



Royaume du Maroc المملكة المغربية

كلية الطب والصيدلة
+٠٢٤٧٠١١ | +٠١٤١١٤٤٤ | +٠٥٠٥٣٠٠٠
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

PNEUMOCYSTOSE À PNEUMOCYSTIS JIROVECII :
12 Cas Sur 04 Ans
LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE CHU HASSAN II FÈS

MEMOIRE PRESENTE PAR :

Docteur HMAMED Meryem
Née le 16/06/1986 à Sefrou

MEMOIRE DE FIN DE SPECIALITE

OPTION : **BIOLOGIE MÉDICALE**

Sous la direction de :

Professeur **TLAMCANI ZINEB**

Session: juillet 2020

LISTES DES ABREVIATIONS TABLEAUX ET FIGURES

ATCD	: Antécédents
BTO	: Bleu de Toluidine
CHU	: Centre hospitalier universitaire
CINB	: Code international de nomenclature botanique
CMV	: Cytomégalovirus
EI	: Expectoration induite
F	: Sexe féminin
G-G	: Gomorri-Grocott
H	: Sexe masculin
HAART	: Thérapie antirétrovirale hautement active
IRA	: Insuffisance respiratoire aiguë
IRRP	: Insuffisance rénale rapidement progressive
IFD	: Immunofluorescence directe
LDH	: Lactico-déshydrogénase
LED	: Lupus érythémateux disséminé
LBA	: Liquide du lavage broncho-alvéolaire
MGG	: May Grünwald Giemsa
PABA	: Acide para-amino-benzoïque
PaO2	: Pression partielle en oxygène
PCR	: Polymerase chain reaction
PDP	: Prélèvement distal protégé.
PJ	: Pneumocystis jirovecii
PPC	: Pneumocystose ou pneumonie à Pneumocystis
Ratio H/F	: Ratio homme sur femme
SIDA	: Syndrome d'immunodéficience acquise
TB	: Tuberculose
TDM	: Tomodensitométrie
TMP-SMX	: Triméthoprime-Sulfaméthoxazole
VIH	: Virus de l'Immunodéficience Humaine

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Répartition des cas de pneumocystose en fonction des services d'hospitalisation

Tableau 2 : Répartition des cas de pneumocystose en fonction de type d'immunodépression.

Tableau 3 : Prévalence de la pneumocystose selon différentes études

Tableau 4 : Répartition de la pneumocystose selon la sérologie VIH dans diverses séries.

LISTE DES FIGURES

Fig.1 : Vue schématique du trophozoïte de *P.jirovecii*

Fig.2 : Vue schématique du kyste de *P.jirovecii*

Fig 3 : Asque de *Pneumocystis jirovecii*

Fig4 : A- cycle asexuée, B- cycle sexuée

Fig5 : Amas de *Pneumocystis jirovecii* dans un liquide de LBA (Giemsa)

Fig.6 : kystes de *P.jirovecii* colorés par imprégnation argentique de Gomori-Grocott dans un LBA

Fig 7 : Kystes de *Pneumocystis jirovecii* dans un liquide de LBA sur le BOT

Fig 8 : kystes de *Pneumocystis jirovecii* en immunofluorescence Indirecte

Fig 9 : Répartition des cas de pneumocystose en fonction du sexe.

Fig 10 : Répartitions annuelle du nombre des prélèvement

Fig11 : Répartition des demandes selon la nature de prélèvement

PLAN

INTRODUCTION.....	7
PARTIE THEORIQUE DONNEES GENERALES SUR LA PNEUMOCYSTOSE	8
I–Rappel historique	9
II–Epidémiologie :	10
A–Agent pathogène	10
B–Répartition géographique	18
C–Réservoir	18
D–Mode de transmission	19
E–Facteurs de risques	20
III–Description clinique de la pneumocystose	21
A–Pneumocystose pulmonaire	21
B–Pneumocystose extra–pulmonaire :.....	22
IV–Diagnostic biologique :.....	23
A–Diagnostic mycologique	23
1–Prélèvement :	23
2–Examen direct	24
B– Diagnostic immunologique : Immunofluorescence directe (IFD).....	27
C– Diagnostic sérologique	28
D– Diagnostic anatomopathologique : (Cytologie)	28
E– Apport de la biologie moléculaire : polymérase chain reaction (PCR)	28
F– Examens biologique non spécifiques :.....	29
V–Imagerie médicale	31
A–Tomodensitométrie (TDM) :	31
B–Scintigraphie au gallium	31
VI –TRAITEMENT	31
A–Traitement spécifique :.....	31

B-Traitements adjuvants :	32
VII- Prophylaxie	33
A-Prophylaxie primaire.	33
B-Prophylaxie secondaire	34
PARTIE PRATIQUE	35
I-Matériels et méthodes	35
A-Période et type de l'étude	36
B-Critères d'inclusion	36
C- Collecte des données	36
D-Méthodologie d'étude	36
E-Définition des cas positifs :	37
II-Résultats	38
A-Caractéristiques épidémiologiques des patients	39
1- Age	39
2- Sexe	39
3- Services d'hospitalisation	40
4- Prévalence de la pneumocystose :	40
5- Répartition des cas de pneumocystose selon les années d'étude.	40
B- Etude des prélèvements	42
C- Etude du terrain des patients atteints de pneumocystose :	43
1-Selon le type d'immunodépression :	44
2-Selon l'association d'autres infections opportunistes :	44
D- Etude clinique et radiologique des patients de pneumocystose	44
E- Traitement	44
F- Evolution	44
III-Discussion	45

A- Caractéristiques épidémiologiques des patients atteints de pneumocystose :	46
1- l'âge.....	46
2- Le sexe.....	46
3- Prévalence de la pneumocystose :	47
B- Etude des prélèvements (Diagnostic biologique).....	49
1- Type de prélèvement	49
2- Technique de prélèvement	49
C- Etude du terrain des patients atteints de pneumocystose :.....	51
1- Selon le Type d'immunodépression.....	51
2- Selon les Infections opportunistes associées	53
D- Etude Clinique des patients atteints de pneumocystose.	54
E- Traitement :	54
F- Evolution	55
E- conclusion	56
BIBLIOGRAPHIE	58

Introduction

La pneumocystose (PPC) à *Pneumocystis jirovecii*, est une infection opportuniste responsable de pneumopathie interstitielle grave essentiellement chez les sujets immunodéprimés [1].

En dehors de l'infection VIH surtout quand le taux de CD4 est inférieur à 200/mm³. Elle survient chez les patients ayant des tumeurs solides, des hémopathies malignes essentiellement lymphoïdes, les patients greffés de moelle, et ceux recevant des immunosuppresseurs au long cours pour les maladies systémiques.

Le *Pneumocystis* est un pathogène cosmopolite, opportuniste, non cultivable, classé d'abord parmi les protozoaires puis, à la lumière de ses composants génétiques et cellulaires parmi les champignons. Il a été mis en évidence chez différents animaux puis chez l'homme avec une spécificité pour chaque espèce [1].

La pneumocystose s'est particulièrement développée à l'occasion de la pandémie du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) et a longtemps représenté une cause majeure de mortalité chez les patients contaminés par ce virus. Toutefois, l'introduction de la thérapie antirétrovirale hautement active (HAART) et de la prophylaxie primaire contre la pneumocystose a été accompagnée par des réductions objectives de la mortalité et de l'incidence de cette maladie.

La symptomatologie de la maladie étant polymorphe et aspécifique, le rôle du laboratoire de mycologie s'avère capital pour l'identification de *Pneumocystis jirovecii*.

En l'absence du traitement, la pneumocystose demeure une mycose mortelle.

L'objectif de notre étude est principalement de déterminer, les caractéristiques biologiques, cliniques, thérapeutiques et évolutives de la pneumocystose au CHU Hassan II de Fès ; ensuite de comparer nos résultats à d'autres séries issues de la littérature nationale et internationale.

PARTIE THEORIQUE

DONNEES GENERALES SUR LA PNEUMOCYSTOSE

I-Rappel historique

Pneumocystis, jirovecii, a été découvert au début du 20ème siècle par **Chagas** (1909) puis par **Carinii** (1910) qui croyaient identifier une nouvelle forme de trypanosome dans les poumons de cobayes (pour le premier), de rats (pour le second) [2].

En 1912, et à l'institut Pasteur de Paris, le couple **Delanoë** a observé ce nouvel agent dans les poumons de rats non parasités par *Trypanosoma cruzi*. Ils l'ont décrit comme étant une entité biologique différente du trypanosome [3,4]. Ils l'ont nommé *Pneumocystis carinii* « Pneumo- » en raison de son tropisme pulmonaire, « -cystis » pour sa forme caractéristique et « carinii » en hommage à Antonio Carini [5].

En 1913 Aragao a proposé de classer ce pathogène dans l'ordre des Coccidies vu qu'il présente des similarités avec *Cryptosporidium muri*. Dès lors, commence le débat controversé de l'appartenance de *Pneumocystis* au règne des parasites ou à celui des champignons.

Les premières descriptions de *Pneumocystis* chez l'homme, reviennent à Vanek et Jirovec qui l'ont isolé chez des enfants malnutris vivant en institution lors de la seconde guerre mondiale. [6]

Au cours des années 1960, le *Pneumocystis* a été reconnu comme opportuniste, se développant chez des patients immunodéprimés atteints de tumeurs solides, d'hémopathies, de lymphomes, chez des patients greffés soumis à des traitements immunosuppresseurs, et / ou à des fortes doses de corticoïdes. [7]

En 1976, Frenkel a suggéré que ces pathogènes rencontrés chez l'homme et chez le rat appartenaient à deux espèces distinctes en se basant sur les aspects phénotypiques. Il a alors proposé de nommer *Pneumocystis jirovecii* le microorganisme infectant l'espèce humaine (*jirovecii* en hommage au Docteur Otto Jirovec).

A noter que ce n'est qu'avec le développement de la pandémie de SIDA que la pneumocystose a réellement commencé à retenir l'attention de la communauté médicale. La pneumocystose étant considérée comme la première infection opportuniste majeure touchant les patients sidéens [8].

En 2005 la dénomination *Pneumocystis jirovecii* a été validée pour la forme exclusivement humaine de *Pneumocystis*. [5].

II-Epidémiologie :

A-Agent pathogène

✓ Taxonomie

Pneumocystis était longtemps considéré entant que protozoaire.

De nombreux arguments ont permis de le rapprocher des protozoaires : [9]

- La morphologie du trophozoïte de *Pneumocystis jirovecii* avec présence de caractères morphologiques typiques (Prolongements cytoplasmiques).
- Le cycle, de réplication proche de celui de certains protozoaires.
- La paroi qui contient du cholestérol plutôt que l'ergostérol ce qui explique sa résistance à l'amphotéricine B.
- L'incapacité de se développer in vitro dans des milieux de culture fongiques.
- La synthèse de novo des folates à partir de l'acide para-amino-benzoïque (PABA) comme en sont capables les protozoaires.
- Une résistance aux molécules antifongiques mais une sensibilité vis-à-vis de certains antiparasitaires comme le cotrimoxazole et la pentamidine.

Tandis qu'un certain nombre de caractères orienterait plutôt son appartenance au règne des champignons :

- D'un point de vue morphologique, une forme kystique évoquant des spores de champignons (asques) des mitochondries possédant des crêtes lamellaires et l'absence d'organites très visibles [12].
- D'un point de vue moléculaire, des homologies de structure avec les champignons. En effet, le séquençage révèle que le génome de *Pneumocystis* présente 68% d'homologie avec ceux des levures *Saccharomyces cerevisiae* [10,11].
- D'un point de vue ultra-structurel, la présence d'une paroi trilamellaire riche en chitine et en β -(1,3) -glucane visible en microscopie électronique
- une grande affinité pour les colorations argentiques [13].
- Actuellement et depuis 1999, il était devenu évident que les organismes du genre *Pneumocystis* sont des champignons, qui sont nommés selon le Code international de nomenclature botanique (CINB) [14,15].

Ainsi, *Pneumocystis jirovecii* appartient au : [16]

- ✓ Règne : Fungi
- ✓ Phylum : Ascomycotina
- ✓ Classe : Archiascomycètes
- ✓ Ordre : Pneumocystidales
- ✓ Famille : Pneumocystidae
- ✓ Genre : *Pneumocystis*

A noter que *Pneumocystis* est spécifique à l'hôte ; *Pneumocystis* des rats n'infecte pas les souris et celui de l'Homme n'infecte pas les autres espèces d'animaux et vice versa. Les études génomiques ont confirmé cette spécificité en démontrant une hétérogénéité génétique selon les différents hôtes. [17]

Ainsi Les espèces qui sont officiellement décrites sont : [18]

- *Pneumocystis jirovecii* chez l'homme.
- *Pneumocystis carinii* chez les rats.
- *Pneumocystis murina* chez les souris.
- *Pneumocystis wakefieldiae* également chez les rats.
- *Pneumocystis oryctolagi* chez les lapins.

