

La pneumocystose en tant qu'anthropozoonose. (*)

Par K. KUČERA

Au cours de la séance de la Société de Pathologie exotique du 8 avril 1914, M. et M^{me} P. Delanoë avaient fait état de l'observation suivante : « Sur dix cobayes provenant de la région de Paris, dont deux inoculés avec *T. pecaui*, deux avec *T. rhodesiense*, et six avec *T. cruzi*, nous n'avons rencontré qu'une seule fois des kystes pulmonaires, extrêmement rares mais très nets, avec huit vermicules en croissant, en tous points identiques à ceux que Carinii a signalés chez les rats infectés par *T. lewisi* et que nous avons nous-mêmes rencontrés chez des rats neufs de l'élevage Borrel à Paris. »

Depuis 1914, *Pneumocystis carinii* fut recherché par relativement peu d'auteurs (Coles 1914-15, Porter 1915-16, Galli-Valerio 1917 et 1919, Meer et Brug 1942, Jirovec 1953) dans le poumon de petits Rongeurs spontanément infestés. En constatant le fait, peu après la découverte de Vaněk et de Jirovec (Vaněk 1951, Vaněk et Jirovec 1952, etc.), que les épidémies de pneumonie interstitielle des nourrissons, surtout des prématurés, sont souvent remarquables par la présence massive de *Pneumocystis carinii* dans les alvéoles pulmonaires des malades, nous nous sommes posé la question de savoir si la pneumocystose des petits Rongeurs n'avait pas, en réalité, quelque rapport avec la pneumocystose humaine.

Depuis le début de nos recherches jusqu'à ce jour, de nombreux travaux sur la pneumocystose humaine ont été publiés, dans lesquels un certain nombre de problèmes ont été soulevés.

Les plus importants d'entre eux sont examinés au cours de ce travail :

1° Les pneumocystes des petits Rongeurs et de l'Homme appartiennent-ils à la même espèce ?

2° Les rapports entre les épidémies de pneumonie interstitielle et l'existence de *Pneumocystis carinii* chez les petits Rongeurs et les animaux domestiques peuvent-ils être objectivés et comment ?

* Présenté au Congrès annuel de la Société française de Parasitologie à Dijon, les 17-19 mai 1966.

3° Dans les régions où l'on signale de temps en temps des épidémies de pneumocystose, la présence de *Pneumocystis carinii* chez les petits Rongeurs peut-elle être établie avec une fréquence significative ?

*
**

I

Nos essais de culture des formes classiques de *Pneumocystis carinii* [c'est-à-dire la forme kystique à double contour avec huit corpuscules en croissant (Chagas 1909) et la forme « en rayon de miel » (Meer et Brug 1942)], provenant de matériaux humains et de petits Rongeurs, ont échoué. En raison de cette carence des cultures artificielles, la question de l'identité des parasites d'origine animale et humaine n'a pu être étudiée que par une comparaison morphologique et immunologique des formes classiques reconnues comme étant les seuls représentants du cycle évolutif du parasite (fig. 1, 2). Les formes récemment décrites, qu'il s'agisse des « prékystes » (Kučera 1961) ou des formes en croissant (Kučera 1965, Kučera et Valousek 1966), exigent une recherche plus approfondie.

Nous avons essayé de trouver des différences significatives entre la structure des formes classiques d'origine animale ou humaine, soit à l'état frais, en nous servant de colorants vitaux et du contraste de phase, soit après fixation (à l'acide osmique et à l'alcool sublimé), en ayant soin au préalable, tantôt de ne pas laisser sécher le frottis, tantôt au contraire de le faire sécher avant la fixation. Nous avons travaillé parfois avec un microscope photonique, parfois avec un microscope électronique. La comparaison était faite sur des matériaux pour lesquels le même temps s'était écoulé entre le prélèvement et le commencement de la fixation. Cette durée, la plus courte possible, n'a pas dépassé deux heures après la mort. Les coupes histologiques conviennent moins bien que les frottis par apposition. Nous n'avons pas trouvé de différences significatives dans la structure interne, ni dans les dimensions externes des formes évolutives (Kučera 1961).

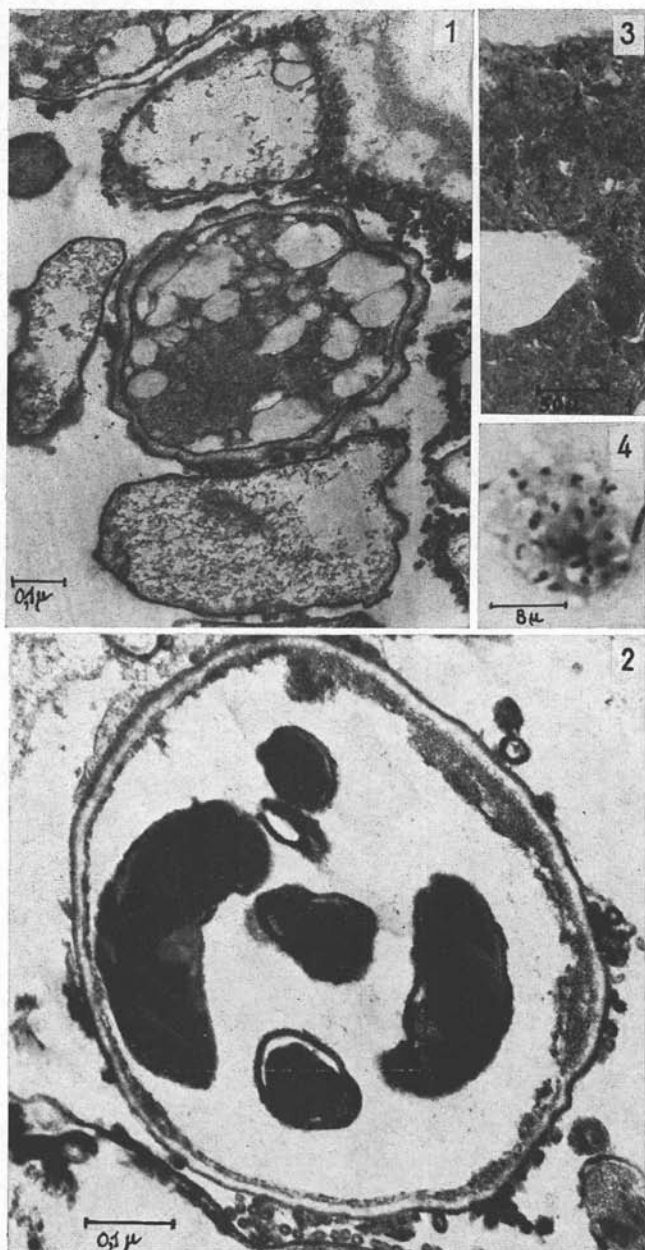
Nous avons recherché en vain des caractères différentiels dans les changements de structure et de colorabilité des pneumocystes d'origine animale et humaine après une incubation à des températures différentes. Tous les kystes conservés dans le tissu pulmonaire à 4°C pendant deux mois se colorent de la même façon. Les formes en « niches d'abeille » présentent la même grande sensibilité à la dessiccation et à la température.

