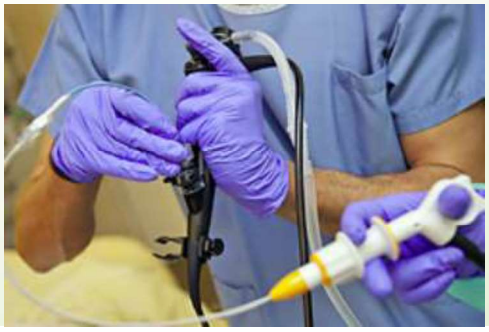
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR FACULTE DE MEDECINE- ANNABA
Service de Parasitologie - Mycologie Médicales
Enseignement destiné aux étudiants de 4ème Année Pharmacie
Professeur R. MANSOURI

Conduite à tenir devant un LBA en Parasitologie-Mycologie



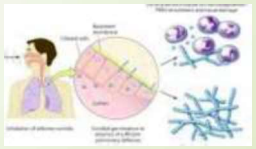
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR FACULTE DE MEDECINE- ANNABA
Service de Parasitologie - Mycologie Médicales
Enseignement destiné aux étudiants de 4ème Année Pharmacie
Professeur R. MANSOURI

Conduite à tenir devant un LBA en Parasitologie-Mycologie

Prérequis : les parasitoses et les mycoses pulmonaires *déjà enseignés en conférences & polycopiés*

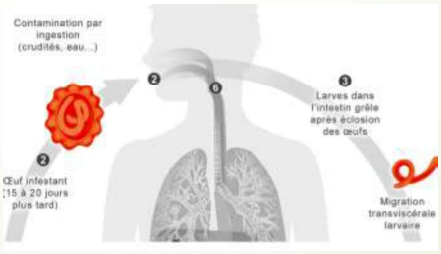
Introduction

- Les parasitoses et les mycoses retrouvées dans le liquide du LBA sont diverses et variées et leur diagnostic doit être précoce .
- Le LBA est un prélèvement peu invasif qui permet un diagnostic de certitude chez les patients immunodéprimés surtout chez les sidéens
- Il est pratiqué lors de troubles pulmonaires aigus ou insidieux (toux, dyspnée)
- Fièvre +/-
- Image radiologique évocatrice



Introduction

- LBA le poumon pouvant être la cible pour nombreux agents parasitaires et/ou fongiques:
  - A tropisme pulmonaire
  - Ayant une porte d'entrée pulmonaire « inhalation »
  - Se trouvant au niveau pulmonaire suite à une phase de leur cycle
  - Opportunistes



Définition

- ✓ Le lavage broncho-alveolaire (LBA) est fait au cours d'une fibroscopie bronchique. Il est réalisé avant toute biopsie bronchique
- ✓ Le LBA est un outil diagnostique peu invasif, permet de caractériser la santé des alvéoles.
- ✓ Permet d'identifier le pathogène responsable en cas d'infection pulmonaire surtout chez le sujet immunodéprimé

Indications du LBA
Parasitologie

Les agents pathogènes à tropisme pulmonaire

- *Echinococcus granulosus* : Kyste Hydatique pulmonaire
- *Paragonimus westermani* : Distomatose pulmonaire, Paragonimose
- *Entamoeba histolytica:* Amoebose pulmonaire

Indications du LBA Parasitologie

Les parasites qui passent par le poumon: Syndrome de Loëffler

- Larves de :
  - ✓*Ascaris lumbricoides*
  - ✓*Ankylostome*
  - ✓*Strongyloïdes stercoralis* *au stade 3*
- Schistosomules de *Schistosoma japonicum*
- Microfilaires de *Wuchereria bancrofti* et *Brugia malayi*

Indications du LBA
Parasitologie

Les parasites opportunistes

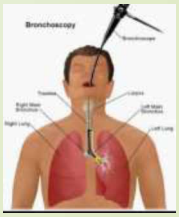
- *Toxoplasma gondii*
- *Leishmania spp*
- *Cryptosporidium parvum*
- *Strongyloïdes stercoralis (I.D liée à la corticothérapie prolongée)*

Indications du LBA
Mycologie

- *Pneumocystis jirovecci*
- *Aspergillus sp*
- *Cryptococcus neoformans*
- *Candida sp*
- *Microsporidies*
- *Autres: les champignons dimorphiques: Penicillium marneffei Histoplasma capsulatum…*

Réalisation du lavage broncho-alvéolaire

- Réalisé pendant une bronchoscopie souple.
- Personne assise et introduction préférentielle par le nez.
- Solution isotonique (sérum physiologique) stérile chauffé à 37°c.
- 4 à 6 instillations de 20 à 60 ml.
- Aspiration douce suffisante.
- Le % du liquide récupéré / volume injecté varie entre 60 – 80 %.
- Acheminement immédiat au laboratoire .
- En cas de délai d'acheminement , conservation à +4°c



Pr Mansouri R.

