

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB -BLIDA 1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : Sciences Biologiques

Option : Parasitologie

Thème :

**Détection moléculaire de la Pneumocystose
au niveau de l'HCA**

Présenté par :

DEMIAI Zineb

Soutenu le : 22/06/2025

YAHIAOUI Naila Serine

Devant le jury composé de :

Présidente

Promoteur

Co-promoteur

Examinatrice

Pr. TAIL G.

Pr. ABDELOUAHED K.

Pr. BENDJOUDI D.

Dr. HALECHE I.

Professeur / USDB1

Professeur en Parasitologie / HCA

Professeur / USDB1

Docteur / USDB1

Année universitaire : 2024–2025

Remerciements :

*Nous tenons à remercier sincèrement le Professeur **ABDELOUAHED Khaled**, promoteur de ce travail, pour la confiance qu'il nous a accordée dès le premier jour. Il a cru en nous dès le début et n'a cessé de nous accompagner avec constance, patience et disponibilité. Sa présence à chaque étape, ses conseils éclairés et son soutien sans faille ont été essentiels à la réalisation de ce mémoire. Nous lui exprimons toute notre reconnaissance pour la qualité de son encadrement et pour l'environnement de travail stimulant qu'il a su créer autour de ce projet.*

*Nos remerciements s'adressent également au Professeur **BENDJOUDI Djamel**, notre co-Promoteur, pour son enseignement rigoureux et les bases solides qu'il nous a transmises tout au long de notre parcours. Sa vision structurée et son exigence scientifique ont contribué à nourrir notre réflexion et guider notre travail.*

Nos remerciements s'adressent aussi à :

*Professeur **TAIL G.**, pour avoir accepté de présider le jury.*

*Docteur **HALLECHE I.**, pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous tenons aussi à remercier l'ensemble du service de Parasitologie-Mycologie de l'Hôpital Central de l'Armée (HCA) pour leur accueil bienveillant et leur accompagnement tout au long de notre stage. Nous exprimons notre gratitude aux biologistes ainsi qu'aux résidents, **CHIHEB Lila, GUELMAMI Hassina, Souad et Mohamed**, pour leur disponibilité, leur soutien quotidien et leur précieuse assistance. Travailler à leurs côtés a été une expérience humaine et professionnelle particulièrement enrichissante.*

Et enfin, merci à toutes les personnes qui, de près ou de loin, nous ont aidées ou soutenues pendant la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Tout commence par un "Alhamdulillah". Si j'ai pu traverser les difficultés et atteindre ce jour, c'est uniquement grâce à l'aide d'Allah.

Je dédie ce mémoire à ...

À mes parents,

Maman *Merci pour ton amour infini, ta patience, tes soins de chaque instant. Tu es la meilleure maman qu'on puisse rêver d'avoir. Je n'imagine même pas ma vie sans toi. Tes câlins, tes mots m'ont portée dans les moments les plus difficiles.*

Tout ce que je suis aujourd'hui, c'est en grande partie grâce à toi.

Papa, *merci pour tes prières, ton soutien discret et tous les sacrifices que tu as faits pour moi. Tu as toujours cru en moi, même dans le silence. Ton encouragement m'a donné la force d'avancer. Je suis tellement fière d'être ta fille je t'aime.*

À mon frère Mouhamed, et à mes sœurs Dodi et Ghada

Merci d'avoir été là, chacun à votre manière. Je ne le dis pas souvent, mais votre soutien m'a vraiment aidée. Je vous aime énormément...

À Feriel et Sirine

Mes amies d'enfance, mon petit cercle Vous avez toujours été là, dans les hauts comme dans les bas. Vous ne m'avez jamais jugée, vous m'avez toujours comprise. Merci d'être restées vraies et présentes. Votre place dans ma vie est précieuse.

À Zineb ma binôme

Notre amitié est, pour moi, l'une des plus belles choses qui me soient arrivées à l'université. Tu es entrée dans ma vie au moment où j'en avais le plus besoin.

On en a traversé : du stress, des nuits blanches, des moments de panique...mais aussi des fous rires, du soutien, et beaucoup de courage.

Tu m'as appris qu'avec de la volonté, on peut aller loin. Merci pour ta force, ton honnêteté, et tout simplement pour être toi...

Et à toi

Ta présence dans ma vie est la plus belle chose qui me soit arrivée.

Ce travail, c'est un peu le vôtre aussi. Merci du fond du cœur d'avoir été à mes côtés jusqu'ici.

NAILA SERINE

Avant toute chose, je rends grâce à Allah Tout-Puissant, pour Sa miséricorde, Sa guidance et
Sa force. Sans Lui, rien de tout cela n'aurait été possible.

Ce travail est dédié à la mémoire de mon cher père, **Dr DEMIAI Abdelmalek**, qui restera à
Jamais mon modèle. Son savoir, sa droiture et les valeurs qu'il m'a transmises me guident
Chaque jour. Tout ce que je fais, je le fais avec l'exigence et l'amour du travail bien fait qu'il
m'a inculqués.

Je dédie également ce mémoire à **ma mère**, ma force silencieuse, celle qui m'a tout donné
Sans jamais rien attendre en retour. Maman, tu es mon pilier, celle qui m'a appris à être forte,
Déterminée, et à toujours croire en moi.

À ma sœur **Afafa et mon frère Ahmed**, mes deux repères. **Afafa**, future docteur en Biologie a
toujours été pour moi une référence. En partageant ses passions, j'ai trouvé ma propre voie
dans ce domaine. Elle a été là, toujours, avec cette complicité unique qui n'appartient qu'aux
liens les plus profonds. **Ahmed**, sa présence vivante, son humour et sa manière d'être toujours
là m'ont profondément marquée. Avec le temps, ton rôle s'est affirmé comme un véritable
appui, à la fois protecteur et essentiel.

Je pense aussi avec affection à **mes tantes et mes oncles**, qui ont toujours été là pour moi, qui
M'ont élevée, entourée et soutenue comme leurs propres enfants. Vous avez tous contribué à
Faire de moi la personne que je suis aujourd'hui.

À tous mes cousins, et tout particulièrement **Madina**, qui a toujours été plus qu'une cousine :
Une confidente, une présence rassurante, une grande sœur de cœur.

À toutes mes meilleures amies, surtout **Razika, Mouna et Soulef** : merci du fond du cœur. Je
Vous avez souvent stressé avec ce mémoire, mais vous avez toujours été là avec patience,
Humour et beaucoup d'amour. Et maintenant, c'est promis : plus de messages paniqués à
Minuit (jusqu'à la prochaine crise).

À mes petites nièces, **Massiva et Melissa**, que j'aime de tout mon cœur. J'ai hâte de vous
Montrer ça quand vous serez assez grandes pour le lire.

Et enfin, à **Serine**, mon binôme dans ce projet et ma meilleure amie dans la vie. Merci d'avoir
Traversé chaque étape à mes côtés. Merci pour ton soutien, ta loyauté, ta présence. Sans toi,
Cette aventure n'aurait pas été la même. Elle n'aurait peut-être même pas été possible.

DEMIAI Zineb

Résumé

La pneumocystose à *Pneumocystis jirovecii* (PPJ) est une infection opportuniste grave touchant les patients immunodéprimés. Son diagnostic repose sur l'analyse de prélèvements respiratoires, mais la sensibilité de l'examen direct étant limitée, la PCR s'est imposée comme une méthode de référence. Dans ce travail, nous avons réalisé une PCR classique et une PCR en temps réel ciblant le gène *MSG*, comparées à trois colorations : bleu de toluidine, MGG et PAS. L'étude a porté sur 57 patients présentant des signes évocateurs de PPJ. La PCR a détecté *P. jirovecii* chez 13 patients (22,8 %), contre seulement 5 par examen direct (sensibilité : 38,46 %, spécificité : 100 %). Ces résultats confirment la supériorité de la PCR, notamment pour les charges fongiques faibles. Toutefois, seule la PCR en temps réel, par la quantification de l'ADN fongique, permet de différencier infection active et simple colonisation.

Mots clés : patients immunodéprimés, PCR classique, PCR en temps réel, *Pneumocystis jirovecii*, pneumocystose.

Abstract

Pneumocystosis caused by *Pneumocystis jirovecii* (PPJ) is a severe opportunistic infection affecting immunocompromised patients. Diagnosis is based on respiratory samples, but due to the limited sensitivity of direct examination, PCR has become a reference method. In this study, we performed conventional PCR and real-time PCR targeting the *MSG* gene, and compared them with three staining techniques: toluidine blue, MGG, and PAS. The study included 57 patients with clinical or radiological signs suggestive of PPJ. PCR detected *P. jirovecii* in 13 patients (22.8%), versus only 5 by direct examination (sensitivity: 38.46%, specificity: 100%). These results confirm the superiority of PCR, especially in samples with low fungal load. However, only real-time PCR, through fungal DNA quantification, can distinguish active infection from colonization.

Keywords: immunocompromised patients, conventional PCR, real-time PCR, *Pneumocystis jirovecii*, pneumocystosis.

ملخص

الرئوية الناتج عن *Pneumocystis jirovecii* داء المتكيسات عدوى انتهازية خطيرة تصيب المرضى ذوي المناعة الضعيفة. يعتمد تشخيصها على تحليل عينات تنفسية، لكن محدودية حساسية الفحص المباشر تجعل من تقنية PCR وسيلة تشخيصية مرجعية. في هذا العمل، أجرينا ٥٥ من PCR التقليدية و PCR في الزمن الحقيقي، باستهداف جين *MSG*، و قارنا النتائج بتقنيات التلوين الاث: الزرق التوليديني، MGG، و PAS. شملت الدراسة 57 مريضا ظهرت عليهم عَمَات سريرية و/أو شعاعية توحى بالصابة. سُفّت PCR وجود *P. jirovecii* لدى 13 مريضا (22.8%)، مقابل 5 فقط بالفحص المباشر (الحساسية: 38.46%، النوعية: 100%). تَوَدَّ هذه النتائج تفوق PCR، خاصة في العينات ذات الحمولة الفطرية المنخفضة. ومع ذلك، فإن فقط PCR في الزمن الحقيقي تسمح، عبر قياس الحمولة الفطرية، بالتمييز بين العدوى الفعلية والسعمار البسيط.

الكلمات المفتاحية: *Pneumocystis jirovecii*، داء المتكيسات الرئوية، عدوى انتهازية، مرضى مابطو المناعة، PCR التقليدية،

PCR في الزمن الحقيقي.

Table de matières

Introduction	1
I.1. Bref aperçu historique sur la pneumocystose	2
I.1.1. La découverte de la maladie 1909 -1912	2
I.2. Etude épidémiologique.....	3
I.2.1. Taxonomie.....	3
I.2.2. Morphologie	4
I.2.2.1. Formes trophiques	4
I.2.2.2. Formes prékystiques.....	4
I.2.2.3. Kyste mature (asque).....	5
I.2.2.4. Corps intra-kystiques (ascospores).....	5
I.2.2.5. Kyste vide	5
I.2.3. Cycle évolutif de <i>Pneumocystis jirovecii</i>	6
I.2.3.1. Cycle asexué de <i>Pneumocystis</i>	6
I.2.3.2. Cycle sexué de <i>Pneumocystis</i>	7
I.2.4. Mode de transmission.....	8
I.2.4.1. Transmission nosocomiale et communautaire	8
I.2.4.2. Transmission verticale	8
I.2.5. Prévalence et incidence de la pneumocystose dans le monde	9
I.2.6. Facteurs de risque.....	10
I.2.6.1. Immunodépression liée au VIH/SIDA	10
I.2.6.2. Utilisation prolongée de corticostéroïdes.....	11
I.2.6.3. La greffe d'organe.....	11
I.2.6.4. Maladies pulmonaires chroniques	11
I.3. Physiopathologie.....	11
I.3.1. Réponse non spécifique	11
I.3.2. Réponse spécifique.....	12

I.3.2.1. Invasion du micro-organisme	12
1.3.2.2. Mise en place de la réaction immunitaire	12
1.3.2.2.1 Réponse à médiation cellulaire	13
1.3.2.2.2 Réponse à médiation humorale.....	13
I.4. Diagnostic.....	13
I.4.1. Diagnostic d'orientation	13
I.4.1.1. Éléments d'orientation.....	13
I.4.1.1.1. La clinique	13
I.4.1.1.2. La radiologie pulmonaire.....	14
I.4.2. Diagnostic de certitude.....	14
I.4.2.1. Diagnostic direct	14
I.4.2.1.2. Prélèvements.....	14
I.4.2.1.3. Les techniques de coloration	15
I.4.2.1.4. Biologie moléculaire	15
I.4.2.2. Diagnostic indirect	16
I.5. Traitement	17
I.6. Prophylaxie.....	17
Chapitre II : Matériels et méthodes	
II.1. Cadre d'étude	18
II.2. Matériel.....	18
II.2.1. Matériel non biologique.....	18
II.2.1.1. Examen direct.....	18
II.2.1.2. PCR.....	20
II.2.1.2.1. Extraction	20
II.2.1.2.2. Amplification	21
II.2.1.2.3. Révélation.....	22

II.2.2. Matériel biologique.....	26
II.2.2.1. Prélèvements.....	26
II.3.- Méthodes	27
II.3.1. Examen direct.....	28
II.3.1.1. Confection de l'étalement	28
II.3.1.2. Coloration au MGG avec kit RAL 555	29
II.3.1.3. Coloration au Bleu de Toluidine.....	30
II.3.1.4. Coloration PAS (PERIODIC ACID SCHIFF).....	31
II.3.2. La technique de PCR	32
II.3.2.1. Extraction	32
II.3.2.2. Amplification.....	33
II.3.2.2.1. PCR en point final.....	33
II.3.2.2.2. La technique de PCR en temps réel (qPCR).....	36
Chapitre III : Résultats et discussion	
III.1. Résultats	39
III.1.1. Résultats des examens directs.....	39
III.1.2. Résultats de la PCR classique	40
III.1.3. Résultats de la PCR en temps réel (RT-PCR)	41
III.1.4. Comparaison des résultats positifs de l'examen direct et de la PCR classique.....	42
III.1.4.1. Calcul des indices de performance	42
III.1.5. Comparaison des résultats positifs de la PCR classique et de la PCR en temps réel	43
III.1.6. Distribution des cas positifs à la PCR en fonction des caractéristiques de la population étudiée	43
III.1.6.1. En fonction de l'âge.....	43

III.1.6.2. En fonction du sexe	44
III.1.6.3. En fonction du type de prélèvement	44
III.1.6.4. En fonction des signes cliniques.....	45
III.1.6.5. En fonction du service de provenance	45
III.1.6.6. En fonction de la cause de l'immunodépression	46
II.2. Discussion.....	47
Conclusion.....	55
Références	56

Liste des figures

Figure 1 : Ultrastructures des différents stades du genre <i>Pneumocystis</i>	6
Figure 2 : Reproduction asexuée et sexuée de <i>Pneumocystis jirovecii</i> chez l'hôte humain.....	7
Figure 3 : Cycle hypothétique de transmission de <i>Pneumocystis</i> spp chez les rongeurs et les humains, en fonction de leur statut immunitaire	9
Figure 4 : Cliché thoracique opacités alvéolo-interstitielles bilatérales d'une pneumocystose	14
Figure 5 : Matériel utilisé dans la coloration au bleu de toluidine.....	19
Figure 6 : Automate DNA extraction instrument, SaMag-12, Sacace	20
Figure 7 : Fiche de renseignement pour la mycologie profonde	27
Figure 8 : Etalement de prélèvements sur les lames	28
Figure 9 : Les étapes de l'extraction dans SaMag 12	32
Figure 10 : Etapes de préparation de l'extraction d'ADN.....	33
Figure 11 : Etape de l'amplification PCR en temps réel réalisées sous hotte.....	34
Figure 12 : Démarrage du programme d'amplification sur le thermocycleur	35
Figure 13 : Formes de ballons dégonflés colorés au MGG.....	39
Figure 14 : Formes de ballons dégonflés colorés au BT.....	39
Figure 15 : Formes de ballons dégonflés colorées au PAS.....	39
Figure 16 : Répartition des résultats de l'examen direct par coloration	40
Figure 17 : Résultats de .. la PCR classique	40
Figure 18 : Répartition des résultats de l'examen par PCR classique	41
Figure 19 : Courbes d'amplification obtenues par RT-PCR pour la détection de <i>Pneumocystis jirovecii</i>	41

Figure 20 : Comparaison des techniques de l'examen direct avec la technique de la PCR classique	42
Figure 21 : Répartition des patients positifs par PCR selon l'âge.....	43
Figure 22 : Répartition des patients positifs par PCR selon le sexe	44
Figure 23 : Répartition des patients positifs par PCR selon les services	45
Figure 24 : Répartition des patients positifs par PCR selon la cause d'immunodépression...	46

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des amorces	34
Tableau 2 : Protocole de l'amplification	35
Tableau 3 : Cycle d'amplification pour la PCR classique	35
Tableau 4 : Cycle d'amplification pour la PCR en temps réel	37
Tableau 5 : Calcul des indices de performances des deux techniques de diagnostics	42
Tableau 6 : Résultats de la distribution des cas positifs à la PCR en fonction du type de prélèvement	44
Tableau 7 : Résultats de la distribution des cas positifs à la PCR en fonction des signes cliniques	45

Liste des abréviations

ARN/r	Acide ribonucléique / ribosomal
BET	Bromure d'éthidium
BM	Biologie moléculaire
Bt	Bleu de toluidine
CIK	Corps intrakystiques
Covid	Coronavirus Disease
H1N1	Virus de la grippe A (H1N1)
HCA	Hôpital central de l'armée
ID	Immunodépression
IFI	Immunofluorescence indirecte
IFN- γ	Interféron gamma
IgG et M	Immunoglobulines G et M
IL	Interleukine
LAB	Liquide d'aspiration bronchique
LBA	Lavage bronchoalvéolaire
MBP	Membrane plasmique
MERS-CoV	Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient
MG	May-Grünwald-Giemsa (à compléter si tu veux garder "MGG")
MGG	May-Grünwald-Giemsa
MSG	Major Surface Glycoprotein (Glycoprotéine majeure de surface)
MT	Marqueur de taille
mtLSU	Mitochondrial Large SubUnit
<i>P. jirovecii</i>	<i>Pneumocystis jirovecii</i>

PAS	Acide périodique de Schiff
Pb	Paires de bases
PcP	<i>Pneumocystis pneumonia</i> (Pneumonie à <i>Pneumocystis</i>)
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDP	Prélèvement distal protégé
PPJ	Pneumonie à <i>Pneumocystis jirovecii</i>
qPCR	Quantitative PCR
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SARS-CoV-2	Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2
SE	Sensibilité
SIDA	Syndrome de l'immunodéficience acquise
SMX	Sulfaméthoxazole
SP	Species
SP	Valeur Prédictive Négative
TAE	Tris Acetate EDTA
TB	Tuberculose
TH	Température d'hybridation
TMP	Triméthoprine
TNF- α	Facteur de nécrose tumorale alpha
ToB	Bleu de toluidine
ul	Microlitre
um	Micromolaire
UV	Ultra-violet
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VO	Voie orale
VPN	Valeur Prédictive Négative
VPP	Valeur Prédictive Positive

Introduction

Introduction

La pneumocystose est une mycose opportuniste causée par *Pneumocystis jirovecii*, un micro-organisme eucaryote ubiquitaire récemment reclassé parmi les champignons. Elle est responsable de pneumopathies interstitielles sévères, potentiellement mortelles en l'absence de traitement **(Kaouech et al., 2009)**. L'infection peut survenir dans divers contextes cliniques et son épidémiologie a évolué au cours des dernières décennies, avec une augmentation des cas en dehors du cadre de l'infection par le VIH, notamment dans les pays industrialisés **(Ripert et al., 2013)**.

