



La pneumocystose granulomateuse : revue de la littérature, à propos de deux cas Montpelliérains, intérêt de la PCR sur tissu pulmonaire

Antoine Pagazani

► To cite this version:

Antoine Pagazani. La pneumocystose granulomateuse : revue de la littérature, à propos de deux cas Montpelliérains, intérêt de la PCR sur tissu pulmonaire. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02311553

HAL Id: dumas-02311553

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02311553>

Submitted on 11 Oct 2019

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.

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Soutenu le 04/10/2019

Par Mr PAGAZANI Antoine
Né(e) le 30/09/1989

Conformément aux dispositions du décret n°2003-76
du 23 janvier 2003, tenant lieu de

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

----oOo----

TITRE :
**La pneumocystose granulomateuse : revue de la littérature, à propos de deux cas
Montpelliérains, intérêt de la PCR sur tissu pulmonaire**

----oOo----

JURY :

Président : Mme le Professeur AZAS Nadine

Membres : Mme le Professeur LACHAUD Laurence (Directeur)

Mme le Docteur BOURGEOIS Nathalie (co-Directeur)

Mr le Docteur BOURICHE Lakhdar

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Jean-Pierre REYNIER, M. Henri PORTUGAL
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE	M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI
Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
M. François DEVRED
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

A.H.U.

THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

PROFESSEURS

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI
M. Thierry AUGIER
M. Edouard LAMY
Mme Alexandrine BERTAUD
Mme Claire CERINI
Mme Edwige TELLIER
M. Stéphane POITEVIN

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Aurélie LEROYER
M. Romaric LACROIX
Mme Sylvie COINTE

MICROBIOLOGIE

Mme Michèle LAGET
M. Michel DE MEO
Mme Anne DAVIN-REGLI
Mme Véronique ROUX
M. Fadi BITTAR
Mme Isabelle PAGNIER
Mme Sophie EDOUARD
M. Seydina Mouhamadou DIENE

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO
M. Aurélien DUMETRE
Mme Magali CASANOVA
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

M. Maxime LOYENS

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Philippe GALLICE

CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE –
CHIMIE THERAPEUTIQUE

M. Pascal RATHELOT
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE
M. Thierry TERME

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

Mme Evelyne OLLIVIER

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDER Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

A.H.U.

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

ATER

CHIMIE ANALYTIQUE	M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Fanny MATHIAS

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	Mme Diane BRAGUER M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Bruno LACARELLE
TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT	Mme Frédérique GRIMALDI

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Joseph CICCOLINI Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD
PHARMACOCINETIQUE	Mme Nadège NEANT

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE
--

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier
M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire
Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire
M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie
Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché
Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier
M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 22 février 2018

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Nadine AZAS,

Vous me faites l'honneur de présider cette thèse, veuillez accepter mes sincères remerciements.
Soyez assurée de mon plus grand respect et de ma gratitude.

A Madame le Professeur Laurence LACHAUD,

Merci de m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse.
J'ai beaucoup apprécié travailler à tes côtés et je te remercie pour ta gentillesse, ta disponibilité, ta compétence et tes idées dont j'ai pu bénéficier tout au long de la rédaction.
Soit assurée de mon profond respect et de toute ma gratitude.

A Madame le Docteur Nathalie BOURGEOIS,

Je tiens à te remercier pour m'avoir confié ce sujet de thèse très enrichissant et m'avoir fait l'honneur de la co-diriger.
Merci de m'avoir guidée avec ta délicatesse et ta rigueur tout au long de la rédaction.
Que l'aboutissement de ce travail témoigne de toute ma reconnaissance et de mon plus grand respect.

A Monsieur le Docteur Lakhdar BOURICHE,

Je tiens à te remercier d'avoir accepté aussi spontanément de faire partie de mon jury de thèse et de juger ainsi mon travail.
Merci d'avoir fait en sorte que ce dernier stage en tant qu'interne chez Synlab soit agréable et le plus enrichissant possible.
Et enfin, merci de m'avoir fréquemment laisser gagner sur les cours afin de me redonner le sourire durant cette intense période de travail. Malheureusement pour toi, cela risque de continuer...

A Monsieur le Docteur Philippe RISPAIL,

Vous m'avez fait l'honneur de participer à ce travail en y apportant vos lumières d'Anatomopathologiste.
Soyez assurée de ma reconnaissance pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail.

A Monsieur le Docteur Christophe RAVEL,

Merci de m'avoir laisser fouiller dans vos frigos de biologie moléculaire.
Que l'aboutissement de ce travail témoigne de toute ma reconnaissance.

A tous mes amis, de Romans jusqu'à Marseille en passant par Lyon et Paris, pharmacien ou non, co interne ou pas, merci pour tous les bons moments passés et tous ceux à venir.

A ma bien aimée famille, merci de m'avoir permis d'en arriver là et de m'avoir soutenu tout au long de mes études. A jamais une entraide sans faille malgré les épreuves de la vie.

« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
I. Caractéristiques de la pneumocystose pulmonaire granulomateuse (PGP) en comparaison de la pneumocystose pulmonaire « classique » (PjP)	3
1. Physio-pathogénie et données histo-pathologiques	4
2. Atteintes cliniques	7
3. Diagnostic radiologique	8
4. Diagnostic biologique	10
4.1 Échantillons biologiques	10
4.2 L'examen direct microscopique après coloration ou en immunofluorescence	11
4.3 Les méthodes de biologie moléculaire	12
4.4 Le dosage du (1-3) - β -D-glucane sérique	13
4.5 Le diagnostic indirect	14
5. Traitement et prophylaxie	14
6. Bibliographie	15
II. Article soumis à <i>Clinical Microbiology and Infection</i>	22
"Granulomatous pulmonary pneumocystosis: review of 51 published and unpublished cases and retrospective PCR analysis of 42 lung biopsies"	
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	48

INTRODUCTION

La pneumocystose humaine est une mycose profonde due à un champignon à comportement opportuniste, *Pneumocystis jirovecii* (*Pj*), responsable de pneumopathie. Il s'agit d'un microorganisme unicellulaire eucaryote désormais classé, parmi les Ascomycètes (Roux *et al.*, 1999). L'espèce *Pj* est commensale de l'espèce humaine au niveau de l'arbre respiratoire, et la transmission interhumaine se fait très vraisemblablement par voie aérienne (Bartlett *et al.*, 1997). Le cycle de *Pj* n'est pas complètement élucidé mais l'agent infectieux forme des asques matures qui libèrent des formes trophiques. Ces formes trophiques possèdent un seul noyau et des filopodes permettant au champignon de s'arrimer aux cellules de l'épithélium des alvéoles pulmonaires. Au niveau de ces cellules, le champignon est en capacité de se développer rapidement et de se transformer en ascospores qui, après un court stade mononucléé, deviennent multinucléés se transformant en asques (« ANOFEL – Association française des enseignants de Parasitologie et Mycologie. »). L'expression pathologique de cette anthroponose est le signe d'une dégradation du système immunitaire de l'hôte. Ainsi, elle survient chez des patients immunodéprimés, en particulier ceux infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) avec un taux de CD₄ inférieur à 200/mm³. Au niveau alvéolaire, la diminution du nombre de lymphocytes et de l'activité de phagocytose des macrophages permettrait l'implantation du champignon (Damiani *et al.*, 2013).

Chez les patients VIH, la pneumocystose est l'infection opportuniste la plus fréquente mais son incidence a fortement décru depuis les années 1990 avec l'introduction des traitements antirétroviraux et l'instauration d'un traitement prophylactique. En revanche, la fréquence de la pneumocystose est croissante au cours d'autres déficits immunitaires et de nouvelles populations de patients à risque sont apparues : patients transplantés ou greffés de cellules souches hématopoïétiques, souffrant de maladies inflammatoires ou auto-immunes, d'hémopathies malignes avec corticothérapie au long cours ou de cancers solides (Données du Centre National de Référence des Mycoses invasives et Antifongiques. Rapport annuel d'activité, 2014).

Classiquement, *Pj* est responsable de pneumopathies infiltrantes diffuses aiguës caractérisées par des opacités bilatérales en "verre dépoli". Le développement fongique a

lieu dans les espaces alvéolaires et entraîne une forte réaction inflammatoire responsable des lésions de l'épithélium alvéolaire dont les cloisons s'épaississent, conduisant à l'hypoxémie, l'insuffisance respiratoire, voire un syndrome de détresse respiratoire aigüe pouvant être fatal. Cependant, les infections à *Pj* peuvent se manifester par différentes formes atypiques, aussi bien d'un point de vue radiologique qu'histologique. La Pneumocystose granulomateuse (PGP), caractérisée par la présence au sein du tissu pulmonaire de granulomes contenant le micro-organisme, se produit dans approximativement 5% des cas de pneumocystose chez les patients VIH. Des opacités de type nodulaire sont le plus souvent retrouvées à l'imagerie (Travis *et al.*, 1990).

Considéré comme un examen hautement sensible dans le diagnostic de pneumonie à *Pj* (PjP) (Gilroy *et al.*, 2011), l'examen du liquide bronchiolo-alvéolaire (LBA), est connu pour avoir une faible efficacité dans les cas de PGP. Son diagnostic nécessite le plus souvent une biopsie pulmonaire guidée par vidéoscopie au sein du nodule (Hartel *et al.*, 2010) (Travis *et al.*, 1990). La PCR *Pj* présente une grande sensibilité et un intérêt diagnostique (Kaouech *et al.*, 2009). Elle est à présent utilisée en routine à partir de LBA. Son utilisation sur des fragments de tissu pulmonaire n'est que très rarement rapportée.

La première partie de ce travail met en parallèle les données physiopathogéniques et histopathologiques, cliniques et radiologiques, biologiques et thérapeutiques, des deux formes cliniques : pneumonie à *Pj* et pneumocystose granulomateuse. La deuxième partie présentée sous forme d'article (soumis à *Clinical Microbiology and Infection*) correspond au travail personnel. L'objectif était de mieux appréhender les particularités de la PGP, notamment les facteurs de risque, les caractéristiques cliniques, radiologiques, histologiques, ainsi que les procédures du diagnostic. Ainsi, une revue exhaustive de la littérature des différents cas décrits depuis 2000 est présentée, à laquelle s'ajoutent deux cas diagnostiqués au CHU de Montpellier en 2018. Est également évalué l'intérêt d'utiliser une PCR spécifique de *Pj* sur des fragments biopsiques de tissu pulmonaire. Pour cela, nous avons testé rétrospectivement cette PCR sur des échantillons issus d'une cohorte de patients dont l'étiologie des nodules pulmonaires restait inconnue.

PREMIERE PARTIE :

**Caractéristiques de la pneumocystose pulmonaire
granulomateuse (PGP) en comparaison de la
pneumocystose pulmonaire « classique » (PjP)**

1. Physio-pathogénie et données histo-pathologiques

1.1-De la PjP

Un dépistage des anticorps sériques spécifiques dans la population générale a permis de situer à un âge moyen de quatre ans les premiers contacts avec *Pj* et d'évoquer une répétition très fréquente de ces rencontres au cours de la vie d'un individu donné (Damiani *et al.*, 2013). Alors que chez le patient immunocompétent, les colonisations transitoires sont asymptomatiques avec l'élimination du microorganisme par le système immunitaire en quelques semaines, la pneumocystose-maladie touche quasi-exclusivement les patients particulièrement immuno-permissifs. Il est ainsi désormais établi que la pneumocystose ne survient chez les porteurs du VIH que lorsque les défenses immunitaires sont fortement altérées, se traduisant par un taux de lymphocytes T CD4+ inférieur à 200/mm³ (Damiani *et al.*, 2013). En effet, les lymphocytes T CD4+ jouent le rôle de cellules régulatrices. Ces dernières initieraient la réponse immune spécifique par le recrutement de lymphocytes T CD8+ et stimuleraient l'action des macrophages par l'intermédiaire de médiateurs solubles (IL-8 en particulier). Les macrophages alvéolaires assurent la plus grande partie de la clairance de l'agent infectieux en le phagocytant et le détruisant. Les lymphocytes B et l'immunité à médiation humorale interviennent également dans la défense de l'organisme vis-à-vis du champignon par l'intermédiaire d'anticorps spécifiques dirigés contre une glycoprotéine majeure de surface (MSG) (Vedy *et al.*, 2009)(Lund *et al.*, 2006) . L'immunodéficience est donc probablement le principal facteur déclenchant, particulièrement lorsqu'elle concerne la population lymphocytaire T CD4+ (Vedy *et al.*, 2009) . Par ailleurs, lors de la survenue d'une pneumocystose, une contamination *de novo* serait plus probable qu'une réactivation de formes latentes. En effet, la diversité génotypique des souches retrouvées chez un même sujet au cours de différents épisodes est en faveur de cette hypothèse (Latouche *et al.*, 1997).