✓ Morphologie

Les deux formes principales du cycle sont la forme trophique ou végétative (trophozoïte) et la forme kystique (l'asque).

Il existe une forme intermédiaire : le sporocyste (prékyste) qui comporte trois stades de maturation : précoce, intermédiaire et tardif [19].

[Les formes trophiques \(figure 1\) :](#)

Représentent la forme la plus fréquente dans les poumons d'individus atteints de pneumocystose [20].

Les trophozoïtes sont uninucléés amiboïdes, mesurent entre 2 et 8 μm de diamètre et sont constituées d'une paroi cellulaire mince qui apparaît dense en microscopie électronique. Ils possèdent de nombreux prolongements cytoplasmiques ou filopodes (visibles au microscope électronique) qui leur permettent de s'arrimer très étroitement aux cellules épithéliales de type I où ils se multiplient activement. C'est à partir des grands trophozoïtes que se forment les pré kystes. [21] (fig. 1).

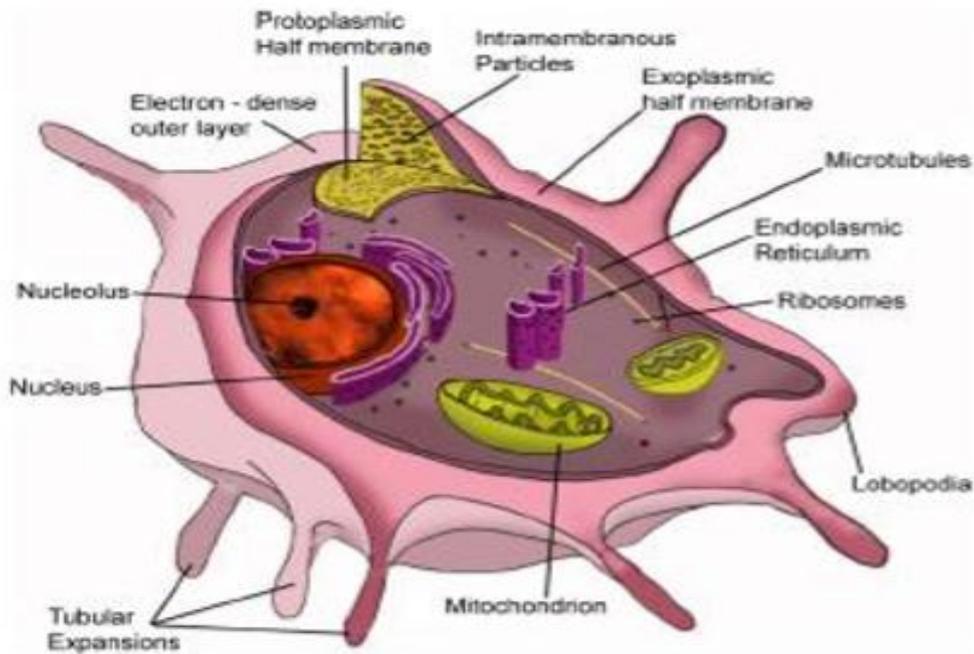


Fig.1 : Vue schématique du trophozoïte de P.jirovecii [22]

Les formes pré kystiques ou pré kystes :

3 à 6 μm de diamètre, ovoïdes, d'abord uninuclées, deviennent multinuclées (jusqu'à huit noyaux).

L'ultrastructure permet de distinguer trois stades prékystiques (précoces, intermédiaires et tardifs) en fonction du nombre de noyaux et de la structure de la paroi.

- **Kyste précoce** : le sporocyste au premier stade de son développement se présente sous une forme ronde, mononuclé, probablement diploïde et mesure en moyenne 4 μm , sa paroi cellulaire est mince et dense en microscopie électronique.
- **Kyste intermédiaire** : légèrement plus grand que le sporocyste précoce (environ 5 μm) ; le kyste intermédiaire est constitué d'au moins deux noyaux et peut en contenir jusqu'à huit.

- **Kyste tardif** : sa paroi cellulaire s'est épaissie par rapport au sporocyste intermédiaire, cet ultime stade de sporocyste est doté de huit noyaux.

Les formes kystiques ou kystes matures (Fig.2, Fig.3) :

Mesurent entre 4 et 7 μm de diamètre.

Éléments infectants probables, ont une structure sphérique, contiennent huit corps intra kystiques (sporozoïtes) bien individualisés, uninucléés, qui deviendront des trophozoïtes.

Sa surface est plus lisse et ne possède que de rares filopodes.

Les kystes vides qui ont libéré les corps intra kystiques ont une forme en ballon dégonflé caractéristique [21,22].

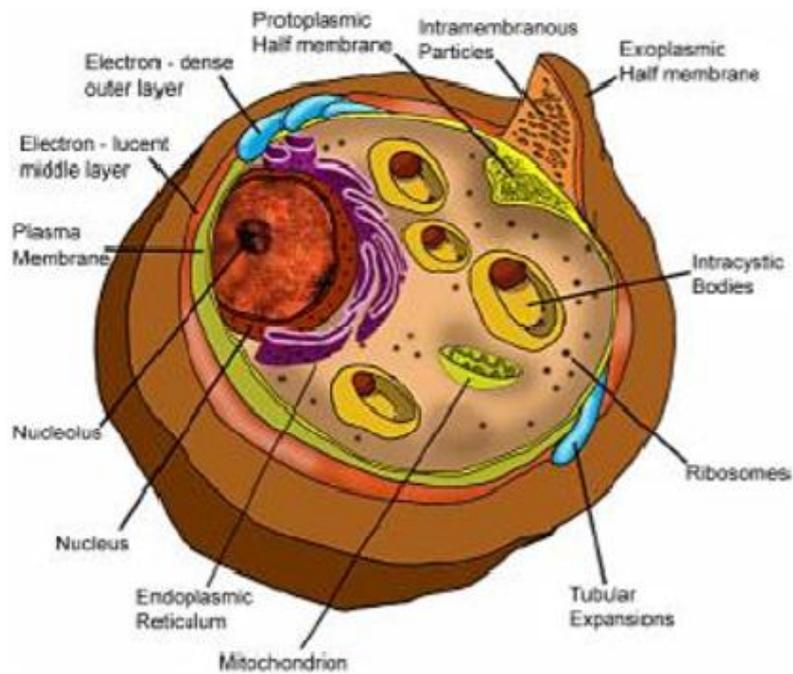


Fig.2 : Vue schématique du kyste de P.jirovecii [22]

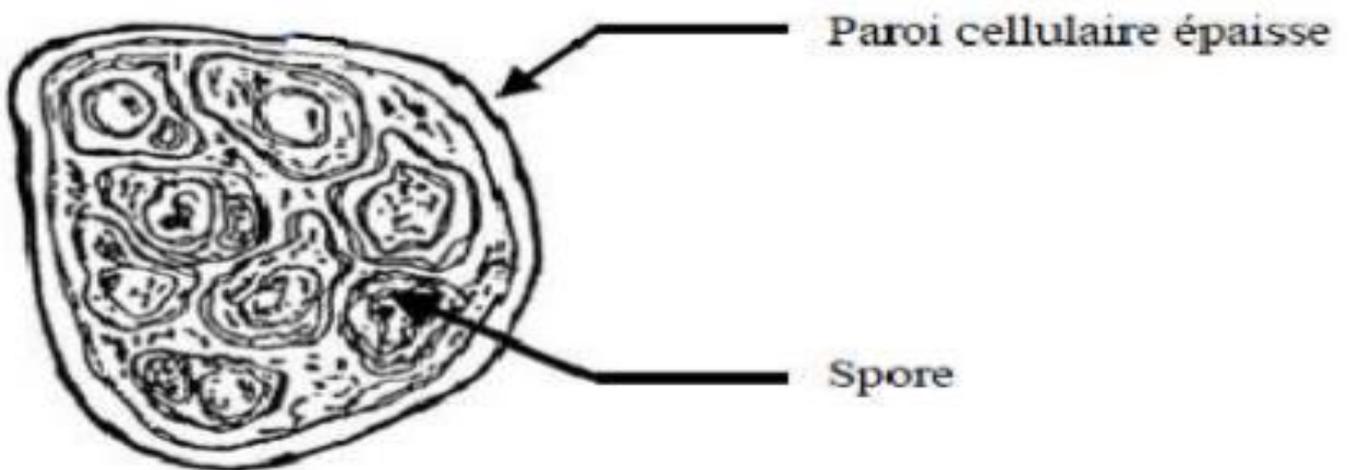


Figure 3- Disque de Pneumocystis jirovecii [5]

✓ Cycle biologique

Du fait de l'impossibilité d'avoir durablement des cultures viables de *Pneumocystis jirovecii*, les connaissances sur son cycle biologique reposent sur des observations en microscopie électronique traditionnelle à partir, principalement, des poumons de mammifères infectés.

Le cycle de *Pneumocystis jirovecii* semble être constitué d'une phase asexuée et d'une phase sexuée intervenant en alternance in vivo. [23]

Dans le cycle asexué : Les trophozoïtes proviennent directement du kyste mature, chaque kyste peut contenir jusqu'à huit corps intrakystiques sphériques, qui donnent huit trophozoïtes.

Le trophozoïte initial haploïde réplique son contenu nucléaire et se divise par fission binaire ou endodyogenèse.

Contrairement à la majorité des champignons, le mode de réplication par bourgeonnement n'a jamais, à ce jour, été observé chez aucune espèce de *Pneumocystis*. [23].

Dans le cycle sexué : deux trophozoïtes peuvent se conjuguer aboutissant à la formation d'une cellule diploïde qui commence un processus de division méiotique (prékyste précoce prékyste intermédiaire) suivi d'une mitose formant une grande cellule sphérique avec huit noyaux (prékyste tardif).

Plus tard, ce prékyste subit un processus de délimitation donnant huit corps intrakystiques (kyste mature).

Libérés du kyste, les jeunes trophozoïtes s'attachent intimement aux cellules épithéliales alvéolaires de type 1 situées à proximité des vaisseaux capillaires par l'intermédiaire de leurs filopodes, et commencent leur développement.

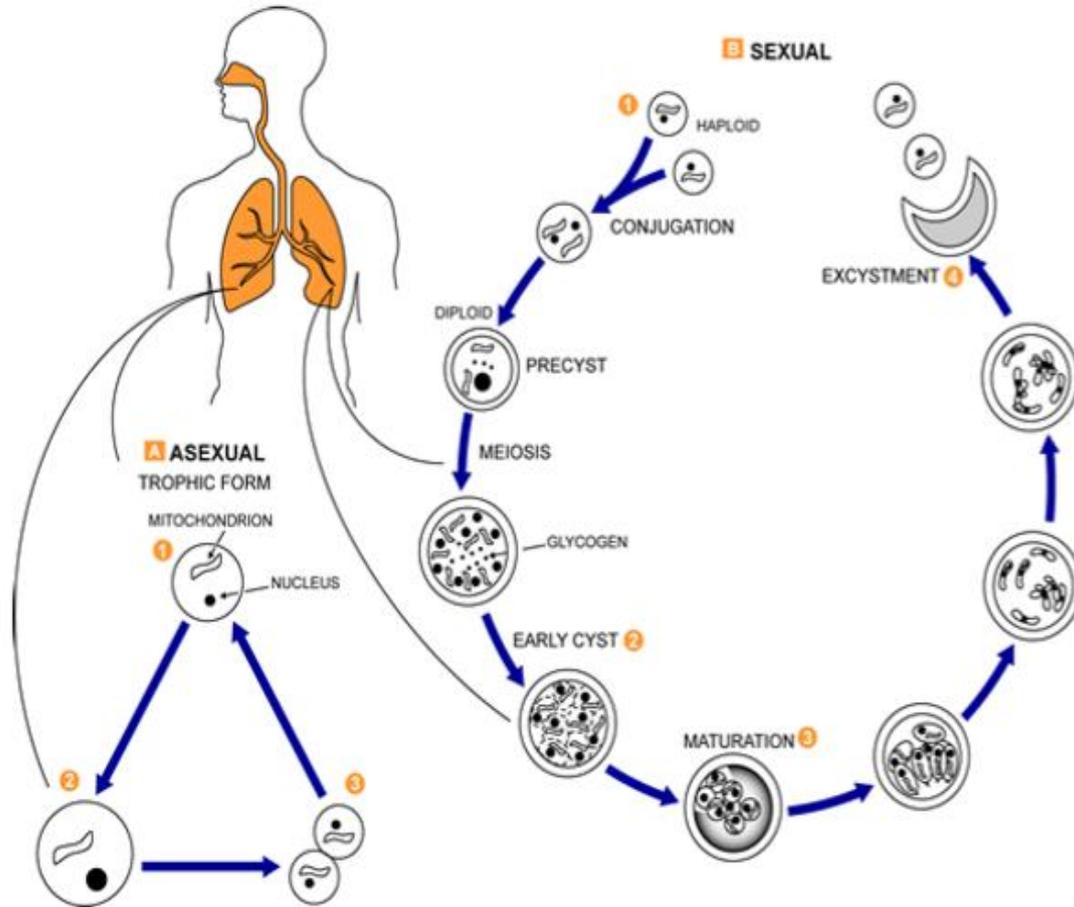


Figure 4 : A- cycle asexuée : 1. Forme végétative (trophozoïte) - 2. 3. Réplication par mitose

B- cycle sexuée : 1. Forme végétative (trophozoïte) - 2. Prékyste - 3. Kyste mature
 - 4. Kyste vide

B-Répartition géographique

Pneumocystis jirovecii est ubiquitaire et signalé dans le monde entier. Les premiers cas d'épidémie de pneumocystose humaine ont été rapportés chez des nourrissons malnutris en Europe de l'Est après la seconde guerre mondiale.

