



HAL
open science

Infection à *Pneumocystis carinii* : avancée diagnostique, thérapeutique et prophylactique chez l'adulte

Pascale Guillem

► **To cite this version:**

Pascale Guillem. Infection à *Pneumocystis carinii* : avancée diagnostique, thérapeutique et prophylactique chez l'adulte. Médecine humaine et pathologie. 1991. dumas-01501830

HAL Id: dumas-01501830

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01501830>

Submitted on 4 Apr 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.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

1^{er} exemplaire

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

ANNEE 1991

no 5058

N°

INFECTION A *PNEUMOCYSTIS CARINII* :
AVANCEE DIAGNOSTIQUE, THERAPEUTIQUE
ET PROPHYLACTIQUE CHEZ L'ADULTE

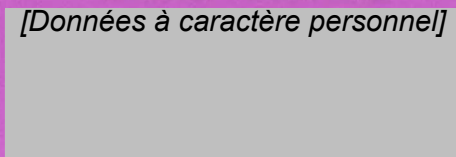
THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE
DIPLOME D'ETAT

par

Pascale GUILLEM

[Données à caractère personnel]



CETTE THESE SERA SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : 28 MAI 1991 à 17H.
devant :

Monsieur le Professeur
Monsieur le Professeur
Monsieur le Professeur
Monsieur le Docteur

M. MICOUD, Président du jury
R. SCHAEERER
C. BRAMBILLA
S. PICOT

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

ANNEE 1991

N°

INFECTION A *PNEUMOCYSTIS CARINII* :
AVANCEE DIAGNOSTIQUE, THERAPEUTIQUE
ET PROPHYLACTIQUE CHEZ L'ADULTE

THESE

PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE
DIPLOME D'ETAT

par

Pascale GUILLEM

[Données à caractère personnel]



CETTE THESE SERA SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : 28 MAI 1991 à 17H.

devant :



115 006616 7

Monsieur le Professeur
Monsieur le Professeur
Monsieur le Professeur
Monsieur le Docteur

M. MICOUD, Président du jury
R. SCHAEERER
C. BRAMBILLA
S. PICOT

FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Domaine de la Meris 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté
Assesseurs du Doyen

M. le Professeur C. VROUSOS
M. le Professeur R. LATREILLE
M. le Professeur A. FRANCO
M. le Professeur M. COMET

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

MM.			HUGONOT	Robert	Médecine Interne
AMBLARD	Pierre	Dermatologie	JALBERT	Pierre	Génétiqne
AMBROISE-THOMAS	Pierre	Parasitologie	JUNIEN-LAVILLAULOY	Claude	O.R.L.
BACHELOT	Yvan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques	KOLODIE	Lucien	Hématologie
			LATREILLE	René	Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
BARGE	Michel	Neurochirurgie			
BARRET	Luc	Médecine Légale	LEBAS	François	Géné Biol. et Méd. (Biophysique)
BAUDAIN	Philippe	Radiologie			
BENABID	Alim-Louis	Biophysique	LEBEAU	Jacques	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
BENSA	J. Claude	Immunologie			
BERNARD	Pierre	Gynéco et Obstétrique	LENOC	Pierre	Bactériologie et Virologie
BESSARD	Germain	Pharmacologie Fondamentale	LETOUBLON	Christian	Chirurgie Générale
			LEVERVE	Xavier	Thérapeutique
BEZES	Henri	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique	MACHECOURT	Jacques	Cardiologie et Maladies Vasculaires
BLIN	Dominique	Chir. Thoracique et Cardio Vascul.	MAGNE	Jean-Luc	Chir. Vasculaire
			MAGNIN	Robert	Epidémiologie
BOLLA	Michel	Radiothérapie	MALINAS	Yves	Gynécologie et Obstétrique
BOST	Michel	Pédiatrie	MALLION	J. Michel	Médecine du Travail
BOUCHARLAT	Jacques	Psychiatrie Adultes	MASSOT	Christian	Médecine Interne
BOUCHET	Yves	Anatomie	MICOU	Max	Maladies Infectieuses
BRAMBILLA	Christian	Pneumologie	MOUILLON	Michel	Ophthalmologie
BUTEL	Jean	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique	MOUTET	François	Chirurgie Réparatrice de la Main et des Brulés
			PARAMELLE	Bernard	Pneumologie
CARPENTIER	Patrick	Médecine Interne et Gériatrie	PASQUIER	Basile	Laboratoire d'Anatomie
CHAMBAZ	Edmond	Biochimie			
CHAMPETIER	Jean	Anatomie	PELLAT	Jacques	Neurologie
CHARACHON	Robert	O.R.L.	PERRET	Jean	Neurologie
CHIROSSSEL	J. Paul	Anatomie	PHELIP	Xavier	Rhumatologie
CINQUIN	Philippe	Biostatistique et Inf. Méd.	RACHAIL	Michel	Hépto-Gastro- Entérologie
COLOMB	Maurice	Immunologie			
COMET	Michel	Biophysique	RACINET	Claude	Gynécologie-Obstétrique
CORDONNIER	Daniel	Néphrologie	RAMBAUD	Pierre	Pédiatrie
COULOMB	Max	Radiologie	RAMBEAUD	J. Jacques	Urologie
CROUZET	Guy	Radiologie	RAPHAEL	Bernard	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
DEBRU	Jean-Luc	Médecine Interne			
DEGAUDEMARIS	Régis	Méd. du Travail	ROMANET	J. Paul	Ophthalmologie
DELORMAS	Pierre	Pneumologie	SARAGAGLIA	Dominique	Chir. Orthopédique et Traumatologique
DEMONGEOT	Jacques	Biostatistiques et Informatique Médicale			
DENIS	Bernard	Cardiologie et Maladies Vasculaires	SARRAZIN	Roger	Chirurgie Générale
			SCHAERER	René	Cancérologie
DUPRE	Alain	Chirurgie Générale	SEIGNEURIN	Daniel	Histologie
DYON	J. François	Chirurgie Infantile	SEIGNEURIN	J. Marie	Bactériologie-Virologie
ETERRADOSSI(Mme)	Jacqueline	Physiologie	SELE	Bernard	Biologie du Développement et de la Reproduction
FAURE	Claude	Anatomie			
FAURE	Gilbert	Urologie	SOTTO	J. Jacques	Hématologie
FEUERSTEIN	Claude	Physiologie	STAHL	J. Paul	Maladies Infectieuses
FOURNET	Jacques	Hépto-Gastro- Entérologie	STIEGLITZ	Paul	Anesthésiologie et Réanimation
FRANCO	Alain	Médecine Interne	STOEBNER	Pierre	Anatomie Pathologique
GAVEND	Michel	Pharmacologie Fondamentale	TANCHE	Maurice	Physiologie
			VIALTEL	Paul	Néphrologie
GIRARDET	Pierre	Anesthésiologie et Réanimation Chirurg.	VIGNAIS	Pierre	Biochimie
			VROUSOS	Constantin	Radiothérapie
GOULLIER(Mme)	Andrée	Parasitologie			
GUIDICELLI	Henri	Chirurgie Vasculaire			
GUIGNIER	Michel	Réanimation Médicale			
HADJIAN	Arthur	Biochimie			
HALIMI	Serge	Endocrinologie et Maladies Métaboliques			
HOLLARD	Daniel	Hématologie			
HOSTEIN	Jean	Hépto-Gastro-Entérol.			

A Patrick

pour sa présence et son soutien tout au long de ces années

A mes parents

en gage de mon affection et de ma reconnaissance

A Muriel et Pom

pour leur patience

A Valérie

A toute ma famille

A tous mes amis

A notre président de thèse

Monsieur le Professeur MICOUD,
qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury, qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre plus haute considération.

A nos juges

Monsieur le Professeur SCHAEERER,
qui nous a fait bénéficier de son savoir et de son expérience lors du passage en son service, qu'il soit remercié de sa présence dans ce jury.

Monsieur le Professeur BRAMBILLA,
que nous remercions pour son enseignement, qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance pour avoir accepté de siéger dans ce jury.

Monsieur le Docteur PICOT,
qu'il trouve ici nos remerciements sincères pour ses conseils judicieux et sa disponibilité, qu'il soit assuré de notre considération et de notre gratitude.

Nous remercions

Madame le Docteur LECLERCQ
Monsieur le Docteur DUBOIS

PLAN

INTRODUCTION	p.1
PREMIERE PARTIE : DONNEES CLASSIQUES	p.5
I - HISTORIQUE	p.6
II - AGENT PATHOGENE	p.8
A. DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE	p.8
1. Les trophozoites	p.8
2. Le kyste	p.9
- Le kyste jeune ou prékyste	
- Le kyste mature	
- Le kyste déhiscent ou kyste vide	
B. CYCLE BIOLOGIQUE	p.11
1. Cycle sexué	
2. Cycle asexué	
C. ANATOMIE PATHOLOGIQUE	p.12
1. Macroscopie	
2. Microscopie	
III - EPIDEMIOLOGIE	p.15
IV - CLINIQUE	p.21

V - DIAGNOSTIC	p.24
A. BIOLOGIE	p.24
B. RADIOGRAPHIE PULMONAIRE	p.25
C. FONCTION PULMONAIRE	p.25
D. FIBROSCOPIE BRONCHIQUE	p.26
1. Lavage bronchoalvéolaire	p.26
2. Brossage bronchique	p.28
3. Bronchoaspiration ou lavage bronchique	p.29
4. Biopsie transbronchique	p.29
E. EXPECTORATION INDUITE	p.32
F. BIOPSIE PULMONAIRE CHIRURGICALE	p.33
VI - FACTEURS PRONOSTIQUES	p.35
VII - EVOLUTION	p.38
DEUXIEME PARTIE : DONNEES RECENTES	p.40
I - AGENT PATHOGENE	p.41
A. TAXONOMIE	p.41
1. En faveur des protozoaires	
2. En faveur des éléments fongiques	
3. Autres aspects	
B. TRANSMISSION	p.47
C. PATHOGENIE	p.49
1. Physiopathologie	p.49

2. Réactivation versus infection	p.50
3. Rôle du déficit immunitaire	p.50
D. DISSEMINATION	p.52
II - DIAGNOSTIC	p.55
A. COLORATIONS	p.55
1. Le Gram et le Ziehl	p.55
2. Le Giemsa	p.56
3. Le Diff - Quick	p.58
4. Le Gomori - Grocott	p.59
5. Le Bleu de Toluidine O	p.60
6. Le "Cellufluor"	p.61
7. L'immunofluorescence	p.65
7. a. Immunofluorescence indirecte	
7. b. Immunofluorescence directe	
8. Immunoperoxydase	p.68
B. SEROLOGIE ET DETECTION DES ANTIGENES	
CIRCULANTS	p.74
1. Détection des anticorps	p.74
2. Détection des antigènes circulants	p.77
3. Détection des complexes immuns	p.79
C. BIOLOGIE MOLECULAIRE	p.81

D. BIOLOGIE	p.82
1. Enzyme de conversion de l'angiotensine	
2. Anticorps anti-cardiolipine	
E. TEST D'EFFORT	p.86
F. TOMODENSITOMETRIE THORACIQUE	p.87
G. CLAIRANCE PULMONAIRE AU DTPA-Tc 99m	p.88
H. SCINTIGRAPHIE AU GALLIUM 67	p.89

III - TRAITEMENT

A. TRAITEMENTS CONVENTIONNELS	p.93
1. L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole	p.93
2. La pentamidine	p.94
3. Le traitement symptomatique	p.95
B. TRAITEMENTS EN COURS D'EVALUATION	p.96
1. Les aérosols de pentamidine	p.97
2. Difluorométhylornithine	p.98
3. Trimétrexate	p.99
4. Dapsone	p.100
5. Association clindamycine-primaquine	p.102
6. La corticothérapie	p.103

IV - PROPHYLAXIE

A. PROPHYLAXIE DES IMMUNODEPRIMES	
NON INFECTES PAR VIH.	p.106

B. PROPHYLAXIE DES PATIENTS INFECTES PAR VIH.	p.106
1. Triméthoprime-sulfaméthoxazole	p.107
2. Aérosols de pentamidine	p.111
3. Dapsone	p.114
4. Pyriméthamine-sulfadoxine	p.115
5. Attitude prophylactique	p.115
 CONCLUSION	 p.118

ABREVIATIONS

ADN	: ACIDE DESOXYRIBONUCLEIQUE
ACA	: ANTICORPS ANTICARDIOLIPINE
ARN	: ACIDE RIBONUCLEIQUE
CDC	: CENTERS FOR DISEASE CONTROL
CHU	: CENTRE HOSPITALO UNIVERSITAIRE
CIE	: CONTRE IMMUNOELECTROPHORESE
CTS	: CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE
DGS	: DIRECTION GENERALE DE LA SANTE
DHFR	: DIHYDROFOLATE REDUCTASE
DLCO	: CAPACITE DE TRANSFERT DU MONOXYDE DE CARBONE
DMFO	: DIFLUOROMETHYLORNITHINE
DQ	: DIFF-QUICK
DTPA	: DIETHYLENE TRIAMINE PENTAACETATE
ECAT	: ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE
EI	: EXPECTORATION INDUITE
ELISA	: ENZYME LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY
IFD	: IMMUNOFLUORESCENCE DIRECTE
IFI	: IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE
Ig	: IMMUNOGLOBULINES
IO	: INFECTION OPPORTUNISTE
IV	: INTRA VEINEUX
kDa	: KILO DALTONS
LAC	: ANTICORPS ANTICOAGULANT CIRCULANT
LBA	: LAVAGE BRONCHOALVEOLAIRE
LDH	: LACTICODESHYDROGENASE
NIH	: NATIONAL INSTITUTE of HEALTH
PaO ₂	: PRESSION ARTERIELLE EN OXYGENE
pg/cell.	: PICOGRAMME PAR CELLULE
PC	: PNEUMOCYSTIS CARINII
PCR	: POLYMERASE CHAIN REACTION

PEEP	: POSITIVE END EXPIRATORY PRESSURE
PPC	: PNEUMOPATHIE A PC
SIDA	: SYNDROME D'IMMUNODEFICIENCE ACQUISE
Tc 99m	: TECHNICIUM 99 (MARQUAGE)
TMP-SMZ	: TRIMETHOPRIME-SULFAMETHOXAZOLE
TS	: THYMIDILATE SYNTHETASE
UI/L	: UNITE INTERNATIONALE PAR LITRE
VEMS	: VOLUME EXPIRATOIRE MAXIMAL PAR SECONDE
VIH	: VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE
VIH+	: SUJET PORTEUR DU VIRUS VIH
VIH-	: SUJET NON PORTEUR DU VIRUS VIH

Rappel de la classification des différents stades de SIDA.

LES STADES PRE-SIDA :

- I : infection aigüe (primoinfection)**
- II : infection asymptomatique**
- III : lymphadénopathie persistante généralisée**

SIDA DECLARE : STADE IV

IV A : SIGNES FONCTIONNELS

amaigrissement

sueurs

fièvre

diarrhée

IV B : SIGNES NEUROLOGIQUES

encéphalopathie

myélopathie

atteintes périphériques

IV C :

C 1 : PRESENCE D'AU MOINS UNE DES 12 AFFECTIONS OPPORTUNISTES CARACTERISANT L'ETAT DE SIDA

Pneumocystose pulmonaire

Cryptosporidiose chronique

Toxoplasmose

Isosporose

Anguillulose extra intestinale

Candidose systémique

Cryptococcose

Histoplasmose

Infection à mycobactérie atypique

Infection à *Cytomégalovirus*

Infection cutanéomuqueuse chronique ou
disséminée à *Herpès virus*

Leucoencéphalopathie multifocale progressive.

C2 : PRESENCE D'AU MOINS UNE DES 6 INFECTIONS SUIVANTES

Leucoplasie chevelue linguale

Zona

Bactériémie récidivante à *Salmonelle*

Nocardiose

Tuberculose

Candidose buccale

IV D : CANCERS SECONDAIRES :

Sarcome de Kaposi

Lymphome malin non Hodgkinien

Lymphome cérébral progressif

IV E : AUTRES ATTEINTES

Pneumonie interstitielle lymphocytaire

Purpura thrombopénique

INTRODUCTION

Durant le premier tiers du vingtième siècle, le *Pneumocystis carinii* a été découvert et considéré comme un protozoaire infectant les poumons des rongeurs.

Pendant le tiers suivant, ce microorganisme fut identifié comme cause de pneumopathie chez les humains, en particulier les nourrissons malnutris, les enfants immunodéprimés ainsi que chez les adultes greffés, atteints de cancer ou d'autres formes d'immunodépressions.

Durant le dernier tiers, la prévalence de la pneumocystose a fortement augmenté. Cette escalade rapide a été rapportée à l'épidémie de SIDA qui débuta en 1981.

Le *Pneumocystis carinii* est ainsi responsable de l'infection la plus fréquente, observée chez 70% au moins des patients infectés par le VIH (102, 146).

L'estimation en France du nombre de cas cumulés de SIDA, pour lequel le diagnostic initial est la pneumocystose, était de 4500 en décembre 1989 (76).

La fréquence de ce mode d'entrée dans la maladie est de 38%. Les estimations de la DGS prévoient 7500 entrées dans le SIDA par une pneumocystose d'ici à fin 92 en l'absence de prophylaxie (fig.1).

La morbidité et la mortalité de l'épisode initial restent élevées en 1990 (5 à 30% de décès) (30).

Ces données ont fait surgir le manque d'informations biologiques et physiopathologiques du *Pneumocystis carinii* et par conséquent les difficultés diagnostiques, ainsi que le besoin de nouvelles modalités de traitement et de prévention.

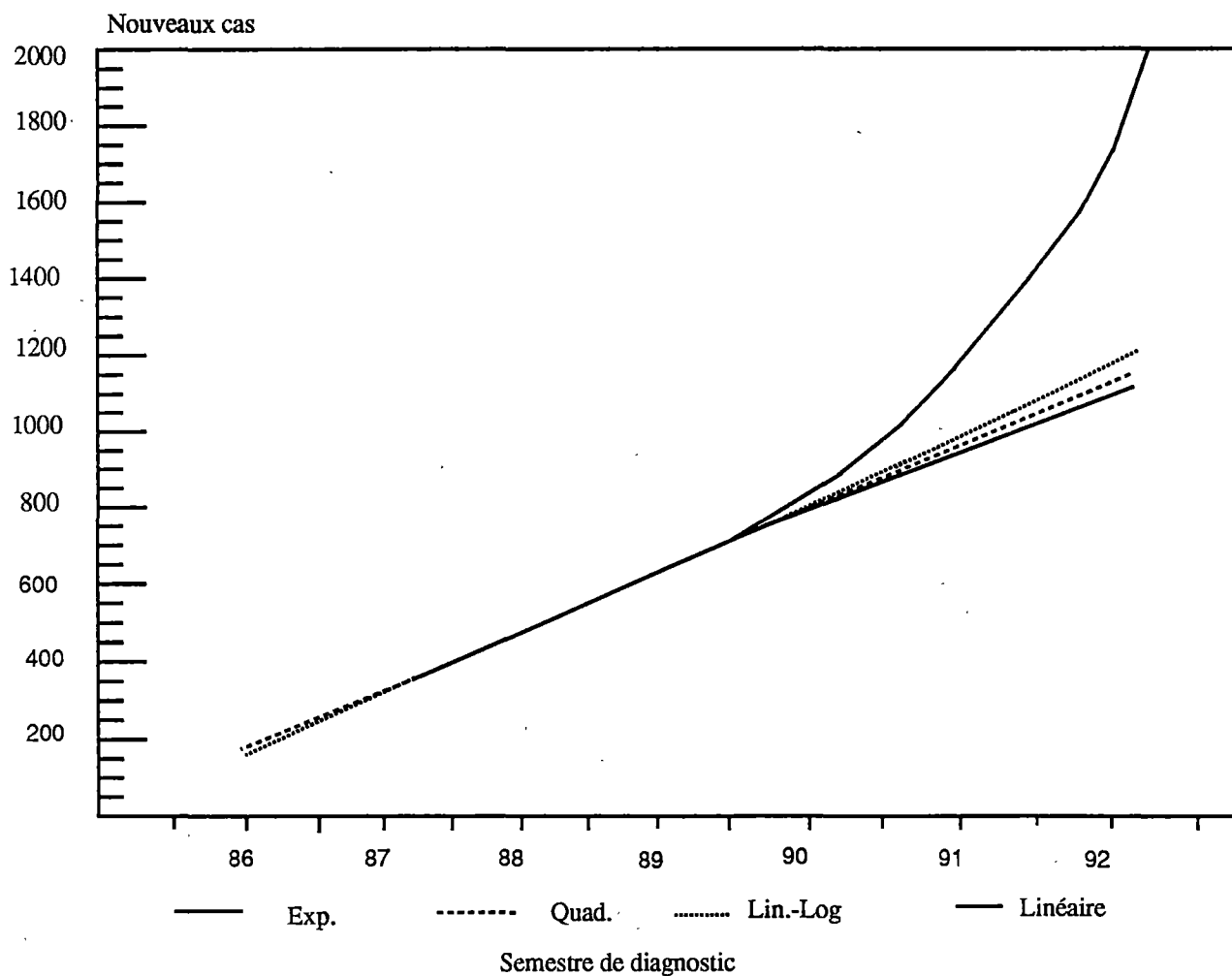
Il nous a donc semblé intéressant de réaliser un travail bibliographique en insistant sur le diagnostic biologique. Nous avons scindé ce travail en deux parties.

Dans la première partie nous nous sommes attachés à réunir les données de la maladie admises par la majorité des auteurs (américains et européens).

Dans la seconde partie nous avons tenté de regrouper les informations récentes concernant les progrès majeurs survenus dans les études de l'organisme, le diagnostic biologique et le traitement.

Il faut noter qu'actuellement, le diagnostic de certitude passe encore par la mise en évidence du parasite dans les produits pathologiques.

FIG. 1 : Prévisions selon 4 modèles du nombre de nouveaux cas de pneumocystose jusqu'en fin 1992, en l'absence de prophylaxie. D'après la Direction Générale de la Santé (76).



PREMIERE PARTIE : DONNEES CLASSIQUES

I - HISTORIQUE

C'est par Chagas, en 1909, que pour la première fois, le *Pneumocystis carinii* fut observé sur des poumons de cobaye infectés par *Trypanosoma cruzi* (22).

Rencontré en 1910 par Carini chez le rat infecté par *Trypanosoma Lewisi*, le *Pneumocystis carinii* fut alors considéré comme un stade schizogonique du cycle de vie de ce protozoaire (19).

En 1911, Chagas l'identifie à nouveau, mais cette fois dans du tissu pulmonaire humain (in Hopewell).

C'est en 1912 que Delanœ et Delanœ individualisent ce microorganisme comme une entité propre et le baptisent *Pneumocystis carinii* (38).

Van der Meer et Brug, en 1942, en font la première description chez l'homme (240) et Vanek, en 1951, établit le rôle pathogène du *Pneumocystis carinii* dans la pneumonie interstitielle à plasmocytes survenant chez des enfants débilités (241).

La pédiatrie en Europe centrale a d'abord l'exclusivité de l'affection qui évolue sur un mode épidémique à l'intérieur des collectivités fermées : crèches, orphelinats, services d'hospitalisation (69).

Puis l'affection est observée outre-Atlantique, prend un caractère sporadique et se rencontre à tous les âges de la vie (117).

En effet de nombreuses publications décrivent la survenue de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* chez des enfants porteurs de désordres immunitaires primaires et chez des patients recevant des thérapeutiques cytotoxiques ou immunodpressives dans le cadre d'hémopathies malignes ou de transplantation d'organes (18, 212, 227, 248).

Le déficit immunitaire devient ainsi le dénominateur commun des sujets atteints (174).

Le *Pneumocystis carinii* est dès lors considéré comme un microorganisme opportuniste (46).

Est dite opportuniste toute infection due à un microorganisme incapable d'être pathogène chez un sujet aux défenses immunes normales (189).

A partir de 1981, l'incidence de la pneumocystose augmente et cette maladie s'avère le plus souvent révélatrice du SIDA (160).

Déjà la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* est la plus grande cause de mort par infection aux Etats-Unis (112).

Cette répercussion sur la santé humaine a fait apparaître le manque de données sur les caractéristiques biologiques du *Pneumocystis carinii* et a créé le besoin de nouvelles modalités de traitement et de prévention.

Ainsi l'épidémie à VIH fournit une tragique opportunité pour l'étude de la pneumocystose.

II. AGENT PATHOGENE

A. DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE (14, 91, 130, 172, 175)

1. Les trophozoïtes

C'est un stade amiboïde végétatif, pléiomorphe, il comporte :

- les petits trophozoïtes mesurant environ 1,5 à 2 microns de diamètre, arrondis ou falciformes, à paroi mince.
- les grands trophozoïtes mesurant 2 à 6 microns de diamètre avec une paroi plus épaisse, s'individualisant en prékystes.

Il sont habituellement en amas et largement reconnus par leur association avec les kystes (14, 175).

En microscopie optique :

Les trophozoïtes sont au mieux visualisés colorés au Giemsa.

Dans ces préparations, le corps parasite apparaît avec un cytoplasme bleu pâle et un noyau pourpre mal limité (172).

En microscopie électronique :

L'étude ultrastructurale du *Pneumocystis carinii* montre une membrane de 250 Angström d'épaisseur et des structures tubulaires sur la surface des petits et des grands trophozoïtes.

Le cytoplasme est riche en organites (mitochondries, ribosomes) et il existe une ébauche de réticulum endoplasmique. Le noyau est variable par la taille et consiste en un amas de chromatine dense limité par une membrane nucléaire faiblement visible.

2. Le kyste

Les kystes sont la forme de résistance du PC. Ils sont d'une plus grande variabilité morphologique que les trophozoïtes et mesurent 4 à 6 microns de diamètre (130, 91).

- Le kyste jeune ou prékyste

Il résulte d'une transformation du trophozoïte. La paroi est mince mais apparaît en microscopie électronique constituée d'une triple couche comme celle du kyste.

- Le kyste mature avec 8 corps intrakystiques

Il est l'aboutissement du stade précédent. C'est la forme la plus caractéristique en microscopie optique et la principale forme parasitaire admise pour un diagnostic de certitude.

En microscopie optique :

Colorée au May Grunwald-Giemsa, sa paroi n'est pas visible mais correspond à un halo clair entourant huit corps intrakystiques régulièrement disposés en rosace. Ces corpuscules intrakystiques sont vus comme de petits corps ronds ou ovoïdes de 1,5 à 2 microns de diamètre, constitués de cytoplasme bleu pâle entourant un minuscule noyau rouge sombre.

La coloration par la méthode de Gomori Grocott permet de visualiser la paroi, mettant ainsi en évidence un très net épaissement qui, observé de face, apparaît sous forme de deux parenthèses.

En microscopie électronique :

Les kystes ont une paroi quatre fois plus épaisse que celle des trophozoïtes, mesurant de 500 à 3 500 Angström.

Celle-ci est composée de trois couches dont deux denses encadrant une troisième transparente aux électrons.

- Le kyste déhiscent ou kyste vide

Le kyste vide pose un problème de diagnostic dans le suivi des malades après traitement. En effet, avec les méthodes colorant la paroi, il est quelquefois difficile de distinguer s'il s'agit d'un kyste plein ou d'un kyste vide. Il est la résultante de la rupture du kyste mature qui s'est déchargé de ses corps intrakystiques. Il est bien vu en coloration argentique ou avec d'autres colorations imprégnant la paroi. Ses formes sont variées : cupules, croissants, surfaces cabossées avec trait de refend.

B. LE CYCLE BIOLOGIQUE

L'analyse du cycle de vie du PC a été basée sur des études morphologiques.

En 1977, Bouton et coll. à Paris ainsi que Pifer et al. à Londres, ont observé les stades de développement du *Pneumocystis carinii* in vitro en suivant l'organisme en culture par microscopie en contraste de phase. Cette technique n'a pas permis une visualisation suffisante pour déterminer la méthode de réplication (14, 197).

En 1986, Matsumoto observe le cycle du parasite par étude au microscope électronique de poumons de rats rendus immunodéprimés, infestés par le *Pneumocystis carinii* et révèle un développement impliquant méiose et mitose. Le cycle se déroule dans l'alvéole pulmonaire et les parasites diploïdes sont fixés au pneumocytes de type I (161).

En 1988, Cushion et al. ont utilisé du *Pneumocystis carinii* cultivé sur une monocouche de cellules A 549 (cellules provenant d'adénocarcinome pulmonaire humain avec altération morphologique et biochimique des pneumocytes de type II) et proposent alors le cycle décrit fig.2 (35). Il faut cependant noter la difficulté encore actuelle pour obtenir in vitro une pousse de PC provenant de poumons humains (10).

1. Cycle sexué :

Les trophozoïtes diploïdes commencent leur maturation ou différenciation en kyste. Ils sont d'abord des prékyistes reconnus par leur membrane cellulaire plus fine que celles des trophozoïtes. Le noyau des prékyistes se divise par

méiose, puis par mitose aboutissant ainsi à huit noyaux haploïdes. Puis chaque noyau, par partage du cytoplasme, délimite lui-même la forme des corps intrakystiques (fig.2).

La maturation du kyste implique une augmentation de sa taille. Il existe un allongement progressif des corps intrakystiques, celui-ci pouvant représenter une nécessité en vue de leur libération. Les kystes matures se rompent, relarguent leurs corps intrakystiques, qui deviennent des trophozoïtes haploïdes (fig.2).

1. Cycle asexué

Un trophozoïte haploïde se réplique par mitose puis donne, après scission binaire, deux trophozoïtes haploïdes (fig.2).

C. ANATOMIE PATHOLOGIQUE

1. Macroscopie

Les poumons sont lourds, congestifs. La surface est piquetée de taches blanc-grisâtre prédominant dans les zones postérieures. Il existe parfois des bulles d'emphysème sous pleural. La tranche de section montre des zones foncées, non nécrotiques avec quelques cavités aériennes. Il n'y a pas de suppuration, mais une sérosité poisseuse s'écoule à la coupe (14, 189).

