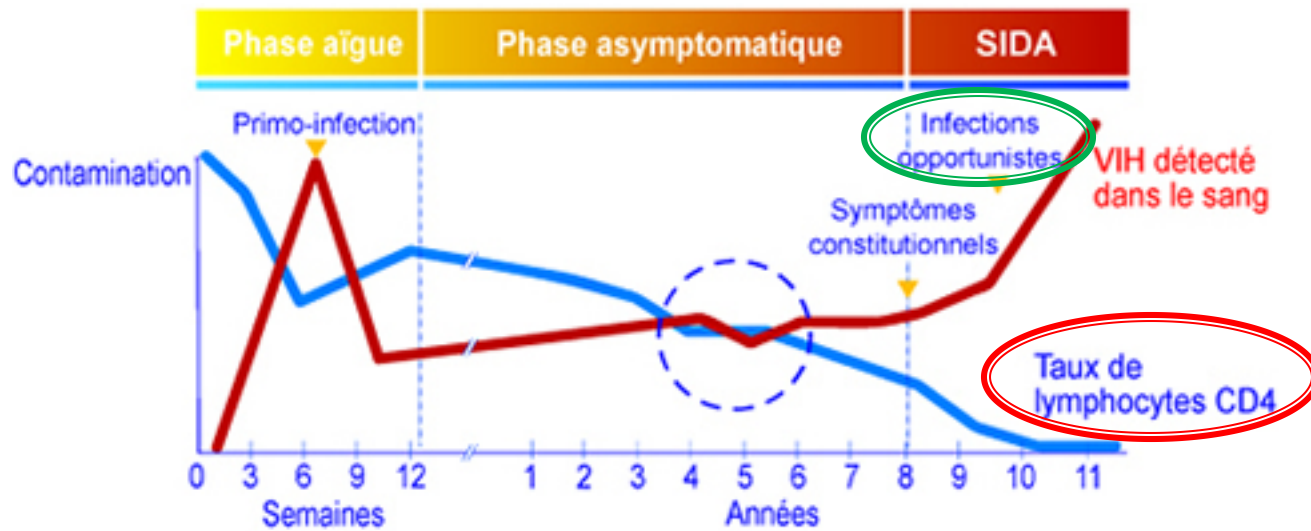


Diagnostic biologique des parasitoses et mycoses opportunistes

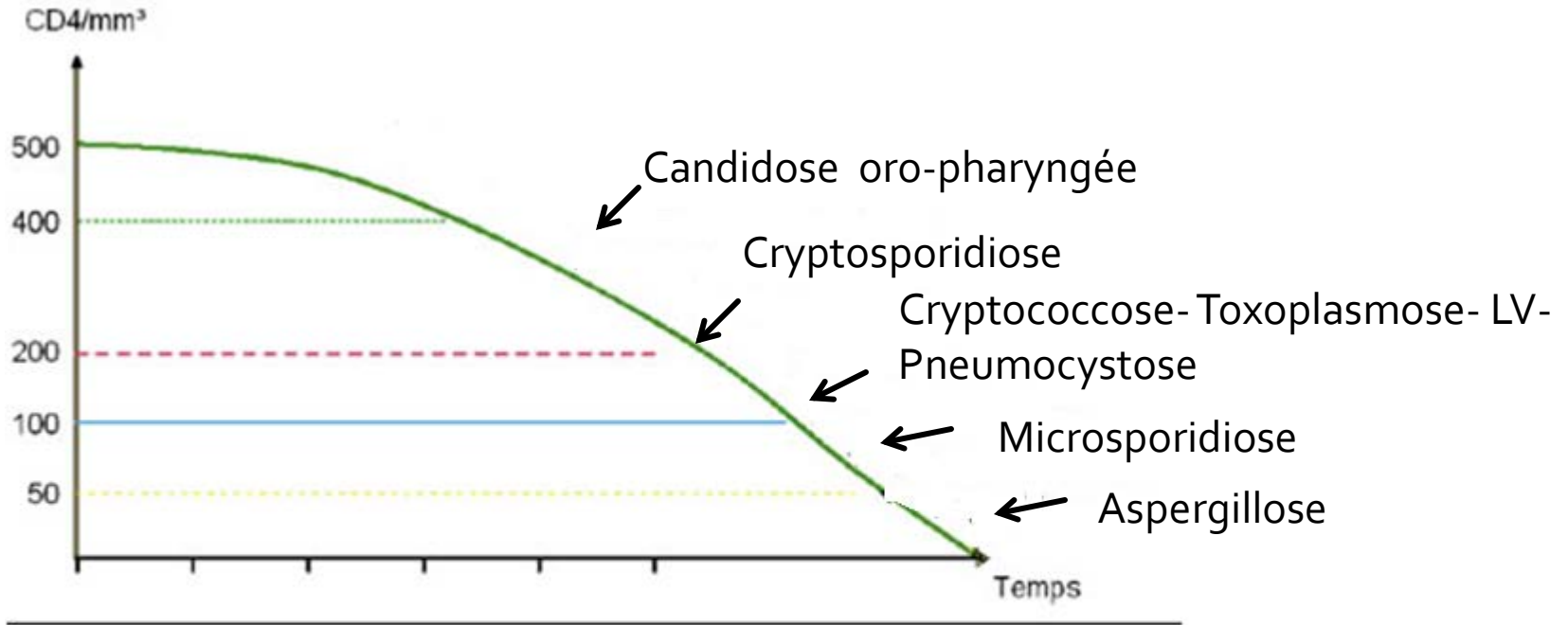
Pr agrégé Emira Kaouech Akouri

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie CHU La Rabta



Différentes phases d'évolution de l'infection à VIH

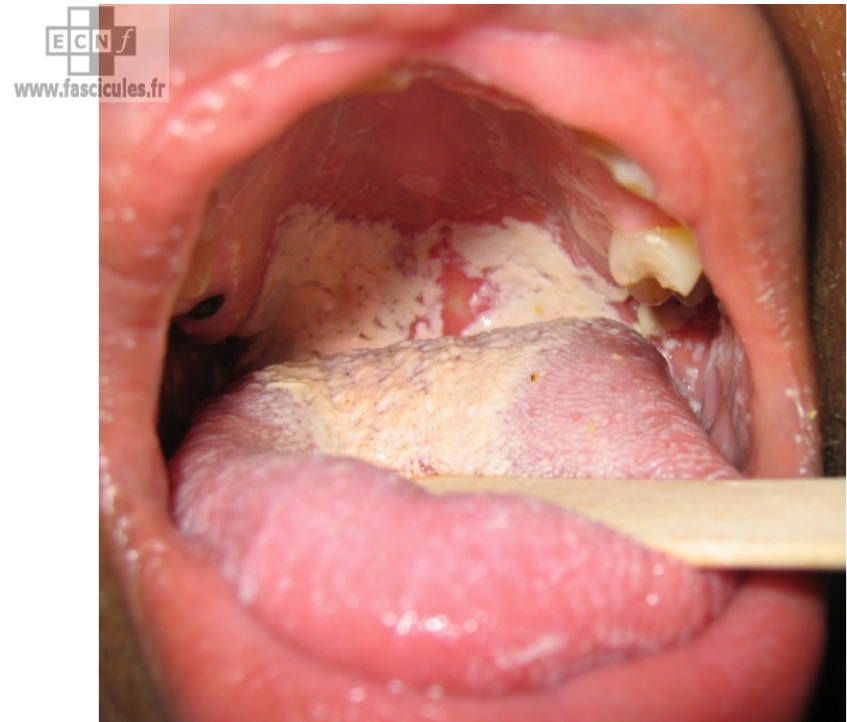