Des cas sporadiques sont ensuite signalés dans le monde entier chez les prématurés et les patients immunodéprimés [21].

C-Réservoir

✓ Réservoir environnemental

L'ADN de *Pneumocystis jirovecii* a été détecté dans l'air en milieu rural [24], hospitalier [25], dans des animaleries et aussi dans de l'eau [26].

Bien qu'un réservoir environnemental soit envisageable, il est nécessaire de poursuivre et d'approfondir les investigations afin d'évaluer la viabilité et l'infectiosité des formes détectées, et de préciser la nature des formes infectantes du champignon.

✓ Réservoir humain

Les techniques de biologie moléculaire ont permis la mise en évidence de l'ADN de *Pneumocystis jirovecii* dans des prélèvements respiratoires provenant de patients ne présentant aucun signe de pneumocystose. Ces études suggèrent l'existence de porteurs sains du champignon, c'est-à-dire de patients colonisés.

Les taux de colonisation rapportés dans les études sont variables et dépendent des techniques de détection utilisées et des populations étudiées.

D-Mode de transmission

✓ Transmission horizontale :

La transmission aérienne a été démontrée chez les modèles animaux et l'on suppose qu'elle existe aussi dans les populations humaines.

Des cas groupés de pneumocystose pulmonaire en milieu hospitalier ont été observés dans des unités de pédiatrie, oncologie, soins intensifs, transplantation rénale et maladies infectieuses [27].

Plusieurs études récentes, combinant l'observation des cas groupés de pneumocystose pulmonaire au génotypage de *Pneumocystis jirovecii* chez ces patients par PCR confortent l'hypothèse d'un tel mode de transmission horizontale chez l'homme [28,29].

On accepte en général que les animaux ne constituent pas une source d'infection pour l'homme car les *Pneumocystis* des divers mammifères présentent une très étroite spécificité d'hôte.

✓ Transmission verticale :

Dans l'étude de Montes- Cano et al. 20 fœtus de mères ayant fait des fausses couches ont été analysés : l'ADN de *Pneumocystis* a été détecté par PCR dans 35 % des poumons de fœtus et 5 % des placentas [30].

La transmission in utero de *Pneumocystis* semblerait avoir lieu chez les primates (y compris l'homme) et chez le lapin, mais pas chez le rat et la souris. Cela pourrait s'expliquer par les différents types de placenta de chacun de ces mammifères [31].

Les parasites seraient véhiculés par voie hématogène mais ils pourraient aussi gagner le fœtus via le liquide amniotique. Cette voie de transmission assurerait la persistance de *P.Jirovecii* indépendamment des conditions environnementales [32].

E-Facteurs de risques

Une altération du système immunitaire semble nécessaire pour développer une pneumocystose. Plusieurs groupes de populations ont donc été repérés comme étant à risque accru de pneumocystose pulmonaire.

✓ **Population VIH positif :**

La pneumocystose a été la première et la plus fréquente des infections opportunistes décrites au début de l'épidémie du SIDA.

En effet elle est l'infection opportuniste signant le passage au stade SIDA dans 25 % des cas et la mort survient dans 10 % des cas.

Elle reste également un mode de révélation non exceptionnel de la séropositivité, malgré la prophylaxie primaire et les traitements antirétroviraux actifs.

Il faut noter que l'épidémiologie de la pneumocystose pulmonaire a changé ces dernières années. Le taux d'incidence a diminué chez les patients VIH positifs mais a augmenté chez les patients immunodéprimés VIH négatifs. [25]

✓ **Population non VIH :**

L'état immunitaire des patients VIH négatifs développant une pneumocystose, dépend en partie de facteurs liés à la maladie sous-jacente qui entraîne une immunosuppression spécifique, mais également des conséquences de traitements utilisées (corticoïdes, les médicaments cytotoxiques, drogues immunomodulatrices...) [33].

Des cas de pneumocystose ont été rapportés chez des patients avec presque tout type d'hémopathies malignes. Mais l'incidence la plus élevée se produit au cours des leucémies et des lymphomes non Hodgkiniens, le taux d'attaque étant d'environ 0,2 à 0,5% [34].

Pour les cancers solides, le risque maximal est constaté chez les patients ayant un cancer primaire ou métastatique, des taux d'infection de 0.1 % et 0,7% ont été rapportés respectivement lors du cancer de façon générale et du cancer du cerveau [35].

La prévalence de la pneumocystose lors des maladies systémiques se voit particulièrement au cours de la maladie de Wegener, elle est moins fréquente mais non négligeable au cours des autres vascularites systémiques, des myopathies inflammatoires et du lupus systémique [36].

Les transplantés d'organes solides sont souvent susceptibles de développer des pneumopathies à *Pneumocystis*. Le taux d'incidence diffère selon le type de transplantation ; il est plus élevé chez les transplantés de poumon [37].

La pneumocystose peut très rarement se produire chez des patients sans immunodéficience détectable et qui n'ont pas développé d'autres infections opportunistes.

III-Description clinique de la pneumocystose

A-Pneumocystose pulmonaire

Chez les sujets séropositifs au VIH, la forme typique est marquée par un début insidieux avec la triade : fièvre, toux sèche et dyspnée d'aggravation progressive évoluant depuis 3 semaines à 1 mois. L'auscultation est habituellement normale, contrastant avec l'importance des anomalies radiologiques ; parfois on retrouve des râles crépitants fins des bases.

Moins fréquemment, il existe une douleur thoracique, et une production d'expectorations et plus rarement, une hémoptysie et un bronchospasme ; une hypoxémie est habituelle sans dépasser 60 mm Hg dans cette forme sans insuffisance respiratoire aiguë (IRA) [38].

Des formes atypiques peuvent être observées ; avec une atteinte prédominante ou isolée des lobes supérieurs, les formes kystiques et les pneumothorax sont légèrement plus fréquents, ceux-ci étant volontiers bilatéraux et récidivants, notamment en cas de rechute de PPC.

Chez les sujets séronégatifs au VIH, la PPC s'installe selon un mode aigu avec un début brutal, le délai entre l'apparition des symptômes et le diagnostic est assez court, variant de 1 à 14 jours dans la plupart des cas.

Ces patients présentent typiquement une fièvre, dyspnée et une toux. L'examen clinique révèle souvent une tachypnée et des râles crépitants à l'auscultation pulmonaire.

B-Pneumocystose extra-pulmonaire :

Elle est rare due à une dissémination du champignon par voie sanguine, la localisation splénique est la plus fréquente mais, tous les organes peuvent être atteints.

Ces formes extra-pulmonaires de diagnostic difficile peuvent être : [39]

- Intrathoraciques extra-pulmonaires : épanchements pleuraux, atteintes péricardiques, cardiaques, diaphragmatiques ou œsophagiennes.
- Extra thoraciques : abcès hépatiques, spléniques, rénaux, atteintes gastro-intestinales, pancréatiques, cutanées, médullaires, endocrines (thyroïde, surrénale, hypophyse), exceptionnellement du système nerveux central (abcès cérébraux).

IV-Diagnostic biologique :

A-Diagnostic mycologique

Le *Pneumocystis jirovecii* n'étant pas cultivable, le diagnostic de certitude repose sur l'examen direct en mettant en évidence le micro-organisme au sein des prélèvements respiratoires.

1- Prélèvement :

- ✓ Le liquide du lavage broncho-alvéolaire (LBA)

Le LBA demeure le prélèvement de référence avec une sensibilité approchant les 100% lorsqu'il est réalisé dans de bonnes conditions [40].

Dans les formes atypiques de pneumocystose (kystes, nodules, atteintes apicales), le LBA classique n'est positif que chez 61 % des patients, la réalisation d'une endoscopie, avec LBA et brossage bronchique protégé s'avère nécessaire, et conduit au diagnostic dans plus de 95 % des cas. En cas de pneumothorax, L'analyse du liquide de drainage et le LBA fournissent habituellement le diagnostic [40].

En cas d'insuffisance respiratoire aiguë, le LBA peut être réalisé sous oxygénothérapie, voire sous ventilation assistée au masque.

- ✓ L'expectoration induite (EI)

Moins invasive mais nettement moins sensible par rapport au LBA (50%), elle est généralement effectuée en cas de refus ou de contre-indication du LBA [41].

Sa réalisation demande une technique rigoureuse nécessitant l'induction de l'expectoration par un aérosol hypertonique, à l'aide d'un kinésithérapeute et la liquéfaction du prélèvement par des mucolytiques.

A cause de la petite charge parasitaire de *Pneumocystis jirovecii* retrouvée chez les patients séronégatifs au VIH, la recherche dans l'expectoration n'est pas de pratique courante dans ce contexte, contrairement aux patients VIH positifs.

✓ Les biopsies pulmonaires :

Elles sont envisagées, lorsque les procédures moins invasives n'arrivent pas à détecter la PPC.

✓ Autres

Le diagnostic de la pneumocystose extra-pulmonaire repose sur la mise en évidence du parasite dans la biopsie de l'organe lésé (foie, rate...).

2-Examen direct

P. jirovecii est détecté dans des prélèvements respiratoires en utilisant des colorations adéquates : Imprégnation argentique de Gomori- Grocott ou d'autres techniques argentiques, le Bleu de Toluidine et la coloration panoptique type Méthanol-Giemsa.

Il est recommandé d'utiliser au moins deux colorations mettant en évidence les deux formes de *P. jirovecii* :

✓ Coloration May Grünwald Giemsa (MGG): fig 5

- Les kystes sont difficilement observables car leur paroi ne prend pas la coloration.
- Seuls les trophozoïtes sont colorés, ils se présentent sous forme d'amas avec un cytoplasme bleuté et un noyau rouge-pourpre
- Cette méthode est rapide à réaliser (20 minutes) et permet de rechercher simultanément les toxoplasmes. En revanche, les *Pneumocystis* sont difficiles à repérer, ce qui rend la lecture des lames longue et assez fastidieuse.

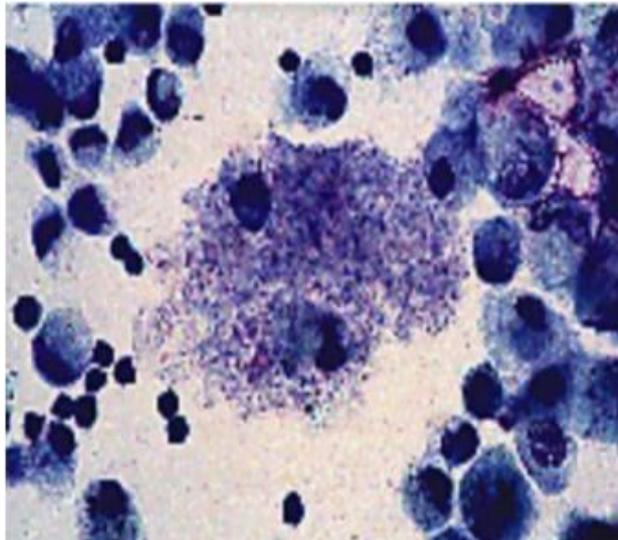


Figure 5 – Amas de Pneumocystis jirovecii dans un liquide de LBA (Giemsa) [41]

- ✓ Imprégnation argentique de Gomori- Grocott :Fig 6
- Permet la mise en évidence seulement des formes kystiques et des sporocytes.
- Les kystes sont ronds ou aplatis généralement disposés en amas, leur paroi fortement colorée en brun-noir contraste avec un fond vert.

Cette coloration présente une sensibilité assez modeste pour le diagnostic de pneumocystose, et elle peut être prise en défaut lorsque les kystes sont en faible quantité, comme c'est souvent le cas chez les patients immunodéprimés non VIH.

Il faut noter aussi que les réactifs utilisés présentent une toxicité importante.