L'aspect histologique classique d'une pneumonie due à *Pj* est caractérisé par un prédominant exsudat éosinophilique spumeux intra-alvéolaire hébergeant de nombreux éléments fongiques, accompagné d'une inflammation chronique interstitielle et d'une prolifération de pneumocytes de type II (ou pneumocytes granuleux). Le processus pathologique débute par une lésion de l'épithélium alvéolaire et des membranes basales entraînant une exsudation de protéines plasmatiques dans les espaces alvéolaires.

L'activation des facteurs de coagulation produit une accumulation intra-alvéolaire de fibrine. Provenant de l'interstitium pulmonaire, des fibroblastes colonisent les amas de fibrine, prolifèrent, et produisent une matrice conjonctive lâche, riche en collagène III et en fibronectine. Devenant progressivement plus fibreux, ce tissu de granulation s'organise progressivement en fibrose interstitielle et intra-luminale. Il comble les espaces alvéolaires et épouse leurs contours, sans endommager l'architecture du parenchyme pulmonaire. Il en résulte un aspect de « bourgeons » conjonctifs endo-alvéolaires, lésion histologique élémentaire de la pneumopathie organisée ou BOOP (*Bronchiolitis Obliterans Organising Pneumonia*) (Walzer *et al.*, 1993) (Al-Ghanem *et al.* 2008)).

En pratique, l'examen histo-pathologique révèle donc une lumière alvéolaire rétrécie par l'épaississement des septa alvéolaires colonisés par des infiltrats denses faits de lymphocytes, d'histiocytes et de plasmocytes. L'accumulation des *Pj* dans le matériel intra-alvéolaire d'aspect granuleux et spumeux donne aux alvéoles un aspect « en nid d'abeilles ». Plusieurs variantes de cette réponse inflammatoire et fibro-proliférative non spécifique ont été décrites :

- l'absence de l'exsudat alvéolaire n'est pas exceptionnelle (20 à 30 % des cas). Le diagnostic est alors évoqué sur la présence de *Pj* le long des cloisons alvéolaires. Cette absence d'exsudat peut toutefois être masquée par une atélectasie, la présence d'hématies (hémorragie induite par la biopsie) ou encore par des lésions diffuses très importantes. Occasionnellement (4% des pneumocystoses chez les patients porteurs du VIH), l'apparition de membranes hyalines peut aussi occulter cet exsudat (Walzer *et al.*, 1993)(Travis *et al.*, 1990).

- la destruction kystique (10-34% des PjP) ou cavitaire du parenchyme pulmonaire se traduit par des espaces vides ou nécrosants délimités par une paroi fine et régulière, entourés d'un exsudat ou de fines couches de tissu fibreux et de cellules inflammatoires, parfois associés à des formations granulomateuses. La plupart de ces lésions sont multiples, bilatérales et situées dans le parenchyme sub-pleural, potentiellement à l'origine de pneumothorax spontané, ou plus profondément dans le poumon (Travis *et al.*, 1990).

- la présence de microcalcifications, contenant le champignon, peut être le seul argument histo-pathologique fiable en faveur du diagnostic en l'absence d'exsudat alvéolaire. Ces micro-calcifications peuvent subsister après traitement et disparition du *Pj*.

- l'accumulation en très grand nombre de macrophages alvéolaires dans le tissu pulmonaire est parfois observée (Walzer *et al.*, 1993).

1.2-De la PGP

A ce jour, les mécanismes responsables du développement d'une pneumocystose à forme granulomateuse ne sont pas clairement établis. Après implantation du *Pj* et une phase de réponse inflammatoire aiguë n'aboutissant pas à son élimination et sa dégradation complètes, s'instaure une phase de réponse inflammatoire chronique, basée essentiellement sur le système des phagocytes mononucléés, aboutissant à la formation de granulomes dits « à corps étranger », centrés sur le champignon persistant. A l'instar de tous les « granulomes à corps étranger » non infectieux et infectieux (Cryptocoque, Histoplasme, Mycobactéries, ... hormis le granulome tuberculeux centré par la nécrose caséuse), le granulome de la pneumocystose granulomateuse traduit une réaction inflammatoire cellulaire chronique de type « hypersensibilité retardée » : les lymphocytes CD4+ sont activés par le contact avec l'antigène et par l'interleukine IL12 qui induit un profil de réponse cytokinique de type Th1. Le lymphocyte sécrète l'IL2 (sécrétion autocrine) qui recrute d'autres lymphocytes CD4+. La sécrétion de TNF provoque la diapédèse des monocytes qui gagnent le lieu de l'agression et la sécrétion d'interféron gamma entraîne la multiplication des macrophages, et leur transformation en cellules épithélioïdes et en cellules géantes (Abadjian *et al.*, 2010).

Le granulome épithélioïde est spatialement limité, « folliculaire », centré sur le *Pj*, constitué d'une prédominance de cellules mononucléées. Une couronne d'histiocytes (phagocytes ou macrophages, grandes cellules aplaties dites épithélioïdes, cellules géantes multinucléées) isole le champignon. En périphérie de ce granulome s'agrègent des lymphocytes, plus rarement d'autres éléments cellulaires (polynucléaires neutrophiles, polynucléaires éosinophiles, plasmocytes). Le granulome est fréquemment nécrosant au centre (80%) et l'exsudat éosinophilique, retrouvé classiquement au cours de la pneumocystose, peut également être associé (Hartel *et al.*, 2010). Des granulomes cavitaires ou présentant une calcification centrale ont également été décrits (Walzer *et al.*, 1993). La calcification se produit uniquement en cas de réponse granulomateuse prolongée (McGuinness *et al.*, 1997). L'hypothèse selon laquelle la survenue de cette présentation atypique serait liée à des caractéristiques phénotypiques du champignon a été avancée. Mais des approches par

génotypage ont montré que des *Pj* identiques peuvent être impliqués dans les deux formes histo-pathologiques et suggèrent que l'étiologie de la réaction granulomateuse se rapporterait plutôt à des facteurs liés aux patients et à une réponse inhabituelle de la défense immunitaire (Totet *et al.*, 2006).

Paradoxalement, la formation de granulomes semblerait être caractéristique d'une activation des lymphocytes T : syndrome de reconstitution immune (SRI) à l'instauration de la trithérapie chez les patients porteurs du VIH en cours de restauration d'un statut immunitaire, arrêt des stéroïdes au long cours (Chen *et al.*, 2004)(DeSimone *et al.*, 2000)(Tornatore *et al.*, 1998). De plus, l'apparition de cette forme atypique chez les patients VIH se rencontre relativement tôt au cours de l'infection, quand les patients ont encore un taux de lymphocytes T leur permettant de développer une réponse granulomateuse (Travis *et al.*, 1990). Un autre facteur de risque cité dans la littérature est l'utilisation d'aérosols de pentamidine utilisés en prophylaxie. Cependant, il a été montré par la suite que, parmi les patients atteints de pneumocystose présentant des consolidations/opacités lobaires, seulement une minorité recevait ce type de prophylaxie (Amin *et al.*, 1997).

2. Atteintes cliniques

2.1-De la PjP

La forme classique de la pneumocystose associe généralement une toux sèche accompagnée de dyspnée, de la fièvre et une altération de l'état général. L'auscultation pulmonaire peut être normale, mais des sibilants, de crépitants ou encore des ronchi, le plus souvent bilatéraux peuvent être présents (Catherinot *et al.*, 2010). Lorsque le diagnostic est tardif, les patients se présentent dans un tableau d'insuffisance respiratoire aigüe.

Les signes cliniques sont donc peu spécifiques et ils se développent chez les patients VIH sous une forme subaigüe, parfois sur plusieurs semaines. Chez les patients immunodéprimés non-VIH le début de l'infection est plus brutal et l'évolution vers l'insuffisance respiratoire plus rapide (« ANOFEL – Association française des enseignants de Parasitologie et Mycologie. ») (Tasaka *et al.*, 2010).

2.2- De la PGP

Malgré des anomalies fonctionnelles pulmonaires, la présentation clinique de la pneumocystose granulomateuse est assez fruste, avec quelques symptômes à type principalement de toux, fièvre et dyspnée. Une hypoxémie est souvent associée (Bondoc *et al.*, 2002). L'intensité des symptômes de la forme granulomateuse se rapproche plus de celle de la pneumocystose des patients VIH, avec un tableau clinique plus fruste et un diagnostic plus tardif (Bondoc *et al.*, 2002)(Thomas *et al.*, 1998). Des cas de pneumocystose granulomateuse asymptomatique ont également été rapportés (Kumar *et al.*, 2011)(Kim *et al.*, 2015).

Le diagnostic de la pneumocystose repose à la fois sur les données cliniques, radiologiques et biologiques. L'apparition de signes pulmonaires évocateurs chez des patients immunodéprimés doit faire rechercher systématiquement cette pathologie.

3. Diagnostic radiologique

3.1-De la PjP

La radiographie ou la tomodensitométrie (TDM) thoracique, plus sensible pour la détection de la pneumocystose, peuvent présenter différents aspects ; le plus évocateur étant un infiltrat alvéolo-interstitiel diffus bilatéral, prenant une apparence finement granulaire, réticulaire, ou en "verre dépoli", souvent à prédominance péri-hilaire (Carmona *et al.*, 2011). En cas de diagnostic tardif, l'imagerie peut objectiver un poumon totalement blanc. L'imagerie s'avère normale notamment en début d'infection dans une proportion non négligeable de cas (8 à 39%) (Boiselle *et al.*, 1997)(Brauner *et al.*, 2014).

D'autres aspects plus inhabituels sont observés :

- La présence de kystes pulmonaires est retrouvée avec une prévalence évaluée entre 10% et 34%. L'aspect des kystes est variable (différences de structure, de taille, et d'épaisseur de paroi). Ils sont habituellement multiples et bilatéraux, et sont retrouvés plus ou moins profondément dans le parenchyme pulmonaire (Sandhu *et al.*, 1989)(Chow *et al.*, 1993)(Kuhlman *et al.*, 1990)(Boiselle *et al.*, 1997).

- Les consolidations lobaires sont plus communément associées aux pneumonies d'origine bactérienne mais elles ont été rapportées dans 11% des cas de pneumocystose (Boiselle *et al.*, 1999).
- Des anomalies des voies respiratoires comme la bronchiolite sont des manifestations inhabituelles qui sont rarement observées en cas de pneumocystose. L'image radiologique montre des petites opacités centro-lobulaires avec une configuration en Y ou en V. Des lésions endo-bronchiques ont également déjà été décrites (Boiselle *et al.*, 1999).

3.2-De la PGP

La formation histologique de granulomes se manifeste par des nodules pouvant se présenter sous une multitude de formes non-spécifiques de *Pj*, rendant le diagnostic volontiers plus difficile (Travis *et al.*, 1990). Macroscopiquement, les nodules pulmonaires peuvent varier en taille, allant du millimètre à plusieurs centimètres de diamètre (masses). Le plus souvent ils sont multiples, bilatéraux et distribués de manière aléatoire (Bondoc *et al.*, 2002)(Travis *et al.*, 1990) mais l'observation d'un nodule isolé ou d'une masse pulmonaire unique a plusieurs fois été rapportée (Lam *et al.*, 2014)(Hartel *et al.*, 2010). Le suivi des patients par tomodensitométrie montre que ces nodules ou masses gardent généralement une taille assez stable dans le temps bien qu'un élargissement rapide et important a été observé (Kumar *et al.*, 2011) (Kim *et al.*, 2018).

Il est peu fréquent que les nodules soient associés à la formation d'une cavité (Klein *et al.*, 1989) et ils se calcifient rarement. La calcification se produit uniquement en cas de réponse granulomateuse prolongée (McGuinness *et al.*, 1997). Les formations nodulaires peuvent être accompagnées d'un infiltrat diffus caractérisé par des opacités en verre dépoli retrouvée dans la forme classique de pneumocystose et/ou d'une fibrose du tissu interstitiel pulmonaire. Dans une faible proportion, les nodules sont absents ou moins bien délimités et seul l'infiltrat diffus ou réticulo-nodulaire est présent (31%) (Hartel *et al.*, 2010).