En Afrique, les études disponibles rapportent des taux de prévalence variables, allant de 0 à 22 % chez les patients séropositifs. Cette hétérogénéité pourrait refléter des limites d'accès aux techniques de diagnostic sensibles, une sous-notification ou un décès précoce des patients. À l'échelle mondiale, *P. jirovecii* reste un pathogène d'importance, avec environ 500 000 cas estimés chaque année **(Oladele et al., 2018)**.

En Algérie, les données concernant la pneumocystose sont rares et fragmentaires. Aucune étude n'a, à ce jour, exploré la détection moléculaire du pathogène, ce qui souligne un besoin réel de recherches locales ciblées.

Le diagnostic de la pneumocystose reste complexe, en raison de la faible sensibilité des examens directs et de la difficulté à distinguer colonisation et infection active. Les outils de biologie moléculaire, notamment la PCR, constituent une alternative performante, permettant une détection plus sensible et plus rapide **(Matos et al., 2017)**.

C'est dans cette optique que s'inscrit le présent travail, qui vise à évaluer l'apport de la PCR dans le diagnostic de la pneumocystose à *P. jirovecii*, à travers la comparaison des performances de la PCR classique et de la PCR en temps réel avec celles des colorations cytologiques conventionnelles (bleu de toluidine, MGG et PAS), sur des prélèvements respiratoires analysés à l'Hôpital Central de l'Armée (HCA).

Données bibliographiques sur la pneumocystose

I.1. Bref aperçu historique sur la pneumocystose

I.1.1. La découverte de la maladie 1909 -1912

- **1909** : Découverte des organismes du genre *Pneumocystis* par Chagas dans les poumons de cobayes infectés par *Trypanosoma cruzi*. Il pense alors à une nouvelle forme de trypanosome (**Delanoë & Delanoë, 1912**).
- **1910** : Carini observe des organismes similaires dans les poumons de rats infectés par *Trypanosoma lewisi*, qu'il interprète aussi comme un nouveau trypanosome (**Delanoë & Delanoë, 1912**).
- **1912** : Delanoë et Delanoë, à l'Institut Pasteur, réexaminent les observations de Carini et identifient un organisme distinct des trypanosomes. Ils nomment l'espèce *Pneumocystis carinii*, en référence au tropisme pulmonaire et en hommage à Carini (**Delanoë & Delanoë, 1912**).

I.1.2. Évolution de la connaissance clinique de la maladie (1938-1952)

- **1938** : Ammich décrit une pneumonite interstitielle à plasmocytes chez des nourrissons dénutris, d'étiologie inconnue (**Ammich, 1938**).
- **1951-1952** : Vanek et Jirovec rapportent la présence de *Pneumocystis* dans les poumons d'enfants prématurés et dénutris souffrant de pneumonie interstitielle dans des orphelinats d'Europe centrale et orientale (**Vanek & Jirovec, 1952**).

I.1.3. Identification comme pathogène opportuniste (1960-1980)

- **1960** : *Pneumocystis* est reconnu comme pathogène opportuniste chez les enfants immunodéprimés, notamment leucémiques ou avec déficits immunitaires congénitaux
- **1980** : La PCP constitue la maladie inaugurale du SIDA chez plus de la moitié des adultes et adolescents atteints aux États-Unis (**Jaffe et al., 1983**).
- **Fin des années 1990 – 2000** : Malgré les progrès, la pneumocystose reste une cause majeure de morbidité et mortalité chez les patients VIH non traités ou résistants, ainsi que chez les immunodéprimés non VIH (immunosuppresseurs, chimiothérapie) (**Bonnet et al., 2005**).

I.2. Etude épidémiologique

I.2.1. Taxonomie

Initialement identifié comme un protozoaire par Chagas en 1909, ce micro-organisme a connu un reclassement fondamental suite aux progrès des techniques moléculaires. La première hypothèse parasitaire s'appuyait sur des critères morphologiques et physiologiques : absence de paroi fongique visible en microscopie optique, sensibilité aux antiparasitaires comme la pentamidine, et cycle évolutif complexe rappelant celui des protozoaires (**Vanek et al., 1953**). Cette classification prévalut jusqu'aux années 1980, malgré des observations ultra-structurales atypiques.

Le tournant fongique s'amorça avec les travaux pionniers d'Edman en 1988, démontrant par analyse de l'ARNr 18S une parenté génétique incontestable avec les Ascomycètes (**Edman et al., 1988**). *Pneumocystis jirovecii* est un champignon parasite strictement humain, incapable de vivre ou de se multiplier en dehors des poumons de son hôte (**Hauser et al., 2010**). Chaque espèce du genre *Pneumocystis* présente une spécificité d'hôte marquée : *P. murina* infecte les souris, *P. carinii* et *P. wakefieldiae* infectent les rats, tandis que *P. jirovecii* est strictement spécifique à l'être humain (**Cushion et al., 2004**). La confusion historique avec *P. carinii* a été corrigée par Frenkel en 1999, qui a proposé la dénomination *Pneumocystis jirovecii* pour désigner l'espèce humaine, en hommage au parasitologue *Otto Jirovec* (**Frenkel, 1999**).

- **Règne** : Fungi
- **Embranchement** : Ascomycota
- **Sous-embranchement** : Taphrinomycotina
- **Classe** : Pneumocystidomycetes
- **Ordre** : Pneumocystidales
- **Famille** : Pneumocystidaceae
- **Genre** : *Pneumocystis*
- **Espèce** : *Pneumocystis jirovecii* (**Frenkel, 1999**).

I.2.2. Morphologie

I.2.2.1. Formes trophiques

Anciennement appelées trophozoïtes (**Dei-Cas et al., 1990**), les formes trophiques sont majoritaires dans les poumons d'individus atteints de PCP (90–98 %) (**Aliouat-Denis et al., 2008**). Mesurant entre 2 et 10 μm , elles sont extracellulaires, ovoïdes à amiboïdes, limitées par une membrane bilamellaire. Elles présentent des prolongements cytoplasmiques fins (filopodes) qui permettent :

- L'adhésion spécifique aux pneumocytes de type I (**Khalife, 2014**).
- L'augmentation des échanges nutritionnels avec l'hôte (**Khalife, 2014**).
- Une possible fonction de chimioperception (**Khalife, 2014**).

Ces formes sont haploïdes, mononucléées, et se fixent à la surface des pneumocytes sans les pénétrer (**Ham et al., 1971**).

Deux sous-types sont décrits : petites formes sphériques (1–2 μm) et grandes formes amiboïdes (4–8 μm) (Fig. 1). Ces dernières étant à l'origine de la formation des asques par conjugaison (**Dei-Cas, 1996 ; Anofel, 2007**).

I.2.2.2. Formes prékystiques

Les prékystes (3,5–6 μm), ovoïdes et sans pseudopodes, sont entourés d'une paroi trilamellaire semi-rigide. En fonction de la maturation et du nombre de noyaux, trois stades sont distingués (**Dei-Cas et al., 1990 ; Matsumoto & Yoshida, 1984 ; Creusy et al., 1996**).

- **Prékyste précoce** : uninucléé, paroi fine, avec complexes synaptonémaux, suggérant une méiose et un retour au stade diploïde par fusion de trophozoïtes haploïdes.
- **Prékyste intermédiaire** : 2 à 8 noyaux, paroi épaissie avec une couche intermédiaire.
- **Prékyste tardif** : paroi encore plus épaisse ; formation de 8 spores par invagination de la membrane plasmique.

1.2.2.3. Kyste mature (asque)

Mesurant 5 à 8 μm , le kyste est entouré d'une paroi épaisse trilamellaire (**Pean et al., 1980**). Chaque kyste mature renferme 8 corps intrakystiques (CIK) ou ascospores, rapidement libérés dans les alvéoles par rupture de la paroi externe (**Dei-Cas et al., 1990**). L'asque est considéré comme l'élément de transmission du pathogène.

1.2.2.4. Corps intra-kystiques (ascospores)

Les ascospores (1–2 μm), sphériques ou falciformes (en banane), sont uninucléées. La coloration de Giemsa ou l'imprégnation argentique permettent leur visualisation (**Pean et al., 1980**). Une fois mûrs, ils sont libérés via une structure de type foramen et se différencient en trophozoïtes (**Yoshikawa & Yoshida, 1987**).

1.2.2.5. Kyste vide

Ces formes (5–6,5 μm), reconnaissables en microscopie optique par leur aspect en « ballon dégonflé », présentent une paroi altérée et un cytoplasme vide ou partiellement rempli de débris (**Pean et al., 1980**). Ils correspondent à des kystes ayant libéré leur contenu.

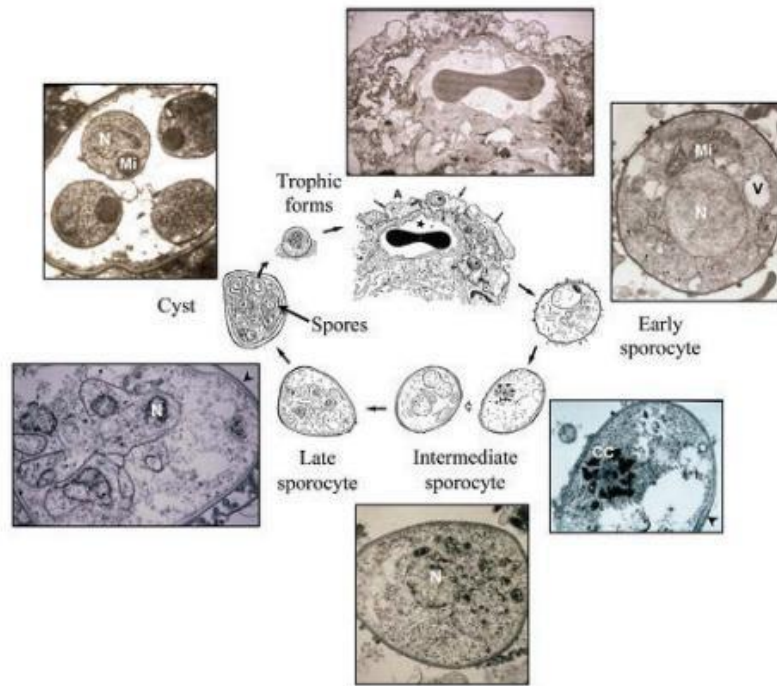


Figure 1: Ultrastructures des différents stades du genre *Pneumocystis* (Aliouat-Denis et al., 2009)

1.2.3. Cycle évolutif de *Pneumocystis jirovecii*

Le cycle biologique de *Pneumocystis jirovecii* demeure mal connu et largement hypothétique, principalement en raison de l'incapacité à cultiver durablement cet organisme *in vitro*. Les connaissances actuelles sont extrapolées à partir de modèles animaux (notamment *P. murina* chez la souris) et d'observations microscopiques chez l'humain (Médecine/Sciences, 2012).

1.2.3.1. Cycle asexué de *Pneumocystis* : Le cycle débute par les formes trophiques, de 2 à 8 µm de diamètre, amiboïdes, mononucléées et à paroi fine. Ces formes végétatives actives colonisent les alvéoles pulmonaires en adhérant préférentiellement aux pneumocytes de type I. La reproduction asexuée s'effectue principalement par fission binaire, assurant ainsi l'amplification locale du pathogène. Une fois formées, les ascospores libérées à partir des kystes peuvent également redonner des formes trophiques, fermant ainsi le cycle asexué par différenciation directe (Médecine/Sciences, 2012).

1.2.3.2. Cycle sexué de *Pneumocystis* : Parallèlement à la multiplication asexuée, *Pneumocystis* peut également suivre un cycle sexué. Deux formes trophiques peuvent fusionner par conjugaison, formant un sporocyte diploïde (ou zygote). Ce dernier subit une méiose, suivie de mitoses équationnelles, générant ainsi huit noyaux haploïdes. Ces noyaux donneront naissance aux ascospores, contenues dans un kyste mature (ou asque). Avant d'atteindre ce stade, le parasite passe par un stade pré-kystique (ou sporocyte intermédiaire), caractérisé par une forme ovoïde multinucléée (Fig. 2). Le kyste mature, de 4 à 7 μm , présente une paroi épaisse riche en β -1,3-glucane, et constitue la forme résistante et infectante, responsable de la transmission interhumaine. La libération des ascospores se fait in situ, probablement via un pore préformé dans la paroi kystique, permettant la reprise du cycle par différenciation en formes trophiques (**Médecine/Sciences, 2012**).

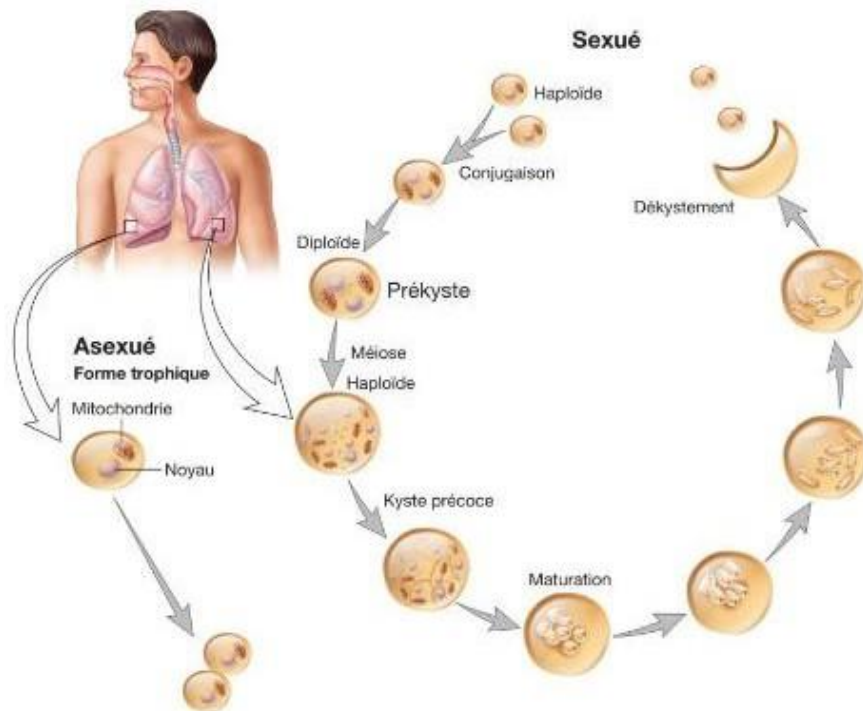


Figure 2 : Reproduction asexuée et sexuée de *Pneumocystis jirovecii* chez l'hôte humain (Willey et al., 2018)

1.2.4. Mode de transmission

1.2.4.1. Transmission nosocomiale et communautaire

Il a été démontré que *Pneumocystis jirovecii* se transmet par voie respiratoire, une caractéristique singulière parmi les champignons pathogènes (Soulez et al., 1991). Ce mode de transmission interhumaine, principalement aéroporté, constitue le principal vecteur de dissémination du parasite. Contrairement à l'hypothèse longtemps admise d'une réactivation d'infection latente acquise durant l'enfance, la pneumocystose résulterait dans de nombreux cas d'une contamination de novo (Morris et al., 2002). Plusieurs arguments viennent étayer cette révision :

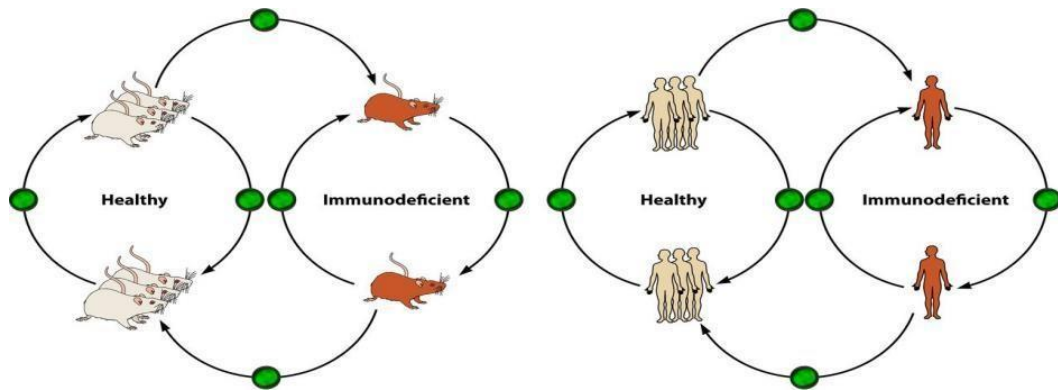
- La détection d'ADN de *P. jirovecii* dans l'air ambiant des hôpitaux et des chambres de patients atteints de pneumocystose, ainsi que la fréquence accrue de la maladie dans certaines régions, suggèrent une transmission aéroportée à partir de porteurs asymptomatiques ou de malades (Bensousan et al., 1990 ; Jacobs et al., 1991).
- Des épidémies hospitalières ont été associées à des génotypes identiques de *P. jirovecii* isolés chez plusieurs patients, ce qui confirme l'existence d'une transmission interhumaine directe en milieu de soins (Chabé et al., 2009).
- Le rôle du personnel hospitalier comme réservoir asymptomatique a également été envisagé, suggérant un portage chronique du champignon et une transmission nosocomiale active (Durand-Joly et al., 2003 ; Nevez et al., 2008).
- En milieu communautaire, des cas groupés ont été signalés, y compris dans des environnements familiaux. L'ADN de *P. jirovecii* a notamment été retrouvé chez des individus immunocompétents vivant à proximité de patients séropositifs ou séronégatifs, atteints ou non de pneumocystose, ce qui souligne l'existence d'un réservoir humain actif (Chabé et al., 2009 ; Rivero et al., 2008).

Malgré les preuves croissantes d'une transmission interhumaine par voie respiratoire, l'isolement des patients atteints de pneumocystose ne figure toujours pas parmi les recommandations cliniques en vigueur (Aliouat-Denis et al., 2008).

1.2.4.2. Transmission verticale

En complément de la transmission horizontale, une transmission verticale transplacentaire a été proposée chez l'humain. Cette hypothèse repose sur la détection d'ADN

de *P. jirovecii* dans les poumons de fœtus ainsi que dans le placenta de femmes ayant fait des fausses couches (Montes-Cano et al., 2009). Bien que cette modalité soit encore peu explorée, elle suggère que *P. jirovecii* pourrait bénéficier d'un mode de transmission protégé des contraintes environnementales, et potentiellement contribuer à certaines fausses couches



dites « spontanées ».

Figure 3 : Cycle hypothétique de transmission de *Pneumocystis* spp. chez les rongeurs et les humains, en fonction de leur statut immunitaire (Ma et al., 2018)

1.2.5. Prévalence et incidence de la pneumocystose dans le monde

Pneumocystis jirovecii est un pathogène opportuniste à distribution cosmopolite, dont la prévalence et l'incidence varient considérablement selon les régions du globe. Ces variations s'expliquent par des facteurs multiples : niveau d'immunodépression des populations (notamment liée au VIH), accès au diagnostic, coexistence avec d'autres pathologies respiratoires (telles que la tuberculose) et l'émergence de nouveaux virus respiratoires et leurs variants (H1N1, coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient MERS-CoV, SARS-coV-2, ...), et politiques de prophylaxie (Akuffo et al., 2002 ; Ripert et al., 2013).