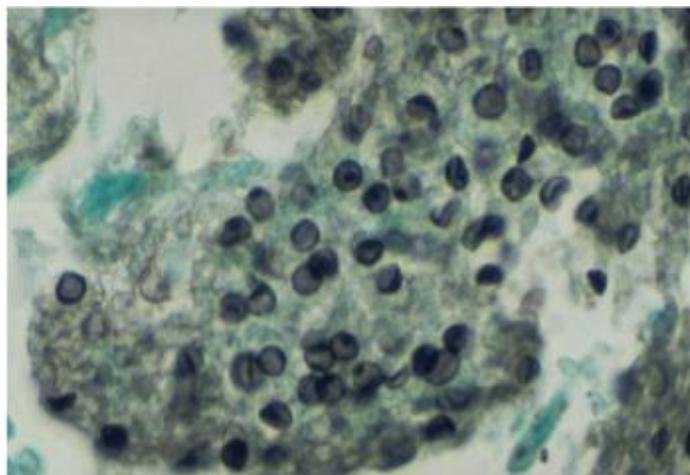


Fig.6 : kystes de *P.jirovecii* colorés par imprégnation argentique de Gomori-Grocott dans un LBA

- ✓ Imprégnation argentique de Gomori- Grocott modifiée par Musto :

C'est une imprégnation argentique rapide qui permet également de visualiser les kystes de *Pneumocystis jirovecii*. Cette technique colore la paroi fortement en brun noir et l'intérieur du kyste avec une coloration noire plus atténuée.

- ✓ Coloration au Bleu de Toluidine (BTO)

Cette technique colore la paroi des kystes qui apparaissent en bleu-violet sur un fond bleu.

À la lecture, les kystes sont généralement groupés par paquet facilement identifiés, cependant, les kystes isolés constituent une difficulté majeure d'interprétation car ils ne doivent pas être confondus avec des levures.

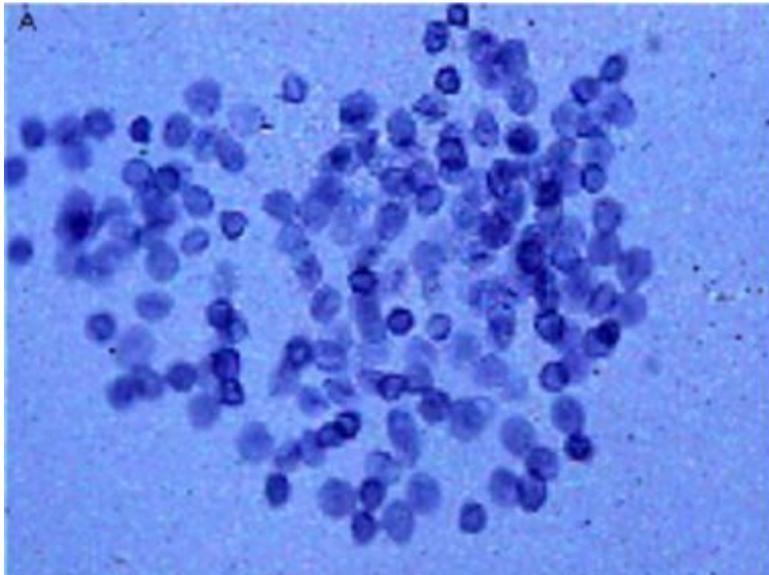


Figure 7 - Kystes de *Pneumocystis jirovecii* dans un liquide de LBA sur le BOT [42]

En générale : La spécificité du diagnostic direct (faux-positifs) est liée à l'expérience de la personne qui colore les lames et de celle qui les lit.

Les faux-négatifs sont possibles si le LBA est prélevé dans un territoire non atteint (les lobes supérieurs) ou si la charge parasitaire est très faible.

B- diagnostic immunologique : Immunofluorescence directe (IFD)

- Cette technique utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre *Pneumocystis Jirovecii*, présente une sensibilité meilleure.
- Selon les kits, les anticorps peuvent être spécifiques ou non d'un stade parasitaire.
- Les kystes apparaissent de couleurs vert pomme, plus ou moins brillants sur fond noir, ils peuvent être marqués de manière uniforme ou irrégulière.
- L'inconvénient de cette technique c'est qu'elle est longue à réaliser, de cout relativement élevé et qu'elle nécessite un lecteur averti capable de discerner les kystes de *Pneumocystis Jirovecii* au sein de la fluorescence résiduelle.

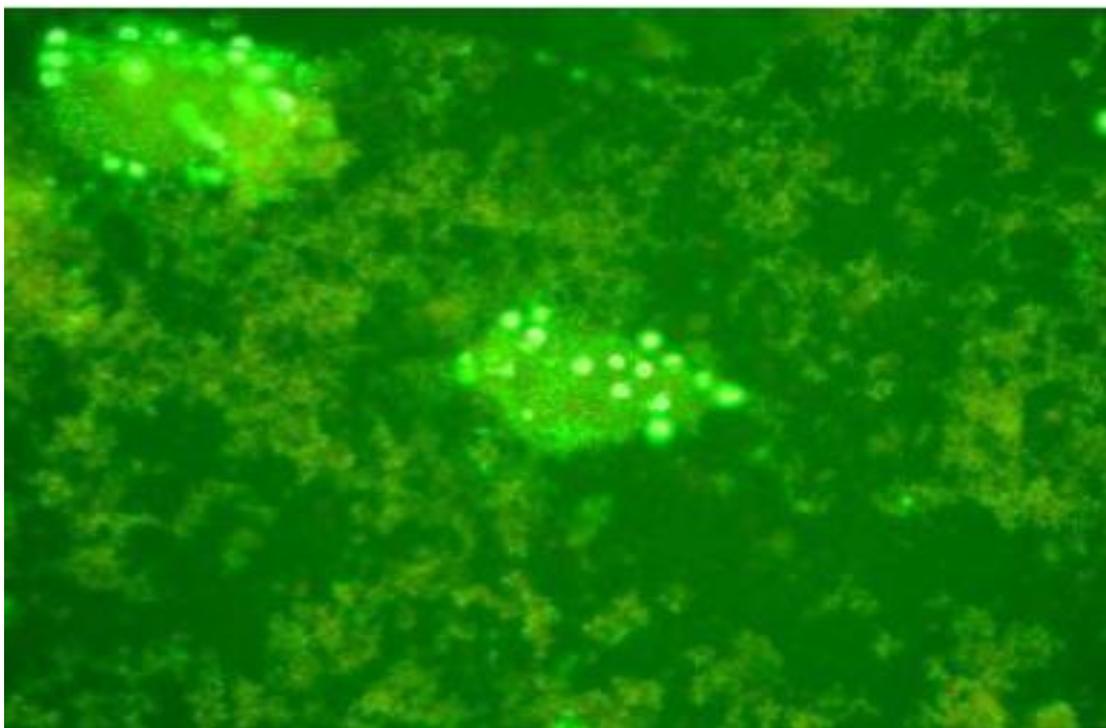


Figure 8 – kystes de *Pneumocystis jirovecii* en immunofluorescence

Indirecte [41]

C- Diagnostic sérologique :

- La séroconversion vis-à-vis de *Pneumocystis jirovecii* est précoce et fréquente.
- Le diagnostic sérologique est peu intéressant pour le diagnostic individuel mais utile pour les enquêtes épidémiologiques.
- Des anticorps sériques anti *Pneumocystis* sont détectés fréquemment chez les individus sains et, au cours de la PPC, leur taux est souvent diminué.

D- diagnostic anatomopathologique : (Cytologie)

- La pneumocystose pulmonaire se traduit par une inflammation du parenchyme pulmonaire présentant des caractères histologiques communs à l'ensemble des espèces étudiées jusqu'à présent ; en « nid d'abeilles » ou « rayon de miel » caractéristique de l'affection
- La coloration standard à l'hématoxyline-éosine-safran effectuée sur des coupes réalisées à partir de fragments de biopsie pulmonaire fixés dans le liquide de Bouin, met en évidence l'alvéolite desquamative.
- Le tissu pulmonaire présente une congestion diffuse, les cloisons Inter-alvéolaires sont épaissies et il existe un infiltrat constitué essentiellement de cellules mononuclées. Le nombre et la taille des pneumocytes de type II sont augmentés.

E- apport de la biologie moléculaire : polymérase chain reaction

(PCR)

Ces techniques de PCR ont été développées afin d'améliorer la sensibilité de détection de *Pneumocystis jirovecii* aux niveaux des prélèvements respiratoires non invasifs réservant le lavage broncho-alvéolaire (LBA) aux cas où l'expectoration induite est négative.

Néanmoins, cette stratégie, bien validée chez les patients infectés par le VIH ne semble pas pouvoir s'appliquer avec une aussi bonne sensibilité aux patients d'hématologie pour lesquels la réalisation du LBA reste nécessaire [43].

La sensibilité et la spécificité sont élevées, mais le coût de la technique limite pour l'instant son utilisation systématique en routine.

L'interprétation des résultats de PCR de plus en plus sensibles peut poser, dans certains cas, le problème de la distinction entre colonisation et infection. En effet, l'amélioration de sensibilité des PCR en temps réel permettra d'avancer dans ce sens mais il est recommandé à l'heure actuelle de proposer leur utilisation en routine [43].

F- Examens biologiques non spécifiques :

Intérêt limité dans le diagnostic de la PPC, mais certains ont une valeur pronostique.

✓ Gazométrie artérielle

On observe habituellement une hypoxie, une hypocapnie et une alcalose respiratoire.

Une PaO₂ inférieure à 50 mmHg est considérée comme facteur prédictif d'une évolution défavorable.

Un gradient alvéolo-artériel en oxygène supérieur à 30 mmHg est significativement associé à une mortalité plus importante [40].

✓ Taux de lactico-déshydrogénase (LDH)

Le taux de LDH est généralement élevé (> 220 U / l) chez les patients atteints de PPC. Il semble refléter le degré des lésions pulmonaires et devrait diminuer avec un traitement favorable, mais il est valable seulement pour les malades sans atteinte hépatique ou cardiaque concomitantes.

✓ β -glucane

Le β -glucane est un composant de la paroi cellulaire de la plupart des champignons.

Plusieurs études ont montré son utilité comme examen complémentaire, en cas de suspicion de pneumocystose pulmonaire chez des patients où le recours aux procédures invasives est impossible.

Le taux de β -glucane n'est pas associé au pronostic, et sa sensibilité est meilleure dans la population VIH positifs que dans celle des patients immunodéprimés non VIH.

Le dosage de β -glucane semble, être le marqueur sérique de pneumocystose pulmonaire le plus fiable cliniquement, avec une VPP de 61 % et une VPN de 98 %.[45].

✓ La concentration plasmatique de S- adenosylmethionine

Le taux plasmatique de la S-adénosyl méthionine s'est avéré être diminué chez les patients atteints du SIDA ayant la pneumocystose, il augmente rapidement après guérison.

Cela s'explique par le fait que *Pneumocystis* est le seul champignon connu d'être incapable de synthétiser la S adénosyl méthionine qui est un métabolite intermédiaire clé pour toutes les cellules de l'hôte, ainsi, Pneumocystis devait extraire ce composé à partir de son hôte, ce qui entraîne l'appauvrissement de la S -adénosyl méthionine chez la personne infectée.

Les limites de ce dosage sont tout d'abord son coût élevé, son appareillage spécifique nécessitant une réalisation dans un laboratoire référent, et le risque d'interférences causées par des infections pulmonaires concomitantes ou des cancers [44].

V-Imagerie médicale

A-Tomodensitométrie (TDM) :

La TDM, et surtout celle à haute résolution, est plus sensible que la radiographie du thorax pour détecter une pneumocystose pulmonaire.

Elle montre le plus souvent, des images en verre dépoli très évocatrices, diffuses parfois à prédominance périhilaire, et parfois des épaississements des septums interlobulaires réalisant un aspect de « crazy-paving ».

Ces images typiques chez un patient ne recevant pas de prophylaxie suffisent en général pour débiter un traitement avant d'avoir la confirmation du diagnostic, en particulier en contexte d'urgence [46].

B-Scintigraphie au gallium

Objective une augmentation de l'absorption pulmonaire diffuse symétrique.

Elle est très sensible (près de 100%) mais sa spécificité est faible. Le coût élevé et les deux jours de retard pour l'obtention de résultats limitent son utilisation.

VI -TRAITEMENT

A-Traitement spécifique :

Les médicaments utilisés pour traiter la pneumocystose chez les patients VIH positifs ne diffèrent pas de ceux utilisés chez les patients VIH négatifs.

✓ Cotrimoxazole :

C'est la molécule de choix pour le traitement de la pneumocystose. Il s'agit d'une association de deux anti-folates, le triméthoprime et le sulfaméthoxazole. Ce médicament est caractérisé par une excellente diffusion tissulaire, une biodisponibilité identique entre la voie orale et la voie parentérale et surtout une réponse clinique rapide. La durée du traitement est généralement de 21 jours. Le principal inconvénient de cette molécule demeure sa toxicité [47].

