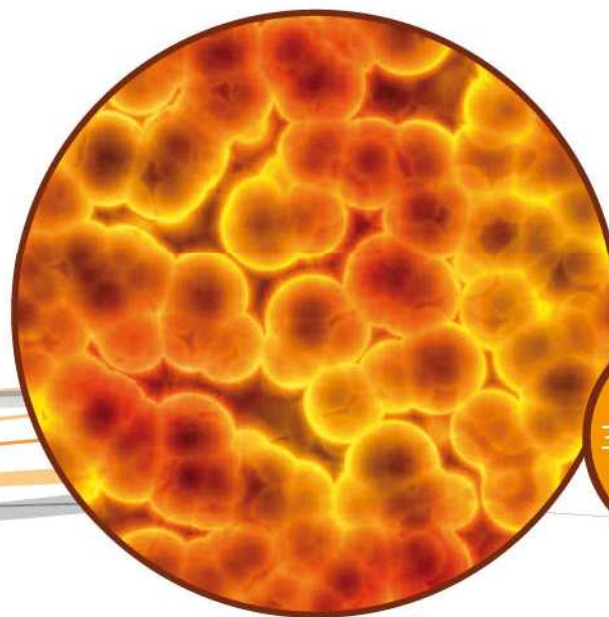


## Les rencontres scientifiques de l'Anses

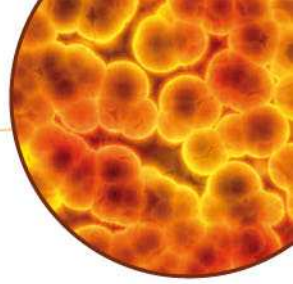
Restitution du programme national de  
recherche environnement santé travail

# De l'émergence à la résurgence des agents biologiques : caractérisation des facteurs de risque pour l'homme



Mercredi  
30 novembre  
2011

Maison internationale, Paris 14<sup>e</sup>



# Diffusion aérienne de *Pneumocystis*

*Anne TOTET*

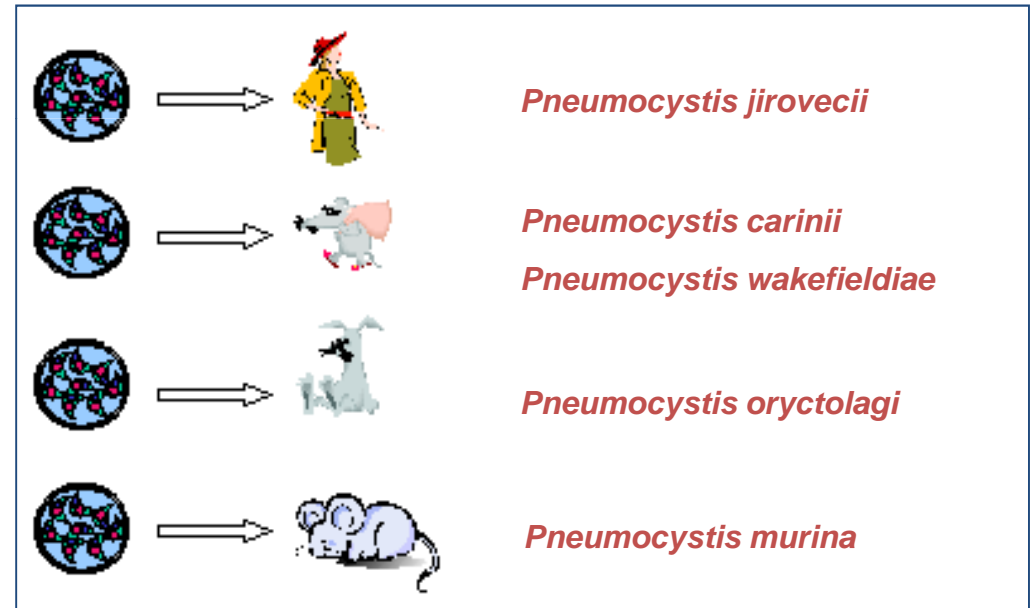
*CHU d'Amiens, Université de Picardie Jules Verne*