Fiche de renseignements

- Identité du patient (nom, prénom, âge).
- Signes cliniques ayant motivé la demande.
- Notion de séjour en zone d'endémie ou l'origine géographique
  - ✓ États-unis / Chp dimorphiques
  - ✓ Asie du sud Est / Penicilliose
- Exploration biologique :
  - HES/ Anguillulose, Ascaridiose, Hydatidose…
  - Radiologique : Images excavées / ***Aspergillus***

    Pneumopathies interstitielles bilatérales / ***Pneumocystis***

    Images en boulets de canon / ***Echinococcus granulosus***
- **Statut immunitaire:**

-Immunocompétent / Immunodéprimé

Traitement du prélèvement

Examen macroscopique

- Aspect normal: Couleur clair
- Aspect pathologique:
  - ✓Rosé ou rouge: hémorragie alvéolaire
  - ✓Laiteux: Lipoprotéinose alvéolaire

Traitement du prélèvement

Liquide du LBA

- Examen direct à l'état frais
- Centrifugation 1500-2000 tours/min pendant 10 min
  - ✓ Surnageant
  - ✓ Culot

- Une partie: conservée à + 4 °c

Examen après centrifugation

Surnageant

- Recherche d'Ag soluble
  Agglutination / ELISA
- Culture cellulaire pour *T. gondii*

Culot

- État frais.
- Examen direct à l'encre de chine.
- Frottis colorés
- Culture
- Immunofluorescence.
- Biologie moléculaire

Examen après centrifugation

Surnageant

Recherche d'antigènes circulant pour le ***Cryptoccocus neoformans*:**

par test d'agglutination (pastorex): anticorps monoclonal anti-glucuronoxylomannane

Culture cellulaire sur MRC5 ou TPH1 pour *Toxoplasma gondii*: lecture 4-5 jours.

(Actuellement peu réalisée)

Examen après centrifugation

Culot

État frais

➢ Résultats:

- ✓ *Tète aspergillaire : Aspergillus sp*
- ✓ *Levures: Candida sp*
- ✓ *Larves :* d*'Anguillule*
- ✓ *Sable hydatique : Echinococcus granulosus*

Examen après centrifugation

Culot

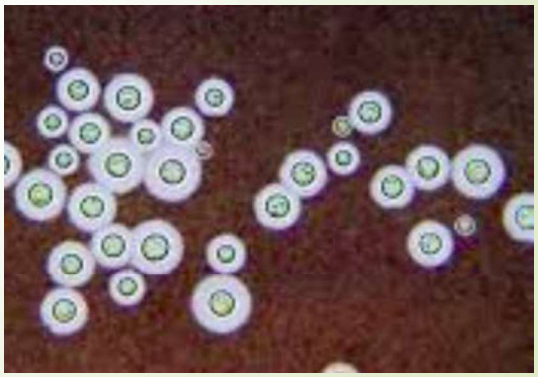
Examen direct à l'encre de chine.

Principe:

MEV de la capsule de *Cryptococcus neoformans* : mélange d'une goutte d'encre de chine dilué au 1/3 ou au 1/5 avec une goutte du culot

- Résultats:

Les levures sont entourées d'un halo clair représentant la capsule .



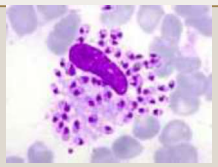
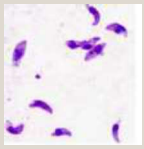
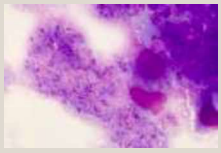
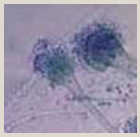
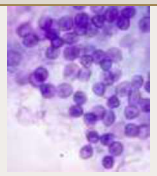
Examen après centrifugation

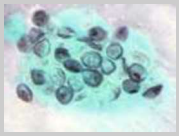
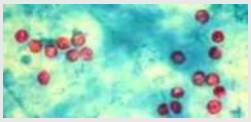
Culot

- Frottis colorés

Les colorations:

- ✓ Coloration au MGG.
- ✓ Coloration au Bleu de toluidine .
- ✓ technique de Gomori-Grocott modifiée.
- ✓ Technique du Ziehl- Neelsen modifiée.
- ✓ Technique de trichrome de Gomori modifiée .