- **Afrique :** En Afrique subsaharienne, la PCP peut représenter jusqu'à 35 % des pneumopathies chez les patients immunodéprimés (Totet et al., 2003). En Afrique du Sud, l'incidence pédiatrique est estimée à 21,3 %, atteignant 54 % avec des techniques sensibles comme la PCR couplée à l'immunofluorescence (Morrow et al., 2010 ; Morrow et al., 2014). Au Cameroun, une incidence de 36,1 % est rapportée, avec une

séroprévalence de 80 % chez les adultes, dont 50 % sont VIH+ (**Nkinin et al., 2009**). Au Sénégal, l'incidence varie de 9 % à 22 % selon les études. Au Malawi, le taux d'incidence est de 4,9 % en milieu pédiatrique, mais monte à 10,7 % selon des études utilisant la biologie moléculaire (**Kamiya et al., 1997**; **Graham et al., 2000**).

- **Afrique du Nord** : Les données nord-africaines sont plus limitées mais montrent des spécificités intéressantes. En Tunisie, la prévalence chez les patients immunodéprimés est rapportée à 18 % (**Ben Abda et al., 2017**), tandis qu'une autre étude la situe à 8,4 % (**Kallel et al., 1998**). Au Maroc, certaines études suggèrent une influence épidémiologique mixte, à la fois européenne et subsaharienne (**Elvin et al., 2016**). En Algérie, un taux de 15 % a été estimé selon un modèle statistique, soit environ 74 cas de patients atteints de PCP et de SIDA par an (**Chekiri-Talbi & Denning, 2017**).
- **Europe** : En France, 35 876 cas d'infections fongiques invasives (IFI) ont été recensés entre 2001 et 2010, dont 26 % étaient des cas de PCP (~9 360 cas). Entre 2012 et 2015, la PCP représentait 19,5 % des IFI (768 cas), avec 24 % des patients co-infectés par le VIH (**Alicia, 2017**). Chez les patients transplantés, l'incidence est estimée à 2,4 cas pour 1 000 patients (**Neofytos et al., 2009**).
- **Asie** : En Asie, les taux de PCP varient fortement selon les pays. En Thaïlande, la prévalence chez les patients VIH+ est de 18,7 à 25,4 %, avec une mortalité élevée. Elle est de 16,7 % au Bangladesh, 8,4 % au Cambodge, et 5 % au Vietnam (**Oladele et al., 2018**). En Inde, elle est estimée entre 5 et 6,1 %, mais atteint jusqu'à 26,5 % avec les techniques moléculaires ; une étude a signalé une incidence de 14 % chez 94 enfants immunodéprimés, dont 14 étaient VIH+ (**Oladele et al., 2018**). En Malaisie, la PCP représente environ 15 % des infections, soit environ 1 286 cas, et constitue la deuxième infection fongique la plus fréquente chez les patients VIH+ (**Velayuthan et al., 2018**).
- **Amérique du Nord** : Aux États-Unis, chez les transplantés d'organes solides bénéficiant d'une prophylaxie anti-Pneumocystis, l'incidence varie de 5 à 15 %, avec des taux plus élevés chez les greffés cardiaques et pulmonaires, et plus faibles chez les greffés rénaux (**Avino et al., 2016**). Au Canada, la PCP représente 4,9 % des infections fongiques invasives (**Haider et al., 2014**).

1.2.6. Facteurs de risque

1.2.6.1. Immunodépression liée au VIH/SIDA

Chez les patients vivant avec le VIH, le principal facteur de risque de pneumocystose est une diminution du taux de lymphocytes CD4+, en particulier lorsque celui-ci devient inférieur à 200 cellules/mm³. En dessous de ce seuil critique, le risque de développer une pneumocystose augmente de manière exponentielle à mesure que le taux de CD4+ diminue davantage (**Morris et al., 2004**).

1.2.6.2. Utilisation prolongée de corticostéroïdes

Dans une étude menée sur 50 cas de pneumocystose survenus chez des patients non infectés par le VIH, Overgaard et Helweg-Larsen ont mis en évidence que l'utilisation de corticostéroïdes ainsi que la chimiothérapie représentaient les principaux facteurs de risque dans cette population (**Overgaard and Helweg-Larsen, 2007**).

1.2.6.3. La greffe d'organe

Les patients ayant subi une greffe d'organe sont particulièrement exposés au risque de pneumocystose en raison des traitements immunosuppresseurs nécessaires pour prévenir le rejet (**Fishman and Gans, 2019**).

1.2.6.4. Maladies pulmonaires chroniques

Les maladies pulmonaires chroniques, telles que la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), la fibrose pulmonaire ou l'asthme sévère, augmentent la vulnérabilité à la pneumocystose. Ces affections altèrent les défenses pulmonaires locales et favorisent l'installation d'agents pathogènes opportunistes. Une étude clinique a révélé que 60 % des patients atteints de pneumocystose présentaient déjà une pathologie pulmonaire sous-jacente. (**Pike-Lee et al., 2021**).

I.3. Physiopathologie

1.3.1. Réponse non spécifique

La réponse inflammatoire est la plus importante des mécanismes non spécifiques de défense de l'hôte contre *P. jirovecii*. Elle se dissocie en deux éléments : la production de composés solubles toxiques pour le microorganisme (cytokines, lysozymes, interféron, monoxyde d'azote) et les éléments cellulaires (macrophages, polynucléaires neutrophiles) (Céré, 1998).

L'adhérence de *P.jirovecii* aux cellules épithéliales provoque le recrutement des macrophages alvéolaires. Ils expriment de nombreux récepteurs qui, lorsqu'ils sont liés aux molécules présentes à la surface du pathogène, provoquent la production d'un grand nombre de molécules pro-inflammatoires tels que le TNF α qui à lui induit la production d'interleuline-8 (IL-8) et d'interféron- γ (IFN- γ) (Carinii, 1910 ; Helweg-Larsen, 2003).

Les récepteurs mannoses des macrophages reconnaissent la glycoprotéine A (ou MSG). Cependant il existe ce qu'on appelle l'échappement immunitaire à cause des variations immunogéniques et antigéniques ou le « switch » d'une protéine MSG à une autre, à savoir que chaque sous population de *P.jirovecii* exprime une glycoprotéine de surface différente (Thomas & Limper, 2007).

1.3.2. Réponse non spécifique

I.3.2.1. Invasion du micro-organisme

Chez l'hôte infecté, *Pneumocystis* sp. colonise de manière préférentielle les alvéoles pulmonaires, où il se développe principalement sous forme trophique. Ces formes trophiques établissent un contact étroit avec les cellules épithéliales alvéolaires de type I via des filopodes, structures cytoplasmiques fines jouant un rôle central dans les interactions hôte-pathogène.

L'adhérence se manifeste par une simple juxtaposition des membranes cellulaires, sans fusion, ce qui permettrait au micro-organisme de proliférer localement tout en inhibant la régénération normale de l'épithélium alvéolaire. Néanmoins, en l'absence de réponse inflammatoire marquée, la présence isolée de *Pneumocystis* n'entraîne pas

d'altérations morphologiques majeures ni de dysfonctionnement notable de la barrière alvéolo-capillaire (Catherinot et al., 2010).

1.3.2.2. Mise en place de la réaction immunitaire

La défense de l'homme contre le *Pneumocystis* ne se distingue pas de celle observée contre d'autres champignons pathogènes du poumon. Les observations faites chez les sujets développant une pneumocystose ont permis de démontrer le rôle essentiel de la réponse immunitaire à médiation cellulaire. La réponse humorale, quant à elle, semble intervenir de façon moins déterminante dans la défense de l'hôte (Ng et al., 1997).

1.3.2.2.1 Réponse à médiation cellulaire

Les lymphocytes T CD4⁺ sont essentiels à la défense de l'hôte face à l'agression fongique. Ils ont comme rôle le recrutement et l'activation des cellules effectrices contre le microorganisme (Blanco & Garcia, 2008). Chez l'Homme, la prolifération pulmonaire de *P. jirovecii* est considérée, dans le cas du SIDA, comme une conséquence de la chute du nombre de lymphocytes CD4. En effet, le risque d'apparition d'une pneumocystose est corrélé au nombre de lymphocytes CD4 circulant. En revanche, les lymphocytes CD8 semblent jouer un rôle moins important (Harmsen & Stankiewicz, 1991).

1.3.2.2.2 Réponse à médiation humorale

Des anticorps sériques anti-*P. jirovecii* (immunoglobulines IgG et IgM) sont fréquemment retrouvés chez les individus sains témoignant d'un contact avec ce champignon. La réponse humorale semble intervenir dans la protection de l'organisme contre cet agent pathogène mais de façon moins déterminante que la réponse à médiation cellulaire (Céré, 1998).

I.4. Diagnostic

Le diagnostic de la pneumocystose repose principalement sur la détection de *Pneumocystis jirovecii* dans les voies respiratoires, initialement par observation microscopique de prélèvements invasifs. Avec le temps, les méthodes se sont améliorées pour devenir plus sensibles et moins invasives, facilitant ainsi la détection chez les patients à risque, notamment immunodéprimés (Esteves et al., 2020).

I.4.1. Diagnostic d'orientation

I.4.1.1. Éléments d'orientation

I.4.1.1.1. La clinique

Les signes cliniques de la pneumocystose sont souvent non spécifiques, quel que soit le profil du patient, et peuvent même être absents au début de l'infection. La présentation typique associe une toux sèche, une dyspnée progressive, et une fièvre parfois élevée et d'apparition brutale, formant une triade évocatrice, bien que certains signes puissent manquer (De Castro et *al.*, 2007).

I.4.1.1.2. La radiologie pulmonaire

La radiologie pulmonaire peut présenter un aspect normal (39 % des cas, surtout aux stades précoces) (Fig. 4), ou atypique ou encore révéler un aspect de « poumons blancs » lors de stades avancés (Catherinot et *al.*, 2010).



Figure 4 : Cliché thoracique : opacités alvéolo-interstitielles bilatérales d'une pneumocystose (photo personnelle de l'HCA)

I.4.2. Diagnostic de certitude

I.4.2.1. Diagnostic direct

I.4.2.1.2. Prélèvements : Il s'agit de prélèvements respiratoires réalisés à différents niveaux de l'appareil respiratoire.

- **Lavage broncho-alvéolaire (LBA) :** Le lavage broncho-alvéolaire (LBA) est considéré comme le prélèvement le plus fiable pour diagnostiquer la pneumocystose. Réalisé lors d'une fibroscopie bronchique, il permet de collecter des échantillons directement à partir du foyer infectieux (**National Institutes of Health [NIH] et al., 2013**).
- **Prélèvement distal protégé (PDP) :** Le prélèvement distal protégé (PDP) est une technique utilisée pour diagnostiquer les infections pulmonaires, y compris la pneumocystose, notamment chez les patients immunodéprimés (**CHU Saint-Étienne, 2019**).
- **Crachats :** L'analyse des crachats, en particulier des crachats induits, constitue une méthode non invasive et économiquement accessible pour le diagnostic initial de pneumonie à *Pneumocystis jirovecii* (PCP). Cependant, sa sensibilité reste limitée, variant entre 50% et 75% chez les patients immunodéprimés non infectés par le VIH, (**Alanio et al., 2016**).
- **Liquide d'aspiration bronchique (LAB) :** Aspiration simple via le fibroscope bronchique des sécrétions bronchiques distales sous contrôle visuel permet d'obtenir des sécrétions des voies respiratoires distales pour le diagnostic de *Pneumocystis jirovecii*. Bien que moins sensible que le lavage broncho-alvéolaire (LBA), il reste une alternative moins invasive (**Alanio et al., 2016**).

I.4.2.1.3. Les techniques de coloration : (Une description détaillée de ces techniques expérimentales sera présentée dans la partie Matériel et méthodes de ce travail)

Les méthodes diagnostiques de la pneumocystose ont longtemps reposé sur la visualisation de *Pneumocystis jirovecii* après coloration, étant donné que ce champignon n'est pas visible à l'état frais. Parmi ces techniques, la plus courante reste l'observation au microscope optique des prélèvements respiratoires après coloration. (**Desoubreaux, et al., 2017**). Cela permet de mettre en évidence à la fois les kystes (asques) et les formes trophiques de *P. jirovecii*. Différentes colorations sont utilisées à cet effet :

- **La coloration au Giemsa**
- **La coloration au Bleu de Toluidine**
- **La coloration à l'Acide périodique de Schiff**

I.4.2.1.4. Biologie moléculaire : (Une description détaillée de ces techniques expérimentales sera présentée dans la partie Matériel et méthodes de ce travail)

a. PCR classique

Une amélioration significative du diagnostic biologique de la PPJ a été possible grâce à la mise au point de la PCR (Polymerase Chain Reaction) permettant d'amplifier et ainsi de détecter l'ADN de *P jirovecii* dans les prélèvements respiratoires. L'utilisation de la PCR apporte un gain de sensibilité et permet de détecter de faibles charges fongiques occultées par les techniques microscopiques. La PCR a l'avantage d'exclure formellement la PPJ lorsque l'examen direct est négatif et qu'une PPJ est fortement suspectée cliniquement (**Bateman et al., 2020**).

- **Limite de la PCR classique :** Les PCR conventionnelles ou nichées ont été les premières techniques mises au point. Non quantitatives, soumises au risque de contamination et parfois laborieuses (PCR nichées), ces dernières ont été largement remplacées par des techniques de PCR en temps réel plus spécifiques et permettant une approche quantitative. Le caractère quantitatif est important puisqu'il permet, partiellement, de faire la distinction entre une colonisation et une infection à *Pneumocystis jirovecii*. (**Bustin et al., 2009**)

b. PCR en temps réel

La PCR quantitative en temps réel (qPCR) est de plus en plus reconnue comme une méthode systématique dans le diagnostic de la pneumocystose (PCP) en raison de sa capacité à détecter et quantifier *Pneumocystis jirovecii* dans les échantillons avec une sensibilité de 97 % et spécifique de 94 %. Cette méthode s'est révélée utile pour la détection de PCP chez les patients non VIH immunodéprimés, qui présentent souvent une charge fongique plus faible, rendant difficile la détection du champignon par examen direct (**Ma, Cissé, & Kovacs, 2018**).

De plus, la qPCR permet d'effectuer des tests sur des prélèvements non invasifs, ce qui est particulièrement avantageux chez les patients trop fragiles pour tolérer un lavage bronchoalvéolaire (LBA) (**Sarasombath et al., 2021**). Elle présente également l'avantage de surveiller en temps réel l'efficacité du traitement, ce qui permet de différencier la maladie active, marquée par une charge fongique élevée, du portage ou de la colonisation, où la charge fongique est faible (**Walzer et al., 2008**). Cependant, la haute sensibilité de la qPCR peut

conduire à la détection de *P. jirovecii* chez des patients colonisés, ce qui soulève la question du seuil de positivité (Sarasombath et al., 2021).

I.4.2.2. Diagnostic indirect

L'immunofluorescence des pneumocytes permet la détection précise de cellules infectées ou activées dans les tissus pulmonaires en utilisant des anticorps spécifiques marqués par des fluorochromes. Cette technique, souvent combinée à des méthodes avancées, facilite l'identification et la localisation des populations cellulaires immunitaires dans différents compartiments pulmonaires, malgré l'autofluorescence naturelle élevée des poumons. Elle est particulièrement utile pour étudier la réponse immunitaire pulmonaire face à des agents pathogènes, en distinguant précisément les macrophages alvéolaires, les lymphocytes et autres cellules impliquées dans l'inflammation pulmonaire (Chang, Smith, & Lee, 2023).

I.5. Traitement

Le triméthoprime-sulfaméthoxazole (TMP-SMX) est le traitement de première intention pour toutes les formes de pneumonie à *Pneumocystis jirovecii* (PCP). Ce médicament, qui agit en inhibant la synthèse de l'acide folique, est utilisé depuis plus de quarante ans avec un taux de succès élevé (Bushby & Hitchings, 1968). La durée du traitement est de 3 semaines chez les patients atteints du SIDA et de 2 semaines chez les patients non infectés par le VIH. Cette durée plus longue chez les patients VIH est justifiée par une charge parasitaire plus élevée et une réponse plus lente au traitement. (Masur et al., 2014).

I.6. Prophylaxie

Les patients infectés par le VIH qui ont eu une pneumonie à *P. jirovecii* ou qui ont une numération des lymphocytes T CD4+ < 200 cellules/microL doivent recevoir une prophylaxie par TMP/SMX ; si cet antibiotique n'est pas toléré, la dapsons ou la pentamidine en aérosol peuvent être utilisées. Ces protocoles prophylactiques sont aussi indiqués chez de nombreux patients non-infectés par le VIH à risque de pneumonie à *P. jirovecii* (Sethi, 2024).

Matériel et méthodes

II.1. Cadre d'étude

Cette étude a été réalisée au sein du service de parasitologie de l'Hôpital Central de l'Armée (HCA). Il s'agit d'une étude prospective, menée sur une période du début de l'année 2025 jusqu'à juin 2025, ayant pour objectif la détection moléculaire de *Pneumocystis jirovecii*. L'étude a porté sur 57 prélèvements respiratoires, comprenant des lavages broncho-alvéolaires (LBA), des crachats et des produits d'expectoration profonds (PDP). Les échantillons ont été envoyés par le service de pneumologie et quelques autres services dans le cadre de la prise en charge de patients suspectés d'infection pulmonaire opportuniste.

II.2. Matériel

II.2.1. Matériel non biologique

II.2.1.1. Examen direct

- Lames porte-objets.
- Pipettes pasteur.
- Fixateurs : méthanol, alginate de sodium 2%.
- Lecture : huile d'immersion (RAL), microscope optique.
- Montage : xylène, lamelles.

a. Coloration au MGG :

Kit de coloration RAL-555 :

Fix-Ral 555	Eosine-Ral 555	Bleu-Ral 555
		

b. Coloration au Bleu de Toluidine :

Acide acétique, éther diéthylique, d'acide sulfurique, eau distillée, acide chlorhydrique, Bleu de toluidine (poudre), éthanol 90°, éthanol absolu.

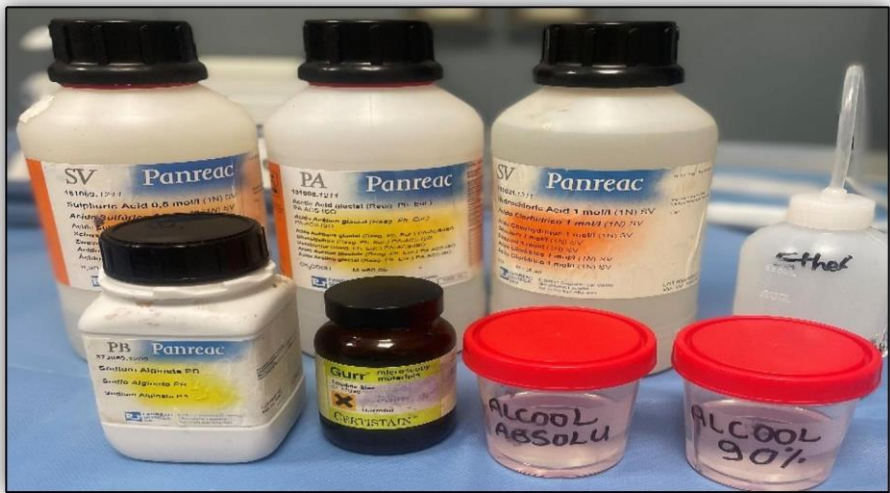


Figure 5 : Matériel utilisé dans la coloration au bleu de toluidine

c. Coloration à l'acide périodique de Schiff :

Acide périodique à 0,8%, eau distillée, réactif de Schiff, solution Hématoxyline de Mayer, alcools (60°, 70°, 80°, 90°, 100°).