*Projet 2006-41*

# SITUATION DU SUJET

## Genre *Pneumocystis*

- ❑ Micromycètes atypiques
- ❑ Répandus chez les mammifères
- ❑ Spécificité d'hôte
  - Homme : *Pneumocystis jirovecii*
  - Réservoir animal exclu



- ❑ Responsable d'infection pulmonaire grave en cas d'immunodépression: PPC
- ❑ Infection *de novo*, source exogène
  - Absence de réservoir environnemental, spécificité d'hôte
  - Homme = réservoir de *P. jirovecii*

# SITUATION DU SUJET

## La transmission de *Pneumocystis*

### ❑ Chez les modèles animaux

- Transmission directe
- Par voie aérienne
- Entre 2 hôtes de la même espèce

*Hughes et al., 1983*

### ❑ Détection de l'ADN de *P. jirovecii*

- Dans l'air de la chambre des patients avec une PPC
- Filtre de matériel d'intubation d'un patient avec PPC

*Bartlett et al., 1997*

*Olsson et al., 1998*

*Sing et al., 1999*

### ❑ Cas groupés en milieu hospitalier

*Helweg-Larsen et al., 1998*

## OBJECTIF

Etudier l'excrétion de *Pneumocystis* par l'hôte infecté  
et sa dissémination dans l'air



Techniques de collecte et de quantification de *Pneumocystis* dans l'air

Etude expérimentale

Etude en milieu hospitalier

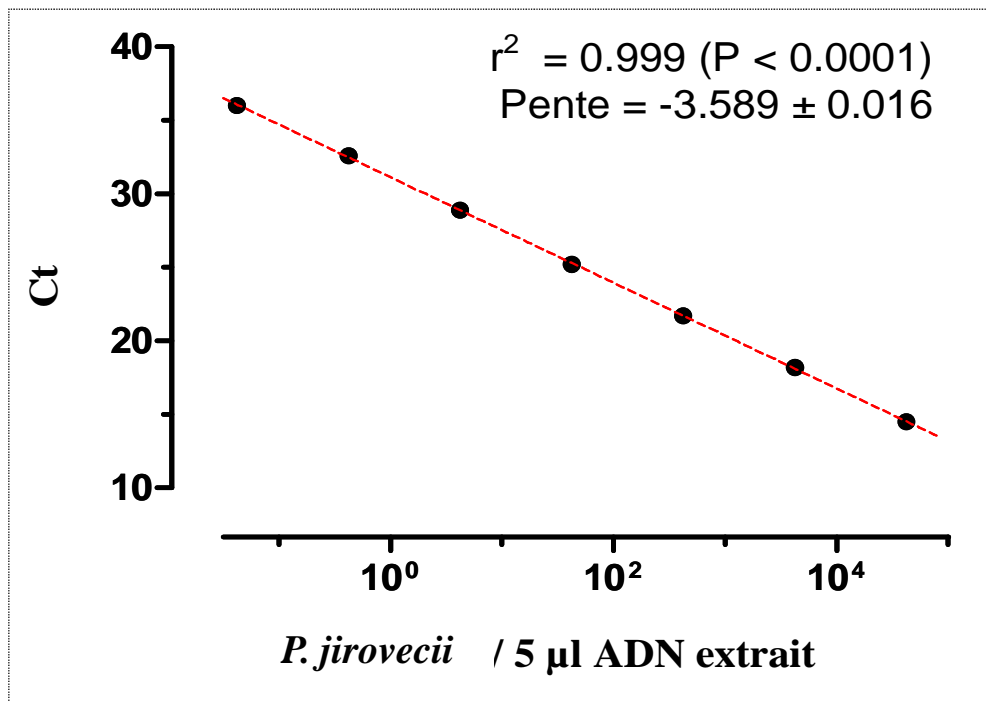
## La collecte de *Pneumocystis* dans l'air

- ❑ Impaction sur milieu liquide
- ❑ Débit de 300 L / min
- ❑ Prélèvement liquide de 15 mL

Coriolis®  $\mu$   
(Bertin technologies, France)

