

Colonisation par *Pneumocystis*

Période : février 2010 à août 2010

Francis DEROUIN

Hôpital Saint-Louis, APHP – Laboratoire de Parasitologie-Mycologie – Paris

Mots clés : Autopsie, Colonisation, Expérimental, PCR, *Pneumocystis*, Prévalence

Pneumocystis jirovecii est un champignon microscopique atypique, récemment classé parmi les Ascomycètes, responsable de pneumopathies sévères chez les malades immunodéprimés, en particulier au cours du SIDA (Catherinot *et al.*, 2010). Ces dernières années ont marqué un progrès considérable sur le diagnostic de la pneumocystose et la caractérisation génotypique de ce champignon. Cependant, il n'est toujours pas possible de le cultiver et le ou les stades responsables de la transmission aérienne ne sont pas identifiés. L'actualité dans la pneumocystose est directement liée à la performance des techniques de PCR⁽¹⁾ pour la mise en évidence d'ADN de *Pneumocystis* dans les prélèvements respiratoires, y compris chez des sujets asymptomatiques. De là est née la notion de colonisation⁽²⁾ (Morris *et al.*, 2008) c'est-à-dire de présence asymptomatique du parasite même chez des individus cliniquement sains. Deux études récentes réalisées chez l'Homme évaluent sa fréquence dans la population générale sur la base de prélèvements sur sujets vivants ou autopsiés et une troisième, expérimentale, sur macaques infectés, étudie les conséquences sur la fonction respiratoire.

Forte prévalence de la colonisation pulmonaire par *Pneumocystis* à l'autopsie, dans la population générale

Ponce CA, Gallo M, Bustamante R, Vargas SL. *Pneumocystis* colonization is highly prevalent in the autopsied lungs of the general population. Clin Infect Dis. 2010; 50: 347-353.

Analyse

Cette étude *post mortem* a été réalisée par le service médico-légal et l'institut des sciences biomédicales de la faculté de médecine de Santiago (Chili). Son objectif était de rechercher *Pneumocystis* dans les poumons de sujets dont les conditions de décès (cause violente ou décès inattendu) avaient justifié la réalisation d'une autopsie dans un cadre médico-légal. La recherche de *Pneumocystis* a été effectuée par PCR nichée⁽³⁾ sur des fragments de tissu pulmonaire représentant au moins 3 % du lobe supérieur droit, et préalablement broyés, filtrés et centrifugés. Une PCR nichée ciblant le gène rARN mitochondrial de *Pneumocystis*, puis celui de *P. jirovecii*, espèce spécifique de l'Homme, a été utilisée. En parallèle, et sans connaissance des résultats de la PCR, un examen microscopique par immunofluorescence (IF) a été effectué sur une partie des échantillons.

Parmi 77 sujets ne présentant aucun signe macroscopique de pneumonie, la contamination par *P. jirovecii* a été démontrée par PCR chez 50 d'entre eux (64,9 %). *P. jirovecii* a été détecté plus fréquemment chez les sujets autopsiés pour raisons médicales (78,9 %) que dans les cas de mort violente (accidents, suicides, homicides). Parmi ces derniers, la présence de *P. jirovecii* a été retrouvée de façon plus fréquente chez les sujets de moins de 20 ans ou de plus de 60 ans que dans les autres groupes. L'examen par IF, effectué dans 55 cas, a permis de visualiser un faible nombre de *Pneumocystis* dans 34 prélèvements détectés positifs par PCR et aucun des prélèvements déclarés négatifs par la PCR.

Sur la base de ces résultats, les auteurs concluent à une forte

prévalence de *Pneumocystis* dans la population générale, en considérant que l'échantillon étudié en est représentatif. Le pourcentage observé est nettement plus élevé que celui relevé dans d'autres études du même type, ce que les auteurs expliquent par l'analyse d'une grande quantité de tissu pulmonaire et la technique de concentration, préalable à la PCR.

Commentaire

Cette étude est surprenante par l'importance de la prévalence observée à l'autopsie dans la population générale, contrastant avec les prévalences faibles ou nulles rapportées en France ou d'autres pays chez les sujets sains et sans facteur de risque. Certes la taille des échantillons et leur traitement préalable contribuent à optimiser la détection, mais il faut cependant apporter une réserve sur ces résultats en raison de l'utilisation d'une PCR nichée, dont on connaît le risque de faux positifs. Actuellement, la PCR nichée est remplacée de plus en plus par la PCR en temps réel, moins sujette aux contaminations techniques et donc beaucoup plus fiable. Par ailleurs, cette étude manque de précisions sur la population étudiée, dont on ignore si elle est représentative de la population générale.

Colonisation par *Pneumocystis* chez les sujets âgés et performance respective des prélèvements respiratoires utilisés seuls ou en association pour le diagnostic

Vargas SL, Pizarro P, López-Vieyra M, Neira-Avilés P, Bustamante R, Ponce CA. *Pneumocystis* colonization in older adults and diagnostic yield of single versus paired non invasive respiratory sampling. Clin Infect Dis. 2010; 50: e19-21.

