



Disponible en ligne sur  
 ScienceDirect  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
  
www.em-consulte.com



## MISE AU POINT

# Pneumocystose pulmonaire en dehors de l'infection à VIH

## *Pneumocystis jirovecii pneumonia in non-AIDS patients*

A. Roux<sup>a</sup>, V. Lemiale<sup>a</sup>, A. Kouatchet<sup>b</sup>, F. Vincent<sup>c</sup>, G. Bollée<sup>d</sup>,  
P. Roux<sup>e</sup>, E. Azoulay<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Service de réanimation médicale, hôpital Saint-Louis, université Paris 7, 1, avenue Claude-Vellefaux, 75010 Paris, France

<sup>b</sup> Service de réanimation médicale, CHU d'Angers, 4, rue Larrey 49933 Angers cedex 09, France

<sup>c</sup> Service de réanimation médico-chirurgicale, hôpital Avicenne, CHU Bobigny, 125, rue de Stalingrad, 93009 Bobigny cedex, France

<sup>d</sup> Service de néphrologie, CHU Necker, 149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France

<sup>e</sup> Service de parasitologie mycologie, CHU Saint-Antoine, 182, rue du Faubourg-Saint-Antoine, 75012 Paris, France

Reçu le 21 mars 2010 ; accepté le 4 avril 2010

Disponible sur Internet le 29 avril 2010

### MOTS CLÉS

Lymphome ;  
Greffe de moelle ;  
Transplantation ;  
Prophylaxie ;  
Ventilation  
mécanique

### KEYWORDS

Lymphoma ;  
Bone marrow or  
hematopoietic stem

**Résumé** La pneumocystose pulmonaire (PCP) reste une infection sévère chez les patients immunodéprimés. En dehors de l'infection à VIH, elle survient chez les patients transplantés d'organe solide, les patients ayant une hémopathie maligne essentiellement lymphoïde, les patients greffés de moelle, et ceux recevant des immunosuppresseurs au long cours pour connectivite ou vascularite systémique. En pathologie humaine, la PCP est causée par un agent fongique appelé *Pneumocystis jirovecii*. Au cours des deux dernières décennies, de nombreux patients recevant des thérapies intensives pour hémopathie maligne, avec parfois des thérapies ciblées, avec ou sans greffe de moelle allogénique, présentent des complications infectieuses. Afin de maintenir un haut niveau de suspicion de PCP en dehors du VIH, cette revue est centrée sur les facteurs de risque, la présentation clinique et radiographique, ainsi que les moyens du diagnostic.

© 2010 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

**Summary** PCP is a life-threatening opportunistic infection that can occur in non-AIDS immunocompromized patients, mainly in solid organ transplant recipients, in patients with hematological malignancy and those treated for autoimmune or inflammatory diseases. In human, PCP is caused by *Pneumocystis jirovecii*. Over the last years, advances in cancer treatments (including new drugs, high dose and intensive chemotherapy with bone marrow or stem

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [elie.azoulay@sls.ap-hop-paris.fr](mailto:elie.azoulay@sls.ap-hop-paris.fr) (E. Azoulay).

cell transplantation;  
Organ  
transplantation;  
Prophylaxis;  
Mechanical  
ventilation

cell transplantation) and immunomodulation resulted in an increased number of patients with impaired immunity and risk for PCP. This review focuses on practical aspects relevant to risk factors, diagnosis and treatment of PCP, in order to provide to clinicians an actual clinical picture of PCP in non-AIDS patients.

© 2010 Société de réanimation de langue française. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## Introduction

La pneumocystose pulmonaire (PCP) reste une des principales causes d'insuffisance respiratoire aiguë parmi les patients VIH non connus ou non traités [1,2]. La PCP peut également mettre en cause le pronostic vital de patients immunodéprimés non infectés par le VIH (transplantés d'organe solide, corticoïdes au long cours, patients traités pour hémopathie maligne essentiellement lymphoproliférative, ou maladie auto-immune ou inflammatoire) [1,2].

*Pneumocystis jirovecii* (PCJ), initialement dénommé *Pneumocystis carinii*, a été identifié pour la première fois au début du <sup>xx</sup>e siècle par Chagas, puis par Carinii dans des poumons de rat. Ils pensèrent avoir mis en évidence une nouvelle forme de trypanosome. Ce n'est qu'après plusieurs années que PCJ a été reconnu comme une espèce à part entière. Pendant plusieurs décennies, *pneumocystis* fut classé comme protozoaire, jusqu'à ce que de nouvelles études phylogénétiques montrent qu'il appartenait à l'ordre des champignons [3]. Il existe différentes espèces de pneumocystis chacune spécifique de leur hôte, PCJ étant celle spécifique de l'homme [1].

Les récentes avancées en thérapeutique anticancéreuse (nouvelles molécules, chimiothérapie intensive, greffe de moelle osseuse ou de cellules souches périphériques) et immunomodulatrice ont notablement augmenté le nombre de patients présentant une altération de l'immunité favorisant le risque de survenue de PCP. Cependant, la PCP reste anecdotique sous anti-TNF ou anti-CD52.

Nous avons voulu proposer dans cette revue, une mise au point sur la PCP chez les patients non VIH. Seront abordés des données épidémiologiques, les facteurs de risque de PCP, la présentation clinique et radiographique, les outils diagnostiques ainsi que les thérapeutiques préventives et curatives.

## Transmission

Pendant de nombreuses années, la PCP était considérée comme résultant de la réactivation d'une infection latente contractée dans l'enfance. Cette théorie s'appuyait sur la prévalence importante d'anticorps anti-pneumocystis à un âge précoce, la fréquence élevée de PCP chez les enfants VIH+, la présence de PCJ dans des prélèvements respiratoires de patients non immunodéprimés asymptomatiques, et sur les caractéristiques intrinsèques du pathogène compatibles avec un portage chronique [4]. Cependant, plusieurs éléments ont montré que la réactivation d'une infection chronique n'est probablement pas seule en cause et que l'infection résulte vraisemblablement aussi d'une exposition environnementale ou d'une contamination interpersonnelle

[4,5]. En effet, la présence d'ADN de PCJ a été mise en évidence dans l'environnement et l'incidence de PCP est plus élevée dans certaines zones géographiques. Par ailleurs, l'acquisition de PCJ serait liée dans un certain nombre de cas à une transmission aéroportée à partir de porteur asymptomatique ou de patients atteints de PCP [5,6]. Cependant, à ce jour, l'isolement des patients avec PCP n'est pas recommandé.

## Patients à risque de pneumocystose pulmonaire

Les premiers cas de PCP ont été décrits il y a une soixantaine d'années chez des nouveaux-nés prématurés et des enfants dénutris [7]. Différentes études rétrospectives ont permis l'identification des situations cliniques associées à la survenue de PCP chez les patients immunodéprimés non VIH (Tableaux 1–3). Actuellement, dans les pays développés, les patients non VIH les plus à risque de PCP sont ceux présentant une hémopathie maligne, ceux traités par de fortes doses de corticoïdes dans le cadre de cancers solides, de maladie inflammatoire ou auto-immune et les transplantés d'organe [8–11]. Parmi les patients traités pour hémopathie maligne, cinq groupes sont nettement plus à risque de PCP que les autres [12,13]: (1) les patients atteints de maladies lymphoïdes; (2) les patients recevant des stéroïdes au long cours ou à forte dose; (3) les patients greffés de moelle ou de cellules souches hématopoïétiques (surtout dans les greffes allogéniques); (4) les patients traités par anticorps anti-CD20 ou anti-CD52 et (5) les patients présentant une lymphopénie profonde et prolongée comme ceux ayant reçu une chimiothérapie par fludarabine. 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 PCP devrait être évoqué et un traitement entrepris en urgence en cas d'atteinte respiratoire.