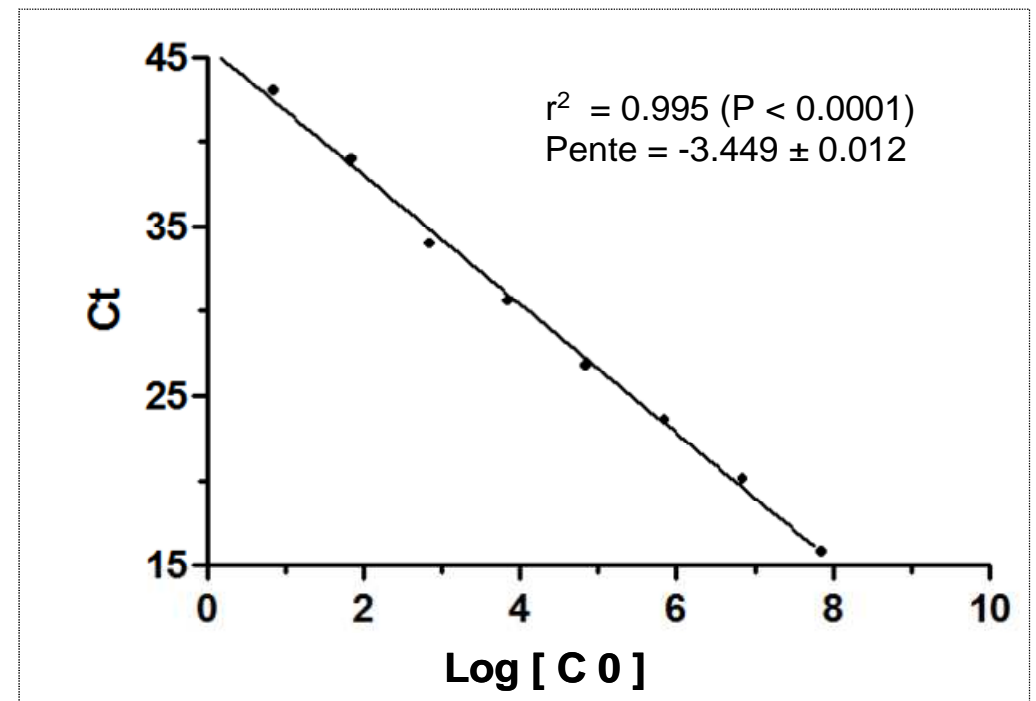


## La quantification de *Pneumocystis* dans l'air



Courbe de calibration de la qPCR amplifiant  
le gène de la mtLSUrRNA de *P. jirovecii*

7 copies / µL d'ADN extrait



Courbe de calibration de la qPCR amplifiant  
le gène de la mtLSUrRNA de *P. carinii*

8,4 micro-organismes /mL

# ETUDE EXPERIMENTALE

## Dynamics of *Pneumocystis carinii* Air Shedding During Experimental Pneumocystosis

Firas Choukri,<sup>1</sup> El Moukhtar Aliouat,<sup>2</sup> Jean Menotti,<sup>1</sup> Anne Totet,<sup>3</sup> Nausicaa Gantois,<sup>2</sup> Yves J. F. Garin,<sup>1</sup> Vance Bergeron,<sup>4</sup> Eduardo Dei-cas,<sup>2</sup> and Francis Derouin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Parasitology-Mycolology, Paris-Diderot University and Saint Louis Hospital (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris), Paris, <sup>2</sup>Department of Biology and Diversity of Emerging Eukaryotic Pathogens, Center for Infection and Immunity of Lille, Université Lille–Nord de France, Lille, <sup>3</sup>Department of Parasitology-Mycolology, University of Picardy and University Hospital, Amiens, and <sup>4</sup>Physics Laboratory, Ecole Normale Supérieure de Lyon, Lyon, France

**The Journal of Infectious Diseases** 2011;0:1–4

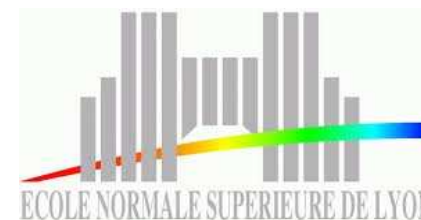
© The Author 2011. Published by Oxford University Press on behalf of the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For Permissions, please e-mail: journals.permissions@oup.com

1537-6613/2011/00-0001\$15.00

DOI: 10.1093/infdis/jir018

*Hôpital Saint-Louis*  
campus hospitalo-universitaire et de recherche  
Laboratoire de parasitologie et mycologie