FIG. 1. — Trois éléments du stade de « rayon de miel » et un kyste à double contour de *Pneumocystis carinii* de poumon humain ultramicrotomisé; la dégénération a commencé avant la fixation (Photo Lom-Kučera)

FIG. 2. — Kyste à double contour de *Pneumocystis carinii*. La coupe montre six éléments (« spores ») dont deux en division vraisemblablement (Photo Lom-Kučera)

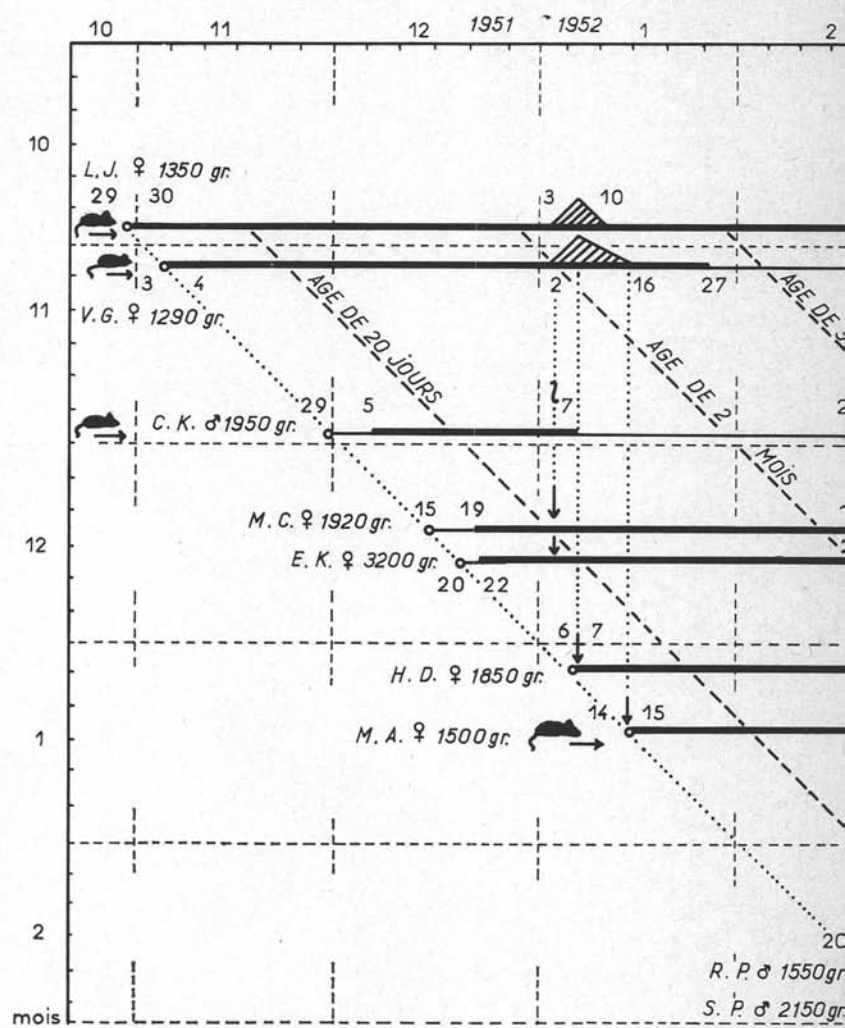
FIG. 3. — Pneumonie à *Pneumocystis* expérimentale du rat de laboratoire faisant apparaître çà et là dans les alvéoles des microstructures spumeuses colorées en rouge par le MacManus (Photo Kučera-Vávra)

FIG. 4. — Kyste à huit éléments dans un groupe de formes du stade en « rayon de miel ». Frottis par apposition de poumon de souris (*Mus Musculus*) coloré au Giemsa (Photo Kučera-Vávra)



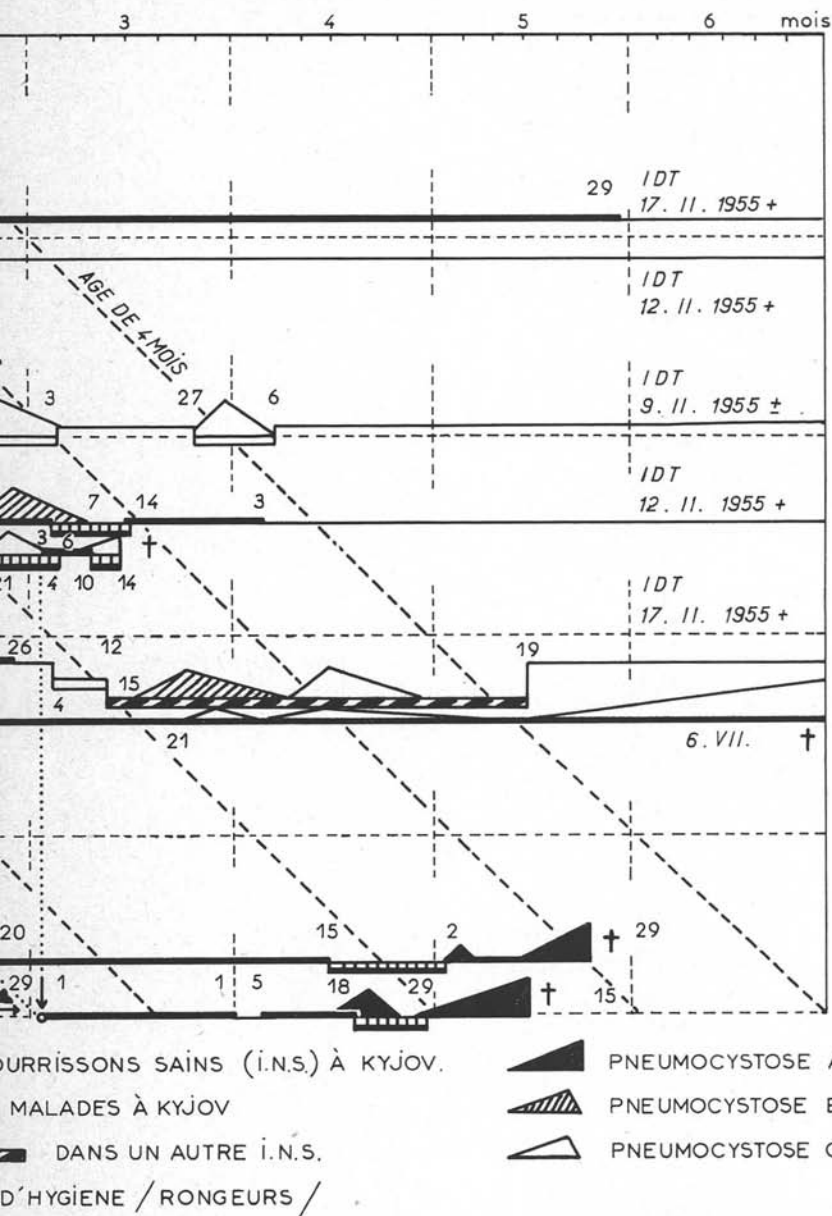
(FIG. 1 à 4 : légendes ci-contre)