## Hémopathies malignes

Il est établi depuis longtemps que les enfants traités par chimiothérapie pour leucémie aiguë lymphoblastique sont à risque particulièrement élevé de PCP. L'étude de Hugues et al. montre un taux d'attaque de 4,1% dans cette population [14]. En fait, la PCP a été décrite dans la plupart des hémopathies malignes [12]. L'incidence exacte de PCP pour chacune des hémopathies malignes n'est pas connue, mais il semble qu'elle soit plus élevée pour les leucémies lymphoblastiques et les lymphomes non hodgkiniens, où les taux d'attaque sont de l'ordre de 0,2 à 0,5% [9,12]. Les patients ayant un cancer et qui développent une PCP le font en général après avoir reçu une chimiothérapie et des stéroïdes à forte dose ou pour une durée prolongée. Cependant, dans

**Tableau 1** Pathologies sous-jacentes dans quatre séries de patients non VIH avec pneumocystose pulmonaire (PCP).

	Zahar [41] n = 39 (%)	Yale [17] n = 116 (%)	Roblot [40] n = 130 (%)	Bollée [11] n = 56 (%)
Hémopathies malignes	28 (71,8)	35 (30,2)	75 (57,7)	44 (78,6)
Tumeurs solides sous stéroïdes au long cours	7 (17,9)	15 (12,9)	18 (13,8)	9 (16,1)
Greffe d'organe solide	0	29 (25)	9 (6,9)	0
Maladies inflammatoires chroniques	0	26 (22,4)	27 (20,8)	0
Affections diverses	4 (10,3)	11 (9,5)	1 (0,8)	3 (5,4)

**Tableau 2** Incidence de pneumocystose pulmonaire (PCP) selon le type de pathologies malignes (adapté de [6]).

	Cas	Nombre de patients	Incidence (%)
Lymphomes	34	9907	0,34
Leucémie lymphoblastique aiguë	5	2929	0,17
Autres leucémies	16	5023	0,32
Tumeurs solides traitées par corticoïdes	30	26085	0,11
Tumeurs cérébrales traitées par corticoïdes	21	3098	0,68
Greffe de cellules souches hématopoïétiques	22	1348	1,63

notre expérience, PCP peut également être inaugurale de la maladie sous-jacente avant tout traitement immunosuppresseur [13].

Les patients ayant eu une greffe de moelle ou de cellules souches, allogénique mais aussi autologue, sont également à risque de faire une PCP. Les premières études sur cette catégorie de patients montraient une incidence élevée de PCP dans les six premiers mois après l'allogreffe de moelle. Cependant, cette notion est contredite par des publications plus récentes. Ainsi, dans une étude rétrospective, le taux d'attaque de PCP après allogreffe de cellule souche était de 2,5% et la médiane du délai d'apparition de 14,5 mois [15]. La prophylaxie initiale par triméthoprime-sulfaméthoxazole joue certainement dans ce décalage dans le temps des événements de

PCP. La plupart des cas de PCP concernaient des patients sous forte immunosuppression pour réaction du greffon contre l'hôte ou du fait de la rechute de l'hémopathie maligne [15].

#### Cancers solides

La PCP y est bien moins fréquente que dans les hémopathies malignes. Les tumeurs malignes intracérébrales primitives ou secondaires sont les situations les plus à risque de PCP probablement à cause de la corticothérapie concomitante, prolongée et à forte dose. Le taux d'attaque est de l'ordre de 0,1% tout cancer confondu et de 0,7% pour les cancers intracérébraux [9].

#### Maladies inflammatoires et auto-immunes

Bien que cela soit rare, la PCP peut se développer chez des patients ayant une maladie auto-immune ou inflammatoire traités par agents cytotoxiques et corticoïdes, surtout s'ils sont lymphopéniques. Parmi cette catégorie de patients, ceux qui présentent une granulomatose de Wegener semblent être les plus à risque de PCP [16,17].

#### Transplantation d'organes solides

Les transplantés d'organes solides sont également à risque de PCP. Le taux d'incidence diffère en fonction du type de transplantation: c'est pour la transplantation pulmonaire qu'il est le plus important [18]. Il est bien établi que l'incidence de PCP est plus élevée pendant la première année post transplantation et notamment les six premiers mois. Les traitements des rejets, l'utilisation de sérum antilymphocytaire, les immunosuppresseurs de façon géné-

**Tableau 3** Risque relatif de pneumocystose pulmonaire (PCP) et maladies systémiques.

	Incidence (nombre/10 000 hospitalisation/ années)	OR
Granulomatose de Wegener	89	7,81
Périartérite noueuse	65	10,2
Polymyosite	25	4,44
Lupus	12	2,52
Sclérodermie	8	1,48
Polyarthrite rhumatoïde	2	1

OR: odds ratio

rale, la survenue d'infections immunomodulatrices comme la tuberculose, l'infection par le CMV ou l'hépatite C sont associés à une augmentation du risque de survenue de PCP [19].

#### Autres

Plus rarement, la PCP peut survenir chez des patients ayant un déficit immunitaire autre, comme la lymphopénie CD4 idiopathique [20]. De manière exceptionnelle, des cas de PCP ont été rapportés chez des patients sans déficit immunitaire identifié ni autre infection opportuniste [5]. Cependant, l'absence d'exploration des fonctions immunitaires de façon globale et détaillée empêche toute conclusion.

### Traitements immunosuppresseurs et risque de PCP

Chez les patients non VIH présentant une PCP, l'immunosuppression est liée à la maladie sous-jacente et aux traitements par corticostéroïdes, agents cytotoxiques ou autres médicaments immunomodulateurs. Les corticostéroïdes ont été identifiés comme un facteur de risque majeur de PCP chez les patients non VIH. Une analyse rétrospective de 116 patients non VIH ayant présenté une PCP a montré que 90,5% d'entre eux étaient traités par corticoïdes au moment du diagnostic. Au-delà de l'hémopathie sous-jacente, de la greffe ou de la maladie inflammatoire, la dose médiane quotidienne et la durée de traitement étaient 30 mg d'équivalent prednisone par jour et 12 semaines, respectivement, avant de développer la PCP [21]. Il est important de noter qu'un quart des malades recevait l'équivalent de 16 mg d'équivalent prednisone par jour. Cependant, des patients sans traitement corticostéroïde peuvent aussi développer une PCP. En effet, dans une étude rétrospective récente réalisée chez 56 patients non VIH avec PCP, nous observons que 24 patients (42,8%) n'étaient pas traités par corticostéroïdes [13]. Cela souligne la nécessité d'évoquer le diagnostic de PCP chez les patients ayant une hémopathie lymphoïde, y compris ceux qui ne sont pas traités par corticoïdes.

Le risque de PCP chez les patients ayant une leucémie aigue lymphoblastique (LAL) est associé à l'intensité de la chimiothérapie. Étant donné l'association fréquente d'agents cytotoxiques, l'imputabilité d'un agent en particulier est difficile à établir. Il semblerait que la fludarabine, la cladribine, le cyclophosphamide ou le méthotrexate soient associés à un risque plus élevé de PCP [1,17,22].

Parmi les traitements utilisés après transplantation d'organe solide, les anticorps anti-lymphocytaires sont clairement associés à un risque augmenté de PCP [19]. Le risque semble faible sous azathioprine et ciclosporine et plus important sous tacrolimus [23] et reste mal déterminé pour le mycophénolate-mofetil et le sirolimus. En dépit de quelques cas rapportés anecdotiques, le risque lié aux anti TNF $\alpha$  ou au rituximab n'est pas encore établi.

### Lymphocytes CD4+ et PCP chez les patients non VIH

Classiquement, la PCP est décrite chez les sujets VIH ayant des lymphocytes CD4+ inférieur à 200 par millimètre cube [6]. Pour les autres types d'immunosuppression, ce paramètre (avec un seuil de 300 par millimètre cube) semble également être associé au risque de PCP. Ces informations suggèrent que le compte de lymphocytes CD4+ peut être utile pour identifier les patients à risque de PCP et ceux qui bénéficieraient d'une prophylaxie.