✓ Pentamidine :

C'est la principale alternative en cas d'allergie au Cotrimoxazole. Son efficacité est retardée en comparaison avec le cotrimoxazole. Par contre, sa demi-vie longue et son accumulation graduelle dans les poumons lui permettent de prolonger son activité au-delà de l'arrêt du traitement.

✓ Atovaquone :

Il s'agit d'une naphtoquinone qui possède un large spectre d'activité non seulement à l'encontre des protozoaires (paludisme, babésiose, toxoplasmoses) mais aussi à l'encontre de *Pneumocystis.jirovecii*. Cette molécule n'est indiquée que dans les formes modérées de pneumocystose. Elle représente une alternative intéressante pour les patients intolérants au cotrimoxazole du fait de sa moindre toxicité. Elle peut aussi être utilisée en relai oral d'un traitement par pentamidine. L'inconvénient est le coût élevé de cette molécule, environ 50 à 100 fois plus cher que le cotrimoxazole.

B-Traitements adjuvants :

✓ Corticothérapie :

Les corticoïdes sont utilisés comme traitement adjuvant en cas de formes graves de PPC définies par une PaO₂ inférieure à 70 mm Hg en air ambiant.

Cette corticothérapie adjuvante peut atténuer la réaction inflammatoire déclenchée par la dégradation et la clairance microbiennes après début du traitement ; réduisant ainsi la détérioration de l'oxygénation et l'incidence de l'insuffisance respiratoire.

Plusieurs études ont montré le bénéfice d'une telle corticothérapie sur le taux de mortalité et le recours à la ventilation mécanique, ainsi que sur la prévention de l'hypoxie majeure et de la fibrose pulmonaire. Il existe cependant un risque non négligeable de réactivation d'infections latentes (CMV, mycobactéries, herpès virus) dont il faudra surveiller l'apparition, en particulier si la corticothérapie est poursuivie pendant 21 jours [47].

✓ Ventilation assistée :

En dépit de son aspect longtemps controversé, le recours à une ventilation assistée peut être nécessaire dans les formes de pneumocystoses sévères et très hypoxémiantes ne s'améliorant pas sous ventilation non invasive.

VII- Prophylaxie

A-Prophylaxie primaire.

Il est recommandé de débiter une prophylaxie primaire chez les sidéens dès que le taux de lymphocytes CD4 est inférieur à 200/mm³. Le médicament de choix est l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (cotrimoxazole).

Plusieurs posologies sont efficaces : 1 comprimé de cotrimoxazole par jour est la posologie recommandée [47].

Outre son excellente efficacité, le triméthoprime-sulfaméthoxazole présente l'avantage de prévenir d'autres infections telles que la toxoplasmose ou les infections bactériennes des voies aériennes, ce qui justifie sa prescription en première intention.

En cas d'intolérance ou d'effets secondaires graves, plusieurs stratégies sont envisageables : soit diminuer les posologies ou la fréquence des prises du cotrimoxazole, soit le réintroduire à doses progressives (désensibilisation), si les effets indésirables persistent, il est justifié de recourir à d'autres traitements ; la dapsons, l'atovaquone, ou encore la pentamidine en aérosol mais dont l'efficacité est moindre.

L'arrêt de cette prophylaxie primaire est envisageable quand le taux de lymphocytes CD4 devient supérieur à 200/mm³ plus de trois mois d'affilée.

Récemment, D'Egidio et al. ont suggéré qu'un taux de CD4+ inférieur à 200/mm³, n'entraînait pas obligatoirement la réintroduction d'une prophylaxie anti-Pneumocystis, en l'absence de répllication du VIH [48].

B-Prophylaxie secondaire

Elle concerne les patients ayant des antécédents de pneumocystose, afin de prévenir le risque de rechute ou de récurrence.

Théoriquement, cette prophylaxie est maintenue à vie, mais une interruption de la prophylaxie secondaire est possible chez les patients VIH+ répondant aux anti-rétroviraux. Ainsi, elle pourra être interrompue chez les patients dont le taux de lymphocytes CD4 est supérieur à 200/mm³ pendant plus de 3 mois.

La survenue d'une pneumocystose malgré un taux de lymphocytes CD4 supérieur à 200/mm³ justifie le maintien à vie d'une prophylaxie [49].

PARTIE PRATIQUE

MATERIELS ET METHODES

A-Période et type de l'étude

Le présent travail est une étude rétrospective descriptive réalisée au service de Parasitologie Mycologie du CHU Hassan II de Fès. Elle est étalée sur une période de 4 ans et 04 mois depuis le mois 10/2015 au mois 01/2020.

B-Critères d'inclusion

Ayant été inclus tous les cas de pneumocystose hospitalisés au sein des différents services du même hôpital. Durant cette période 75 prélèvements respiratoires ont été parvenu au service de parasitologie et mycologie à la recherche de *Pneumocystis Jirovecii*. 12 se sont révélés positifs.

C- Collecte des données

Les données exploitées au cours de ce travail ont été recensé à partir des registres tenus à jour au Service de Parasitologie Mycologie du CHU Hassan II de Fès.

Les paramètres suivants ont été notés : l'âge, le sexe la nature du prélèvement le service de provenance et le résultat de l'examen microscopique. Le reste des renseignements cliniques (ATCD, histoire de la maladie, examen radiologiques, traitement...) ont été récolté à partir du dossier d'hospitalisation de chaque malade.

D-Méthodologie d'étude

Pour chaque prélèvement respiratoire reçu, nous avons réalisé une centrifugation. Par la suite nous avons effectué à partir du culot des frottis sur lames qui seront colorés par deux techniques différentes de coloration : MGG et bleu de toluidine. La lecture se fait au microscope à l'objectif 100 à l'immersion.

La technique d'immunofluorescence directe était également réalisée, elle utilise des anticorps monoclonaux marqués à la fluorescéine qui se lient spécifiquement aux *P.jirovecii* de l'échantillon . La lecture se fait au microscope à fluorescence. Les kystes de *P.jirovecii* à paroi épaisse sont fluorescents d'un vert pomme brillant, contrastant avec l'arrière fond brun rougeâtre. Les organismes peuvent être seuls ou plus fréquemment en grappes incluses dans une membrane extracellulaire aussi colorée.

E-Définition des cas positifs :

Un prélèvement positif se traduit

- ✓ Sur la coloration MGG : par la présence de trophozoïtes de *P.jirovecii* qui apparaissent sous forme d'éléments ovalaires à noyaux violets et limites floues regroupées en amas d'aspect spumeux d'identification difficile.
- ✓ Sur la coloration de bleu de toluidine : par la présence de kystes de *P.jirovecii*, regroupés en amas .Leur paroi est bien colorée. Parfois présence de kystes vides plissée en parenthèse.

RESULTATS

A- Caractéristiques épidémiologiques des patients

1- Age

L'âge moyen des sujets ayant été diagnostiqués positifs était de 43,5 ans avec des extrêmes allant de 25 ans à 60 ans.

L'âge moyen des patients VIH positifs était de 42 ans, alors que l'âge moyen des patients non VIH était de 40 ans.

2- sexe

Le nombre de sexe féminin est égal à celui du sexe masculin avec 06 femmes et 06 hommes. Soit un sexe ratio de 1 figure 1

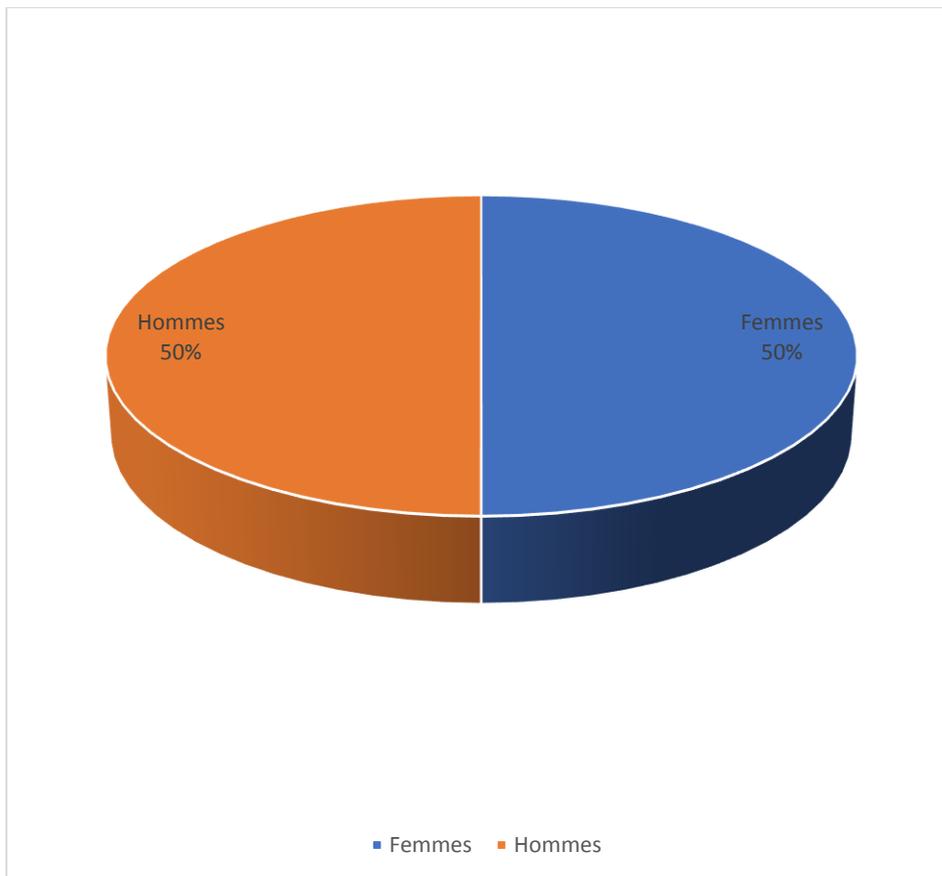


Figure 9: répartition des cas de pneumocystose en fonction du sexe.

3- Services d'hospitalisation

Tableau 1 : Répartition des cas de pneumocystose en fonction des services d'hospitalisation

Service	Nombre de cas	Pourcentage
Médecine interne	6	50%
Pneumologie	5	42%
Néphrologie	1	8%

D'après le tableau 1 ; le service de médecine interne est le plus concerné avec un pourcentage de 50%.

4- Prévalence de la pneumocystose :

Parmi les 75 prélèvements respiratoires examinés, *Pneumocystis jirovecii* a été mis en évidence chez 12 malades, soit une prévalence globale de 16% de pneumocystose chez la population étudiée.

Parmi les 12 patients atteints de pneumocystose 03 patients étaient séropositifs au VIH. La pneumocystose n'était pas révélatrice du virus dans aucun cas, elle compliquait le stade SIDA maladie chez les 03 malades. Les 09 autres cas de pneumocystose étaient des patients immunodéprimés séronégatifs au VIH.

5- répartition des cas de pneumocystose selon les années d'étude.

La répartition annuelle du nombre de demandes de recherche de *Pneumocystis jirovecii* et du nombre de cas positifs de PPC entre octobre 2015 et janvier 2020 est représentée dans la figure suivante.

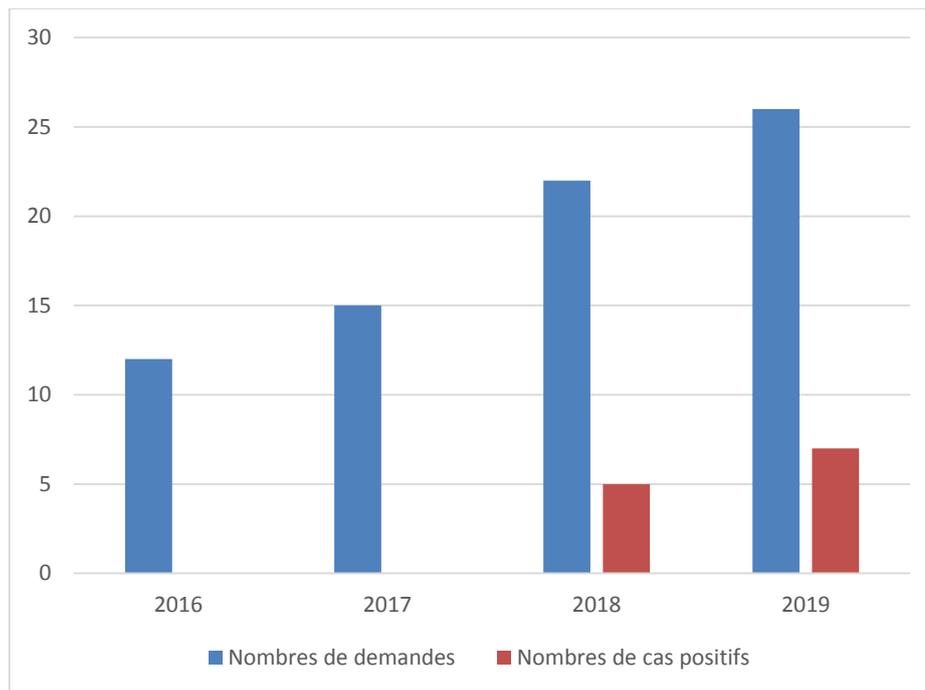


Figure 10 : Répartitions annuelle du nombre des prélèvement

Selon la figure précédente on constate que tous les cas positifs de notre série étaient repartis entre 2018 et 2019. Et que l'année 2019 a enregistré le plus grand nombre de demandes avec 26 prélèvements.