Acide Périodique	Alcools + Eau distillée	Réactif de Schiff	Solution Hématoxyline de Mayer

II.2.1.2. PCR :

II.2.1.2.1. Extraction:

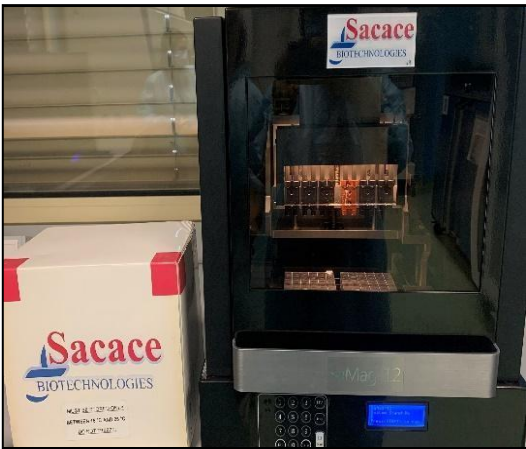


Figure 6: Automated DNA extraction instrument, SaMag-12, Sacace

❖ Equipement utilisé :

SaMag Extraction kit User Manual	Hotte

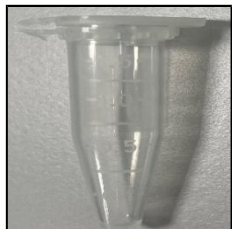
II.2.1.2.2. Amplification : Les manipulations se font sous une hotte à PCR

a. La PCR classique :

❖ Réactifs utilisés :

Eau dépourvue de nucléases	Master Mix	Amorces	Eau pour préparations injectables (ppi)
			

❖ Matériel consommable :

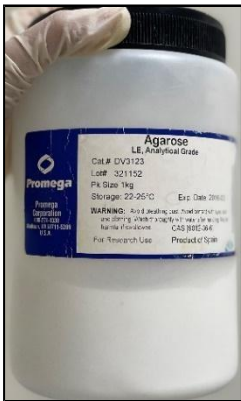
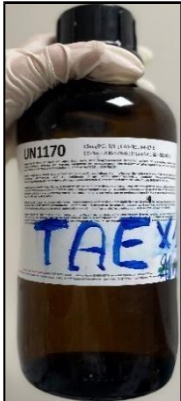
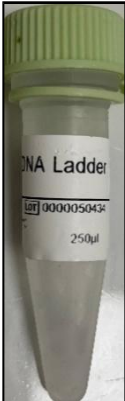
Microtubes (Eppendorfs®)	Embouts de 200 µl et de 10 µl et 20 µl
	

❖ Appareillages :

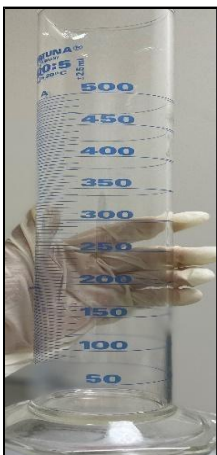
Thermocycleur (BIORAD)	Vortex	Hotte
		

II.2.1.2.3. Révélation :

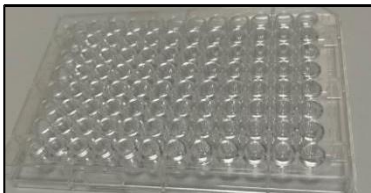
❖ Réactifs utilisés :

Agarose (poudre)	Bromure d'éthidium	Tampon TBE, 10X	Marqueur de taille (MT)	Colorant Blue/Orange
				

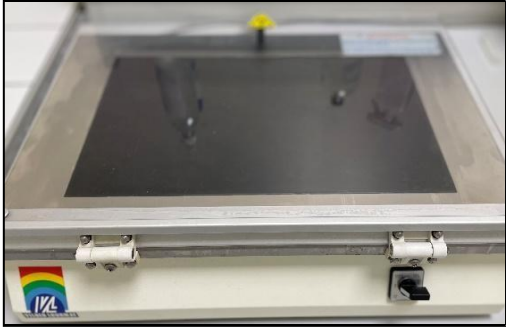
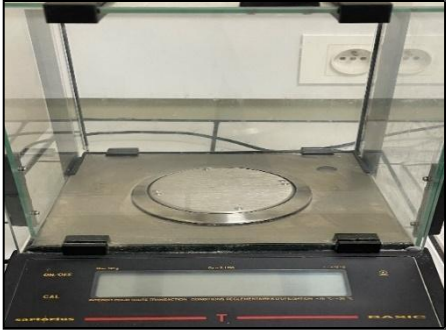
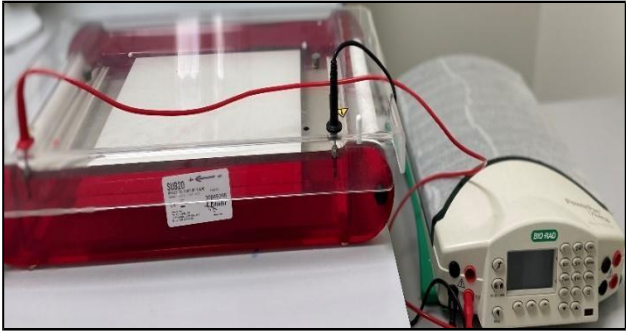
❖ Moule et verrerie :

Moule	Eprouvette	Fiole
		

❖ Matériel consommable :

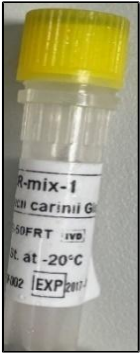
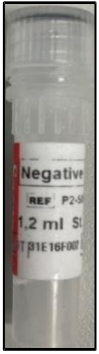
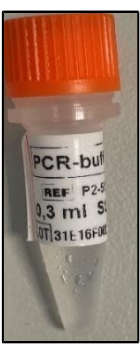
Plaque de micro-titration


❖ Appareillage :

Bain-marie	Table lumineuse à UV (lecture)
	
Balance	Cuve d'électrophorèse (migration)
	

b. La PCR en temps réel (RT-PCR)

❖ Amplification : Kit *Pneumocystis jirovecii* Real-TM Sacace Biotechnologies.

PCR Mix	TaqF Polymerase	Positive Control DNA (C+)	Negative Control (C- / NTC)	Internal Control DNA (IC)	IC Mix (Internal Control Primers + Probe)
					

❖ Appareillages :

Rotor-Gene Q, Applied Biosystems
7500

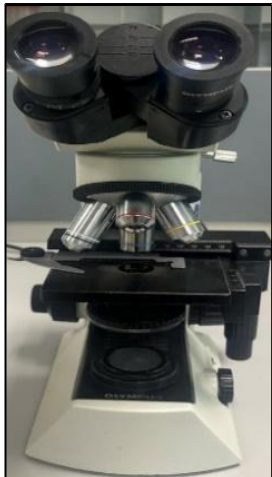


❖ Matériel consommable :

Thin-wall PCR tube



❖ **Matériel utilisé au cours des différentes étapes :**

Boite de pointes filtrantes	Micropipettes à différents volumes	Microscope optique
		

II.2.2. Matériel biologique**II.2.2.1. Prélèvements**

La recherche de *Pneumocystis jirovecii* s'effectue principalement sur des prélèvements des voies respiratoires supérieures et inférieures. Ces prélèvements, provenant de différents niveaux de l'arbre respiratoire, se répartissent en deux catégories :

- Les prélèvements non protégés : tels que le prélèvement distal protégé (PDP),
- Les prélèvements protégés : comme le lavage broncho-alvéolaire (LBA) ou les crachats induits.

Chaque prélèvement a été accompagné d'une fiche de renseignements précisant le nom, le prénom, l'âge du patient, le service hospitalier, ainsi que les signes cliniques afin d'orienter le diagnostic.

FICHE DE RENSEIGNEMENTS POUR LA MYCOLOGIE PROFONDE	
À remplir impérativement par le médecin prescripteur avant tout prélèvement.	
1. Informations administratives	
Nom et prénom du patient:	
Date de naissance: Sexe: ☐ M ☐ F	
Code patient: Date de la prescription: Nom du médecin prescripteur :	
Téléphone / Email (en cas de besoin):	
2. Contexte clinique	
Type d'infection suspectée :	
☐ Aspergillose ☐ Candidose invasive ☐ Cryptococcose ☐ Pneumocystose ☐ Autre :	
Symptômes cliniques :	
Durée d'évolution :	
Terrain prédisposant :	
☐ Immunodépression (VIH, chimiothérapie, greffe, corticothérapie prolongée) ☐ Neutropénie ☐ Hospitalisation prolongée ☐ Séjour en réanimation ☐ Cathéter central ☐ Nutrition parentérale ☐ Antibiothérapie prolongée ☐ Diabète ☐ Sonde urinaire ☐ Autre :	
3. Examens complémentaires	
☐ Hémocultures ☐ Scanner thoracique ☐ Radiographie ☐ Sérologies ☐ PCR ☐ Autres :	
4. Traitements en cours	
Traitement antifongique en cours : ☐ Oui ☐ Non	
→ Précisez:	
Autres traitements :	
5. Nature du prélèvement	
☐ Liquide céphalorachidien ☐ Biopsie / Pièce opératoire ☐ LBA / Aspiration trachéale ☐ Selles ☐ Sang / Myéloculture ☐ Autre :	
Date / heure du prélèvement :	

Figure 7 : Fiche de renseignement pour la mycologie profonde

II.3.- Méthodes

Au cours de cette étude, 57 prélèvements des voies respiratoires ont été collectés :

- 27 lavage broncho-alvéolaire (LBA)
- 15 expectorations (ou crachats)
- 14 prélèvement distal protégé (PDP)
- 1 liquide aspiration bronchique (LAB)

II.3.1. Examen direct

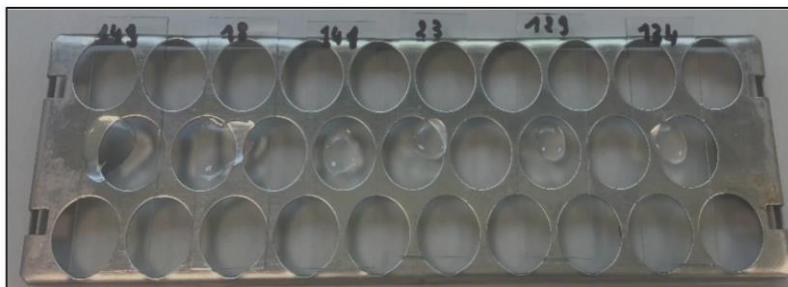
Il consiste en la mise en évidence de *Pneumocystis* sous ses différentes formes : ascospores, formes trophiques (isolées ou en amas).

Les prélèvements sont soumis à un examen microscopique après une coloration spécifique, puis observés au microscope optique, à l'objectif à immersion, avec un grossissement de $\times 100$.

II.3.1.1. Confection de l'étalement

Avant l'analyse microscopique, des frottis sont réalisés à partir des prélèvements biologiques sur des lames de microscope.

1. Le numéro du prélèvement est inscrit directement sur la lame, à l'aide d'un marqueur indélébile ou d'un stylo à encre résistante, afin d'assurer une identification claire.
2. À partir d'un échantillon homogène, une petite quantité est prélevée et étalée finement sur environ les deux tiers de la lame. Un étalement trop épais peut entraîner un décollement lors de la coloration et gêner l'observation microscopique.
3. Une goutte est déposée au centre de la lame, puis répartie délicatement par des mouvements circulaires afin d'obtenir un frottis uniforme.
4. Les lames sont ensuite laissées à sécher à l'air libre pendant un minimum de 12 heures. Un séchage insuffisant, même si la lame semble sèche en surface, peut provoquer le



décollement du frottis pendant les étapes de coloration.

Figure 8 : Etalement de prélèvements sur les lames

II.3.1.2. Coloration au MGG avec kit RAL 555

❖ Principe :

La coloration RAL 555 est une méthode panoptique utilisée en parasitologie et mycologie, notamment pour détecter *Pneumocystis jirovecii* dans les prélèvements respiratoires.

Elle colore les formes végétatives de *Pneumocystis* (trophiques isolées ou en amas) ainsi que les corps intrakystiques. Ces éléments apparaissent dans de grands amas spumeux éosinophiles visibles à faible grossissement. Les noyaux sont rouge pourpre, le cytoplasme bleu, tandis que la paroi des kystes n'est pas colorée, apparaissant en négatif dans les amas. En cas de faible inoculum, l'agent peut passer inaperçu (CDC, 2017), d'où la nécessité d'associer des techniques spécifiques, comme la coloration au bleu de toluidine, pour visualiser la paroi des kystes

Le kit comprend trois réactifs (FIX-RAL, EOSINE-RAL, BLEU-RAL), permettant de réaliser 100 à 200 lames en environ 2 minutes et 5 secondes.

- Plonger la lame dans le FIX-RAL 555 pendant 1 minute.
- Egoutter l'excédent sur du papier filtre.
- Plonger la lame dans L'EOSINE-RAL 555 pendant 25 secondes.
- Egoutter l'excédent sur du papier filtre.
- Plonger la lame dans le BLEU-RAL 555 pendant 40 secondes.
- Rincer rapidement à l'eau distillée.

❖ Lecture

La lecture se fait au grossissement 100, avec l'huile à immersion.

II.3.1.3. Coloration au Bleu de Toluidine

❖ Principe

Le bleu de toluidine, ou chlorhydrate de triméthylthionine, est un colorant métachromatique acidophile qui colore sélectivement les composants acides cellulaires. Il met en évidence la paroi épaisse des formes de *Pneumocystis jirovecii*, y compris les kystes, les asques et les formes trophiques. Cette coloration permet une détection microscopique simple et rapide des kystes fongiques dans les prélèvements respiratoires, notamment le lavage broncho-alvéolaire (**Haute Autorité de Santé, 2017**).

❖ Protocole

➤ Pré-coloration

- La fixation du frottis a été réalisée à l'alginate de sodium : 2 g d'alginate dissous dans 100 mL d'eau distillée au bain-marie, puis étalé sur lame et laissé sécher.
- Sulfatation : On recouvre la lame d'une solution S1 préalablement préparée (25 mL d'acide sulfurique concentré ajoutés goutte à goutte avec agitation). On laisse agir pendant 10 minutes.
- On rince délicatement à l'eau du robinet.
- On laisse sécher à l'air libre.

➤ Coloration

- On recouvre la lame d'une solution S2 préalablement préparée composée de :
 - 0,06 g de bleu de toluidine
 - 60 mL d'eau distillée
 - 2 mL d'HCl concentré
 - 140 mL d'éthanol absolu
- On laisse agir pendant 15 minutes. On rince la lame à l'eau distillée pour éliminer l'excès de colorant.
- On déshydrate rapidement à l'éthanol 95 %.
- On laisse sécher à l'air libre.

❖ Lecture

La lecture se fait avec un grossissement 100, avec l'huile à immersion.

II.3.1.4. Coloration PAS (PERIODIC ACID SCHIFF)

❖ Principe

La coloration PAS met en évidence la paroi riche en polysaccharides des kystes de *Pneumocystis jirovecii* par une réaction chimique d'oxydation suivie d'une coloration rouge magenta, permettant leur détection microscopique dans les prélèvements pulmonaires. Cette technique est un outil classique, souvent combiné à d'autres méthodes pour un diagnostic plus précis. (Franck-Martel, 2016)

❖ Protocole

a. Pré-coloration

- On fixe le frottis dans le méthanol pendant 5 à 10 minutes.
- On laisse sécher à l'air libre.
- On plonge la lame dans de l'acide périodique à 0,8 % pendant 5 minutes maximum à température ambiante.
- On rince à l'eau distillée.

b. Coloration

- On plonge la lame dans le réactif de Schiff pendant 15 minutes, à l'abri de la lumière et de l'oxygène.
- On rince successivement à l'eau chaude du robinet, à l'eau froide, puis à l'eau distillée.
- On place la lame dans la solution d'hématoxyline de Mayer pendant 8 minutes.
- On rince à l'eau du robinet.
- On déshydrate la lame dans des bains d'alcools à degrés croissants pendant 1 minute pour chaque degré, (50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %), puis dans du xylène, pendant 5 minutes.

❖ Lecture

La lecture se fait avec un grossissement x100, avec l'huile à immersion. Un résultat positif est caractérisé par une coloration rose à rouge-pourpre des parois des kystes de *P..jirovecii*.

II.3.2. La technique de PCR

II.3.2.1. Extraction

a. Principe de l'extraction

L'extraction de l'ADN vise à isoler les acides nucléiques à partir d'échantillons biologiques (lavage broncho-alvéolaire, PDP, crachats LAB), tout en éliminant les impuretés et inhibiteurs enzymatiques susceptibles d'interférer avec la PCR.

b. Principe du kit

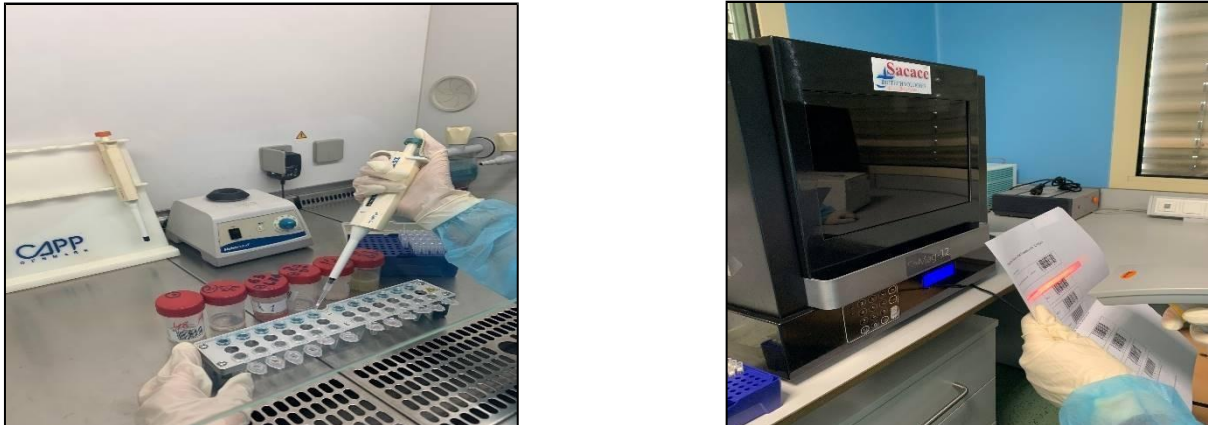
Le kit d'extraction utilisé est celui de Sacace Biotechnologies, compatible avec l'automate SaMag-12. Il repose sur une technique d'adsorption des acides nucléiques sur des billes magnétiques, combinée à une série d'étapes de lyse, lavage et élution. Ce procédé automatisé améliore la reproductibilité et réduit considérablement les risques de contamination croisée (Sacace Biotechnologies, 2021).



Figure 9 : Les étapes de l'extraction dans SaMag 12

c. Protocole

L'extraction a été effectuée sous hotte à flux laminaire MSC Advantage afin de garantir des conditions aseptiques. Pour chaque échantillon, 200 μ L de prélèvement ont été introduits dans les cartouches de l'automate. Après traitement, l'ADN a été élué dans un volume final de 100 μ L. Le processus complet dure environ 45 à 60 minutes, incluant les



étapes de prétraitement, d'automatisation, et d'éluion.

Figure 10 : Etapes de préparation de l'extraction d'ADN

II.3.2.2. Amplification :

II.3.2.2.1. PCR en point final

a. Principe

La PCR classique permet l'amplification d'un fragment spécifique de l'ADN de *Pneumocystis jirovecii* à l'aide des amorces JKK14 (forward) et JKK17 (reverse), ciblant une séquence d'environ 249 pb (MSG). Cette méthode repose sur l'action cyclique d'une ADN polymérase thermostable au cours de trois étapes successives : dénaturation, hybridation et élongation (Mei et al., 1998).