Analyse

Réalisée par la même équipe que l'étude précédente, cette enquête avait pour objectif de rechercher *Pneumocystis* chez

des sujets âgés, en utilisant deux techniques de prélèvement non invasives suivies d'une analyse par PCR. Les sujets étaient recrutés dans un centre de médecine préventive et étaient soumis à l'une ou l'autre ou les deux méthodes de prélèvement (écouvillonnage nasal; lavage oropharyngé). Les critères d'inclusions comprenaient: l'âge (supérieur à 65 ans), l'absence de signe respiratoire d'infection, l'absence de pathologie immunosuppressive dans les 5 années précédentes et de prise de médicaments immunosuppresseurs (y compris l'inhalation ou l'administration de corticoïdes), d'antibiotiques ou de cotrimoxazole (traitement de référence de la pneumocystose) dans les 2 à 3 mois précédents. Des prélèvements nasaux ont été effectués par écouvillonnage stérile puis disposés dans 0,5 ml d'eau physiologique, et des lavages pharyngés ont été obtenus en demandant au patient de se rincer la bouche et de se gargariser la gorge pendant environ 1 min avec 10 ml de solution physiologique stérile. Après centrifugation des liquides obtenus, les culots ont été récupérés et analysés avec une PCR nichée, comme dans l'étude précédente. Parmi les 110 sujets (79 femmes, 31 hommes), de l'ADN de *P. jirovecii* a été détecté dans 12,8 % des prélèvements oraux-pharyngés, 10,6 % des écouvillonnages et 21 % dans l'un ou l'autre des prélèvements. Une enquête téléphonique chez tous les patients détectés positifs n'a montré aucun antécédent de pneumocystose dans l'année du prélèvement.

Commentaire

Cette étude vient confirmer la fréquence de l'infection par *Pneumocystis* chez les sujets âgés. Malgré les restrictions que l'on peut avoir sur la PCR nichée (cf. commentaire précédent), cette étude démontre la performance des prélèvements non invasifs simples et de leur association pour identifier les sujets colonisés. Ils permettent ainsi d'obtenir un ordre de grandeur de l'incidence réelle de la colonisation par sous-groupe dans une population donnée, sans avoir recours aux prélèvements tels que lavage broncho alvéolaire (LBA) ou expectoration induite.

La colonisation prolongée par *Pneumocystis* conduit à l'apparition d'une pathologie pulmonaire obstructive chez le macaque expérimentalement infecté par le VIH

Shiely TW, Kling HM, Morris A, Patil S, Kristoff J, Guyach SE, Murphy JE, Shao X, Sciarba FC, Rogers RM, Richards T, Thompson P, Montelaro RC, Coxson HO, Hogg JC, Norris KA. Persistent *Pneumocystis* colonization leads to the development of chronic obstructive pulmonary disease in a nonhuman primate model of AIDS. *J Infect Dis.* 2010; 202: 302-312.

Analyse

Dans cette étude, les liens entre colonisation par *Pneumocystis* et pathologie pulmonaire obstructive ont été étudiés dans un modèle expérimental animal d'infection par le VIH⁽⁴⁾. Des macaques adultes infectés par le SHIV (chimère entre le VIH et le *Simian Immunodeficiency Virus*) ont été exposés à *Pneumocystis*

par contact avec des macaques immunodéprimés infectés par *Pneumocystis*, puis régulièrement suivis sur les plans cliniques (avec exploration des fonctions respiratoires), radiologique et immunologique. Chez les animaux exposés, la colonisation était objectivée par la présence d'une réaction positive en PCR (PCR nichée) dans le liquide de lavage broncho alvéolaire (LBA) et l'augmentation du titre d'anticorps sérique anti-*Pneumocystis*. Après infection, 6 des 8 animaux présentaient une diminution significative de tous les paramètres mesurés lors de l'exploration des fonctions respiratoires, comparativement aux animaux non infectés. Ces manifestations sont associées à des images radiologiques (tomographie scanner) d'emphysème affectant principalement les lobes supérieurs et moyens. Les études effectuées sur les LBA montrent que la colonisation par *Pneumocystis* induit une réponse inflammatoire et la production de cytokines pro-inflammatoires et de type Th2.

Commentaire

Cette étude expérimentale vient appuyer les résultats des études cliniques récentes sur la contribution des infections à *Pneumocystis* à l'aggravation des pathologies pulmonaires obstructives (Morris *et al.*, 2009) et sur la réponse inflammatoire locale au cours de la pneumocystose (Iriart *et al.*, 2010).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les deux études réalisées chez l'Homme confirment que *Pneumocystis jirovecii* est un champignon très répandu dans la population générale (notamment dans ces 2 études réalisées au Chili), sous forme de portage asymptomatique (ou colonisation) dont les conséquences à terme restent encore mal évaluées. En complément, l'étude réalisée chez le macaque indique que la colonisation par *Pneumocystis* conduit à l'apparition d'une pathologie pulmonaire obstructive chez les animaux infectés par le VIH.