Chez le patient VIH, la présence de nodules pulmonaires est associée plus communément à d'autres pathologies telles que les infections par des mycobactéries, certaines infections fongiques (histoplasmoses et cryptococcose), et des atteintes néoplasiques (lymphome et sarcome de Kaposi) (Boiselle *et al.*, 1997). Chez le patient non-VIH, la sarcoïdose (affection

granulomateuse systémique) doit être suspectée. La présence d'une masse parenchymateuse unique et isolée rentre dans le cadre d'un diagnostic différentiel encore plus étendu nécessitant la recherche d'un carcinome primitif ou de métastases, d'infections (tuberculose, aspergillose, nocardiose, actinomycose...) ou encore d'atteinte inflammatoire ou vasculaire du tissu conjonctif (granulomatose avec polyangéite, nodule rhumatoïde, vascularite, malformation artério-veineuse...) (Leef *et al.*, 2002).

4. Diagnostic biologique

Chez les sujets immunodéprimés, une dyspnée ou une pneumopathie nécessite une rapide exploration à visée diagnostique. Étant donné le manque de spécificité du tableau clinico-radiologique des pneumocystoses, le diagnostic de certitude est mycologique, avec la mise en évidence de *Pj* dans les tissus ou les sécrétions pulmonaires. A l'heure actuelle, la culture de *Pj* est impossible *in vitro*, et le diagnostic biologique repose essentiellement sur des méthodes directes mettant en évidence la présence du champignon par un examen microscopique ou par PCR dans les échantillons respiratoires.

4.1 Échantillons biologiques

4.1.1-De la PjP

L'échantillon biologique de référence pour le diagnostic est le liquide de lavage bronchiolo-alvéolaire (LBA), en particulier chez les patients pour lesquels les charges attendues sont faibles, c'est à dire tous les patients non VIH. Un examen direct microscopique après colorations sera alors réalisé ainsi qu'une PCR en temps réel spécifique.

Dans certains cas, la réalisation d'un LBA n'est pas possible. Des prélèvements non invasifs sont alors réalisés, tels que des aspirations bronchiques, des expectorations induites par kinésithérapie, des expectorations classiques ou des aspirations naso-pharyngées. Seule la PCR sera alors réalisée, l'examen direct manquant de sensibilité sur ce type d'échantillons (Guigue *et al.*, 2015)(Aliano *et al.*, 2014).

4.1.2-De la PGP

Dans le cas des pneumocystoses granulomateuses à présentation nodulaire, l'examen du LBA a démontré une faible sensibilité (Foley *et al.*, 1993). En effet, *Pj* est principalement localisé dans les granulomes du tissu pulmonaire et est rarement libre dans les alvéoles. Il est donc absent du LBA ou récupéré en trop faible quantité. Pour cette raison, le diagnostic des PGP repose sur l'examen de biopsie pulmonaire (Foley *et al.*, 1993)(Travis *et al.* 1990). Dans la majorité des cas, les ponctions-biopsies transbronchiques ou chirurgicales (transthoraciques) guidée par vidéoscopie sont réalisées à visée diagnostique suite à la découverte d'une image pathologique ou suspecte à l'imagerie montrant un ou plusieurs nodules/masses et lorsque l'analyse du LBA revient négative. La pneumocystose est rarement suspectée en première intention et le plus souvent la découverte d'une PGP se fait de manière fortuite à la suite de ce prélèvement.

4.2 L'examen direct microscopique après coloration ou en immunofluorescence

Quel que soit l'échantillon biologique, plusieurs techniques sont réalisées en parallèle pour augmenter la sensibilité de l'examen. Si la microscopie est réalisée, une coloration pour visualiser les ascospores et une pour les asques est souhaitable (Aliano *et al.*, 2016).

Après cytocentrifugation du LBA, une coloration de May-Grünwald-Giemsa permet de visualiser toutes les formes du champignon. *Pj* apparaît au sein de grands amas spumeux. Les ascospores mesurent de 2 à 5 µm de diamètre. Ils possèdent une membrane fine, sont pléiomorphes avec souvent un noyau excentré. Les asques sont ovales et contiennent jusqu'à 8 noyaux. Leur paroi n'est pas colorée ici et elle apparaît en négatif au sein des amas spumeux.

L'imprégnation argentique de Gomori-Grocott, met en évidence les asques, qui apparaissent nettement sur le fond vert clair de la lame.

La coloration au bleu de toluidine de Chalvarjian-Grawe permet de visualiser les asques en violet sur fond bleuté.

Les fragments biopsiques de tissu pulmonaire font l'objet d'une analyse histologique qui utilise une coloration bichromatique à l'hématoxyline (colorant nucléaire) et à l'éosine (colorant cytoplasmique) effectuée couramment en histopathologie et capable de colorer les

cellules et les différentes formes de *Pj*. L'imprégnation argentique de Gomori-Grocott, utilisée en Mycologie, met en évidence les asques.

L'examen du LBA possède une sensibilité globale évaluée à 95 % pour le diagnostic de pneumocystose chez les sujets immunodéprimés ne prenant aucune chimioprophylaxie et présentant une symptomatologie évocatrice (spécificité de 99 %). Ce chiffre passe à 65 % chez les patients sous prophylaxie chez qui la charge fongique est plus faible (Helweg-Larsen *et al.*, 2004).

Dans le cas de l'immunofluorescence, *Pj* est recherché au microscope à fluorescence, grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-*Pj* couplés à un fluorochrome (fluorescéine). Les asques, plus gros, sont plus facilement identifiables en immunofluorescence que les formes trophiques. Cette technique spécifique et sensible prend plus de temps que les colorations et nécessite une grande expérience à la lecture (Le Gal *et al.*, 2012)(Jarboui *et al.*, 2013).

4.3 Les méthodes de biologie moléculaire

La recherche d'ADN de *Pj* par PCR est devenue un élément essentiel du diagnostic de la pneumocystose. La PCR permet d'augmenter la sensibilité du diagnostic dans les LBA et permet également la détection de *Pj* dans des échantillons biologiques moins invasifs telles les aspirations bronchiques, les expectorations ou les lavages rhino-pharyngés. Plusieurs techniques d'amplification génique sont disponibles pour amplifier l'ADN de *Pj* : les PCR conventionnelles en une seule étape permettant uniquement la détection, les PCR en temps réel (qPCR) permettent une évaluation quantitative dans l'échantillon biologique. Il existe plusieurs gènes cibles. Le plus couramment utilisé est celui de l'ARN de la grande sous-unité des ribosomes mitochondriaux (mtLSUrRNA) qui présente l'avantage d'avoir des séquences bien conservées d'un génome à l'autre et d'être présent en multicopies, ce qui abaisse le seuil de détection et améliore la sensibilité de la technique (Wakefield *et al.* 1990). Les cibles potentielles d'ADN se sont multipliées au fur et à mesure de la connaissance du génome du champignon : on peut citer les régions ITS (Internal Transcribed spacer), le gène 5.8S de l'ADN ribosomal, le gène codant pour la DHPS (dihydroptéroate synthase), celui de la DHFR (Dihydrofolate Réductase), de la TS (Thymidylate Synthase), de la β -tubuline, le gène *cdc2* (cell division control 2), celui de la glycoprotéine de surface (MSG) ou encore *Kex- 1* (qui code pour une sérine endoprotéase) (Bandt *et al.*, 2007)(Durand-Joly *et al.*, 2005)(Robberts

et al., 2007)(Beard *et al.*, 2004). Désormais, c'est la PCR en temps réel, plus sensible (99% sur LBA), plus spécifique (96%), plus rapide et facile à mettre en œuvre, qui est la plus couramment utilisée (Alvarez-Martinez *et al.*, 2006)(Fillaux *et al.*, 2013).

Les techniques de PCR dont le seuil de détection du microorganisme est très abaissé par rapport aux techniques microscopiques semblent particulièrement utiles chez le sujet immunodéprimé non VIH chez qui la charge fongique est plus faible comparée à celle des patients VIH. Ainsi la valeur prédictive négative est excellente dans le LBA (A. Roux *et al.*, 2010). Selon l'argumentaire de la HAS 2017 sur les actes de diagnostic biologique de la pneumocystose, la PCRq doit être amenée à remplacer les colorations chez tout type de patient. Cependant, l'interprétation des résultats est parfois difficile : ce que l'on détecte relève-t-il de l'infection ou de la colonisation ? En effet, la colonisation par *Pj* chez des patients sans symptomatologie clinique est connue. La colonisation est de l'ordre de 20% des adultes en bonne santé, 44% des immunodéprimés non VIH et 46 % des patients VIH (Morris *et al.*, 2004). L'utilisation de la PCR dans les cas de pneumocystose granulomateuse est peu décrite, bien que celle-ci semble améliorer le rendement diagnostique des LBA qui, lors des PGP, présentent une faible charge fongique. Peu de cas rapportent l'application d'une PCR *Pj* à partir de tissu pulmonaire.

4.4 Le dosage du (1-3) - β -D-glucane sérique

Le (1 $\rightarrow$ 3) β -D-glucane est un des composants majeurs de la paroi de *Pj* ainsi que de nombreux autres champignons comme *Aspergillus* sp., *Candida* sp. et *Fusarium* sp.. Le dosage sanguin de ce marqueur antigénique exprimé en quantité mesurable pourrait avoir un intérêt dans le diagnostic et le suivi des infections fongiques. Dans la pneumocystose, des valeurs de β -D-glucane élevées, supérieures à 500 pg/ml (valeur seuil du test à 80pg/ml), sont fréquemment retrouvées, que les patients soient porteurs du VIH ou non (Persat *et al.*, 2008). Le dosage est décrit comme ayant une très bonne valeur prédictive négative (VPN) de 98% permettant d'éliminer une infection fongique (Held *et al.*, 2011). Toutefois, cette technique présente des limites bien identifiées et sa place dans la stratégie diagnostique reste à définir. Le dosage est techniquement coûteux et difficile à mettre en œuvre en routine. Elle manque de spécificité car ce marqueur est retrouvé chez d'autres champignons pathogènes de l'appareil respiratoire. Le cotrimoxazole inhiberait le relargage du β -D-

glucane dans le sang, ce qui rend l'interprétation difficile chez les patients sous prophylaxie (Persat *et al.*, 2008). Par ailleurs, il n'y a pas de valeur seuil permettant de distinguer une pneumocystose d'une colonisation. Enfin, il n'existe pas d'étude prospective de l'intérêt dans le suivi des patients traités. Ce dosage pourrait avoir un intérêt dans le diagnostic des pneumocystoses granulomateuses au même titre que dans le cas des pneumocystoses classiques. Aucune étude n'a été publiée concernant l'analyse de ce paramètre lors de pneumocystoses granulomateuses et seulement deux cas ont été rapportés faisant état d'un dosage de β -D-glucane élevé au cours de cette affection (Sato *et al.*, 2013)(Taylor *et al.*, 2019).

4.5 Le diagnostic indirect

La recherche d'anticorps dirigés contre *Pj* ne présente pas d'intérêt pour le diagnostic car la majorité de la population présente des anticorps, puisque la rencontre avec le microorganisme a lieu précocement au cours de la vie (« ANOFEL – Association française des enseignants de Parasitologie et Mycologie. »).

5. Traitement et prophylaxie

Le traitement historique de la pneumocystose était la pentamidine par voie parentérale puis sous forme d'aérosol. Cette molécule est connue pour son action antiparasitaire dans le traitement des trypanosomiasés et de la leishmaniose. Son utilisation sous forme inhalée, en prophylaxie de la pneumocystose chez le patient VIH, fut suspectée d'être la cause d'apparition de réactions granulomateuses. Actuellement, le traitement de référence est l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole ou cotrimoxazole pendant 3 semaines par voie orale ou IV. Le cotrimoxazole possède une activité antibactérienne, antiparasitaire et est actif sur le *Pj* par la destruction des ascospores. Il peut être mal toléré et provoquer des effets indésirables pouvant être importants (rashes cutanés, pancytopenies, troubles hépatiques). En cas d'intolérance ou de contre-indication, les principales alternatives sont l'atovaquone ou la dapsonsé dans les formes légères à modérées. L'association clindamycine-primaquine ou la pentamidine IV sont utilisés en seconde intention dans les formes sévères

(Ministère des affaires sociales et de la santé, Conseil national du SIDA, rapport 2013). L'association d'une corticothérapie au plus tard 72h après l'initiation du traitement de la pneumocystose est recommandée si l'hypoxémie est très marquée et s'il n'y a pas de co-infection avec le CMV ou des mycobactéries (National Institutes of Health, Centers for Disease Control and Prevention, HIV Medicine Association). Il n'existe pas de recommandation particulière pour le traitement de la PGP, sa prise en charge est identique (Hartel *et al.*, 2010).