### Différences physiopathologiques entre patients VIH et non VIH

Dans l'étude de Limper et al., l'analyse du liquide de LBA montrait d'importantes différences entre les patients VIH et non VIH [8]. Ainsi, les patients non VIH, quelle que soit la cause de leur immunosuppression, avaient significativement moins de kystes ou de trophozoïtes de pneumocystis, mais plus d'inflammation (estimée par le nombre de polynucléaires neutrophiles) [8]. De plus, dans une de nos études précédentes, l'inflammation était inversement corrélée avec le niveau d'hypoxémie et la survie [24]. Ces données expliquent en partie les différences dans la présentation clinique de ces deux catégories de patients. Dans ce sens, chez les patients infectés par le VIH, nous avons montré que la sévérité clinique (hypoxémie), tout comme la survie, étaient indépendamment associés au taux de polynucléaires neutrophiles dans le liquide de LBA. Cela explique en partie pourquoi la mortalité des patients VIH est bien moindre que chez les malades non infectés par le VIH [25,26].

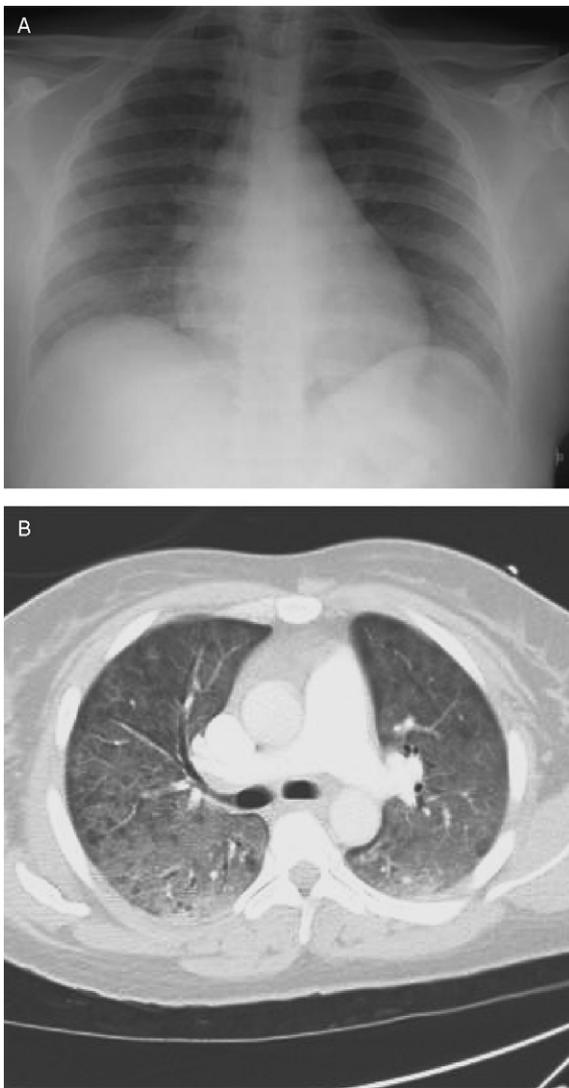
### Présentation clinico-radiographique de la PCP chez les patients non VIH

#### Présentation clinique

Les principaux symptômes rapportés sont une hyperthermie dans 60 à 90% des cas, une dyspnée dans 75 à 90% des cas et une toux dans 50 à 80% des cas [12,13,27]. Le délai entre l'apparition des symptômes et le diagnostic, relativement court, varie de un à 14 jours. L'examen clinique relève une tachypnée et des râles crépitants diffus à l'auscultation pulmonaire. La PaO<sub>2</sub> en air ambiant est généralement très diminuée entre 50 et 70 mmHg [12,13,27]. La PCP est plus aiguë et sévère chez les patients non VIH, avec un tableau d'insuffisance respiratoire aiguë nécessitant souvent le recours à la ventilation mécanique [28,29]. Mais l'évolution peut être plus insidieuse avec une symptomatologie plus frustrée et lentement évolutive, comme il est rapporté au cours de l'infection à VIH [13].

#### Présentation radiologique

Les signes radiologiques de PCP sont similaires chez les patients VIH ou non VIH [28]. Typiquement, l'infiltration radiographique est bilatérale. L'aspect en verre dépoli de localisation diffuse et de distribution hétérogène (*patchy*) épargnant la corticalité est la lésion élémentaire classique (Fig. 1–4). Des lésions moins typiques de types nodulaires



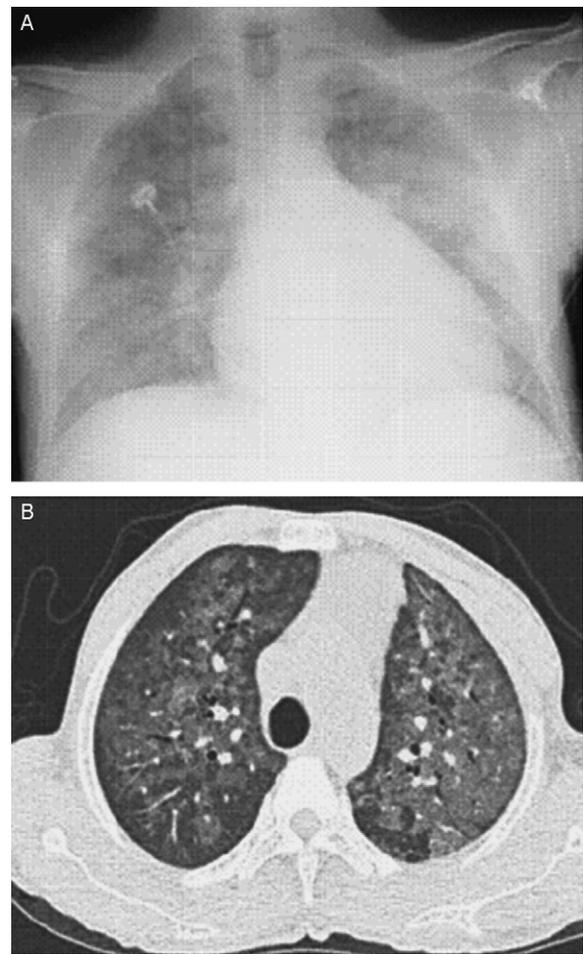
**Figure 1** Insuffisance respiratoire aiguë chez un patient traité pour leucémie lymphoïde chronique (LLC) par cyclophosphamide, fludarabine et rituximab. L'observance à la prophylaxie était incertaine. L'expectoration induite réalisée avant toute antibiothérapie a permis de faire le diagnostic de pneumonie à *Pneumocystis jirovecii*.

ou cavitaires peuvent être présentes. Ces lésions atypiques peuvent être le reflet d'une réaction granulomateuse, mais doivent faire évoquer un cancer ou une autre infection concomitante. Contrairement aux patients VIH, les lésions kystiques ne sont pas décrites chez les patients non VIH avec PCP.