Principales parasitoses et Mycoses opportunistes



Au niveau digestif :

candidose oro-pharyngée

La bouche



Oesophagus





Écouvillonnage de la langue

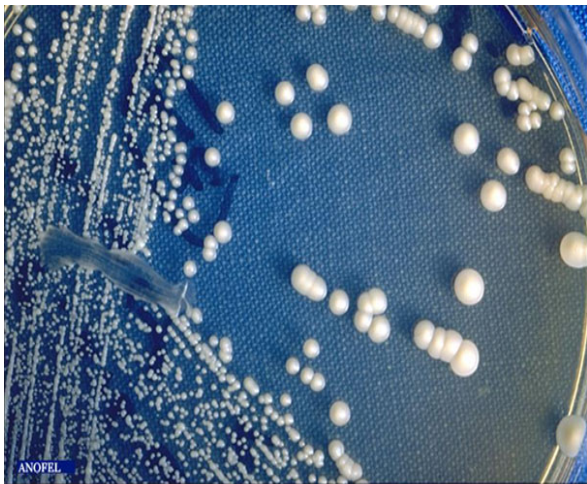


Biopsie œsophagienne

candidose oro-pharyngée

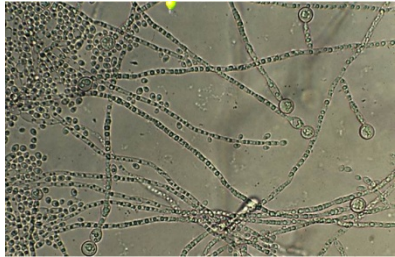
- **Examen direct:**
Levures ± pseudofilaments