Concernant la prophylaxie anti *Pj*, elle est préconisée chez les patients VIH si le taux de CD4 est inférieur à 200/mm³ ou si les patients ont un antécédent d'infection opportuniste. Cette prophylaxie est préférentiellement du cotrimoxazole. En cas d'intolérance, les traitements alternatifs sont la dapson, les aérosols de pentamidine et l'atovaquone (Ministère des affaires sociales et de la santé, Conseil national du SIDA, rapport 2013) (National Institutes of Health, Centers for Disease Control and Prevention, HIV Medicine Association of the infectious Diseases Society of America, 2016). La littérature fait apparaître un manque de consensus en matière de patients cibles pour la prophylaxie primaire et la durée du traitement prophylactique pour les patients non VIH. Certains organismes recommandent une prophylaxie par le cotrimoxazole chez certains patients atteint d'hémopathies malignes pendant une certaine période où le risque estimé de PjP est plus élevé. L'European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-5) indique la prise d'une prophylaxie principalement dans les cas de leucémie aigüe lymphoblastique, d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (jusqu'à la rémission où la fin de l'immunosuppression), de la prise d'alemtuzumab, de fludarabine, de cyclophosphamide, de rituximab ou de corticoïdes à forte dose pendant plus de 4 semaines (jusqu'à 6 mois après l'arrêt de ces traitements). Il est à noter que des cas de PGP sont survenus alors que le patient était sous prophylaxie (Chen *et al.*, 2004)(Kim *et al.*, 2016).

6. Bibliographie

Abadjian, Pr Gérard. s. d. « Inflammation et Cicatrisation », 30.

Alvarez-Martinez et al. « Pneumocystis-jiroveci-Applied-molecular-microbiology-epidemiology-and-diagnosis.pdf ». s. d. Consulté le 23 septembre 2019.

https://www.researchgate.net/profile/Jannik_Helweg-Larsen2/publication/7735617_Pneumocystis_jiroveci_Applied_molecular_microbiology_epidemiology_and_diagnosis/links/02bfe511175bf3638e000000/Pneumocystis-jiroveci-Applied-molecular-microbiology-epidemiology-and-diagnosis.pdf.

- Al-Ghanem, Sara, Hamdan Al-Jahdali, Hanaa Bamefleh, et Ali Nawaz Khan. 2008. « Bronchiolitis Obliterans Organizing Pneumonia: Pathogenesis, Clinical Features, Imaging and Therapy Review ». *Annals of Thoracic Medicine* 3 (2): 67-75. <https://doi.org/10.4103/1817-1737.39641>.
- Amin, Z., R. F. Miller, et P. J. Shaw. 1997. « Lobar or Segmental Consolidation on Chest Radiographs of Patients with HIV Infection ». *Clinical Radiology* 52 (7): 541-45.
- « ANOFEL – Association française des enseignants de Parasitologie et Mycologie. » s. d. Consulté le 16 juillet 2019. <https://anofel.net/>.
- Bandt, D., et S. Monecke. 2007. « Development and Evaluation of a Real-Time PCR Assay for Detection of Pneumocystis Jiroveci ». *Transplant Infectious Disease: An Official Journal of the Transplantation Society* 9 (3): 196-202. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3062.2007.00246.x>.
- Bartlett, M S, S H Vermund, R Jacobs, P J Durant, M M Shaw, J W Smith, X Tang, et al. 1997. « Detection of Pneumocystis carinii DNA in air samples: likely environmental risk to susceptible persons. » *Journal of Clinical Microbiology* 35 (10): 2511-13.
- Beard, Charles Ben, Patricia Roux, Gilles Nevez, Philippe M. Hauser, Joseph A. Kovacs, Thomas R. Unnasch, et Bettina Lundgren. 2004. « Strain Typing Methods and Molecular Epidemiology of Pneumocystis Pneumonia ». *Emerging Infectious Diseases* 10 (10): 1729-35. <https://doi.org/10.3201/eid1010.030981>.
- Boiselle, P. M., C. A. Crans, et M. A. Kaplan. 1999. « The Changing Face of Pneumocystis Carinii Pneumonia in AIDS Patients ». *AJR. American Journal of Roentgenology* 172 (5): 1301-9. <https://doi.org/10.2214/ajr.172.5.10227507>.
- Boiselle, P. M., I. Tocino, R. J. Hooley, A. S. Pumerantz, P. A. Selwyn, V. P. Neklesa, et R. C. Lange. 1997. « Chest Radiograph Interpretation of Pneumocystis Carinii Pneumonia, Bacterial Pneumonia, and Pulmonary Tuberculosis in HIV-Positive Patients: Accuracy, Distinguishing Features, and Mimics ». *Journal of Thoracic Imaging* 12 (1): 47-53.
- Bondoc, A, et DA White. 2002. « Granulomatous Pneumocystis carinii pneumonia in patients with malignancy ». *Thorax* 57 (juin): 435-37. <https://doi.org/10.1136/thorax.57.5.435>.
- Carmona, Eva M., et Andrew H. Limper. 2011. « Update on the Diagnosis and Treatment of Pneumocystis Pneumonia ». *Therapeutic Advances in Respiratory Disease* 5 (1): 41-59. <https://doi.org/10.1177/1753465810380102>.

- Catherinot, Emilie, Fanny Lanternier, Marie-Elisabeth Bournoux, Marc Lecuit, Louis-Jean Couderc, et Olivier Lortholary. 2010. « Pneumocystis jirovecii Pneumonia ». *Infectious Disease Clinics of North America*, The Atypical Pneumonias, 24 (1): 107-38. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2009.10.010>.
- Chen, F., G. Sethi, R. Goldin, A. R. Wright, et C. J. Lacey. 2004. « Concurrent Granulomatous Pneumocystis Carinii and Mycobacterium Xenopi Pneumonia: An Unusual Manifestation of HIV Immune Reconstitution Disease ». *Thorax* 59 (11): 997-99. <https://doi.org/10.1136/thx.2003.012567>.
- Chow, C., P. A. Templeton, et C. S. White. 1993. « Lung Cysts Associated with Pneumocystis Carinii Pneumonia: Radiographic Characteristics, Natural History, and Complications ». *AJR. American Journal of Roentgenology* 161 (3): 527-31. <https://doi.org/10.2214/ajr.161.3.8352098>.
- Damiani, C., S. Le Gal, G. Nevez, et A. Totet. 2013. « Infections à Pneumocystis jirovecii : biologie et clinique ». */data/traites/mc/08-32470/*, juillet. <https://www.em-consulte.com/en/article/819158>.
- DeSimone, J. A., R. J. Pomerantz, et T. J. Babinchak. 2000. « Inflammatory Reactions in HIV-1-Infected Persons after Initiation of Highly Active Antiretroviral Therapy ». *Annals of Internal Medicine* 133 (6): 447-54. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-133-6-200009190-00013>.
- Durand-Joly, Isabelle, Magali Chabé, Fabienne Soula, Laurence Delhaes, Daniel Camus, et Eduardo Dei-Cas. 2005. « Molecular Diagnosis of Pneumocystis Pneumonia ». *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 45 (3): 405-10. <https://doi.org/10.1016/j.femsim.2005.06.006>.
- Fillaux, Judith, et Antoine Berry. 2013. « Real-Time PCR Assay for the Diagnosis of Pneumocystis Jirovecii Pneumonia ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 943: 159-70. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-353-4_11.
- Foley, N. M., M. H. Griffiths, et R. F. Miller. 1993. « Histologically Atypical Pneumocystis Carinii Pneumonia ». *Thorax* 48 (10): 996-1001. <https://doi.org/10.1136/thx.48.10.996>.
- Gilroy, Shelley A., et Nicholas J. Bennett. 2011. « Pneumocystis Pneumonia ». *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* 32 (6): 775-82. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1295725>.
- Hartel, Paul H., Konstantin Shilo, Mary Klassen-Fischer, Ronald C. Neafie, Irem H. Ozbudak, Jeffrey R. Galvin, et Teri J. Franks. 2010. « Granulomatous Reaction to Pneumocystis Jirovecii: Clinicopathologic Review of 20 Cases ». *The American Journal of Surgical Pathology* 34 (5): 730-34. <https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181d9f16a>.

- Held, J., M. S. Koch, U. Reischl, T. Danner, et A. Serr. 2011. « Serum (1 → 3)-β-d-glucan measurement as an early indicator of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia and evaluation of its prognostic value ». *Clinical Microbiology and Infection* 17 (4): 595-602. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03318.x>.
- Jarboui, M. A., F. Mseddi, H. Sellami, A. Sellami, F. Makni, et A. Ayadi. 2013. « *Pneumocystis* : épidémiologie et approches moléculaires ». [/data/revues/03698114/v61i6/S0369811413000837/](https://www.em-consulte.com/en/article/856224#N1042F), décembre. <https://www.em-consulte.com/en/article/856224#N1042F>.
- Kaoueche, E., K. Kallel, S. Anane, S. Belhadj, S. Abdellatif, K. Mnif, T. Ben Othmane, et al. 2009. « *Pneumocystose à Pneumocystis jirovecii* : étude comparée de la PCR et des techniques de coloration ». [/data/revues/03698114/v57i5/S0369811408002484/](https://www.em-consulte.com/en/article/220358), juin. <https://www.em-consulte.com/en/article/220358>.
- Kim, Bongyoung, Jieun Kim, Seung Sam Paik, et Hyunjoon Pai. 2018. « Atypical Presentation of *Pneumocystis Jirovecii* Infection in HIV Infected Patients: Three Different Manifestations ». *Journal of Korean Medical Science* 33 (15): e115. <https://doi.org/10.3346/jkms.2018.33.e115>.
- Kim, Hyun Soo, Kyung Eun Shin, et Ju-Hie Lee. 2015. « Single Nodular Opacity of Granulomatous *Pneumocystis Jirovecii* Pneumonia in an Asymptomatic Lymphoma Patient ». *Korean Journal of Radiology* 16 (2): 440-43. <https://doi.org/10.3348/kjr.2015.16.2.440>.
- Kim, Hyung Woo, Jung Yeon Heo, Yong Moon Lee, S. J. Kim, et Hye Won Jeong. 2016. « Unmasking Granulomatous *Pneumocystis Jirovecii* Pneumonia with Nodular Opacity in an HIV-Infected Patient after Initiation of Antiretroviral Therapy ». *Yonsei Medical Journal* 57 (4): 1042-46. <https://doi.org/10.3349/ymj.2016.57.4.1042>.
- Klein, J. S., M. Warnock, W. R. Webb, et G. Gamsu. 1989. « Cavitating and Noncavitating Granulomas in AIDS Patients with *Pneumocystis Pneumonitis* ». *AJR. American Journal of Roentgenology* 152 (4): 753-54. <https://doi.org/10.2214/ajr.152.4.753>.
- Kuhlman, J. E., M. Kavuru, E. K. Fishman, et S. S. Siegelman. 1990. « *Pneumocystis Carinii* Pneumonia: Spectrum of Parenchymal CT Findings ». *Radiology* 175 (3): 711-14. <https://doi.org/10.1148/radiology.175.3.2343118>.
- Kumar, Neelam, Farid Bazari, Anita Rhodes, Felix Chua, et Brendan Tinwell. 2011. « Chronic *Pneumocystis Jirovecii* Presenting as Asymptomatic Granulomatous Pulmonary Nodules in Lymphoma ». *The Journal of Infection* 62 (6): 484-86. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2011.04.008>.
- Lam, J., M. M. Kelly, R. Leigh, et M. D. Parkins. 2014. « Granulomatous PJP Presenting as a Solitary Lung Nodule in an Immune Competent Female ». *Respiratory Medicine Case Reports* 11: 4-6. <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2013.10.002>.