2. Microscopie

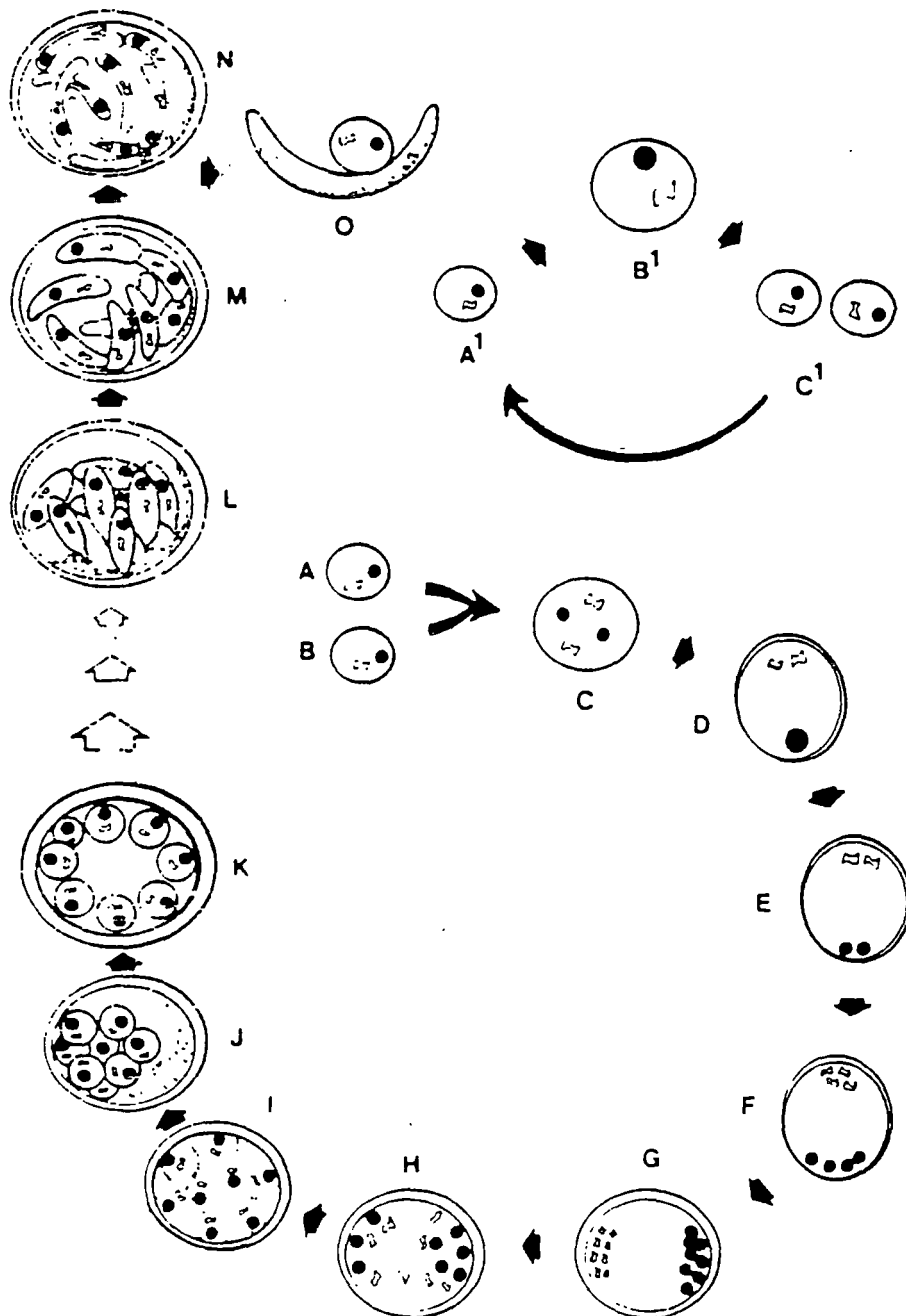
L'alvéole est remplie d'un exudat spumeux, aéré, eosinophile contenant quelques cellules mononuclées et allant jusqu'aux bronchioles. Les cellules alvéolaires sont turgescentes, les septa infiltrés d'un nombre modéré de lymphocytes, monocytes, plasmocytes d'où la dénomination ancienne de la maladie : pneumonie interstitielle à plasmocytes (175, 189).

L'exudat contient le parasite qui sera mis en évidence par des colorations spéciales.

FIG.2 : Représentation schématique des stades de développement de PC :

Cycle asexué : A1, trophozoïte haploïde. B1, réplication mitotique de la forme trophique. C1, formes trophiques produites par scission binaire.

Cycle sexué : A et B, trophozoïtes haploïdes. C, trophozoïte diploïde. D, prékyste précoce, zygote diploïde. E, prékyste intermédiaire. F, prékyste intermédiaire à 4 noyaux. G, prékyste intermédiaire à 8 noyaux. H, prékyste tardif, migration des noyaux à la périphérie. I, prékyste tardif, initiation de la compartimentation des corps intrakystiques. J, kyste précoce, complète séparation des corps intrakystiques. K, kyste mature. L, kyste contenant des corps intrakystiques elliptoïdaux. M, kyste contenant des corps intrakystiques allongés. N, kyste contenant des corps intrakystiques fins et très allongés. O, kyste collabé et un trophozoïte. L'élargissement progressive des formes filles dans les stades L à N, peut représenter le processus nécessaire à la rupture du kyste (35).



III - EPIDEMIOLOGIE

Le *Pneumocystis carinii* est un microorganisme ubiquitaire (117).

Jusqu'en 1981, à peu d'exception près, il s'agissait d'une maladie de survenue sporadique, vue le plus fréquemment en association avec certains cancers ou thérapeutiques immunosuppressives (51, 98, 101).

Entre 1967 et 1970, l'incidence de la pneumocystose, aux Etats-Unis, chez les adultes porteurs de leucémie, lymphomes et transplantation rénale a été estimée entre 0,01% et 1,1% par an par les Centers for disease Control (CDC) (249).

Depuis 1981, cette maladie survient avec une fréquence élevée.

En 1983, le CDC a estimé à 61,6% l'incidence de la pneumocystose chez les patients atteints de SIDA. (tableau 1) (43).

Dans les pays développés, environ 60 à 85 % des patients infectés par le VIH ont un ou plusieurs épisodes de pneumocystose au cours de leur maladie. Cela n'est pas le cas dans divers pays d'Afrique où l'incidence est plus faible (10% au Congo, 22% au Zimbabwe) (20, 85).

Le sexe ne jouerait aucun rôle dans la réceptivité des sujets à l'égard du parasite (69, 173). Cependant pour Walzer il y aurait une prédominance masculine ne pouvant être complètement expliquée par le terrain (déficit immunitaire lié au sexe, prédominance masculine des lymphomes malins) (249).

Aucune variation saisonnière n'a été décrite (69, 249, 269).

Le Pneumocystis carinii, largement répandu dans le monde animal, est reconnu saprophyte d'espèces variées : cobaye, rat, souris lapin, chien, renard, porc, mouton, chèvre, singe (117).

De plus il est considéré par certains auteurs comme un saprophyte du sol (87). Il s'agit quasi exclusivement d'un pathogène pulmonaire (179).

C'est un parasite opportuniste (46). En effet, ce microorganisme de faible virulence nécessite une dépression immunitaire de l'hôte (52, 117, 174, 249). La nature du déficit permettant l'infection à PC n'est pas clairement établie; elle est probablement multiple (194).

Cette maladie atteint donc avec prédilection les individus cités tableaux 2 et 3.

L'infection latente ou infra clinique est un maillon essentiel de la chaîne épidémiologique.

Des études sérologiques ont prouvé que le premier contact avec le PC a lieu très tôt dans la vie (à partir de 6-7 mois) en dehors de toute pathologie, avec un maximum vers l'âge de 4 ans (167, 198).

Chez le rat, une transmission par voie aérienne a été démontrée (108).

Certains auteurs ont décrit l'apparition spontanée de la maladie après une corticothérapie prolongée, chez cet animal (131, 261).

En ce qui concerne la transmission de cette infection chez l'homme, aucune preuve formelle n'a été apportée et les données existantes seront discutées ultérieurement.

Tableau 1 : Répartition en pourcentage, de cas de SIDA chez les adultes aux Etats-Unis par maladie et date du rapport.

	Avant Mai 83	Mai 83-Avril 84	Mai 84-Avril 85	TOTAL
Kaposi sans P.P.C.	24,7	24,1	18,9	21,2
Kaposi avec P.P.C.	10,3	6,7	4,3	5,8
P.P.C. sans Kaposi	51,3	51,7	59,5	56,1
Autres maladies opportunistes	13,7	17,5	17,2	16,8
TOTAL	100	100	100	100

P.P.C. : pneumopathie à *Pneumocystis carinii*

La proportion de malades adultes atteints de sarcome de Kaposi sans P.P.C. ou avec P.P.C s'est abaissé de manière significative. Cela s'accompagne d'une augmentation significative des cas de P.P.C. sans sarcome de Kaposi (43).

Tableau 2 : pathologies sous jacentes dans 53 cas de pneumopathies à *Pneumocystis carinii* chez l'adulte d'après Peters et coll. (194).

LEUCEMIES	15
lymphoïdes chroniques	7
aigües lymphoblastiques	5
aigües myéloblastiques	2
myéloïde chronique	1
LYMPHOMES	9
LYMPHADENOPATHIE ANGIO IMMUNOBLASTIQUE	1
SIDA	2
PATHOLOGIES MALIGNES NON HEMATOLOGIQUES (sous chimiothérapie)	5
poumon	2
sein	1
thymome	1
métastase cérébrale (primitif inconnu)	1
GREFFES DE REIN	4

MALADIES DIVERSES TRAITÉES PAR CORTICOÏDES	16
granulomatose de Wegener	3
vascularite de type inconnu	3
fibrose pulmonaire idiopathique	2
polyarthrite rhumatoïde	2
polymyosite	2
glomérulonéphrite	1
lupus érythémateux disséminé	1
hépatite chronique	1
maladie de Chron	1

Tableau 3 : circonstances étiologiques retrouvées chez 33 enfants atteints de pneumopathie à *Pneumocystis carinii*, d'après Excler et coll. (53).

HYPOTROPHIE (dont 3 prématurés)	7
DEFICITS IMMUNITAIRES	26
Congenitaux	12
- déficits combinés sévères	2
- hypoplasies thymiques	8
- agammaglobulinémies	2
Acquis	14
- hypersarythmies	5
- lupus érythémateux disséminé	1
- syndrome néphrotique	1
- tuberculose	1
- lymphosarcome)	1
- sarcome d'Ewing) sous polychimiothérapie	1
- leucémies aiguës)	4

IV - CLINIQUE

Les caractères cliniques de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* ne sont pas spécifiques et recourent ceux d'autres maladies pulmonaires.

Les signes fonctionnels dominent le tableau clinique.

La présentation typique admise par la plupart des auteurs comprend fièvre, toux sèche, diminution de la tolérance à l'exercice avec dyspnée d'effort puis de repos (101, 121, 249).

Les présentations atypiques sont possibles avec fièvre sans toux, toux sans fièvre (179).

L'auscultation pulmonaire contribue peu au diagnostic; elle est souvent normale (dans 43% des cas, dans l'étude de Peters) (194). On peut entendre des crépitations, des ronchi ou un wheezing.

Le reste de l'examen clinique est souvent dominé par la maladie sous-jacente.

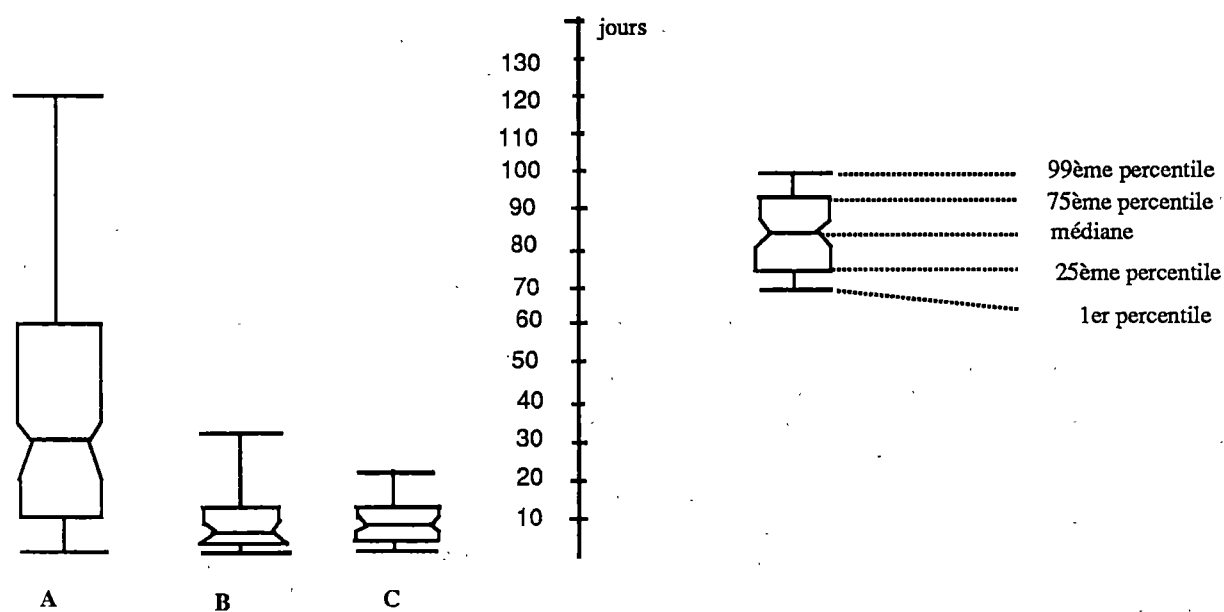
Cliniquement, la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* des patients atteints de SIDA (groupe 1) se démarque de celle observée chez les autres immunodéprimés (groupe 2) par les éléments suivants :

- son installation plus insidieuse (98, 121, 163, 179) : la durée moyenne des symptômes avant la suspicion du diagnostic est supérieure dans le groupe 1 (28 jours) par rapport au groupe 2 (5 jours) (fig.3),
- son évolutivité plus lente vers l'insuffisance respiratoire aigüe (27,102),
- son décalage thermique plus discret (121, 163).

Les symptômes surviennent avec la même fréquence dans les deux groupes (121).

L'évolution de la maladie se fait vers l'insuffisance respiratoire aigüe. Celle-ci joue un rôle majeur dans la mortalité des patients quel que soit le groupe auquel ils appartiennent (179).

FIG. 3 : Etude de Murray en 1990. Diagramme comparant la durée des symptômes de pneumocystose, avant le diagnostic, entre des patients atteints de SIDA et d'autres immunodéprimés (179).



A. Patients atteints de SIDA

B. Adultes immunodéprimés

C. Enfants immunodéprimés

V - DIAGNOSTIC

Le diagnostic fait partie des problèmes posés par la pneumopathie à *Pneumocystis carinii*.

On peut se référer à un certain nombre d'éléments sachant que le diagnostic de certitude passe par la mise en évidence du parasite (98, 175).

A. BIOLOGIE

Les examens biologiques de routine n'apportent pas d'aide particulière au diagnostic.

L'hémogramme peut être normal ou montrer une variété d'anomalies hématologiques incluant anémie, thrombocytopénie (121).

La lymphopénie est commune mais pas obligatoire (101, 175).

Il a été noté que la plupart des patients infectés par le VIH ont un taux de lymphocytes CD4+ inférieur à 200/mm³ au moment où survient la pneumocystose (159, 195).

Cependant cette notion semble être remise en question par certains (188).

L'étude de Murray en 1990, a montré que plus de 95% des patients infectés par le VIH avec une pneumocystose ont une LDH élevée, contre 20% pour ceux avec une infection pulmonaire autre (179).

Dans un contexte épidémiologique précis et en dehors de toute autre cause classique d'élévation, une LDH supérieure à 450 UI/L (normale inférieure à 195 UI/L) serait plutôt en faveur d'une pneumopathie à *Pneumocystis carinii* (115).

B. RADIOGRAPHIE PULMONAIRE

Il n'y a pas de différence significative entre les patients infectés par le VIH et les autres immunodéprimés en ce qui concerne le cliché initial (121).

Le plus communément, l'atteinte est de type interstitielle, bilatérale et diffuse, parfois asymétrique, fréquemment à point de départ périhilaire (39, 163, 194).

Chez les patients atteints de SIDA, des manifestations inhabituelles et atypiques peuvent survenir, telles qu'un élargissement des hiles, des infiltrats localisés interstitiels ou alvéolaires, des nodules, des cavernes, des bulles d'emphysème dont la rupture peut conduire à un pneumothorax spontané (101, 215, 222).

Pour ceux recevant une prophylaxie par aérosols de pentamidine, on a souvent des infiltrats pulmonaires prédominants aux sommets (21, 29).

On se doit de noter que chez les patients atteints de SIDA la radiographie pulmonaire peut être normale dans un peu moins de 10% des cas (102, 160, 179).

Malgré ces aspects atypiques, le cliché thoracique reste un examen utile et rapide pour orienter le diagnostic en faveur d'une pneumocystose plutôt que d'une infection bactérienne à pyogènes (3).

C. FONCTION PULMONAIRE

Des anomalies de la fonction pulmonaire sont communément retrouvées chez les patients atteints de pneumocystose, et, de même que les anomalies radiologiques, elles ne sont pas spécifiques (74, 98, 121, 160, 194).

On retrouve de façon typique :

- une réduction de la capacité vitale, de la capacité totale,

- une hypoxémie au repos et à l'exercice,
- une diminution de la capacité de transfert du monoxyde de carbone (DLCO),
- une augmentation du gradient alvéolo-artériel en oxygène.

L'hypoxémie est presque toujours présente, elle s'aggrave avec l'exercice (224, 231).

La DLCO est un test très sensible avec une importante valeur prédictive négative (186). Cet examen n'est pas réalisé à Grenoble chez les patients VIH+ à cause d'un problème de désinfection du matériel (communication personnelle).

D. FIBROSCOPIE BRONCHIQUE

Un certain nombre de conditions préalables sont nécessaires avant de pratiquer une fibroscopie bronchique.

Celle-ci est en général bien supportée et dure selon les opérateurs et les examens à pratiquer, entre trois et dix minutes (254).

1. Le lavage bronchoalvéolaire

Cet examen, par sa simplicité et sa tolérance est actuellement en France, le moyen diagnostique le plus utilisé.

Il est fiable et reproductible (62, 254).

Son intérêt dans le diagnostic des infections pulmonaires opportunistes a été largement rapporté dans la littérature (62, 71, 82, 153, 230).

Le LBA utilisé seul ne provoque pas de complications majeures (82, 158, 230).

Dans l'étude de Stover, sur quatre vingt dix sept patients immunodéprimés, la fièvre, dans la nuit suivant le LBA, a été la seule complication observée et ce dans 50% des cas (230). L'étude de Golden a retrouvé des résultats similaires (82).

Il est cependant important de respecter les contre indications, à savoir :

- un syndrome obstructif avec un VEMS inférieur à un litre,
- une PaO₂ inférieure à 60 mmHg,
- une insuffisance ventriculaire droite ou gauche en poussée,
- une pathologie coronarienne récente (25).

Le LBA peut être utilisé chez des patients thrombocytopéniques et même sous ventilation assistée, à condition que la PaO₂ soit supérieure à 75 mmHg (230).

Cet examen doit être réalisé selon une technique simple mais rigoureuse.

Il comporte d'une part, l'étude des différentes populations cellulaires et d'autre part, la recherche des éléments pathogènes. Le profil cellulaire est caractérisé par une augmentation des polynucléaires neutrophiles et des lymphocytes (265).

Chez les patients atteints de SIDA, une éosinophilie a été notée (63, 226); elle n'est pas expliquée (tableau 4).

Le nombre de polynucléaires neutrophiles est moins élevé (en valeur absolue) chez les patients atteints de SIDA avec pneumopathie à *Pneumocystis carinii* que chez les autres immunodéprimés (139, 269).

Le nombre de parasites par contre est plus élevé (84, 121, 158).

La sensibilité de cet examen est bonne; on observe quelques variations en fonction des études. Il est difficile de les comparer lorsqu'il ne s'agit pas de la même population.

87% pour une étude française, réalisée au CHU de Grenoble chez des patients immunodéprimés infectés ou non par le VIH (153).

82% pour l'étude de Stover en 1984, chez des immunodéprimés non infectés par VIH (230).

91% pour l'étude de Gosey en 1985, réalisée sur des immunodéprimés en majorité porteurs du SIDA (84).

96% pour l'étude de Yoo en 1989, réalisée uniquement sur des malades avec un SIDA suspecté ou prouvé (263).

2. Brossage bronchique

Sa sensibilité pour le diagnostic de pneumocystose est moins bonne que celle du LBA (190).

69% pour l'étude française de Martin mais il s'agissait d'un brossage bronchique distal (tableau 5.2) (153).

37% pour Stover (lavage et brossage confondus) (230).

14% pour Yoo (263) (tableau 5).

En comparaison avec le LBA, le peu de rendement diagnostique de cette méthode est dû au fait que le produit recueilli provient essentiellement de l'espace aérien proximal, plutôt que des alvéoles, lesquelles sont le siège privilégié du PC (72).

3. Bronchoaspiration ou lavage bronchique

Cet examen n'est pas indispensable pour la recherche du PC, mais s'adressant à des patients immunodéprimés, il s'avère utile pour la recherche simultanée de levures et de filaments mycéliens (153).

Rorat en 1985, préconise sa réalisation à la place de la biopsie transbronchique lorsque celle-ci est contre indiquée (211).

Sa sensibilité varie environ entre 30 et 60% (153, 211, 263).

4. Biopsie transbronchique

Quand les circonstances cliniques le permettent, la plupart des auteurs préconisent de réaliser, en plus des examens précédents, une biopsie transbronchique pour obtenir un meilleur rendement diagnostique (64, 71, 230).

En pratique, les indications restent limitées en raison des complications de ce geste à type de pneumothorax et d'hémoptysies (55, 158, 190).

Dans une étude de Masur en 1989 chez des patients atteints du SIDA, un pneumothorax survenait dans 1 à 5% des biopsies (158).

Les hémoptysies sont rares et en général de faible abondance (64).

La sensibilité de cette méthode avoisine celle du LBA (tableau 5).

Il a été remarqué que la sensibilité de la biopsie transbronchique et du LBA, pour le diagnostic de la pneumocystose, n'est pas aussi bonne chez les patients immunodéprimés autres que ceux infectés par le VIH (139, 158).

La raison principale est le moindre nombre de parasites dans les produits recueillis chez ce premier type de patients (139, 158, 269).

Tableau 4 : Valeurs moyennes \pm 1 écart type, en pourcentage, dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire, de différentes populations cellulaires dans trois groupes de patients (63).

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Macrophages alvéolaires	59,3 \pm 4,5	76,5 \pm 3,3	43,9 \pm 5,7
Lymphocytes	19,6 \pm 2,5	13,0 \pm 2,1	30,2 \pm 4,3
Polynucléaires neutrophiles	14,6 \pm 4,4	9,2 \pm 0,3	20,4 \pm 4,7
Polynucléaires éosinophiles	10,3 \pm 3,6	0,6 \pm 0,2	0,9 \pm 0,4

Groupe 1 : Patients VIH positifs avec une pneumocystose

Groupe 2 : Patients VIH positifs avec une pneumopathie autre qu'une pneumocystose

Groupe 3 : Patients immunodéprimé, VIH négatifs, avec une pneumocystose

L'éosinophilie du groupe 1 par rapport à celle du groupe 3 est significativement plus élevée ($p < 0,005$).

Tableau 5.1 : Etude de Yoo en 1989 (263)
Sensibilité des méthodes diagnostiques bronchoscopiques
chez des patients VIH positifs, suspects de pneumocystose,
sur une période de 30 mois

	Nombre de patients étudiés	Résultats positifs	Rendement diagnostic %
Lavage bronchoalvéolaire	53	51	96
Biopsie transbronchique	53	50	94
Brossage bronchique	36	5	14
Lavage bronchique	56	18	32

Tableau 5.2 : Nature des prélèvements positifs par rapport au nombre de
patients positifs.
Etude de MARTIN C. (Grenoble) (153)

Nb de patients = 16	Nature des prélèvements positifs	
	Lavage bronchoalvéolaire	Brossage bronchique
3	+	+
4	+	+
2	+	-
2	-	+
3	+	non réalisé
1	+	-
1	+	-

E. EXPECTORATION INDUITE

Avec l'augmentation dramatique de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* associée à l'infection par le VIH, un besoin de techniques plus rapides, moins invasives et moins coûteuses est apparu (123).

Classiquement la pneumocystose se manifeste par une toux non productive. Pour obtenir une expectoration, on fait inhaler au patient pendant dix à vingt minutes un aérosol de sérum salé à 3% puis on l'encourage à tousser (123, 134, 268).

Pour minimiser la contamination de l'expectoration au niveau de la cavité buccale, celle-ci est préalablement décontaminée (268).

Le rendement diagnostique de l'expectoration induite pour le PC est lié à différents paramètres :

- l'analyse clinique attentive des patients à haute probabilité de pneumocystose
- la qualité de l'induction de l'expectoration (123, 185, 204),
- le nombre d'échantillons obtenus (210),
- l'expérience du cytologiste (185, 204),
- la méthode de coloration employée (123).

L'utilisation des anticorps monoclonaux augmente la sensibilité de cette méthode (6, 122, 210).

L'utilisation de la cyto centrifugation et des anticorps monoclonaux diminue le temps de lecture des lames (78).

L'étude de Pitchenik en 1986 trouve une sensibilité de 55% dans une population VIH+ ou SIDA avec infiltrats pulmonaires sur le cliché thoracique (tableau 6).

Zaman en 1989, chez des patients VIH+ suspects de pneumocystose, obtient une sensibilité de 75% et aucun faux-positif (268).

Leight en 1989 trouve une sensibilité de 94,7% (comparée au LBA), chez des patients atteints de SIDA (134).

L'emploi comme première étape diagnostique chez les patients infectés par le VIH, suspects de pneumopathie à *Pneumocystis carinii* et avec infiltrats pulmonaires peut, parfois, éviter le recours à la bronchoscopie (37, 123, 134, 185, 204).

Cet examen trouve également sa place chez les patients infectés par le VIH, suspects de pneumocystose, pour lesquels la fibroscopie bronchique est contre indiquée (6, 268).

Son coût est inférieur à celui du LBA (123, 204, 268).

F. BIOPSIE PULMONAIRE CHIRURGICALE

Les indications essentielles de ce geste sont représentées par l'existence d'affections pulmonaires reconnues, sans diagnostic précis porté après fibroscopie bronchique et continuant à s'aggraver (102). Une seconde bronchoscopie peut être indiquée avant la biopsie chirurgicale (101, 230).

Cette technique coûteuse et agressive n'a pas une rentabilité de 100% et reste d'indication limitée (61).

Tableau 6 :

Etude de Pitchenik en 1986 : rendement diagnostique relatif des méthodes citées ci-après chez 20 patients infectés par le VIH avec pneumocystose (Pneumocystose prouvée par une ou plusieurs des procédures suivantes) (204).

	Nombre réalisé	Résultats positifs	Sensibilité
Expectoration induite	20	11	55
Lavage bronchoalvéolaire	14	11	79
Brossage bronchique	17	9	53
Biopsie transbronchique	20	18	90

VI - FACTEURS PRONOSTIQUES

Dans la pneumocystose, l'identification de facteurs pronostiques est utile pour diverses raisons parmi lesquelles la sélection plus appropriée des patients nécessitant des thérapeutiques plus agressives, la classification des malades engagés dans les essais cliniques ainsi que la surveillance du malade au cours de son hospitalisation.

D'après de nombreuses études américaines, plusieurs facteurs peuvent être mis en évidence :

- un retard au diagnostic et à la mise en route du traitement (16, 118),
- une moins bonne expérience hospitalière du SIDA dans le service où est admis le malade (7),
- de multiples hospitalisations antérieures dans le cadre de l'infection par le VIH (7, 115),
- la présence d'une infection pulmonaire coexistante : le *Cytomégalo*virus étant le germe le plus fréquemment retrouvé (7, 16, 115),
- une fréquence respiratoire élevée (121, 170),
- un taux élevé de polynucléaires neutrophiles dans le LBA (fig.4) (139, 157, 225).

Un taux d'éosinophiles élevé, sans taux élevé de polynucléaires neutrophiles, n'est pas associé à un mauvais pronostic (63).

- une hypoxémie marquée (115, 121),
- un gradient alvéoloartériel en O₂ supérieur à 35 mmHg (170, 236),
- une élévation du taux de LDH plasmatique; l'étude de Lipman donne un taux seuil de 520 UI/L à partir duquel le pronostic est considéré comme mauvais (143). Ce taux chute lentement avec la thérapeutique (74, 114, 268).

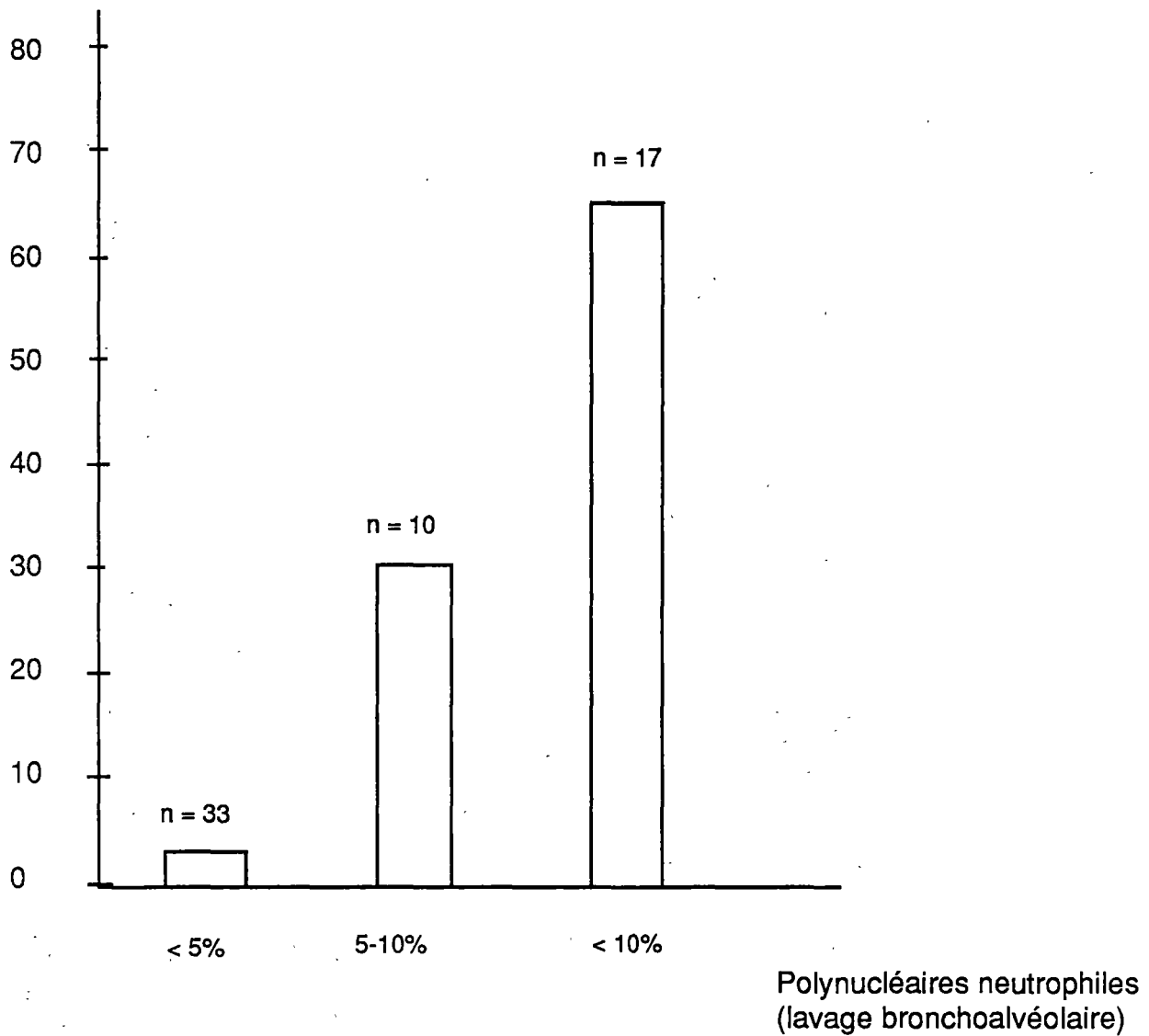
- une diminution de l'albumine plasmatique (115, 121, 157),
- une leucopénie est retenue par la plupart des auteurs (121, 249, 66).

Les études ne sont pas concordantes pour le nombre des lymphocytes CD4+ et CD8+ (121, 204).

Le nombre de parasites dans le LBA n'est pas associé à la survie, mais il existe une relation entre le nombre de parasites dans les alvéoles pulmonaires et l'intensité des symptômes pulmonaires (74, 121, 139).