Institut  
Pasteur  
de Lille  
Ecologie du parasitisme



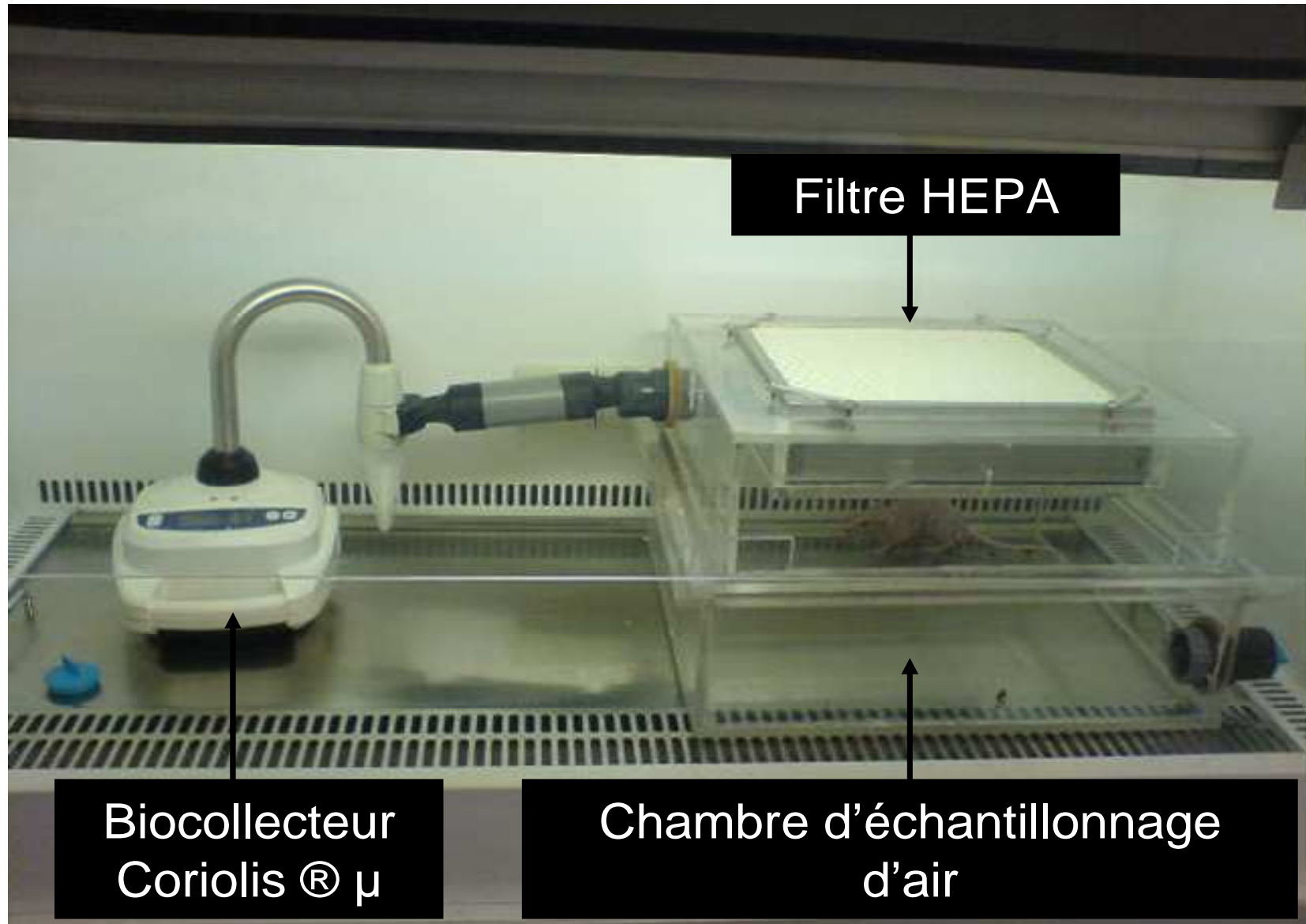
Laboratoire de Physique



Laboratoire de parasitologie et mycologie

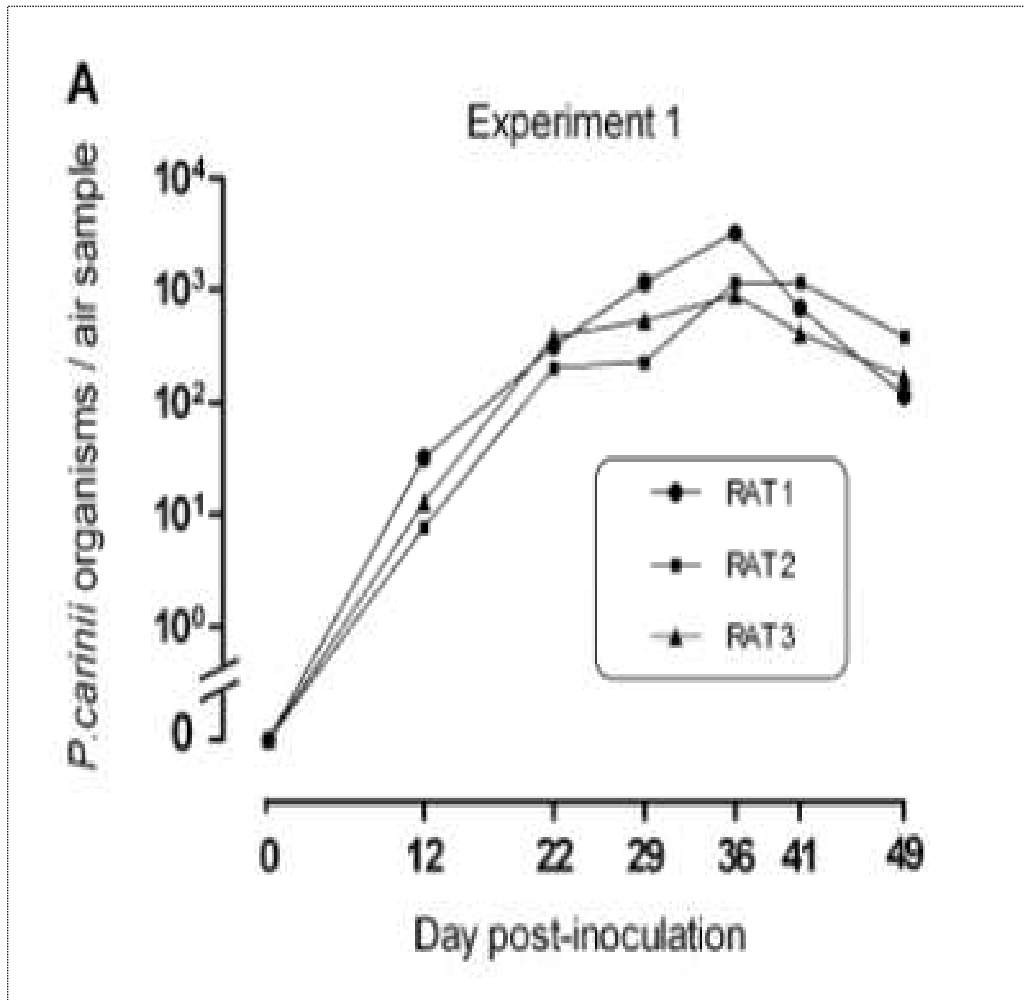


## ETUDE EXPERIMENTALE

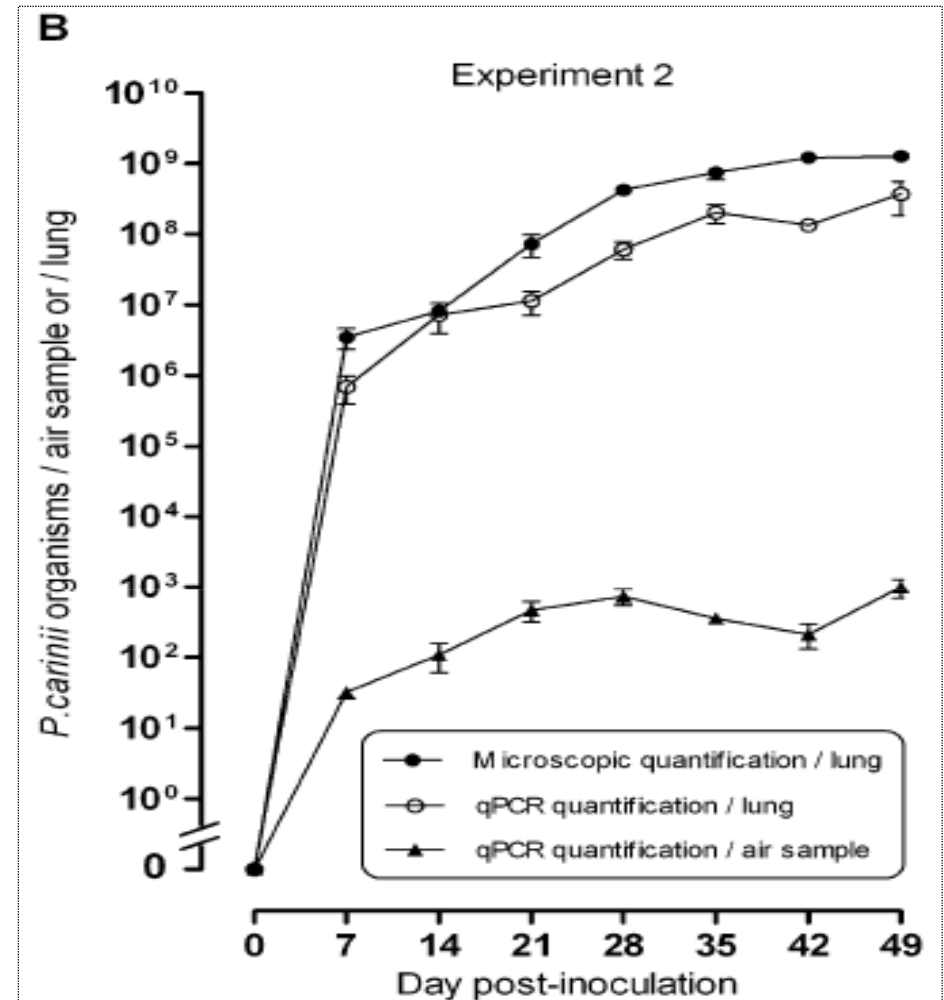


# ETUDE EXPERIMENTALE

Cinétique d'excrétion de *P. carinii* dans l'air au cours de l'infection chez le rat *nude*.



Relation entre la charge fongique pulmonaire des rats infectés et la charge fongique dans l'air.



# ETUDE EXPERIMENTALE

## Techniques de collecte et de quantification

- ❑ Efficacité et reproductibilité du recueil par impaction sur milieu liquide
- ❑ Sensibilité de la PCR en temps réel pour la détection et la quantification dans l'air

## Résultats de l'étude

- ❑ Corrélation significative entre les charges fongiques pulmonaire et aérienne
- ❑ Compréhension de la dynamique de diffusion de *Pneumocystis* au cours de l'infection
- ❑ Estimation du degré de progression de l'infection

## Quantification and Spread of *Pneumocystis jirovecii* in the Surrounding Air of Patients with *Pneumocystis* Pneumonia

Firas Choukri,<sup>1</sup> Jean Menotti,<sup>1</sup> Claudine Sarfati,<sup>1</sup> Jean-Christophe Lucet,<sup>2</sup> Gilles Nevez,<sup>3</sup> Yves J. F. Garin,<sup>1</sup>  
Francis Derouin,<sup>1</sup> and Anne Totet<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Saint Louis Hospital AHP and <sup>2</sup>Bichat-Claude Bernard Hospital AHP, Paris-Diderot University, Paris, <sup>3</sup>Université de Brest, CHU de Brest, Brest,  
and <sup>4</sup>University of Picardy and University Hospital, Amiens, France

**Clinical Infectious Diseases** 2010;51(3):259–265

© 2010 by the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved.