RECONSTITUTION DU COMM
DE PNEUMONIE PNEUM



- VIE DANS LA FAMILLE
- DANS L'INSTITUT POUR
- ▨ TRANSFERT TEMPORAIRE DANS UN HOPITAL POUR NOURRISSC
- ▨ TRANSFERT TEMPORAIRE DANS UN AUTRE HOPITAL
- 👶 NAISSANCE DANS UNE FAMILLE AVEC MAUVAISES CONDITION

DEVELOPPEMENT DE LA PREMIERE EPIDEMIE
 PNEUMOCYSTIQUE A KYJOV 1951-1952



Nous avons essayé de faire apparaître des différences immunologiques en faisant réagir des antigènes d'origine animale avec des sérums porteurs d'anticorps contre des pneumocystes d'origine humaine, et, à l'inverse, des antigènes d'origine humaine avec des sérums contenant des anticorps contre des pneumocystes d'origine animale ; mais ces expériences se sont soldées par des échecs.

Aucune des méthodes appliquées pour la différenciation des pneumocystes d'origine humaine et animale n'a donné jusqu'à ce jour de résultats décisifs. L'opinion selon laquelle il s'agirait de deux espèces différentes, qui n'est fondée que sur la comparaison des dimensions externes de certaines formes évolutives du parasite (Pliess 1963), est, à l'heure actuelle, encore insuffisamment étayée.

*

**

II

En essayant de démontrer les rapports de causalité existant entre les épidémies de pneumonie interstitielle et l'existence de *Pneumocystis carinii* dans les poumons des petits Rongeurs et des animaux domestiques, nous avons mis au point une méthode d'exploration que nous avons appelée « la méthode des corrélations épidémiologiques locales et chronologiques exprimées par un graphique précis » (Kučera 1964). Cette méthode peut nous instruire rétrospectivement sur le début véritable de chacune des épidémies étudiées dans une agglomération homogène et relativement isolée des environs.

On peut suivre le principe de cette méthode sur le graphique 1. Le réseau fin dont un millimètre carré représente un jour est supprimé en vue d'une meilleure clarté. Un « carré » du réseau grossier qui reste et dont la grandeur varie selon le nombre des jours de chaque mois, représente un mois. Tous ces carrés sont marqués par un chiffre correspondant au chiffre du mois de l'année. La première ligne oblique, à droite, porte les dates de naissance des nourrissons dont ne subsistent, dans le présent graphique, que celles qui sont importantes pour notre étude. La vie de chacun des nourrissons est marquée par une ligne horizontale sur laquelle se trouvent différents signes. Le séjour à la maison maternelle est représenté par une ligne mince. Le séjour dans une institution d'assistance publique est figuré par une ligne épaisse, ou par deux lignes un peu déviées dans le sens vertical. Le commencement, l'acmé et la fin de la pneumocystose sont marqués par un triangle. Les transferts du nourrisson, d'un service pour les enfants sains à un autre pour les malades, par exemple, dans la même ville ou ailleurs, sont représentés par des déviations au-dessous de la ligne horizontale principale. La seconde ligne oblique à gauche signifie l'âge de vingt jours de chaque nourrisson ; la troisième ligne oblique à gauche représente l'âge de deux mois, et la quatrième l'âge de quatre mois. En utilisant cette méthode, on doit commencer toujours par l'étude d'un sujet dans le poumon duquel *Pneumocystis carinii* a été découvert. Lors de la première épidémie, dont le commencement est représenté sur le cliché, la mise en évidence du parasite n'a pu être effectuée qu'après la mort.

Le début apparent de cette épidémie s'est manifesté par la mort presque simultanée, vers la mi-mai 1952, de deux nourrissons dans l'un des deux instituts étudiés. On trouve ces deux cas au-dessous et à droite du cliché. Sachant que la période moyenne d'incubation de la pneumocystose est de 60 jours environ, il faut rechercher le moment de leur contamination dans les premiers jours de leur vie, car la pneumonie a débuté chez eux vers la fin d'avril et au commencement de mai respectivement.

En effet, à l'heure de leur admission à l'institut, un petit groupe de trois sujets souffrait de pneumonie interstitielle. Plus tard, nous avons pu démontrer chez les deux survivants une hypersensibilité à un extrait de poumons à pneumocystes, dont la préparation a été décrite en tchèque (Kučera et Jirovec 1962), texte que je traduis ici :

« Le poumon d'un enfant mort récemment (deux heures auparavant, pas davantage) doit être enlevé aseptiquement du thorax. Avant de le conserver à -20°C , aussitôt après le prélèvement, il faut ensemençer une série de milieux de culture pour microbes aérobies et anaérobies, et pour champignons, avec des échantillons prélevés à la surface et à l'intérieur du poumon. De plus, il faut effectuer des frottis par apposition avec des coupes fraîches de parenchyme pulmonaire et en conserver un fragment pour l'examen histologique. On dénombre les pneumocystes, et si 1 g de tissu pulmonaire contient au moins 1 milliard de pneumocystes, à l'exclusion de toute contamination bactérienne ou mycosique (et même de toute contamination virale, si l'on dispose de cultures de cellules de rein de singe), on dégèle le poumon ; on le coupe aseptiquement en fragments de 4×4 mm ; on pèse et on triture avec de la poudre de verre stérile dont le poids est fixé d'avance (on peut aussi substituer à toutes ces opérations la désintégration dans un appareil mixeur), et on fait macérer pendant 48 heures, à 60°C , 1 g de tissu pulmonaire dans 1 ml de solution saline contenant 0,7 % de NaCl, additionnée de 0,25 % de phénol cristallisé.