- Latouche, S., J. L. Poirot, V. Bertrand, et P. Roux. 1997. « Pneumocystis Carinii Hominis Sequencing for Reactivation or de Novo Contamination and for Hypothetic Transmission from Person to Person ». *APMIS. Supplementum* 77: 11-13.
- Leef, Johnsey L., et Jeffrey S. Klein. 2002. « The Solitary Pulmonary Nodule ». *Radiologic Clinics of North America* 40 (1): 123-43.
- Le Gal et al., s. d. « Pneumocystis : diagnostic biologique des infections à *Pneumocystis jirovecii* ». EM-Consulte. Consulté le 20 juillet 2019b. <https://www.em-consulte.com/article/710756/pneumocystis-diagnostic-biologique-des-infections->.
- Lund, Frances E., Melissa Hollifield, Kevin Schuer, J. Louise Lines, Troy D. Randall, et Beth A. Garvy. 2006. « B Cells Are Required for Generation of Protective Effector and Memory CD4 Cells in Response to Pneumocystis Lung Infection ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 176 (10): 6147-54. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.10.6147>.
- Masson, Elsevier. s. d. « Infections pulmonaires aiguës et subaiguës du sujet immunodéprimé ». EM-Consulte. Consulté le 14 septembre 2019a. <https://www.em-consulte.com/article/921457/infections-pulmonaires-aigues-et-subaigues-du-sujet>.
- McGuinness, G. 1997. « Changing Trends in the Pulmonary Manifestations of AIDS ». *Radiologic Clinics of North America* 35 (5): 1029-82.
- Morris, Alison, Lawrence A. Kingsley, Gena Groner, Irina P. Lebedeva, Charles B. Beard, et Karen A. Norris. 2004. « Prevalence and Clinical Predictors of Pneumocystis Colonization among HIV-Infected Men ». *AIDS (London, England)* 18 (5): 793-98. <https://doi.org/10.1097/00002030-200403260-00011>.
- Persat, Florence, Stéphane Ranque, Francis Derouin, Annie Michel-Nguyen, Stéphane Picot, et Annie Sulahian. 2008. « Contribution of the (1→3)-β-d-Glucan Assay for Diagnosis of Invasive Fungal Infections ». *Journal of Clinical Microbiology* 46 (3): 1009-13. <https://doi.org/10.1128/JCM.02091-07>.
- « Rapport 2013 sur la prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH ». Ministère des Solidarités et de la Santé. 16 août 2019. <https://solidarites-sante.gouv.fr/ministere/documentation-et-publications-officielles/rapports/sante/article/rapport-2013-sur-la-prise-en-charge-medicale-des-personnes-vivant-avec-le-vih>.
- Robberts, Frans J. L., Lynne D. Liebowitz, et Lynda J. Chalkley. 2007. « Polymerase Chain Reaction Detection of Pneumocystis Jiroveci: Evaluation of 9 Assays ». *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 58 (4): 385-92. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2007.02.014>.

- Roux, A., V. Lemiale, A. Kouatchet, F. Vincent, G. Bollée, P. Roux, et E. Azoulay. 2010. « Pneumocystose pulmonaire en dehors de l'infection à VIH ». *Réanimation* 19 (4): 327-38. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2010.04.002>.
- Roux, P., et S. Latouche. 1999. « Épidémiologie moléculaire de la pneumocystose humaine ». *Médecine et Maladies Infectieuses* 29 (12): 733-38. [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(00\)88282-7](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(00)88282-7).
- Sandhu, J. S., et P. C. Goodman. 1989. « Pulmonary Cysts Associated with Pneumocystis Carinii Pneumonia in Patients with AIDS ». *Radiology* 173 (1): 33-35. <https://doi.org/10.1148/radiology.173.1.2789413>.
- Sato, Mai, Shuichi Ito, Masao Ogura, Koichi Kamei, Isao Miyairi, Ippei Miyata, Masataka Higuchi, et Kentaro Matsuoka. 2013. « Atypical Pneumocystis Jiroveci Pneumonia with Multiple Nodular Granulomas after Rituximab for Refractory Nephrotic Syndrome ». *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)* 28 (1): 145-49. <https://doi.org/10.1007/s00467-012-2286-6>.
- Tasaka, Sadatomo, Hitoshi Tokuda, Fumikazu Sakai, Takeshi Fujii, Kazuhiro Tateda, Takeshi Johkoh, Norio Ohmagari, et al. 2010. « Comparison of Clinical and Radiological Features of Pneumocystis Pneumonia Between Malignancy Cases and Acquired Immunodeficiency Syndrome Cases: A Multicenter Study ». *Internal Medicine* 49 (4): 273-81. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.49.2871>.
- Taylor, Lindsay N., Scott W. Aesif, et Kristine M. Matson. 2019. « A Case of Pneumocystis Pneumonia, with a Granulomatous Response and Vitamin D-Mediated Hypercalcemia, Presenting 13 Years after Renal Transplantation ». *Transplant Infectious Disease: An Official Journal of the Transplantation Society* 21 (3): e13081. <https://doi.org/10.1111/tid.13081>.
- Thomas, C. F., et A. H. Limper. 1998. « Pneumocystis Pneumonia: Clinical Presentation and Diagnosis in Patients with and without Acquired Immune Deficiency Syndrome ». *Seminars in Respiratory Infections* 13 (4): 289-95.
- Tornatore, K. M., R. C. Venuto, G. Logue, et P. J. Davis. 1998. « CD4+ and CD8+ Lymphocyte and Cortisol Response Patterns in Elderly and Young Males after Methylprednisolone Exposure ». *Journal of Medicine* 29 (3-4): 159-83.
- Totet, A., H. Duwat, G. Daste, A. Berry, R. Escamilla, et G. Nevez. 2006. « Pneumocystis Jirovecii Genotypes and Granulomatous Pneumocystosis ». *Medecine Et Maladies Infectieuses* 36 (4): 229-31. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2005.11.015>.
- Travis, W. D., S. Pittaluga, G. Y. Lipschik, F. P. Ognibene, A. F. Suffredini, H. Masur, I. Feuerstein, J. Kovacs, H. I. Pass, et K. S. Condrón. 1990. « Atypical Pathologic Manifestations of Pneumocystis Carinii Pneumonia in the Acquired Immune Deficiency Syndrome. Review of 123 Lung Biopsies from 76 Patients with Emphasis

on Cysts, Vascular Invasion, Vasculitis, and Granulomas ». *The American Journal of Surgical Pathology* 14 (7): 615-25.

Vedy et al.« [Pneumocystis jiroveci: epidemiological, pathophysiological and biological update]. - PubMed - NCBI ». s.d. Consulté le 23 septembre 2019.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19654077>.

Wakefield, A. E., F. J. Pixley, S. Banerji, K. Sinclair, E. R. Moxon, R. F. Miller, et J. M. Hopkin. 1990. « Detection of Pneumocystis Carinii with DNA Amplification ». *The Lancet* 336 (8713): 451-53. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)92008-6](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)92008-6).

Walzer, Peter D. 1993. *Pneumocystis, Pneumonia, Second Edition*,. CRC Press.

DEUXIEME PARTIE :

Article soumis à *Clinical Microbiology and Infection*

**“Granulomatous pulmonary pneumocystosis: review of 51
published and unpublished cases and retrospective PCR analysis of
42 lung biopsies”**

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to	Clinical Microbiology and Infection
Manuscript ID	CLM-19-16175
Title	Granulomatous pulmonary pneumocystosis: review of 51 published and unpublished cases and retrospective PCR analysis of 42 lung biopsies.
Authors	Pagazani, Antoine bourgeois, nathalie Serre, Isabelle Douzou, Sylvie Vincent, Laure Le Moing, Vincent Rispail, Philippe Lachaud, Laurence
Date Submitted	22-Sep-2019

Original article

Granulomatous pulmonary pneumocystosis: review of 51 published and unpublished cases and retrospective PCR analysis of 42 lung biopsies.

A. Pagazani¹, N. Bourgeois¹, I. Serre², S. Douzou¹, L. Vincent³, V. Le Moing⁴, P. Rispaïl⁵, L. Lachaud^{5*}

¹ Département de Parasitologie-Mycologie, CHU de Montpellier, Montpellier France.

² Département d'Anatomo-pathologie, CHU de Montpellier, Montpellier France.

³ Département d'hématologie clinique, CHU de Montpellier, Montpellier France

⁴ Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier France

⁵ Département de Parasitologie-Mycologie, CHU de Montpellier, Université de Montpellier, UMR MIVEGEC, Montpellier France

*Corresponding author:

Département de Parasitologie-Mycologie, 39 avenue Charles Flahault, Site Antonin Balmes, CHU de Montpellier, 34295 Montpellier France.

Email: laurence.lachaud@umontpellier.fr

Tel: +33467332364

Fax : +33467332354

Key words:

Granulomatous pneumonia, *Pneumocystis jiroveci*, PCR , immunocompromised patient

ABSTRACT

Background: Granulomatous pulmonary pneumocystosis (GPP) is an atypical presentation of pneumonia due to *Pneumocystis jirovecii* (PCP) in patients with AIDS, and more sporadically in non-HIV immunocompromised patients.

Aim: To better understand GPP pathological features, and to assess the relevance of systematically carrying out a specific *P. jirovecii* PCR (Pj-PCR) analysis of lung biopsies.

Sources/Methods: Review of GPP cases reported in the literature between 2000 and 2019.

Retrospective Pj-PCR analysis of lung tissue biopsies without etiological diagnosis collected at Montpellier University Hospital (MUH), France, from 2015 to 2018.

Content: For this review, 25 articles on 49 patients with GPP were selected as well as two cases of GPP identified at MUH in 2018. Their bio-clinical characteristics (age, sex, underlying disease, immunosuppressive therapy, *P. jirovecii* prophylaxis, imaging results, histology, treatment, and outcome) indicated that GPP was more frequent in patients with a hematological disease and immunosuppressive treatments (e.g., corticosteroids or rituximab). The clinical and radiological presentations were non-specific.

Pj-PCR was performed on 42 biopsies from 40 patients with radiological pulmonary opacities and without precise etiological diagnosis. *P. jirovecii* DNA was detected in only one sample from an patient with Hodgkin's lymphoma and treated with chemotherapy.

Implications: GPP diagnosis should be considered in immunocompromised patients with pulmonary nodules. To avoid management delays and additional examinations in patients at risk of GPP, in addition to the histopathological and mycological analysis of the lung biopsy, Pj-PCR should be carried out systematically.

INTRODUCTION

Pulmonary granulomatous pneumocystosis (GPP) is characterized by the presence of pulmonary granulomas in response to infection by *Pneumocystis jirovecii*. GPP was described for the first time in 1973 (1). Then, in 1975, Cruickshank et al. reported a case of GPP in an adult patient treated with immunosuppressive drugs after kidney transplantation (2). In the 1980s-1990s, GPP was a fairly frequent atypical presentation of pneumonia due to *P. jirovecii* (PCP) in HIV-positive patients (4-5% of all pneumocystosis) (3-8). During the same period, fewer cases were described in HIV-negative immunocompromised patients (9-13). After the introduction of Antiretroviral Therapy (ART) and prophylaxis, cases among patients with HIV decreased, whereas they increased in other immunocompromised patients, particularly those with hematologic malignancies. GPP clinical presentation is misleading, with usually few, mild and not specific symptoms (cough, fever, dyspnea). GPP symptom intensity is similar to that of PCP in HIV-positive patients, with often a subclinical presentation and a relatively long symptom progression period (14) (15). From a histological point of view, GPP is characterized by a non-caseating infectious granuloma composed of histiocytic cells that form a palisade around the fungi (16). It is thought that the granulomatous reaction is not related to the *P. jirovecii* genotype, but rather to the host immune response (17). Computed tomography (CT), the most efficient imaging tool for GPP, typically shows a nodular infiltrate in the pulmonary parenchyma with nodules or masses that can vary in number and size (from millimeters to several centimeters in diameter) (3). While the mechanism of granuloma formation is not fully explained, nodules or masses are observed mainly in patients who have retained adequate immunity allowing them to develop a granulomatous response. In agreement, in patients with HIV, GPP usually occurs early during the disease course (8) or during the immune restoration following ART (18) (19). GPP biological diagnosis is based on the detection of *P. jirovecii* that is present mainly in the pulmonary granulomas and rarely

infiltrates the alveolar lumen (20) (21). Therefore, direct microscopic examination after staining and PCR analysis of lung biopsies are the best strategy for GPP diagnosis.

In this work, we reviewed all GPP cases reported in the literature between 2000 and 2019. We also added two additional cases diagnosed in patients with hematologic malignancies at Montpellier University Hospital (MUH), France, in 2018. Moreover, we retrospectively analyzed, using a *P. jirovecii*-specific PCR assay (Pj-PCR), lung biopsies collected at MUH from 2015 to 2018 from patients with pulmonary opacities and without definitive etiological diagnosis. The objective was to assess the relevance of systematic Pj-PCR screening of pulmonary nodule biopsies to facilitate GPP diagnosis.

MATERIAL AND METHODS

A- Systematic review of case reports

Search strategies and information sources:

To identify articles on GPP in English and published from January 2000 onwards, several databases, including PubMed, Science Direct, Google Scholar and Web of Science, were interrogated using the following key words: granuloma, granulomatous, pneumocystis, pneumocystosis, pneumonia, HIV, AIDS. Other relevant articles were identified by reviewing the reference list of the retained articles.