## Stratégie diagnostique

### Procédures de prélèvements respiratoires

Étant donné le manque de spécificité du tableau clinico-radiologique, le diagnostic de PCP nécessite la réalisation de prélèvements microbiologiques adaptés afin de mettre en évidence PCJ. Le choix des techniques diagnostiques et

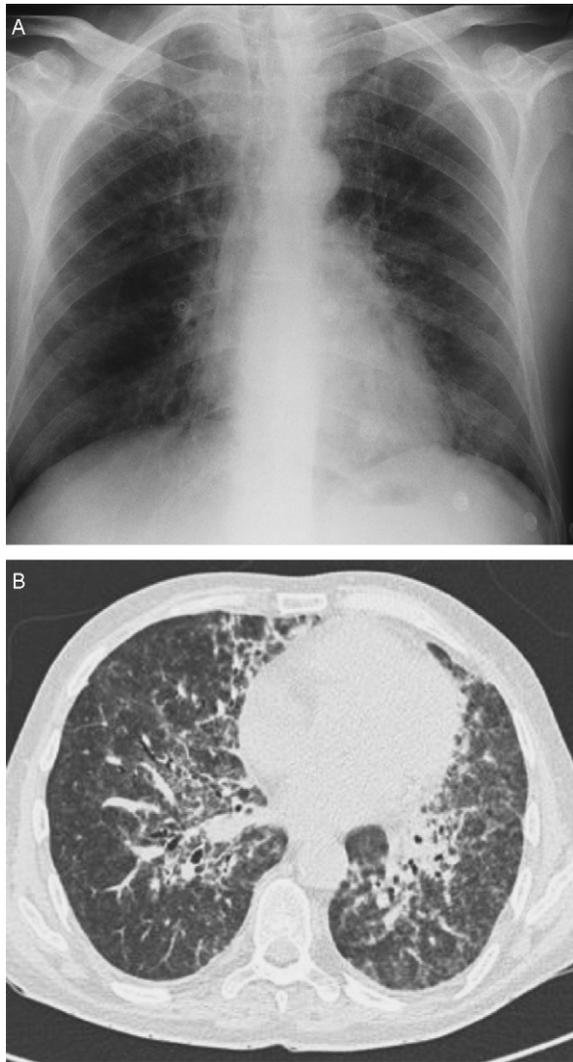


**Figure 2** Hypoxémie chez un homme de 31 ans traité au long cours par stéroïdes pour anémie hémolytique satellite d'une LLC. La coloration May Grunewald Giemsa (MGG) sur le LBA a permis le diagnostic.

l'interprétation de leurs résultats doivent intégrer le faible nombre de pneumocystis retrouvé chez les patients non VIH par rapport au patient VIH.

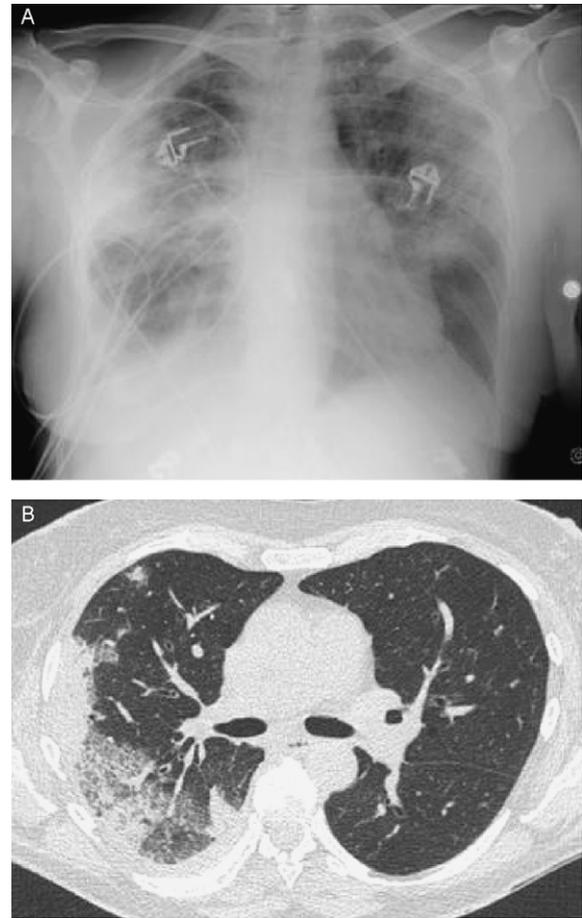
L'expectoration induite après nébulisation pendant 20 minutes de sérum salé hypertonique et accélération du flux bronchique par kinésithérapie respiratoire, est une technique dont l'utilité a été prouvée [13]. La sensibilité de l'examen direct chez les patients VIH est de l'ordre de 90 % dans certains centres [30]. Les quelques données disponibles chez les sujets non VIH suggèrent une moins bonne sensibilité que chez le patient VIH, de l'ordre de 50 % [31]. Répéter l'expectoration induite pourrait permettre d'en améliorer la sensibilité.

La fibroscopie bronchique avec lavage broncho-alvéolaire est une technique diagnostique plus efficace avec une sensibilité comprise entre 80 et 100 % chez les patients VIH, mais plus faible chez les non VIH (50 à 70 %) [32]. L'examen du liquide de LBA est dit aussi plus sensible car les prélèvements sont adressés dans plusieurs laboratoires, ce qui permet le diagnostic d'infections concomitantes, notamment bactérienne, virale (CMV) ou fongique. Cependant, cela est aussi possible avec les techniques non invasives [31]. Le principal inconvénient de la fibroscopie et du LBA est le risque



**Figure 3** Insuffisance respiratoire aiguë 15 mois après une greffe de moelle allogénique. La prophylaxie par Bactrim® avait été arrêtée. Le crachat induit et le LBA réalisés 48 h après l'admission étaient négatifs. La *polymerase chain reaction* (PCR) est revenue positive, sans que l'on puisse faire la différence entre colonisation et infection. Néanmoins, la relecture de la lame de LBA a fini par retrouver des kystes et a permis de porter le diagnostic de PCP.

d'aggravation de l'état respiratoire et de mise sous ventilation mécanique invasive associée à une mortalité élevée [31,33]. Sa réalisation en réanimation, parfois sous ventilation non invasive, permet de rendre l'examen faisable quand celui-ci est indispensable [33]. Parfois, le liquide de LBA met en évidence une co-infection virale (CMV), bactérienne ou fongique. Cependant, il n'existe pas à ce jour de démonstration d'un bénéfice en termes de mortalité ou morbidité à réaliser le LBA [31]. Cet examen semble l'examen à réaliser si l'expectoration induite n'est pas faisable ou si elle ne permet pas de mettre en évidence PCJ. De manière beaucoup plus rare, lorsque les procédures moins invasives ne permettent pas le diagnostic de PCP, une biopsie pulmonaire chirurgicale pourra être envisagée [12]. Cependant,



**Figure 4** Pneumocystose atypique chez un patient traité en troisième ligne par anti-CD52 pour un lymphome T agressif.

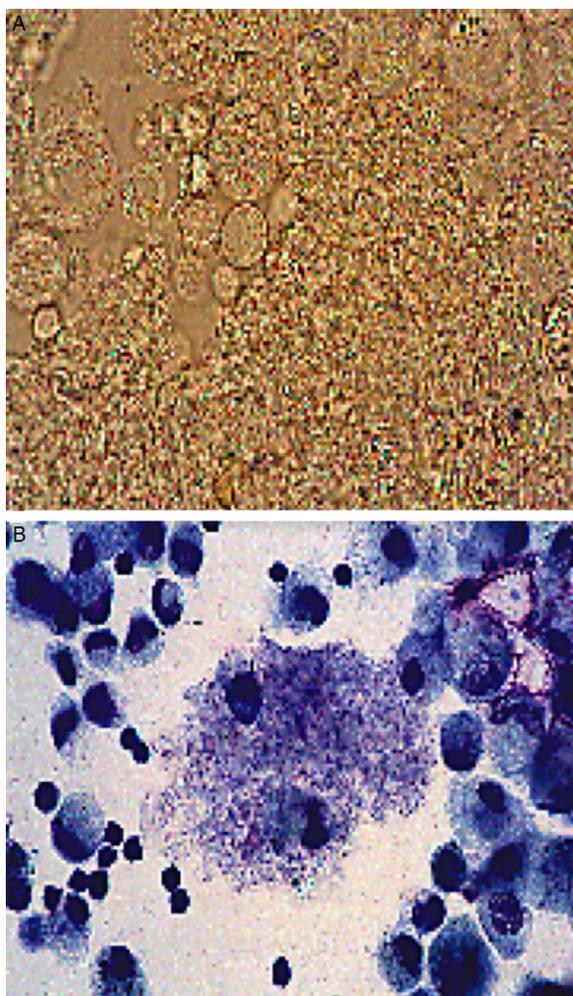
nous pensons que la PCP n'est plus une indication de biopsie pulmonaire, en partie, grâce à l'utilisation de la PCR.