Tableau 1 : Caractéristiques des amorces

Spécificité	Gène	Nom des amorces	Séquence	Taille de l'amplicon
Genre <i>Pneumocystis.spp</i>	MSG glycopro téine A	JKK 14 (Sens)	5'GAATGCAAATCCTTACAGACAACAG 3'	249pb
		JKK 17 (Anti-sens)	5'AAATCATGAACGAAATAACCATTGC 3'	

b. Protocole

Le mélange réactionnel a été préparé pour un volume total de 50 μ L par tube, comprenant :

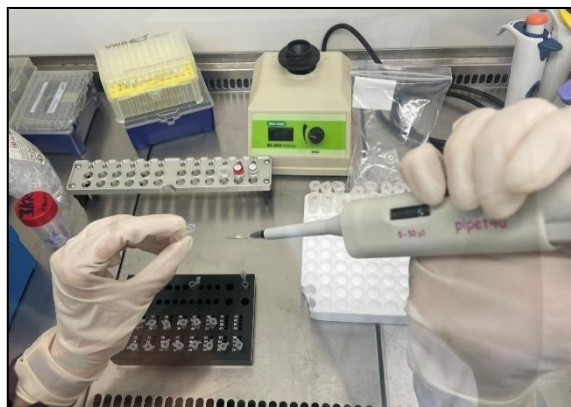


Figure 11: Etape de l'amplification PCR en temps réel réalisées sous hotte

Tableau 2 : Protocole de l'amplification

Composants	Volume ×1
H2O nucléase free water	16 µl
Master Mix (Sacace)	25 µl
L'amorce JKK14	2 µl
L'amorce JKK17	2 µl
ADN extrait	5 µl
Total	50 µl

La réaction a été réalisée sur le thermocycleur MyCycler (Bio-Rad) selon le programme suivant :

Tableau 3 : Cycle d'amplification pour la PCR classique

	Température °C	Durée	Etape
Premier cycle	95°	5 minutes	Dénaturation initiale
40 cycles	95°	30 secondes	Dénaturation
	59°	1 minute	Hybridation
	72°	30 secondes	Elongation
Dernier cycle	72°	5 minutes	Elongation final



Figure 12 : Démarrage du programme d'amplification sur le thermocycleur

b. Révélation**➤ Principe de l'électrophorèse**

L'électrophorèse sur gel d'agarose permet de séparer les fragments d'ADN amplifiés selon leur taille, puis de les visualiser grâce à un agent intercalant fluorescent. Dans ce cas, le bromure d'éthidium (BET) a été utilisé pour révéler les bandes d'ADN sous lumière UV.

❖ Protocole

Un gel d'agarose à 2 % a été préparé dans un tampon TBE 1X, avec l'ajout de 10 µL de BET avant le coulage. Après migration à 100 V pendant 45 minutes, les produits ont été observés au transilluminateur UV. Un marqueur de taille moléculaire (ladder) a été utilisé pour estimer

❖ Lecture

Une bande nette d'environ 249 pb indiquait un résultat positif pour *P. jirovecii*. Les témoins négatifs ne présentaient aucune amplification visible.

II.3.2.2.2. La technique de PCR en temps réel (qPCR)**a. Principe du test :**

La PCR en temps réel (ou qPCR) est une technique qui permet de détecter et de quantifier une séquence spécifique d'ADN au fur et à mesure de son amplification. Elle repose sur l'utilisation de marqueurs fluorescents, dont le signal augmente proportionnellement à la quantité d'ADN amplifié. Cette fluorescence est mesurée à chaque cycle, ce qui permet de suivre la réaction en temps réel et de déterminer le cycle seuil (Ct), point où le signal devient détectable. Plus la quantité d'ADN initial est élevée, plus le Ct est bas. Grâce à sa sensibilité, sa rapidité et sa fiabilité, la qPCR est largement utilisée en recherche et en diagnostic (Bustin et al., 2009).

b. Protocole

Le protocole d'amplification a été suivi selon les instructions fournies par le fabricant du kit :

- Préparer le mix en additionnant 30 µl de TaqF Polymerase dans le tube PCRbuffer-FRT (300µl).

- Vortexer le mix et le contrôle positif.
- Mettre dans chaque tube ou puits 10µl (PCR-mix-1) +5µl du Mix (PCR-buffer-TaqF polymérase).
- Ajouter 10µl de l'ADN extrait.
- Le volume final de la réaction est 25µl.
- Pour chaque run, préparer deux contrôles :
 - 10µl de DNA-buffer pour le contrôle négatif C- (NCA).
 - 10 µl de contrôle positif pour la cupule du Témoin positif (C+).
- Bien mélanger.
- Mettre dans le thermocycleur.

c. Étapes de la PCR en temps réel dans le thermocycleur

Tableau 4 : Cycle d'amplification pour la PCR en temps réel

Étapes	Température C°	Temps	Nombre de cycles
Dénaturation initiale	95°C	15min	1
Dénaturation	95°C	5sec	5
Hybridation	60°C	20sec	
Extension	72°C	15sec	
Dénaturation	95°C	5sec	40
Hybridation	60°C	30 sec	
Extension	72°C	15sec	

Résultats et discussion

III.1. Résultats

III.1.1. Résultats des examens directs

La recherche par examen direct a été effectuée systématiquement pour tous les patients. Sur un total de 57 patients, 5 se sont révélés positifs à l'examen direct.

L'examen direct des prélèvements, après colorations MGG, bleu de toluidine (BT) et PAS, a mis en évidence la présence de formes kystiques matures effondrées de *Pneumocystis jirovecii* (Fig. 13, 14, 15).

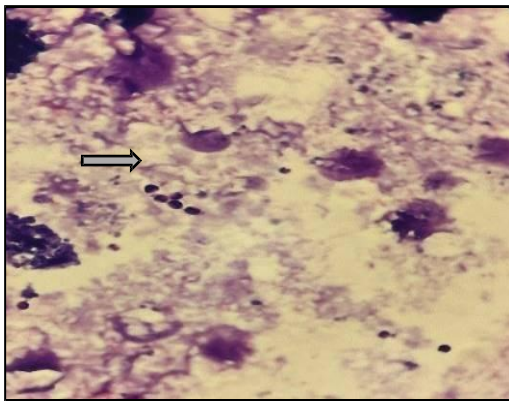


Figure 13 : Formes de ballons dégonflés colorés au MGG (x100)

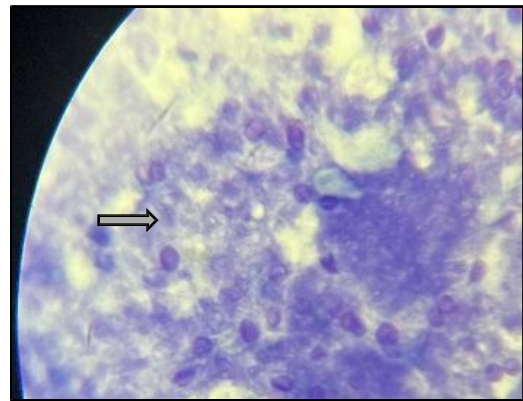


Figure 14 : Formes de ballons dégonflés colorés au BT (x100)

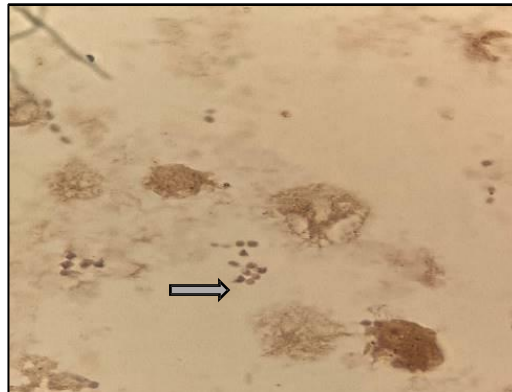


Figure 15 : Formes de ballons dégonflés colorés au PAS (x100)

Parmi les 57 prélèvements 5 étant positifs par les techniques de coloration donc 9 % (Fig. 16).

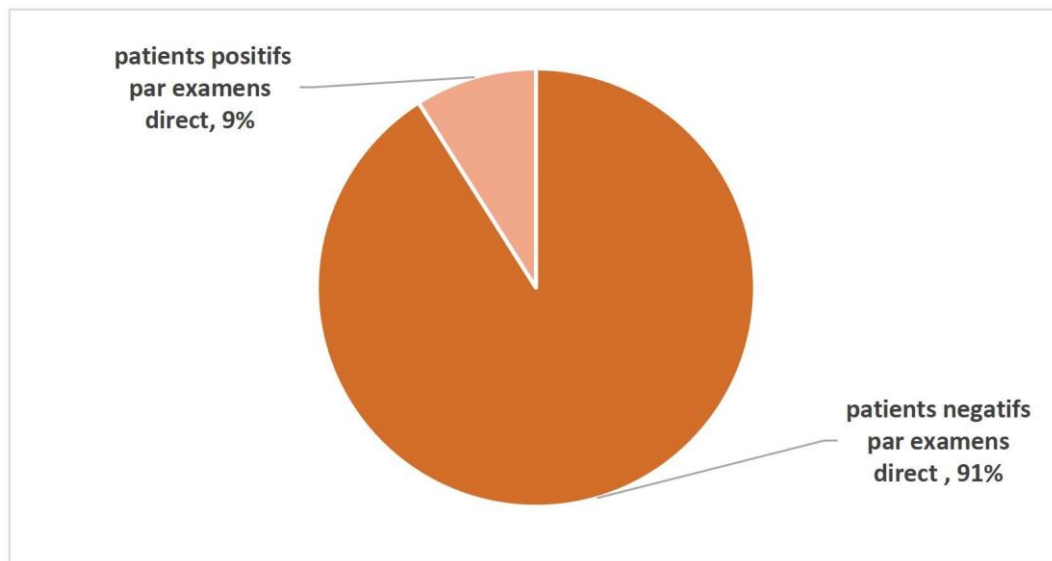


Figure 16 : Répartition des résultats de l'examen direct par coloration

III.1.2. Résultats de la PCR classique

Tous nos patients ont systématiquement bénéficié d'un diagnostic par la PCR (Fig. 17). Parmi les 57 patients, 13 se sont avérés positifs par la PCR, dont une prévalence globale de 22,8% (13 sur 57) (Fig. 18).

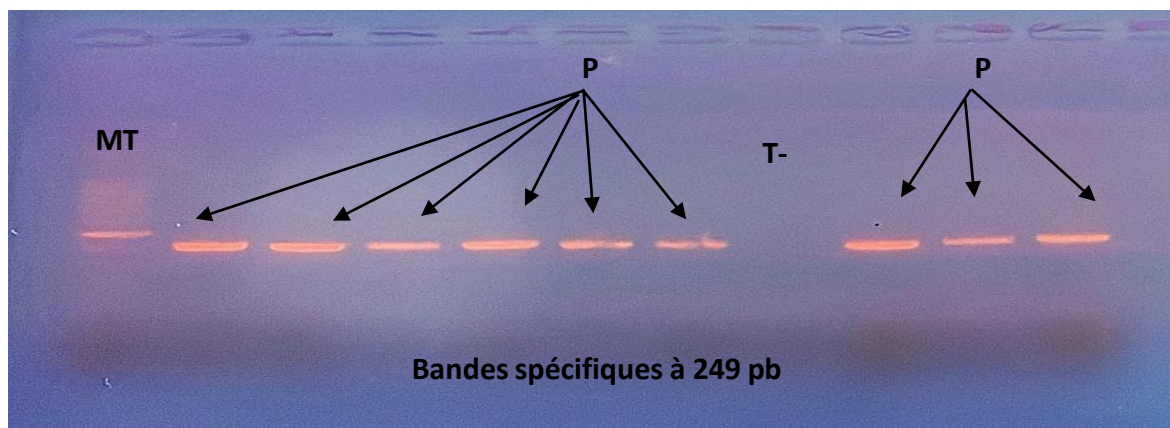


Figure 17 : Résultats de la PCR classique

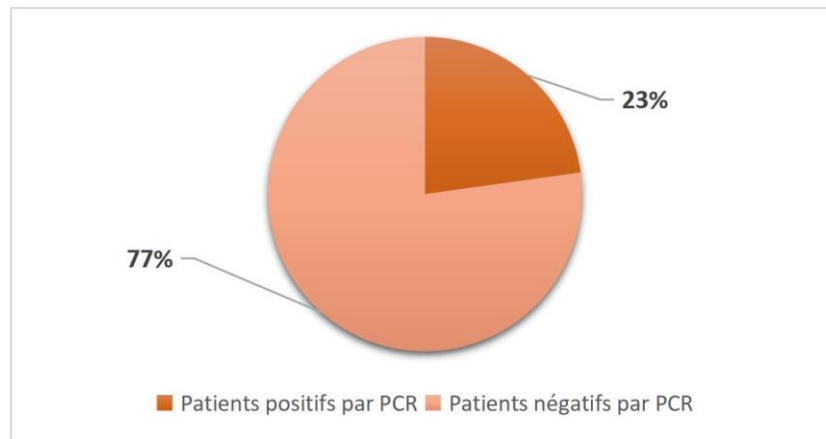


Figure 18 : Répartition des résultats de l'examen par PCR classique

III.1.3. Résultats de la PCR en temps réel (RT-PCR)

Afin d'approfondir les résultats obtenus par PCR classique, une PCR en temps réel a été réalisée sur les 13 échantillons positifs. Tous les échantillons ont montré une amplification significative, avec un cycle seuil comprises entre 7,60 et 10,75, confirmant la présence d'ADN de *Pneumocystis jirovecii*. Le contrôle positif a amplifié à Ct = 23,89, validant la réaction, tandis que le contrôle négatif n'a montré aucune amplification. Le taux de positivité dans ce test est de 100% (13/13).

Par ailleurs, tous ces échantillons présentaient une charge fongique élevée, corrélée à 0 des singes cliniques évocateurs de pneumocystose. Cette association entre forte charge fongique et symptomatologie suggère une infection active par *P. jirovecii*, plutôt qu'une simple colonisation (Fig. 19).

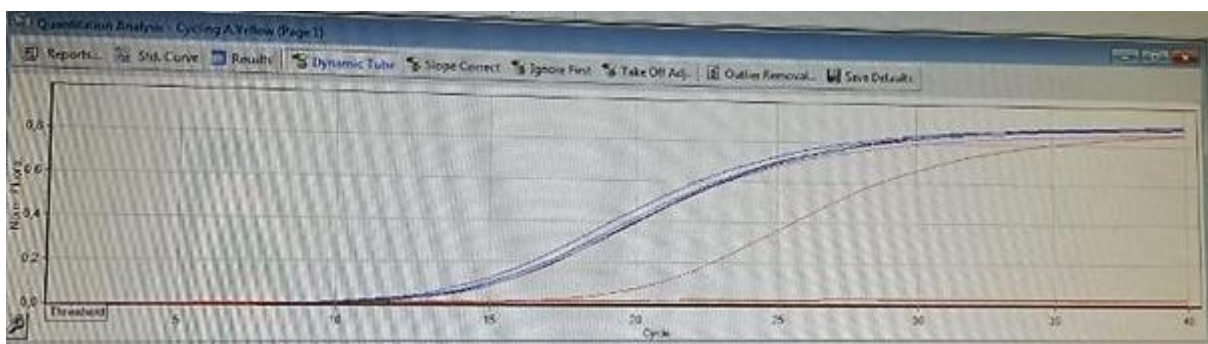


Figure 19 : Courbes d'amplification obtenues par RT-PCR pour la détection de *Pneumocystis jirovecii*

III.1.4. Comparaison des résultats positifs de l'examen direct et de la PCR classique

Afin d'estimer et de comparer au mieux les paramètres obtenus, il était pertinent d'utiliser les mêmes patients pour les deux techniques (Fig. 20). Cela a également permis de limiter la variabilité inter-individuelle pouvant exister au sein d'une même paire de patients. Les résultats obtenus après application des deux méthodes sur l'ensemble de notre échantillon sont les suivants :

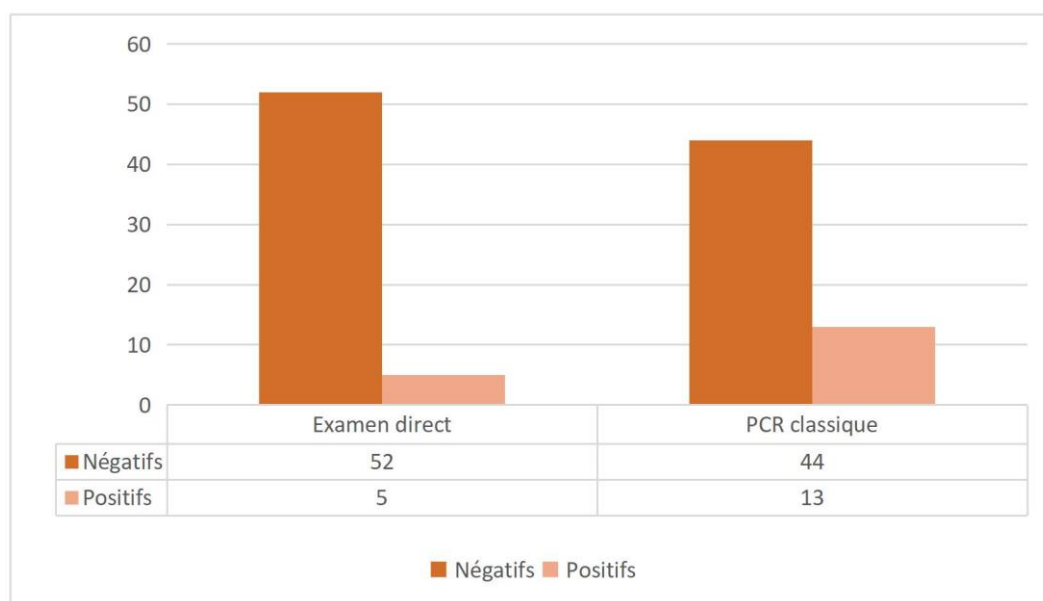


Figure 20 : Comparaison des techniques de l'examen direct avec la technique de la PCR classique

III.1.4.1. Calcul des indices de performance

Les tests de sensibilité/spécificité ainsi que la valeur prédictive positive et négative sont calculés pour les deux techniques. Les résultats sont présentés sur le tableau suivant :

Tableau 5 : Calcul des indices de performances des deux techniques de diagnostics

	Se	Sp	VPP	VPN
Examen direct	38.46%	100%	100%	84.62%
PCR	100%	84.62%	38.46%	100%

III.1.5. Comparaison des résultats positifs de la PCR classique et de la PCR en temps réel

L'utilisation des deux techniques a permis de mettre en évidence leurs caractéristiques respectives. La PCR classique, appliquée à l'ensemble des échantillons, a permis d'identifier les cas positifs de façon qualitative, c'est-à-dire en indiquant simplement la présence ou l'absence de l'ADN de *P. jirovecii*.

En revanche, la PCR en temps réel, appliquée sur un échantillon positif, a fourni des informations supplémentaires grâce à la mesure du Ct. Cette valeur permet d'estimer la quantité d'ADN présente dans l'échantillon, ce qui peut aider à distinguer une simple colonisation d'une infection active. De plus, le suivi de l'amplification en temps réel permet une lecture rapide et précise du signal.

Ainsi, la PCR classique reste utile pour un dépistage initial, tandis que la PCR en temps réel apporte une meilleure précision diagnostique lorsqu'on souhaite évaluer la charge fongique.

III.1.6. Distribution des cas positifs à la PCR en fonction des caractéristiques de la population étudiée

III.1.6.1. En fonction de l'âge

Parmi les 57 patients inclus dans l'étude, la pneumocystose a été davantage diagnostiquée chez les individus âgés de 22 à 79 ans. Chez les 13 patients atteints, l'âge moyen était de 49,8 ans.