FIG. 4 : Etude de Masson et al. en 1989 : relation entre le pourcentage de décès ou de détresse respiration et la quantité de polynucléaires neutrophiles dans le lavage bronchoalvéolaire de 60 patients infectés par le VIH avec pneumocystose prouvée (157).

Patients décédés ou en détresse respiratoire (%)



VII - EVOLUTION

En cas d'évolution favorable, la réponse clinique est assez lente.

En général les patients ressentent une amélioration clinique à partir du cinquième jour de traitement (96, 121, 170, 178).

Une aggravation clinique et radiologique au cours des premiers jours est fréquente et ne préjuge pas nécessairement de l'évolution ultérieure (41, 121).

La défervescence thermique, l'amélioration des gaz du sang artériel et la réduction de la dyspnée surviennent aux alentours du septième jour chez la plupart des patients (51, 121, 163).

Si l'amélioration radiologique survient, elle a lieu en moyenne vers le douzième jour (51, 160).

Contrairement aux pneumocystoses observées au cours d'autres immunodépressions, chez les patients atteints de SIDA, le *Pneumocystis carinii* peut être retrouvé au niveau du lavage bronchoalvéolaire 25 voire 35 jours après la mise en route du traitement et ce même en cas d'évolution favorable à long terme; mais la viabilité et la pathogénicité de l'organisme observé sont inconnues (219).

Les médecins se basent donc essentiellement sur la clinique pour juger du caractère favorable ou non de l'évolution (163).

La létalité du premier épisode de pneumocystose se situe entre 5 et 30%. il n'existe pas de différence significative entre les patients infectés par le VIH et les autres immunodéprimés (30, 121, 194).

L'étude de Wharton en 1986 trouve que 50 à 80% des patients survivent à leur épisode initial, cela en accord avec d'autres études (96, 115, 178, 255).

La plupart des auteurs estiment à environ 50% le taux de rechute à 10 mois chez les patients infectés par le VIH (79, 136, 221).

Les formes récurrentes s'observent rarement dans les six premiers mois suivant l'épisode initial (79, 179).

D'après l'analyse de Harris, la survie entre 84-85 et 86-87 aurait sensiblement augmentée chez les patients atteints du SIDA et dont la pneumocystose est la première manifestation de la maladie. Les raisons n'ont pas été démontrées, mais l'auteur pense qu' un meilleur diagnostic et traitement peuvent avoir contribué au déclin de la mortalité (96).

DEUXIEME PARTIE :

DONNEES RECENTES

I - AGENT PATHOGENE

A. TAXONOMIE

En 70 ans, aucun accord n'a été fait sur la classification de PC. Dans sa description originelle, il fut considéré comme un protozoaire à cause de son apparence générale (14, 19, 22, 38). La morphologie, les caractères tinctoriaux, l'étude de la relation hôte-parasite, les caractères biochimiques et histochimiques n'ont pas permis de mettre en évidence de profil suffisamment clair pour une classification phylogénétique.

1. Caractères en faveur d'une appartenance à la famille des protozoaires :

L'étude de Vossen en microscopie électronique a révélé un système de microtubules dans les sporozoïtes du PC comparable à celui retrouvé chez les protozoaires (242). Ces tubules, de 20 à 26 nm de diamètre, sont situés sous la membrane et possèdent un core central de 10 nm transparent aux électrons.

D'autres auteurs utilisant les mêmes techniques ont mis en évidence des structures circulaires de 60 nm de diamètre correspondant probablement à des phénomènes de fusion membranaire, caractéristiques des protozoaires (262).

La susceptibilité du PC aux agents antimicrobiens est clairement celle d'un protozoaire plutôt que celle d'une levure (tableau 7).

Gradus et al. ont isolé l'ADN du PC, calculé la quantité contenue dans un seul microorganisme et l'ont comparée à celle d'autres microorganismes (tableau 8). Le contenu en ADN de *Saccharomyces* (0,02 pg/cellule) est 10 à 15 fois inférieur à celui du PC (0,22 à 0,34 pg/cell.). Celui du *Toxoplasma gondii* est

seulement 2 à 3 fois inférieur (88). Pour situer ces mesures d'une façon plus générale, on rappelle que le contenu en ADN des virus se situe autour de 0,0005 pg/cell. et de 0,007 pg/cell. pour les bactéries (112).

Worley et al. ont comparé le contenu en guanine + cytosine (coefficient de Chargas) de l'ADN du PC avec différents protozoaires et levures. Les résultats n'ont absolument pas permis de trancher en faveur de l'une ou l'autre famille (260).

2. Caractères en faveur de sa nature fongique

L'analyse biochimique de la paroi du kyste a montré que l'un des principaux composants, le B₁₋₃ glucan, est communément retrouvé dans la paroi de plusieurs levures. Il est responsable de la coloration argentique et au bleu d'aniline à la fois chez le PC et les levures (Matsumoto in Gutierrez 89).

Peut-être plus convaincantes sont les données fournies par la biologie moléculaire.

Edman et al. en 1988 ont comparé les séquences de l'ARN ribosomal 16S du PC extrait de poumons de rats avec celles d'autres organismes. Une grande similitude a été notée avec *Saccharomyces cerevisiae* et *Neisseria crassa* (47).

Stringer et Cushion en 1988 étudient les séquences de l'ARN ribosomal 18S du PC extrait de poumons de rats infectés (233). Ils comparent une séquence de 386 nucléotides avec celle de huit autres organismes. Une homologie a été notée pour *Saccharomyces cerevisiae* et *Neisseria crassa*. Une grande divergence par contre pour *Toxoplasma gondii* et *Plasmodium berghei*.

Kovacs et al. comparent l'activité dihydrofolate réductase (DHFR) de PC et de *Toxoplasma gondii* (126). De façon similaire à tous les protozoaires, le *Toxoplasma gondii* a une enzyme bifonctionnelle de gros poids moléculaire

(120000 Daltons) qui possède à la fois l'activité DHFR et thymidilate synthétase (TS).

Or le PC a une enzyme DHFR de petit poids moléculaire (26000 Daltons) et les activités DHFR et TS peuvent être séparées sur colonne de chromatographie.

Ces observations rejoignent celles d'Edman qui a montré que les gènes du PC codant pour la DHFR et la TS sont situés sur des chromosomes distincts (48, 49).

Ces études soutiennent le fait que la DHFR et la TS du PC sont deux protéines indépendantes, ce qui est caractéristique des champignons et non des protozoaires.

Walker et al. ont montré que le PC produisait de la chitine à plusieurs stades de son cycle de vie chez l'hôte humain infecté (247). La chitine, polysaccharide composé d'unités répétées de N-acétylglucosamine, est un constituant majeur de la membrane cellulaire de la plupart des champignons mais est trouvée en moindre importance dans la forme kystique de divers protozoaires (*Amibes*, *Giardia*) (253). Le fait que la chitine est présente à plus d'un stade de PC est compatible avec la classification fongique. D'autres implications seraient qu'une molécule qui arrêterait la synthèse de la chitine serait active contre tous les stades du PC. De plus, comme la chitine n'est pas un composant du tissu humain, il n'y aurait pas d'interaction avec ce dernier.

3. Autre aspect taxonomique

Un autre aspect taxonomique important est l'existence possible de plusieurs espèces dans le genre.

La morphologie du PC isolé à partir de prélèvements chez l'homme ou d'autres espèces animales est identique en microscopie optique et en

microscopie électronique (14). Cependant, des études immunologiques ont détecté à plusieurs occasions une différence entre les antigènes de surface d'organismes provenant du rat et celui de l'homme.

En 1987, Linder et al. mettent en évidence un antigène spécifique (82 kDa) du PC humain (141).

En 1987, Walzer réalise une étude par immunoblots des caractères antigéniques du PC provenant de rats et d'hommes. L'antigène principal retrouvé chez l'homme est une bande de 40 kDa; celui provenant du rat infecté est principalement de 116 kDa (251).

Le fait que des sérums humains reconnaissent des antigènes de PC provenant de poumons de rats infectés et que les antigènes de PC humain sont reconnus par des sérums de rat, souligne l'existence de déterminants antigéniques communs (251).

Cependant, les résultats obtenus par ailleurs suggèrent la présence de déterminants antigéniques spécifiques d'espèces ou de souches (124).

Des études par clonage et hybridation de l'ADN renforcent les résultats précédents. Les clones d'ADN de PC provenant de rats infectés s'hybrident de façon variable avec l'ADN de PC humain, révélant ainsi une homologie partielle (235).

Une étude du caryotype de PC a été réalisée dans quatre colonies différentes de rats infectés et chez deux sujets humains (104). Il existe une variété dominante dans une colonie donnée. Les populations de PC isolées à partir des humains ont montré une seule variété de PC mais chaque individu hébergeait un type différent (variation de bande).

Tableau 7 :

Comparaison de la sensibilité du *Pneumocystis carinii* aux agents antimicrobiens antifongiques et antiprotozoaires (112).

Agents antimicrobiens	Exemples d'organismes sensibles	Sensibilité du <i>P. carinii</i>
Triméthoprimé - sulfaméthoxazole	<i>Isospora</i>	+
Pyriméthamine - sulfadoxine	<i>Toxoplasma</i>	+
Iséthionate de pentamidine	<i>Trypanosome, Leishmanie</i>	+
Dapsone	<i>Plasmodium</i>	+
Amphotéricine B	<i>Candida, Cryptococcus</i>	-
Kétoconazole	<i>Candida, Cryptococcus</i>	-

Tableau 8 : Comparaison du contenu en ADN du *Pneumocystis carinii* avec celui des protozoaires et des levures (88)

Organismes	Contenu en ADN (pg / cellule)
<i>Trichomonas vaginalis</i>	0,53
<i>Entamoeba histolytica</i>	0,45
<i>Trichomonas gallinae</i>	0,40
<i>Pneumocystis carinii</i>	0,22 - 0,34
<i>Toxoplasma gondii</i>	0,10
<i>Trypanosoma cruzi</i>	0,077
<i>Trypanosoma gambiense</i>	0,077
<i>Plasmodium berghei</i>	0,05
<i>Saccharomyces</i>	0,02

pg : picogramme

B. TRANSMISSION

La plupart des auteurs pensent que la transmission se fait par voie aérienne. Ils se basent sur les études expérimentales (108) et les observations parmi les individus hospitalisés (26, 94).

L'expérience de Hughes a consisté à donner par voie orale des organismes purifiés à des rats immunodéprimés (sous corticoïdes). Ceux-ci n'ont pas présenté de pneumocystose. Par contre, quand des rats immunodéprimés sont exposés de façon sélective à un air provenant de cages de rats infectés, ils développent la maladie (108).

Une transmission interhumaine par voie aérienne a été suggérée par le regroupement des cas de pneumopathies à PC dans les hôpitaux (26, 94).

L'étude de Haron suggère une relation entre l'incidence de la pneumocystose chez des malades immunodéprimés non infectés par le VIH et le nombre de personnes atteintes de SIDA hospitalisées dans l'établissement où s'est faite l'étude (fig.5).

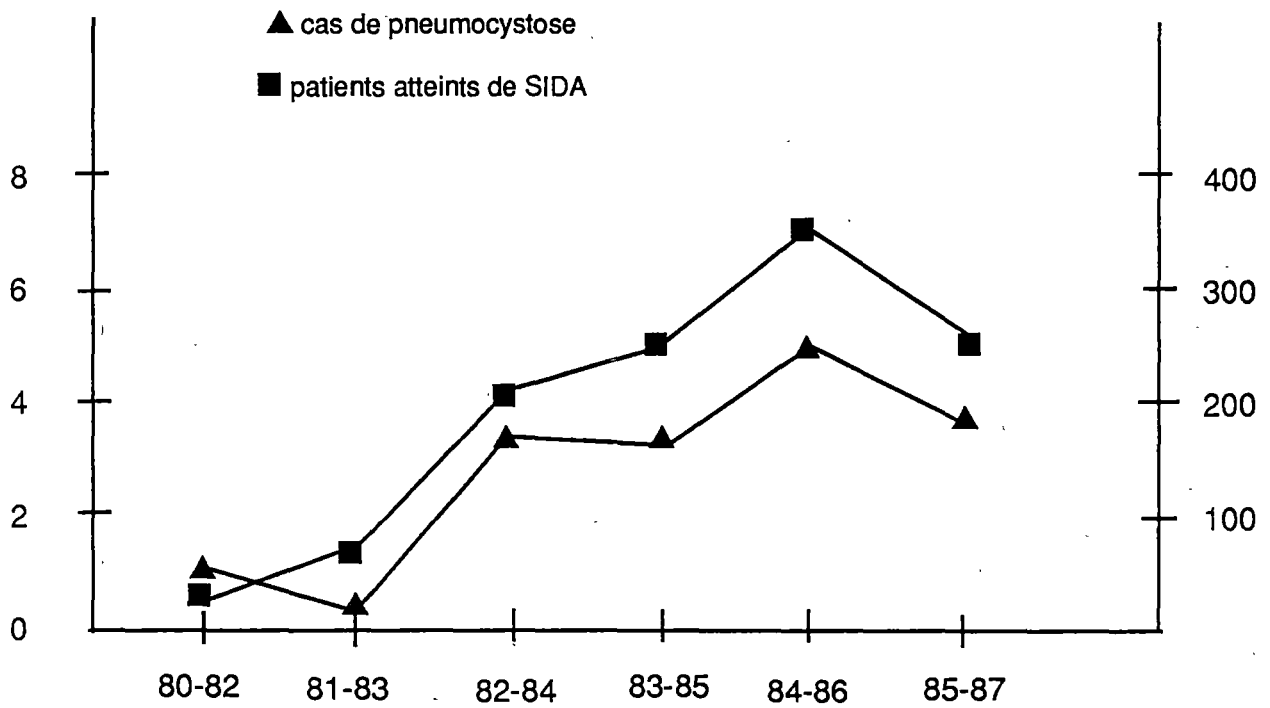
Les questions concernant la forme infectante, l'existence ou non de vecteurs, d'hôte intermédiaire ou définitif, ou de réservoir de PC ne sont pas encore élucidées.

Les études sur la transmission sont peu aisées à cause des difficultés rencontrées pour différencier infection primaire, latente et réactivation.

FIG. 5 : Incidence de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* chez des patients atteints de cancers et nombre de cas de SIDA enregistrés entre 1980 et 1987 au M.D. Anderson, Houston, Texas, E.U.

Nombre de pneumocystoses pour 10 000 cancers enregistrés

Nombre de patients atteints de S.I.D.A. enregistrés



C. PATHOGENIE

1. Physiopathologie

Le PC se multiplie dans les alvéoles pulmonaires, mais depuis l'apparition d'infections disséminées, on sait qu'il peut se développer dans d'autres organes (252).

Dans l'alvéole, le PC adhère aux pneumocytes de type I (250). Les avantages de cette fixation pour le parasite sont inconnus. L'adhérence entre le microorganisme et la cellule alvéolaire est très intime (apposition membranaire). Des études ultrastructurales ont montré qu'il n'existait ni fusion membranaire, ni échanges de particules intramembranaires (99, 144, 262).

La surface du PC et des cellules de type I est riche en hydrates de carbone, dont le glucose, le mannose et la N-acétylglucosamine sont les constituants prédominants (35). Ceux-ci ont été mis en évidence à l'aide de sondes fluorescentes (lectines). Ces lectines solubles contribuent à la formation de la matrice spumeuse éosinophile trouvée dans les alvéoles (262).

Les changements produits par le microorganisme sur les cellules alvéolaires de rats infectés ne sont pas spécifiques. Après une semaine, des rats sous corticothérapie et régime hypoprotidique ont des trophozoites fixés sur les cellules alvéolaires sans dommage apparent. Un mois plus tard, survient une nécrose focalisée des pneumocytes de type I suivie d'une hyperplasie des cellules de type II (d'où un épaissement interstitiel). Il existe une réaction inflammatoire limitée, sauf pour les macrophages alvéolaires (131). La destruction des cellules de type I entraîne une augmentation de la perméabilité de la membrane alvéolo-artérielle, une altération de la membrane basale. Cela

permet l'exudation de fibrine et d'autres protéines qui contribuent à la formation de l'exudat spumeux (91).

2. Réactivation versus infection

On ne sait pas encore si la pneumocystose chez les patients atteints de SIDA et les autres immunodéprimés représente la réactivation d'une infection primaire ou latente ou implique une réinfection.

Une étude des tranches de sections pulmonaires et de ganglions hilaires à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-PC, à partir d'une population variée (sujets infectés par le VIH, atteints de SIDA avec ou sans pneumocystose, sujets sains décédés par accident) n'a pas pu démontrer la présence de PC en l'absence de pneumocystose (169). Ces résultats sont plutôt en faveur d'une réinfection.

Cependant, des études sérologiques ont montré qu'à l'âge de quatre ans, environ deux tiers des enfants normaux possèdent des anticorps anti-PC (167, 198). De plus, des antigènes circulants de PC peuvent être présents au cours de diverses maladies autres que la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* ainsi que chez des adultes en bonne santé (199).

D'autres études suggèrent qu'une large proportion d'adultes a été exposée au PC, suggérant la possibilité d'une réactivation ultérieure (124, 234).

3. Rôle du déficit immunitaire

Chez des hôtes normaux, le PC est de faible virulence. L'immunité de l'hôte doit être sévèrement altérée avant que le parasite puisse donner une maladie cliniquement manifeste (106, 199).

Le déficit de l'immunité cellulaire est considéré comme plus important que le déficit de l'immunité humorale dans la prédisposition pour une infection à PC (194, 249). Cependant, les déficits immunitaires de l'hôte spécifiquement impliqués dans ce processus sont peu compris et de plus, des cas de pneumocystose ont été décrits chez des patients avec un déficit isolé en lymphocytes B (207).

Une étude par immunohistochimie a montré la présence d'immunoglobulines G et d'immunoglobulines A humaines recouvrant la surface des kystes du PC chez des patients atteints de SIDA (11). Le fait d'avoir trouvé essentiellement des IgG et des IgA est en faveur d'une acquisition secondaire ou d'une réactivation d'une infection latente. En effet, une infection primaire (des plasmocytes pulmonaires) est caractérisée par de nombreuses IgM et IgG, et seulement des traces d'IgA.

On ne sait pas encore quel rôle jouent ces immunoglobulines de surface dans la pathogénèse de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* chez les patients infectés par le VIH. Deux hypothèses :

- ces immunoglobulines pourraient être des anticorps opsonisants, mais les déficits immunitaires des sujets VIH+ seraient responsables de la prolifération du PC.
- ces immunoglobulines seraient des anticorps bloquants, masquant alors la détection des antigènes du PC.

Les modèles animaux sont utiles dans l'étude de la biologie et la pathogénèse du PC. L'immunosuppression est généralement induite par les corticostéroïdes associés à une privation protéique. Cela présente plusieurs inconvénients dont le principal est le grand nombre d'effets causés par les agents inducteurs (65, 229).

Des rats "nude" ont également été utilisés, mais dans ce cas, le déficit immunitaire affecte principalement les lymphocytes T (68).

Récemment, certains auteurs ont proposé l'utilisation de souris "scid" (lesquelles ont à la fois un déficit cellulaire et humoral) pour l'étude *in vivo* de la pneumocystose spontanée (213). Les lésions pulmonaires étaient similaires à celles décrites chez les patients immunodéprimés et les rats sous corticothérapie. En l'absence de lymphocytes T et de lymphocytes B, les souris "scid" répondent à l'infection à PC par une importante activité de l'immunité non spécifique (macrophages et polynucléaires neutrophiles). Certaines de ces souris ont été rendues immunocompétentes par greffe de moelle. C'est parmi ces souris (survivant à la phase de détérioration inflammatoire) que l'on a observé une résolution complète de la maladie. Des lymphocytes ont été trouvés dans leurs poumons, de même que des IgM sériques. Les mécanismes mis en jeu ne sont pas connus. Cela souligne l'importance de la restauration d'une fonction immune chez les patients atteints de SIDA.

D. DISSEMINATION

Il s'agit actuellement d'une notion admise par la plupart des auteurs.

La prévalence de cette dissémination serait de 3% chez des patients infectés par le VIH et de 5% chez ceux ayant des antécédents de pneumocystose (206).

On ne connaît pas la prévalence chez les autres immunodéprimés (252).

Les sites de dissémination sont multiples (tableau 9) et seraient repérés pour certains par tomodynamométrie (calcifications) (206).

Quelques cas d'infections disséminées ont été décrits alors que le patient était sous traitement prophylactique par aérosols de pentamidine (93, 184). Le taux plasmatique de pentamidine est plus bas lors d'une administration par aérosols

que par voie parentérale ce qui pourrait expliquer en partie qu'il y ait pu avoir une dissémination (177). La dissémination se ferait à partir du poumon par voie hématogène et/ou lymphatique (32, 203, 206). La raison pour laquelle elle a lieu chez un faible pourcentage de malades semble inconnue. Il serait intéressant de savoir s'il existe une relation entre le nombre de lymphocytes CD4+ et la dissémination du *Pneumocystis carinii*.

Tableau 9 : sites de dissémination du *Pneumocystis carinii* à partir de diverses études (liste non exhaustive).

Foie	(32, 93, 154, 206).
Rate	(32, 154, 206).
Ganglions médiastinaux et hilaires	(32, 154, 206).
Ganglions abdominaux	(32, 206).
Biopsie médullaire	(32, 100, 154, 208).
Surrénales	(32, 154, 206).
Thyroïde	(73, 154).
Conduit auditif externe	(33, 149).
Choroïde	(93, 149).
Coeur	(32).

II DIAGNOSTIC

A. COLORATIONS

1. Le Gram et le Ziehl

La coloration de Gram permet de mettre en évidence les kystes. Leur structure est hétérogène et les aspects varient vraisemblablement selon le stade évolutif (14).

Les kystes apparaissent comme des structures sphériques Gram négatives d'un diamètre de 5 à 7 micromètres (fig.6.1). La plupart d'entre eux contiennent huit corps intrakystiques disposés le plus souvent en amas, rarement en rosette, forme facilement reconnaissable du PC (17, 56).

Nielsen et al. ont observé une paroi Gram négative entourée d'un halo clair sans évidence de corps intrakystiques en microscopie optique. Cependant, ceux-ci sont parfois visibles en contraste de phase (182).

Felegie et coll. ont coloré et observé des corps intrakystiques obtenus à partir de brossage bronchique, biopsie transbronchique et biopsie par thoracotomie. Dans cette étude, la sensibilité de la méthode a été évaluée à 60% (56).

Avec le Ziehl, Nielsen et al. observent les corps intrakystiques en contraste de phase alors que Felegie et coll. obtiennent au microscope optique des résultats comparables à ceux du Gram (56, 182).

Ces deux colorations ne gênent pas une recoloration par imprégnation argentique ou par le bleu de Toluidine O (175).

Le Gram seul n'est pas suffisamment sensible pour la détection en routine du PC. Cependant, les biologistes doivent connaître l'apparence morphologique du

PC dans cette coloration puisque le Gram est une coloration usuelle qui peut être faite pour une autre recherche (17, 56, 148).

2. Le Giemsa

Cette technique permet de mettre en évidence le matériel intrakystique de manière beaucoup plus fine que le Gram (14). C'est la coloration de référence à laquelle il faut avoir recours en cas de doute (175).

Les trophozoïtes, petits et grands, se présentent avec le cytoplasme bleuté et le noyau pourpre. Les kystes sont plus difficiles à observer (fig.6.2). Leur paroi se détache souvent comme un halo clair sur le fond de la préparation et cerne les sporozoïtes intrakystiques qui eux sont bien colorés en violet pourpre (130).

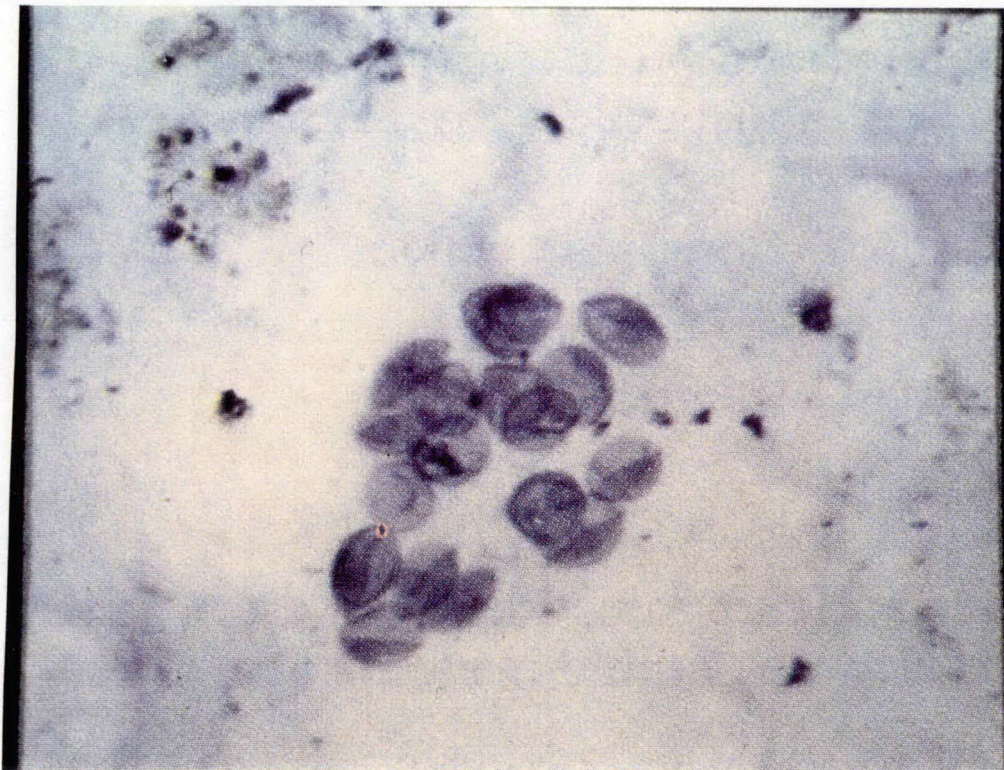
La reconnaissance des kystes sur un frottis de LBA est moins aisée que sur une apposition de tissu pulmonaire (175). En effet, il peut être difficile de reconnaître les kystes sur un culot de LBA, surtout si celui-ci est très muqueux. La coloration du mucus peut masquer le halo périphérique du kyste.

De plus, le liquide de LBA peut être envahi de germes dont la disposition parfois régulière peut tromper (175). Le résultat est disponible environ une heure après réception du LBA.

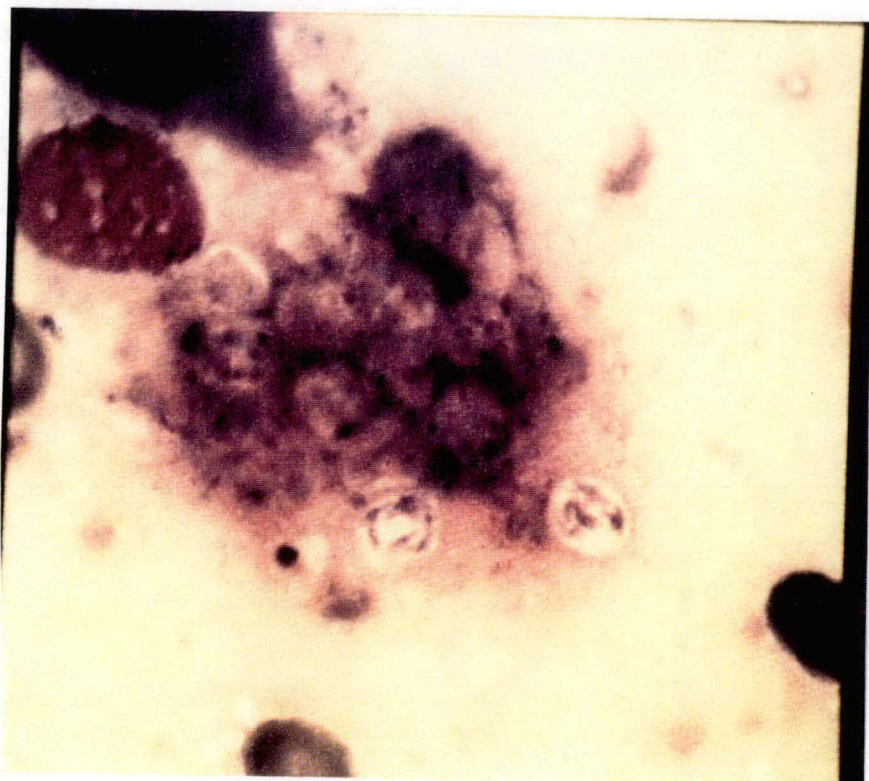
Certains auteurs ont montré qu'une confusion était possible entre l'*Aspergillus fumigatus* et le *Pneumocystis carinii* (12).

Fig.6

6.1



6.2



3. Le Diff - Quick

Il s'agit d'une coloration similaire au Giemsa qui demande une à deux minutes et qui de façon reproductible colore les trophozoïtes et les corps intrakystiques de PC.

Les sporozoïtes, de 1,5 à 2 micromètres de diamètre, apparaissent avec un noyau rouge et un cytoplasme bleu pâle (130). Bien que la paroi du kyste ne se colore pas, la configuration de celui-ci peut être déterminée par la disposition circonférentielle des sporozoïtes (175). Les trophozoïtes, de 2,5 à 5 micromètres de diamètre, se colorent en bleu violacé alors que le matériel nucléaire lui, est souvent excentré et se colore en bleu foncé.

L'étude de Chandra qui porte sur des brossages bronchiques trouve une sensibilité de 76% pour le Diff-Quick (DQ) contre 86% pour la coloration au Gomori-Grocott (23).

L'étude de Tollerud montre une sensibilité de cette coloration (DQ) de 93% et une spécificité de 95% dans le LBA de patients infectés par le VIH (238).

Cette étude note que la lecture des lames est plus difficile chez les autres immunodéprimés et que dans ce cas, la sensibilité varie alors de 25 à 55%.

L'avantage majeur de cette méthode est sa rapidité. Les résultats sont disponibles vingt à vingt cinq minutes après la réception de l'échantillon au laboratoire (175).

Les désavantages sont l'absence de coloration des parois kystiques, la difficulté à distinguer parfois les petits sporozoïtes des bactéries, des agrégats plaquettaires et des noyaux des leucocytes (130). D'ailleurs une lecture à fort grossissement (x 40) est nécessaire et un résultat positif doit être confirmé par une autre coloration comme le Gomori-Grocott ou le Bleu de Toluidine (23).

Il faut noter que le Diff-Quick permet la coloration d'autres pathogènes parfois associés au SIDA (*Cryptococcus néoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Toxoplasma gondii*, *Cytomégalovirus*) (23, 185, 238).

4. Le Gomori - Grocott et sa variante rapide de Musto

Il s'agit d'une imprégnation argentique des parois kystiques. Toute coque kystique est colorable que le kyste soit vide ou plein; les frottis ont donc un aspect plus riche, la lecture en est facilitée (14).

L'imprégnation argentique est un temps délicat qu'il faut savoir arrêter au bon moment si l'on veut obtenir des caractères morphologiques caractéristiques des parois. Il est primordial qu'une lame témoin positive soit colorée chaque fois (175).

Les kystes colorés en brun noir se détachent aisément sur fond vert. On distingue des formes pleines, homogènes, régulières, des formes au sein desquelles apparaît une petite masse noirâtre excentrée ou des formations en parenthèses et surtout des aspects cupuliformes ou en croissant (fig.7).

En général, sur les coupes les PC se regroupent en amas, alors qu'ils sont en règle isolés dans les produits d'aspiration ou les étalement d'expectoration.

L'étude de Chandra trouve une sensibilité de 86% sur lavages bronchiques (23).