Technique de coloration	Résultat
MGG	*Leishmania sp* (formes amastigotes)  *Toxoplasma sp*  *Pneumocystis jirovecii*  *Aspergillus sp* 
Bleu de toluidine	Pneumocystis jirovecii 

Technique de coloration	Résultat
Gomori-Grocott modifiée par Musto	*P.jirovecii* par imprégnation argentique. 
Ziehl-Neelsen modifiée	MEV des oocystes de *Cryptospridium sp* 
Trichrome de Gomori	MEV des spores des microsporidies.

Examen après centrifugation

Culot

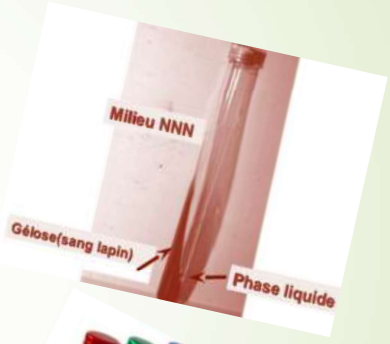
- Culture

En parasitologie

Sur milieu NNN

Incubation 24-26°c

Pour: Leishmania sp (forme promastigote)



En mycologie

Sur milieux SC et SCA

Incubation à 37°c

Pour: *Candida sp, Cryptococcus neoformans, Aspergillus sp*

Examen après centrifugation

Culot

- Immunofluorescence directe

Principe :

MEV des Ag spécifiques par des Ac monoclonaux.

Parasite /Champignon	Anticorps monoclonal utilisé
Pneumocystis	anti- kystes *P.jirovecii*
Toxoplasma gondii	anti-P30 membranaire
Cryptosporidium	Anti-oocystes de Crypstosporidium (IFD)

Examen après centrifugation

Culot

- Biologie moléculaire

Principe de la PCR:

Méthode basée sur la détection et l'amplification d'une séquence d'ADN.

Indication:

- *Toxoplasma gondii* +++
- *autres: Pneumocystis jirovecii* ,…*Candida sp*..
- AV : sensibilité+++ ; rapidité.

Conduite Diagnostique

Hyperéosinophilie

❖ **Syndrome de Loëffler (SL)**

Etat frais du culot de centrifugation

❖Larve stade 3 d'*Ascaris lumbricoides,*
Ankylostome,
Strongyloïdes stercoralis

Kyste hydatique pulmonaire Protoscolex *d'Echinococcus granulosus*

❖*Distomatose pulmonaire* *Œufs de Paragonimus westermani*

❖*Bilharziose pulmonaire* Schistosomules de *Schistosoma japonicum*

Pr Mrabouri B.

Conduite Diagnostique

Hyperéosinophilie

- **Syndrome de Loëffler (SL)**

Frottis coloré du culot de centrifugation

- ***Poumon éosinophile tropical*** **Microfilaires de *Wuchereria bancrofti* et *Brugia malayi***

Conduite Diagnostique

Un état d'immunodépression

Parasitoses opportunistes

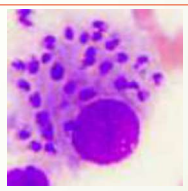
Toxoplasmose--- Toxoplasma gondii

Frottis coloré au MGG_ **Trophozoïtes**

IFD PCR Culture cellulaire

Leishmaniose---*Leishmania sp*

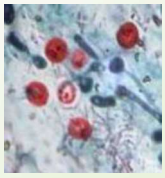
Frottis coloré au MGG ➔ Formes amastigotes



Culture sur NNN ➔ Formes promastigotes

Cryptosporidiose à Cryptosporidium parvum

Coloration de ZIEHL NEELSEN modifiée ➔ oocystes



Pr Mansouri R.