B- Etude des prélèvements

Les 75 prélèvements acheminés au laboratoire à la recherche de *pneumocystis jirovecii* durant la période d'étude ; étaient répartis en 58 crachats ,13 lavement broncho-alvéolaire (LBA) 3 expectorations induites et 1 prélèvement distal protégé (PDP).

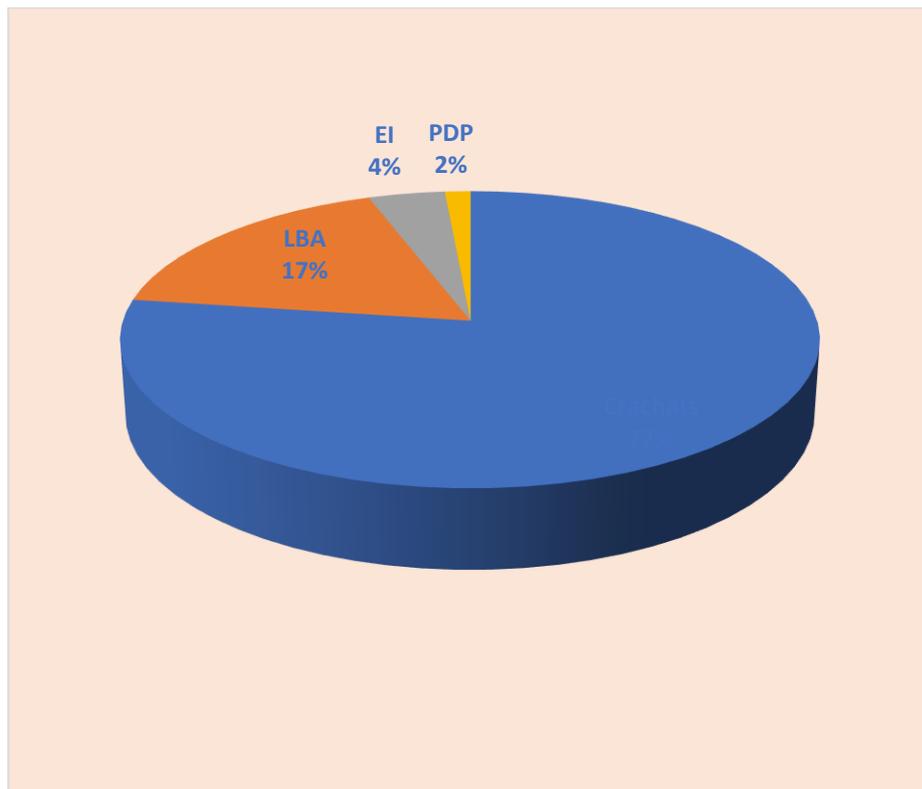


Figure 11 : Répartition des demandes selon la nature de prélèvement

En ce qui concerne les cas positifs, la pneumocystose a été diagnostiquée 10 fois dans les crachats, et 2 fois dans le LBA.

L'examen direct du prélèvement après coloration au MGG, et au Bleu de Toluidine associé parfois à l'immunofluorescence directe, a permis, le diagnostic de la pneumocystose chez les 12 patients.

C– Etude du terrain des patients atteints de pneumocystose :**1–Selon le type d'immunodépression :**

La pneumocystose était survenue sur un terrain d'immunodépression chez les 12 cas. Aucun cas de patient immunocompétent n'a été mentionné.

Les maladies sous-jacentes responsables de l'immunodépression se répartissaient en 05 groupes :

- ✓ VIH positif : 3 cas (25 %) ;
- ✓ Tuberculose pulmonaire : 2 cas (17 %) ;
- ✓ Hémopathies malignes : 5 cas (42%) avec 3 cas de Leucémie Aigüe, 1 cas de Leucémie Lymphoïde Chronique et 1 cas de Myélome Multiple.
- ✓ Atteinte rénale : 1 cas (8%) : Insuffisance rénale rapidement progressive

Maladie de système : 1 cas (8%) (LED avec atteinte dermatologique hématologique et rénale.)

Tableau 2 : Répartition des cas de pneumocystose en fonction de type d'immunodépression.

Type d'immunodépression	Nombre de cas	Pourcentage
Infection rétrovirale (VIH)	3	25%
Hémopathie maligne	5	42%
TB pulmonaire	2	17%
IRRP	1	8%
Maladie de système	1	8%

2- Selon l'association d'autres infections opportunistes :

L'association avec d'autres infections opportunistes a été constatée chez 05 sujets soit une prévalence de 42% :

- Deux patients avaient une candidose digestive et buccale associées à la pneumocystose ;
- Un patient avait une sérologie aspergillaire positive associée à la pneumocystose ;
- Deux patients avaient un herpes labial actif associée à la pneumocystose.

D- Etude clinique et radiologique des patients de pneumocystose

Les signes cliniques ont été dominés par la dyspnée la toux productive et la fièvre. La triade fièvre + toux + dyspnée a été 08 malades.

Tous les malades ont bénéficié au moins d'une radiographie pulmonaire. Qui a montré un syndrome alvéolo interstitiel bilatéral diffus. 07 patients ont bénéficié d'une TDM thoracique objectivant un aspect en verre dépoli en faveur d'une pneumocystose.

E- Traitement

Le traitement a consisté en l'association Triméthoprime- Sulfaméthoxazole chez tous les patients. La corticothérapie orale a été reçue par 06 patients.

Les traitements responsables de l'immunosuppression étaient variés et souvent associés.

F- Evolution

L'évolution a été marquée par 08 guérisons et 02 décès, alors que 02 patients ont été perdus de vue.

DISCUSSION

A-Caractéristiques épidémiologiques des patients atteints de pneumocystose :

1-l'âge

La moyenne d'âge dans la population étudiée était de 43,5 ans. Elle est comparable à la série de Marrakech (Maroc) [50], et aussi à l'étude du Réseau francilien de pneumocystose à Paris, incluant 751 patients VIH positifs et négatifs, [51] avec des moyennes d'âge de 46 et 47 ans respectivement.

La variation de l'âge moyen d'une série à l'autre peut être attribuée au nombre d'adultes et d'enfants, que contient chaque étude ; moins on a d'enfants plus l'âge moyen est élevé, dans notre série, il n'y a aucun enfant. Toutefois dans une étude polonaise, [52] la fréquence de la survenue de *Pneumocystis jirovecii* chez un groupe d'enfants âgés entre 1 et 6 ans, était plus élevée par rapport aux deux autres groupes constitués d'adultes jeunes (20 – 45 ans) et âgés (60 ans et plus).

La variation d'âge pourrait être due également au fait que l'étude soit menée sur des patients VIH positifs seulement ou des patients VIH négatifs seulement, ou bien sur les deux.

Plusieurs études de la littérature, [53,51] ont rapporté que les patients VIH négatifs, faisant la pneumocystose, sont significativement plus âgés que les patients VIH positifs, cela concorde avec notre série avec un âge moyen des patients non atteints de VIH de 44 ans alors que l'âge moyen chez les patients VIH positifs est de 40 ans.

2-Le sexe

Dans notre série, le nombre de sexe masculin est égal à celui du sexe féminin, nos résultats concordent parfaitement avec l'étude de Rabat (4 femmes et 4 hommes) [54]. Ces résultats sont également proches de la série de Malawi [55], dont les nombres des deux sexes sont quasiment égaux (9 hommes pour 8 femmes).

Une prédominance masculine était constatée dans la plupart des études dans la littérature aussi bien chez les sujets séropositifs au VIH que chez les sujets séronégatifs. [51,56,57].

Chez notre population on ne trouve que des hommes chez le groupe des patients VIH positifs, par contre chez le groupe des patients VIH négatifs, on constate une prédominance féminine avec 6 femmes et 3 hommes et un sexe ratio H/F de 0,5. Ces résultats rejoignent partiellement celles du Réseau Francilien de pneumocystose avec un sex-ratio de 2,7 chez les patients VIH positifs et 1,6 chez les patients VIH négatifs. Cela pourrait être liée à la prévalence élevée de la séropositivité au VIH chez l'homme.

A noter qu'il n'existe pas de différences statistiques observées concernant le sexe chez le groupe des enfants infectés par *Pneumocystis jirovecii* [52].

3-Prévalence de la pneumocystose :

Dans les pays en développement, la fréquence de la pneumocystose est variable allant de 3% en Afrique à 47 % au Viêt Nam [58] En France, la pneumocystose reste la pathologie opportuniste la plus fréquent.

L'introduction des prophylaxies systématiques, puis surtout des thérapies ARV, ont permis de faire chuter de façon spectaculaire le nombre de cas de pneumocystose chez les patients infectés par le VIH en Europe et aux États-Unis.

Durant la période de notre étude la prévalence était de l'ordre de 16% (12/75) sur 4 ans. Cette valeur est proche de celle trouvée dans la série de Marrakech : 15 cas sur 4 ans [50]. Mais plus élevée que celle constatée à rabat : 9,3% (8/86) [54]

Dans une étude multicentrique sur 3 ans, N.Peron et al. ont recensé 321 cas de pneumocystose chez des patients non infectés par le VIH dans 17 CHU à paris [59].

En Afrique la prévalence élevée de pneumocystose peut être expliquée par le pourcentage élevé des sujets infectés par le VIH.

Tableau 3 : Prévalence de la pneumocystose selon différentes études

	Nombre de cas de PCP diagnostiqués	Durée d'étude (ans)
Notre série	12	4
Marrakech [50]	15	4
Rabat (ibn Sina) [54]	8	10
La Rabta, Tunis, Tunisie [60]	14	3
Afrique du sud [61]	120	3
France N Peron et al [59]	321	3

B- Etude des prélèvements (Diagnostic biologique)

1 – Type de prélèvement

Dans la plupart des études qui s'intéressent à la pneumocystose [60] [61], le diagnostic a été effectué sur les LBA et les crachats en plus d'autres types de prélèvements respiratoires.

Toutefois dans la série de Hong-Kong [62], et dans une étude multicentrique en France [59], seulement le LBA était utilisé pour la recherche de *Pneumocystis jirovecii*

Dans la série du Taiwan [56], le seul prélèvement utilisé pour le diagnostic de la pneumocystose était les crachats.

Malgré que le LBA soit le prélèvement de référence pour le diagnostic de la pneumocystose, le nombre de crachats que nous avons reçu durant la période de notre étude est très élevé par rapport au nombre de LBA (58/13). Ceci peut être dû au fait que le LBA est un geste invasif.

Le diagnostic a été porté sur les crachats chez tous les malades séropositifs au VIH dans notre série, ceci peut être expliquée par la charge fongique importante chez ces malades souvent diagnostiqués à un stade avancé de leur maladie.

2 – -Technique de prélèvement

Les techniques de diagnostic de la PCP diffèrent d'une série à l'autre. Certaines études ont utilisé les techniques microscopiques conventionnelles comme la coloration au MGG, au Bleu de Toluidine, au Gomori-Grocott, ou l'examen en immunofluorescence directe [59] [63]. D'autres ont utilisé des techniques de biologie moléculaire comme la PCR en temps réel ou la PCR en point final, c'est le cas de la série de Shu-Li Yang et al. Réalisée sur des patients non VIH au Taiwan [63]. Et de la Tunisie. [60].

En ce qui concerne notre série le diagnostic de la pneumocystose a été retenu par la mise en évidence de *P. jirovecii* à l'examen direct en utilisant deux colorations associées : MGG et bleu de toluidine, ainsi que l'immunofluorescence directe (IFD) dans certains cas.

Le Réseau francilien de surveillance de la pneumocystose avait comme critère de déclaration de cas positifs, la détection de *Pneumocystis* dans un liquide de lavage bronchoalvéolaire (LBA) par une au moins des techniques microscopiques conventionnelles : coloration de Giemsa ou Bleu de Toluidine ou imprégnation argentique et/ou immunofluorescence. [51]

Parmi les études qui comparent les techniques de coloration à la PCR pour la détection du *Pneumocystis* on trouve celle de Kaouech et al. [60]. en Tunisie qui montre une sensibilité de la PCR de 93% contre une sensibilité de 33 % des techniques de colorations (MGG et G-G). En effet ces résultats rejoignent ceux de la littérature avec une sensibilités de la PCR qui varie de 87 à 100 %, alors que celle des techniques de coloration est comprise entre 25 et 67 %. [65].