- **Culture:**
Sabouraud - Chloramphénicol et
Sabouraud - Chloramphénicol-
Actidione



candidose oro-pharyngée

Identification des levures

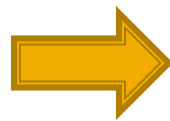


- Test de Blastèse
- Test de chlamydosporulation

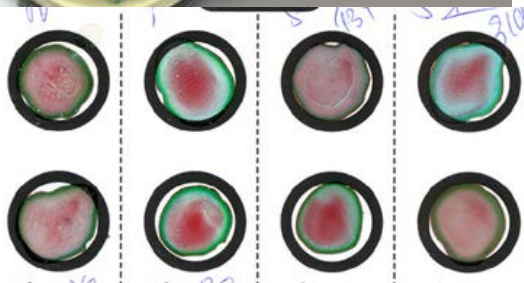


Candida albicans

- Étude de l'assimilation des sucres
- Tests enzymatiques



Candida spp.



Principales levures

Résultats du service de Parasitologie- Mycologie La Rabta :

107 pvts langue **76 + (71%)**



C.albicans : **50-93%**

C.glabrata, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*,
C.krusei, *C.lusitaniae*, *C.dublinsiensis*

Au niveau digestif :

Parasitoses digestives

Diarrhée chronique +++



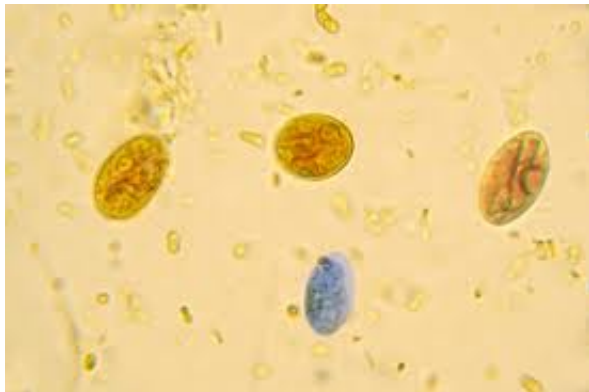
- Giardiose
- Coccidioses intestinales
- Microsporidiose

Giardiose

Giardia intestinalis



Formes végétatives



Kystes

Selles +++

(3 prélèvements répétés \Rightarrow **sensibilité =90%**)

- Examen direct (état frais)
- Après enrichissement par une technique de concentration (expl: technique de Faust)

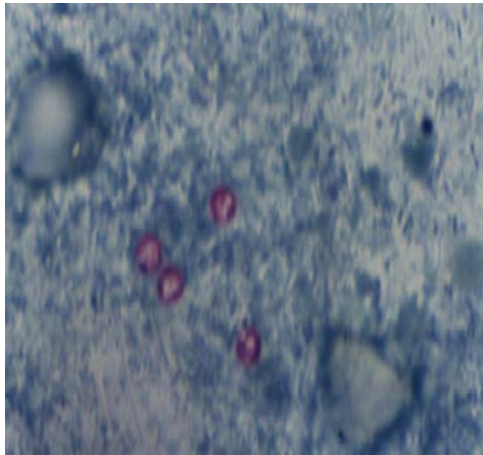
COCCIDIOSES INTESTINALES

- Cryptosporidiose
- Isosporose
- Cyclosporose

COCCIDIOSES INTESTINALES

Cryptosporidiose

Cryptosporidium parvum
Cryptosporidium hominis

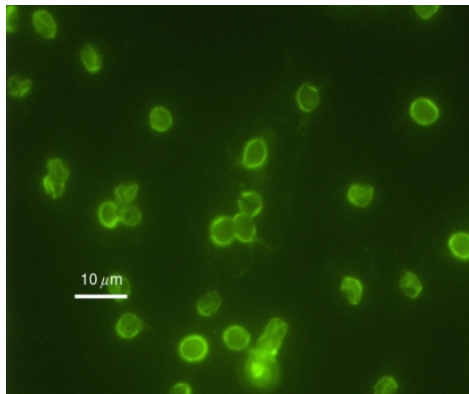


- **Selles +++** (prélèvements répétés):
- liquide d'aspiration duodénale, bile, lavage bronchioloalvéolaire

Selle ⇒ technique de concentration (expl: technique de Ritchie).