1058-4838/2010/5103-0001\$15.00

DOI: 10.1086/653933

*Hôpital Saint-Louis*  
campus hospitalo-universitaire et de recherche

Laboratoire de parasitologie et mycologie



Laboratoire de parasitologie et mycologie



Laboratoire de parasitologie et mycologie

# ETUDE EN MILIEU HOSPITALIER



## PRÉLÈVEMENTS D'AIR

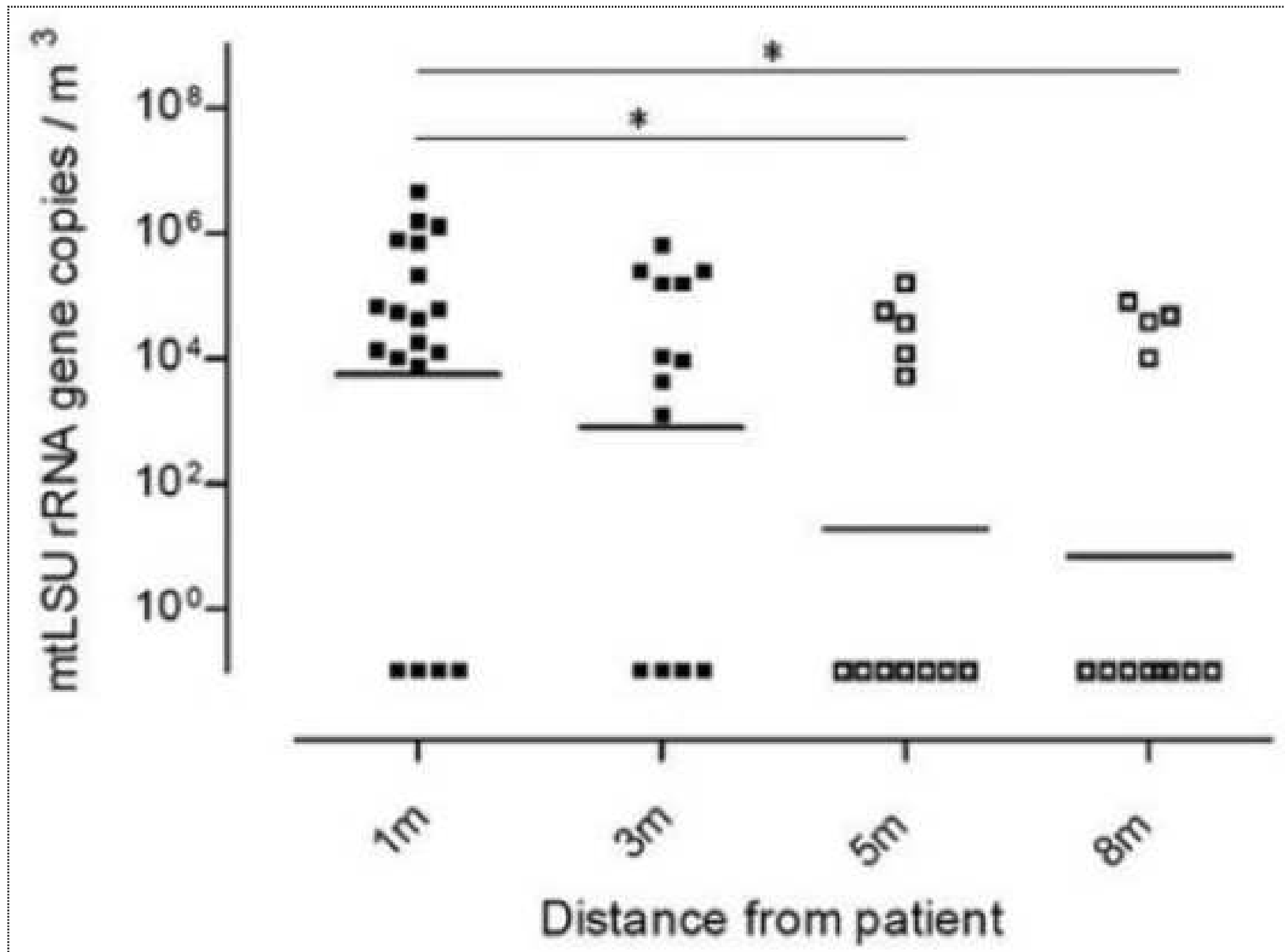
1 m

5 m

3 m

8 m

# ETUDE EN MILIEU HOSPITALIER



# ETUDE EN MILIEU HOSPITALIER

Génotypes ITS et DHPS des isolats de *Pneumocystis jirovecii* détectés dans les LBA et les échantillons d'air correspondant.