La faible sensibilité des méthodes de coloration pourrait être expliquée par une lecture difficile quand les prélèvements sont pauci parasités ou quand ils sont superficiels et riches en artéfacts (mucus, germes, levures ou hématies). Néanmoins, nous devons souligner la grande spécificité que gardent ces techniques comparées à celle de la PCR (100%vs88,7 %).

En résumé, la référence reste aujourd'hui l'immunofluorescence dans le LBA ou l'expectoration induite chez les patients infectés par le VIH. La place de la PCR chez ces patients reste assez limitée car les techniques d'immunofluorescence permettent en général de faire le diagnostic sur les prélèvements respiratoires. L'association de moyens diagnostiques non invasifs (PCR sur lavages oropharyngés, b-D-glucane) mérite d'être évaluée, notamment en pédiatrie et chez les patients n'expectorant pas ou dont l'état respiratoire ne permet pas la réalisation du LBA.

C- Etude du terrain des patients atteints de pneumocystose :

1-Selon le Type d'immunodépression

L'étude du réseau francilien de pneumocystose, met en évidence une diminution du taux du groupe des patients séropositifs au cours des cinq années d'étude de 65% à 55 %, alors que la proportion des patients VIH négatifs a connu une progression ; elle était à 25 % en 2003 et 2004, 30 % en 2005, 39 % en 2006 et 41 % en 2007 [51].

Selon l'étude effectuée au états unis et incluant 312 411 hospitalisations pour pneumocystose liée au VIH survenues entre 1986 et 2005, 31 % des cas se situaient entre 1986—1989, 17 % entre 1990—1995 et seulement 7 % après 1996. Pendant ces trois périodes, la mortalité était de 21 %, 16 % et 7 % respectivement [66].

la diminution de l'incidence de la pneumocystose chez les patients infectés par le VIH, pourrait être expliquée par l'amélioration de la prise en charge de ces patients avec les prophylaxies efficaces et les multithérapies antirétrovirales hautement actives .D'autre part l'augmentation de l'incidence de la PPC chez les patients VIH négatifs pourrait être liée à l'intensification des traitements immunosuppresseurs, à l'amélioration des moyens diagnostiques et à l'augmentation de la durée de vie des patients et du risque de transmission nosocomiale de la pneumocystose..

Tableau 4 : Répartition de la pneumocystose selon la sérologie VIH dans diverses séries.

	VIH +	VIH -	Nombre de cas
Notre série	3	9	12
RFP [51]	487	264	751
La Rabta, Tunis, Tunisie [60]	11	04	15
Ibn Sina rabat [54]	5	3	8
Soweto, Afrique du sud [61]	120	0	120
C.toper et al. France [63]	0	41	41
S. Elidrissi et al. Marrakech [50]	11	4	15
N. Peron et al. France [59]	0	321	321
A.Roux et al. France [68]	223	321	544
Shu-Li Yang et al. Taiwan [64]	14	107	121

Chez les patients non infectés par le VIH, la pneumocystose survient sur un terrain d'immunodépression le plus souvent iatrogène (thérapies immunosuppressives, corticothérapie, chimiothérapie, transplantation).

Dans notre série nous avons identifié 9 cas immunodéprimés non VIH positif, l'hémopathie maligne était la pathologie sous-jacente prédominante avec 5 cas (soit 56 %).

Fillâtre P et al. Et à l'occasion d'une étude observationnelle monocentrique ayant inclus 154 cas de pneumocystoses documentées chez des patients non infectés par le VIH, ont pu estimer l'incidence de la pneumocystose pour les principales pathologies à risque. Ils ont objectivé une incidence élevée de la PCP au cours de la périarthrite noueuse avec 93,2 pour 100000 patients par an suivie par la granulomatose avec poly angéite 71/100000 patients. Leucémie aigüe 53,3/100000 patients. Myélome Multiple 30,5/100000 patients [67].

La PCP survenant chez le patient immunodéprimé non infecté par le VIH peut être grave : elle était la cause de 4/10 décès de cause pulmonaire parmi les 182 malades ayant une hémopathie maligne, hospitalisés à Foch durant la période d'étude. Cette gravité pourrait être liée selon les auteurs à un retard diagnostic favorisé par l'absence de fièvre chez près de la moitié des malades. [63].

2-Selon les Infections opportunistes associées

La pneumocystose est souvent accompagnée d'autres infections opportunistes. Dans notre série, 41,6% des patients présentaient des infections opportunistes associées, Ces résultats sont légèrement comparables à la série de l'hôpital Ibn Sina de rabat qui révèle 75% d'infections opportunistes associées parmi les malades présentant la pneumocystose.

Selon l'étude de C.Toper et al. en France, une infection pulmonaire concomitante à la PCP a été détectée chez 29 % des malades, avec, chez certains, plusieurs pathogènes associés, sans différence significative sur la mortalité, ni lien avec la maladie sous-jacente [63].

Arend et al. ont démontré qu'une infection concomitante virale ou bactérienne touchant 35 % des patients était associée à un plus fort taux de mortalité. [39]

En Afrique du sud, d'après une étude portant sur 120 patients, 58,3% présentaient une coexistence de maladies pulmonaires [61].

Au Thaïlande, la pneumocystose était associée aux infections respiratoires bactériennes, à la tuberculose pulmonaire et aux infections fongiques dont la cryptococcose et la candidose. [53].

D- Etude Clinique des patients atteints de pneumocystose.

Les principaux signes cliniques constatés dans les différentes séries sont : la fièvre, la dyspnée et la toux. Par ailleurs Ces symptômes ne sont pas spécifiques de la pneumocystose.

La fièvre demeure le signe clinique le plus fréquemment retrouvé (90% des cas) et précède la toux sèche, la tachypnée et la dyspnée sévère.

Dans notre étude, tous les malades de la série avaient de la fièvre associée à une dyspnée ce résultat est comparable à l'étude de rabat [54], ou tous les patients étaient fébriles mais ne concorde pas avec l'étude de C.Toper et al. [63], ou 40 % des patients étaient apyrétiques lors du diagnostic de PCP.

Selon l'étude de Marrakech tous les malades présentaient une dyspnée, 86% présentaient une toux, 20% une hémoptysie [50].

Selon une étude française comparative de la pneumocystose au cours et en dehors du SIDA, la température, la fréquence respiratoire, la dyspnée, les râles crépitants étaient comparables dans les 2 groupes. En revanche la toux et une douleur thoracique sont plus fréquentes chez les patients VIH positifs.

Le mode d'installation progressif de la pneumocystose chez les patients VIH positifs, et brutal chez les patients VIH négatifs, est souligné dans plusieurs séries de la littérature [53, 56].

E- Traitement :

Le Triméthoprime-Sulfaméthoxazole est le traitement de choix décrit dans la majorité des séries, du fait de la rapidité de sa réponse clinique et la facilité de son administration. Par ailleurs il présente une toxicité élevée (près de 50 % des cas), et qui est considérablement plus fréquente chez les malades VIH positifs que chez ceux souffrant d'autres déficits immunitaires. Dans ce cas cette molécule peut être

remplacée par de l'atovaquone ou la pentamidine intraveineuse, Le Triméthoprime–Sulfaméthoxazole est souvent accompagné d'une corticothérapie adjuvante [47]

En ce qui concerne notre série, le Triméthoprime–Sulfaméthoxazole a été prescrit chez tous les patients. Six d'entre eux ont été déjà sous corticothérapie.

Selon une cohorte prospective multicentrique en France (2007 à 2010) ; Le traitement de première ligne était dans les deux groupes de VIH + et VIH –, l'association Triméthoprime—Sulfaméthoxazole (96 % et 97,5 % des patients). Ce traitement de première intention était le plus souvent modifié chez les patients VIH+ (25,5 % VS 7 %), en raison d'intolérance [68].

Une méta-analyse évaluant l'efficacité des traitements alternatifs de seconde ligne, confirme une mortalité plus élevée avec l'utilisation de la pentamidine [54].

Parmi les principales causes d'échec thérapeutique de la pneumocystose chez le sujet VIH positif rapportées dans la littérature ; c'est la résistance microbiologique du *Pneumocystis Jirovecii* au cotrimoxazole, liée à la présence de mutations au niveau du gène de la DHPS, site d'action des sulfamides. [54]. Les autres causes peuvent être la co-infection associée essentiellement à CMV, ou bien l'évolution fibrosante précoce.

F–Evolution

La plupart des études dans la littérature ont souligné la présence d'un nombre de guérisons supérieur au nombre de décès chez les patients atteints de pneumocystose. C'est le cas de notre étude où l'évolution a été marquée par 67% de guérisons 8/12.

Plusieurs études dans la littérature, ont démontré que le taux de mortalité chez les patients atteints de pneumocystose est plus élevé chez les patients VIH négatifs que chez les patients VIH positifs [56,53].

Ceci rejoint les résultats du bilan du Réseau francilien de surveillance de la pneumocystose, car parmi les 514 patients dont l'évolution clinique était connue, le taux global de mortalité était de 16% : avec 13% chez les patients VIH positifs et 26% chez les patients VIH négatifs [51].

L'influence de la thérapie antirétrovirale et la prophylaxie par les sulfamides était évalué par plusieurs études. On trouve celles qui ont constaté que la thérapie antirétrovirale combinée a amélioré la survie chez les patients infectés par le VIH avec des formes graves de PCP.

D'autre part on trouve celles qui ont montré que l'amélioration de la survie, chez les patients VIH positifs souffrant de graves PPC, était indépendante de la thérapie antirétrovirale combinée CART et reflète une amélioration générale dans la gestion des soins intensifs des insuffisances respiratoires, plutôt qu'une amélioration de la prise en charge de la PCP.

La mortalité globale de la pneumocystose reste actuellement aux alentours de 10 %, plus élevée (50 à 100 %) chez les patients admis en réanimation ventilés. Des scores pronostiques de décès ont été établi ; les patients avec le plus grand risque de décès étant les patients très hypoxémiques, plus âgés, ou usagers de drogues par voie veineuse [70].

E- conclusion

La pneumocystose est une mycose opportuniste grave, elle touche généralement les sujets immunodéprimés. En l'absence de traitement elle peut engendrer le pronostic vital. Ainsi devant des signes pulmonaires, un diagnostic précoce s'avère nécessaire chez les malades à (risque.

Le LBA est le prélèvement de référence pour le diagnostic de la pneumocystose, il présente une sensibilité beaucoup plus élevée que les autres prélèvements pour la mise en évidence de *Pneumocystis jirovecii*

Ce travail souligne la nécessité de faire un plan d'action pour identifier les facteurs de risques chez les patients immunodéprimés afin d'instaurer une antibioprophylaxie permettant de réduire le taux d'incidence de pneumocystose. Il faut également maintenir d'importants efforts afin de favoriser et développer le diagnostic précoce de la pneumocystose.

BIBLIOGRAPHIE

- [1]. Rev Med Suisse 2010; 6:1922–1925
- [2]. Chagas C. Nova tripanozomíase humana : estudo sobre a morfologia e o evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. Mem Inst Oswaldo Cruz (1909) 1, 159–218
- [3]. Catherinot E, Lanternier F, Bougnoux ME, Lecuit M, Couderc LJ, Lortholary O. *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. Infect Dis Clin N Am (2010) 24, 107–138
- [4]. Delanoë P, Delanoë M. Sur les rapports des kystes de carinii du poumon des rats avec le *Trypanosoma lewisi*. C.R. Acad. Sci. (Paris) (1912) 155, 658–660
- [5]. Aliouat-Denis MC, Chabé M, Demanche C, Aliouat EM, Viscogliosi E, Guillot J, Delhaes L, Dei-Cas E. *Pneumocystis* species, co-evolution and pathogenic power. Infect Genet Evol (2008) 8, 708–726
- [6]. Khellaf M, Godeau B. Pneumocystose au cours des maladies systémiques. La Presse Médicale 2009 ; 38 (2):251–259.
- [7]. Roux P, Latouche S. Épidémiologie moléculaire de la pneumocystose humaine. Médecine et Maladies Infectieuses 1999;29(12):733–738.
- [8]. FOLLANSBEE, S. E., BUSCH, D. F., WOFSY, C. B., COLEMAN, D. L., GULLET, J., AURIGEMMA, G. P., ROSS, T., HADLEY, W. K. et DREW, W. L. An outbreak of *Pneumocystis carinii* pneumonia in homosexual men. Ann Intern Med, 1982, 96, 6 Pt 1, 705;
- [9]. Chabasse D. Classification des champignons d'intérêt médical. Encycl Méd Chir, Maladies infectieuses, 8-088-B-10, 2008.
- [10]. Edman JC, Kovacs JA, Masur H, et al. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. Nature 1988;334(6182):519–22.
- [11]. Stringer SL, Stringer JR, Blase MA, et al. *Pneumocystis carinii*: sequence from ribosomal RNA implies a close relationship with fungi. Exp Parasitol 1989; 68(4):450–61.