Data analysis. In total, 25 articles were selected for the analysis. The bio-clinical characteristics of the 49 patients described in these articles were analyzed: age, sex, underlying disease(s), immunosuppressive therapy, *P. jirovecii* prophylaxis, imaging results, histology, treatment (duration), and outcome.

Two unpublished cases of GPP (case 1 and case 2) identified at MUH in 2018 were also included in this synthesis.

B- Retrospective Pj-PCR analysis: Sample selection and patient inclusion criteria

For this retrospective analysis, 28 lung biopsies received at Parasitology-Mycology Department (PMD) from 26 patients hospitalized at the MUH with radiological pulmonary opacities and without definitive etiological diagnosis from 01/01/2015 to 01/06/2018 were selected. These samples were tested only using a pan-fungal PCR assay that amplifies the 18S subunit and direct microscopic examination after staining, and were considered *P. jirovecii*-negative. Corresponding DNA of these samples were stored at the PMD. Moreover, 17 additional lung biopsies from 17 patients collected at the MUH Biological Resource Center (CRB-CHUM) during the same period were selected based on the histopathological findings (presence of one or more inflammatory granulomas, epithelioid granuloma with necrosis, or granuloma with eosinophils) and absence of definitive etiological diagnosis. Among these 17 patients, one refused to sign the informed consent and two consent forms did not reach us. Finally, 40 (26 + 14) patients and the 42 (28+14) corresponding samples were included in the analysis.

C- *P. jirovecii*-specific PCR assay

The presence of *P. jirovecii* DNA in the 42 retained samples was assessed at the PMD by real-time PCR according to the technique described by Fillaux *et al.*, in 2008 (22) using primers that amplify major surface glycoprotein (MSG) genes. The DNA samples from the PMD collection were stored at -20° C. Samples from the CRB-CHUM were biopsy sections embedded in paraffin. DNA extraction (for all samples) was performed using the QIAamp DNA FFPE Tissue kit according to the supplier's recommendations. All samples were tested in duplicate.

D- Ethics

The study was approved by the local committee for the protection of persons and by the Institute Review Board (2018_IRB-MTP_11-08). The patient consent was not required for the PMD specimens (28 samples) because the tissue fragments were specifically routinely sent

for mycological examination. The other 17 patients were contacted for the consent request. In addition, in accordance with the French law, this research project was declared to the National Commission for Informatics and Liberties (CNIL) (number 2122174, date 21/11/2018).

RESULTS

A. Case reports from the literature, and from Montpellier University Hospital.

The 19-year literature review identified 49 cases of GPP (15) (18-21) (23-42) to which were added the data of the two patients (case 1 and case 2) with a diagnosis of GPP at MUH in 2018 (total n= 51). The main characteristics of the 51 patients are presented in Table 1.

Patient demographics, co-morbidities, and predisposing factors.

The male to female (M/F) sex ratio was 1.38, and the mean age at diagnosis was 51 years [3-78]. Among the associated underlying pathologies, hematologic malignancies (25/51), HIV infection (13/51) and solid cancers (5/51) were the most frequent. Many patients (22/25 non-HIV patients with data on treatments) had received immunosuppressive treatments (e.g., anti-CD20 drugs, such as rituximab, and/or corticosteroids). Rituximab or corticosteroids were also used for the treatment of five patients with pediatric nephrotic syndrome (n=1), organ transplantation (n=2), Wegener's granulomatosis (n=1), and severe factor VIII deficiency (n=1). Only 13/51 patients (25%) had HIV, among whom four developed GPP during the immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). Six patients developed GPP while receiving anti-*P. jirovecii* prophylaxis. Moreover, GPP occurred also in one patient who was not considered immunocompromised (36).

Symptomatology, radiological signs.

Surprisingly, no clinical pulmonary sign was observed in 10 patients. In the other 41 patients, the main symptoms were cough and fever, frequently accompanied by dyspnea and asthenia.

Chest pain caused by pleurisy was possible, but the presentation was often insidious with few clinical signs. Regarding the radiological findings, the presence of a well-delimited lesion, such as a nodule or mass, was reported in 68% of patients (32/47), with multiple lesions in 72% of them. The lesion size ranged from 0.1 cm to more than 10 cm, and size increased in the following months. The diffuse aspects classically observed in PCP, such as interstitial pneumonitis, ground glass opacities or reticulo-nodular infiltrate, were found in 40% of patients (19/47), associated or not with a well-delimited nodule. Cavitation (3/47) and atelectasis (1/47) were rarer.

Histological lesions.

Histological examination of granulomas showed the presence of histiocytic cells (macrophages and epithelioid cells) surrounding a variable amount of *P. jirovecii* trophic forms (i.e., the definition of non-caseating granuloma). Necrosis was observed in 68% of cases (35/51). Some features were less common, such as the presence of multinucleated giant cells (31%; 16/51), fibrous borders (29%; 15/51), intra-granuloma eosinophilic exudate (18%; 9/51), few eosinophils (13%; 7/51), or calcifications (1/51). The typical frothy intra-alveolar exudate associated with granulomas was described in only two cases. Interstitial pneumonitis in association with granulomas was also reported (4/51 cases). No other micro-organism was detected in all reviewed cases.

Mycological diagnosis

The biological diagnosis was based on two sample types, bronchoalveolar lavage (BAL) and lung biopsies, and on different methods (Table 2). At least one BAL was collected in 26 patients. Among the analyzed BAL samples (n = 29), only 8 (27%) were *P. jirovecii*-positive by direct microscopic examination (DE), 4 by Pj-PCR and 1 by Pj-PCR and DE. At least one lung biopsy was performed in all 51 patients. Among the 59 biopsies, 50 (from 50 patients)

were *P. jirovecii*-positive (DE=49, Pj-PCR=3) and 9 were negative (DE=10, Pj-PCR=1). Only in one patient, the diagnosis was based on the BAL DE (25). DE after staining allowed the diagnosis of all 51 cases (3 BAL and 49 biopsies). DE after immuno-fluorescence analysis was not widely used (n = 6), and contributed to the diagnosis in 4 cases (1 BAL and 3 biopsies). Pj-PCR was performed in ten samples (n=6 BAL and n= 4 biopsies) from nine patients, with *P. jirovecii* DNA detection in seven samples (4 BAL and 3 biopsies). In two patients, DE of the BAL gave negative results, whereas Pj-PCR detected *P. jirovecii* DNA (28) (35). Similarly, in one patient, the biopsy analysis was negative by DE and positive by Pj-PCR (21).

Retrospective Pj-PCR screening.

Finally, 28 biopsies (26 patients) from the PMD and 14 biopsies (14 patients) from the CRB-CHUM were included for the retrospective Pj-PCR screening. None had a certain etiological diagnosis to explain the clinical and/or radiological findings.

The main patient characteristics and histological data are presented in Table 3. The M/F sex ratio was 1.85, and the mean age was 60 years [12-84]. Clinical pulmonary signs were observed in 26 patients. Immunosuppressive therapies were used in 62.5% of patients (25/40) among whom 44% had a hematologic malignancy (11/25). No underlying disease was reported for 13 patients. Pulmonary biopsy was performed following the detection by imaging of a nodule, mass, condensation, diffuse interstitial lung disease, or excavated lesion. Histological examination of the biopsies showed the presence of granuloma or interstitial lung disease in 80% of patients (32/40). Pj-PCR analysis of DNA from the 42 biopsies identified only one positive sample. This sample corresponded to the first biopsy of an isolated nodule of 1.4 cm performed in case 2 from MUH during a CT scan in December 2017. At that time, the patient presented atypical chest radiography results and the first biopsy did not allow a diagnosis (negative DE and pan-fungal PCR for the 18S subunit). Histological examination

revealed a site of acidophilic necrosis with an epithelioid lympho-histiocytic inflammatory granulomatous border, accompanied by few multinucleated giant cells, but no feature that could suggest *P. jirovecii* presence. GPP diagnosis was made 6 months later on a second biopsy of the pulmonary nodule (positive histological DE, mycological DE and Pj-PCR).

DISCUSSION

PCP and GPP occur almost exclusively in immunodepressed patients. In patients with HIV, granulomatous PCP is a fairly well-known variant of pneumocystosis, accounting for 5% of cases (3). However, since 2000, GPP has been reported predominantly in non-HIV patients with hematological or solid malignancies, or after organ transplantation. Indeed, in patients with HIV, new ART types, systematic prophylaxis and rapid treatment at the onset of radiological signs of pneumocystosis, even in the absence of mycological proof, have led to a significant decrease of GPP cases. Here, we reviewed all GPP cases in the literature from 2000 until today. The proportion of patients with HIV represented 25% of all GPP cases, and currently the patients at highest risk are those with a hematologic disease. It should also be noted that the majority of non-HIV patients with GPP were taking long-term corticosteroid treatments. Moreover, after 2010, chemotherapy with the rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin hydrochloride, vincristine and prednisolone (R-CHOP) combination has become a predominant risk factor. It is well-known that PCP can occur in association with rituximab (43). Indeed, T and B cells are essential for the defense against *P. jirovecii* because they coordinate the inflammatory response and synthesize antibodies (25) (31). B cells may be essential also for *P. jirovecii* clearance, and in their absence, macrophages may take over this task by forming granulomas (21) (35). Rituximab binds to CD20+ B cells and leads to their lysis, thus promoting susceptibility to *P. jirovecii* (44). In patients treated with rituximab, immunohistochemical staining or flow cytometry studies revealed that granulomas consisted

198 of T cells (CD3+, CD4+, CD8+) and histiocytes (CD68+) without B cells (CD19-, CD20-)
199 (21) (35). Nevertheless, the mechanisms underlying granuloma formation upon *P. jirovecii*
200 infection are still speculative. During PCP, histological data show a foamy intra-alveolar
201 eosinophilic exudate with bilateral diffuse interstitial pulmonary infiltrate, which may be
202 finely granular, reticulonodular or ground glass in appearance (8) (45) (46). The progress
203 towards GPP (*i.e.*, the granulomatous response in pulmonary tissues to *P. jirovecii*) is rare and
204 its determinism unknown. IRIS in patients with HIV, corticosteroid discontinuation, and PCP
205 prophylaxis based on pentamidine are historical risk factor for this histological response
206 rather than the *P. jirovecii* genotype (15) (17) (18) (37). Pneumocystis-IRIS is an unusual
207 form of IRIS, generally occurring 1 week to 1 month after ART initiation (19). GPP could be
208 considered as a paradoxical form of IRIS. IRIS was observed in 4 of the 13 patients with HIV
209 included in the review. The role of corticosteroids in the development of immunodepression
210 and therefore in PCP and GPP is complex. Corticosteroids affect the count and function of
211 CD4+ lymphocytes. Its discontinuation leads to a rebound of peripheral lymphocytes, causing
212 an immune reconstitution-like syndrome (15) (30) (47). In the reported cases, it is unclear
213 whether GPP occurred during or at the end of the immunosuppressive therapy. It should be
214 noted that primary *P. jirovecii* prophylaxis did not prevent GPP occurrence in six patients.
215 Therefore, the diagnosis of GPP should be considered even in the presence of prophylaxis
216 (15) (18) (26). Surprisingly, few cases have been reported in patients with kidney transplant
217 (n=2), although several PCP outbreaks have been described among such patients (48) (49)
218 (50). Finally, risk factors of GPP are difficult to identify given the small number of patients.
219 The histological reaction suggests that GPP occurs in patients with a better immune status.
220 Most patients had pulmonary clinical signs, but total absence of symptoms was also reported.
221 GPP suspicion was based on the presence of nodular opacities at chest radiography or CT
222 scan, ranging from a reticulo-nodular pattern to a miliary nodule, larger nodules or masses.

223 These images are non-specific and can also be observed in patients with lymphoma or
224 infection by *Mycobacteria*, *Aspergillus* sp., *Cryptococcus* sp. or *Nocardia*. (20).

225 The review of the cases reported in the literature also highlights the difficulties of GPP
226 biological diagnosis, particularly, the poor performance of BAL mycological testing, which is
227 used as first-line PCP diagnosis. As in GPP the palisades of histiocytic cells isolate the fungi
228 and limit their spread in the lumen alveoli, lung biopsy centered on a nodule is the reference
229 for GPP diagnosis. DE was enough in most cases, but like for PCP, PCR improved the
230 diagnostic sensitivity (51). In some DE-negative BAL or lung biopsy samples, only PCR
231 allowed the diagnosis (21) (28) .