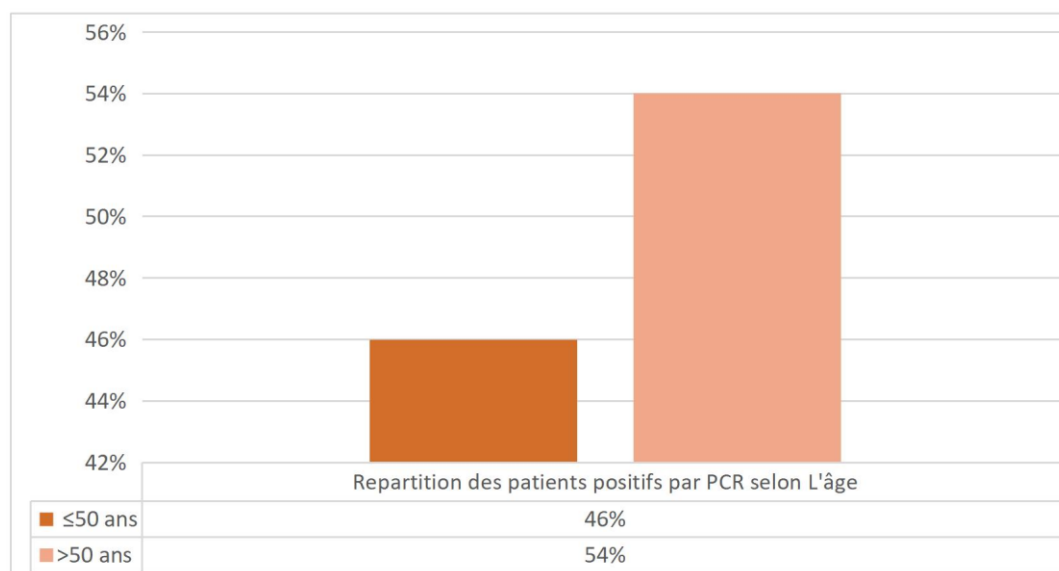


Figure 21 : Répartition des patients positifs par PCR selon l'âge

III.1.6.2. En fonction du sexe

L'étude comptabilise sur 13 patients positifs 8 hommes et 5 femmes correspondant à une sex-ratio (H/F) de 1,6 en faveur des hommes (Fig. 22).

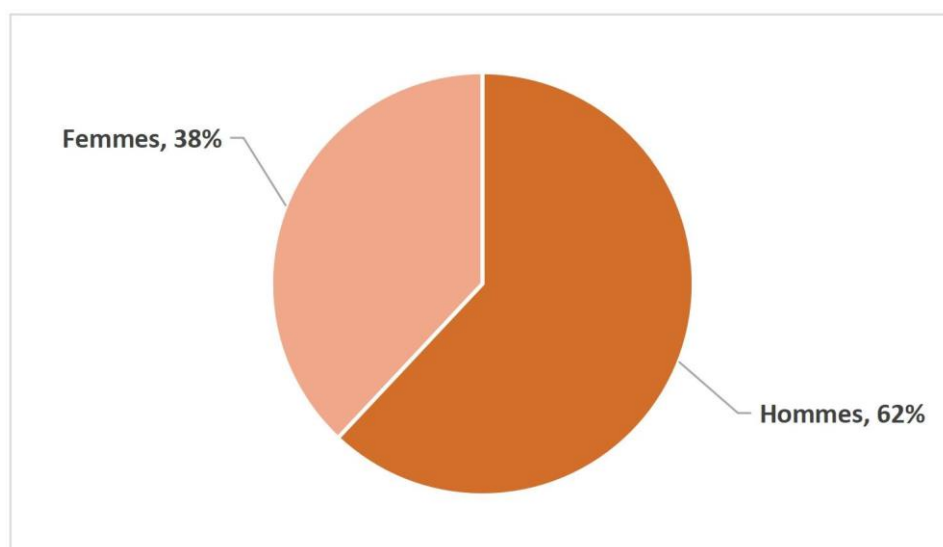


Figure 22 : Répartition des patients positifs par PCR selon le sexe

III.1.6.3. En fonction du type de prélèvement :

Nous avons réparti les résultats positifs selon différents types de prélèvement pour les deux techniques (Tab. 6).

Tableau 6 : Résultats de la distribution des cas positifs à la PCR en fonction du type de prélèvement

Types de prélèvements	LBA	Crachats	PDP	LAB
Prélèvement(s) positif(s)	(8/27) 29,62%	(3/15) 20%	(1/14) 7,14%	(1/1) 100%

III.1.6.4. En fonction des signes cliniques

Parmi les 13 patients positifs par PCR, 7 ont présenté une toux, 6 une dyspnée, 5 une fièvre, 2 une pneumopathie hypoxémiante (Tab. 7).

Tableau 7 : Résultats de la distribution des cas positifs à la PCR en fonction des signes cliniques

Signes cliniques	Pourcentage chez les positifs
Toux	53,84 %
Dyspnée	46,15 %
Fièvre	38,46 %
Pneumopathie hypoxémiante	15,38 %

III.1.6.5. En fonction du service de provenance

Parmi les 13 patients qui se sont révélés positifs par PCR, la majorité provenait du service de pneumologie (46,15%). Un effectif plus faible provenait des autres services (maladies infectieuses, oncologie et rhumatologie) (Fig. 23).

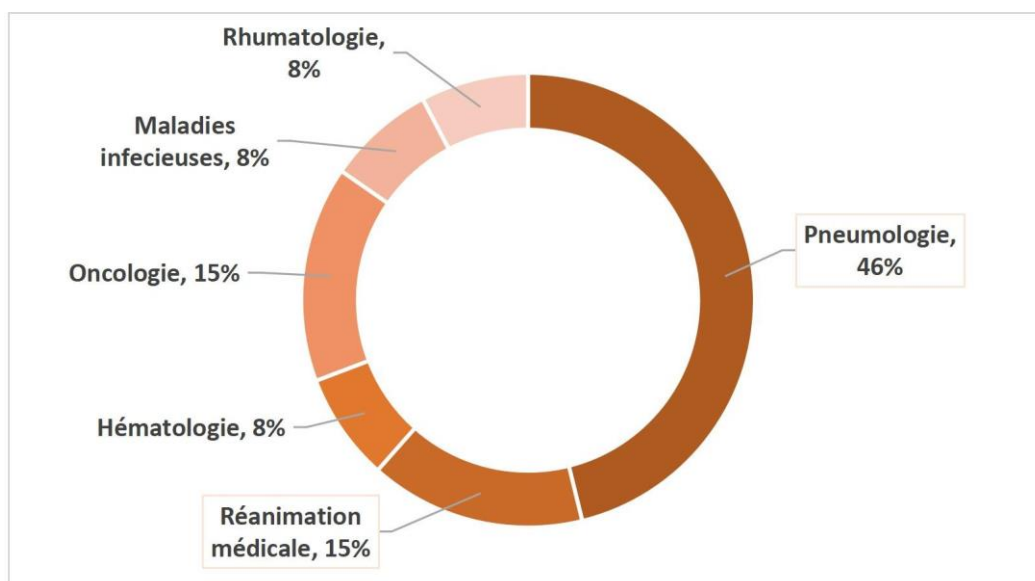


Figure 23 : Répartition des patients positifs par PCR selon les services

III.1.6.6. En fonction de la cause de l'immunodépression

L'immunodépression est le point commun entre tous nos patients. Cependant, la cause d'immunodépression était différente d'un patient à un autre. Pour la plupart des patients positifs à la PCR, l'immunodépression est liée à une corticothérapie (Fig. 24).

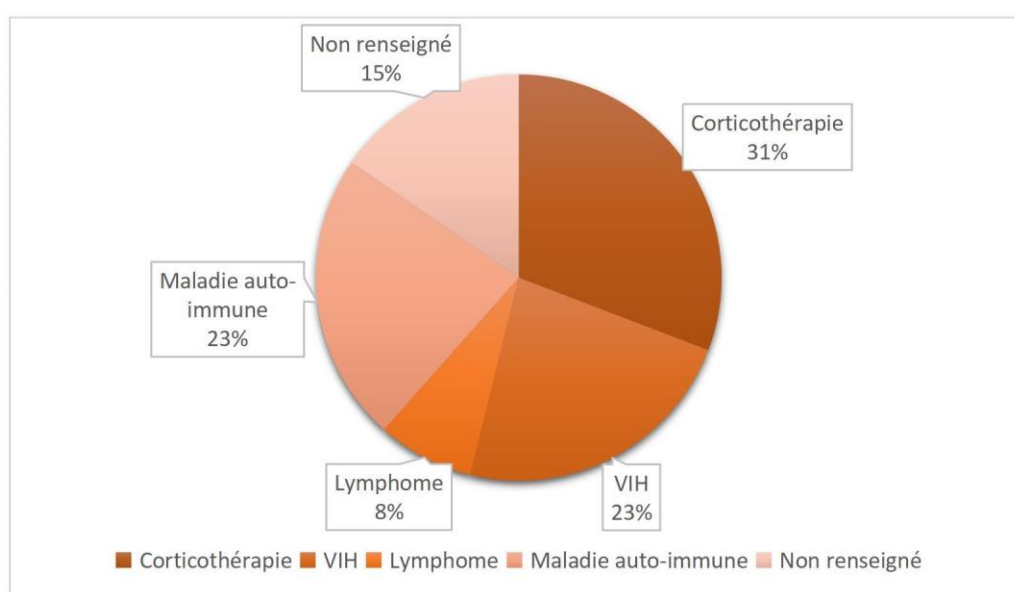


Figure 24 : Répartition des patients positifs par PCR selon la cause d'immunodépression

II.2. Discussion

Pneumocystis jirovecii, classé actuellement parmi les fungi, est un champignon opportuniste ubiquitaire, responsable de pneumopathies interstitielles sévères chez les individus immunodéprimés, notamment chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (Xue et al., 2019). Toutefois, en dehors du contexte VIH, l'infection à *P. jirovecii* peut également survenir dans diverses situations d'immunosuppression, qu'elles soient d'origine iatrogène (liée aux traitements immunosuppresseurs), acquise (par exemple chez les patients atteints de cancers hématologiques) ou congénitale.

Considéré comme un problème de santé publique à l'échelle mondiale, *P. jirovecii* est associé à des taux de morbidité et de mortalité significatifs. Chez les patients vivant avec le VIH, la mortalité liée à la pneumocystose (PPJ) est estimée à environ 40 % (Calderón-Sandubete et al., 2002; Stern et al., 2014). Cette pathologie présente un enjeu encore plus préoccupant chez les patients non infectés par le VIH, où l'incidence varie entre 10 % et 40 %, avec une mortalité pouvant atteindre 50 % (Monnet et al., 2008).

Pendant de nombreuses années, le diagnostic de la pneumocystose a été limité par la faible sensibilité des techniques conventionnelles, notamment l'examen microscopique des prélèvements respiratoires, et par l'absence de culture in vitro de l'agent pathogène (White et al., 2017). L'examen microscopique, bien qu'utilisé couramment, repose fortement sur la charge parasitaire et la compétence de l'opérateur. L'émergence des techniques de biologie moléculaire, et en particulier la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), a révolutionné la détection de *P. jirovecii*, en permettant une identification sensible et spécifique de son ADN dans les échantillons cliniques. Cette avancée a largement contribué à améliorer la précision diagnostique, la prise en charge thérapeutique et la compréhension épidémiologique de l'infection (Ma et al., 2018).

En Algérie, les données épidémiologiques relatives à la pneumocystose restent limitées. Peu d'études ont été conduites sur sa prévalence réelle ou sur les méthodes diagnostiques employées. À ce jour, aucune recherche locale n'a été consacrée à la caractérisation moléculaire de *P. jirovecii*, soulignant ainsi la nécessité d'investigations approfondies dans ce domaine.

Parmi les 57 échantillons qui ont fait l'objet de notre travail, 5 se sont révélés, positifs par microscopie en utilisant des techniques de coloration, à savoir le PAS, le BT et le Giemsa, soit un taux global de 9% avec une valeur prédictive positive (VPP) de 1.

La totalité des résultats positifs était en corrélation avec la clinique : les cinq patients en question présentaient tous au moins un des symptômes évocateurs de la PPJ. Trois de ces patients présentaient également des signes radiologiques typiques (syndrome interstitiel bilatéral).

Un taux de positivité proche à celui qu'on a obtenu a été rapporté lors d'une étude similaire réalisée à Tunis, avec un taux global de positivité de 9,26% (**Kaouech et al., 2009**).

Les résultats d'une étude africaine menée chez des patients infectés par le VIH asymptomatiques se rapprochent des nôtres, avec un taux global de positivité de 9 % (**Ndongo et al., 2013**).

Des taux beaucoup plus faibles ont été retrouvés lors d'une étude prospective en Chine, (**Zhang et al., 2020**) avec un taux de 1,2 % et une VPP de 1.

La PCR classique, quant à elle, a révélé 13 cas positifs, soit un taux global de 22,8 %.

Les résultats d'une étude réalisée en Iran se rapprochent de nos résultats, avec un taux global de positivité de 21,9 % pour *Pneumocystis jirovecii*, obtenu par PCR classique sur des prélèvements de lavage broncho-alvéolaire (**Izadi et al., 2014**), ce qui pourrait refléter des contextes cliniques similaires. Un taux beaucoup plus faible, estimé à 3%, a été retrouvé lors d'une étude aux Etats-Unis. (**Doyle et al., 2017**), probablement en lien avec la diminution de la pneumocystose dans ces régions, favorisée par une prise en charge optimisée des patients VIH+ grâce à la trithérapie et aux stratégies de prophylaxie (**National Institutes of Health, 2024**). Dans ces pays, l'infection reste principalement inaugurale du sida ou sporadique chez les patients VIH (**Latouche et al., 2000**).

Les résultats obtenus par la RT-PCR pour la détection de *P. jirovecii* montrent une excellente performance analytique. La valeur de Ct entre 7,60 et 10,75 observée dans notre étude, bien inférieure au seuil de positivité de 38 recommandé par **Sacace Biotechnologies, (2020)**, indique une charge fongique fortement élevée, confirmant une infection active plutôt qu'une simple colonisation. Ces données sont concordantes avec les études de **Alanio et al. (2016)** et **Morris et al. (2004)** qui établissent qu'un Ct <25 correspond généralement à une infection active nécessitant un traitement.

Certains patients positifs par PCR ne le sont pas en microscopie. La PCR classique peut être positive chez des patients plus ou moins immunodéprimés, sans infection réelle à *P. jirovecii*. Ces cas, négatifs en microscopie, sont généralement considérés comme des sujets « colonisés », car de faibles quantités d'ADN de *Pneumocystis* peuvent être détectées dans les prélèvements respiratoires de sujets asymptomatiques. On parle alors de « colonisation », mais aussi de « portage », « infection infraclinique » ou « infection asymptomatique » (**Gutiérrez et al., 2011**).

Alors que la population saine adulte n'est habituellement pas colonisée par *P.jirovecii*, la colonisation est de 10 à 70% chez les patients infectés par le VIH (**Vera & Rueda, 2021**).

Dans notre étude, la sensibilité obtenue avoisine les 38.46%% pour les techniques microscopiques et 100% dans le cas de la PCR. Ces résultats confortent ceux de l'étude de **Kaouech et al. (2009)** avec une sensibilité de 33,3 % pour les techniques microscopiques et de 93,3% pour la PCR.

Nos résultats sont cohérents avec ceux des études théoriques : Les sensibilités de la PCR varient de 87 à 100% alors que celles des techniques de coloration sont comprises entre 25 et 67 % (**Weig et al., 1997**).

Concernant la spécificité, nos résultats ont révélé une spécificité de 100% pour les techniques microscopiques et de 84% pour la PCR classique. Ces derniers se rapprochent encore une fois des résultats obtenus dans les études de **Kaouech et al. (2009)** et **Flori et al. (2004)** : une spécificité de 100% pour la microscopie et 87% pour la PCR.

Les méthodes microscopiques présentent de nombreux avantages car elles sont rapides, faciles à réaliser, et peu coûteuses. Cependant, leur inconvénient principal est de ne pas détecter les prélèvements pauci-parasitaires. En effet, un résultat négatif par l'examen direct n'exclut pas la possibilité d'une infection à *Pneumocystis jirovecii*.

La charge fongique peut varier chez les patients atteints d'une PPJ, selon le statut immunitaire.

Les méthodes moléculaires avec leur grande spécificité, se sont avérées utiles pour pallier ce problème car elles permettent de détecter de faibles quantités d'ADN de *P. jirovecii*.

Les méthodes d'amplification d'ADN ont l'avantage de dupliquer de manière sélective une partie du génome de *P. jirovecii* et ce indépendamment de la quantité présente dans l'échantillon analysé.

En effet, l'examen direct dépend de la richesse du prélèvement, mais aussi de l'étape du cycle à laquelle se trouve le microorganisme, du type du prélèvement et de son délai d'acheminement. La technique de coloration de la lame, ainsi que la lecture du technicien peuvent aussi influencer sur le résultat.

La PCR, peut détecter de faibles quantités d'ADN, et est dotée d'une grande sensibilité.

Les étapes d'extraction et de purification constituent des étapes primordiales qui déterminent la qualité de la PCR.

De plus, notre PCR utilise des amorces qui ciblent un gène codant pour la MSG de *Pneumocystis jirovecii*, qui se répète dans le génome un grand nombre de fois ce qui augmente davantage la sensibilité de la technique (**Kovacs et al., 1993**).

Les techniques microscopiques constituent un degré de certitude et se démarquent par leur spécificité élevée, elles ont l'avantage de confirmer le diagnostic de la PPJ par la mise en évidence des formes typiques.

En effet, la PCR classique donne des résultats positifs même dans le cas d'une colonisation et ne différencie pas de ce fait la PPJ d'un portage sain, elle permet donc d'identifier les cas positifs d'une manière qualitative (présence ou absence de l'ADN *P. jirovecii*). Tandis que la RT-PCR, nous a permis de quantifier l'ADN présent dans l'échantillon, et ce grâce à la valeur du Ct mesuré avec cette technique, on peut donc distinguer une simple colonisation d'une infection active, et même suivre l'amplification en temps réel, ce qui permet une lecture rapide et précise du signal.

Néanmoins, la spécificité de la PCR classique est relativement faible par rapport aux techniques de microscopiques, à cause des faux positifs qui sont dus à des hybridations au hasard (problème des réactions croisées), et même celle de la RT-PCR, essentiellement à cause de la confusion entre la colonisation et l'infection.

La PCR classique peut être envisagée pour un dépistage initial, mais la PCR en temps réel, grâce à sa meilleure spécificité, s'avère plus adaptée pour une évaluation précise de la charge fongique (**Sarasombath et al., 2021**).

Notre population est composée majoritairement de patients adultes. Nous avons constaté que la tranche d'âge la plus touchée est de 41-60 ans tous étant des patients VIH négatifs, avec un âge moyen de 50 ans. Ces résultats sont comparables à ceux de (**Elidrissi,**

Ait Batahar & Amro (2019) selon lesquels l'âge moyen au moment de l'épisode de pneumocystose est de 46 ans et de 50 ans pour Battikh et al en Tunisie (**Battikh et al., 2007**).

Aucune étude n'a montré que les sujets âgés avaient un risque plus élevé de contracter une pneumocystose, mais l'étude de **Vargas et al. (2010)** a porté sur une population dont les critères d'inclusions comprenaient : l'âge supérieur à 65 ans, absence de signes respiratoires d'infection, l'absence de pathologie immunosuppressive dans les 5 années précédentes et de prise de médicaments immunosuppresseurs, d'antibiotiques ou de cotrimoxazole dans les 2 à 3 mois précédents et sans antécédents de pneumocystose ; L'ADN de *P. jirovecii* a été détecté dans 10 à 20% des prélèvements (**Ponce et al., 2010**).