L'étude de Martin au CHU de Grenoble trouve une sensibilité de 87% sur échantillon de LBA en utilisant une variante rapide du Grocott (153).

Depuis la technique de Grocott, des améliorations portant sur les temps de coloration ont été apportées. La dernière en date, celle de Musto, se réalise en trente minutes permettant de rendre un résultat dans les deux heures qui suivent l'arrivée au laboratoire du produit pathologique (180).

Les désavantages de cette technique sont (23, 130, 153, 175) :

- l'imprégnation argentique identique de la paroi des levures (la distinction morphologique est parfois difficile et il faut rechercher des éléments bourgeonnants ou des cicatrices de bourgeonnement),
- la destruction et la non visualisation des trophozoïtes qui sont presque toujours abondants et parfois les représentants exclusifs de PC dans les infestations massives,
- la durée, la nécessité de réactifs spéciaux et de personnel expérimenté.

5. Le Bleu de Toluidine O

Cette technique réalise une réaction de sulfatation, puis une coloration par le bleu. Elle est rapide (15 minutes) et demande l'utilisation d'une lame témoin (258). Les parois kystiques sont violettes ou pourpres et se détachent sur un fond bleu. Les corps intrakystiques ne sont pas visibles (175).

Une technique de coloration modifiée du bleu de Toluidine O peut être également utilisée. Elle peut être employée pour les appositions sur lames, les produits de LBA et les expectorations induites (84). Avec cette technique, les kystes sont mieux visualisés car l'arrière plan est moins encombré (meilleure digestion des matériaux par un réactif sulfaté). Les lames sont ainsi plus faciles à lire. Le temps entre la réception de l'échantillon et le résultat de la lecture est d'environ une heure (258).

Gosey et al. trouvent à partir du LBA de patients infectés par le VIH une sensibilité de 89% avec le bleu de Toluidine et de 92% avec le bleu de Toluidine modifié (84).

Kovacs et coll. ont évalué la sensibilité de différentes méthodes, à partir d'études prospectives, sur des échantillons d'expectoration induite chez des patients VIH+ suspects de pneumopathie à *Pneumocystis carinii* (123).

Les résultats ont montré une sensibilité de 80% pour le bleu de Toluidine, 76% pour le Diff-Quick et 92% pour l'immunofluorescence indirecte (IFI).

Cette méthode est plus simple car les réactifs sont plus faciles à préparer que pour la coloration de Grocott (84).

Il faut souligner le fait que les levures, spécialement dans les échantillons de crachats, peuvent présenter un problème majeur d'interprétation. La morphologie de quelques levures peut être identique à celle des kystes de PC, et une levure isolée est souvent non distinguable d'un PC (258).

6. Le "Cellufluor"

Il s'agit d'un agent optique éclaircissant, chimiofluorescent, qui se lie de façon spécifique (liaison bêta) aux polymères polysaccharidiques que l'on trouve chez les champignons et d'autres organismes (92).

Les éléments fongiques se colorent en vert pomme. Les kystes de PC mesurent 5 à 7 μm de diamètre, sont généralement ronds, assez uniformes, non bourgeonnants. Une importante particularité est l'intensité de la coloration d'une structure en forme de parenthèses (5). On pense que cette structure joue un rôle dans le dékystement (91).

L'étude de Baselski compare le bleu de Toluidine au "cellufluor". C'est le premier rapport utilisant cette coloration pour le PC (5). L'évaluation a été réalisée à partir d'échantillons de LBA. La sensibilité a été de 95% (21 cellufluor positifs contre 22 pour le bleu de Toluidine) et la spécificité de

100%. Les auteurs ont présumé que le seul désaccord provenait d'une erreur d'échantillons.

La caractéristique morphologique (parenthèses) mise en évidence par cette coloration permet une interprétation des frottis plus facile entre les kystes de PC et les levures non bourgeonnantes.

Une étude très récente compare cette coloration à l'immunofluorescence directe (utilisation d'anticorps monoclonaux) et montre une sensibilité de 100% sur les produits de LBA pour les deux méthodes (232). Mais la sensibilité est significativement moins bonne pour le cellufluor lorsqu'il est réalisé sur les échantillons des expectorations induites. Les auteurs concluent qu'il serait intéressant de se servir du "cellufluor" comme méthode de dépistage sur les produits de LBA.

Les avantages offerts par cette méthode sont la rapidité, la facilité de la coloration et le faible coût (5, 232).

Dans le cadre de ces différentes méthodes de coloration, il convient de souligner qu'un seul examen négatif chez un sujet suspect de pneumopathie à *Pneumocystis carinii* est insuffisant pour éliminer le diagnostic.

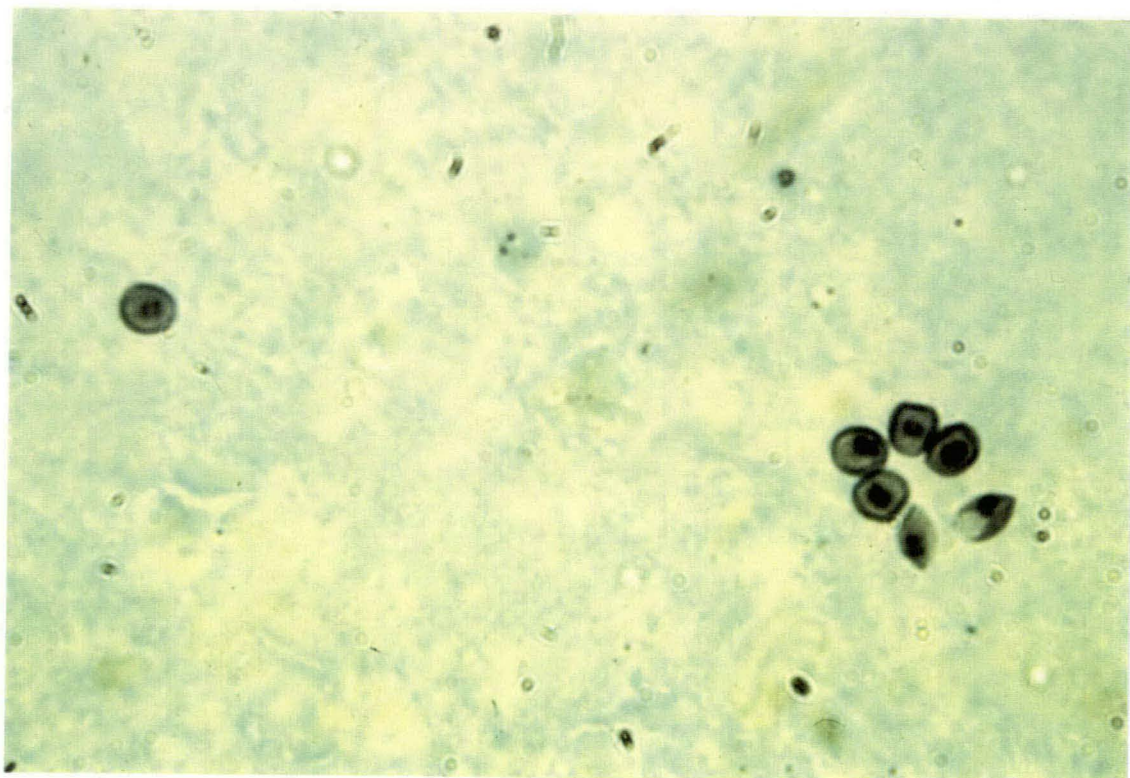
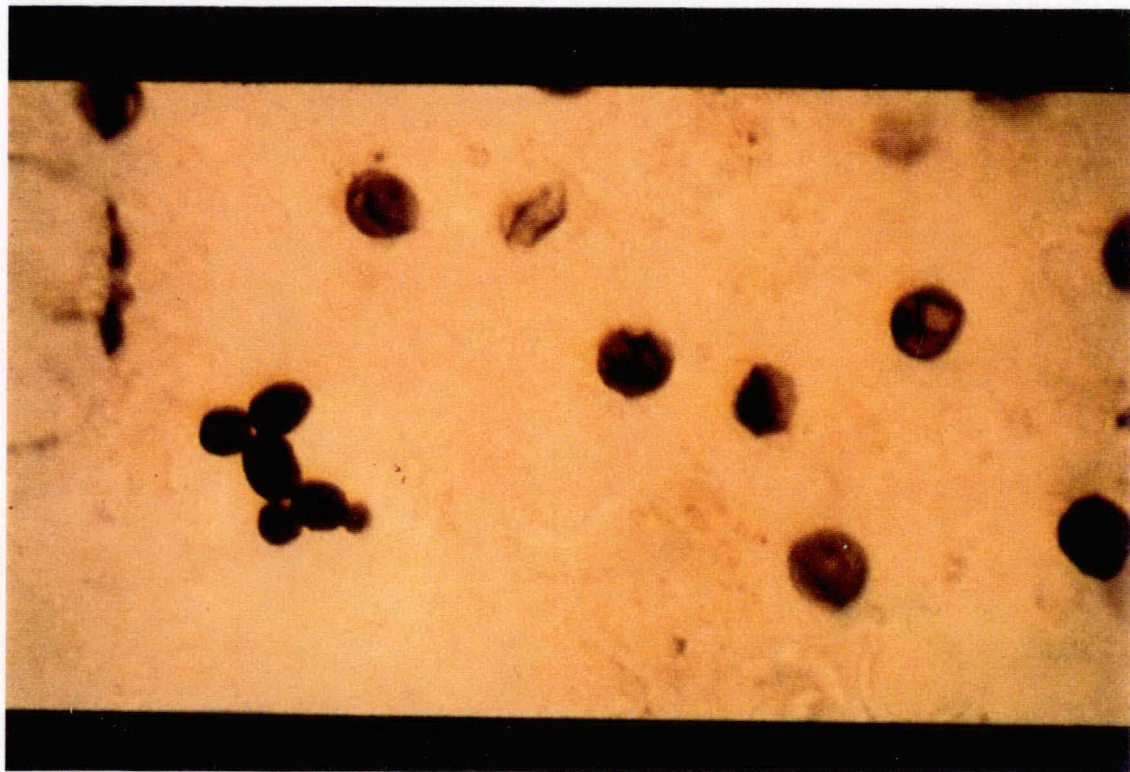
Les méthodes qui colorent la paroi apparaissent plus sensibles dans la détection du PC quand le nombre d'organismes est bas (la plupart VIH-); mais la prise de ces colorations par les levures peut entraîner des difficultés pour différencier le PC d'une infection fongique (238).

Devant les difficultés rencontrées avec les colorations, de nombreux auteurs ont essayé d'exploiter la capacité des anticorps polyclonaux puis monoclonaux pour reconnaître de façon spécifique les antigènes de PC (172, 192).

Les anticorps polyclonaux n'ont pas trouvé d'applications dans les études morphologiques, ni même sérologiques pour le PC, reflétant ainsi les problèmes inhérents à ce microorganisme, comme les difficultés à obtenir des antigènes purifiés et de le cultiver in vitro (10, 103, 142, 197).

La suite naturelle de ces problèmes a été le développement des anticorps monoclonaux anti-PC dont de nombreux auteurs se sont servis pour les méthodes d'immunofluorescence et d'immunoperoxydase (6, 77, 89, 122, 140, 141).

Fig. 7 : (a) Grocott ; (b) Musto



7. Immunofluorescence

7.a. Immunofluorescence indirecte

En 1987, Gill et coll. mettent au point trois anticorps monoclonaux (2G₂, 6B₈, 7D₇) et les utilisent dans une méthode d'immunofluorescence indirecte, qu'ils comparent à la coloration par le bleu de Toluidine modifiée selon Gosey (84), sur des produits de LBA et de biopsies pulmonaires de patients immunodéprimés, infectés ou non par le VIH (77).

En IFI, les kystes apparaissent comme des éléments ronds à elliptiques, trouvés à la fois seuls ou en groupe. La paroi kystique est bien distincte, certains kystes possèdent une fluorescence plus marquée en périphérie. Parfois la structure en forme de parenthèses a pu être observée. Les trophozoïtes ont été également visibles, de taille deux à trois fois inférieure aux kystes, souvent ovoïdes ou en croissants. La concordance entre les deux méthodes était de 98,4%. L'absence de faux positifs en IFI est un signe de spécificité. Il faut cependant noter la présence de deux faux négatifs en IFI.

En 1988, Kovacs et al. entreprennent une étude prospective chez des patients infectés par le VIH, suspects de pneumopathie à *Pneumocystis carinii* et évaluent sur les produits d'expectoration induite la sensibilité des différentes méthodes utilisées, soit 92% pour l'IFI, 80% pour le bleu de Toluidine et 76% pour le Diff-Quick (123). L'IFI n'a pas montré de faux positifs. La sensibilité de l'IFI est meilleure de façon significative comparée à celle du Diff-Quick, mais pas à celle du bleu de Toluidine ($p=0,07$).

Beauvais et coll. (Paris) montrent une supériorité de l'IFI par rapport au Grocott. Cette supériorité est nette lorsqu'ils utilisent l'expectoration induite comme produit pathologique (6). Ils se sont servis du "Monofluokit PC

Pasteur". Il faut noter que quand les PC étaient décelés par la seule IFI (4 LBA, 8 EI) le tableau clinique n'était pas toujours évocateur d'une pneumocystose et a pu être rattaché à une autre étiologie dans quelques cas (3 LBA, 3 EI). Ces trois malades étaient les mêmes et avaient des antécédents de pneumocystose. Les auteurs concluent que l'interprétation des résultats est hasardeuse en l'absence de signes cliniques évocateurs, quand de rares kystes sont décelés par la seule IFI.

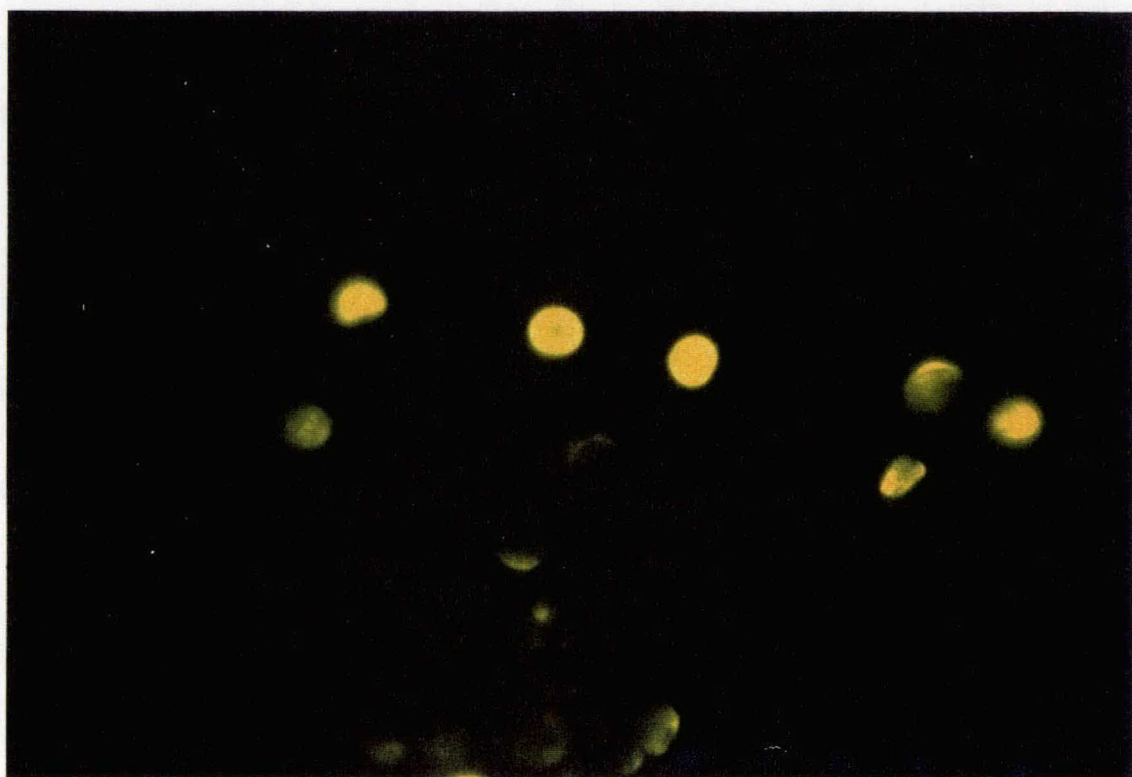
7.b. L'immunofluorescence directe

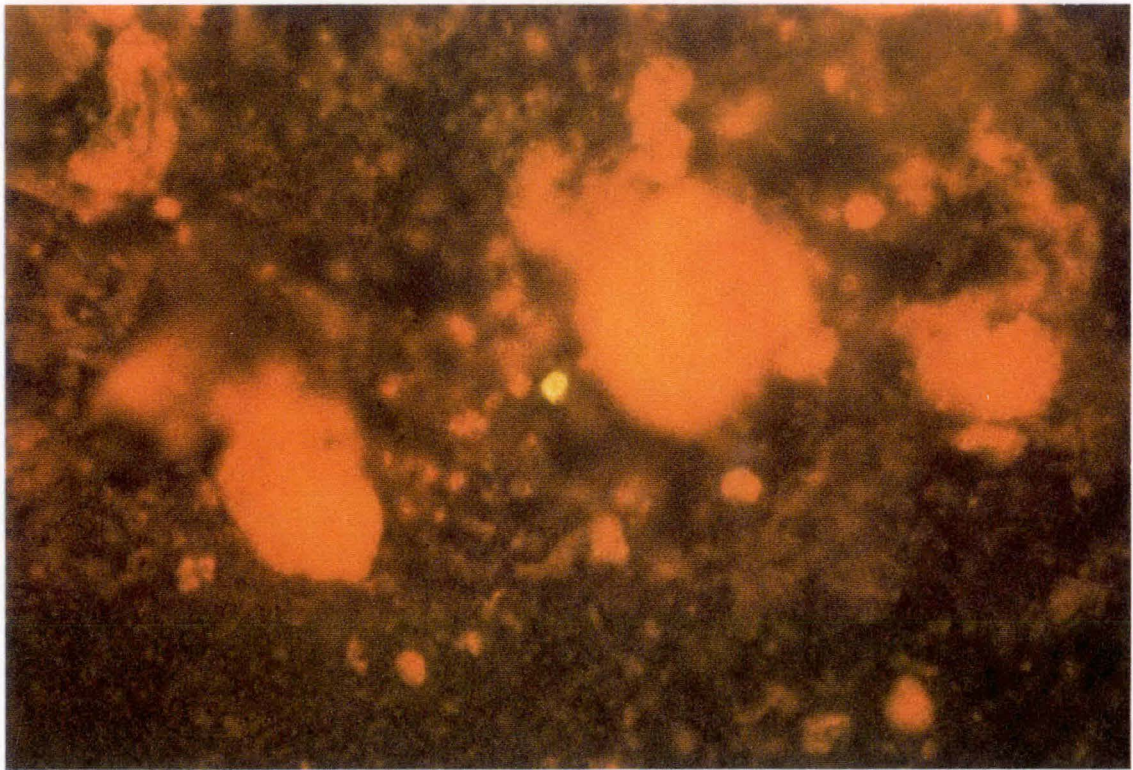
En 1990, Wolfson utilise une méthode d'immunofluorescence directe (IFD) pour l'identification du PC dans l'expectoration induite et le liquide de lavage bronchoalvéolaire de patients immunodéprimés et la compare au Giemsa (259). L'IFD est plus rapide et plus simple que l'IFI. L'étude montre une sensibilité identique au Giemsa pour les patients infectés par le VIH (sensibilité supérieure à 99%) et une spécificité supérieure à 99%.

Les inconvénients de l'IFD sont le coût, la nécessité d'avoir un microscope épifluorescent et la lecture attentive des lames pour éviter les faux positifs.

En 1990, Ng et al. comparent une technique d'immunofluorescence directe avec la coloration par Diff-Quick sur 37 LBA et 124 EI de patients infectés par le VIH et suspects de pneumocystose (181). La sensibilité et la spécificité des deux méthodes étaient similaires. A noter un faux positif pour un LBA en immunofluorescence directe. Aucun avantage supplémentaire n'est retenu par rapport au Diff-Quick.

Fig. 7 bis : (a) IFI kit Pasteur; (b) IFI kit Meridian; (c) IFI kit Dako





8. Immunoperoxydase

Il s'agit d'une technique immunohistochimique utilisée au départ pour évaluer des anticorps monoclonaux.

Lee et coll. ont évalué un anticorps monoclonal de rat anti-PC en utilisant la peroxydase conjuguée avec une IgG anti-rat de lapin (132). Ils s'aperçurent de la capacité de cet anticorps à réagir avec le PC sur des coupes de poumons humains. En microscopie optique, un dépôt noir est observé sur la paroi du kyste de PC. Ainsi, ils suggèrent que la méthode pourrait être utile dans le développement d'un test diagnostique pour la pneumocystose chez l'homme.

En 1988, Blummenfeld et Kovacs utilisent un anticorps monoclonal spécifique (2G₂) avec mise en évidence par immunoperoxydase sur des produits de LBA et d'EI (9). Des agrégats de coloration brune sont clairement visibles (Gx 970). Cet anticorps semble reconnaître plutôt les trophozoïtes que les kystes. Ils comparent les résultats à la méthode de coloration par Diff-Quick. Sur cinquante échantillons évalués, la concordance est de 94% entre le Diff-Quick et l'immunoperoxydase, d'où la comparabilité des résultats (tableau 10).

L'avantage de cette méthode est un temps très réduit de la lecture de la lame, mais la coloration par l'immunoperoxydase est bien plus longue en comparaison du Diff-Quick. Cependant des études seraient nécessaires pour déterminer si l'utilisation d'un anticorps monoclonal révélé, soit par immunofluorescence soit par immunoperoxydase, est utile dans les laboratoires qui voient peu de cas de pneumopathie à *Pneumocystis carinii* et ont donc moins d'expérience dans la reconnaissance de la morphologie du PC avec les autres colorations.

Tableau 10 : Comparaison des résultats obtenus par Diff Quick et Immunoperoxydase chez des patients atteints du SIDA (9).

	Total	L.B.A.	E.I.
Diff Quick			
Positif	28	16	12
Négatif	22	16	6
Total	50	32	18
Immunoperoxydase			
Positif	27	15	12
Négatif	23	17	6
Total	50	32	18

Plusieurs questions se posent avant d'adopter de telles techniques immunologiques en remplacement ou en supplément de méthodes standards.

Les colorations immunologiques sont-elles spécifiques pour le PC, raccourcissent-elles le temps requis pour le diagnostic, minimisent-elles les examens invasifs qui pourraient être faits chez un patient ?

Actuellement, on peut seulement dire que les anticorps monoclonaux utilisés dans les études récentes citées, n'ont pas de réactivité croisée avec les divers éléments fongiques (*Cryptosporidium*, *Candida albicans* et d'autres levures souvent présentes dans les expectorations induites), avec des parasites (*Cryptococcus* en particulier) ou d'autres bactéries (140, 192). Il a été observé quelques réactions non spécifiques avec des débris pulmonaires et du mucus (44,142). Quelques études ont décrit une réaction croisée avec les polysaccharides d'*Aspergillus fumigatus* (12, 239). Une étude une réaction croisée avec *Candida albicans* par utilisation d'anticorps anti-souris (120).

Le temps requis pour les différentes méthodes a été évalué par diverses études. Ce temps varie en fonction de la densité des organismes. Lorsqu'ils sont abondants, le diagnostic peut être instantané. En fait, il existe un facteur de variabilité important qui est l'expérience du lecteur. Quand ils sont peu nombreux, des recherches prolongées sont inévitables (15 à 30 min.) plus ou moins indépendantes de la méthode de coloration. Le gain de temps dépendrait donc du type de patients (VIH+ ou non) et du type d'échantillon (LBA, EI). A Grenoble, les résultats sont positifs dans 30% des recherches s'il s'agit de patients infectés par le VIH, et dans 3% pour les autres immunodéprimés (communication personnelle).

Certains auteurs considèrent que l'utilisation de l'IFI sur l'expectoration induite diminuerait le recours à la fibroscopie bronchique (6, 123), mais en fait dans une faible proportion (31% pour Beauvais) (6, 40).

Récemment une étude compare quatre méthodes de colorations (Giemsa, IFI, IFD, Gomori-Grocott) sur liquide de LBA et expectoration induite (90). La conclusion est que chacune de ces méthodes est intéressante et peut être utilisée par les laboratoires (fig.8). Le plus raisonnable serait d'utiliser le Diff-Quick rapide et peu coûteux comme une méthode de screening et vérifier les lames négatives par une technique plus sensible (90).

Actuellement aux Etats-unis il semblerait que le choix de la coloration employée est déterminé par des préférences personnelles, des protocoles en cours et le type de population étudiée (142). Il est plus que probable que ce soit le cas partout en l'absence de technique réellement supérieure aux autres dans tous les domaines (tableau 11).

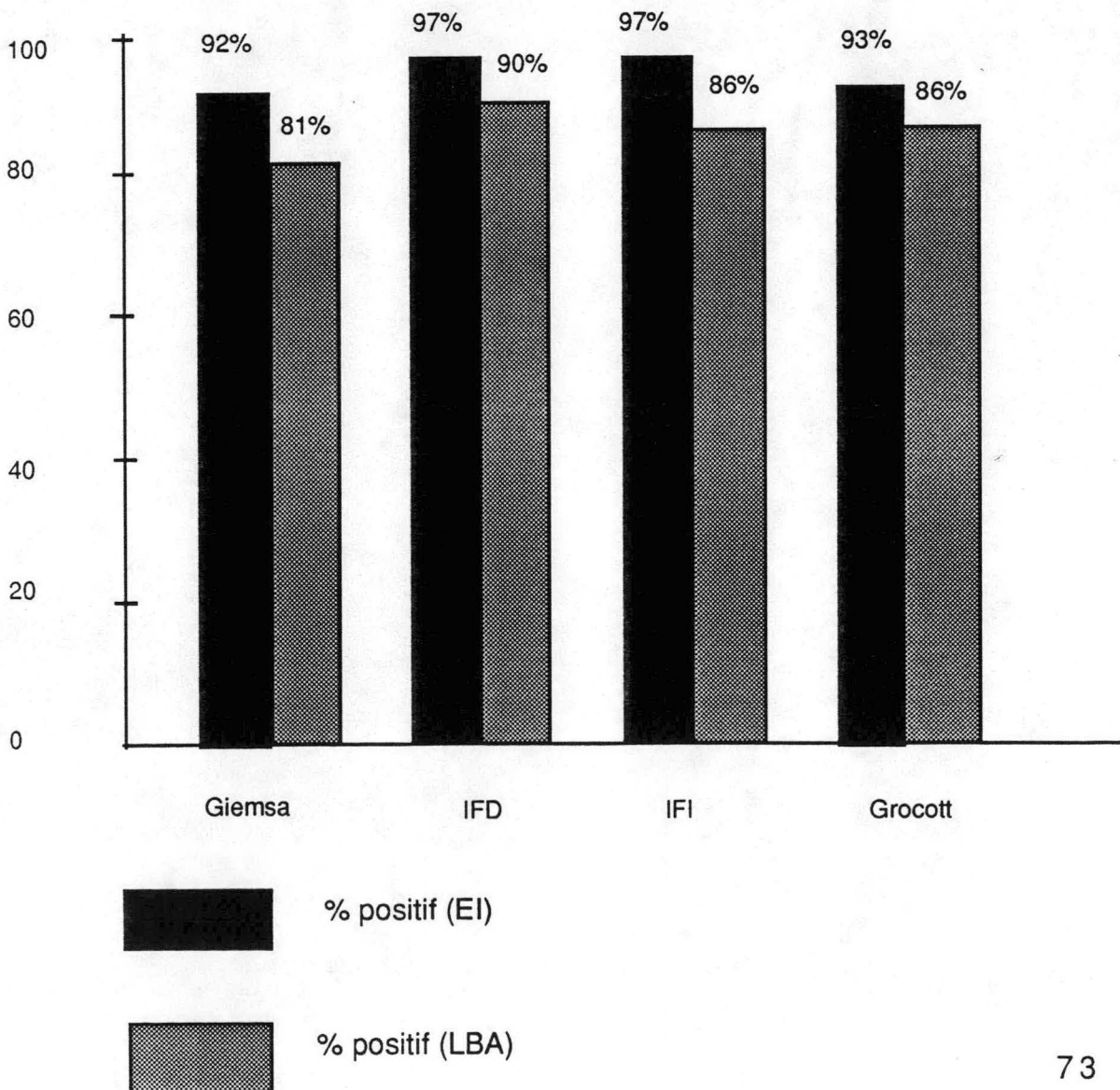
Tableau 11 : récapitulatif des différentes méthodes de coloration du *Pneumocystis carinii*.

Techniques	Temps de préparation (minutes)	Temps de lecture (minutes)	Résultats	Commentaires et pièges
Gram	20-30	15-20	kystes	peu sensible
Giemsa	10-20	30	trophozoïtes	difficile à lire nombreux artéfacts
Diff-Quick	< 2	10-30	trophozoïtes	difficile à lire nombreux artéfacts
Musto	30	5-10	kystes	inconvenient : détecte levures; avantage parfois (VIH-)
Bleu de Toluidine	15-20	5-10	kystes ++ trophozoïtes	levures gênantes moins facile que Musto
"Cellufluor"	< 2	5	kystes;bonne vision des parenthèses	très faible coût fluorescence des éléments cellulaires
IFI	60-75	5-10 (parfois +)	kystes pour Pasteur	artéfacts avec spores et filaments d' <i>Aspergillus</i>
IFD	45	5	kystes trophozoïtes	idem
Immuno-peroxydase	240-1440	5-20	trophozoïtes+ kystes	moins sensible/ IFI, IFD

FIG. 8 : Comparaison de quatre méthodes de coloration pour la détection de *Pneumocystis carinii* dans les expectorations induites (EI) et les produits de lavage bronchoalvéolaire (LBA) (90).

IFI : immunofluorescence indirecte

IFD : immunofluorescence directe



B. SEROLOGIE ET DETECTION DES ANTIGENES CIRCULANTS

1. Détection des anticorps

De nombreuses méthodes ont été utilisées (fixation du complément, immunofluorescence indirecte, ELISA, immunoblots) avec des résultats variables selon les auteurs, les techniques utilisées et les populations étudiées. Pour la détection des anticorps anti-PC, l'IFI a une meilleure sensibilité que la fixation du complément, technique abandonnée par la plupart (183).

Une étude par IFI chez 16 enfants immunodéprimés (non SIDA) avec pneumocystose prouvée a montré 50% de résultats positifs (4). Tous les sérums témoins de 10 enfants sains ont donné une réponse négative. Les auteurs ont noté que les réponses faussement négatives concernaient le plus souvent des malades atteints d'un déficit immunitaire sévère ou avec un traitement profondément immunosuppresseur donc ayant probablement une réponse anticorps anormale. Ces résultats indiquent les limites d'utilisation pratique de la méthode.

En 1976, dosage par IFI de 848 sérums collectés par le CTS de Lyon chez des donneurs sains, âgés de 18 à 60 ans et résidant en ville (173).

- 1/3 des sérums négatifs pour les anticorps anti-PC
- 1/3 faiblement positifs (traces : titre 1/10)
- 1/3 avec des titres variant de 1/10 à 1/320 (seuil de sensibilité de la méthode fixé à 1/20).

Il existe donc des anticorps anti-PC chez des adultes sains.

Les études de Meuwissen en 1977 et de Pifer en 1978, mettent l'accent sur l'existence d'une séroconversion à PC dans l'enfance parmi des enfants

normaux apparemment sains (167, 198). Cette séroconversion commencerait vers l'âge de 6-7 mois et atteindrait un maximum vers l'âge de 3-4 ans (seuil de sensibilité : 1/40 pour Meuwissen, 1/16 pour Pifer, méthode utilisée : IFI).