232 In the second part of this work, we assessed retrospectively the relevance of Pj-PCR of
233 pulmonary nodule biopsies from patients without etiological diagnosis. The sample selection
234 method did not take into account the patients' immune status in order to obtain a large sample,
235 and only 62% of patients had immunosuppression. Nevertheless, as no data is currently
236 available on *P. jirovecii* presence in pulmonary granulomas, we wanted to test all the
237 available samples. Indeed, 65% of samples were sent for fungal research by clinicians. The
238 only positive sample by Pj-PCR was from an asymptomatic patient with Hodgkin's
239 lymphoma and treated with chemotherapy. This patient did not have a history of PCP.
240 Because of GPP rarity and the few cases described in the literature, it is difficult to conduct
241 cohort studies to validate a diagnostic strategy. Nevertheless, the diagnosis of GPP should be
242 considered in immunocompromised patients with pulmonary nodules. To avoid management
243 delays and additional examinations in patients at risk of GPP, in addition to the lung biopsy
244 histopathological and mycological DE, it seems appropriate to carry out systematic Pj-PCR.

245 In conclusion, GPP is an uncommon event that can occur in immunocompromised patients
246 with and without HIV. The clinical and radiological presentations are not typical and the
247 diagnosis cannot be completely excluded on the basis of a negative BAL. Pj-PCR of biopsies

of pulmonary nodules appears to be the most sensitive method. Patients at risk should be identified and targeted using clinical, radiological and histological criteria. Awareness of GPP atypical manifestations and a rapid and sensitive diagnosis can lead to rapid treatment initiation.

REFERENCES

1. LeGolvan DP, Heidelberger KP. Disseminated, granulomatous *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Arch Pathol.* mai 1973;95(5):344-8.
2. Cruickshank B. Pulmonary granulomatous pneumocystosis following renal transplantation. Report of a case. *Am J Clin Pathol.* mars 1975;63(3):384-90.
3. Travis WD, Pittaluga S, Lipschik GY, Ognibene FP, Suffredini AF, Masur H, et al. Atypical pathologic manifestations of *Pneumocystis carinii* pneumonia in the acquired immune deficiency syndrome. Review of 123 lung biopsies from 76 patients with emphasis on cysts, vascular invasion, vasculitis, and granulomas. *Am J Surg Pathol.* juill 1990;14(7):615-25.
4. Bleiweiss IJ, Jagirdar JS, Klein MJ, Siegel JL, Krellenstein DJ, Gribetz AR, et al. Granulomatous *Pneumocystis carinii* pneumonia in three patients with the acquired immune deficiency syndrome. *Chest.* sept 1988;94(3):580-3.
5. Blumenfeld W, Basgoz N, Owen WF, Schmidt DM. Granulomatous pulmonary lesions in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and *Pneumocystis carinii* infection. *Ann Intern Med.* 15 sept 1988;109(6):505-7.

- 269 6. Boisselle PM, Tocino I, Hooley RJ, Pumerantz AS, Selwyn PA, Neklesa VP, et al. Chest
270 radiograph interpretation of *Pneumocystis carinii* pneumonia, bacterial pneumonia, and
271 pulmonary tuberculosis in HIV-positive patients: accuracy, distinguishing features, and
272 mimics. *J Thorac Imaging*. janv 1997;12(1):47-53.
- 273 7. Gal AA, Koss MN, Strigle S, Angritt P. *Pneumocystis carinii* infection in the acquired
274 immune deficiency syndrome. *Semin Diagn Pathol*. août 1989;6(3):287-99.
- 275 8. McGuinness G. Changing trends in the pulmonary manifestations of AIDS. *Radiol Clin*
276 *North Am*. sept 1997;35(5):1029-82.
- 277 9. Cupples JB, Blackie SP, Road JD. Granulomatous *Pneumocystis carinii* pneumonia
278 mimicking tuberculosis. *Arch Pathol Lab Med*. nov 1989;113(11):1281-4.
- 279 10. Kester KE, Byrd JC, Rearden TP, Zacher LL, Cragun WH, Hargis JB. Granulomatous
280 *Pneumocystis carinii* Pneumonia in Patients with Low-Grade Lymphoid Malignancies:
281 A Diagnostic Dilemma. *Clin Infect Dis*. 1 juin 1996;22(6):1111-2.
- 282 11. Hartz JW, Geisinger KR, Scharyj M, Muss HB. Granulomatous pneumocystosis
283 presenting as a solitary pulmonary nodule. *Arch Pathol Lab Med*. mai
284 1985;109(5):466-9.
- 285 12. Miller ML, Algayed IA, Yogev R, Chou PM, Scholl PR, Pachman LM. Atypical
286 *Pneumocystis carinii* pneumonia in a child with hyper-IgM syndrome. *Pediatr Pathol*
287 *Lab Med J Soc Pediatr Pathol Affil Int Paediatr Pathol Assoc*. févr 1998;18(1):71-8.

- 288 13. Hazzan M, Copin MC, Pruvot FR, Codaccioni MX, Dracon M, Lelièvre G, et al. Lung
289 granulomatous pneumocystosis after kidney transplantation: an uncommon
290 complication. *Transplant Proc.* août 1997;29(5):2409.
- 291 14. Thomas CF, Limper AH. *Pneumocystis pneumonia*: clinical presentation and diagnosis
292 in patients with and without acquired immune deficiency syndrome. *Semin Respir*
293 *Infect.* déc 1998;13(4):289-95.
- 294 15. Y P Bondoc A, White D. Granulomatous *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients
295 with malignancy. *Thorax.* 1 juin 2002;57:435-7.
- 296 16. Walzer PD. *Pneumocystis, Pneumonia*, Second Edition,. CRC Press; 1993. 752 p.
- 297 17. Totet A, Duwat H, Daste G, Berry A, Escamilla R, Nevez G. *Pneumocystis jirovecii*
298 genotypes and granulomatous pneumocystosis. *Med Mal Infect.* avr 2006;36(4):229-31.
- 299 18. Chen F, Sethi G, Goldin R, Wright AR, Lacey CJ. Concurrent granulomatous
300 *Pneumocystis carinii* and *Mycobacterium xenopi* pneumonia: an unusual manifestation
301 of HIV immune reconstitution disease. *Thorax.* nov 2004;59(11):997-9.
- 302 19. Kim HW, Heo JY, Lee YM, Kim SJ, Jeong HW. Unmasking Granulomatous
303 *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia with Nodular Opacity in an HIV-Infected Patient
304 after Initiation of Antiretroviral Therapy. *Yonsei Med J.* juill 2016;57(4):1042-6.
- 305 20. Kim HS, Shin KE, Lee J-H. Single Nodular Opacity of Granulomatous *Pneumocystis*
306 *Jirovecii* Pneumonia in an Asymptomatic Lymphoma Patient. *Korean J Radiol.*
307 2015;16(2):440-3.

- 308 21. Nobile A, Valenti A, Aubert J-D, Beigelman C, Letovanec I, Bongiovanni M.
309 Granulomatous Reaction to *Pneumocystis jirovecii* Diagnosed in a Bronchoalveolar
310 Lavage: A Case Report. *Acta Cytol.* 2015;59(3):284-8.
- 311 22. Fillaux J, Berry A. Real-time PCR assay for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii*
312 pneumonia. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 2013;943:159-70.
- 313 23. Ullmer E, Mayr M, Binet I, Ebnöther-Staub C, Dalquen P, Solèr M, et al.
314 Granulomatous *Pneumocystis carinii* pneumonia in Wegener's granulomatosis. *Eur*
315 *Respir J.* janv 2000;15(1):213-6.
- 316 24. Leroy X, Copin MC, Ramon P, Jouet JP, Gosselin B. Nodular granulomatous
317 *Pneumocystis carinii* pneumonia in a bone marrow transplant recipient. Case report.
318 *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand.* mai 2000;108(5):363-6.
- 319 25. Oki Y, Kami M, Kishi Y, Ueyama JI, Honma S, Sugiyama T, et al. *Pneumocystis carinii*
320 pneumonia with an atypical granulomatous response in a patient with chronic
321 lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma.* avr 2001;41(3-4):435-8.
- 322 26. Gal AA, Plummer AL, Langston AA, Mansour KA. Granulomatous *Pneumocystis*
323 *carinii* pneumonia complicating hematopoietic cell transplantation. *Pathol Res Pract.*
324 2002;198(8):553-8; discussion 559-561.
- 325 27. Lauffer L, Kini JA, Costello P, Godleski J. Granulomatous *Pneumocystis carinii*
326 pneumonia in a non-AIDS patient: an atypical presentation. *J Thorac Imaging.* juill
327 2004;19(3):196-9.

- 328 28. Pontier S, Busato F, Daste G, Genestal M, Recco P, Nevez G, et al. Pneumocystose à
329 forme granulomateuse. *Rev Mal Respir.* 1 nov 2004;21(5, Part 1):989–92.
- 330 29. Shahnaz S, Reich D, Arévalo-Valencia D, Kucinska S, Tulczynska J, Fleischman J.
331 HTLV-1-associated adult T cell leukemia lymphoma presenting as granulomatous
332 pneumocystis jiroveci pneumonia (PJP) and hypercalcemia. *J Gen Intern Med.* mars
333 2007;22(3):420–3.
- 334 30. Otahbachi M, Nugent K, Buscemi D. Granulomatous Pneumocystis jiroveci Pneumonia
335 in a patient with chronic lymphocytic leukemia: a literature review and hypothesis on
336 pathogenesis. *Am J Med Sci.* févr 2007;333(2):131–5.
- 337 31. Chang H, Shih L-Y, Wang C-W, Chuang W-Y, Chen C-C. Granulomatous
338 Pneumocystis jiroveci pneumonia in a patient with diffuse large B-cell lymphoma: case
339 report and review of the literature. *Acta Haematol.* 2010;123(1):30–3.
- 340 32. Hartel PH, Shilo K, Klassen-Fischer M, Neafie RC, Ozbudak IH, Galvin JR, et al.
341 Granulomatous reaction to pneumocystis jirovecii: clinicopathologic review of 20 cases.
342 *Am J Surg Pathol.* mai 2010;34(5):730–4.
- 343 33. Sabur NF, Kelly MM, Gill MJ, Ainslie MD, Pendharkar SR. Granulomatous
344 Pneumocystis jiroveci pneumonia associated with immune reconstituted HIV. *Can*
345 *Respir J J Can Thorac Soc.* 2011;18(6):e86–8.
- 346 34. Kumar N, Bazari F, Rhodes A, Chua F, Tinwell B. Chronic Pneumocystis jiroveci
347 presenting as asymptomatic granulomatous pulmonary nodules in lymphoma. *J Infect.*
348 juin 2011;62(6):484–6.

- 349 35. Sato M, Ito S, Ogura M, Kamei K, Miyairi I, Miyata I, et al. Atypical *Pneumocystis*
350 *jirovecii* pneumonia with multiple nodular granulomas after rituximab for refractory
351 nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol Berl Ger*. janv 2013;28(1):145–9.
- 352 36. Lam J, Kelly MM, Leigh R, Parkins MD. Granulomatous PJP presenting as a solitary
353 lung nodule in an immune competent female. *Respir Med Case Rep*. 2014;11:4–6.
- 354 37. Ramalho J, Bacelar Marques ID, Aguirre AR, Pierrotti LC, de Paula FJ, Nahas WC, et
355 al. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia with an atypical granulomatous response after
356 kidney transplantation. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc*. avr 2014;16(2):315–9.
- 357 38. Patel KB, Gleason JB, Diacovo MJ, Martinez-Galvez N. *Pneumocystis* Pneumonia
358 Presenting as an Enlarging Solitary Pulmonary Nodule. *Case Rep Infect Dis*.
359 2016;2016:1873237.
- 360 39. Kim B, Kim J, Paik SS, Pai H. Atypical Presentation of *Pneumocystis jirovecii* Infection
361 in HIV Infected Patients: Three Different Manifestations. *J Korean Med Sci*. 9 avr
362 2018;33(15):e115.
- 363 40. Taeb AM, Sill JM, Derber CJ, Hooper MH. Nodular granulomatous *Pneumocystis*
364 *jirovecii* pneumonia consequent to delayed immune reconstitution inflammatory
365 syndrome. *Int J STD AIDS*. 2018;29(14):1451–3.
- 366 41. Dako F, Kako B, Nirag J, Simpson S. High-resolution CT, histopathologic, and clinical
367 features of granulomatous *pneumocystis jirovecii* pneumonia. *Radiol Case Rep*. 3 avr
368 2019;14(6):746–9.
- 369 42. Taylor LN, Aesif SW, Matson KM. A case of *Pneumocystis* pneumonia, with a
370 granulomatous response and vitamin D-mediated hypercalcemia, presenting 13 years

371 after renal transplantation. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc.* juin
372 2019;21(3):e13081.