Ainsi, les sujets âgés sont considérés comme des sujets exposés à la colonisation, avec risque de passage au stade pathologique de pneumocystose en cas d'immunodépression ou d'aggravation d'une pathologie pulmonaire existante.

Tout terrain d'immunosuppression confondu, l'étude comptabilise 8 hommes et 5 femmes correspondant à un sex-ratio (H/F) de 1,4 en faveur des hommes.

Nous avons supposé que cette prédominance pouvait être due à des facteurs tels que le caractère militaire de l'hôpital ou le tabagisme qui est prédominant chez les hommes en Algérie (**OMS, 2018**).

En fait, le tabagisme entraîne une altération de la clairance mucociliaire, ce qui pourrait faciliter la colonisation par *P. jirovecii*. En bref, la colonisation par le tractus respiratoire inférieur de *Pneumocystis*, associée au tabagisme, pourrait être un facteur qui augmente ou maintient la réponse inflammatoire, accélérant ainsi la progression de la maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC) (**Calderón, 2009**).

LBA reste le prélèvement gold-standard pour la détection de *P. jirovecii*. En cas de contre-indication, d'autres types de prélèvements sont aussi possibles, comme l'aspiration des sécrétions bronchiques qui est la méthode la plus adaptée pour un patient en réanimation (**Daurat, 2017**).

Dans notre série, les types de prélèvements analysés étaient majoritairement des lavages broncho-alvéolaires (LBA), suivis des crachats et, plus rarement, des ponctions d'épanchement pleural (PDP). Les LBA représentaient la majorité des prélèvements positifs, avec 8 cas positifs sur 27, soit 29,62 %. Les crachats ont montré une positivité de 20 %, tandis que les PDP n'ont révélé qu'un seul cas positif soit (7,14 %). Notons également un cas

particulier d'un LBA provenant d'un laboratoire externe (LAB), qui s'est révélé positif, représentant 100 % (1/1) de positivité pour ce type spécifique de prélèvement.

Ces résultats montrent une meilleure performance du LBA en termes de détection de *Pneumocystis jirovecii*, ce qui corrobore avec les données de la littérature. En effet, une étude menée par **Alanio et al. (2011)** a comparé la sensibilité de différents types de prélèvements à savoir : LBA, chez des patients immunodéprimés. Ils ont rapporté une sensibilité de 90 % pour les LBA, contre seulement 40 à 60 % pour les échantillons des voies respiratoires supérieures, notamment les crachats ou les aspirations trachéales, même en utilisant la PCR en temps réel (**Alanio et al., 2011**).

En ce qui concerne les symptômes, la fréquence de la toux, de la dyspnée et de la fièvre étaient respectivement de 53,84 %, 46,15 % et 38,46 %. Cependant, la triade complète n'était présente que chez 3 patients, les autres patients positifs présentent au moins un de ces symptômes. Ces résultats concordent avec ceux de la littérature selon lesquels les symptômes les plus fréquents de la PPJ sont la toux sèche (95%), la fièvre (80%) et la dyspnée progressive (95%) (**Truong & Ashurst, 2019**).

La réponse inflammatoire de l'hôte provoque des lésions pulmonaires importantes et une altération des échanges gazeux, entraînant une hypoxie et éventuellement une défaillance respiratoire. 15,38% de nos patients ont présenté une pneumopathie hypoxémiante, avec une patiente qui était en arrêt cardio-respiratoire (**Truong & Ashurst, 2019**).

La PPJ survient surtout chez les patients ayant un système immunitaire fragilisé. Les groupes classiques affectés par la PPJ sont des patients infectés par le VIH et présentant des hémopathies malignes comme les lymphomes. Ainsi, l'étude de la PPJ en milieu hospitalier est effectuée sur des patients du service de pneumologie (46,15 %) et du service de maladies infectieuses (8%), patients présentant des manifestations cliniques de type respiratoire ou étant infectés par le virus du VIH.

Les patients suspects de notre étude proviennent aussi des services d'hématologie, d'oncologie, de rhumatologie et de réanimation médicale. En effet, l'incidence de la PPJ est en augmentation dans d'autres groupes tels que les patients atteints de maladies auto-immunes et autres affections inflammatoires ; en particulier s'ils reçoivent un traitement prolongé aux corticostéroïdes (**Carmona & Limper, 2011**).

L'immunodépression chez nos patients est majoritairement liée à la prise de traitement au long cours par corticostéroïdes (31%). Depuis les années 1990, de nombreux travaux aux Etats Unis ont montré que la corticothérapie est un facteur prédisposant l'infection PPJ, avec apparition d'une symptomatologie typique un mois après le traitement **(Yale & Limper, 1996)**. De plus, dans une étude au Danemark portant sur 50 cas de pneumocystose survenues chez des patients non VIH, elle montre que l'usage de corticoïdes et la chimiothérapie sont les principaux facteurs de risque **(Overgaard & Helweg-Larsen, 2007)**.

L'immunodépression chez nos patients est aussi liée à des pathologies sous-jacentes comme les maladies auto-immunes (23%) et le lymphome (8%). Plusieurs études ont rapporté que les hémopathies malignes telles que le lymphome sont des pathologies sous-jacentes retrouvées chez les patients présentant une PPJ, comme l'étude en Chine qui a montré que parmi les 867 patients non-VIH ayant développé une PPJ, les principaux troubles sous-jacents rapportés ont été des hémopathies malignes (29,1%), suivi des maladies auto-immunes (20,1 %) **(Lin et al., 2017)**.

L'identification de ces facteurs de risque est nécessaire pour déterminer les patients qui bénéficieraient d'une prophylaxie anti-*Pneumocystis* et ceux pour lesquels le diagnostic de PPJ devrait être évoqué et un traitement entrepris en urgence en cas d'atteinte respiratoire **(Roux et al., 2010)**.

La détermination des facteurs de risque sont nécessaires pour une prophylaxie anti-*Pneumocystis* ainsi que pour le suivi post-thérapeutique. L'élimination de ces facteurs de risque est un élément essentiel pour un bon pronostic vit

Conclusion

Conclusion

La pneumonie à *Pneumocystis jirovecii* (PPJ) est l'une des infections opportunistes les plus fréquentes chez les patients infectés par le VIH dans les pays développés, où elle constitue un marqueur clé de progression vers le stade SIDA. Par ailleurs, l'émergence de nouvelles populations à risque, notamment des patients non VIH immunodéprimés, présentant une faible charge fongique, impose une amélioration continue des méthodes de détection, tant sur le plan technologique que clinique.

Les avancées récentes dans le domaine de la biologie moléculaire, notamment le développement de la PCR quantitative (qPCR), constituent des progrès significatifs pour le diagnostic de la pneumocystose.

Ainsi, une combinaison entre des outils diagnostiques moléculaires performants et une évaluation clinique rigoureuse semble indispensable pour améliorer la prise en charge des patients. En perspective, l'un des objectifs futurs est d'essayer d'améliorer les moyens de diagnostic de cette infection par des techniques quantitatives afin de mesurer la charge fongique et surtout de déterminer une valeur seuil qui puisse faire la distinction entre les cas de PPJ et les porteurs de *Pneumocystis* asymptomatiques.

D'autres axes de recherche doivent également être explorés, notamment :

- L'amélioration des moyens diagnostics de la pneumocystose par des techniques quantitatives qui puissent faire la distinction entre les cas de PPJ et les porteurs de *Pneumocystis* asymptomatiques.
- Le diagnostic précoce de la PcP chez les patients non VIH.

Face à une infection encore mal connue dans certains contextes, il est impératif de renforcer la recherche, les capacités diagnostiques et la sensibilisation des professionnels de santé, afin de mieux contrôler la pneumocystose et d'en limiter les conséquences, particulièrement dans les pays à ressources limitées.

Références bibliographiques

- Akuffo, H., Ljungström, I., Linder, E., & Wahlgren, M. (2002). *Parasites of the colder climates*. Boca Raton : CRC Press. Google-Books-ID : I4pD5t_y05YC.
- Alanio, A., Desoubeaux, G., Sarfati, C., Hamane, S., Bergeron, A., Azoulay, E., ... & Derouin, F. (2016). Performance of PCR and conventional microscopy for the diagnosis of *Pneumocystis pneumonia* in HIV-infected patients. *Medical Mycology*, *54*(3), 313-318.
- Alanio, A., Desoubeaux, G., Sarfati, C., Hamane, S., Bergeron, A., Azoulay, E., Molina, J. M., Derouin, F., & Menotti, J. (2011). Real-time PCR assay-based strategy for differentiation between active *Pneumocystis jirovecii* pneumonia and colonization in immunocompromised patients. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(10), 1531–1537
- Alicia, A. (2017). *Évaluation des actes de diagnostic biologique de la pneumocystose – Pneumocystis jirovecii*. Haute Autorité de Santé.
- Aliouat-Denis, C. M., Chabé, M., Demanche, C., Aliouat, E. M., Viscogliosi, E., Delgado-Viscogliosi, P., ... Dei-Cas, E. (2008). *Pneumocystis species, co-evolution and pathogenic power*. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(5), 708–726.
- Aliouat-Denis, C. M., Martinez, A., Aliouat, E. M., Pottier, M., Gantois, N., & Dei-Cas, E. (2009). *The Pneumocystis life cycle*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(3), 419–426.
- Ammich O.: [Über die nichtsyphilitische interstitielle pneumoniae des ersten kindersalters]. Virchows Arch Pathol Anat 1938; 302: pp. 539-554. [in German]
- ANOFEL (Groupe d'experts). (2007). *Parasitologie médicale*. Paris : Éditions Ellipses.
- Avino, L. J., Naylor, S. M., & Roecker, A. M. (2016). *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in the non-HIV-infected population. *Annals of Pharmacotherapy*, 50(8), 673–679.
- Bateman, M., Oladele, R., & Kolls, J. K. (2020). Diagnosing *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: A review of current methods and novel approaches. *Medical mycology*, 58(8), 1015–1028.
- Blanco, J. L., & Garcia, M. E. (2008). Immune response to fungal infections. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 125(1–2), 47–70.

- Battikh, R., et al. (2007, septembre). Pneumocystose pulmonaire chez les patients non VIH : à propos de trois cas. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 37(9), 605–608
- Bensousan, P., et al. (1990). Detection of *P. jirovecii* DNA in ambient air from hospital settings. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(10), 2511–2513.
- Bollée G, Sarfati C, Thiéry G, et al. (2007) Clinical picture of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in cancer patients. *Chest*. 132(4):1305-10.
- Bonnet F., Lewden C., May T., et. al.: Opportunistic infections as causes of death in HIV-infected patients in the HAART era in France. *Scand J Infect Dis* 2005; 37: pp. 482-487.
- Bushby, S. R., & Hitchings, G. H. (1968). Trimethoprim, a sulphonamide potentiator. *British Journal of Pharmacology*, 33(1), 72-90.
- Bustin SA, Benes V, Garson JA, et al. The MIQE guidelines : minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem*. 2009;55(4):611-622.
- Calderón, E. J. (2009). *Epidemiology of Pneumocystis infection in humans*. *Journal de Mycologie Médicale*, 19(4), 270–275.
- Calderón-Sandubete, E., Varela-Aguilar, J. M., Medrano-Ortega, F. J., Nieto-Guerrero, V., Respaldiza-Salas, N., De La Horra-Padilla, C., & Dei-Cas, E. (2002). Historical perspective on *Pneumocystis carinii* infection. *Protist*, 153(3), 303–310.
- Carinii A. Formas de eschizogonia doTrypanozomalewisi. *CommunSoc Med SaoPaolo* (1910) 16, 204
- Carmona, E. M., & Limper, A. H. (2011). Update on the diagnosis and treatment of *Pneumocystis pneumonia*. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, 5(1), 41–59.
- Catherinot E, Lanternier F, Bougnoux ME, Lecuit M, Couderc LJ, Lortholary O. *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *Infect Dis Clin N Am* (2010) 24, 107-138
- Catherinot E, Lanternier F, Bougnoux ME, Lecuit M, Couderc LJ, Lortholary O. *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia. *Infect Dis Clin N Am* (2010) 24, 107-138
- Catherinot, E., Lanternier, F., Bougnoux, M.-E., Lecuit, M., Couderc, L.-J., Lortholary, O., & the *Pneumocystis* Study Group. (2010).
- Centers for Disease Control and Prevention. (2017, 30 décembre). *DPDx – Pneumocystis jirovecii*. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, Division of Parasitic Diseases and Malaria.

- Chabé, M., Pottier, M., Rabodonirina, M., Nevez, G., Durand- Joly, I., & Dei- Cas, E. (2009). Nosocomial outbreak of *P. jirovecii* pneumonia with identical genotypes in patients and healthcare workers. *Emerging Infectious Diseases*, 15(7), 1057–1060.
- Chang, A., Smith, B., & Lee, C. (2023). Immunofluorescence analysis of pneumocytes reveals cellular immune responses in pulmonary infections. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 324(4), L567–L578
- Chekiri-Talbi, M., & Denning, D. W. (2017). Estimation des infections fongiques en Algérie. *Journal de Mycologie Médicale*, 27(2), 139–145.
- CHU Saint-Étienne. (2019). *Recommandations pour l'examen microbiologique des sécrétions pulmonaires*
- Creusy, C., Bahun-Le Capon, J. B. L., Fleurisse, L., Mullet, C., Dridba, M., Cailliez, J. C., & Dei- Cas, E. (1996). *Pneumocystis carinii* pneumonia in four mammal species: histopathology [etude ultrastructurale]. In XXIV. Morphological and ultrastructural methods for *Pneumocystis* (pp. 185–191). Oxford: FEMS Publications.
- Cushion MT, Keely SP, Stringer JR. "Molecular and phenotypic description of *Pneumocystis wakefieldiae* sp. nov., a new species in rats". *Mycologia* 2004 ; 96 (3): 429–438.
- Daurat, V., sous la responsabilité de David, D.-J. (2017). *Évaluation des actes de diagnostic biologique de la pneumocystose (Pneumocystis jirovecii)*. Haute Autorité de Santé. ISBN 978-2-11-151498-0.
- De Castro, J.Pavie, M.Lagrange-Xélot, J.M.Molina : Pneumocystose chez les patients d'onco-hématologie : est-ce inévitable. 2007, *Revue Des Maladies Respiratoires* ; 24 :741-51.
- Dei-Cas, E. (1996). Is *Pneumocystis carinii* a deep mycosis-like agent? *European Journal of Epidemiology*, 12(5), 460–470.
- Dei-Cas, E., Soulez, B., Palluault, F., Charet, P., & Camus, D. (1990). *Pneumocystis carinii*, un défi pour le biologiste. *Médecine/Sciences*, 6, 517–525.
- Delanoe P., Delanoe M. : [Sur les rapports des kystes de carinii du poumon des rats avec le *Trypanosoma lewisi*]. *CR Acad Sci* 1912 ; 155 : pp. 658-660. [in French]
- Desoubaux G, Franck-Martel C, Caille A, et al. Use of calcofluor-blue brightener for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in bronchial-alveolar lavage fluids: A single-center prospective study. *Med Mycol*. 2017;55(3):295-301.

- Diagnosis and management of *Pneumocystis jirovecii* infection. White, P Lewis and Backx, Matthijs and Barnes, Rosemary A. 5, Cardiff: Expert review of anti-infective therapy, 2017, Vol. 15.
- Doyle, L., Vogel, S., & Procop, G. W. (2017). *Pneumocystis PCR: It is time to make PCR the test of choice*. Cleveland: Oxford University Press US.
- Durand- Joly, I., Soula, F., Chabé, M., Dalle, J. H., Lafitte, J. J., Sénéchal, M., Pinon, A., Camus, D., & Dei- Cas, E. (2003). Long- term colonization with *Pneumocystis jirovecii* in hospital staff: a challenge to prevent nosocomial pneumocystosis. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 50(Suppl.), 614–615.
- Edman, J. C., Kovacs, J. A., Masur, H., Santi, D. V., Elwood, H. J., & Sogin, M. L. (1988). Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the Fungi. *Nature*, 334(6182), 519–522.
- Elidrissi, S., Ait Batahar, S., & Amro, L. (2019, janvier). La pneumocystose au service de pneumologie : à propos de 15 cas. *Revue des Maladies Respiratoires*, 36, A218–A219.
- Esteves, F., Gaspar, J., & Antunes, F. (2020). *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: Current knowledge and outstanding public health issues. *Current Fungal Infection Reports*, 14(3), 125–135
- Excler J.L., Mojon M., Guyonnet C., et. al.: *Pédiatrie* 1984; 39: pp. 513-523. [in French]
- Fauchier, T., Bourdin, C., Lécuyer, H., & et al. (2016). *Detection of Pneumocystis jirovecii by quantitative PCR to differentiate colonization and pneumonia in immunocompromised patients*. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(6), 1487–1495.
- Fishman JA, Gans H; AST Infectious Diseases Community of Practice. *Pneumocystis jirovecii* in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant*. 2019;33(9):e13587.
- Flori, P., Belleste, B., Durand, F., Raberin, H., Cazorla, C., Hatid, J., Lucht, F., & Tran Manh Sung, R. (2004). Comparison between real-time PCR, conventional PCR and different staining techniques for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia from bronchoalveolar lavage specimens. *Journal of Medical Microbiology*, 53(7), 603–607.