### Techniques diagnostiques

L'impossibilité de culture de PCJ est le principal obstacle à sa détection et à son étude [1].

### Examen direct

La mise en évidence de PCJ dans des prélèvements respiratoires commence par l'examen direct basé sur l'utilisation de colorations spécifiques et l'immunofluorescence. Différentes méthodes comme *calcofluor white*, le Gomori-Grocott ou le bleu de toluidine ne permettent que la mise en évidence de kystes et peuvent marquer d'autres champignons [34] (Fig. 5A et 6). D'autres colorations comme le Wright-Giemsa (Fig. 5B), Diff-Quik ou Gram-Weigert permettent de mettre en évidence les corps intrakystiques (spores), les kystes et les trophozoïtes, mais également d'autres organismes, ce qui peut compliquer leur interprétation. Le développement de l'immunofluorescence indirecte par anticorps monoclonal, méthode rapide et sensible pour la détection de PCJ dans les prélèvements respiratoires non invasifs représente une avancée importante (Fig. 7A) [30].

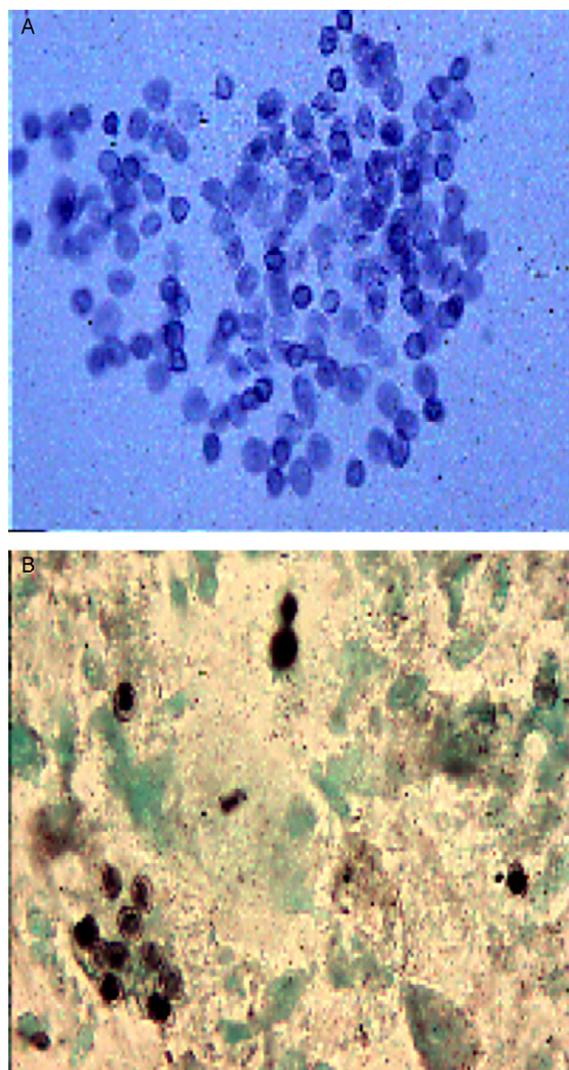


**Figure 5** A. Examen direct du liquide de LBA ( $\times 1000$ ). B. Amas de *Pneumocystis jirovecii*. Amas de *Pneumocystis jirovecii* dans un liquide de LBA (Giemsa).

#### La PCR : une avancée significative dans le diagnostic de PCP chez le patient non infecté par le VIH

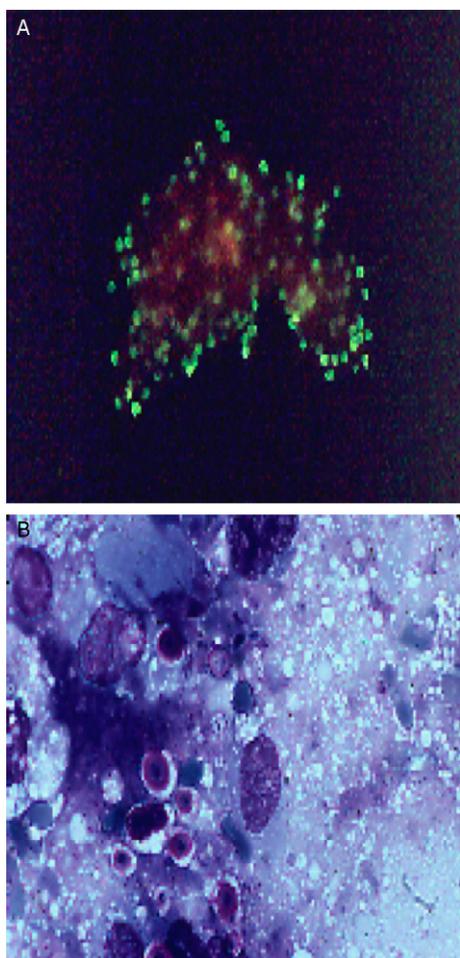
La détection de PCJ a été nettement améliorée par l'utilisation de la PCR. En 1990, Wakefield et al. développent une technique d'amplification d'ADN spécifique de pneumocystis, utilisant comme amorce une séquence d'ARNr du gène 5S mitochondrial de PCJ [35]. Depuis, plusieurs études ont mis en évidence l'efficacité de cette technique. Chez les sujets VIH, la sensibilité est de l'ordre de 80–100% et de 70–85% dans le LBA et l'expectoration induite, respectivement. La spécificité est également excellente entre 80–100% sur le LBA et 90–95% dans l'expectoration induite [32,36].

L'interprétation d'une PCR *Pneumocystis* positive chez un patient non VIH semble délicate. L'étude de Sing et al. explore les valeurs intrinsèques de ce test dans différents groupes de patients immunodéprimés [32]. Pour le LBA et l'expectoration induite, la sensibilité et la spécificité étaient respectivement de 80 et 100% chez les patients VIH, 86 et 97% chez des transplantés d'organe solide, 100 et 95% chez des patients ayant un cancer et 100% et 98% chez d'autres patients immunodéprimés. Dans une autre



**Figure 6** A. Kystes de *Pneumocystis jirovecii* dans un liquide de LBA. (BTO  $\times 1000$ ). B. Kystes de *Pneumocystis jirovecii* dans un crachat induit (Musto  $\times 1000$ ).

étude, chez 37 patients non infectés par le VIH, la PCR était le seul examen positif chez sept patients [36]. Ainsi, la PCR apparaît comme une avancée significative pour le diagnostic de PCP en particulier chez les sujets non VIH. Cependant, son excès de sensibilité pourrait à tort faire considérer comme PCP un patient uniquement colonisé ou un faux positif. Dans une évaluation réalisée par notre groupe de recherche sur 448 patients non infectés par le VIH, l'intérêt de la PCR pneumocystis apparaît surtout quand celle-ci est négative [37]. En effet, sa valeur prédictive négative de près de 100% permet d'écarter le diagnostic en cas de négativité sur un liquide de LBA ou une expectoration induite. Une évaluation complémentaire doit intégrer les trois éléments suivants: (a) les facteurs de risque de PCP; (b) le niveau de suspicion clinique de PCP basé sur le tableau radiologique; (c) le caractère quantitatif du résultat (une grande quantité de pneumocystis allant dans le sens de l'infection plutôt que de la colonisation).



**Figure 7** A. Kystes de *Pneumocystis jirovecii* dans un liquide de LBA (immunofluorescence). B. Coloration de Giemsa ( $\times 1000$ ) sur un crachat induit révélant une infection par *Pneumocystis jirovecii* et *cryptococcus neoformans*, ainsi qu'une colonisation par *candida albicans*.