373 43. Martin-Garrido I, Carmona EM, Specks U, Limper AH. Pneumocystis pneumonia in
374 patients treated with rituximab. *Chest.* juill 2013;144(1):258–65.

375 44. Lund FE, Hollifield M, Schuer K, Lines JL, Randall TD, Garvy BA. B cells are required
376 for generation of protective effector and memory CD4 cells in response to *Pneumocystis*
377 lung infection. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 mai 2006;176(10):6147–54.

378 45. Kuhlman JE, Kavuru M, Fishman EK, Siegelman SS. *Pneumocystis carinii* pneumonia:
379 spectrum of parenchymal CT findings. *Radiology.* juin 1990;175(3):711–4.

380 46. Boisselle PM, Crans CA, Kaplan MA. The changing face of *Pneumocystis carinii*
381 pneumonia in AIDS patients. *AJR Am J Roentgenol.* mai 1999;172(5):1301–9.

382 47. Tornatore KM, Venuto RC, Logue G, Davis PJ. CD4+ and CD8+ lymphocyte and
383 cortisol response patterns in elderly and young males after methylprednisolone exposure.
384 *J Med.* 1998;29(3–4):159–83.

385 48. Yazaki H, Goto N, Uchida K, Kobayashi T, Gatanaga H, Oka S. Outbreak of
386 *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in renal transplant recipients: *P. jirovecii* is contagious
387 to the susceptible host. *Transplantation.* 15 août 2009;88(3):380–5.

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

- 392 50. Schmoldt S, Schuhegger R, Wendler T, Huber I, Söllner H, Hogardt M, et al. Molecular
393 Evidence of Nosocomial *Pneumocystis jirovecii* Transmission among 16 Patients after
394 Kidney Transplantation. *J Clin Microbiol.* mars 2008;46(3):966–71.
- 395 51. Kaouech E, Kallel K, Anane S, Belhadj S, Abdellatif S, Mnif K, et al. Pneumocystose à
396 *Pneumocystis jirovecii* : étude comparée de la PCR et des techniques de coloration.
397 /data/revues/03698114/v57i5/S0369811408002484/ [Internet]. 29 juin 2009 [cité 24 août
398 2019]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/220358>
- 399

Table 1. Main characteristics of 49 cases of granulomatous *Pneumocystis jiroveci* pneumonia reported in the literature from 2000 to 2019, and of two news cases diagnosed at Montpellier university hospital in 2018.

Year/Author [Reference]	Age (years)	Sex	Underlying disease	Immunosuppressive therapy	<i>P. jiroveci</i> prophylaxis	Imaging aspect	Histology of the granulomatous reaction	Treatment (duration)	Outcome
2000/Ullmer [23]	62	M	Wegener's granulomatosis	corticosteroids, cyclophosphamide	No	Bilateral nodular infiltrate	Necrosis	atovaquone	Survive/ improved
2000/Leroy [24]	40	M	AML/ASCT	C	No	Bilateral micro- nodular infiltrate	Necrosis, intra- granuloma eosinophilic exudates, multinucleated giant cells	TS	Survive / improved
2001/Oki [25]	52	F	CLL	corticosteroids, cyclophosphamide	No	Bilateral nodules	None	TS	Survive / improved
2002/Bondoc [15]	17	M	Hodgkin's lymphoma	C	Yes	Reticulo- nodular infiltrate	Necrosis, fibrosis	TS	Survive / improved
2002/Bondoc [15]	42	F	CLL	C	No	Reticulo- nodular infiltrate	Necrosis	TS	Survive / improved
2002/Bondoc [15]	56	F	Glioblastoma	corticosteroids	No	Reticulo- nodular infiltrate	Necrosis, fibrosis	pentamidine	Survive / improved
2002/Gal [26]	39	M	CML/ASCT	tacrolimus, methotrexate	Yes	Reticulo- nodular infiltrate	Intra-granuloma eosinophilic exudate, multinucleated giant cells, organizing pneumonia pattern	TS	Death
2002/Gal [26]	39	F	AML /ASCT	C	No	Nodules	Necrosis, eosinophils	TS	Survive / improved
2002/Gal [26]	55	M	Multiple myeloma/ASCT	melphalan	Yes	Reticulo- nodular infiltrate	Necrosis, intra- granuloma eosinophilic exudates	TS	Survive / improved
2004/Chen [18]	35	M	HIV/IRIS	No	Yes	Bilateral nodules, cavitation	None	NA	NA
2004/Lauffer	73	F	Factor VIII inhibitor	corticosteroids,	No	One mass in	Necrosis,	TS	Survive / improved

[27]				rituximab		each lobe	organizing pneumonia pattern	(3 weeks)	
2004/Pontier [28]	57	M	CLL	corticosteroids, chlorambucil	No	Interstitial lung disease	Necrosis, fibrosis	TS	Death
2007/Shahnaz [29]	39	M	T cell lymphoma	No	No	Reticulo-nodular densities, bilateral nodules	Necrosis	TS	NA
2007/Otahbachi [30]	75	F	CLL	corticosteroids, rituximab, alemtuzumab	No	Bilateral interstitial infiltrates	None	TS	Survive / improved
2010/Chang [31]	70	M	DLBL	R-CHOP	No	Solitary nodule	Intra-granuloma eosinophilic exudates	TS (3 weeks)	Survive / improved
2010/Hartel (20 cases) [32]	52 [mean age]	15/5 (M/F)	HIV (7/20) Blood malignancy (6/20) Solid cancer (4/20) IgG deficiency (1/20) Acute encephalitis (1/20) IV drug use (1/20)	NA	NA	Nodular infiltrates (8/16) Solitary nodule (3/16) Diffuse infiltrate (5/16)	Necrosis (16/20) Intra-granuloma eosinophilic exudate (5/20) Eosinophils (6/20) Giant cells (11/20) Fibrous rim (8/20) Calcifications (1/20) Associated intra-alveolar eosinophilic exudate (1/20)	NA	Resolution (6/13) Dead (7/13)
2011/Sabur [33]	40	M	HIV /IRIS	No	No	Bilateral nodules, cavitation	Necrosis	atovaquone	Survive / improved
2011/Kumar [34]	73	M	Follicular lymphoma	R-CHOP	No	Bilateral nodules	Necrosis, multinucleated giant cells, fibrosis	TS	Survive / improved
2013/Sato [35]	3	M	Nephrotic syndrome	corticosteroids, rituximab	No	Bilateral nodules	Necrosis	TS (3 weeks)	Survive / improved
2014/Lam [36]	49	F	None	No	No	Solitary nodule	Necrosis	TS (3 weeks)	Survive / improved
2014/Ramalho [37]	54	F	Kidney transplant	corticosteroids, tacrolimus	No	Bilateral interstitial opacities, ground glass opacities	None	TS (3 weeks)	NA
2015/Nobile [21]	71	F	LMMC	R-CHOP	No	Alveolar consolidation	Necrosis, fibrosis	atovaquone	Survive / improved

							and cysts, ground glass opacities		
2015/Kim HS [20]	69	F	DLBL	R-CHOP	No	Solitary nodule, ground glass opacities	Foamy eosinophilic exudates with granulomas	TS (2 weeks)	Survive / improved
2016/Patel [38]	61	M	DLBL	R-CHOP	No	Solitary nodule, ground glass opacities, atelectasis	Necrosis, organizing pneumonia pattern	atovaquone, corticosteroids	Survive / improved
2016/Kim HW [19]	47	M	HIV/IRIS	No	Yes	Bilateral nodules	None	TS (3 weeks)	Survive / improved
2018/Kim B [39]	43	M	HIV	No	No	Solitary mass	Necrosis, fibrosis	TS (2 weeks)	Survive / improved
2018/Kim B [39]	32	M	HIV	No	No	Nodules, cavitation	Necrosis, intra- alveolar pink foamy exudate	TS (2 weeks)	Survive / improved
2018/Taeb [40]	36	F	HIV/IRIS	No	No	Masses	None	TS (3 weeks) steroids	Survive/ improved
2019/Dako [41]	49	F	T cell lymphoma	No	No	Bilateral nodules, ground glass opacities	None	clindamycin, primaquine (3 weeks)	NA
2019/Taylor. [42]	53	M	Kidney transplant	corticosteroids, mycophenolate, cyclosporine	No	Reticulo- nodular densities, diffuse ground glass opacities	Multinucleated giant cells, organizing pneumonia pattern	TS, clindamycin, primaquine (3 weeks)	Survive / improved
2018/Case 1	78	H	DLBL	R-CHOP	No	Bilateral nodules	Necrosis, fibrosis	TS (3 weeks)	Survive / improved
2018/Case 2	60	F	Hodgkin's lymphoma	C, rituximab	Yes	Solitary nodule	Necrosis, multinucleated giant cells	TS	Survive

AML = Acute myeloid leukemia; NA = not available; CLL = chronic lymphoid leukemia; CML= chronic myeloid leukemia; R-CHOP = rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisolone; C = combination of chemotherapy; ASCT = allogeneic stem cell transplantation; TS = trimethoprim and sulfamethoxazole; DLBL = diffuse large B cell lymphoma; IRIS = Immune reconstitution inflammatory syndrome.

Table 2: Biological diagnosis results according to the used method and sample type for the 51 patients with PGP (49 patients from the literature and 2 patients from Montpellier University Hospital).

Diagnostic method	Sample	
	<i>Pulmonary biopsy</i>	<i>Bronchoalveolar lavage</i>
<i>Direct examination (staining)</i>	49/59	3/29
<i>Direct examination (immunofluorescence)</i>	3/4	1/2
<i>Pneumocystis jirovecii-specific PCR</i>	3/4	5/7

Table 3: Main characteristics of the 40 patients included in the retrospective PCR study

Mean age (years)	60 [12-84]
Male to female sex ratio	26/14
Presence of respiratory symptoms	22/40
Underlying disease	Blood pathology n=11 Solid organ transplant n=5 Solid cancer n=5 Systemic disease n=3 HIV n=1 COPD n=1 None n=13 NA n=1
Histological aspect	Granuloma n=18 <i>Necrosis</i> n=6 <i>Eosinophil contingent</i> n=4 <i>Multinucleated giant cells</i> n=7 Interstitial lung disease without granuloma n=14 Necrosis n=3 Bronchial disease n=1 Normal lung parenchymal n=3 NA n=3
Radiological aspect	Nodule n=9 Micro-nodule n=3 Condensation n=7 Mass n=1 Excavated lesion n=6 Diffuse interstitial lung disease n=3 NA n= 10

HIV = human immunodeficiency virus, COPD = chronic obstructive pulmonary disease, NA = not available.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Pour conclure, la PGP est une forme clinique rare de pneumocystose dont les mécanismes physio-pathogéniques et les facteurs de risques ne sont pas encore tout à fait élucidés. Les principales caractéristiques de cette forme atypique sont la présence fréquente de nodules pulmonaires à l'imagerie et la faible efficacité diagnostique de l'examen du LBA, qui n'est pas, dans ce cas, l'échantillon biologique de choix, comparé aux cas de pneumocystose classique.

De nombreuses pathologies - malignes, infectieuses ou inflammatoires – peuvent être responsables de la formation de nodules, multiples ou solitaires, et le diagnostic d'une infection à *Pj* est rarement évoqué en première intention. La biopsie pulmonaire est le plus souvent nécessaire et l'analyse histologique révèle la présence des granulomes contenant les micro-organismes.

À la suite du diagnostic de deux nouveaux cas de PGP au département de Parasitologie-Mycologie du CHU de Montpellier et à une analyse des données de la littérature, nous avons observé que la PCR quantitative et spécifique de *Pj*, qui tend à remplacer les techniques microscopiques moins sensibles, n'a quasiment jamais été utilisée à partir des échantillons biopsiques pulmonaires. L'étude rétrospective, menée en testant la PCR sur des fragments de tissus pulmonaires de patients restés sans étiologie à leurs nodules, devait mettre en évidence un possible sous-diagnostic de la pneumocystose dans le cadre de cette forme peu commune. Un seul échantillon positif sur les 42 testés a néanmoins permis de démontrer l'intérêt d'utiliser la PCR sur ce type d'échantillon de manière plus systématique en parallèle à l'examen direct par coloration. Il nous apparaît intéressant d'adopter cette stratégie diagnostique en prospectif chez des patients immunodéprimés sélectionnés présentant des caractéristiques cliniques, radiologiques, histologiques et biologiques, compatibles avec une PGP afin de ne pas méconnaître cette infection particulière.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

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

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