Au bout de trois jours, on ajoute une autre solution saline à 0,85 % de NaCl dans la proportion de 1 à 2 du tissu pulmonaire par rapport à la dilution. On incube le mélange pendant quatre jours à 4°C en agitant souvent. On le refroidit de nouveau à -20°C pendant trois jours. On centrifuge cinq minutes à 5.000 tours. Le culot est enlevé et le liquide trouble est de nouveau placé à -20°C . Après un dernier contrôle de stérilité, on distribue le liquide dans des ampoules de 10 cc et on fait sécher dans un appareil lyophilisateur. La poudre conserve sa qualité durant plusieurs années. Avant l'application, elle doit être diluée dans la proportion de 1 : 30 dans la solution saline. La sensibilité de cette dilution se conserve intacte pendant un maximum de 24 heures à la température de 20°C . On injecte avec une aiguille intradermique 0,1 cc et on doit faire la lecture de la réaction à des intervalles de 6 heures pendant 48 heures. On doit préparer et appliquer de la même façon un antigène de contrôle avec le poumon intact d'un nouveau-né. »

Chez le nourrisson mort (triangle vide avec une croix du cliché n° 1), nous n'avons pas pu réaliser ultérieurement un contrôle histologique en raison du manque de matériel. La pneumocystose de ces trois cas passa inaperçue du clinicien et du pathologiste, la connaissance de cette maladie n'étant pas très répandue encore dans la première moitié de l'année 1952. Si nous suivons la vie des sujets de ces trois cas avant leur maladie, nous constatons qu'ils sont tous nés à l'hôpital dans la seconde moitié de décembre 1951, d'où ils ont été transférés, le même jour, à l'institut pour

nourrissons. Le début de leur maladie étant apyrétique, ils ne furent pas transférés dans un service pour nourrissons malades, et restèrent parmi les nourrissons sains.

Au commencement de janvier 1952, peu après leur admission, ils ont été en contact, à l'institut, avec deux autres sujets souffrant de pneumonie interstitielle afébrile, qui sont restés à l'institut. Chez ces deux derniers nourrissons, nous avons pu démontrer aussi, plus tard, une réaction intradermique positive. Ils étaient nés dans deux petites fermes, à la campagne, où nous avons observé une hygiène très déficiente. Au moment de l'accouchement, et même encore lors de notre visite, on y voyait courir de nombreux petits Rongeurs.

En étudiant les matériaux de cet institut précédant ces deux cas, depuis son inauguration, à la fin de juin 1951, nous n'avons trouvé trace d'aucun nourrisson présentant une pneumonie interstitielle. Donc le réservoir de la pneumocystose devait se trouver en dehors de cet institut, et les deux cas qui sont à l'origine véritable de la première épidémie ont acquis l'infection dans leur maison, si l'on élimine toutefois, pour le moment, l'hypothèse d'existence de porteurs sains.

De la même façon, nous avons étudié cinq autres épidémies de la même région de Moravie du Sud-Est, dans la période qui s'étend de la fin mai 1952 au 31 décembre 1955. La vérification de la méthode et de coïncidences identiques au début des épidémies ultérieures confirme les résultats précédents. Les six épidémies ont puisé leur origine chez des sujets nés dans des conditions hygiéniques très rudimentaires et au voisinage de nombreux Rongeurs (Kučera 1964).

Ces observations nous ont contraint à nous préoccuper d'une série de questions, dont nous signalons ici brièvement quelques-unes :

- 1) la valeur de la réaction intradermique ;
- 2) la valeur du diagnostic intravital ;
- 3) la durée moyenne de l'incubation ;
- 4) le moment vraisemblable de la contamination et le début des signes cliniques ;
- 5) les limites de validité de la nouvelle méthode ;
- 6) le rôle des cas sporadiques ;
- 7) le rôle et la question de l'existence de porteurs sains.

1) *La valeur de la réaction intradermique* a été contrôlée sur plusieurs groupes de populations. Le premier ne comportait que des nourrissons, le second des personnes en service dans un des instituts étudiés, le troisième était formé par les membres des familles des enfants hospitalisés pendant les épidémies, et le quatrième par les pensionnaires de plusieurs hospices de vieillards (Kučera et Jirovec 1962). Comme méthode de contrôle dans le dépistage épidémiologique chez les nourrissons survivants, la réaction intracutanée est d'un secours considérable, mais sa valeur est limitée par la nécessité de son application dans un intervalle relativement court après la convalescence des malades, afin d'éviter l'intervention accidentelle d'une contamination secondaire par

Pneumocystis. Mais il semble qu'on ne puisse observer une telle réaction accidentelle qu'avec une dose massive de parasites. La réaction persiste dix ans, d'après nos observations chez trois enfants. La fréquence de l'hypersensibilité augmente parallèlement avec l'âge dans une population dans laquelle dominent les individus ayant vécu longtemps à la campagne dans des conditions de pauvreté et d'hygiène rudimentaire.

2) *La valeur du diagnostic intravital* n'est pas établie. Nous avons essayé deux méthodes, n'étant pas partisan de la ponction pulmonaire, surtout chez un nourrisson sérieusement malade comme dans les cas graves de pneumocystose. La méthode préconisée par les auteurs de Paris nous semble assez dangereuse à cause de l'aspiration de la trachée (Le Tan Vinh *et al.* 1960, 1963). L'aspiration du pharynx (Vialatte *et al.* 1963, Erchul *et al.* 1962), en combinaison avec la méthode de coloration de Gram-Weigert ou de Gomori, ne nous donne pas assez de certitude, car elle ne présente que l'extérieur des kystes qu'on peut confondre pour cette raison avec des spores fongiques dont la présence accidentelle dans le pharynx est fréquente. Nous essayons depuis 1963 de mettre en évidence les pneumocystes dans les frottis de larynx en prélevant le matériel de la même façon que pour la démonstration des Mycobactéries tuberculeuses, c'est-à-dire à la face inférieure de l'épiglotte (Kučera 1965, Kučera et Valoušek 1966). En colorant les frottis selon la méthode de Pappenheim (May-Grünwald-Giemsa), et pour le contrôle par la technique de Gram-Weigert ou de Grocott, on peut trouver les pneumocystes dans les voies respiratoires supérieures, mais seulement pendant l'acmé de la maladie, en répétant le prélèvement jour après jour et chez les individus qui toussent. L'expérience sur l'efficacité de toutes ces méthodes n'est pas jusqu'à présent suffisante.

La méthode indirecte, c'est-à-dire la démonstration des anticorps dans le sérum des malades, fut employée pour la première fois par des auteurs tchécoslovaques (Dvořáček *et coll.* 1953) qui ont décrit la préparation de l'antigène (extrait alcoolique et acétonique de poumon pneumocystique) et la technique de déviation du complément. En Allemagne, un procédé semblable (Vivell 1954) fut décrit. Depuis la fin de 1953, Dvořáček *et coll.* ont examiné quelques-uns des cas étudiés par nous et par diverses personnes travaillant dans l'un des instituts de notre territoire. Puis, au cours de l'épidémie de 1962-1963, à Kladno, en Bohême centrale, une centaine de nourrissons environ ont été examinés par nous par la même méthode. Les résultats montrent que chez les nourrissons malades un titre appréciable d'anticorps contre *Pneumocystis carinii* se développe en général assez irrégulièrement et qu'ils peuvent même manquer dans les cas graves suraigus.

