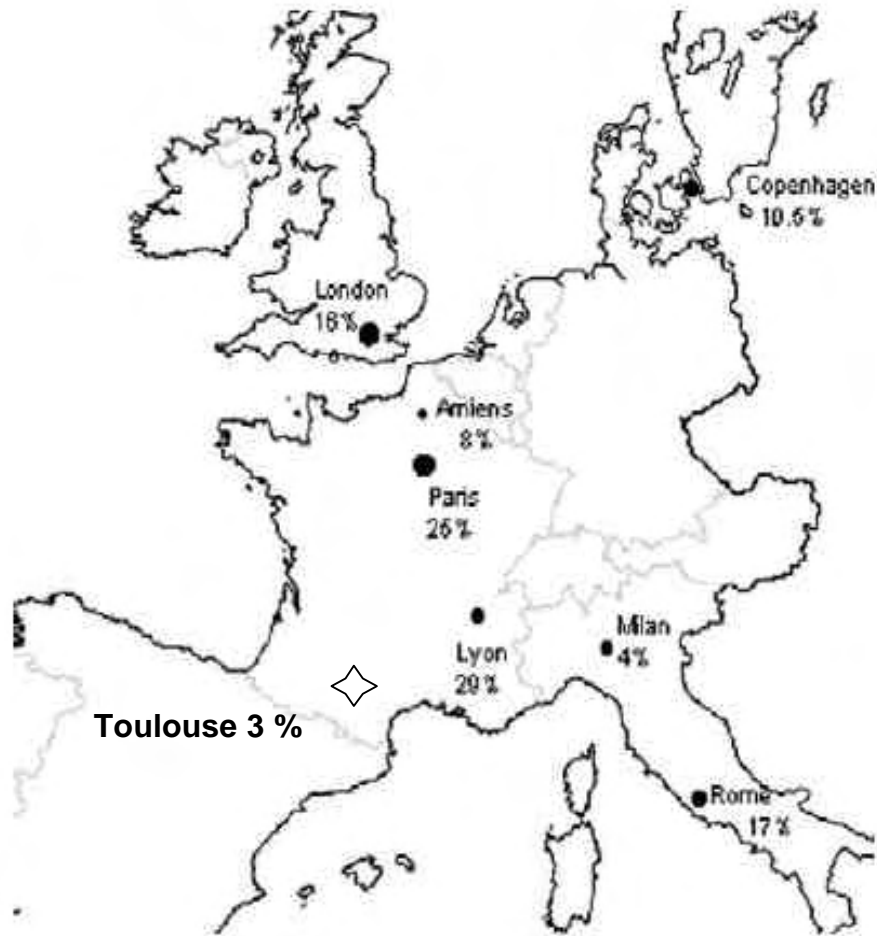
# Évolution des patients porteurs de souche mutée

	<b>Traitement curatif</b>	<b>Évolution</b>
• Patient 1	pentamidine IV (allergie TMP-SMX)	<b>Guérison</b>
• Patient 2	TMP-SMX	<b>Guérison</b>
• Patient 3	pentamidine IV (allergie TMP-SMX)	<b>Guérison</b>
• Patient 4	TMP-SMX	<b>Guérison</b>
• Patient 5	TMP-SMX, pentam. IV, clinda-prima.	<b>Décès</b>

# Discussion



# Epidémiologie des souches mutées



Totet EID 2004

- **Très faible prévalence 3 %** chez les patients non exposés aux sulfonamides (vs 3/ 19 soit 15.8% exposés) moindre qu'à Paris ou Lyon
- Préval. globale faible **7.3%**
- Très nettement inférieure aux prévalences US (15 à 81%)
- Absence de « cas local » depuis 1996

# Impact pronostique du génotype DHPS

- En dépit d'une puissance insuffisante de notre étude, la présence d'un génotype DHPS mutant **ne semble pas constituer** un facteur pronostique péjoratif ...
- ... contrairement à d'autres marqueurs déterminés à l'admission traduisant **l'état général sous-jacent** (albuminémie sérique, IMC) ou la **sévérité initiale de la pneumocystose** (paramètres respiratoires, admission précoce en réanimation).
- En raison de l'absence d'implication thérapeutique pratique, nous ne réalisons pas actuellement en routine la détermination du génotype DHPS.

# Etapes suivantes permettant de trancher ?

- **Résistance de bas niveau** au TMP-SMX des souches mutées ?
  - Posologies maximales pour les souches DHPS mutées ?
  - Dosages pharmacologiques du sulfaméthoxazole ? *Crothers AIDS 2005*
- **Uniformisation** des critères d'évaluation clinique de façon internationale pour permettre une méta-analyse fiable
- Evaluation **objective** de la réponse au traitement
  - Culture classique non réalisable
  - Monitoring du taux plasmatique du **S-adénosylméthionine**  
(métabolite essentiel à la croissance axénique de *P.jiroveci*, obtenu de façon exogène à partir du plasma du patient)

*Skelly Lancet 2003*