### PCR et colonisation

La très bonne sensibilité de la PCR permettant de mettre en évidence de très faible quantité de PCJ pose le problème de l'interprétation de la positivité chez des sujets asymptomatiques colonisés. En effet, si l'existence d'une colonisation bronchique par PCJ chez des sujets immunocompétents présentant différentes pathologies bronchopulmonaires a été démontrée [38,39], elle semble plus fréquente chez les patients immunodéprimés. La corticothérapie au long cours et un compte de lymphocytes CD4+ bas ( $< 400/\text{mm}^3$ ) semblent associés à un taux de colonisation plus important [40]. L'étude de Leigh et al. cherchait à mettre en évidence PCJ par immunofluorescence et PCR dans les expectorations induites de dix patients immunocompétents et 20 transplantés d'organe solide, tous asymptomatiques. Les 30 prélèvements étaient négatifs pour PCJ en immunofluorescence mais positifs en PCR chez cinq patients transplantés et chez aucun des sujets immunocompétents. Un de ces patients a développé une PCP six semaines après son prélèvement [41]. Cependant, le risque de survenue de PCP chez des patients asymptomatiques colonisés reste encore très incertain. Ainsi, une positivité de la PCR peut

rendre compte d'une véritable infection ou d'une colonisation.

### PCR quantitative en temps réel

Larsen et al. ont développé une méthode rapide et sensible de PCR quantitative (Touchdown-PCR [TD-PCR]) se proposant de résoudre le problème de la distinction entre infection et colonisation. Dans une étude rétrospective analysant des prélèvements respiratoires de patients immunodéprimés non VIH, la concentration d'ADN de pneumocystis mesurée par TD-PCR quantitative était significativement plus élevée chez les patients ayant une PCP que chez les patients colonisés [42]. Ainsi, la détermination d'un seuil permettrait de distinguer entre une colonisation et une infection.

La PCR sur expectoration induite, alternative au LBA, semble être l'examen le plus propice et le moins invasif. Le lavage oropharyngé, récupéré après gargarisation et rinçage de la cavité oropharyngée avec du sérum salé isotonique, semble être un prélèvement intéressant, d'obtention rapide et simple chez la plupart des patients y compris ceux qui pourraient ne pas supporter de procédures invasives ou semi invasives. Pour ce type de prélèvement, où la charge en pneumocystis est très faible, l'examen direct est insuffisamment performant alors que la PCR peut permettre de détecter l'ADN de pneumocystis avec une très bonne sensibilité. De plus, Larsen et al. ont démontré que la TD-PCR pouvait être utilisée pour distinguer l'infection de la colonisation, et cela non seulement sur le LBA mais aussi sur le lavage oropharyngé [42]. La PCR sur ce type de prélèvement a montré son intérêt chez les patients immunodéprimés non VIH. Ainsi, Helweg-Larsen rapportent une sensibilité et une spécificité de 100% de la TD-PCR (par rapport au LBA) dans des lavages oropharyngés de 26 patients ayant une hémopathie maligne dont huit présentaient une PCP [43]. Ainsi, la PCR apparaît comme une avancée significative pour le diagnostic de PCP, en particulier chez les sujets non VIH.

### Dosage de la concentration plasmatique de la S-adénosylméthionine

Le pneumocystis est incapable de synthétiser la S-adénosylméthionine, un métabolite clef pour toute cellule. pneumocystis doit donc déléter le stock de son hôte. Il a été établi chez des patients VIH, que la concentration plasmatique de S-adénosylméthionine était abaissée pendant une PCP et réaugmentait rapidement après la guérison [44], cela suggérant que ce type de dosage puisse être intéressant pour le diagnostic de PCP.

### (1-3)- $\beta$ -D-glucan

(1-3)- $\beta$ -D-glucan (BG) est un constituant de la paroi cellulaire de la plupart de champignons (excepté *Cryptococcus sp.* et zygomycètes) pathogènes pour l'homme. Chez *Pneumocystis*, il est localisé dans la zone électrolytique sous la membrane plasmique des kystes. Récemment, une technique de dosage de BG par colorimétrie a été commercialisée : Fungitell test<sup>®</sup> (Associates of Cape Cod, Inc.,

Cape Cod, MA) est un test diagnostique d'infection fongique invasive, approuvé en 2003 par la US Food and Drug Administration.

Les études montrent des niveaux élevés de concentration plasmatiques de BG supérieurs à > 500 pg/ml chez les patients présentant une PCP [45] : 29 patients parmi 30 ayant une PCP confirmée avaient un BG détectable, la plupart ayant des valeurs supérieures à 500 pg/mL. La valeur médiane de concentration dans le groupe PCP était supérieure à 500 pg/mL. Le dosage plasmatique de BG est un test sérologique non invasif qui pourra s'avérer très utile pour le diagnostic de PCP.

## Pronostic de la PCP chez les patients non VIH

### Mortalité

Le pronostic de la PCP est plus mauvais chez les patients non VIH que chez les patients VIH, avec une mortalité rapportée de 30 à 40 %. La mortalité, encore plus élevée chez les patients nécessitant la mise sous ventilation mécanique, peut atteindre 60 à 75 % [12,13,46,47].

### Facteurs pronostiques

Différents facteurs sont associés à une mortalité élevée chez les patients non VIH présentant une PCP. De manière attendue, des fréquences respiratoire et cardiaque élevées, l'hypoxémie, l'atteinte d'au moins deux lobes pulmonaires, les traitements par ventilation assistée ou amines vasopressives, une C réactive protéine et une concentration de lactate deshydrogénase élevée, la sévérité clinique évalué par les scores pronostiques comme le Simplified Acute Physiology Score II ou l'Organ System Failure score, une infection pulmonaire concomitante ont été associés à une mortalité plus élevée [13,27,46,47]. La corticothérapie au long cours et les chimiothérapies sont également associées à une mortalité accrue [13,27,46,47]. Le taux de polynucléaires neutrophiles dans le LBA est associée à une hypoxémie et une mortalité plus sévère [8,48], ce qui laisserait supposer un effet bénéfique d'un traitement adjuvant par corticoïdes fortes doses chez les patients non VIH, comme cela a été montré pour les patients VIH.

## Traitement curatif de la pneumocystose pulmonaire

### Traitement anti-infectieux

Les traitements utilisés pour la PCP ne diffèrent pas entre les patients VIH et non VIH. Le traitement le plus efficace, triméthoprime-sulfaméthoxazole (TMP-SMX), par voie orale ou intraveineuse pour une durée de trois semaines, doit être considéré en première intention sauf contre-indication. TMP-SMX agit en interférant avec le métabolisme des folates inhibant la dihydrofolate réductase (DHFR) et la dihydroptéroate synthétase (DHPS). L'émergence de mutation sur le gène *DHPS* en rapport avec le traitement prophylactique a été identifiée depuis plusieurs années. Cependant, le fait que cette mutation confère une résistance cli-

nique au TMP-SMX reste incertain et controversé. Les effets secondaires incluant fièvre, rash, cytopénie, hyperkaliémie, hyponatrémie, hépatite et néphrite interstitielle surviennent plus rarement que chez les sujets VIH [28]. Du fait de l'absence de synergie démontrée et du risque augmenté d'effets secondaires, l'association avec d'autres molécules actives sur le pneumocystis n'est pas recommandée.

En cas d'intolérance au TMP-SMX, la pentamidine est l'alternative principale. Elle peut être administrée par voie intraveineuse ou en aérosol dans les formes modérées de PCP. L'effet secondaire le plus fréquent est la néphrotoxicité, qui apparaît en général deux semaines après l'initiation du traitement et peut être prévenue par une hydratation adaptée. Hypotension (surtout si perfusion rapide), arythmie cardiaque, hyperglycémie, hypercalcémie, hyperkaliémie, pancréatite, goût métallique sont des effets secondaires moins fréquents. L'atovaquone, la dapsone et l'association clindamycine-primaquine sont les autres alternatives thérapeutiques de la PCP chez le sujet VIH. Cependant, par manque de données, ces traitements ne sont pas recommandés comme traitement standard de PCP chez les sujets non VIH.