Le fait qu'une infection infraclinique puisse survenir chez des enfants normaux, sans manifestation clinique évidente, est en faveur du fait que le PC est un organisme de faible virulence et que la résistance de l'hôte doit être altérée avant que le parasite n'entraîne des manifestations cliniques.

L'IFI a été également appliquée chez les greffés de moelle (168). Le seuil de sensibilité dans cette étude a été fixé à 1/16. Une proportion similaire de patients avec ou sans pneumocystose avait des anticorps anti-PC détectables avant la greffe. Une proportion égale voyait leur taux d'anticorps anti-PC augmenter durant leur convalescence qu'ils aient une pneumocystose ou une autre pneumopathie. L'explication de ce phénomène n'est pas connue. Les auteurs ont évoqué plusieurs hypothèses :

- la non spécificité des anticorps détectés,
- la possibilité d'une réactivation spontanée du PC ou une libération d'antigènes de PC du poumon par d'autres agressions pulmonaires.

Les auteurs ont ainsi conclu à l'inutilité des dosages d'anticorps anti-PC à but diagnostique dans ce type de population.

Le problème de l'IFI est d'une part, sa limitation diagnostique (détection d'anticorps anti-PC chez les gens sains et faux négatifs chez les immunodéprimés sévères) et d'autre part, le fait que chaque auteur définit son propre seuil de sensibilité.

D'autres études ont été réalisées en utilisant la technique ELISA ou ELISA modifiée (système du "double sandwich"). Les résultats montrent l'absence de différence significative du titre d'anticorps anti-PC de rats sains et de rats

fortement infectés (151). Il en est de même dans les études réalisées chez l'homme (152).

L'intérêt diagnostique de cette méthode est donc également limité bien qu'il s'agisse d'une méthode spécifique.

Avec les techniques en immunoblots, des résultats similaires ont été obtenus entre des adultes atteints de SIDA et de pneumocystose et des adultes contrôles avec ou sans SIDA mais sans pneumopathie à *Pneumocystis carinii* (124).

Le sérodiagnostic de la pneumocystose est donc grévé par le fait que les titres élevés d'anticorps n'indiquent pas toujours la présence d'une infection aiguë mais peut refléter une infection infraclinique ancienne, c'est-à-dire correspondre à une cicatrice sérologique ancienne. L'étude des IgM serait-elle intéressante ?

En 1990, Peglow a analysé les réponses sérologiques à des antigènes spécifiques du PC humain (40 kDa, 66 kDa, 92 kDa, 116 kDa) par une technique en immunoblots (191). L'antigène 40 kDa est le plus fréquemment reconnu chez les hommes normaux et les immunodéprimés. Près de la moitié des patients infectés par le VIH, pour un premier épisode de pneumocystose et plus de 90% pour un épisode récurrent produisaient des IgG et/ou des IgM dirigées contre cet antigène. La réponse IgM anti-PC est détectée de façon peu fréquente parmi tous les groupes et l'on ne sait pas pourquoi.

L'importance des anticorps de l'hôte dans sa défense contre l'infection à PC est suggérée par la survenue de pneumocystose chez des patients porteurs d'un déficit isolé en lymphocytes B (207) et par l'efficacité (réduction de la sévérité de l'infection) d'une sérothérapie passive avec des anticorps monoclonaux dans la pneumocystose expérimentale chez l'animal (75).

Il se pourrait que dans les années à venir, l'immunothérapie et/ou l'immunoprophylaxie jouent un rôle dans cette infection.

2. Détection des antigènes circulants

C'est en 1978 que le premier rapport sur une antigénémie pour le PC a été publié (198). Il a détecté par contre immunoélectrophorèse (CIE) une antigénémie chez 95% de 123 enfants cancéreux avec pneumocystose et seulement 15% de 100 enfants cancéreux sans pneumopathie à *Pneumocystis carinii*. Aucune antigénémie n'a été mise en évidence parmi 100 enfants sains.

Dans une étude chez des adultes après greffe de moelle, des antigènes circulants ont été trouvés dans 47 cas sur 80 sans pneumocystose (168). Ces auteurs concluent que la démonstration d'une antigénémie chez ce type de patients ne permet pas le diagnostic du PC en l'absence d'indications cliniques ou histologiques.

Maddisson en 1982 trouve une antigénémie dans 11% des cas avec pneumopathie à *Pneumocystis carinii* prouvée (immunodéprimés la plupart sous thérapeutiques immunosuppressives) et 1% de donneurs de sang (152). Ils concluent que la détection des antigènes circulants par CIE semble spécifique mais peu sensible comme aide au diagnostic. Il faut cependant noter que dans cette étude plusieurs de ces patients étaient déjà sous thérapeutique anti-PC, ce qui pourrait expliquer la faible sensibilité retrouvée.

Tanabé en 1985 obtient également une sensibilité basse en CIE (23%) chez des adultes sous traitement immunosuppresseur pour différentes pathologies (lymphomes, leucémies, greffe rénale, cancer du poumon) avec pneumocystose prouvée (234).

La CIE a été utilisée pour détecter des antigènes circulants dans différents groupes de patients (199). Le test a été positif pour :

- 0% homosexuels sains (0 sur 21)
- 3% adultes sains (6 sur 108)
- 11% adultes avec infection pulmonaire autre qu'à PC (3 sur 28)
- 32% adultes fébriles avec néoplasie (6 sur 19)
- 3% adultes non fébriles avec néoplasie (7 sur 271)
- 9% adultes avec une pathologie pulmonaire chronique (3 sur 33).

La détection d'antigènes circulants semble être commune chez des variétés d'immunodéprimés (168, 199, 234, 267). Cependant 0 à 3% des adultes sains possèdent des antigènes circulants. Vrai-positifs ou faux-positifs : on ne le sait pas.

Une étude par CIE chez vingt adultes atteints de SIDA avec pneumocystose prouvée a été réalisée afin de déterminer la prévalence et la signification d'une antigénémie chez de tels patients (201). La sensibilité était de 75% et la spécificité de 90%. La prévalence coïncidait presque exactement avec celle obtenue par les examens invasifs (60% et 59% respectivement). Parmi ces vingt patients, un suivi sérologique (par test au latex) a été effectué chez trois d'entre eux. Le résultat suggère l'influence de la thérapeutique sur l'antigénémie et sa potentielle application pronostique, mais le recrutement est trop faible pour tirer des conclusions.

Une étude par test au latex sur 17 enfants atteints de SIDA montrait une concordance de 94% entre l'antigénémie et la biopsie :

- 41% : biopsie + et antigénémie +
- 53% : biopsie - et antigénémie -

Pas de faux négatif mais un faux positif. Aucun des sujets contrôles (enfants sains) ne possédaient un test positif (200). Ce test apparaît prometteur dans le

diagnostic de la pneumocystose chez les enfants atteints de SIDA particulièrement quand les méthodes invasives sont contre-indiquées.

3. Détection des complexes immuns

On remarque en 1989 une étude qui a mis en évidence la présence de complexes immuns spécifiques du PC dans 53% des sérums de patients atteints de SIDA avec pneumopathie à *Pneumocystis carinii* (202). Ces complexes immuns étaient retrouvés en plus grande abondance chez les patients avec pneumocystose documentée et antigénémie négative que chez ceux ayant une antigénémie positive. Les IgG et les IgM intervenaient dans la formation de ces complexes immuns.

Deux techniques ont été utilisées : l'immunoblots et l'ELISA.

Les titres en complexes immuns antigènes et anticorps avant pendant et après le diagnostic pourraient fournir des informations pronostiques et diagnostiques concernant la pneumocystose clinique et infraclinique.

C. BIOLOGIE MOLECULAIRE

Le diagnostic biologique de pneumocystose est classiquement fait par des techniques dont aucune n'allie une sensibilité et une spécificité satisfaisante. Le récent développement des techniques d'amplification génomique (PCR : polymerase chain reaction) pourrait apporter une solution à ce problème.

En 1990, une équipe anglaise a cloné la séquence de l'ADN de PC (244). Des séquences nucléotidiques ont été isolées et se sont révélées des armes efficaces pour l'amplification génomique sans réaction croisée avec d'autres pathogènes pulmonaires (*Aspergillus nidulans*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida*, *Mycobacterium tuberculosis* et *Saccharomyces cerevisiae*). Une sonde spécifique du PC humain a pu être synthétisée et a permis de détecter la présence de l'ADN amplifié à partir de prélèvements pulmonaires.

Une étude utilisant cette technique à but diagnostique a été conduite par la même équipe (245). Dix patients immunocompétents souffrant de diverses pathologies bronchopulmonaires chroniques ont subi une fibroscopie bronchique. Dans aucun cas l'ADN de PC n'a pu être mis en évidence dans le liquide de LBA malgré l'amplification que la coloration soit faite à l'éthidine bromine ou par hybridation à la sonde. Cette observation a fait émettre des doutes concernant l'existence de portage sain de PC chez les individus immunocompétents.

Trente sept malades immunodéprimés avec un diagnostic clinique de pneumopathie à *Pneumocystis carinii* ont été inclus dans l'étude. Pour seize d'entre eux la présence de PC a été prouvée par la coloration argentique dans le liquide de LBA. L'amplification génomique a été positive pour 35 sur 37 malades. Les deux malades pour lesquels l'ADN de PC n'a pu être mis en

évidence avaient un diagnostic uniquement clinique de pneumocystose non confirmé par la coloration argentique.

La PCR semble donc particulièrement efficace pour le diagnostic de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii*. Se référant à la latence préclinique de l'infection à PC, l'amplification génomique, par la précocité du diagnostic qu'elle permet, pourrait prendre une place importante dans la surveillance des malades immunocompromis. Cependant, les problèmes inhérents à ce type de technique (seuil de positivité, contamination, coût) doivent faire pondérer l'enthousiasme vis à vis de cette méthode très séduisante.

D. BIOLOGIE

1. Enzyme de conversion de l'angiotensine (ECAT)

Cette enzyme est élevée dans le sérum chez approximativement 75% des patients avec une sarcoïdose et 5% des patients avec d'autres affections pulmonaires (138).

Comme les macrophages alvéolaires dans la sarcoïdose ont une activité anormalement élevée, et puisque des expérimentations indiquent qu'une dysfonction macrophagique peut être importante dans la pneumocystose, certains auteurs ont décidé de doser l'ECAT chez des patients atteints de SIDA et de pneumocystose (fumeurs et non fumeurs confondus) (223). Les résultats obtenus furent les suivants :

- une ECAT plasmatique significativement plus élevée chez les patients avec pneumocystose que dans le groupe témoin (sujets sains fumeurs et non fumeurs).

- un taux plasmatique d'ECAT significativement plus élevé chez les patients fumeurs avec pneumocystose que non fumeurs avec pneumocystose, alors que le taux d'ECAT n'était pas affecté par le tabac dans le groupe témoin.

Une seule étude de ce type a été réalisée durant ces dernières années. Le rôle de cet examen dans le diagnostic de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* ou le suivi de la réponse thérapeutique demande probablement davantage d'éclaircissement.

2. Anticorps anticardioline

Certaines études ont rapporté que les patients atteints de SIDA possédaient fréquemment des tests positifs pour des anticoagulants circulants (LAC), rapprochés de ceux rencontrés dans le lupus, et que l'on pense être dirigés contre une partie des phospholipides de la prothrombinase (133).

Selon d'autres auteurs, cet anticorps est rigoureusement associé à la présence d'une pneumocystose (8, 81).

Récemment, des techniques sensibles se sont développées pour détecter des anticorps antiphospholipides variés, parmi lesquels les anticorps anticardioline (ACA) sont les mieux caractérisés, rapprochés d'une réaction de Bordet-Wasserman faussement positive (13).

Les LAC et les ACA seraient dirigés contre des épitopes similaires (95).

Une étude intéressante a été réalisée sur les sérums de 32 patients atteints de SIDA (42). Les résultats sont consignés dans le tableau 12. Dans cette étude on

note que les ACA ont été trouvés exclusivement chez les patients ayant une pneumocystose. Cela suggèrerait que les anticorps anticardioline détectables chez les patients atteints de SIDA seraient dirigés principalement contre des épitopes du PC. Cependant cette interprétation ne doit pas exclure la possibilité d'autres stimuli responsables de l'apparition de ces anticorps. En effet, ces auteurs ont constaté que près de 20% de leurs patients porteurs de maladies non infectieuses variées possédaient des ACA comparés à des donneurs de sang sains.

Tableau 12 : fréquence des anticorps anticardioline chez 32 patients atteints de SIDA. Aucun patient n'avait d'antécédent de thrombose récurrente, de désordres neurologiques, d'anticorps antinucléaires ou antimitochondries ou anticellules pariétales gastriques (42).

Type de patients	Patients avec pneumocystose/ patients avec ACA	Patients avec autre IO/ patients avec ACA
Toxicomanes	9/5	8/0
Homosexuels	9/9	3/0
Polytransfusés	--	3/0
Total	18/14	14/0

E. TEST D'EFFORT

Ce test pour la plupart des auteurs a sa place chez les patients infectés par le VIH, suspects de pneumopathie à *Pneumocystis carinii*, avec un cliché pulmonaire normal et des gaz du sang artériel de repos normaux et ce dans le but de faire un diagnostic précoce (54, 224, 231).

Stover se base sur le gradient alvéolo-artériel en O₂ à l'exercice (231) et montre que chez des patients VIH+ avec symptomatologie pulmonaire, un test d'effort normal (comme décrit dans l'étude) élimine la pneumocystose des diagnostics différentiels (valeur prédictive négative=100%, sensibilité=100%, spécificité faible). Un test d'effort anormal nécessite un diagnostic rapide puisque la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* est une éventualité.

Smith et al. ont mesuré la désaturation en O₂ à l'exercice et ont conclu que ce test oxymétrique est précieux dans le diagnostic précoce de la pneumocystose et d'une infection pulmonaire à *Cytomégalovirus* (224).

Faetkenheuer et coll. montrent que la mesure de la PaO₂ à l'effort est plus sensible que celle de la désaturation dans le cadre d'une pneumocystose (54).

Il faut souligner que la désaturation induite par l'effort est classique dans les atteintes alvéolaires quelqu'en soit la cause (237).

Les tests d'effort sont difficiles à standardiser à cause des différentes méthodes d'exercice et de charge de travail (186).

De plus, ces tests nécessitent la mise en place d'un cathélon artériel ce qui peut être considéré comme invasif par le malade et qui peut également être source de contamination des soignants.

F. TOMODENSITOMETRIE THORACIQUE

Les explorations des pneumopathies à *Pneumocystis carinii* par cette méthode sont assez récentes, encore non systématisées. Certains auteurs utilisent des coupes semi-fines (4 mm) ou fines millimétriques (97, 128).

L'aspect classique tomодensitométrique de la pneumocystose pulmonaire est une opacité en verre dépoli, bilatérale, de faible densité, semblant épargner certains lobules (129).

Dans l'étude réalisée à Grenoble, cet aspect typique a été observé de façon isolée dans 50% des cas et en association avec d'autres lésions (opacités acinaires ou réticulaires, images kystiques) dans 43% des cas. Cet aspect n'est pas de spécificité absolue s'il est considéré de manière isolée. Toute alvéolite peut le reproduire. Cependant, ce serait plutôt la répartition en carte de géographie laissant subsister des îlots de parenchyme sain, bilatérale plus ou moins diffuse qui semble conférer à cette image sa spécificité (129). Ainsi, une hyperdensité en verre dépoli qui présente ces caractéristiques chez un sujet VIH+ est un aspect hautement évocateur de pneumocystose. D'autres auteurs pensent qu'un aspect en motte (hyperdensité bilatérale, irrégulière, habituellement asymétrique, prenant souvent un aspect en mosaïque) est plus spécifique de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* (128). D'autres aspects non spécifiques peuvent être observés lors d'une pneumocystose pulmonaire (lésions kystiques, nodules pulmonaires, cavités).

Dans l'étude réalisée à Grenoble, en prenant en considération les caractéristiques de répartition géographique, de distribution bilatérale diffuse dans le cadre d'une suspicion d'une atteinte pulmonaire chez un patient VIH+, la spécificité atteignait 95 à 100% (129). La sensibilité était de 72% (supérieure à celle du LBA de cette étude). Il faut noter l'effectif réduit de ce

rapport. Des études randomisées sur un plus grand nombre de patients seraient utiles afin de comparer les différents moyens diagnostiques.

La stratégie diagnostique employée à Grenoble est consignée sur le schéma 9.

G. CLAIRANCE PULMONAIRE DU DTPA-Tc 99m

C'est un examen non irradiant (1/10 de l'irradiation d'un cliché pulmonaire) et non invasif (156).

Le diéthylène triamine pentaacétate (DTPA) est une petite molécule hydrophile (PM de 492 Daltons) qui après avoir été déposée dans l'alvéole par aérosol, traverse la barrière alvéolocapillaire par gradient de concentration et est éliminée par filtration glomérulaire (165).

Yoneda et al. ont montré chez le rat que l'augmentation de la perméabilité de la membrane alvéolocapillaire était la modification la plus précocément constatée lors d'une infection expérimentale par le *Pneumocystis carinii* (261).

Meignan et coll. ont évalué qu'en cas de pneumocystose chez les patients infectés par le VIH, le temps au bout duquel la moitié du DTPA (marqué au technitium 99) déposé a disparu au niveau des poumons (temps de demi-épuratation) est considérablement raccourci (165). Ce raccourcissement traduisant une augmentation de 4 à 8 fois la perméabilité normale et ceci même lorsque la radiographie est strictement normale.

Dans cette étude, la sensibilité de l'examen était de 100%, la spécificité faible.

Il existe une normalisation des valeurs après traitement.

Une autre étude avait montré des résultats similaires (156).

L'intoxication tabagique augmente la perméabilité pulmonaire au DTPA et il peut donc exister des faux positifs chez les fumeurs (155, 186). Cette difficulté

peut être contournée par l'arrêt du tabac vingt quatre heures avant l'examen (communication personnelle).

Les malades atteints de SIDA sont susceptibles de présenter de nombreuses maladies à tropisme pulmonaire qui pourrait également augmenter la perméabilité au DTPA (165).

Les auteurs cités précédemment préconisent sa réalisation chez un patient infecté par VIH, fébrile, sans signe d'appel clinique, avec radiographie pulmonaire normale et gaz du sang artériel normaux. Un temps de demi-épuratation normal élimine une atteinte pulmonaire (156, 165).

La place de cet examen reste à déterminer dans l'arbre décisionnel du diagnostic de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* et dans le suivi de ces patients. Il faut savoir qu'à Grenoble cet examen prend au maximum vingt minutes et que le matériel utilisé est jetable. La valeur de la clairance est exprimée en pourcentage d'épuration par minute de la quantité présente (communication personnelle). Cette valeur est pathologique si elle est supérieure à 2% (fig.12)

H. SCINTIGRAPHIE AU GALLIUM 67

C'est un examen sensible mais non spécifique (24, 57, 127, 209).

Les images obtenues après l'injection montrent le plus souvent une hyperfixation diffuse, bilatérale, fréquemment hétérogène (127).

Cependant une hyperfixation localisée n'élimine pas une pneumopathie à *Pneumocystis carinii* et peut représenter le stade le plus précoce de la maladie (24). Son utilité a été mise en évidence chez des patients infectés par le VIH fébriles, sans signe de localisation, où une atteinte pulmonaire a été retrouvée dans 44% des cas (57).

Cependant, en pratique cet examen s'est avéré être une technique lourde (durée entre 24 et 48 heures), irradiante et est maintenant abandonnée par la plupart des équipes dans le cadre du diagnostic de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* (communication personnelle).

L'étude de Reiss a montré que chez des patients homosexuels VIH+, complètement asymptomatiques, dont la scintigraphie suggérait une pneumopathie à *Pneumocystis carinii*, des parasites étaient retrouvés dans le liquide de lavage alvéolaire (209).

Cela repose les questions concernant l'histoire naturelle de la maladie et du rôle de la primo-infection dans le développement de la pathologie opportuniste.

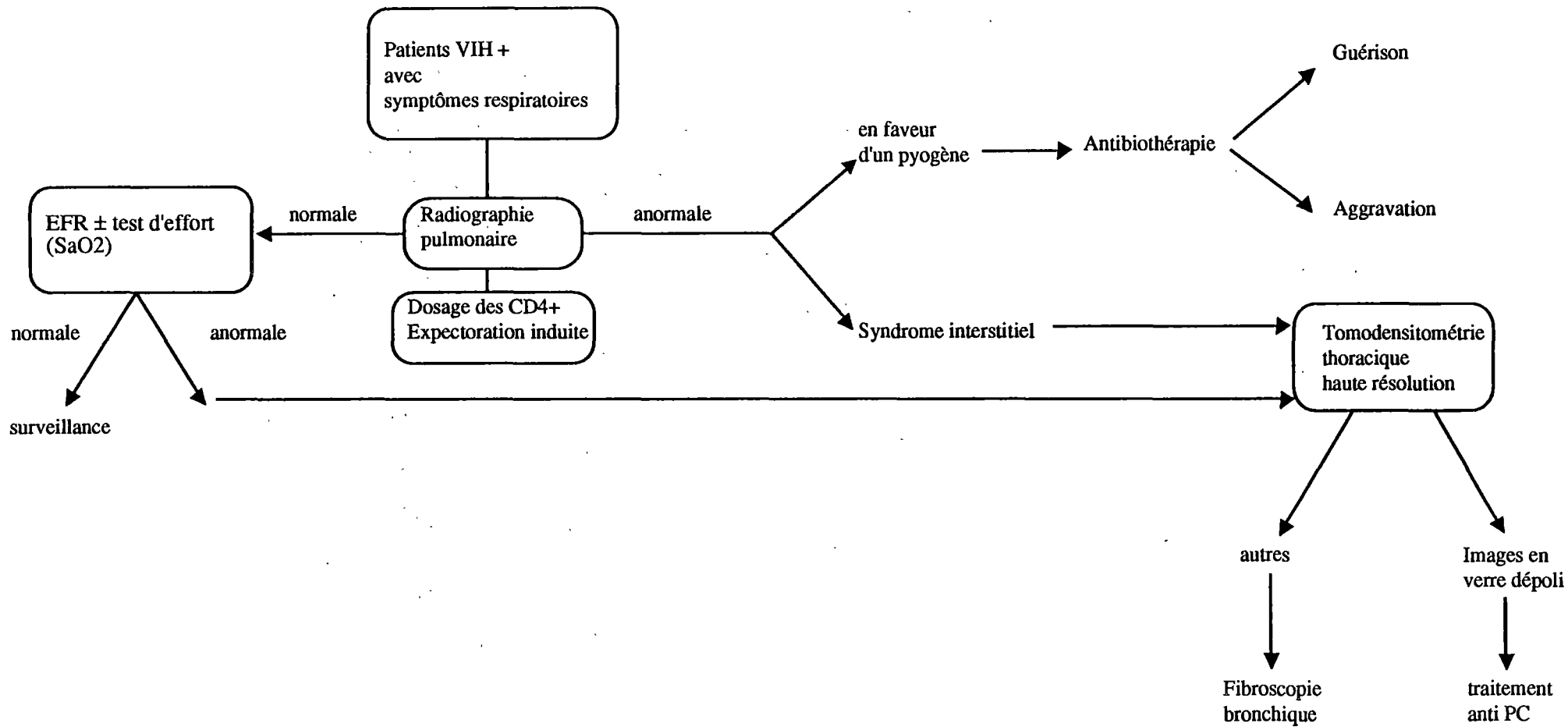


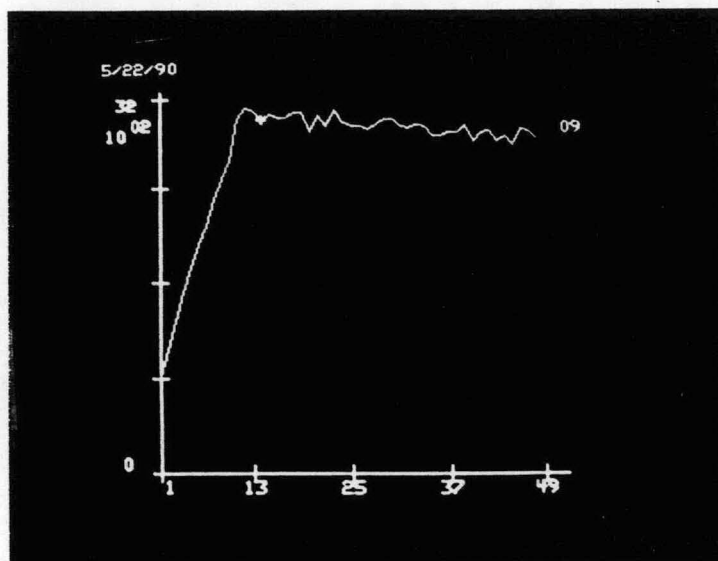
FIG. 9 : STRATEGIE DIAGNOSTIQUE AU C.H.U. DE GRENOBLE - MARS 1991

Figure 10 : clairance du DTPA-Tc 99m

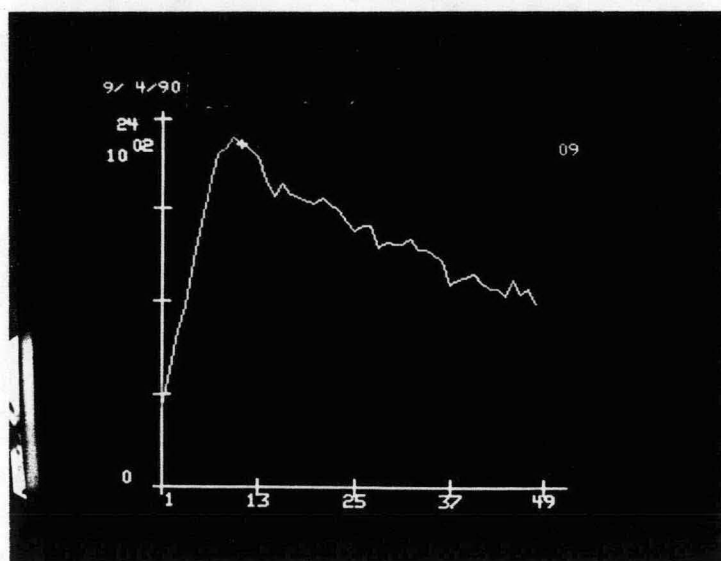
(1) clairance inférieure à 2%

(2) clairance pathologique à 6,2%

(1)



(2)



III TRAITEMENT

A. TRAITEMENTS CONVENTIONNELS

Pour la plupart des auteurs il existe deux traitements conventionnels.

La pentamidine a été la première molécule à modifier l'histoire naturelle de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* chez l'adulte, dont la mortalité approchait les 100% avant son utilisation.

La pentamidine restait le traitement de choix jusqu'à ce que l'on observe que l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (TMP-SMZ) était aussi efficace et présentait moins d'effets secondaires dans le cas des immunodéprimés classiques (256, 266). Cependant, devant un taux élevé inexplicable de ces effets dans la population touchée par le SIDA, la pentamidine a été de nouveau prescrite.

Néanmoins une étude prospective réalisée sur un grand nombre de patients infectés par le VIH a montré que le pourcentage d'effets secondaires était similaire entre la pentamidine et le TMP-SMZ (255).

Classiquement, la plupart des auteurs utilisent l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole en première intention dans la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* (79, 105, 112).

1. L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole

Les sulfonamides interfèrent avec la synthèse de l'acide folique. Le triméthoprime inhibe préférentiellement la dihydrofolate réductase (DHFR) (105).

La posologie recommandée est de 100 mg/kg/jour de sulfaméthoxazole et de 20 mg/kg/jour de triméthoprim (45, 79, 266).

Le traitement est classiquement administré par voie intraveineuse, en trois ou quatre perfusions courtes. L'absorption digestive étant satisfaisante, un traitement per os peut être débuté d'emblée chez les patients présentant une pneumocystose peu grave et indemmes de troubles digestifs (41, 105).

La durée optimale du traitement est de 10 à 14 jours chez les patients non SIDA, alors que chez ceux infectés par le VIH, les auteurs recommandent 21 jours (217, 255, 256).

Les effets secondaires rencontrés sont :

- une atteinte cutanée : rash, érythème morbilliforme, érythrodermie,
- une hyperthermie,
- des troubles digestifs : nausées, vomissements,
- une atteinte hématologique : leucopénie, anémie, thrombopénie,
- une élévation des transaminases,
- une élévation de la créatinine.

Dans les séries publiées les effets secondaires sont particulièrement fréquents (supérieurs à 50%) chez les patients infectés par le VIH. Ils ne conduisent pas constamment à l'interruption du traitement. Le plus courant est le rash. Il survient en général entre le huitième et le douzième jour de traitement (83, 160).

2. La pentamidine

Ce traitement est actuellement prescrit en seconde intention, ou en cas d'impossibilité d'utilisation du TMP-SMZ.

Des études comparatives ont montré l'absence d'efficacité supérieure à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole et un taux d'effets secondaires similaires (217, 255).

Plusieurs mécanismes d'action ont été proposés, dont un effet de blocage sur la production énergétique, une inhibition de la synthèse protéique, une limitation de la synthèse des acides nucléiques (216).

La posologie préconisée est de 4 mg/kg/jour d'iséthionate de pentamidine, administrée par voie intraveineuse lente, préférée à la voie intramusculaire qui donne souvent un abcès aseptique douloureux (41, 105).

Les effets secondaires les plus fréquents sont l'hypotension orthostatique, l'insuffisance rénale, l'hypoglycémie (83).

Les atteintes hématologiques (thrombopénie, neutropénie), l'hyperglycémie, l'hypocalcémie, les hépatites cytolytiques sont plus rares (255).

L'association de TMP-SMZ et de pentamidine ne paraît pas justifiée en raison de la gravité potentielle des effets secondaires cumulés et de l'absence de démonstration d'une efficacité supérieure (217, 255).

Murray en 1984 a avancé le fait que près de 90% des patients qui n'ont pas répondu au TMP-SMZ par voie parentérale ne répondront pas à la pentamidine et que le changement d'une drogue pour une autre n'apporte pas un bénéfice réel (178).

Cependant, la plupart des auteurs préconisent quand même l'essai de la pentamidine avant de passer à une autre thérapeutique (98, 217, 255).

3. Le traitement symptomatique

L'oxygénothérapie nasale ou au masque est fréquemment indispensable (179).

Chez les patients qui restent hypoxémiques de façon modérée malgré une

oxygénothérapie classique, certains proposent une alternative à la ventilation assistée (170). Il s'agit de pressions positives continues en ventilation spontanée, appliquées à l'aide d'un masque nasal, comme celui utilisé dans les apnées du sommeil ou d'un masque facial étanche (119).

Le passage en Unité de Soins Intensifs des pneumocystoses graves est aujourd'hui justifié par l'amélioration du pronostic immédiat (30, 243).

L'intérêt d'une PEEP (Positive End Expiratory Pressure) en ventilation artificielle doit être discuté dans les pneumocystoses sévères (170).

Sous PEEP l'incidence de pneumothorax chez les patients VIH+ avec pneumocystose est plus élevée que celle constatée chez des malades VIH- avec d'autres problèmes pulmonaires (bactériens, syndrome de détresse respiratoire aiguë de l'adulte) (162). D'autre part l'utilisation d'une PEEP peut entraîner une réduction du débit cardiaque nécessitant l'emploi d'inotropes (170).