Des études expérimentales et cliniques soutiennent l'hypothèse que, chez le sujet immunocompétent, la colonisation pulmonaire est transitoire et fait suite à une primo- ou à une ré-infection, avec un contrôle de la phase initiale puis l'élimination du champignon par le système immunitaire. Des infections répétées sont susceptibles de survenir au cours de la vie. Les conséquences sanitaires de la colonisation ne sont pas connues chez le sujet immunocompétent. Par contre la colonisation par *Pneumocystis* est un facteur d'aggravation chez des sujets présentant une pathologie pulmonaire chronique, et elle peut évoluer vers une pneumocystose chez les sujets immunodéprimés. D'où la nécessité de préciser la prévalence de la colonisation dans la population générale et chez les sujets sensibles (bronchopathes chroniques, immunodéprimés).

La transmission par voie aérienne de *Pneumocystis* est un fait établi, mais ni le stade fongique présent dans l'air, ni les conditions dans lesquelles ce champignon se transmet et se maintient dans la population ne sont élucidés (Calderon et Dei-Cas, 2010). Rappelons que *P. jirovecii* est strictement spécifique de l'Homme et qu'on peut exclure toute source d'origine animale.

La pneumocystose « maladie » étant relativement rare et observée que chez les malades immunodéprimés, le maintien de cette infection ne peut se comprendre sans un « maillon » complémentaire de transmission. Il est donc probable que les sujets colonisés jouent ce rôle épidémiologique en maintenant la transmission de *Pneumocystis* dans la population générale, le plus souvent sous forme asymptomatique (Morris *et al.*, 2008). La capacité des sujets colonisés à excréter *Pneumocystis*, et de ce fait à favoriser la transmission interhumaine de *Pneumocystis* reste à déterminer pour mieux connaître l'exposition de la population et estimer le(s) risque(s) lié(s) à cette exposition.

Lexique

- (1) PCR: « Polymerase chain reaction ».
- (2) La colonisation par *Pneumocystis*: appelée aussi portage ou infection infra-clinique, est définie par la présence du champignon et/ou de son ADN sans signes cliniques de pneumonie. Elle a été mise en évidence chez différents types de patients immunodéprimés ou non, mais aussi dans la population générale, avec de grandes différences de prévalence suivant les études et les pays.
- (3) PCR nichée (Nested PCR): PCR en deux étapes successives, avec deux couples d'amorce différents, le second permettant l'amplification d'une séquence située à l'intérieur du premier produit d'amplification. L'amplification séquentielle permet d'augmenter considérablement la sensibilité du résultat. Cette très grande sensibilité rend cette technique très sensible à toute contamination accidentelle ou croisée au niveau du laboratoire (risque de faux positifs).
- (4) VIH: virus de l'immunodéficience humaine.

Publications de référence

Morris A, Alexander T, Radhi S *et al.* Airway obstruction is increased in *Pneumocystis*-colonized human immunodeficiency virus-infected outpatients. *J Clin Microbiol.* 2009; 47: 3773-3776.

Morris A, Wei K, Afshar K *et al.* Epidemiology and clinical significance of *Pneumocystis* colonization. *J Infect Dis.* 2008; 197: 10-17.

Revue de la littérature

Calderon EJ, Dei-Cas E. *Pneumocystis* infection: unraveling the colonization-to-disease shift. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010; 8: 259-262.

Catherinot E, Lanternier F, Bougnoux ME *et al.* *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *Infect Dis Clin North Am.* 2010; 24: 107-138.

Autres publications identifiées

Gal SL, Héry-Arnaud Gv, Ramel S *et al.* *Pneumocystis jirovecii* and cystic fibrosis in France. *Scand J Infect Dis.* 2010; 42: 225-227.

Cette étude rétrospective, réalisée à Brest montre un faible taux de colonisation chez 76 patients atteints de mucoviscidose, dont les expectorations ont été analysées par PCR quantitative. Étude à confirmer sur des prélèvements pulmonaires plus profonds.

Iriart X, Witkowski B, Courtais C *et al.* Cellular and cytokine changes in the alveolar environment among immunocompromised patients during *Pneumocystis jirovecii* infection. *Med Mycol.* 2010; 48: 1075-1087.

Mise en évidence d'une forte sécrétion d'IL6 dans le LBA de sujets atteints de pneumocystose ou colonisés et d'une relation entre la charge fongique et l'altération de la réponse immunitaire au niveau alvéolaire.

Jarbouli MA, Sellami A, Sellami H *et al.* Molecular diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in immunocompromised patients. *Mycoses.* 2010; 53: 329-333.

Étude de la valeur diagnostique de la PCR et PCR nichée, avec les restrictions que l'on peut apporter sur cette dernière.

Mekinian A, Queyrel V, Durand-Joly I *et al.* PCR *Pneumocystis jirovecii* positive chez les patients atteints de maladie auto-immune: Pneumocystose pulmonaire ou simple colonisation? *Rev Med Interne.* 2010; 31: 194-199.

Malgré les limites de la technique de PCR utilisée, cette étude pose la question de la prise en charge des patients colonisés.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Colonisation, *Pneumocystis*.