### Corticothérapie adjuvante

La corticothérapie est recommandée chez les patients VIH avec une PCP hypoxémiant (PaO<sub>2</sub> inférieure à 70 mmHg en air ambiant). Chez les patients non VIH, il n'existe que quelques études rétrospectives, incluant peu de patients, sur l'intérêt de la corticothérapie adjuvante. L'étude de Delclaux et al. n'avait pas mis en évidence d'influence de la corticothérapie sur la nécessité de ventilation mécanique et la mortalité [49]. Dans une autre étude de Pareja et al., la corticothérapie adjuvante était associée à une diminution de la durée de ventilation mécanique, d'oxygénothérapie et de séjour en réanimation, sans pour autant diminuer la mortalité [50].

Dans notre étude portant sur 56 patients non VIH avec PCP, nous observons une tendance à la diminution de la mortalité dans le groupe corticothérapie adjuvante (18,2 % versus 42,2 %, non significatif [NS]) [13]. Ainsi jusqu'à présent, il n'a pas encore été démontré de bénéfice clair à la corticothérapie adjuvante pour PCP chez les patients non VIH. Pour autant, compte tenu des résultats annoncés et des limites des études précitées, nous pensons que la corticothérapie adjuvante devrait être recommandée dans les PCP les plus sévères (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 100) chez les patients non VIH. Ses modalités devraient être conformes à celles réalisées chez les malades infectés par le VIH, c'est-à-dire, 240 mg de J1 à J3, puis à dose décroissante pour revenir à 1 mg/kg autour de J7, puis à dose décroissante pour une durée totale de 15 à 21 jours.

### Prophylaxie de PCP

#### Anti-infectieux disponibles

L'efficacité et la bonne tolérance du TMP-SMX dans la prévention de la PCP chez les patients ayant un cancer a été démontré il y a une trentaine d'années [2]. Actuellement, le

traitement par TMP–SMX par voie orale reste le traitement prophylactique de référence.

Les aérosols de pentamidine mensuels peuvent être une alternative chez les patients tolérant mal le TMP–SMX. Cette modalité thérapeutique, moins efficace que celle incluant TMP–SMX, est associée à une moins bonne protection contre la survenue de PCP et d'autres infections et à une mortalité plus importante chez les patients greffés de moelle osseuse. La dapsonne est une autre alternative de traitement prophylactique de PCP. La dapsonne, comme le TMP–SMX, inhibe la DHPS. Cependant, la dapsonne, seule ou associée à la pyriméthamine, est inférieure à l'association TMP–SMX. De plus, l'intolérance au TMP–SMX est souvent prédictive d'une intolérance à la dapsonne. En cas d'intolérance, il n'est donc pas indiqué de remplacer le TMP–SMX par la dapsonne [51]. Enfin, l'atovaquone est une alternative efficace et bien tolérée y compris chez le greffé de moelle osseuse.

### Indications de la prophylaxie

Contrairement aux patients VIH, il n'y a pas de consensus sur la stratégie de prophylaxie contre pneumocystis chez les patients non VIH. À partir de notre expérience et au vu des facteurs de risque de survenue de PCP, il nous semble raisonnable de proposer une prophylaxie :

- aux patients ayant un désordre immunologique, incluant un cancer, une hémopathie maligne, une maladie auto-immune ou inflammatoire et qui reçoivent au moins 15 mg/jour d'équivalent prednisone pour une durée d'au moins quatre semaines ;
- aux patients ayant une leucémie aiguë lymphoblastique ou un lymphome non hodgkinien traitée par chimiothérapie ou avant rémission ;
- aux patients ayant eu une allogreffe de cellule souche ou de moelle : la prophylaxie devrait être maintenue pour au moins un an et chez ceux qui reçoivent une immunosuppression pour rechute de leur hémopathie ou réaction du greffon contre l'hôte (GVHD) chronique ;
- aux patients ayant eu une autogreffe de cellule souche, pour au moins six mois : la durée de la prophylaxie pourra être allongée en cas d'immunosuppression supplémentaire ;
- aux transplantés d'organe solide, pour une durée d'au moins six mois après la transplantation, sauf pour les transplantés pulmonaires dont l'immunosuppression plus profonde et prolongée laisse penser qu'une prophylaxie à vie pourrait être nécessaire.

Le traitement par TMP–SMX devra être interrompu en cas de neutropénie ou de traitement par méthotrexate. L'intérêt de l'utilisation du compte de lymphocytes CD4 pour identifier les patients à risque de PCP et indiquer une prophylaxie reste non prouvé. Cependant, nous considérons qu'un compte de lymphocytes CD4 inférieur à 200 par millimètre cube, encore plus dans un contexte néoplasique, doit faire discuter la prescription d'une prophylaxie anti-PCP.

### Conclusion

La pneumocystose pulmonaire est une infection respiratoire opportuniste souvent sévère qui peut compliquer l'évolution de nombreuses pathologies s'accompagnant d'immunosuppression. Du point de vue du clinicien, il est indispensable de connaître les pathologies et traitements associés à un risque de PCP afin, d'une part, de prescrire une prophylaxie à ces patients et, d'autre part, d'intégrer cette pathologie à la stratégie diagnostique et thérapeutique devant un tableau respiratoire aiguë. La corticothérapie au long cours est le principal facteur de risque mais pas le seul. À l'ère des traitements immunomodulateurs, des chimiothérapies intensives, des survies prolongées de patients ayant un cancer, il est nécessaire que le clinicien intègre facilement cette pathologie à la gamme des diagnostics étiologiques devant un tableau respiratoire chez les patients immunodéprimés non VIH. Le développement de la PCR, de procédures non invasives et simples de prélèvement comme le lavage oropharyngé et du dosage de la concentration plasmatique de BG constituent des progrès intéressants pour le diagnostic de PCP et la prise en charge optimale de ces patients.

### Conflit d'intérêt

Nous n'avons aucun conflit d'intérêt.

### Références

- [1] Kovacs JA, Masur H. Evolving health effects of pneumocystis: one hundred years of progress in diagnosis and treatment. *JAMA* 2009;301(24):2578–85.
- [2] Thomas Jr CF, Limper AH. Pneumocystis pneumonia. *N Engl J Med* 2004;350(24):2487–98.
- [3] Edman JC, Kovacs JA, Masur H, et al. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. *Nature* 1988;334(6182):519–22.
- [4] Morris A, Beard CB, Huang L. Update on the epidemiology and transmission of *Pneumocystis carinii*. *Microbes Infect* 2002;4(1):95–103.
- [5] Jacobs JL, Libby DM, Winters RA, et al. A cluster of *Pneumocystis carinii* pneumonia in adults without predisposing illnesses. *N Engl J Med* 1991;324(4):246–50.
- [6] Bensousan T, Garo B, Islam S, et al. Possible transfer of *Pneumocystis carinii* between kidney transplant recipients. *Lancet* 1990;336(8722):1066–7.
- [7] Gajdusek DC. *Pneumocystis carinii*; etiologic agent of interstitial plasma cell pneumonia of premature and young infants. *Pediatrics* 1957;19(4 Part 1):543–65.
- [8] Limper AH, Offord KP, Smith TF, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia differences in lung parasite number and inflammation in patients with and without AIDS. *Am Rev Respir Dis* 1989;140(5):1204–9.
- [9] Sepkowitz KA. *Pneumocystis carinii* pneumonia among patients with neoplastic disease. *Semin Respir Infect* 1992;7(2):114–21.
- [10] Sepkowitz KA. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients without AIDS. *Clin Infect Dis* 1993;17(Suppl. 2):S416–22.
- [11] Sepkowitz KA, Brown AE, Telzak EE, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia among patients without AIDS at a cancer hospital. *JAMA* 1992;267(6):832–7.