L'équilibre hydrique et l'état nutritionnel du patient sont également pris en compte (162, 170, 243).

B. TRAITEMENTS EN COURS D'EVALUATION

Une activité anti PC a été démontrée pour différentes molécules. Cependant, seulement deux (TMP-SMZ et pentamidine) sont utilisées de façon courante.

Quelques patients ne répondent à aucun de ces traitements et ceux atteints de SIDA ont un taux remarquablement élevé d'effets secondaires pour les deux médicaments. Par conséquent, il serait idéal de trouver un traitement plus sûr et plus efficace. Des résultats prometteurs ont été obtenus dans divers essais cliniques.

1. Les aérosols de pentamidine

La toxicité de la pentamidine par voie injectable est à l'origine des travaux portant sur l'administration par aérosols (220). Celle-ci vise à obtenir de fortes concentrations pulmonaires de produit actif sans exposer le sujet aux effets toxiques liés à l'accumulation de la pentamidine dans l'organisme (246).

Les nébuliseurs testés sont de deux types : pneumatiques (Respigard II) ou ultrasoniques (Ultraneb) qui génèrent des particules dans une gamme plus ou moins étendue de diamètres (220). Actuellement dans la plupart des travaux cliniques c'est le Respigard II qui a été utilisé et qui sert de référence (220).

Montgomery et al. en 1987 ont traité 15 épisodes de pneumocystose modérée ($\text{PaO}_2 > 55\text{mmHg}$) avec une dose de 300 mg/jour d'iséthionate de pentamidine (Pentacarinat^R) pendant 21 jours (Respigard II). 87% ont répondu favorablement à cette thérapeutique. Le seul effet secondaire fut une toux observée chez 79% des patients. Aucun effet systémique n'a été remarqué (taux plasmatique de 10 ng/ml alors qu'une administration parentérale à la dose de 4 mg/kg/j donne un pic plasmatique aux alentours de 600 ng/ml) (177).

Soo Hoo a réalisé une étude prospective randomisée qui compare la pentamidine (8 mg/kg/j) en aérosols (Respigard II) à la pentamidine administrée par voie veineuse (4 mg/kg/j).

100% des patients ont répondu favorablement à la pentamidine parentérale contre seulement 65% de ceux la recevant sous forme d'aérosols (228).

Ceux qui n'ont pas répondu présentaient une pneumocystose plus sévère que les autres.

Ainsi l'utilisation des aérosols de pentamidine comme unique thérapeutique des pneumopathies à *Pneumocystis carinii* modérées à sévères n'est pas encouragée par cette étude.

Une autre étude prospective récente a comparé les aérosols de pentamidine (600 mg/j délivrés par Respigard II) et des demi-doses de pentamidine (2 mg/kg/j) administrée par voie intraveineuse dans des pneumocystoses légères à modérées (31).

Une rechute est survenue dans 24% des cas dans le groupe traité par aérosols contre 0% dans l'autre groupe ($p=0,03$).

Par ailleurs des dosages plasmatiques de pentamidine ont été réalisés et ont montré que des doses journalières de pentamidine intraveineuse aboutissent à une accumulation du produit dans le plasma.

2. Difluorométhylornithine (DMFO)

C'est un inhibiteur de l'ornithine décarboxylase chez les protozoaires.

Il faut noter que Pesanti et al. en 88 n'ont pas détecté une activité ornithine décarboxylase dans le PC (193).

Dans la pneumocytose du rat, la DMFO est inefficace pour Hughes et Smith (109) mais efficace pour Clarkson (28).

Cette molécule a été utilisée dans certaines études sur des patients qui ne répondaient pas aux thérapeutiques conventionnelles.

Dans l'étude de Mac Lees en 87, 345 patients atteint de SIDA avec pneumopathie à *Pneumocystis carinii* ont été mis sous DMFO à la dose de 400 mg/kg/j en IV pendant deux semaines, après échec ou intolérance aux traitements conventionnels (150).

La survie était de 23% chez les patients sous ventilation assistée et de 78% des malades en ventilation spontanée.

Les effets secondaires sont essentiellement hématologiques (thrombopénie le plus souvent) et dans presque la moitié des cas on note un syndrome diarrhéique.

Ces résultats méritent d'être confirmés par des études contrôlées; nous ne disposons pas actuellement d'études cliniques montrant la supériorité de la DMFO en traitement de première intention.

3. Trimétrexate

C'est un antifolate par inhibition de la dihydrofolate réductase (DHFR) et un analogue liposoluble du méthotrexate (1).

L'étude d'Allegra en 1987 a montré in vitro que le trimétrexate est un inhibiteur de la DHFR 1500 fois plus puissant que le triméthoprim (1).

Les auteurs proposent d'administrer de façon concomitante de l'acide folinique afin de prévenir la toxicité sur les cellules de l'hôte. Le dessein de cette approche thérapeutique est basé sur le fait que le PC doit probablement synthétiser les folates tandis que les cellules des mammifères peuvent utiliser les folates exogènes préformés.

Un essai thérapeutique a été réalisé chez 16 patients atteints de SIDA n'ayant répondu ni au triméthoprim-sulfaméthoxazole ni à la pentamidine ou étant intolérants à ces traitements (2). Ils ont reçu 30 mg/m²/j de trimétrexate en une perfusion de trente minutes et 80 mg/m²/j d'acide folinique per os pendant 21 jours. 11 sur 16 ont répondu à cette thérapeutique (68,5%). Bien que des effets secondaires (neutropénie, rash, anomalies de la fonction hépatique) soient survenus dans 34% des épisodes traités, le traitement n'a été arrêté que pour un seul patient.

La dose actuellement évaluée de 45 mg/m²/j ne peut être dépassée (41).



Récemment, l'étude de Sattler après comparaison de différentes posologies a déterminé qu'une dose de 45 mg/m²/j de trimétrexate associée à 80 mg/m²/j d'acide folinique est la combinaison qui devrait être choisie dans des études ultérieures de comparaison du trimétrexate avec d'autres thérapeutiques (218). A cette dose dans cette étude, 92% des patients ont eu une réponse favorable au traitement, et 46% ont présenté une toxicité hématologique. Il faut noter que les patients sous zidovudine ou sous traitement myelosuppresseur ont été exclus de l'étude.

4. Dapsone

La dapsone fait partie des sulfamides et son efficacité a été démontrée chez le rat par Hughes et Smith en 1984. Ils ont également mis en évidence une synergie d'action quand le triméthoprime était combiné à la dapsone (109).

D'ailleurs des essais cliniques entrepris avec de la dapsone seule furent décevants (61% de réponses positives) (171).

L'étude de Leoung a utilisé des doses de 100 mg/j de dapsone et 20 mg/kg/j de triméthoprime par voie orale pendant 21 jours chez 15 patients atteints de SIDA.

Les résultats ont montré une efficacité supérieure à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole ou à la pentamidine (résultats comparés à ceux obtenus par Wharton). Tous ont répondu à la thérapeutique, la plupart ayant eu une amélioration clinique dans les six jours (135). Le traitement a dû être arrêté chez deux malades. Les effets secondaires notés furent :

- nausées, vomissements,
- éruption cutanée maculopapuleuse,

- chute de l'hématocrite de plus de 5%,
- thrombocytopénie,
- élévation des transaminases.

Récemment, un cas d'anémie mégaloblastique a été rapporté avec l'association triméthoprime-dapsone (34).

Une étude randomisée, contrôlée, en double aveugle comparait l'association triméthoprime-dapsone à triméthoprime-sulfaméthoxazole chez 60 patients infectés par le VIH avec une pneumocystose modérée à moyennement sévère (164).

Triméthoprime-sulfaméthoxazole administré per os à la dose respective de 20 mg/kg/j et 100 mg/kg/j chez 30 patients (groupe 1) pendant 21 jours.

Triméthoprime-dapsone per os à la dose de 20 mg/kg/j et 100 mg/j chez les 30 autres (groupe 2) pendant la même durée.

Dans les deux groupes l'efficacité du traitement était comparable (groupe 1 : échec 3/30, groupe 2 : échec 2/30).

Dans le premier groupe, 57% ont eu des effets secondaires nécessitant le recours à la pentamidine contre 30% seulement dans le second. Avec l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole il y a eu plus d'exemples d'hépatites sévères et de neutropénie marquée. Les réactions cutanées, les nausées et les vomissements sévères sont survenus avec la même fréquence dans les deux groupes.

Une méthémoglobinémie a été observée chez la plupart des patients du second groupe, mais elle est restée asymptomatique. De même une hyperkaliémie modérée.

L'intérêt principal de cette association thérapeutique est la bonne tolérance hématologique associée à une efficacité au moins comparable à celle du triméthoprime-sulfaméthoxazole.

5. Association clindamycine-primaquine

En 1988, les travaux expérimentaux de Queener et al. ont montré in vitro et in vivo (chez les rats infectés par PC) une efficacité de cette combinaison (205).

Ils ont utilisé la clindamycine (225 mg/kg/j) associée à la primaquine (2 mg/kg/j), ce qui a fait chuter de 98% le nombre de PC dans les poumons des rats infectés.

De plus, cette même association à une dose plus faible (clindamycine 5 mg/kg/j et primaquine 0,5 mg/kg/j) a prévenu la survenue d'une pneumocystose chez 8 rats sur 10, les deux rats restants ayant développé une infection minime.

En 1990, Kay et al. ont réalisé une étude sur 9 patients atteints de SIDA, âgés de 27 à 39 ans. Tous ces patients présentaient une pneumopathie à *Pneumocystis carinii* confirmée par l'examen du LBA et/ou la biopsie transbronchique (116).

Pour 5 d'entre eux il s'agissait d'une infection à PC récurrente et donc d'une infection initiale pour les autres.

Les critères requis pour ce traitement incluaient une toxicité et/ou une non réponse aux thérapeutiques antérieures.

Tout d'abord les patients ont reçu de la clindamycine 900 mg toutes les 8 heures par voie intraveineuse et de la primaquine 26,3 mg par 24 heures per os, jusqu'à ce qu'une amélioration clinique survienne. Puis relais par clindamycine 300 mg x 4/j per os et primaquine même posologie, même voie d'administration et ce jusqu'à un total de 21 jours de traitement.

Une allergie cutanée sévère s'est développée chez un patient pour lequel le traitement a été interrompu. Un patient est décédé d'une autre infection opportuniste au 24^e jour. Les sept patients restants ont été placés sous

prophylaxie avec clindamycine 150 mg x 4/j et primaquine 26,3 mg/j. Ils n'ont pas présenté de rechute (surveillance variant de 60 j à 285 j).

Cette molécule semble efficace dans le traitement et la prophylaxie de la pneumocystose, mais des études comparatives, prospectives et portant sur un plus grand nombre de patients sont nécessaires pour confirmer ou non ces résultats.

6. La corticothérapie

La preuve d'un bénéfice apporté par cette thérapeutique s'est d'abord basé sur quelques cas isolés anecdotiques (in Miller) puis des études prospectives randomisées (15, 70, 147, 50).

Mac Fadden et al. ont réalisé une étude chez 10 patients atteints de SIDA, dont la pathologie respiratoire était dûe au PC et dont l'état respiratoire s'est rapidement détérioré (147). Ces malades ont reçu 7 jours de méthylprednisolone à la dose de 40 mg/j en plus de l'antibiothérapie. 8 patients appariés n'ont reçu que le traitement antibiotique.

L'amélioration clinique a été évidente dans les deux jours qui ont suivi la corticothérapie. 9 sur 10 ont survécu contre 2 sur 8 dans le groupe sans corticoïdes. Aucun patient n'a montré une détérioration clinique ou une réactivation de la maladie à l'arrêt du traitement.

D'autres études récentes contrôlées obtiennent également des résultats encourageants (15, 70).

Récemment, un consensus s'est établi à partir de cinq études prospectives réalisées par le National Institute of Health (NIH) aux Etats-Unis (236). L'analyse de ces études a permis de dire qu'une corticothérapie précoce, chez

des patients VIH+ avec une pneumopathie à *Pneumocystis carinii* prouvée, réduit la probabilité de décès dans le cadre d'une pneumocystose modérée à sévère ($\text{PaO}_2 < 70$ mmHg et/ou gradient alvéoloartériel en $\text{O}_2 > 35$ mmHg). Il n'y a pas de preuve d'un bénéfice chez les patients ayant une hypoxémie modérée. Cette corticothérapie n'est entreprise que sous couvert d'un traitement anti-PC.

La dose recommandée est de 40 mg x 2/j de prednisolone per os pendant 5 jours puis de 40 mg/j les 5 jours suivants puis 20 mg/j jusqu'au 21^e jour (236). En France, la dernière conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse demande une étude coordonnée à l'échelon national et déclare qu'une corticothérapie n'est pas justifiée en cas de pneumocystose non hypoxémiante (PaO_2 inférieure à 70 Torr en air ambiant) (30).

On ne sait pas de quelle façon les corticoïdes agissent dans le mécanisme de guérison de la pneumocystose. Une hypothèse est que ceux-ci protègeraient le poumon des dégâts causés par l'inflammation, par réduction du chimiotactisme, de la phagocytose des cellules inflammatoires et par diminution de l'action du complément dans l'activation des polynucléaires neutrophiles (236).

Tableau 13 : récapitulatif des traitements de la pneumopathie à *Pneumocystis carini*.

Nom	Posologie	Voie d'administration	Durée
Triméthoprimé- sulfaméthoxazole	20 mg/kg/j 100 mg/kg/j	intraveineuse lente ou per os	21 j
Iséthionate de pentamidine	4 mg/kg/j 300 mg/j	intraveineuse lente aérosol	21 j 21 j
Difluoro- méthylornithine	400 mg/kg/j	intraveineuse lente	21 j
Trimetrexate + ac.folinique	45 mg/m ² /j 80 mg/m ² /j	perf. IV de 30 min. per os en 4 prises	21 j 21+3j
Dapsone + triméthoprimé	100 mg/j 20 mg/kg/j	per os per os	21 j 21 j
Clindamycine + Primaquine	900 mg/8 h. puis 300 mgx4/j 26,3 mg	IV per os per os	total de 21 j

IV PROPHYLAXIE

A. PROPHYLAXIE DES IMMUNODEPRIMES NON INFECTES PAR VIH.

L'intérêt et la possibilité d'empêcher la survenue de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* dans cette population, par l'administration de triméthoprime-sulfaméthoxazole, ont été prouvés par de nombreux travaux (107, 110, 125, 257).

L'étude de Hughes en 1987, chez des patients avec leucémie lymphoïde, a démontré que l'administration de trois jours consécutifs par semaine de TMP-SMZ à la dose totale respective de 320 mg/j et 1600 mg/j en deux prises, est aussi efficace qu'une prophylaxie journalière (tableau 14). Il n'y a pas plus d'effets secondaires qu'avec une prise journalière (110). Un avantage de ce système intermittent est la réduction des cas de mycoses opportunistes systémiques.

B. PROPHYLAXIE DES PATIENTS INFECTES PAR VIH

Durant ces trois dernières années, de nombreux travaux ont montré qu'une prophylaxie dans ce type de population peut réduire la fréquence de survenue de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* (60, 80, 125, 137, 221).

La prophylaxie de la pneumocystose est envisagée sous deux aspects : la prévention des rechutes (prophylaxie secondaire) et la prévention du premier épisode (prophylaxie primaire) (30).

La plupart des auteurs estiment le risque de rechute à environ 50% à 10 mois après la pneumocystose initiale (fig.11) (79, 221).

La prophylaxie primaire est débutée devant un patient VIH+, possédant des antécédents d'infections opportunistes particulières (toxoplasmose, cryptococcose, infections à *Cytomégalo*virus, *Mycobactérium avium*) et/ou un sarcome de Kaposi et/ou un taux de lymphocytes CD4+ inférieur à 200/mm³. Il est souhaitable de disposer de deux examens successifs à un mois d'intervalle (30, 60, 125, 159). Il existerait une relation étroite entre le taux de CD4+ et la progression vers le statut de SIDA (195).

L'étude de Fischl, prospective en double aveugle a montré que la zidovudine (Retrovir^R) diminue l'incidence des infections opportunistes et prolonge la survie parmi les patients SIDA ou pré-SIDA (59). Cependant elle n'empêche pas la survenue de ces infections dont plus de 50% sont des pneumocystoses.

Il est clair aujourd'hui que la zidovudine seule ne préviendra pas le développement d'une pneumopathie à *Pneumocystis carinii* (59, 125). L'inconvénient majeur de cette molécule est son effet myélosuppresseur qui se surajoute aux effets secondaires des thérapeutiques employées en prophylaxie (30, 125).

A l'heure actuelle, on ne connaît pas le meilleur agent prophylactique qui idéalement serait le plus efficace et le moins toxique possible.

1. Triméthoprime-sulfaméthoxazole

Cette association a prouvé son efficacité en prophylaxie primaire et secondaire à la dose de 160 mg de triméthoprime et 800 mg de sulfaméthoxazole deux fois par 24 heures (30).

Fischl et al. en 1988 ont comparé un groupe avec traitement journalier de TMP-SMZ aux doses citées précédemment à un groupe apparié (SIDA et sarcome de Kaposi, sans antécédent de pneumocystose). Aucun patient recevant

la chimioprophylaxie n'a présenté de pneumopathie à *Pneumocystis carinii*, alors que 53% des patients non traités en ont développé une.

La durée moyenne de survie était significativement plus haute dans le groupe traité que dans le groupe contrôle (60).

Des effets secondaires sont survenus pour environ la moitié des patients mais 17% seulement ont nécessité l'arrêt du traitement. Aucun ne recevait de zidovudine.

Récemment, Shafer et al. ont montré l'efficacité du TMP-SMZ pour prévenir une pneumocystose récurrente chez des patients infectés par le VIH. Le traitement n'a été arrêté que dans 13% des cas à cause des effets secondaires (221).

L'étude de Ruskin en 1991 montre chez des patients atteints de SIDA une efficacité du TMP-SMZ (1600 mg TMP, 800 mg SMZ) donné de façon intermittente (lundi, mercredi, vendredi). Cette prophylaxie a été bien tolérée par plus de 85% des patients (214).

Les effets secondaires sont fréquents mais imposent rarement l'arrêt du traitement. L'inconvénient majeur reste la leuconéutropénie. Celle-ci peut être exacerbée par l'utilisation concomitante de zidovudine (30, 125).

Malgré ces inconvénients, cette méthode a pour elle sa simplicité, son faible coût et son efficacité.

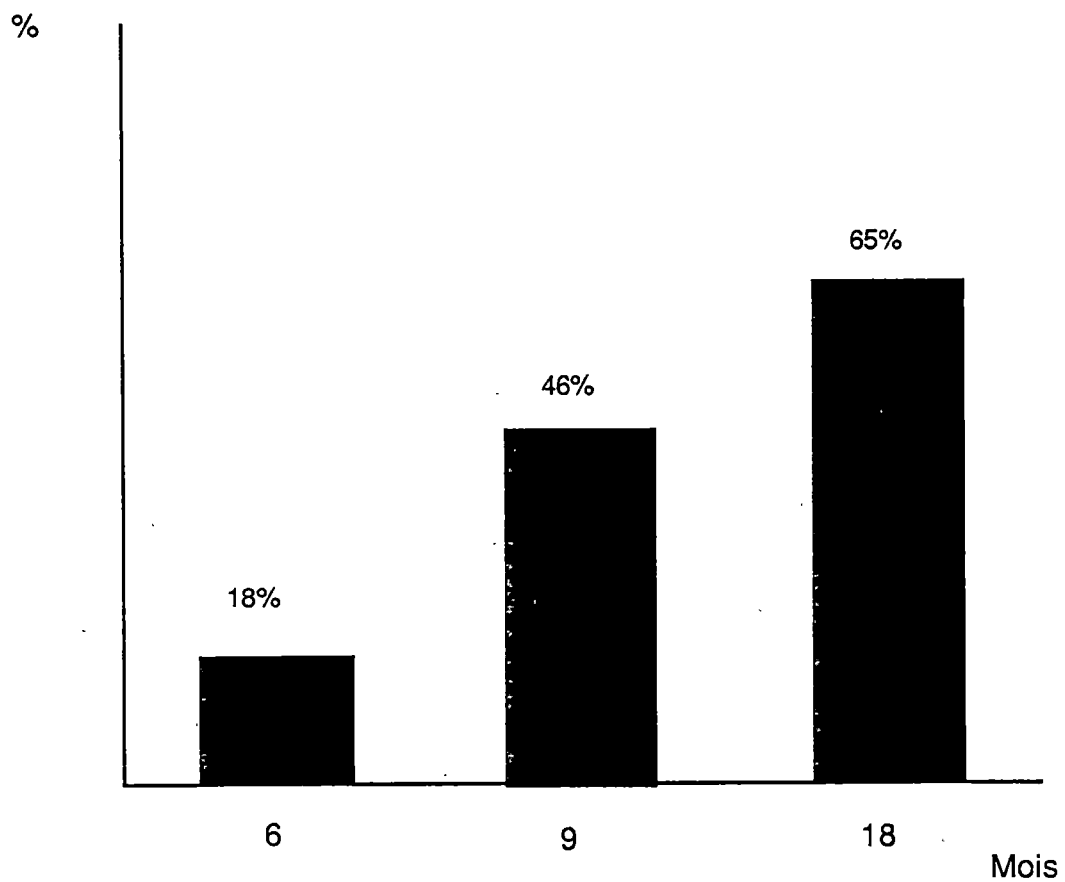
Tableau 14 : Survenue d'une pneumopathie à *Pneumocystis carinii* chez 166 patients avec leucémie lymphoïde (110). Prophylaxie par triméthoprime-sulfaméthoxazole.

Prophylaxie	Nombre de patients	Temps d'observation (jours)	Nombre de cas de pneumocystose
Journalière	92	30,602	0
3 jours / semaine	73	27,329	0
Placebo (étude antérieure)	80	27,138	17

FIG. 11 : Probabilité de faire un deuxième épisode de pneumopathie à *Pneumocystis carinii*
D'après Girard et Coll. (79).

La probabilité de faire un 2e épisode est de :

- 18% à 6 mois
- 46 % à 9 mois
- 65% à 18 mois



2. Aérosols de pentamidine

Les aérosols d'iséthionate de pentamidine (Pentacarinat^R) sont en général réalisés avec un aérosoliseur pneumatique, type Respigard II, qui donne une bonne pénétration alvéolaire en évitant au mieux les dépôts au niveau des voies aériennes supérieures (136, 176). La position allongée pourrait favoriser une meilleure distribution du produit au niveau des sommets (187).

La dose recommandée est de 300 mg par mois en une inhalation de approximativement 30 minutes (125, 264).

Les résultats préliminaires de plusieurs équipes montrent une réduction de l'incidence de la pneumocystose tant en prophylaxie primaire que secondaire (30, 80, 112, 125, 136). Cependant, le taux d'échec en prophylaxie secondaire n'est pas négligeable et certains proposeraient dans ce cas un intervalle de 14 jours entre deux aérosols (220).

L'étude de Girard en 1989 trouve un taux de rechute de 9% à 10 mois en prophylaxie secondaire chez des patients atteints de SIDA et sous aérosols de pentamidine de 300 mg par mois (80).

Dans cette étude, une intolérance bronchique était habituelle, mais bien diminuée par l'inhalation préalable de B₂-mimétiques. Aucun effet systémique n'a été observé (tableau 15). La pentamidine donnée chez les patients sous zidovudine ne provoquait pas de toxicité additionnelle.

Les avantages sont donc importants avec une bonne observance, des effets secondaires locaux (toux, bronchospasme, goût métallique) et l'absence d'interférence médicamenteuse (220).

L'étude de Leoung réalisée en 1990 sur une série de 408 patients et sur une période de 18 mois, montre l'efficacité des aérosols de pentamidine à la dose de 300 mg/mois. Dans cette étude, 295 patients étaient sous zidovudine.

La supériorité du dosage à 300 mg par rapport aux deux autres (30 mg/15 j et 150 mg/15 j) est surtout importante en prophylaxie secondaire (137).

De même que dans l'étude de Girard, il n'a pas été retrouvé de toxicité additionnelle entre la zidovudine et les aérosols de pentamidine. Seulement 5,6% des patients ont dû arrêter le traitement à cause des effets secondaires. Chez 2%, les auteurs ont noté la survenue d'un pneumothorax spontané et ils se demandent si cette pathologie peut être imputée au traitement.

Une autre étude fait état de quatre pneumothorax spontanés chez 13 patients hémophiles VIH+ sous prophylaxie par aérosols de pentamidine 300 mg/mois (3 en prophylaxie primaire et 1 en prophylaxie secondaire) (36).

Après initiation de la prophylaxie, les patients doivent être étroitement surveillés à la recherche du développement d'une pneumocystose ou d'une infection extra-pulmonaire à *Pneumocystis carinii*. En effet, des cas de pneumocystose apicale et de dissémination ont été décrits chez des patients recevant une prophylaxie par aérosols de pentamidine (32, 93, 184, 196).

Actuellement, rien ne permet d'imputer directement les cas de dissémination à la prophylaxie par aérosols (220).

Tableau 15 : effets secondaires cliniques dus à la pentamidine en aérosols.
 Résultats pour 23 patients (80).

EFFETS SECONDAIRES	nombre (%)
Pendant inhalation :	
Toux	
- modérée	7 (30)
- sévère	3 (13)
- atténuée par les B ₂ -mim.	9 (39)
Bronchospasme	1 (4)
Nausées/vomissements	5 (22)
24-48 H après inhalation :	
Altération du goût	8 (35)
Fièvre	4 (17)
Irritation trachéale	9 (39)
Inconfort respiratoire	7 (30)
Asthénie	4 (17)
Arrêt à cause des effets secondaires	1 (4)

3. Dapsone

Des études animales ont montré une efficacité de la dapsone dans la prophylaxie de l'infection à *Pneumocystis carinii* (109).

Des essais cliniques ont été rapportés pour 156 patients atteints de SIDA avec des lymphocytes CD4+ < 200/mm³ ont reçu 100 mg par jour de dapsone par voie orale. Une pneumocystose est survenue chez un seul patient. Par contraste, 74% des patients témoins ne recevant pas de prophylaxie ont développé cette pneumopathie (166).

L'anémie était un effet secondaire significatif et 25% des patients ont eu besoin de transfusion. Rash, méthémoglobinémie et nausées furent notés, mais n'ont pas mis en jeu le pronostic vital.

Une étude animale a suggéré que des doses espacées de dapsone étaient efficaces et qu'un tel espacement pourrait réduire la toxicité rencontrée avec l'usage journalier (111).

L'étude de Lucas en 1989 réalise une prophylaxie primaire avec de la dapsone à 100 mg par semaine par voie orale chez 16 patients atteints de SIDA, et un taux de lymphocytes CD4+ < 200/mm³. Un patient sur 16 a présenté une pneumocystose contre 16 sur 46 dans le groupe témoin ne recevant aucune prophylaxie (145).

La dapsone à 100 mg par semaine est donc utile, mais pas complètement efficace.

Des effets secondaires tels que rash, anémie, thrombopénie et élévation des phosphatases alcalines ont été observés mais n'ont pas nécessité l'arrêt du traitement, ni de transfusion pour l'anémie.

Une étude prospective réalisée chez 61 patients infectés par le VIH, a montré une efficacité de la dapsone en prophylaxie primaire et secondaire aux doses de

100, 200 ou 300 mg par semaine. Le suivi fut de 9 mois. Le seul échec concernait un patient sous prophylaxie secondaire par 200 mg/semaine (113).

La dapsonsone aurait l'avantage d'être également active sur le *Toxoplasma gondii* et le *Mycobactérium avium* (145).

Quoiqu'il en soit, d'autres études randomisées semblent nécessaires.

4. Pyriméthamine-sulfadoxine (FANSIDAR^R)

Fischl en 1986 a étudié l'intérêt de cette association dans un groupe de patients infectés par le VIH et atteints d'un sarcome de Kaposi. Aux doses respectives de 25 et 500 mg en une prise hebdomadaire, l'efficacité était décevante puisque 7 rechutes sont survenues pour 30 patients traités (58).

Gottlieb et coll. ont obtenu de meilleurs résultats avec la même posologie en prophylaxie secondaire, mais l'étude portait sur seulement 12 patients pendant 7 mois (86).

Enfin quelques équipes ont rapporté des observations isolées d'échec de cette prophylaxie (67).

5. Attitude prophylactique

Le choix de la prophylaxie dépend des contre-indications respectives des différentes méthodes, des préférences du patient, des contingences techniques liées aux aérosols, des thérapeutiques associées, notamment antirétrovirales (30).

La plupart des équipes en France utilisent les aérosols de pentamidine ou l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole.

Une prophylaxie systématique permettrait de réduire l'incidence de la pneumocystose au dessous de 15% par an chez les patients infectés par le VIH (98):

Après l'initiation de la prophylaxie, les patients doivent être surveillés à la recherche d'une toxicité, du développement d'une pneumocystose, d'une infection extra-pulmonaire à *Pneumocystis carinii* ou d'une autre infection opportuniste.

Si le patient développe une pneumopathie à *Pneumocystis carinii*, la prophylaxie est arrêtée et un traitement instauré.

Une fois la thérapeutique terminée, une prophylaxie doit être instaurée à nouveau (125, 158).

Tableau 16 : récapitulatif des prophylaxies utilisées et en cours d'évaluation pour la pneumopathie à *Pneumocystis carinii*.

Nom	posologie	voie d'administration
Triméthoprime- sulfaméthoxazole	160 mgx2/j 800 mgx2/j ou 3x/semaine	per os
Iséthionate de pentamidine	300 mg/mois	aérosol
Dapsone	100 mg/j 300 mg/semaine	per os
Pyriméthamine- sulfadoxine	25 mg/semaine 500 mg/semaine	per os
Clindamycine- primaquine	150 mgx4/j 26,3 mg/j	per os

CONCLUSION

Thèse soutenue par : Pascale Guillem

Infection à *Pneumocystis carinii* :
Avancée diagnostique, thérapeutique
et prophylactique chez l'adulte.

CONCLUSION

L'augmentation de la fréquence des traitements immunosuppresseurs et surtout l'apparition de l'épidémie de SIDA sont responsables de l'incidence croissante de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii*. Cette pathologie est devenue un problème important de santé publique, plus particulièrement aux Etats-Unis. De nombreuses questions quant à sa physiopathologie restent posées bien que ce microorganisme ait été découvert il y a plus de soixante dix ans.

Nous avons entrepris un travail bibliographique sur la pneumocystose dans le but de mettre en évidence les progrès, essentiellement diagnostiques et thérapeutiques réalisés ces dernières années.

Tout d'abord, malgré l'apport des techniques de biologie moléculaire et la multiplicité des travaux qui lui ont été consacrés, la taxonomie du parasite n'est pas encore unanimement définie. Les hypothèses oscillent toujours entre un élément fongique et un protozoaire. La présence de caractères "spécifiques" de l'une et l'autre classe pourrait permettre d'envisager l'appartenance à une troisième catégorie.

La relation hôte-parasite n'est pas clairement établie. Les nombreuses expérimentations en modèle animal et les multiples études chez l'homme n'ont pas permis de définir précisément la pathogénicité de *P. carinii*.

Le diagnostic, parfois orienté par l'anamnèse et un examen clinique attentif, bénéficie depuis peu d'une technique d'imagerie *à priori* spécifique : la tomодensitométrie haute résolution. Les premiers résultats semblent prometteurs.

De nouvelles techniques biologiques sont apparues avec le développement des anticorps monoclonaux mais elles sont coûteuses, faiblement spécifiques et difficiles à mettre en oeuvre. Ainsi les colorations classiques gardent leur intérêt avec en corollaire la nécessité d'un biologiste expérimenté.