- [12]. Matsumoto Y, Matsuda S , Tegoshi T. Yeast glucan in the cyst wall of *Pneumocystis carinii*. *J Protozool* 1989 ; 36 : 21–2
- [13]. Stringer JR. *Pneumocystis carinii*: What is it, exactly? *Clin Microbiol Rev* (1996) 9(4), 489–498
- [14]. Cohen OJ, Stoeckle MY. Extrapulmonary *Pneumocystis carinii* infections in the acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med* 1991 ; 151 : 1205–1214
- [15]. Tsolaki AG, Miller RF, Underwood AP, Banerji S, Wakefield AE. Genetic diversity at the internal transcribed spacer regions of the rRNA operon isolates of *Pneumocystis carinii* from AIDS patients with recurrent pneumonia. *J Infect Dis* 1996 ; 174 : 141–156.
- [16]. Calderon EJ. Epidemiology of *Pneumocystis* infection in Human. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, 2009 ; 19(4) : 270–275.
- [17]. Gigliotti F, Harmsen AG, Haidaris CG, et al. *Pneumocystis carinii* is not universally transmissible between mammalian species. *Infect Immun* 1993;61:2886–2890
- [18]. Cushion MT, Keely SP, Stringer JR. "Validation of the name *Pneumocystis wakefieldiae*". *Mycologia* 2005; 97: 268–268.
- [19]. Cushion MT, Walzer PD, Smulian AG, Linke MJ, Ruffolo JJ, Kaneshiro ES, Stringer JR. Letters to the editor terminology for the life cycle of *Pneumocystis carinii*. *Infect Immun* (1997) 65(10), 4365
- [20]. Aliouat-Denis CM, Martinez A, Aliouat EM, Pottier M, Gantois N, DeiCas E. The *Pneumocystis* life cycle. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. (2009) 104(3), 419–426
- [21]. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (Anofel). Polycopié national de parasitologie, 3eme édition 2007 Available from :<http://www.uvp5.univparis5.fr/campusparasitologie/cycle2/default.asp?frame=sommaire>, consulté le 24 octobre 2009

- [22]. De Souza W, Benchimol M. Basic biology of *Pneumocystis carinii*: a mini review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz [online]. 2005; 100(8): 903–908
- [23]. Cushion MT. Review *Pneumocystis*: unraveling the cloak of obscurity. Trends Microbiol (2004) 12(5), 243–249
- [24]. Wakefield AE. DNA sequences identical to *Pneumocystis carinii* f. sp. *carinii* and *Pneumocystis carinii* f. sp. *hominis* in samples of air spora. J Clin Microbiol 1996;34:1754–9.
- [25]. Olsson M, Lidman C, Latouche S, Björkman A, Roux P, Linder E, et al. Identification of *Pneumocystis carinii* f. sp. *hominis* gene sequences in air filtrated in hospital environments. J Clin Microbiol 1998;36:1737–40
- [26]. Latouche S, Olsson M, Polack B, Brun-Pascaud M, Bernard C, Roux P. Detection of *Pneumocystis carinii* f. sp. in air samples collected in animal rooms. J Eukaryot Microbiol 1997; 44:46–7.
- [27]. Santiago-Delpin EA, Mora E, Gonzalez ZA, Morales-Otero LA, Bermudez R. Factors in an outbreak of *Pneumocystis carinii* in a transplant unit. Transpl Proceed 1988; 20:462–5
- [28]. De Boer MG, Bruijnesteijn van Coppenraet LE, Gaasbeek A, Berger SP, Gelinck LB, van Houwelingen HC, et al. An outbreak of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia with 1 predominant genotype among renal transplant recipients: interhuman transmission or a common environmental source? Clin Infect Dis 2007; 44:1143–9.
- [29]. Hocker B, Wendt C, Nahimana A, Tonshoff B, Hauser PM. Molecular evidence of *Pneumocystis* transmission in pediatric transplant unit. Emerg Infect Dis 2005; 11:330–2

- [30]. Montes-Cano MA, Chabé M, Fontillon-Alberdi M, de-Lahorra C, Respaldiza N, Medrano FJ, et al. Vertical transmission of *Pneumocystis jirovecii* in humans. *Emerg Infect Dis* 2009; 15:125–7.
- [31]. Carter AM, Enders AC. Comparative aspects of trophoblast development and placentation. *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2:46.
- [32]. Calderon EJ. Epidemiology of *Pneumocystis* infection in Human. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*, 2009; 19(4): 270–275.
- [33]. Bollée G., de Miranda S., Azoulay E. *Pneumocystis* Pneumonia in Non-AIDS Immunocompromised Patients. *Intensive Care Medicine Annual Update 2007*, 157–170 p.
- [34]. Pagano L, Fianchi L, Mele L, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with malignant haematological diseases: 10 years' experience of infection in GIMEMA centres. *Br J Haematol* 2002; 117:379–386.
- [35]. Sepkowitz KA. *Pneumocystis carinii* pneumonia among patients with neoplastic disease. *Semin Respir Infect* 1992; 7:114–121.
- [36]. Michel M., Godeau B. Complications infectieuses des maladies systémiques. *Réanimation*. 2005; 14(7) :621–628
- [37]. Gordon SM, LaRosa SP, Kalmadi S, et al. Should prophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia in solid organ transplant recipients ever be discontinued? *Clin Infect Dis* 1999; 28:240–246.
- [38]. Fujii T, Nakamura T, Iwamoto A. *Pneumocystis* pneumonia in patients with HIV infection: clinical manifestations, laboratory findings, and radiological features. *J Infect Chemother*. 2007;13(1):1–7.
- [39]. 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* 1995; 155 : 2436–2441.

- [40]. Stern JB, Parrot A, Cadranel J, Mayaud Ch. Infections à *Pneumocystis carinii* : clinique. Encycl Méd Chir, Maladies infectieuses, 8-591-A-10, 1996.
- [41]. Thomas CF Jr, Limper AH. *Pneumocystis pneumonia*. *New Engl J Med* 2004; 350:2487-2498.
- [42]. Roux A, Lemiale V, Kouatchet A, Vincent F, Bollee G, Roux P, Azoulay E. *Pneumocystose pulmonaire en dehors de l'infection à VIH*. *Réanimation* (2010) 19, 327-338
- [43]. Kofteridis D, Velegriaki M, Antoniou M, Papazoglou G, Anastasopoulos T, Alegakis D, et al. R2281 *Pneumocystis carinii pneumonia* in HIV-negative patients. *International Journal of Antimicrobial Agents*. March 2007 ; 29(2) : S661
- [44]. Skelly MJ, Holzman RS, Merali S. S-adenosylmethionine levels in the diagnosis of *Pneumocystis carinii pneumonia* in patients with HIV infection. *Clin Infect Dis* (2008) 46, 467-471
- [45]. Nakamura H, Tateyama M, Tasato D, Haranaga S, Yara S, Higa F, Ohtsuki Y, Fujita J. Clinical utility of serum β -D-Glucan and KL-6 levels in *Pneumocystis jirovecii pneumonia*. *Intern Med* (2009) 48, 195-202
- [46]. N. De Castro, J. Pavie, M. Lagrange-Xélot, J.M. Molina. *Pneumocystose chez les patients d'onco-hématologie : est-ce inévitable ?* *Rev Mal Respir* 2007 ; 24 : 741-50
- [47]. Lacombe K., Girard P.-M. *Traitement et prévention des infections opportunistes au cours de l'infection par le VIH : mise au point en 2004. Partie 1 : pneumocystose et protozooses*. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2004 ; 34 (60) : 239-245.
- [48]. *Pneumocystis jirovecii pneumonia prophylaxis is not required with a CD4+ T-cell count < 200 cells/ μ L when viral replication is suppressed.* *AIDS* 21: 1711-1715.

- [49]. Masur, H., J. E. Kaplan, et al. (2002). "Guidelines for preventing opportunistic infections among HIV-infected persons--2002. Recommendations of the U.S. Public Health Service and the Infectious Diseases Society of America." *Ann Intern Med* 137(5 Pt 2): 435-78.
- [50] S. Elidrissi*, S. Ait Batahar, L. Amro La pneumocystose au service de pneumologie : à propos de 15 cas Service de pneumologie, hôpital Arrazi, CHU Mohamed VI, laboratoire PCIM, Ucam, Marrakech, Maroc
- [51]. Magne D., Angoulvant A., Botterel F., Bouges-Michel C., Bougnoux M.E., Bouree P., et al. Réseau pneumocystose francilien : bilan de cinq années de surveillance (2003-2007). *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*. 2009 ; 19(4) : 290-293
- [52]. Golab E, Sadkowska-Todys M, Szkoda MT, Dzbenski TH. The occurrence of *Pneumocystis jirovecii* in people from three different age groups of Warsaw (Poland) community. *Acta Parasitologica* 2008 ; 53:106-109.
- [53]. Viboon Boonsarngsuk, Supinda Sirilak, Sumalee Kiatboonsri. Acute respiratory failure due to *Pneumocystis pneumonia*: outcome and prognostic factors. *International Journal of Infectious Diseases*. 2009 ; 13 (1): 59-66.
- [54]. Elgomri. A, 10 années : 8 cas de pneumocystose (2000-2009) . Th D Pharm, Rabat 2010 n° 74, Faculté de médecine et de pharmacie -Rabat -
- [55]. N. J. Hargreaves, O. Kadzakumanja, S. Phiri, C. -H. Lee, X. Tang, F. M. Salaniponi, et al. *Pneumocystis carinii pneumonia* in patients being registered for smear-negative pulmonary tuberculosis in Malawi. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. August 2001 ; 95 (4) :402-408
- [56]. Su YS, Lu JJ, Perng CL, Chang FY. *Pneumocystis jirovecii pneumonia* in patients with and without human immunodeficiency virus infection. *J Microbiol Immunol Infect*. 2008 Dec;41(6):478-482.

- [57]. Alleyne S, Wharin S, Perera N, Bhuller K, Fraser M. Epidemiology of Pneumocystis Jirovecii Pneumonia in Non-HIV Infected Patients in a Tertiary Care Hospital in the UK. *Journal of Infection*. 2009 ; 59(6) :S431–S432
- [58]. Vray M, Germani Y, Chan S, et al. Clinical features and etio–logy of pneumonia in acid–fast bacillus sputum smear–negative HIV–infected patients hospitalized in Asia and Africa. *AIDS* 2008;22:1323–32.
- [59]. N. Peron, A. Roux, E. Azoulay et al. Aspects cliniques, para–cliniques et facteurs pronostiques de lapneumocystose du sujet non VIH : étude de 321 patients 19e Congrès de pneumologie de langue française—Lille, 30 janvier—1er février 2015
- [60]. Kaouech E., Kallel K., Anane S., Belhadj S., Abdellatif S., Mnif K., et al. Pneumocystose à *Pneumocystis jirovecii* : étude comparée de la PCR et des techniques de coloration. *Pathologie Biologie*. 2009 ; 57(5) : 373–377.
- [61]. Karstaedt A. S., Grannum S. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS in South Africa. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 2001 ; 95 (1) : 40–41.
- [62]. Hui M, Kwok WT. *Pneumocystis Carinii* Pneumonia in Hong Kong: a 10 year retrospective study. *J Med Microbiol*. 2006 Jan; 55 (Pt 1): 85– 88.
- [63]. C.Toper , E. Rivaud , C. Daniel , et al. Pneumocystose pulmonaire chez des patients immunodéprimés non infectés par le VIH : étude de 41 cas, *Revue de Pneumologie clinique* (2011) 67, 191—198
- [64]. Shu–Li Yang, Ying–Hao Wen, Yu–Shan Wu, Diagnosis of *Pneumocystis pneumonia* by real–time PCR in patients with various underlying diseases, *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 08/2019
- [65]. Khot PD, Fredricks DN. PCR–based diagnosis of human fungal infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009 ;7:1201—21.

- [66]. Kelley CF, Checkley W, Mannino DM, et al. Trends in hospitalizations for AIDS-associated *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia in the United States (1986 to 2005). *Chest* 2009 ;136 :190—7.
- [67]. 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* 2014; 127:1242 [e11-17].
- [68] A. Roux, E. Canet, S. Valade, À propos de 544 cas de pneumocystose pulmonaire : presentation clinique et pronostic *j. mycmed.2014.01.009*
- [69] Helweg-Larsen J, Benfield T, Atzori C, et al. Clinical efficacy of first- and second-line treatments for HIV-associated *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a tri-centre cohort study. *J Antimicrob Chemother* 2009 ;64:1282—90.
- [70] Fei MW, Sant CA, Kim EJ, et al. Severity and outcomes of *Pneumocystis* pneumonia in patients newly diagnosed with HIV infection: an observational cohort study. *Scand J Infect Dis* 2009 ;41:672—8.