La dynamique de la présence des anticorps chez les nourrissons a été étudiée jusqu'à présent avec peu de précision. Il semble que les anticorps puissent disparaître du sérum après une période relativement courte (dans un cas, après trois mois). Dans une maladie à longue incubation, une telle méthode ne peut donner des résultats parfaitement véridiques ni pendant le dépistage rétrospectif, ni dans le diagnostic.

Depuis 1963, nous avons essayé également, dans un petit nombre de cas, la réaction indirecte d'immunofluorescence avec des résultats identiques. Nous les avons

confrontés avec ceux du travail polonais qui s'occupe de ce problème (Nowoslawski et Brzosko 1963). La méthode décrite peut être utilisée.

Dans quelques cas de pneumocystose aiguë, nous avons essayé le test intradermique comme moyen de diagnostic. Il nous semble que la réaction est en général faible chez les nourrissons de deux mois. Son irrégularité dépend vraisemblablement d'un état anergique des nourrissons de cet âge, souffrant en plus d'une pneumocystose grave. Du reste, on connaît les réponses immunologiques faibles, fréquentes à cet âge.

3) *La durée d'incubation* dans la pneumocystose a été souvent discutée. Dans nos observations, la répartition des cas selon l'âge auquel les premiers symptômes de la pneumonie à *Pneumocystis* apparaissent, se présente comme suit : 61 cas à 60-69 jours, 44 cas à 70-79 jours, 34 cas à 50-59 jours, 25 cas à 80-89 jours. Un seul nourrisson est tombé malade au cours du premier mois de sa vie (16 jours) ; sept nourrissons seulement sont tombés malades à l'âge de 30-39 jours. Chez huit enfants, la maladie a commencé au-delà de 100 jours. En observant le graphique, on voit que l'invasion du parasite se réalise le plus souvent dans les vingt premiers jours de la vie des nourrissons ; d'autre part, on constate expérimentalement chez le rat une incubation de 30 à 60 jours ; on peut donc prendre la durée de 60 jours comme période d'incubation moyenne chez l'homme. Cette déduction correspond bien, en outre, avec le début insidieux et inapparent des épidémies de pneumocystose, dont l'exemple est figuré sur le graphique. Les descriptions des débuts brutaux, en apparence, d'épidémies de cette maladie ne semblent pas être basées sur un dépistage rétrospectif suffisant.

L'explication des variations de l'incubation moyenne, qui sont relativement peu nombreuses, nous semble possible. L'existence d'une pneumonie à *Pneumocystis* dès le premier mois de la vie du nourrisson peut être interprétée comme étant d'origine congénitale. On connaît au moins une observation qui semble être décisive (Pavlica 1962). Dans ce cas, une pneumonie à pneumocystes typiques fut trouvée chez un enfant mort-né. Haut titre des anticorps dans la réaction K.F.R., observé par Dvořáček et coll., et réaction cutanée positive à la pneumocystine trouvée à deux reprises par nous chez la mère, nous confirment dans l'opinion qu'il s'agit d'une pénétration et d'une transmission transplacentaires du parasite. La réaction intracutanée négative chez 26 mères de nourrissons de l'un des instituts que nous avons contrôlés fournit à ce sujet un contraste remarquable. Dans la catégorie de la pneumocystose congénitale, on peut peut-être inclure, par une étude rétrospective, un cas de Giesenbauer (1941), qui n'est pas décrit avec précision. Notre observation du nourrisson, malade à l'âge de 16 jours et dont la mère avait une réaction intracutanée positive, est la troisième de cette catégorie. Le quatrième cas est celui de Post et coll. 1963.

Les pneumonies à pneumocystes, débutant au-delà de 100 jours, peuvent être rattachées aux cas dits sporadiques.

4) *Le moment vraisemblable de la contamination et du commencement de l'infestation* doit toujours être discuté conjointement avec la durée de la période d'incubation. Dans les cas bénins surtout, il peut être difficile de fixer le début véritable de

la maladie, car les symptômes les plus significatifs peuvent manquer, même lorsque l'image radiologique révèle une pneumonie interstitielle irréfutable. Les discordances dépendent du nombre des alvéoles atteintes et de la massivité de l'infiltration interalvéolaire, ainsi que de l'inquiétude de l'enfant. Le commencement de la maladie doit pratiquement être fixé d'après l'image radiologique et d'après les symptômes généraux si les symptômes dyspnœiques manquent, sinon selon ces derniers. Il est nécessaire d'examiner chaque cas individuellement. Bien que la fixation de la date du début de la pneumonie à *Pneumocystis* ne soit qu'un acte de convention, au point de vue épidémiologique, elle est très importante. C'est un point de départ pour la fixation vraisemblable du moment de la contamination.

5) *Les limites de la validité de la nouvelle méthode* ont été vérifiées sur un matériel relativement homogène en ce qui concerne l'âge, et relativement isolé des populations environnantes, c'est-à-dire sur la population de quelques « instituts pour nourrissons sains », menacés socialement ou épidémiologiquement d'une maladie infectieuse. Ces instituts sont appelés en Tchécoslovaquie « Kojenecké ústavy » (soit, traduit mot à mot : « instituts pour nourrissons »). Mais, en dépistant la maladie, on ne peut borner son attention à la seule période de vie du nourrisson à l'intérieur de l'institut. Au contraire, pour rechercher les moments de contamination, on est obligé de le suivre durant sa vie hors de l'institut avant son admission, et au moins jusqu'à l'âge de 6 mois après qu'il l'ait quitté. L'étude doit englober aussi le milieu environnant, surtout parce qu'il change souvent. Simultanément, on doit être constamment informé de tous les cas de pneumonie interstitielle intervenus dans les lieux où les nourrissons de l'institut faisant l'objet de ce contrôle médical ont séjourné avant d'être admis dans cet établissement.

Les conditions d'application de cette méthode aux cas sporadiques dénombrés dans les hôpitaux, les cliniques, les instituts pour nourrissons malades, sont peu favorables en raison de la disparité des âges, du rythme rapide des hospitalisations, de la grande variété des maladies, etc. La situation devient, de ce fait, si complexe qu'il est impossible de suivre les observations et rapports nécessaires pour une estimation épidémiologique sérieuse.

6) *Le rôle des cas sporadiques* dans les épidémies nous paraît très important. Dans chacune des six épidémies que nous avons étudiées, les cas « sporadiques » apparaissent comme jouant un rôle initiateur. Les épidémies de pneumocystose frappent exclusivement les nourrissons au-dessous de quatre mois. Une véritable épidémie (avec des corrélations chronologiques et topiques) parmi les enfants plus âgés ou parmi les adultes, n'a jamais été décrite. Dans ces dernières catégories d'âge, on trouve seulement des cas isolés, épidémiologiquement désignés comme sporadiques, si tant est que leur épidémiologie puisse être concernée, la plupart n'ayant été étudiés que du point de vue clinique ou pathologique.