Le diagnostic de certitude passe par la mise en évidence du microorganisme dans les produits pathologiques. Parmi les nombreuses méthodes utilisées, aucune n'est entièrement satisfaisante. La fibroscopie bronchique est cependant considérée comme l'exploration diagnostique de choix.

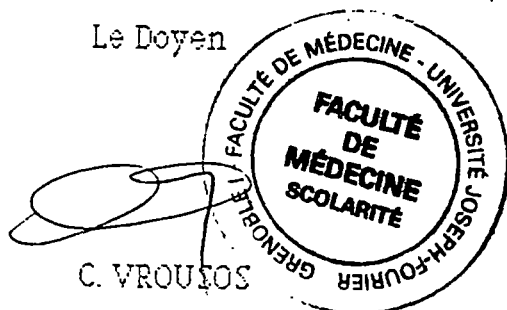
Nous avons constaté que les progrès réalisés ces dix dernières années portent essentiellement sur l'attitude thérapeutique et l'apparition d'une prophylaxie. En effet, la mortalité de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* est passée de 100% au début du siècle à moins de 30% à l'heure actuelle. La prophylaxie permettrait de réduire l'incidence de cette pathologie à moins de 15% par an chez les patients infectés par le VIH.

Raisonnablement d'autres progrès peuvent être espérés grâce aux essais cliniques en cours et à une meilleure connaissance fondamentale de *Pneumocystis carinii*. Il est possible que dans les années à venir l'immunothérapie et/ou l'immunoprophylaxie jouent un rôle dans cette infection.

VU et PERMIS D'IMPRIMER

GRENOBLE, le 22/04/91

Le Doyen



C. VROUSOS

Le Président de thèse,

Professeur MICOUD

BIBLIOGRAPHIE

1. ALLEGRA J.C., KOVACS J.A., DRAKE J.C., SWAN J.C., CHABNER B.A., MASUR H. :
Activity of antifolates against *Pneumocystis carinii* dihydrofolate reductase and identification of a potent new agent.
J. Exp. Med. 1987; 165 : 926-31.
2. ALLEGRA J.C., CHABNER B.A., TUAZON C.U. and al. :
Trimetrexate for the treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with the AIDS.
N. Engl. J. Med. 1987; 317 : 978-85.
3. AMOROSA J.K., NAHASS R.G., NOSHER J.R. and GOCKE D.J. :
Radiologic distinction of pyogenic pulmonary infection from *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS patients.
Radiology 1990; 175 : 721-4.
4. ARNAUD J.P., PRAT J.J., GRISCELLI C., GENTILINI M. et NEZELOF C. :
Le diagnostic de la pneumonie à *Pneumocystis carinii* par l'immunofluorescence indirecte.
La Nouvelle Presse Médicale 1976; 39 : 2607-10.
5. BASELSKI W.S., ROBINSON M.K., PIFER L.W. and WOODS D.R. :
Rapid detection of *Pneumocystis carinii* in bronchoalveolar lavage samples by using cellufluor staining.
J. Clin. Microbiol. 1990; 28 : 393-4.
6. BEAUVAIS B., SARFATI C., GERBER F., LARIVIERE M. et HIRSCH A. :
Etude comparative de deux techniques de coloration classiques et d'un test d'immunofluorescence indirecte appliqués à la recherche de *Pneumocystis carinii* dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire et l'expectoration induite des sujets VIH+.
Ann. Biol. Clin. 1989 ; 47 : 635-9.
7. BENNET C.L., GARFINKLE J.B., GREENFIELD S., DRAPER D., ROGERS W., MATHEWS C., KANOUSSE D.E. :
The relation between hospital experience and in-hospital mortality for patients with AIDS-related *Pneumocystis carinii* pneumonia.
JAMA 1989; 261 : 2975-9.
8. BLOOM E.J., ABRAMS D.I., RODGERS G. :
Lupus anticoagulant in the Acquired Immunodeficiency Syndrome.
JAMA 1986; 256 : 191-3.

9. **BLUMMENFELD W. and KOVACS J.A. :**
Use of a monoclonal antibody to detect PC in induced sputum and bronchoalveolar lavage fluid by immunoperoxidase staining.
Arch. Path. Lab. Med. 1988; 112 : 1233-6.
10. **BLUMMENFELD W. and Mac LEOD GRIFISS J. :**
In vitro differentiation of human derived *Pneumocystis carinii*.
J. Clin. Microbiol. 1989; 27 : 480-5.
11. **BLUMMENFELD W., MANDRELL R.E., JARVIS G.A. and Mac LEOD GRIFISS J. :**
Localization of host immunoglobuline G to the surface of *Pneumocystis carinii*.
Infect. and Immun. 1990; 58 : 456-63.
12. **BODY B.A., SCHWARTZMAN J.D., BROWN H. and GRÖSCHEL D.H.M. :**
Possible confusion of *Aspergillus fumigatus* and *Pneumocystis carinii*.
Eur. J. Clin. Microbiol. 1987; 6 : 603-4.
13. **BOITARD C., BACH J.F. :**
Lupus érythémateux disséminé.
Rev. Prat. 1988; 38 : 1217-22.
14. **BOUTON C., KERNBAUM S., CHRISTOL D., TRINH DINH H., VEZINET F., SEMAN M., BASTIN R. :**
Diagnostic morphologique du *Pneumocystis carinii*.
Path. Biol. (Paris) 1977; 25 : 153-60.
15. **BOZETTE S.A., SATTLER F.R., CHIU J., WU A.W., GLUCKSTEIN D., KEMPER C., BARTK A., NIOSI J., ABRAMSON I., et al. :**
A controlled trial of early adjunctive treatment with corticosteroids for *Pneumocystis carinii* pneumonia in the Acquired Immunodeficiency Syndrome.
N. Engl. J. Med. 1990; 323 : 1451-7.
16. **BRECHOT J.M., DORE M.F., CAPRON F., BOUVET A., WAKED M. et ROCHEMAURE J. :**
Pneumopathies à *Pneumocystis carinii* au cours du SIDA. Aspects cliniques et évolutifs. A propos de 37 cas.
Rev. Pneumo. Clin. 1989; 45 : 114-7.
17. **BROWN M.S. and WU T.C. :**
The Gram stain morphology of Fungi, Mycobacteria and *Pneumocystis carinii*.
J. Med. Technol. 1986; 3 : 495-9.

18. **BURKE B.A., KROVETZ L.J., GOOD R.A. :**
Occurrence of *Pneumocystis carinii* pneumonia in children with agammaglobulinemia.
Pediatrics 1961; 28 : 196-205.
19. **CARINI A. :**
Formas de eschizogonia de *Trypanosoma lewisi*.
Bol. Soc. Med. Cir. (Sao Paulo) 1910; 18 : 204.
20. **CARME B., MBOUSSA J., ANDZIN M., MBOUNI E., MPELE P., DATRY A. :**
Pneumocystis carinii is rare in AIDS in Central Africa.
Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 1991; 85 : 80.
21. **CHAFFHEY M.H., KLEIN J.S., GAMSU G., BLANC P., GOLDEN J.A.**
Radiographic distribution of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS treated with prophylactic inhaled pentamidine.
Radiology 1990; 175 : 715-9.
22. **CHAGAS C. :**
Nouvelle espèce de Trypanosomiase humaine.
Bull. Soc. Path. Exot. 1909; 2 : 304-7.
23. **CHANDRA P., DELANEY M.D. and TUAZON C.V. :**
Role of special stains in the diagnosis of *Pneumocystis carinii* infection from bronchial washing specimens in patients with the Acquired Immune Deficiency Syndrome.
Acta Cytol. 1988; 32 : 105-8.
24. **CHARRON M., ACKEMAN E.S., KOLODNY G.M., ROSENTHAL L. :**
Focal lung uptake of Gallium 67 in patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome
Eur. J. Nucl. Med. 1988; 14 : 424-6.
25. **CHOLLET S., SOLER P., BERNAUDIN J., BASSET F. :**
Le lavage bronchoalvéolaire d'exploration.
La Presse Méd. 1984; 13 : 1503-7.
26. **CHUSID M.J., HEYRMAN K.A. :**
An outbreak of *Pneumocystis carinii* pneumonia at a pediatric hospital.
Pediatrics 1978; 62 : 1031-5.

27. **CLAIR B., REGNIER B. :**
Pneumopathies infectieuses de l'immunodéprimé.
Rev. Prat. 1989; 39 : 1581-5.
28. **CLARKSON A.B., WILLIAM D.E., ROSENBERG C. :**
Efficacy of DL-alpha difluoromethylornithine in a rat model of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Antimicrob. Agents Chemother. 1988; 32 : 1158-63.
29. **CONCES D.J., KRAFT J.L., VIX V.A. and TARVER R.D. :**
Apical *Pneumocystis carinii* pneumonia after inhaled pentamidine prophylaxis.
Am. J. Roent. 1989; 152 : 1192-4.
30. **Conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse :**
Recherche clinique et SIDA.
Ann. Méd. Interne (Paris) 1990; 141 : 374-6.
31. **CONTE J.E., CHERNOFF D., FEIGAL D.W., JOSEPH P., Mc DONALD C., GOLDEN J.A. :**
Intravenous or inhaled pentamidine for treating *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS. A randomized trial.
Ann. Intern. Med. 1990; 113 : 203-9.
32. **COTE R.J., ROSENBLUM M., MAY M., UNGER P.D. and CARTUN R.W. :**
Disseminated *Pneumocystis carinii* infection causing extrapulmonary organ failure : clinical, pathology and immunohistochemical analysis.
Modern Pathology 1990; 3 : 25-30.
33. **COULMAN C.U., GREENE I., ARCHIBALD R.W. :**
Cutaneous *Pneumocystis*.
Ann. Intern. Med. 1987; 106 : 396-8.
34. **CROSBY W.H. :**
Megaloblastic pancytopenia associated with dapsone and trimethoprim treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia in the Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Arch. Intern. Med. 1990; 150 : 1141.
35. **CUSHION M.T., RUFFULO J.J., WALZER P.D. :**
Analysis of the development stages of *Pneumocystis carinii* in vitro.
Lab. Invest. 1988; 58 : 324-31.
36. **CUTHBERG A.C., WRIGHT D., MAC VERRY B.A. :**
Pneumothorax in pentamidine-treated hemophiliacs.
Lancet April 1991; 337 : 918.

37. DELACOUR T., ROUX P., FAY M., CAMUS F., DENIS M., DOMBERT M.C., BROCHARD M., BOUCOT I., GEORGES E., MAYAUD C., MICHON C. et GIRARD P.M. :
Intérêt et limites des expectorations induites pour la recherche de *Pneumocystis carinii* chez les patients VIH+.
Méd. et Mal. Inf. 1988; Déc. : 774.
38. DELANÖE P. et DELANÖE M. :
Sur les rapports des kystes de *Pneumocystis carinii* du poumon des rats avec le *Trypanosoma lewisi*.
C. R. Acad. Sci. 1912; 155 : 658-60.
39. DELORENZO L.J., HUANG C.T., MAGUIRE G.P. and STONE D.J. :
Roentgenographic patterns of *Pneumocystis carinii* pneumonia in 104 patients with AIDS.
Chest 1987; 91 : 323-7.
40. DEL RIO C., GUARNER J., HONIG E.G. and SLADE B.A. :
Sputum examination in the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS.
Arch. Pathol. Lab. Med. 1988; 112 : 1229-32.
41. DE TRUCHIS P., GIRARD P.M. :
Traitement et prophylaxie de la pneumocystose.
La lettre de l'infectiologue 1989; 11 : 389-94.
42. DI PRIMA M.A., SORICE M., VULLO V., MASTROIANNI C.M., AMENDOLEA M.A., NASALA C. :
Anticardiolipin antibody in the Acquired Immunodeficiency Syndrome : a marker of *Pneumocystis carinii* infection.
J. Infect. 1989; 18 : 100-1.
43. Direction Générale de la Santé :
Le SIDA et l'infection par VIH.
B.E.H. 1988; Novembre : 19-20.
44. DOURNON E., RAJAGOPALAN P., ALBERT F., CAMUS F., MARCHE C., Mc LAUHLIN J., SAMUEL D. and TAYLOR A.G. :
Diagnosis of *Pneumocystis carinii* by non experts.
Lancet 1989; ii : 107-8.
45. DREYFUS F. :
Le traitement des pneumocystoses.
La lettre de l'infectiologue 1986; 6 : 187-90.

46. DUTZ W. :
Pneumocystis carinii pneumonia.
Pathol. Annu. 1970; 5 : 309.
47. EDMAN J.C., KOVACS J.A., MASUR H., SANTI D.V., HELWOOD H.J. and SOGIN M.L. :
Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of a fungi.
Nature 1988; 334 : 519-22.
48. EDMAN U., EDMAN J.C., LUNDGREN B., SANTI D.V. :
Isolation and expression of *Pneumocystis carinii* thymidilate synthetase gene.
Proc. Nat. Acad. Sciences 1989; 86 : 6503-7.
49. EDMAN J.C., EDMAN U., LUNGREN B., KOVACS J.A., SANTI D.V.
Isolation and expression of the *Pneumocystis carinii* dihydrofolate reductase gene.
Proc. Nat. Acad. Sciences 1989; 86 : 8625-9.
50. EL SADR W., SIDHU G., DIAMOND G. et al. :
High dose corticosteroids as adjunctive therapy in severe *Pneumocystis carinii* pneumonia.
AIDS Resp. 1986; 2 : 349-55.
51. ENGELBERG L.A., LERNER C.W., TAPPER M.L. :
Clinical features of *Pneumocystis carinii* pneumonia in the Acquired Immune Deficiency Syndrome.
Am. Rev. Respir. Dis. 1984; 130 : 689-94.
52. EXCLER J.M. et MOJON M. :
Quand faut-il penser à *Pneumocystis carinii* ?
Les cahiers médicaux 1982; 20 : 1215-8.
53. EXCLER J., MOJON M., GUYONNET C., PETROGNNI R. :
Pneumonie à *Pneumocystis carinii* chez l'enfant.
Pédiatrie 1984; 39 : 513-23.
54. FAETKENHEUER G., SALZBERGER B., ALLOLIO B., POTHOFF G. and SCHRAPPE-BAECHER M. :
Exercise oxymetry for early diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Lancet 1989; i : 222.
55. FELDMAN N.T. :
An assessment of transbronchial lung biopsy.
N. Engl. J. Med. 1975; 293 : 299-300.

56. FELEGIE T.P., PASCULE A.W. and DEKKER A. :
Recognition of *Pneumocystis carinii* by Gram stain in impression smears of lung tissue.
J. Clin. Microbiol. 1984; 20 : 1190-1.
57. FINEMAN D.S., PALESTRO C.J., KIM C.K., NEEDLE L.B.,
VALLABHAJOSULA S., SOLOMON R.W., GOLDSMITH S.J. :
Detection of abnormalities in febrile AIDS patients with 111-labelled leucocyte and Ga-67 scintigraphy.
Radiology 1989; 170 : 677-80.
58. FISCHL M.A., DICKINSON G.M. :
Fansidar prophylaxis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in the AIDS.
Ann. Intern. Med. 1986; 105 : 629-30.
59. FISCHL M.A., RICHMAN D.D., GRIECO M.H. et al. :
The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS related complex.
N. Engl. J. Med. 1987; 317 : 185-91.
60. FISCHL M.A., DICKINSON G.M., LAVOIE L. :
Safety and efficacy of sulfamethoxazole and trimethoprim chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS.
Jama 1988; 259 : 1185-9.
61. FITZGERALD W., BEVELAQUA F.A., GARAY S.M. et al. :
The role of open lung biopsy in patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Chest 1987; 91 : 659-61.
62. FLEURY J., ESCUDIER E. et BERNAUDIN J.F. :
Le lavage bronchoalvéolaire : technique et renseignements fournis par l'examen cytologique (en pathologie pulmonaire non tumorale).
Revue française des laboratoires 1986; 145 : 53-8.
63. FLEURY-FEITH J., TRAN VAN NHIEU J., PICARD C., ESCUDIER E., BERNAUDIN J.F. :
Bronchoalveolar lavage eosinophilia associated with *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS patients.
Chest 1989; 95 : 1198-1201.
64. FRANCIS N.D., GOLDIN R.D., FORSTER S.M., COOK H.T.,
COLEMAN D.V., SHAW R., PINCHING A.J. and BOYLSTON A.W. :
Diagnosis of lung disease in Acquired Immunodeficiency Syndrome : biopsy or cytology implications for management.
J. Clin. Pathol. 1987; 40 : 1269-73.

65. FRENKEL J.K., GOOD J.T., SHULTZ J.A. :
Latent *Pneumocystis carinii* infection of rats, relapse and chemotherapy.
Lab. Invest. 1966; 15 : 1559-77.
66. FRIED J.C., LO PRESTI J.S., MICON M., BAUER M.,
TUCHSCHMIDT J.A., NICOLOFF J.T. :
Prognostic indicators of acute mortality due to *Pneumocystis carinii*
pneumonia associated with the Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Arch. Intern. Med. 1990; 150 : 406-9.
67. FRISSEN P.H., STRONKHORST A., EEFTINCK J.K., DANNER S.A.
Fansidar and *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Ann. Intern. Med. 1988; 108 : 638-9.
68. FURUTA T., VEDA K., FUJIWARA K. :
Experimental *Pneumocystis carinii* infection in nude rats.
Jpn. J. Exp. Med. 1984; 54 : 65-72.
69. GADJUSEK D. :
Pneumocystis carinii etiologic agent of interstitial plasma cell pneumonia
of premature and young infants.
Pediatrics 1977; 19 : 543-65.
70. GAGNON S., BOOTA A.M., FISCHL M.A., BAIER H., KIRKSEY
O.W., LAVOIE L. :
Corticosteroids as an adjunctive therapy for severe *Pneumocystis carinii*
pneumonia in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. A double-
blind, placebo controlled trial.
N. Engl. J. Med. 1990; 323 : 1444-50.
71. GAL A.A., KLATT E.C., KOSS M.N., STRIGLE S.M. and BOYLEN
C.T. :
The effectiveness of bronchoscopy in the diagnosis of PC and
Cytomegalovirus pulmonary infections in AIDS.
Arch. Pathol. Lab. Med. 1987; 111 : 238-41.
72. GAL A.A., KOSS M.N., STRIGLE S. and COL P.A. :
Pneumocystis carinii infection in the Acquired Immune Deficiency
Syndrome.
Semin. Diagn. Pathol. 1989; 3 : 287-99.
73. GALLANT J.E., ENRIQUEZ R.E., COHEN K.L., HAMMERS L.W. :
Pneumocystis carinii thyroiditis.
Am. J. Med. 1988; 84 : 303-6.

74. **GARAY M.S. and GREENE J. :**
Prognostic indicators in the initial presentation of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Chest 1989; 95 : 769-72.
75. **GIGLIOTTI F., HUGHES W.T. :**
Passive immunoprophylaxis with specific monoclonal antibody confers partial protection against *Pneumocystis carinii* pneumonia in animal models.
J. Clin. Invest. 1988; 81 : 1666-8.
76. **GILQUIN J. :**
Infections opportunistes et SIDA.
Trib. Méd. 1990; 343 : 24-5.
77. **GILL V.J., EVANS G., STOCK F., PARINO J.E., MASUR H. and KOVACS J.A. :**
Detection of *Pneumocystis carinii* by fluorescent antibody stain using a combination of three monoclonal antibodies.
J. Clin. Microbiol. 1987; 25 : 1837-40.
78. **GILL V.J., NELSON N.A., STOCK F. and EVANS G. :**
Optimal use of the cytocentrifuge for recovery and diagnosis of *Pneumocystis carinii* in bronchoalveolar lavage and sputum specimens.
J. Clin. Microbiol. 1988; 26 : 1641-4.
79. **GIRARD P.M. :**
Traitement et prophylaxie de la pneumocystose au cours du SIDA.
Med. et Mal. Inf. 1988; Déc. : 722-8.
80. **GIRARD P.M., GAUDEBOUT C., LOTTIN P., DE TRUCHIS P., CAMUS F., MARCHE C. :**
Prevention of *Pneumocystis carinii* pneumonia relapse by pentamidine aerosol in zidovudine-treated AIDS patients.
Lancet 1989; 1 : 1348-53.
81. **GOLD J.E., HAUEBENSTOCK A., ZALUSKI R. :**
Lupus anticoagulant and AIDS.
N. Engl. J. Med. 1986; 314 : 1252-3.
82. **GOLDEN J.A., HOLLANDER H., STULBARG M.S. and GAMSU G. :**
A prospective study among patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Chest 1986; 90 : 18-22.

83. GORDIN F.M., SIMON G.L., WOFYSY C.B. and MILLS J. :
Adverse reactions to trimethoprim-sulfamethoxazole in patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Ann. Intern. Med. 1984; 100 : 495-9.
84. GOSEY L.L., HOWARD R.M., WITBESKY F.G., OGNIBENE F.P., WU T.C., GILL V.J., Mac LOWRY J.D. :
Advantages of a modified Toluidine Blue O stain and bronchoalveolar lavage for the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
J. Clin. Microbiol. 1985; 22 : 803-7.
85. GOTTLIEB M.S., GRUPMAN J.E., WEINSTEIN W.M., FANEY J.L. and DETELS R. :
The Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Ann. Intern. Med. 1983; 99 : 208-20.
86. GOTTLIEB M.S., KNIGHT S., MITSUYASU R., WELSMAN J., ROTH M., YOUNG L. :
Prophylaxis of *Pneumocystis carinii* infection in AIDS with pyrimethamine-sulfadoxine.
Lancet 1984; 1 : 398-9.
87. GOULLIER-FLEURET A., HIRTZ P., REYNIER P. :
Micromycètes et *Pneumocystis carinii* responsables d'infections nosocomiales.
Rev. Franç. Lab. 1988; 170 : 53-66.
88. GRADUS M.S., GILMORE M., LERNER M. :
An isolation method of DNA from *Pneumocystis carinii* : a quantitative comparison to known parasitic protozoan DNA.
Comp. Bioch. Physiol. 1988; 89 : 75-7.
89. GRAVES D.C., Mc NABB S.N., IVEY M.H., WORLEY M.A. :
Development and characterization of monoclonal antibodies to *Pneumocystis carinii*.
Infect. Immun. 1986; 51 : 125-33.
90. GREGAN P., YAMAMOTO A., LUM A., VAN DER HEIDE T., Mac DONALD M., PULLIAN L. :
Comparison of four methods for rapid detection of *Pneumocystis carinii* in respiratory specimens.
J. Clin. Microbiol. 1990; 28 : 2432-6.
91. GUTIERREZ Y. :
The biology of *Pneumocystis carinii*.
Semin. Diagn. Pathol. 1989; 6 : 203-11.

92. HAGEAGE G.J. and HARRINGTON B.J. :
Use of calcofluor white in clinical mycology.
Lab. Med. 1984; 15 : 109-112.
93. HAGOPIAN W.H. and HUSEBY J.S. :
Pneumocystis hepatitis and choroitidis despite sucessful aerosolized
pentamidine pulmonary prophylaxis.
Chest 1989; 96 : 949-51.
94. HARON E., BODEY G.P., LUNA M.A., DEKMEZIAN R., ELTING
L. :
Has the incidence of *Pneumocystis carinii* pneumonia increased with the
AIDS epidemic?
Lancet 1988; i : 904-5.
95. HARRIS E.N., LOISOU S., ENGLERT H. :
Anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant.
Lancet 1984; ii : 1099.
96. HARRIS J.E. :
Improved short term survival of AIDS patients initially diagnosed
with *Pneumocystis carinii* pneumonia. 1984 through 1987.
Jama 1990; 263 : 397-401.
97. HARTELIUS H., GAUB J., INGEMAN J.L. et al. :
Computed tomography of the lungs in AIDS.
An early indicator of interstitial pneumonia.
Acta Radiol. 1988; 29 : 641-4.
98. HENRY K., THURN J. :
The evolving challenge of *Pneumocystis carinii*.
Postgraduate Medecine 1990; 2 : 45-50, 53, 56.
99. HENSHAW N.G., CARSON J.L., COLLIER A.M. :
Ultrastructural observations of *Pneumocystis carinii* attachment to rat
lung.
J. Infect. Dis. 1985; 151 : 181-6.
100. HEYMAN M.R., RASMUSSEN P. :
Pneumocystis carinii involvement in the bone marrow in Acquired
Immunodeficiency Syndrome.
Am. J. Clin. Pathol. 1987; 87 : 780-3.
101. HOPEWELL P.C. :
Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Infectious Disease Clinics of North America 1988; 2 : 409-18.

102. HOPEWELL P.C. :
Pneumocystis carinii pneumonia.
J. Infect. Dis. 1988; 6 : 1115-9.
103. HOPKIN J.M., WAKEFIELD A.E. :
Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Parasitology Today 1989; 5 : 222-3.
104. HONG S.T., STEELE P.E., CUSHION M.T., WALZER P.D.,
STRINGER S.L., STRINGER J.R. :
Pneumocystis carinii karyotypes.
J. Clin. Microbiol. 1990; 28 : 1786-94.
105. HUFFMAN D., MUSER D.M., REUBEN A.G. :
Drug treatment of pneumonia due to *Pneumocystis carinii*.
Texas Medecine 1987; 83 : 27-30.
106. HUGHES W.T., FELDMAN S., AUR R.J., VERZOSA M.S., HUSTU
H.O., SIMONE J.V. :
Intensity of immunosuppressive therapy and the incidence of
Pneumocystis carinii pneumonitis.
Cancer 1975; 36 : 2004-9.
107. HUGHES W.T., KUHN S., CHAUDHARYS. et al. :
Successful chemioprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonitis.
N. Engl. J. Med. 1977; 297 : 1419-26.
108. HUGHES W.T. :
Natural mode of acquisition for de novo infection with *Pneumocystis
carinii*.
J. Infect. Dis. 1982; 145 : 842-8.
109. HUGHES W.T., SMITH B.L. :
Efficacy of diaminophenyl sulfone and other drugs in murine
Pneumocystis carinii pneumonitis.
Antimicrob. Agents Chemother. 1984; 26 : 436-40.
110. HUGHES W.T., RIVERA G.K., SCHELL M.J., THORNTON D., LOTT
L. :
Successful intermittent chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii*
pneumonitis.
N. Engl. J. Med. 1987; 316 : 1627-32.

111. HUGHES W.T. :
Comparisons of dosages, intervals and drugs in the prevention of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Antimicrob. Agents Chemother. 1988; 32 : 623-5.
112. HUGHES W.T. :
Pneumocystis carinii : advances in biology, prophylaxis and treatment.
In "New strategies in parasitology" :
Edited by Mac ADAM, LONDON 1989 : 276-86.
113. HUGHES W.T., KENNEDY W., DUGDALE M. et al. :
Prevention of *Pneumocystis carinii* pneumonitis in AIDS patients with weekly dapsone.
Lancet 1990; Oct. 27 : 1066.
114. KAGAWA F.T., KIRSCH C.M., YENOKIDA G.G. and LEVINE M.L. :
Serum lactate dehydrogenase activity in patients with AIDS and *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Chest 1988; 94 : 1031-3.
115. KALES C.P., MURREN J.R., TORRES R.A., CROCCO J.A. :
Early predictors of in-hospital mortality for *Pneumocystis carinii* pneumonia in the Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Arch. Intern. Med. 1987; 147 : 1413-7.
116. KAY R., DUBOIS R.E. :
Clindamycin/primaquine therapy and secondary prophylaxis against *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS.
South. Med. J. 1990; 83 : 403-4.
117. KERNBAUM S., TRINH DINH H., BOUTON C., VEZINET F.,
BRUNOD M., GUTMAN L., CHRISTOL D., BASTIN R. :
Epidémiologie de l'infection à *Pneumocystis carinii*.
Médecine et Hygiène 1978; 36 : 461-5.
118. KERNBAUM S., CAVAILLE-COLL M., KLATZMANN D.,
GLUCKMAN J.C., SAIMOT A.G. :
Syndrome d'Immunodéficit Acquis (SIDA).
Encycl. Méd. Chir. (Paris), Maladies Infectieuses, 8002 B10, 6-1985.
119. KERBY G.R., MAYER L.S., PINGLETON S.K. :
Nocturnal positive pressure ventilation via nasal mask.
Am. Rev. Respir. Dis. 1987; 135 : 738-40.

120. KOCH M., HEIZMANN W. :
Problems in the detection of *Pneumocystis carinii* by indirect immunofluorescence.
Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1990; 1 : 58-9.
121. KOVACS J.A., HIEMENS J.W., MACHER A.M., STOVER D.E., MURRAY H.W., SHELHAMER J., LANE H.C., UMACHER C., HONIG C., LONGO D.L., PARKER M.M., NATANSON C., PARILLO J.E., FAUCI A.S., PIZO P.A., MASUR H. :
Pneumocystis carinii pneumonia : a comparison between patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome and patients with other immunodeficiencies.
Ann. Intern. Med. 1984; 100 : 663-71.
122. KOVACS J.A., GILL V., SWAN J.C., OGNIBENE F.P., SHELHAMER J., PARILLO J.E., MASUR H. :
Prospective evaluation of a monoclonal antibody in diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Lancet 1986; 2 : 1-3.
123. KOVACS J.A., NG V.L., MASUR H. et al. :
Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia : improve detection in sputum with use of monoclonal antibodies.
N. Engl. J. Med. 1988; 318 : 589-93.
124. KOVACS J.A., HALPERN J.N., SWAN J.C., MOSS J., PARILLO J.E., MASUR H.
Identification of antigens and antibodies specific for *Pneumocystis carinii*.
J. Immun. 1988; 140 : 2023-31.
125. KOVACS J.A., MASUR H. :
Prophylaxis of *Pneumocystis carinii* pneumonia : an update.
J. Infect. Dis. 1989; 160 : 882-6.
126. KOVACS J.A., ALLEGRA C.J., MASUR H. :
Characterization of dihydrofolate reductase of *Pneumocystis carinii* and *Toxoplasma gondii*.
Experimental Parasitology 1990; 71 : 60-8.
127. KRAMER E., SANGER G.H., GARAY S.M., GROSSMAN R.J., TIU S., BANNER H. :
Diagnostic implication of Ga-67 chest-scan patterns in Human Immunodeficiency Virus seropositive patients.
Radiology 1989; 170 : 671-6.

128. **KUHLMAN J.E., FISHMAN E.K., HRUBAN R.H., KNOWLES M., ZERHOUNI E.A., SIEGELMAN S.S. :**
Diseases of the chest in AIDS : CT diagnosis.
Radiographics 1989; 9 : 827-57.
129. **LAMBRIDINIS P. :**
Apport de la tomodensitométrie haute résolution dans le diagnostic positif et étiologique des affections pulmonaires chez le sujet adulte VIH+ (à propos de 44 cas).
Thèse Grenoble 1990 N° 5128.
130. **LANCASTRE F., ROUX P., BASSET D., MARC B., MAYAUD C. :**
Pneumocystose : aspects épidémiologiques et cliniques, méthode de diagnostic, traitement.
Soc. Fr. Parasitol. Poitiers, Mai 1986 : 83-99.
131. **LANKEN P.N., MINDA M., PIETRA G.G. et al. :**
Alveolar response to experimental *Pneumocystis carinii* pneumonia in the rat.
Am. J. Pathol. 1980; 99 : 561-88.
132. **LEE C.H., BOLINGER C.D., BARTLETT M.S., KOHLER R.B., WILDE C.E., SMITH J.W. :**
Production of monoclonal antibody against *Pneumocystis carinii* by using a hybrid of rat spleen and mouse myeloma cells.
J. Clin. Microbiol. 1986; 23 : 505-8.
133. **LE FRERE J.J., GOZIN D., MODAI J., VITTECOQ D. :**
Circulating anticoagulant in the Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Ann. Intern. Med. 1987; 107 : 429-30.
134. **LEIGH T.R., HUNE G., GAZZARD B., PARSONS P., HUSAIN D.A., COLLINS J.V. :**
Sputum induction for the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Lancet 1989; 2 : 205-6.
135. **LEOUNG G.S., MILLS J., HOPEWELL P.C., HUGHES W.T., WOFSY C. :**
Dapsone-trimethoprim for *Pneumocystis carinii* pneumonia in the AIDS.
Ann. Intern. Med. 1986; 105 : 45-8.