- Franck-Martel, C. (2016). *Contrôle immunitaire et biologie cellulaire de *Pneumocystis jirovecii* : rôle des colorations diagnostiques en microscopie* [Thèse de doctorat, Université François-Rabelais de Tours]. Faculté de Médecine de Tours. https://www.applis.univ-tours.fr/scd/Medecine/Theses/2016_Medecine_FranckMartelClaire.pdf
- Frenkel, J. K. (1999). *Pneumocystis jirovecii* n. sp. from man: Morphology, physiology, and immunology in relation to *P. carinii* of rats and other species. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 46(5), 89S–90S.
- Furuta, T., Ueda, S., & Fujiwara, K. (1984). Effect of T cell passive transfer on *Pneumocystis carinii* infection in nude mice. *Japanese Journal of Experimental Medicine*, 54, 57–64.
- Gebo K.A., Fleishman J.A., Moore R.D.: Hospitalizations for metabolic conditions, opportunistic infections, and injection drug use among HIV patients: trends between 1996 and 2000 in 12 states. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 40: pp. 609-616.
- Gottlieb M.S., Schroff R., Schanker H.M., et. al.: *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med* 1981; 305: pp. 1425-1431.
- Graham, S. M., Mtitimila, E. I., Kamanga, H. S., Walsh, A. L., Hart, C. A., & Molyneux, M. E. (2000). Clinical presentation and outcome of *Pneumocystis carinii* pneumonia in Malawian children. *The Lancet*, 355(9201), 369–373.
- Gutiérrez, S., Respaldiza, N., Campano, E., Calderón, E. J., & Medrano, F. J. (2011). *Pneumocystis jirovecii* colonization in chronic pulmonary disease. *Parasite*, 18(2), 121–126.
- Haider, S., Rotstein, C., Horn, D., Laverdière, M., & Azie, N. (2014). The Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance® registry: a two-centre Canadian experience. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 25(1), 17–23.
- Ham, R. G., McKittrick, J. C., Gordon, R. E., & Szaniszlo, P. J. (1971). Ultrastructural observations of *Pneumocystis carinii* attachment to host lung cells. *Experimental Molecular Pathology*, 14(3), 362–372.
- Harmsen A.G., Stankiewicz M. T cells are not sufficient for resistance to *Pneumocystis carinii* pneumonia in mice. *J. Protozool.* 1991 ; 38 (suppl.):44. 125 :47–70
Nicolas Céré. Etude de la primo-infection à *Pneumocystis carinii* chez le

- lapin (*Oryctolagus cuniculus*) : développement parasitaire et transmission. Thèse de Sciences de la Vie, Université François Rabelais De Tours, 1998.
- Hauser, P. M., Burdet, F. X., Cissé, O. H., Keller, L., Taffé, P., Sanglard, D., & Pagni, M. (2010). Comparative genomics suggests that the fungal pathogen *Pneumocystis* is an obligate parasite scavenging amino acids from its host's lungs. *PLOS ONE*, 5(12), e15152.
 - Haute Autorité de Santé. (2017). *Évaluation des actes de diagnostic biologique de la pneumocystose (Pneumocystis jirovecii)* [Argumentaire]. Haute Autorité de Santé. https://www.has-sante.fr/jcms/c_2680246/fr/evaluation-des-actes-de-diagnostic-biologique-de-la-pneumocystose-pneumocystis-jirovecii
 - Helweg-Larsen J.S-adenosylmethionine in plasma to test for *Pneumocystis carinii*pneumonia. *Lancet* (2003) 361, 1237
 - Hughes WT, Feldman S, Chaudhary SC, et. al.: Comparison of pentamidine isethionate and trimethoprim-sulfamethoxazole in the treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *J Pediatr* 1978; 92: pp. 285-291. [Hughes, Feldman, Chaudhary, & al., 1978]
 - Izadi, M., Jonaidi Jafari, N., Sadraei, J., Mahmoodzadeh Poornaki, A., Rezavand, B., Zarrinfar, H., Abdi, J., & Mohammadi, Y. (2014). The prevalence of *Pneumocystis jirovecii* in bronchoalveolar lavage specimens of lung transplant recipients examined by the nested PCR. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(12), e13518.
 - Jacobs, J. L., Libby, D. M., Winters, R. A., Gelmont, D. M., Fried, E. D., Hartman, B. J., & Laurence, J. (1991). A cluster of *Pneumocystis carinii* pneumonia in adults without predisposing illnesses. *New England Journal of Medicine*, 324(4), 246–250.
 - Jaffe H.W., Bregman D.J., Selik R.M.: Acquired immune deficiency syndrome in the United States: the first 1,000 cases. *J Infect Dis* 1983; 148: pp. 339-345.
 - Kallel, K., Belhadj, S., Zribi, A., & Chaker, E. (1998). La pneumocystose : maladie peu fréquente en Tunisie ? *Médecine et Maladies Infectieuses*, 28(4), 311–312.

- Kamiya, Y., Mtitimila, E., Graham, S. M., Broadhead, R. L., Brabin, B., & Hart, C. A. (1997). *Pneumocystis carinii* pneumonia in Malawian children. *Annals of Tropical Paediatrics*, 17(2), 121–126.
- Kaouech, E., Kallel, K., Anane, S., Belhadj, S., Abdellatif, S., Mnif, K., Ben Othmane, T., Ben Lakhal, S., Kilani, B., Ben Châabane, T., & Chaker, E. (2009). Pneumocystose à *Pneumocystis jiroveci* : Étude comparée de la PCR et des techniques de coloration. *Pathologie Biologie*, 57(5), 373–377.
- Kato H, Samukawa S, Takahashi H, Nakajima H. (2019) Diagnosis and treatment of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in HIV-infected or non-HIV-infected patients- difficulties in diagnosis and adverse effects of trimethoprim-sulfamethoxazole. *J Infect Chemother*. 25(11):920-4
- Khalife, A. (2014). *Les formes trophiques de Pneumocystis jirovecii : ultrastructure et rôle dans l'interaction hôte-pathogène*. [Thèse de doctorat, Université Lille 2 Droit et Santé].
- Klein MB, Yang H, DelBalso L, Carbonneau J, Frost E, Boivin G. Viral pathogens including human metapneumovirus are the primary cause of febrile respiratory illness in HIV-infected adults receiving antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2010; 201:297 301. [Klein, Yang, DelBalso, et al., 2010]
- Klein NC, Duncanson FP, Lenox TH, et. al.: Trimethoprim-sulfamethoxazole versus pentamidine for *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS patients: results of a large prospective randomized treatment trial. *AIDS* 1992; 6: pp. 301-305. [Klein, Duncanson, Lenox, & al., 1992]
- Klein, B. S., & Hall, L. S. (1983). *Pneumocystis carinii* in human lung tissue. *Journal of Clinical Microbiology*, 17(5), 1005–1010
- Kovacs, J. A., Powell, F., Edman, J. C., Lundgren, B., Martinez, A., Drew, B., & Angus, C. W. (1993). Multiple genes encode the major surface glycoprotein of *Pneumocystis carinii*. *Journal of Biological Chemistry*, 268(8), 6034–6040.
- Kuhlman, J. E., Kavuru, M., Fishman, E. K., & Siegelman, S. S. (1996). *Pneumocystis carinii* pneumonia: Spectrum of parenchymal CT findings. *Radiographics*, 16(4), 665–682.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Aster, J. C., Deyrup, A. T., & Das, A. (2023). Lung. In *Robbins & Kumar: Basic pathology* (11th ed., Chapter 11, pp. 400–448). Elsevier.

- Latouche, S., Diop Santos, L., Lacube, P., Bolognini, J., & Roux, P. (2000). Approche moléculaire de la pneumocystose. *Revue Française des Laboratoires*, 320, 63–69.
- Lin, J. W., Yi, J., Dou, L. Y., Li, Y. C., Xu, C. Y., et al. (2017). Evaluation of real-time PCR and Gomori-methenamine silver stain for diagnosing *Pneumocystis pneumonia*. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 32(5), 28–31.
- Ma, L., Cissé, O. H., & Kovacs, J. A. (2018). A molecular window into the biology and epidemiology of *Pneumocystis species*. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(3), e00009-18.
- Maertens J, Cesaro S, Maschmeyer G, et al (2016) ECIL guidelines for preventing *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with haematological malignancies and stem cell transplant recipients. *JAntimicrob Chemother*. 71(9):2397-404.
- Maschmeyer G, Helweg-Larsen J, Pagano L, et. al.: ECIL guidelines for treatment of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in non-HIV-infected haematology patients. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71: pp. 2405-2413. [Maschmeyer, Helweg-Larsen, Pagano, & al., 2016]
- Masur, H., et al. (2014). *Executive summary: Prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents*. *Clinical Infectious Diseases*, 58(9), 1308-1311.
- Matos O, Tomás A, Antunes F. *Pneumocystis jirovecii* and Pneumocystosis. In : *Current Progress in Medical Mycology* ; 2017. p. 215–254
- Matsumoto, Y., & Yoshida, Y. (1984). Sporogony in *Pneumocystis carinii*: Synaptonemal complexes and meiotic nuclear divisions observed in precysts. *Journal of Protozoology*, 31(3), 420–428.
- Médecine/Sciences. (2012). *Le cycle biologique de Pneumocystis spp. : état des connaissances et hypothèses*. *Médecine/Sciences*, 28(5), 450–459.
- Mei, Q., Turner, R., Sorial, V., Klivington, D., Angus, C. W., & Kovacs, J. A. (1998). Characterization of major surface glycoprotein genes of human *Pneumocystis carinii* and high-level expression of a conserved region. *Infection and Immunity*, 66(9), 4267–4274.
- Monnet, X., Vidal-Petiot, E., Osman, D., Hamzaoui, O., Durrbach, A., Goujard, C., Miceli, C., Bourée, P., & Richard, C. (2008). Critical care management and outcome of severe *Pneumocystis pneumonia* in patients with and without HIV infection. *Critical Care*, 12(1), R28

- Morris A, Lundgren JD, Masur H, et al. Épidémiologie actuelle de la pneumonie à *Pneumocystis*. *Maladies infectieuses émergentes*. 2004 ; 10(10) : 1713-1720
- Morris, A., Lundgren, J., Masur, H., Walzer, P. A., Hanson, D., Frederick, W. R., ... Powderly, W. G. (2002). Current epidemiology of *Pneumocystis pneumonia*. *Emerging Infectious Diseases*, 8(4), 447–454.
- Morrow, B. M., Hsaio, N. Y., Zampoli, M., Whitelaw, A., & Zar, H. J. (2010). *Pneumocystis pneumonia* in South African children with and without HIV in the HAART era. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 29(6), 535–540.
- Morrow, B. M., Samuel, C. M., Zampoli, M., Whitelaw, A., & Zar, H. J. (2014). *Pneumocystis pneumonia* in South African children diagnosed by molecular methods. *BMC Research Notes*, 7, 26.
- National Institutes of Health, Centers for Disease Control and Prevention, HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America, Pediatric Infectious Diseases Society, American Academy of Pediatrics, AIDS Action Committee. Guidelines for the prevention and treatment of opportunistic infections among HIV-exposed and HIV-infected children. Roxbury: AAC; 2013
- National Institutes of Health. (2024). *Pneumocystis pneumonia: Adult and adolescent opportunistic infections*. HIV.gov.
- Ndongo, S., Dia-Badiane, N. M., Diop, S. A., Diouf, B. A., Ndiaye, M., Diop, T. M., & Diop, B. M. (2013). Prévalence de *Pneumocystis jirovecii* chez des patients VIH positifs asymptomatiques au Sénégal. *Journal Africain d'Hépatogastroentérologie*, 7(1), 37–40.
- Nevez, G., Chabé, M., Durand- Joly, I., Chabe, F., Miegerville, M., Bossard, N., ... Dei- Cas, E. (2008). Nosocomial *Pneumocystis jirovecii* infections. *Parasite*, 15(3), 359–365.
- Ng V.L., Yajko D.M., Hadley W.K. Extrapulmonary pneumocystosis. *Clin. Microbiol.Rev*. 1997 ; 10:401-418.
- Ng V.L., Yajko D.M., Hadley W.K.: Extrapulmonary pneumocystosis. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: pp. 401-418.
- Nkinin, S. W., Daly, K. R., Walzer, P. D., Ndzi, E. S., Asonganyi, T., & Respaldiza, N., et al. (2009). Evidence for high prevalence of *Pneumocystis jirovecii* exposure among Cameroonians. *Acta Tropica*, 112(2), 219–224.

- Oladele, R. O., Otu, A. A., Richardson, M. D., & Denning, D. W. (2018). Diagnosis and management of pneumocystis pneumonia in resource-poor settings. *Journal of Health Care for the Poor and Underserved*, 29(1), 107–158
- Organisation mondiale de la Santé. (2018). *Profils des pays pour les maladies non transmissibles (MNT)*.
- Overgaard, U. M., & Helweg-Larsen, J. (2007). *Pneumocystis jiroveci* pneumonia (PCP) in HIV-1-negative patients: A retrospective study 2002–2004. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 39(7–8), 589–595.
- Panel on Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents : Guidelines for Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents: Recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America.
- Péan, A., Bientz, M., & Rochemaure, J. (1980). Ultrastructural observations on *Pneumocystis carinii* cysts: Size, wall morphology, and intracystic bodies. *Infection and Immunity*, 27(3), 928–937.
- Pike-Lee T, Syed S, Willis MA, Li Y. *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia in Neurologic Disorders: Is Prophylaxis Necessary? *Neurol Clin Pract*. 2021 Jun;11(3):242-248
- Procop GW, Haddad S, Quinn J, et al. Detection of *Pneumocystis jiroveci* in respiratory specimens by four staining methods. *J Clin Microbiol*. 2004;42(7):3333-3335.
- Ponce, C. A., Gallo, M., Bustamante, R., & Vargas, S. L. (2010). High prevalence of *Pneumocystis jirovecii* colonization in autopsied lungs of the general population. *Clinical Infectious Diseases*, 50(3), 347–353.
- Richard, N., Stamm, D., & Floret, D. (2002). *Pneumocystoses graves en réanimation pédiatrique : étude rétrospective 1980-2002* (p. 6).
- Ripert C, Aubry P, Bastide JM, Bellanger AP, Guiguen C. *Mycologie médicale*. Paris : Tec & Doc : Lavoisier ; 2013
- Rivero, L., de la Horra, C., Montes- Cano, M. A., Rodríguez- Herrera, A., Respaldiza, N., & Dei- Cas, E. (2008). *Pneumocystis jirovecii* transmission from immunocompetent carriers to infants. *Emerging Infectious Diseases*, 14(7), 1116–1118.

- Roux A, Canet E, Valade S, et al. (2014) *Pneumocystis jirovecii* Pneumonia in Patients with or without AIDS, France. *Emerg Infect Dis.* 20:1490-7. Limper AH, Offord KP, Smith TF, Martin WJ (1989) *Pneumocystis carinii* pneumonia. Differences in lung parasite number and inflammation in patients with and without AIDS. *Am Rev Respir Dis.* 140(5):1204-9.
- Roux, A., Lemiale, V., Kouatchet, A., Vincent, F., Bollée, G., Roux, P., & Azoulay, E. (2010). Pneumocystose pulmonaire en dehors de l'infection à VIH. *Réanimation*, 19(4), 366–373.
- Sacace Biotechnologies Srl. (2021). *SaMag Viral Nucleic Acids Extraction Kit (SM003) user manual* [Manuel technique]. Sacace Biotechnologies.
- Safrin, S. (2019). *Therapeutic advances in the treatment of Pneumocystis pneumonia: Focus on trimethoprim-sulfamethoxazole.* *Clinical Microbiology Reviews*, *32*(3), e00009-18
- San-Andres F.J., Rubio R., Castilla J., et. al.: Incidence of acquired immunodeficiency syndrome-associated opportunistic diseases and the effect of treatment on a cohort of 1115 patients infected with human immunodeficiency virus, 1989-1997. *Clin Infect Dis* 2003; 36: pp. 1177-1185.
- Sarasombath, P. T., Thongpiya, J., Chulanetra, M., Wijit, S., Chinabut, P., Ongrotchanakun, J., Jitmuang, A., & Wanachiwanawin, D. (2021). Quantitative PCR to discriminate between *Pneumocystis pneumonia* and colonization in HIV and non-HIV immunocompromised patients. *Frontiers in Microbiology*, 12, 729193
- Sattler FR, Cowan R, Nielsen DM, et. al.: Trimethoprim-sulfamethoxazole compared with pentamidine for treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia in the acquired immunodeficiency syndrome. A prospective, noncrossover study. *Ann Intern Med* 1988; 109: pp. 280-287. [Sattler, Cowan, Nielsen, & al., 1988]
- Schildgen, V., Mai, S., Khalfaoui, S., Lüsebrink, J., Pieper, M., Tillmann, R. L., Brockmann, M., & Schildgen, O. (2014). *Pneumocystis jirovecii* can be productively cultured in differentiated CuFi-8 airway cells. *mBio*, 5(3), e01186-14.
- Sepkowitz K.A., Brown A.E., Armstrong D.: *Pneumocystis carinii* pneumonia without acquired immunodeficiency syndrome. More patients, same risk. *Arch Intern Med* 1995; 155: pp. 1125-1128.

- Sethi, S. (2024, février). *Pneumonie à Pneumocystis jirovecii*. University at Buffalo, Jacobs School of Medicine and Biomedical Sciences
- Song, Y., Ren, Y., Wang, X., & Li, R. (2016). Recent advances in the diagnosis of *Pneumocystis pneumonia*. *Medical Mycology Journal*, 57(4)
- Soulez, B., Pottier, M., Chabe, M., Aliouat, C. M., Aliouat-Denis, E. M., & Dei-Cas, E. (1991). Demonstration of airborne transmission of *Pneumocystis jirovecii* among humans. *Médecine/Sciences*, 7(11), 753–758.
- Stern, A., Green, H., Paul, M., Vidal, L., & Leibovici, L. (2014). Prophylaxis for pneumocystis pneumonia (PCP) in non-HIV immunocompromised patients. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2014(10), CD005590.
- Thomas CF, Limper AH. Current insights into the biology and pathogenesis of *Pneumocystis pneumonia*. *Nat Rev Microbiol*. avr 2007;5(4):298-308
- Thomas, C. F., & Limper, A. H. (2004). *Pneumocystis pneumonia*. *The New England Journal of Medicine*, 350(24), 2487–2498.
- Totet, A., Nabeth, P., & Gaye, O. (2003). Profil épidémiologique de la pneumocystose chez les patients VIH+ à Dakar. *Journal de Mycologie Médicale*, 13(1), 12–15.
- Truong, J., & Ashurst, J. V. (2019). *Pneumocystis (carinii) jiroveci pneumonia*. In StatPearls. StatPearls Publishing.
- Van der Meer G., Brug S.L.: [Infection par *Pneumocystis* chez l'homme et chez les animaux]. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale* 1942; 22: pp. 301-305. [in French]
- Vanek J., Jirovec O.: [Parasitaere pneumonie. Interstitielle plasmazellen pneumonie der fruehgeborenen verursacht durch *Pneumocytis carinii*]. *Zentralbl Bakteriologie* 1952; 158: pp. 120-127. [in German]
- Vanek, J., & Jírovec, O. (1953). *Interstitial plasma cell pneumonia in infants*. *Annales Paediatrici*, 180, 1–21.
- Velayuthan, R., Samudi, C., Singh, L. H., Ng, K., Shankar, E., & Denning, D. W. (2018). Estimation of the burden of serious human fungal infections in Malaysia. *Journal of Fungi*, 4(1), 38.
- Vera, C., & Rueda, Z. V. (2021). Transmission and Colonization of *Pneumocystis jirovecii*. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(11), 979.

- Walzer P.D., Schultz M.G., Western K.A., et. al.: *Pneumocystis carinii* pneumonia and primary immune deficiency diseases. Natl Cancer Inst Monogr 1976; 43: pp. 65-74.
- Weig, M., Klinker, H., Bälöghner, B. H., Meier, A., & Gross, U. (1997). Usefulness of PCR for diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in different patient groups. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(6), 1445–1449.
- Wharton JM, Coleman DL, Wofsy CB, et. al.: Trimethoprim-sulfamethoxazole or pentamidine for *Pneumocystis carinii* pneumonia in the acquired immunodeficiency syndrome. A prospective randomized trial. Ann Intern Med 1986; 105: pp. 37-44 [Wharton, Coleman, Wofsy, & al., 1986]
- Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2018). *Prescott's Microbiology* (10^e éd.). McGraw Hill Education.
- White, P. L., Lewis, M., & Backx, M. (2017). Diagnosis and management of *Pneumocystis jirovecii* infection. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 15(5), 435–447.
- Yale, S. H., & Limper, A. H. (1996). *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients without acquired immunodeficiency syndrome: Associated illnesses and prior corticosteroid therapy. *Mayo Clinic Proceedings*, 71(1), 5–13.
- Yoshikawa, H., & Yoshida, Y. (1987). Localization of silver deposits on *Pneumocystis carinii* treated with Gomori's methenamine silver nitrate stain. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene Series A*, 259(1–2), 143–150.
- Zhang, J., Zhang, L., Pang, M., Zhang, Y., & Fan, H. (2020). Epidemiological investigation of *Pneumocystis jirovecii* colonization in healthy adults in China. *Mycoses*, 63(5), 481–486.



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : Sciences Biologiques

Option : Parasitologie

Thème :

Détection moléculaire de la Pneumocystose au niveau de l'HCA

Présenté par :

DEMIAI Zineb

Soutenu le : 22/06/2025

YAHIAOUI Naila Serine

Devant le jury composé de :

Présidente

Pr. TAIL G.

Professeur / USDB1

Promoteur

Pr. ABDELOUAHED K.

Professeur en Parasitologie / HCA

Co-promoteur

Pr. BENDJOUDI D.

Professeur / USDB1

Examinatrice

Dr. HALLECHE I.

Docteur / USDB1