7) *La question de l'existence de porteurs sains* de pneumocystes n'est pas résolue. En étudiant les épidémies de pneumocystose, nous avons pu élucider tous les cas de

cette maladie sans mettre en cause des porteurs sains. Mais nous n'avons pas recherché systématiquement les pneumocystes dans les voies respiratoires de toutes les personnes suspectes. Tous ceux qui tentent de le faire, comme nous-même dans quelques dizaines de frottis, sont découragés par les résultats, toujours négatifs ou incertains.

Dans les frottis de pharynx se trouvent souvent des spores mycosiques de forme assez semblable à celles de *Pneumocystis carinii*, mais dont les caractères morphologiques sont insuffisants pour une détermination précise. La première note sur la découverte de pneumocystes dans des frottis d'hypopharynx chez des porteurs sains est un travail canadien (Robillard *et al.* 1965). Il s'agit de huit sujets signalés tout à fait en passant, sans illustration de cet événement qui — s'il est exact — s'avère cependant, au point de vue épidémiologique, extraordinairement important.

On ne pourrait admettre, comme démonstration de l'existence de porteurs sains, que la découverte répétée et incontestée au point de vue morphologique des formes classiques de *Pneumocystis carinii*. Ni la présence des anticorps spécifiques dans le sang, ni l'hypermensibilité de la peau à la pneumocystine ne nous paraissent des preuves décisives. A cet égard, une opinion inverse a été soutenue par mon collègue dans un travail antérieur sur l'importance diagnostique de la réaction intracutanée (Kučera et Jirovec 1962).

Je pense que nous n'avons pas encore aujourd'hui de moyens suffisants pour juger du rôle et même de l'existence de porteurs sains de pneumocystes.

*
**

III

En 1952 déjà, nous avons commencé à rechercher si, dans les régions où des épidémies de pneumocystose se développent de temps à autre, la présence de *Pneumocystis carinii* chez des petits rongeurs et d'autres animaux ne pourrait être démontrée. Notre premier pas dans ce domaine a été l'examen des poumons de dix petits campagnols (*Microtus arvalis*), de trois souris (*Mus musculus*), de deux rats (*Rattus norvegicus*) et d'un chien. Tous ces animaux avaient été capturés dans des maisons de campagne ou au voisinage de maisons où étaient nés les enfants qui, à l'âge de 2-4 mois, ont été le point de départ des épidémies que nous avons étudiées. Dans trois de ces foyers, nous avons réussi à trouver *Pneumocystis carinii* dans le poumon d'un *Microtus arvalis*, d'un *Mus musculus*, et d'un *Rattus norvegicus*. En examinant en 1957 les poumons des 53 rats (*Rattus norvegicus*) sauvages capturés dans deux villes de cette région, nous avons trouvé deux spécimens positifs (fig. 3).

La pneumonie non expérimentale à *Pneumocystis* du rat ne diffère guère de l'image de la pneumocystose humaine au point de vue histopathologique, mais on y trouve plus souvent une forme disséminée. La pneumonie expérimentale du rat, après un traitement prolongé par les corticostéroïdes, peut donner des lésions histopatho-

logiques sans infiltration cellulaire interalvéolaire, semblables à celles des cas humains après un long traitement par les mêmes hormones.

En 1957, nous avons encore examiné dans la même région 34 campagnols dont l'un nous semblait être positif ; puis 26 poumons de *Mus musculus* qui tous étaient négatifs, et 6 poumons de taupe (*Talpa europaea*), tous également négatifs. Mais l'année 1957 a été marquée par un nombre très réduit de petits Rongeurs dans le territoire étudié.

Nous avons poursuivi notre enquête en 1961, quand une prolifération anormale de campagnols fut observée sur les territoires de la Bohême centrale. Le D^r Cerva récolta 194 petits Rongeurs dont nous avons examiné les poumons. En 1963-1964, le D^r Sebek captura 405 petits Mammifères en Moravie du Sud-Ouest, aux environs de Brno, et dans la Bohême du Sud-Est. Nous n'avons pas encore achevé l'examen de ces deux collections, et n'avons trouvé jusqu'à présent que huit cas avec *Pneumocystis carinii* dans le poumon.

En janvier 1966, Sebek a découvert en Moravie sud-occidentale (Jihlava) une souris (*Mus musculus*) présentant une pneumonie à pneumocystes, typique (fig. 4).

Il faut rappeler à cette occasion l'intéressante découverte de *Pneumocystis carinii* dans un cas de pneumonie chez un lièvre, observation publiée en Tchécoslovaquie (Blažek 1960, Blažek et Pokorny 1963).

Ces résultats nous ont convaincu de l'existence de *Pneumocystis carinii* ainsi que de pneumonies à *Pneumocystis* chez les petits Rongeurs. Toutefois, le nombre des résultats positifs ne nous semble pas assez significatif pour en faire état au point de vue épidémiologique. La cause de cette rare fréquence résulte peut-être de la faible efficacité de la méthode employée.

C'est pourquoi nous avons commencé à rechercher des anticorps anti-*Pneumocystis* dans les sérums des petits Mammifères, en nous servant d'abord de la réaction de déviation du complément, qui ne diffère guère de celle décrite par les auteurs d'Olomouc (Dvoracek et col., 1953, Bárta et Kadlec 1954, Bárta, Dvořáček et Kadlec 1955, Bárta et Lýsek 1962). D'après ces auteurs, l'antigène est préparé à partir de poumon humain contenant des *Pneumocystis carinii* en nombre suffisant. Les résultats actuels, dont les plus récents ont été obtenus en collaboration avec Bedrník, Kadlec et Marsalek, sont assez encourageants puisque sur 65 sérums de *Microtus arvalis*, 3 étaient positifs, sur 26 sérums d'*Apodemus flavicollis*, 5 étaient positifs, et sur 18 sérums de *Clethrionomys glareolus*, 1 était positif. Les autres échantillons de sérums examinés, provenant de 8 *Apodemus sylvaticus*, 6 *Rattus norvegicus* sauvages et 1 *Rattus rattus*, se sont montrés négatifs. A l'exception des rats, tous les autres animaux ont été capturés en Bohême occidentale, à la fin de 1965 et au cours de la première moitié de 1966, dans un terrain vague, où des cas humains de pneumocystose ne sont pas connus. Les travaux qui doivent répondre à la question de savoir si la fréquence des individus ayant des anticorps dans leur sérum varie suivant les saisons de l'année et dépend des variations cycliques des populations de petits Mammifères sont en cours.