136. LEOUNG G.S., MONTGOMERY A.B., ABRAMS D.A., KORKERY K., WARDLAW L., FEIGAL D.W. :
Aerosol pentamidine for *Pneumocystis carinii* pneumonia : a randomized trial of 439 patients.
Bio-Data 1988 : International conference on AIDS (Stockholm).
137. LEOUNG G.S., FEIGAL D.W., MONTGOMERY A.B. et al. :
Aerosolized pentamidine for prophylaxis against *Pneumocystis carinii* pneumonia.
N. Engl. J. Med. 1990; 323 : 769-75.
138. LIEBERMAN J., NOSAL A., SCHLEISSNER L.A., SASTRE-FOKEN A. :
Serum angiotensin-converting enzyme for diagnosis and therapeutic evaluation of sarcoidosis.
Am. Rev. Respir. Dis. 1979; 120 : 329-35.
139. LIMPER A.H., OFFORD K.P., SMITH T.F., MARTIN W.J. :
Pneumocystis carinii pneumonia : differences in lung parasite number and inflammation in patients with and without AIDS.
Am. Rev. Respir. Dis. 1989; 140 : 1204-9.
140. LINDER E., ELVIN K., BJÖRKMAN A., BERGDAHL S., NORFELDT-MASSON L., SONNEBORG A. :
Monoclonal antibody to detect *Pneumocystis carinii*.
Lancet 1986; 2 : 634.
141. LINDER E., LUNDIN L., VORMA H. :
Detection of *Pneumocystis carinii* in lung-derived samples using monoclonal antibodies to an 82 kDa parasite component.
J. Immunol. Methods 1987; 98 : 57-62.
142. LINDER J., RADIO S.J. :
Immunohistochemistry of *Pneumocystis carinii*.
Semin. Diagn. Pathol. 1989; 6 : 238-44.
143. LIPMAN M.L., GOLDSTEIN E. :
Serum lactic dehydrogenase predicts mortality in patients with AIDS and *Pneumocystis carinii* pneumonia.
West. J. Med. 1988; 149 : 487-7.
144. LONG E.G., SMITH J.S., MEIER J.L. :
Attachment of *Pneumocystis carinii* to rat pneumocytes.
Lab. Invest. 1986; 54 : 609-15.

145. LUCAS C.R., SANDLAND A.M., MIJCH A., SIMPSON J.M. :
Primary dapsone chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia
in immunocompromised patients infected with the Human
Immunodeficiency Virus.
Med. J. Aust. 1989; 151 : 30-3.
146. LÜNDGREN J.D., ORHOLM M., LÜNDGREN B., NIELSEN J.O.,
SHELHAMER J.H. :
Pulmonary disease in patients with Human Immunodeficiency Virus
infection.
Dan. Med. Bull. 1989; 36 : 503-6.
147. Mac FADDEN D.K., HYLAND R.H., EDELSON J.D., RODRIGUEZ
C.H., REBUCK A.S. :
Corticosteroids as adjunctive therapy in treatment of *Pneumocystis
carinii* pneumonia in patients with AIDS.
Lancet 1987; ii : 1477-9.
148. MACHER A.M., SHELHAMER J., MAC LOWRY J., PARKER M.,
MASUR H. :
Pneumocystis carinii identified by Gram stain of lung imprints.
Ann. Intern. Med. 1983; 99 : 484-5.
149. MACHER A.M., BARDENSTEIN D.S., ZIMMERMAN L.E. :
Pneumocystis carinii choroiditis in a male homosexual with AIDS and
disseminated pulmonary and extrapulmonary infection.
N. Engl. J. Med. 1987; 316 : 1092.
150. Mac LEES B.D., BARLOW J.L., KUZMA R.J., BARINGTANG D.C.,
SCHECTER P.J. :
Studies on successful eflornithine treatment of *Pneumocystis carinii*
pneumonia in AIDS.
Abstract 1987; 4 : 155.
151. MAC NABB S.J., GRAVES D.C., KOSANKE S.D., MOYER M.J.,
IVEY M.H. :
Pneumocystis carinii antigen detection in rat serum and lung lavage.
J. Clin. Microbiol. 1988; 26 : 1763-71.
152. MADDISON S.E., HAYES G.V., SLEMENDA S.B., NORMAN L.G.,
IVEY M.H.
Detection of specific antibody by ELISA and antigenemia by
counterimmunoelectrophoresis in humans infected with *Pneumocystis
carinii*.
J. Clin. Microbiol. 1982; 15 : 1036-43.

153. MARTIN C., GOULLIER-FLEURET A., FRICKER H. :
Diagnostic direct de *Pneumocystis carinii* par coloration au Gomori-Grocott de prélèvements broncho-pulmonaires.
Retrospective sur 33 mois.
Med. et Mal. Inf. 1989; 19 : 134-7.
154. MARY IMOGENE BASETT Hospital, Cooperstown, N.Y. :
Thoracic lymphadenopathy and disseminated *Pneumocystis carinii* in AIDS (clinical conference).
N. Y. State J. Med. 1990; 90 : 146-53.
155. MASON G.R., UZLER J.M., EFFROS R.M., REID E. :
Rapid reversible alterations of pulmonary epithelial permeability induced by smoking.
Chest 1983; 83 : 6-11.
156. MASON G.R., DUANE G.B., EFFROS R.M., MENA I. :
Rapid clearance of inhaled aerosols of Technitium 99m-DTPA in patients with *Pneumocystis carinii* pneumonitis.
J. Nucl. Med. 1985; 26 : 243.
157. MASON G.R., HASHIMOTO G.H., DICKMAN P.S., FOUTTY L.F., COBB C.J.
Prognostic implications of bronchoalveolar lavage neutrophilia in patients with *Pneumocystis carinii* and AIDS.
Am. Rev. Respir. Dis. 1989; 139 : 1336-42.
158. MASUR H. :
Clinical studies of *Pneumocystis carinii* and relationships to AIDS.
J. Protozool. 1989; 36 : 70-4.
159. MASUR H. :
CD4+ counts as predictors of opportunistic pneumonia in HIV infection.
Ann. Intern. Med. 1989; 111 : 223-31.
160. MATHERON S., KNECHT E., GIRARD P.M., MICHON C., MORINIERE B., MAYAUD C. :
Considérations épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques concernant la pneumopathie à *Pneumocystis carinii* au cours du SIDA. A propos de 25 cas.
Med. et Mal. Inf. 1986; 5 : 300-4.
161. MATSUMUTO Y., YOSHIDA Y. :
Advances in *Pneumocystis carinii* biology.
Parasitology Today 1986; 2 : 137-42.

162. MAXFIELD R.A., SORKIN I.B., FAZZINI E.P., RAPOPORT D.M., STENSON W.M., GOLDRING R.M. :
Respiratory failure in patients with AIDS and *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Crit. Care Med. 1986; 14 : 443-9.
163. MAYAUD C., TOUBOUL J.L., MONTAGNE V., AKOUN G. :
Les infections respiratoires au cours du SIDA.
Rev. Prat. 1986; 21 : 1169-76.
164. MEDINA I., MILLS J., LEOUNG G., HOPEWELL P.C., LEE B., MODIN G., BENOVITZ N., WOFYSY C. :
Oral therapy for *Pneumocystis carinii* pneumonia in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. A controlled trial of trimethoprim-sulfamethoxazole versus trimethoprim-dapsone.
N. Engl. J. Med. 1990; 323 : 776-82.
165. MEIGNAN M.M., ROSSO J., PICARD C., MAYAUD C., REVUZ J., AKOUN G., GALLE P. :
La scintigraphie pulmonaire aux aérosols : un nouveau test dans la stratégie diagnostique des pneumocystoses chez les malades atteints de Syndrome d'Immunodéficit Acquis.
La Presse Med. 1988; 17 : 577-80.
166. METROKA C.E., LANGE R., BRAUN N., O'SULLIVAN M., JOSEFBERG H., JACOBUS D. :
Successful chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia with dapsone in patients with AIDS and ARC.
Third international conference on AIDS (Washington D.C., June, 1987)
Abstract T.H.P. 231.
167. MEUWISSEN J.H., TAUBER I., LEUWENBERG A.D., BECKERS P.J., SIEBEN A. :
Parasitologic and serologic observations of infection with *Pneumocystis* in humans.
J. Infect. Dis. 1977; 136 : 43-9.
168. MEYERS J.D., PIFER L.L., SALE G.E., THOMAS E.D. :
The value of *Pneumocystis* antibody and antigen detection for diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia after marrow transplantation.
Am. Rev. Respir. Dis. 1979; 120 : 1283-7.
169. MILLARD P.R., HERYET A.R. :
Observations favouring *Pneumocystis carinii* pneumonia as a primary infection : a monoclonal antibody on paraffin sections.
J. Pathol. 1988; 154 : 365-70.

170. MILLER R.F., MITCHELL D.M. :
Management of respiratory failure in patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome and *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Thorax 1990; 45 : 140-6.
171. MILLS J., LEOUNG G., MEDINA I., HOPEWELL P.C., HUGHES W.T., WOFSY C. :
Dapsone treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia in the AIDS.
Antimicrob. Agents Chemother. 1988; 32 : 1057-60.
172. MOJON M. :
Introduction à l'étude de la pneumopathie à *Pneumocystis carinii*.
Thèse Med. Lyon 1971.
173. MOJON M. :
Sérodiagnostic des affections à *Pneumocystis carinii* : premiers résultats.
D.E.R. B.H. de parasitologie Lyon 1976.
174. MOJON M. :
Infections à *Pneumocystis carinii*.
Arch. Fr. Pédiatrie 1985; 42 : 929-38.
175. MOJON M. :
Lavage bronchoalvéolaire et *Pneumocystis carinii*.
Rev. Fr. Lab. 1986; 145 : 59-62.
176. MONK J.P., BENFIELD P. :
Inhaled pentamidine. An overview of its pharmacological properties and a review of its therapeutic use in *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Drugs 1991; 39 : 741-56.
177. MONTGOMERY B.A., LUCE J.M., TURNER J. et al. :
Aerosolized pentamidine as sole therapy for *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS.
Lancet 1987; ii : 480-2.
178. MURRAY J.F., FELTON C.P., GARAY S. et al. :
Pulmonary complications of the Acquired Immunodeficiency Syndrome. Report of a national heart, lung and blood institute workshop.
N. Engl. J. Med. 1984; 310 : 1682-8.
179. MURRAY J.F., MILLS J. :
Pulmonary infectious complications of HIV infection.
Am. Rev. Respir. Dis. 1990; 141 : 1582-98.

180. MUSTO L. :
Ten minutes silver stain for *Pneumocystis carinii* and fungi in tissue sections.
Arch. Pathol. Lab. Med. 1982; 106 : 292-4.
181. NG V.L., VIRANI N.A., CHAISSON R.E. et al. :
Rapid detection of *Pneumocystis carinii* using a direct fluorescent monoclonal antibody stain.
J. Clin. Microbiol. 1990; 28 : 2228-33.
182. NIELSEN P.B., GOYOT P., MOJON M. :
Le diagnostic microscopique de *Pneumocystis carinii*.
Bull. Soc. Franç. Parasitol. 1984; 2 : 139-42.
183. NORMAN L. and KAGAN I.G. :
Some observations on the serology of *Pneumocystis carinii* infections in the United States.
Infect. Immun. 1973; 8 : 317-21.
184. NORTHFELT D.W. :
Extrapulmonary pneumocystosis in patients taking aerosolized pentamidine.
Lancet 1989; i : 1454.
185. O'BRIEN R.F., QUINN J.L., MIYAHARA B.T., LEPOFF R.B., COHN D.L. :
Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia by induced sputum in a city with moderate incidence of AIDS.
Chest 1989; 95 : 136-8.
186. O'BRIEN R.F. :
In search of shortcuts : definitive and indirect tests in the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS.
Am. Rev. Respir. Dis. 1989; 139 : 1324-27.
187. O'DOHERTY M.J., THOMAS S.H., PAGE C.J., BRADBEER C., NUNAN T.O., BATEMAN N.T. :
Does inhalation of pentamidine in the supine position increase deposition in the upper part of the lung?
Chest 1990; 97 : 1343-8.
188. ORHOLM M., NIELSEN T.L., NIELSEN J.O., LUNDGREN J.D. :
CD4 lymphocyte counts and serum p24 antigen of no diagnosis value in monitoring HIV infected patients with pulmonary symptoms.
AIDS 1990; 4 : 163-6.

189. PEAN Y., BIENTZ M., ROCHEMAURE J. :
Infections à *Pneumocystis carinii*.
Encycl. Méd. Chir. (Paris), Maladies Infectieuses, 8100 A10, 3-1980.
190. PEDERSEN U., HANSEN I.M. and BÖTTZAUW J. :
The diagnostic role of fiberoptic bronchoscopy in AIDS patients with
suspected *Pneumocystis carinii* pneumonia :
Arch. Otorhinolaryngol. 1989; 246 : 362-4.
191. PEGLOW S.L., SMULIAN A.G., LINKE M.J., POGUE C.L., NURRE
S., CRISLER J., PHAIR J., GOLD J.M., AMSTRONG D. and WALZER
P.D. :
Serologic responses to *Pneumocystis carinii* antigens in health and
disease.
J. Infect. Dis. 1990; 161 : 296-306.
192. PESANTI E.L., Mac CARRON B.A. :
Rapid separation of *Pneumocystis carinii* from lung lavage fluids.
J. Clin. Microbiol. 1988; 26 : 1598-9.
193. PESANTI E.L., BARTLETT M.S., SMITH J.W. :
Lack of detectable activity of ornithine decarboxylase in *Pneumocystis
carinii*.
J. Infect. Dis. 1988; 158 : 1137-8.
194. PETERS S.G., PRAKASH U.B. :
Pneumocystis carinii pneumonia. Review of 53 cases.
Am. J. Med. 1987; 82 : 73-8.
195. PHILIPS N.A., LEE C.A., ELFORD J., JANOSSY J., TIMMS A.,
BOFILL M., KERNOFF P.B. :
Serial CD4 lymphocyte counts and development of AIDS.
Lancet 1991; 337 : 389-92.
196. PIERONE G., TURETT G., MASCI J.R., NICHOLAS P. :
Inhaled pentamidine in *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Lancet 1989; ii : 559.
197. PIFER L.L., HUGHES W.T., MURPHY M.J. :
Propagation of *Pneumocystis carinii* in vitro.
Pediatr. Resp. 1977; 11 : 305-11.
198. PIFER L.L., HUGHES W.T., STAGNO S., WOODS D. :
Pneumocystis carinii infection : evidence for high prevalence in normal
and immunosuppressed children.
Pediatrics 1978; 61 : 35-41.

199. PIFER L.L., NIELL H.B., MORRISON B.J., COUNCE J.D., FREEMAN J.M., WOODS D., NEELY C.L. :
Pneumocystis carinii antigenemia in adults with malignancy, infection or pulmonary disease.
J. Clin. Microbiol. 1984; 20 : 887-90.
200. PIFER L.L., WOODS D.R., EDWARDS C.C. et al. :
Pneumocystis carinii serologic study in pediatric Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Am. J. Dis. Child. 1988; 142 : 36-9.
201. PIFER L.L., WOLF B.L., WEEMS J.J., WOODS D., EDWARDS C.C., JOYNER R.E. :
Pneumocystis carinii antigenemia in Acquired Immunodeficiency Syndrome.
J. Clin. Microbiol. 1988; 26 : 1357-61.
202. PIFER L.L. :
Dynamics of *Pneumocystis carinii* specific immune complexes in AIDS patients with *Pneumocystis carinii* pneumonia.
J. Protozool. 1989; 36 : 44S-46S.
203. PILON V.A. :
Dissemination of *Pneumocystis*.
N. Y. State J. Med. 1990; 90 : 121-2.
204. PITCHENIK A.E., GANJEI P., TORRES A., EVANS D.A., RUBIN E., BAIER H. :
Sputum examination for the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in the Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Am. Rev. Respir. Dis. 1986; 133 : 226-9.
205. QUEENER S.F., BARTLETT M.S., RICHARDSON J.D., DURKIN M.M., JAY M.A., SMITH J.W. :
Activity of clindamycin with primaquine against *Pneumocystis carinii* in vitro and in vivo.
Antimicrob. Agents Chemother. 1988; 32 : 807-13.
206. RADIN D.R., BAKER E.L., KLATT E.C. et al. :
Visceral and nodal calcification in patients with AIDS-related *Pneumocystis carinii* infection.
Am. J. Roent. 1990; 154 : 27-31.
207. RAO C.P., GELFAND E.W. :
Pneumocystis carinii pneumonitis in patients with hypogammaglobulinemia and intact T cell immunity.
J. Pediatr. 1983; 103 : 410-2.

208. RAVIGLIONE M.C., GARNER G.R., MULLEN M.P. :
Pneumocystis carinii in bone marrow.
Ann. Intern. Med. 1988; 109 : 253.
209. REISS T.F., GOLDEN J.A. :
Abnormal lung Gallium 67 uptake preceding pulmonary physiologic impairment in an asymptomatic patient with *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Chest 1990; 97 : 1261-3.
210. ROLSTON K.V.I., RODRIGUEZ S., Mac RORY L., BOTERO G.U., MORICE R., MANSELL P.W.A. :
Diagnostic value of induced sputum in patients with AIDS.
Am. J. Med. 1988; 85 : 269.
211. RORAT E., GARCIA R.L., SKOLOM J. :
Diagnostic de la pneumonie à *Pneumocystis carinii* par examen cytologique du liquide de lavages bronchiques.
Jama 1985; 10 : 1414-8.
212. ROSEN P., AMSTRONG D., RAMOS C. :
Pneumocystis carinii pneumonia.
Am. J. Med. 1972; 52 : 428-36.
213. ROTHS J.B., MARSHALL J.D., ALLEN R.D., CARLSON J.A., SIDMAN C.L. :
Spontaneous *Pneumocystis carinii* pneumonia in immunodeficient mutant scid mice. Natural history and pathobiology.
Am. J. Pathol. 1990; 136 : 1173-86.
214. RUSKIN J., LARIVIERE M. :
Low-dose co-trimoxazole for prevention of *Pneumocystis carinii* pneumonia in Human Immunodeficiency Virus disease.
Lancet 1989; 337 : 468-71.
215. SANDHU J.S., GOODMAN P.C. :
Pulmonary cysts associated with *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS.
Radiology 1989; 173 : 33-5.
216. SANDS M., KRON M.A., BROWN R.B. :
Pentamidine : a review.
Rev. Infect. Dis. 1985; 7 : 625-34.

217. SATTLER F.R., COWAN R., NIELSEN D.M., RUSKIN J. :
Trimethoprim-sulfamethoxazole compared with pentamidine for
treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia in the AIDS.
Ann. Intern. Med. 1988; 30 : 280-7.
218. SATTLER F.R., ALLEGRA C.J., VERDEGEM T.D. et al. :
Trimetrexate-leucovorin dosage evaluation study for treatment of
Pneumocystis carinii pneumonia.
J. Infect. Dis. 1990; 161 : 91-6.
219. SCHELHAMER J.H., OGNIEBENE F.P., MACHER A.M. :
Persistence of *Pneumocystis carinii* in lung tissues of AIDS patients
treated for *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Am. Rev. Respir. Dis. 1984; 130 : 1161-5.
220. SCHMIT J.L., MARCHOU B. :
Conférence internationale sur l'iséthionate de pentamidine en aérosol.
La Lettre de l'Infectiologie 1990; 13 :475-7.
221. SHAFER R.W., SEITZMAN P.A., TAPPER M.L. :
Successful prophylaxis of *Pneumocystis carinii* pneumonia with
trimethoprim-sulfamethoxazole in AIDS patients with previous allergic
reactions.
J. Acquir. Immune Defic. Syndr. 1989; 2 : 389-93.
222. SHIN M.S., LIENDO C., HO K.J. :
Pneumocystis carinii pneumonia in an AIDS patient.
Clinical Imaging 1989; 13 : 225-7.
223. SINGER F., TALAVERA W., ZUMOFF B. :
Elevated levels of Angiotensin-converting enzyme in *Pneumocystis*
carinii pneumonia.
Chest 1989; 95 : 803-6.
224. SMITH D.E., WYATT J., Mac LUCKIE A., GAZZARD B. :
Severe exercise hypoxemia with normal or near normal X-rays : a
feature of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Lancet 1988; ii : 1049-51.
225. SMITH R.L., EL SADR W.M., LEWIS M.L. :
Correlation of bronchoalveolar lavage cell populations with clinical
severity of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Chest 1988; 93 : 60-4.

226. SMITH R.L., BERKOWITZ K.A. :
Eosinophilic alveolitis.
Chest 1989; 96 : 445.
227. SOLBERG C.O., MEUWISSEN H.J., NEEDHAM R.N. et al. :
Infectious complications in bone marrow transplant patients.
Br. Med. J. 1971; 1 : 18-23.
228. SOO HOO G.W., MOHSENFAR Z., MEYER R.D. :
Inhaled or intravenous pentamidine therapy for *Pneumocystis carinii*
pneumonia in AIDS. A randomized trial.
Ann. Intern. Med. 1990; 113 : 195-202.
229. SOULEZ B., DEI CAS E., CAMUS D. :
Le lapin, hôte expérimental de *Pneumocystis carinii*.
Annales de parasitologie humaine et comparée 1988; 63 : 5-15.
230. STOVER D.E., ZAMAN M.B., MAJDU S.I., LANGE M., GOLD J.,
AMSTRONG D. :
Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of diffuse pulmonary infiltrates
in the immunosuppressed host.
Ann. Intern. Med. 1984; 101 : 1-7.
231. STOVER D.E., GREENO R.A., GAGLIARDI A.J. :
The use of a simple test for the diagnosis of *Pneumocystis carinii*
pneumonia in patients with AIDS.
Am. Rev. Respir. Dis. 1989; 139 : 1343-6.
232. STRATTON N., HRYNIEWICKI J., AARNAES S.L., TAN G., De la
MAZA L.M., PETERSON E. :
Comparison of monoclonal antibody and calcofluor white stains for the
detection of *Pneumocystis carinii* from respiratory specimens.
J. Clin. Microbiol. 1991; 29 : 645-7.
233. STRINGER S.L., CUSHION M., BLASE M., WALZER P.D.,
STRONGER J.R. :
Partial sequence of 18S ribosomal RNA from *Pneumocystis carinii*.
Proceedings 41 st Annual Meeting Society of Protozoologists, Bristol,
England 1988; July : 18-22.
234. TANABE K., FURUTA T., VEDA K., TANAKA H., SHIMADA K. :
Serological observations of *Pneumocystis carinii* infection in humans.
J. Clin. Microbiol. 1985; 22 : 1058-60.

235. TANABE K., FUCHIMOTO M., NAKAMURA Y. :
Use of *Pneumocystis carinii* genomic DNA clones for DNA hybridation analysis on infected human lungs.
J. Infect. Dis. 1988; 157 : 593-6.
236. The National Institutes of Health. University of California.
Consensus treatment on the use of corticosteroids as adjunctive therapy for *Pneumocystis carinii* pneumonia in the AIDS.
N. Engl. J. Med. 1990; 323 : 1500-4.
237. THOMAS S.H., O'DOHERTY M.J., BATEMAN M.T. :
Early diagnosis of *Pneumocystis carinii* infection.
Lancet 1989; january 7 : 43.
238. TOLLERUD D.J., WESSELER T.A., KIM C.K., BAUGHMAN R.P. :
Use of a rapid differential stain for identifying *Pneumocystis carinii* in BAL fluid. Diagnostic efficacy in patients with AIDS.
Chest 1989; 95 : 494-7.
239. TRULL A.K., WARREN R.E., THIRU S. :
Novel immunofluorescence test for *Pneumocystis carinii*.
Lancet 1986; i : 271.
240. VAN der MEER G., BRUG L.S. :
Infections à *Pneumocystis carinii* chez l'homme et chez les animaux.
Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 1942; 22 : 301-7.
241. VANEK K., JIROVEC O., LUKES J. :
Interstitial plasma cell pneumonia in infants.
Ann. Pediatr. 1953; 180 : 1-21.
242. VOSSSEN M.E., BECKERS P.J., MEUWISSEN J.H., STADHOUDERS A.M. :
Microtubules in *Pneumocystis carinii*.
Z. Parasitol. 1976; 49 : 291-2.
243. WACHTER R.M., LUCE J.M. :
Intensive care for patients with *Pneumocystis carinii* and respiratory failure.
Chest 1989; 96 : 714-5.
244. WAKEFIELD A.E., PIXLEY F.J., BARNERJI S. et al. :
Amplification of mitochondrial ribosomal RNA sequences from *Pneumocystis carinii* DNA of rat and human origin.
Molec. Biochem. Parasitol. 1990 (in press).

245. WAKEFIELD A.E., PIXLEY F.J., BANERJI S., SINCLAIR K., MILLER R.F., MOXON E.R., HOPKIN J.M. :
Detection of *Pneumocystis carinii* pneumonia with DNA amplification.
Lancet 1990; 336 : 451-3.
246. WALDMAN R.H., PEARACE D.E., MARTIN R.A. :
Pentamidine isethionate levels in lungs, liver and kidneys of rats after aerosol or intramuscular administration.
Am. Rev. Respir. Dis. 1973; 108 : 1004-9.
247. WALKER A.N., GARNER R.E., HORST M.N. :
Immunocytochemical detection of chitin in *Pneumocystis carinii*.
Infect. Immun. 1990; 58 : 412-5.
248. WALZER P.D., SCHULTZ M.G., WESTERN K.A. et al. :
Pneumocystis carinii pneumonia and primary immune deficiency diseases of infancy and childhood.
J. Pediatr. 1973; 42 : 416-22.
249. WALZER P.D., PERL D.P., KROGSTAD D.J., RAWSON P.G., SCHULTZ M.G. :
Pneumocystis carinii pneumonia in the United States. Epidemiologic, diagnostic and clinical features.
Ann. Intern. Med. 1974; 80 : 83-93.
250. WALZER P.D. :
Attachment of microorganisms to host cells : relevance of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Lab. Invest. 1986; 54 : 589-92.
251. WALZER P.D., LINKE M.J. :
A comparison of the antigenic characteristics of rat and human *Pneumocystis carinii* by immunoblotting.
J. Immun. 1987; 138 : 2257-65.
252. WALZER P.D. :
Pneumocystis carinii pneumonia.
In "Principles and practice of infectious diseases".
Edited by MANDELL/DOUGLAS/BENNET 1990 : 2103-10.
253. WARD H.D., ALROY J., LEV B.I., KEUSCH C.T., PEREIRA M.E.A.
Identification of chitin as a structural component of *Giardia* cysts.
Infect. Immun. 1985; 49 : 629-34.

254. WARREN JB., SHAW R.J., WEBER J.N., HOLT D.A., KEAL E.E., PINCHING A.J. :
Role of fiberoptic bronchoscopy in management of pneumonia in Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Br. Med. J. 1985; 291 : 1012-3.
255. WHARTON J.M., COLEMAN D.L., WOFSEY C.B. et al. :
Trimethoprim-sulfamethoxazole or pentamidine for *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS. A prospective randomized trial.
Ann. Intern. Med. 1986; 195 : 37-44.
256. WINSTON D.J., LAU W.K., GALE R.P., YOUNG L.S. :
Trimethoprim-sulfamethoxazole for the treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Ann. Intern. Med. 1980; 92 : 462-9.
257. WINSTON D.J., HO W.G., GALE R.P., CHAMPLIN R.E. :
Prophylaxis of infection in bone marrow transplants.
Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 1988; 24 : S15-S23.
258. WITBESKY F.G., ANDREWS J.W., GILL V.J., Mac LOWRY J. :
Modified toluidine blue O stain for *Pneumocystis carinii* : further evaluation of some technical factors.
J. Clin. Microbiol. 1988; 26 : 774-5.
259. WOLFSON J.S., WALDRON M.A., SIERRA L.S. :
Blinded comparison of a direct immunofluorescent monoclonal antibody staining method and a Giemsa staining method for identification of *Pneumocystis carinii* in induced sputum and bronchoalveolar lavage specimens of patients infected with HIV.
J. Clin. Microbiol. 1990; 28 : 2136-8.
260. WORLEY M.A., IVEY M.H., GRAVES D.C.
Establishment of a genomic library for *Pneumocystis carinii*.
Proceedings 41st Annual Meeting Society of Protozoologists, Bristol, England 1988; July : 18-22.
261. YONEDA K., WALZER P.D. :
Experimental *Pneumocystis carinii* pneumonia in the rat : mechanisms of alveolar injury.
Br. J. Exp. Pathol. 1981; 62 : 339-46.
262. YONEDA K., WALZER P.D. :
Attachment of *Pneumocystis carinii* to type I alveolar cells : study by freeze-fracture electron microscopy.
Infect. Immun. 1983; 40 : 812-5.

263. YOO O.H., CHOI H.O., CUCCO R.A., DESMOND E., LESSER M. :
Pneumocystis carinii pneumonia in the Acquired Immunodeficiency Syndrome : diagnosis using minilavage samples.
South. Med. J. 1989; 82 : 829-32.
264. YOUNG F.E., NIGHTINGALE S.L., COOPER E.C., TRAPNELL C.B.
Aerosolized pentamidine.
Arch. Intern. Med. 1989; 149 : 2412-3.
265. YOUNG K.L., RANKIN J.A., NAEGEL G.P., PAUL E.S.,
REYNOLDS H.Y. :
Bronchoalveolar lavage cells and proteins in patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome.
Ann. Intern. Med. 1985; 103 : 522-33.
266. YOUNG L.S. :
Trimethoprim-sulfamethoxazole in the treatment of adults with pneumonia due to *Pneumocystis carinii*.
Rev. Infect. Dis. 1982; 4 : 608-13.
267. YOUNG L.S. :
Antigen detection in *Pneumocystis carinii* pneumonia.
Serodiagnosis and Immunotherapy 1987; 1 : 163-5.
268. ZAMAN M.K., WOOTEN D.J., SUPRAHMANYA B., AKOBIAN W.,
FINCH P.J., KAMHOLZ S.L. :
Rapid non invasive diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia from induced liquefied sputum.
Ann. Intern. Med. 1988; 109 : 7-10.
269. ZIEFER A.M. and ABRAMOWITZ J.A. :
Pneumocystis carinii pneumonia in HIV positive and HIV negative patients. An epidemiological, clinical and histopathological study of 18 patients.
S. Afr. Med. J. 1989; 76 : 308-13.





Qui diis memorem laudes, repetimque fideles
 Ingenij doctas, Hippocratisque deos.
 Democriti auditor Phœbea, ô, Coe propago,
 Certius an quis te tradidit artis opes!

SERMENT

D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples,
 devant l'effigie d'HIPPOCRATE.

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité
 dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-
 dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin
 d'honoraires.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y
 passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne
 servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race,
 de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon
 patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes
 connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs
 enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