Patient		Génotype ITS (nombre de clones séquencés)		Génotype DHPS	
Numéro	Nombre de jours entre le LBA et l'échantillon d'air	LBA	Échantillon d'air	LBA	Échantillon d'air
1	6	Gg*, Fg (3)	ND	S <sup>165</sup> /S <sup>171</sup>	ND
2	1	lh (3)	Eg (3)	S <sup>165</sup> /S <sup>171</sup>	ND
4	0	<b>Gg (3)</b>	<b>Gg (3)</b>	<b>S<sup>165</sup>/S<sup>171</sup></b>	<b>S<sup>165</sup>/S<sup>171</sup></b>
5	0	<b>Eg (3)</b>	Ec*, <b>Eg (3)</b>	<b>S<sup>165</sup>/S<sup>171</sup></b>	<b>S<sup>165</sup>/S<sup>171</sup></b>
6	0	<b>Eg (3)</b>	<b>Eg (3)</b>	<b>S<sup>165</sup>/M<sup>171</sup></b>	<b>S<sup>165</sup>/M<sup>171</sup></b>
7	1	Eg (3)	ND	<b>S<sup>165</sup>/S<sup>171</sup></b>	<b>S<sup>165</sup>/S<sup>171</sup></b>
8	0	<b>Eg (2)</b>	<b>Eg (1)</b>	S <sup>165</sup> /S <sup>171</sup>	ND
10	0	Eg (3)	ND	S <sup>165</sup> /M <sup>171</sup>	ND
11	0	Be*, <b>Ec (3)</b>	<b>Ec (3)</b>	<b>M<sup>165</sup>/S<sup>171</sup></b>	<b>M<sup>165</sup>/S<sup>171</sup></b>
13	2	Eg (3)	ND	S <sup>165</sup> /S <sup>171</sup>	ND
15	0	Eg*, Fg (3)	ND	S <sup>165</sup> /S <sup>171</sup> , S <sup>165</sup> /M <sup>171</sup>	ND
16	0	Eg (3)	ND	<b>S<sup>165</sup>/S<sup>171</sup></b>	<b>S<sup>165</sup>/S<sup>171</sup></b>
17	1	le, lh (2)	ND	S <sup>165</sup> /S <sup>171</sup>	ND
18	1	<b>Bl (3)</b>	<b>Bl (3)</b>	S <sup>165</sup> /S <sup>171</sup> , M <sup>165</sup> /S <sup>171</sup>	ND
19	0	Eg*, Bl (3)	ND	S <sup>165</sup> /S <sup>171</sup> , M <sup>165</sup> /S <sup>171</sup>	ND

ND, non déterminé; S<sup>165</sup>/S<sup>171</sup>, sauvage; S<sup>165</sup>/M<sup>171</sup>, mutant en 171 ; M<sup>165</sup>/S<sup>171</sup>, mutant en 165; \*, génotype ITS majoritaire (identifié dans 2/3 clones).

# ETUDE EN MILIEU HOSPITALIER

## Techniques de collecte et de quantification

- ❑ Impaction sur milieu liquide + PCR en temps réel = méthodologie adaptée pour *P. jirovecii*

## Résultats de l'étude

- ❑ Confirmation de la présence de l'ADN de *P. jirovecii* dans l'air à proximité des patients
- ❑ 1<sup>ères</sup> données sur la quantification et les génotypes de *P. jirovecii* dans l'air
- ❑ Excrétion de *P. jirovecii* par le patient source
- ❑ Diffusion de *P. jirovecii* à distance du patient source
- ❑ Absent en dehors des services d'hospitalisation des patients atteints de PPC



# CONCLUSION

- ❑ Transmission aérienne interhumaine de *P. jirovecii*
  
- ❑ Acquisition nosocomiale de *P. jirovecii*
  
- ❑ Modification des pratiques de prise en charge des patients?
  - Chimio prophylaxie suffisante?
  - Isolement des patients infectés ou à risque ?
  
- ❑ 1<sup>ers</sup> éléments sur
  - L'identification du danger
  - L'évaluation de l'exposition
  
- ❑ Démarche d'appréciation quantitative de risque