Nous n'avons pu réussir à observer des épizooties de pneumocystose. Elles n'ont pas été décrites jusqu'à présent non plus. Mais on ne capture que les animaux vivants,

sortant de leurs terriers. Il nous semble qu'il faut un hasard particulier pour tomber sur un animal sérieusement malade dans un terrain vague, comme l'a trouvé Sebek en 1966, puis, à nouveau, en 1967, chez *Sorex araneus*, *S. alpinus* et *Neomys fodiens*. La pneumocystose chez les Rongeurs ne produit que des symptômes très légers, comme on peut l'observer dans les cas de pneumocystose expérimentale. Cependant, si dans la nature elle est grave, l'animal ne sort pas de son terrier ou bien il peut être dévoré par d'autres animaux. S'il meurt sans être mangé, son cadavre se décompose rapidement. La pneumocystose n'est d'ailleurs pas la cause unique des pneumonies de Rongeurs ou de Mammifères. On connaît beaucoup d'agents qui les provoquent presque sans symptômes appréciables. On constate même relativement rarement que les Rongeurs souffrent de pneumonie durant leur vie au laboratoire. Nous avons observé que les rats de laboratoire ne souffraient que de symptômes très légers dans la pneumocystose expérimentale après un traitement prolongé par la cortisone. L'image radiologique de ces pneumonies, suivie par nous avec Globočnik, confirme cette opinion.

En étudiant les épidémies humaines, nous avons été frappés par une certaine corrélation entre le nombre des cas et la gravité des épidémies en général, d'une part, les variations cycliques dans la prolifération des campagnols, d'autre part. Les grandes épidémies régionales que nous avons étudiées ont toujours été observées dans les années qui suivaient celles où le nombre des campagnols dépassait de façon considérable le taux normal de fréquence de ces petits Rongeurs. Ces épidémies ont diminué, puis disparu au cours des années où le nombre des campagnols n'était plus remarquable. Les grandes épidémies de pneumocystose en Moravie du Sud-Est se sont développées au moment où le pourcentage des accouchements dans les maisons de campagne était encore assez élevé dans cette région. Avec la réduction progressive des accouchements extra-hospitaliers, que nous avons signalée comme un des moyens de lutte contre les épidémies, le nombre des cas humains de pneumocystose dans cette région a également diminué. Mais il n'est pas facile de démontrer sans contestation la validité de ces opinions dans des cas concrets, les coordonnées en étant souvent trop complexes. On est toujours en retard d'un ou deux mois dans le dépistage des sources d'épidémie, en raison de la durée du temps d'incubation.

La corrélation entre une mauvaise hygiène, l'accouchement à la maison et la présence de petits Rongeurs dans le milieu nous a toujours paru frappante au début des six épidémies que nous avons étudiées. Une mauvaise hygiène, dans ce cas, suppose des rapports étroits entre le nouveau-né et les animaux domestiques. Le contact, sans précautions hygiéniques, dans les familles des petits villages ou de la périphérie des villes, des enfants avec le nouveau-né est une réalité qu'on peut observer partout. Les enfants de 2 à 6 ans jouent dans la cour, les greniers, les meules, les magasins et docks, avec tous les animaux, vivants ou morts, et avec leurs petits frères ou sœurs nouveau-nés, dans leurs hameaux et aux environs. C'est une image courante. Dans tous ces lieux de jeux, on trouve des Rongeurs, des animaux qui les chassent (chat, chien) et d'autres qui les mangent (porc). Il y a aussi beaucoup de poussière. Les enfants ne se lavent pas les mains ; les cheveux et les habits remplis de poussière, ils jouent librement avec les nouveau-nés. Les mères de familles doivent travailler presque immé-

diatement après l'accouchement. Elles s'occupent des animaux domestiques, préparent les repas, nettoient les habits maculés des enfants, et, dans leur hâte, oublient souvent de se laver les mains avant de s'occuper du nouveau-né. On pourrait signaler des dizaines de modes de pénétration par lesquels les kystes résistants de *Pneumocystis*, ainsi que d'autres microbes, peuvent parvenir passivement jusque dans les voies respiratoires du nouveau-né.

Le rôle des animaux domestiques est mal connu dans l'épidémiologie de la pneumocystose. Nous n'avons fait que commencer à nous occuper de cette question. Jusqu'ici, 3 des 24 sérums de porcs âgés de 3 mois qui furent autopsiés à la suite d'une pneumonie donnèrent une réaction de déviation du complément positive. On connaît aussi trois cas de pneumocystose du chien (Carini et Maciel 1916, Sedlmeier et Dahme 1955, Akker et Goedbloed 1960).

Conclusion

La présence de l'agent étiologique de la pneumocystose dans le domaine animal ne semble pas un fait rare, bien que cette question n'ait pas jusqu'à présent été fréquemment soulevée. Déjà cependant, les notions épidémiologiques que nous possédons, quoique restreintes, nous permettent de conclure que la pneumocystose est une anthrozoonose cosmopolite avec de nombreux foyers dans la nature.

Bibliographie

- AKKER (S. VAN DEN), GOEDBLOED (D.), 1960. — Pneumonie caused by *Pneumocystis carinii* in a dog. *Trop. geogr. med.* 12 : 54-58.
- BĀRTA (K.) et KADLEC (A.), 1954. — L'étude des antigènes lipoïdiques utilisées pour le séro-diagnostic des pneumonies à pneumocystis (en tchèque). *Scr. med. Fac. Brun.*, 27 : 208.
- , DVORÁČEK (Č.) et KADLEC (A.), 1955. — Komplementbindungs-Reaktion bei Pneumocysten-Pneumonien. *Schweiz. Z. allg. Path.*, 18 : 22-32.
- et LÝSEK (H.), 1962. — La pneumocystose expérimentale. L'étude des anticorps déviant le complément (en tchèque). *Čs. Epidem.*, 11 : 196-202.
- BLAŽEK (K.), 1960. — Die *Pneumocystis*-Pneumonie beim Feldhasen. *Zbl. allg. Path.*, 101 : 484-489.
- et POKORNY (B.), 1963. — *Pneumocystis pneumonia* in the field hare (*Lepus Europaeus* Pallas 1778). Progress in Protozoology. *Proceedings of the 1st Internat. Congress on Protozoology*, Prague 1961 (Ed. Publ. House Czechosl. Acad. Sci. Prague), pp. 485-6.
- CARINI (A.) et MACIEL (J.), 1916. — Ueber *Pneumocystis carinii*. *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.*, 77 : 46-50.