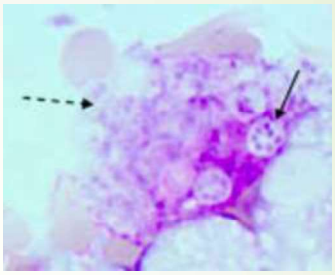
IFD: Monofluokit Cryptosporidium

Conduite Diagnostique

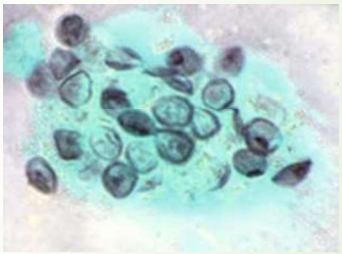
Un état d'immunodépression

Mycoses opportunistes

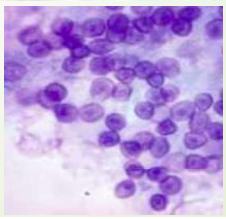
Pneumocystose --- *Pneumocystis jirovecii*
MGG ➔ cytoplasme des trophozoites et les corps intrakystiques colorés en bleu avec un noyau rouge



Musto: imprégnation argentique ➔ Mev la paroi des kystes colorée en brun noir sur un fond vert



Ortho toluidine ➔ mev la paroi des kystes colorée en bleu violacé aspect en « ballons dégonflés »



Conduite Diagnostique

Un état d'immunodépression

Mycoses opportunistes

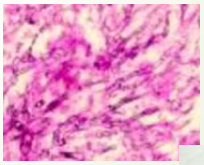
Microsporidiose ---Microsporidies

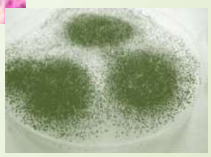
coloration de TRICHROME DE WEBER ➔ Mev de spores ovoïdes de 1 à 1.5 µ de Ø colorées en rose clair avec une vacuole nette sur fond vert pale

UVITEX: Composé fluorescent qui met en évidence les spores de Microsporidies

Aspergillose ---Aspergillus sp

- État frais + frottis coloré au MGG ➔ mev de **Filaments septés de 2 à 5 µm** de diamètre dichotomie /45°
- Culture sur (S+C) ➔ incub 03- 05 jours à 25°C/37°C ➔ Identification (macroscopie, microscopie) = Antigénémie: recherche de l'Ag galactomannane





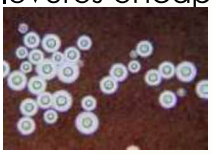
Conduite Diagnostique

Un état d'immunodépression

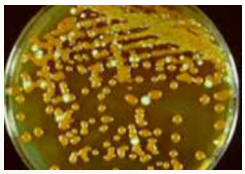
Mycoses opportunistes

Cryptococcose---Cryptococcus neoformans

- État frais à l'encre de Chine ➔ mev de levures encapsulées entourées d'un halo clair



- Culture sur (S+C) ➔ incub à 25°C/37°C pd 3 jrs ➔ Colonies blanc crèmes avec aspect coulant et muqueux



- Recherche d'Ag cryptococcique ➔ Pc de latex sensibilisées avec l'Ac Mn antiglucuronoxylomanane

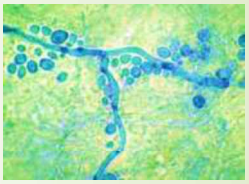
Conduite Diagnostique

Un état d'immunodépression

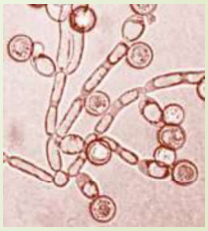
Mycoses opportunistes

Candidose---Candida albicans

État frais ➔ mev de levures, filaments, et/ou pseudofilaments



Culture sur (S+C) ➔ incub à 37°C pd 24 à 48h ➔ Colonies blanchâtres crémeuses et lisses ➔ identification



Antigénémie : recherche de l'Ag mannane candidosique

Conduite Diagnostique

Un état d'immunodépression

Mycoses opportunistes

Penicilliose ----Penicillium marneffei:

EXD: cellules de petites tailles 2 à 3 µm / 2 à 6,5 µm.

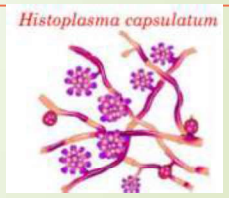
Culture: 37°C milieu de Sabouraud sans Actidione : pigment rouge vif, diffusible.

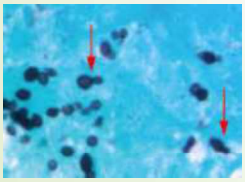
microscopie= mev du conidiophore ➔ aspect en pinceau

Recherche de l'Ag

Dimorphiques

Frottis coloré au MGG, **PAS, coloration argentique (Grocott-Gomori)**





Culture dangereuse

CONCLUSION

La réalisation d'un **LBA** précocement à la recherche d'une Parasitose ou Mycose pulmonaire améliore la prise en charge du patient atteint essentiellement le sujet immunodéprimé