- [12] Pagano L, Caira M, Fianchi L. Pulmonary fungal infection with yeasts and pneumocystis in patients with hematological malignancy. *Ann Med* 2005;37(4):259–69.
- [13] Bollee G, Sarfati C, Thiery G, et al. Clinical picture of *Pneumocystis jiroveci* pneumonia in cancer patients. *Chest* 2007;132(4):1305–10.
- [14] Hughes WT, Price RA, Kim HK, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonitis in children with malignancies. *J Pediatr* 1973;82(3):404–15.
- [15] De Castro N, Neuville S, Sarfati C, et al. Occurrence of *Pneumocystis jiroveci* pneumonia after allogeneic stem cell transplantation: a 6-year retrospective study. *Bone Marrow Transplant* 2005;36(10):879–83.
- [16] Godeau B, Coutant-Perronne V, Le Thi Huong D, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia in the course of connective tissue disease: report of 34 cases. *J Rheumatol* 1994;21(2):246–51.
- [17] Komano Y, Harigai M, Koike R, et al. *Pneumocystis jiroveci* pneumonia in patients with rheumatoid arthritis treated with infliximab: a retrospective review and case-control study of 21 patients. *Arthritis Rheum* 2009;61(3):305–12.
- [18] Gordon SM, LaRosa SP, Kalmadi S, et al. Should prophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia in solid organ transplant recipients ever be discontinued? *Clin Infect Dis* 1999;28(2):240–6.
- [19] Radisic M, Lattes R, Chapman JF, et al. Risk factors for *Pneumocystis carinii* pneumonia in kidney transplant recipients: a case-control study. *Transpl Infect Dis* 2003;5(2):84–93.
- [20] Duncan RA, von Reyn CF, Alliegro GM, et al. Idiopathic CD4+ T-lymphocytopenia-four patients with opportunistic infections and no evidence of HIV infection. *N Engl J Med* 1993;328(6):393–8.
- [21] Yale SH, Limper AH. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients without acquired immunodeficiency syndrome: associated illness and prior corticosteroid therapy. *Mayo Clin Proc* 1996;71(1):5–13.
- [22] Thomas Jr CF, Limper AH. Current insights into the biology and pathogenesis of pneumocystis pneumonia. *Nat Rev Microbiol* 2007;5(4):298–308.
- [23] Lufft V, Kliem V, Behrend M, et al. Incidence of *Pneumocystis carinii* pneumonia after renal transplantation impact of immunosuppression. *Transplantation* 1996;62(3):421–3.
- [24] Azoulay E, Parrot A, Flahault A, et al. AIDS-related *Pneumocystis carinii* pneumonia in the era of adjunctive steroids: implication of BAL neutrophilia. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160(2):493–9.
- [25] Barbier F, Coquet I, Legriel S, et al. Etiologies and outcome of acute respiratory failure in HIV-infected patients. *Intensive Care Med* 2009;35(10):1678–86.
- [26] Monnet X, Vidal-Petiot E, Osman D, et al. Critical care management and outcome of severe pneumocystis pneumonia in patients with and without HIV infection. *Crit Care* 2008;12(1):R28.
- [27] Arend SM, Kroon FP, van't Wout JW. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients without AIDS, 1980 through 1993. An analysis of 78 cases. *Arch Intern Med* 1993;155(22):2436–41.
- [28] Kovacs JA, Hiemenz JW, Macher AM, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia: a comparison between patients with the acquired immunodeficiency syndrome and patients with other immunodeficiencies. *Ann Intern Med* 1984;100(5):663–71.
- [29] Nuesch R, Bellini C, Zimmerli W. *Pneumocystis carinii* pneumonia in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* 1999;29(6):1519–23.
- [30] Kovacs JA, Ng VL, Masur H, et al. Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia: improved detection in sputum with use of monoclonal antibodies. *N Engl J Med* 1988;318(10):589–93.
- [31] Azoulay E, Mokart D, Rabbat A, et al. Diagnostic bronchoscopy in hematology and oncology patients with acute respiratory failure: prospective multicenter data. *Crit Care Med* 2008;36(1):100–7.
- [32] Sing A, Trebesius K, Roggenkamp A, et al. Evaluation of diagnostic value and epidemiological implications of PCR for *Pneumocystis carinii* in different immunosuppressed and immunocompetent patient groups. *J Clin Microbiol* 2000;38(4):1461–7.
- [33] Azoulay E, Schlemmer B. Diagnostic strategy in cancer patients with acute respiratory failure. *Intensive Care Med* 2006;32(6):808–22.
- [34] 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):3333–5.
- [35] Wakefield AE, Guiver L, Miller RF, et al. DNA amplification on induced sputum samples for diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Lancet* 1991;337(8754):1378–9.
- [36] Ribes JA, Limper AH, Espy MJ, et al. PCR detection of *Pneumocystis carinii* in bronchoalveolar lavage specimens: analysis of sensitivity and specificity. *J Clin Microbiol* 1997;35(4):830–5.
- [37] Azoulay E, Bergeron A, Chevret S, et al. Polymerase chain reaction for diagnosing pneumocystis pneumonia in non-HIV immunocompromised patients with pulmonary infiltrates. *Chest* 2009;135(3):655–61.
- [38] Sing A, Roggenkamp A, Autenrieth IB, et al. *Pneumocystis carinii* carriage in immunocompetent patients with primary pulmonary disorders as detected by single or nested PCR. *J Clin Microbiol* 1999;37(10):3409–10.
- [39] Vidal S, de la Horra C, Martin J, et al. *Pneumocystis jirovecii* colonisation in patients with interstitial lung disease. *Clin Microbiol Infect* 2006;12(3):231–5.
- [40] Nevez G, Raccurt C, Vincent P, et al. Pulmonary colonization with *Pneumocystis carinii* in human immunodeficiency virus-negative patients: assessing risk with blood CD4+ T cell counts. *Clin Infect Dis* 1999;29(5):1331–2.
- [41] Leigh TR, Gazzard BG, Rowbottom A, et al. Quantitative and qualitative comparison of DNA amplification by PCR with immunofluorescence staining for diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *J Clin Pathol* 1993;46(2):140–4.
- [42] Larsen HH, Huang L, Kovacs JA, et al. A prospective, blinded study of quantitative touch-down polymerase chain reaction using oral-wash samples for diagnosis of pneumocystis pneumonia in HIV-infected patients. *J Infect Dis* 2004;189(9):1679–83.
- [43] Helweg-Larsen J, Jensen JS, Lundgren B. Non-invasive diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia by PCR on oral washes. *Lancet* 1997;350(9088):1363.
- [44] Skelly M, Hoffman J, Fabbri M, et al. S-adenosylmethionine concentrations in diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Lancet* 2003;361(9365):1267–8.
- [45] Koo S, Bryar JM, Page JH, et al. Diagnostic performance of the (1–3)-beta-D-glucan assay for invasive fungal disease. *Clin Infect Dis* 2009;49(11):1650–9.
- [46] Pagano L, Fianchi L, Mele L, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with malignant haematological diseases: 10 years' experience of infection in GIMEMA centres. *Br J Haematol* 2002;117(2):379–86.
- [47] Roblot F, Godet C, Le Moal G, et al. Analysis of underlying diseases and prognosis factors associated with *Pneumocystis carinii* pneumonia in immunocompromised HIV-negative patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21(7):523–31.
- [48] Zahar JR, Robin M, Azoulay E, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia in critically ill patients with malignancy: a descriptive study. *Clin Infect Dis* 2002;35(8):929–34.
- [49] Delclaux C, Zahar JR, Amraoui G, et al. Corticosteroids as adjunctive therapy for severe *Pneumocystis carinii* pneumonia in non-human immunodeficiency virus-infected

- patients: retrospective study of 31 patients. Clin Infect Dis 1999;29(3):670–2.
- [50] Pareja JG, Garland R, Koziel H. Use of adjunctive corticosteroids in severe adult non-HIV *Pneumocystis carinii* pneumonia. Chest 1998;113(5):1215–24.
- [51] Rodriguez M, Fishman JA. Prevention of infection due to pneumocystis spp. in human immunodeficiency virus-negative immunocompromised patients. Clin Microbiol Rev 2004;17(4):770–82.