- CHAGAS (C.), 1909. — Nova trypanosomiase humana. *Mem. Inst. Cruz*, Rio, 1 : 159.
- COLES (C.), 1914. — Blood parasites found in animals, birds and fishes in England. *Parasitology*, 7 : 17.
- DELANOË et DELANOË, 1914. — De la rareté de *Pneumocystis carinii* chez les cobayes de la région de Paris. Absence de kystes chez d'autres animaux (lapin, grenouille, 3 anguilles). *Bull. Soc. Path. Exot.*, 7 : 271-272.
- DVORÁČEK (Č.) et BĀRTA (K.), KADLEC (A.), 1953. — La fixation du complément chez les pneumonies à *Pneumocystis* (en tchèque). *Lék. listy*, 8 : 537-539.
- ERCHUL (J. W.), WILLIAMS (L. P.) et MEIGHAN (P. R.), 1962. — *Pneumocystis carinii* in hypopharyngeal material. *New Engl. J. Med.*, 267 : 926-927.
- GALLI-VALÉRIO (B.), 1917. — Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik. *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.*, 79 : 41.
- , 1919. — Notes de parasitologie et technique parasitologique. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, n° 7/8 : 1-14.
- GIESENBAUER (W.), 1941. — Ueber die sogenannte interstitielle (plasmacelluläre) Pneumonie frühgeborener und schwächerer Kinder. *Mscr. Kinderheilk.* 86 : 111.
- JÍROVEC (O.), 1953. — La pneumocystose, une nouvelle maladie des nourrissons, causée par le parasite *Pneumocystis carinii* Delanoë 1912. *Atti VI. Congresso Internat. Microbiol.* (Roma 6-12 sept.), v. 5, ser. 15 : 327-336.
- , 1954. — Weitere Beiträge zur Kenntnis der von *Pneumocystis carinii* verursachten interstitiellen Pneumonien der Säuglinge (Bibliotheca paediat., Basel) *Moderne Probleme d. Paediatric.* J. E. Freudenberg zum 70. Geburtstag. Suppl. ad. *Ann. Paed.* 58 : 85-95.
- KUČERA (K.), 1963. — On the morphology and developmental cycle of *Pneumocystis carinii* of human and rat origin. Progress in Protozoology. *Proc. 1st. Internat. Congress on Protozoology*, Prague Aug. 24-3 1st 1961 (Ed. Publ. House Czechoslovak Acad. Sci. Prague), pp. 482-484.
- , 1964. — Some new views on the epidemiology of infections caused by *Pneumocystis carinii*. First Internat. *Congress on Parasitology 21-26 sept. 1964 in Rome.* (Programme p. 70) (Proceedings sous-pressé).
- , 1965. — A new form of *Pneumocystis carinii*. Progress in Protozoology. Abstracts of papers read at the *2nd Internat. Conference on Protozoology London 29th July-5th Aug. 1965.* Excerpta Medica Found., Internat. Congress Series N° 91, pp. 129-130.
- , 1966. — The actual and apparent number of *Pneumocystis* pneumonia cases in epidemics. *Folia parasit.* 13, 248-269.
- , 1966. — Exact correlation in epidemics of *Pneumocystis* pneumonia *Folia parasit.*, 13, 343-360.
- et JÍROVEC (O.), 1962. — Les réactions intradermiques avec la pneumocystine chez les personnes âgées (en tchèque). *Čsl. Parasit.*, 9 : 311-330.
- et VALOUŠEK (T.), 1966. — The direct proof of *Pneumocystis carinii* in alive nurslings. *Folia Parasit.* (Praha). 1 : 113-122.

- LE-TAN-VINH, PELLERINI (D.) et SINNA (H. T.), 1959. — La pneumonie à *Pneumocystis carinii*. Histogénèse des lésions pulmonaires. Possibilité du diagnostic clinique par l'examen de l'expectoration. 10^e journée Etudes sur le nouveau-né, Paris, p. 39.
- , VIALATTE (J.), PELIÉRIN (J. M.) et SINNA (H. T.), 1960. — La pneumonie à *Pneumocystis*. *Arch. franç. Pédiat.*, 17 : 1149-1160.
- , COCHARD (A. M.), VU-TRIEU-DONG et SOLONAR (W.), 1963. — Diagnostic « in vivo » de la pneumonie à « *Pneumocystis* ». *Arch. franç. Pédiat.*, 20 : 773-792.
- MERR (G. VAN DER) et BRUG (S. L.), 1942. — *Pneumocystis* als parasiet bij den Mensch. *Ned. T. Geneesk.*, 86 : 2066.
- MEER (G. VAN DER) et BRUG (S. L.), 1942. — Infection à *Pneumocystis* chez l'homme et chez les animaux. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 22 : 301-307.
- NOWOSLAWSKI (A.) et BRZOSKO (W. J.), 1964. — Indirect immunofluorescence for sero-diagnosis of *Pneumocystis carinii* infection. *Bull. Acad. pol. Sci.*, 12 : 143-147.
- PAVLICA (F.), 1962. — Die erste Beobachtung von angeborener Pneumocystenpneumonie bei einem reifen ausgetragenen totgeborenen Kind. *Ann. Paed. (Basel)*, 98 : 177-184.
- PLIESS (J.), 1955. — Untersuchungen über die Natur der *Pneumocystis carinii*. *Zbl. allg. Path.* 94 : 303.
- PORTER (A.), 1915-1916. — The occurrence of *Pneumocystis carinii* in mice in England. *Parasitology*, VIII : 255-259.
- POST (C.), DUTZ (W.) et NASSARIAN (I.), 1963. — Endemic *Pneumocystis carinii* pneumonia in South Iran. *Arch. Dis. Child.*, 39, 35-40.
- ROBILLARD (G.), BERTRAND (R.), GRÉGOIRE (H.), BERDNIKOFF (G.) et FAVREAU-ETHIER (M.), 1965. — Plasma cell pneumonia in infants, review of 51 cases. *J. canad. Ass. Radiol.*, 16 : 161-168.
- SEBEK (Z.). — Communication personnelle.
- SEDLMEIER (H.) et DAHME (E.), 1955. — *Pneumocystis carinii* beim Hund. *Zbl. allg. Path.*, 93 : 150-155.
- VANEK (J.), 1951. — La pneumonie atypique (interstitielle) des enfants provoquée par *Pneumocystis carinii* (en tchèque). *Čas. Lék. čes.*, 90 : 1121-1124.
- et JIROVEC (O.), 1952. — Parasitäre Pneumonie. « Interstitielle » Plasmazellenpneumonie der Frühgeburten, verursacht durch *Pneumocystis carinii*. *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.* 158 : 120-127.
- VIALATTE (J.), PAUPE (J.) et MEYER (B.), 1963. — Essai de traitement de la pneumonie à *Pneumocystis* du nourrisson. 4 cas de guérison. *Cah. Coll. méd. Hôp. Paris*, 4 : 759-762.
- VIVELL (O.), 1954. — Ueber eine neue serodiagnostische Methode bei der interstitiellen plasmazellulären Pneumonie junger Säuglinge und Frühgeburten. *Dtsch. med. Wschr.*, 79 : 358-360.

(Institut de Parasitologie de l'Académie tchécoslovaque des Sciences, Prague)