⇒ **Coloration au Ziehl Neelsen modifiée +++**

- **Immunofluorescence directe**



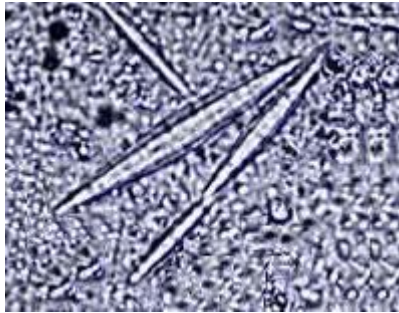
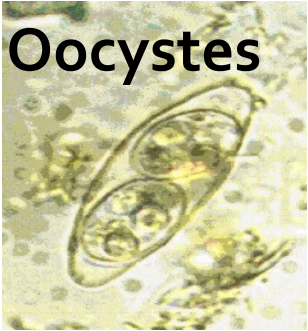
Oocystes

COCCIDIOSES INTESTINALES

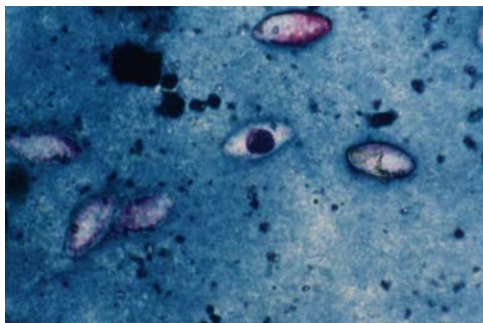
Isosporose

Isospora belli

Oocystes



Cristaux de Charcot Leyden



- Selles +++ (prélèvements répétés):
 - Examen direct (état frais)
 - Méthode de Kato
 - après enrichissement par une technique de concentration (expl: technique de Faust / technique de Ritchie)
-
- Coloration au Ziehl Neelsen modifiée +++

COCCIDIOSES INTESTINALES

Cyclosporose

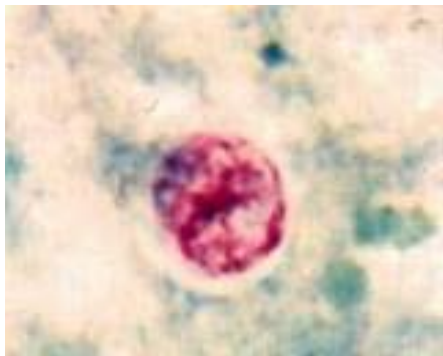
Cyclospora cayetanensis

Parasitose tropicale émergente

- **Selles +++ (prélèvements répétés):**
 - Examen direct (état frais)
 - après enrichissement par une technique de concentration (expl: technique de Faust / technique de Ritchie)
-
- **Coloration au Ziehl Neelsen modifiée +++**



Oocystes



COCCIDIOSES INTESTINALES

CRYPTOSPORIDIOSE

- 397 selles → 44 +
(11%)

Rev Tun Biol Clin (22) 2009

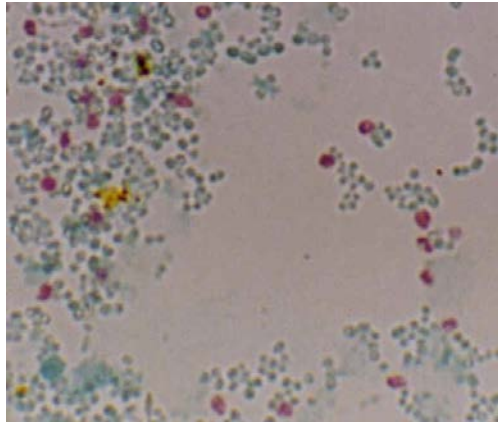
ISOSPOROSE

- 397 selles → 5 +
(1,25%)

Maghreb médical 25 (376) 2005

MICROSPORIDIOSE

Enterocytozoon bienersi (1985)
Encephalitozoon intestinalis (1993)
Vittaforma sp. (*J Eukaryot Microbiol* 2003)

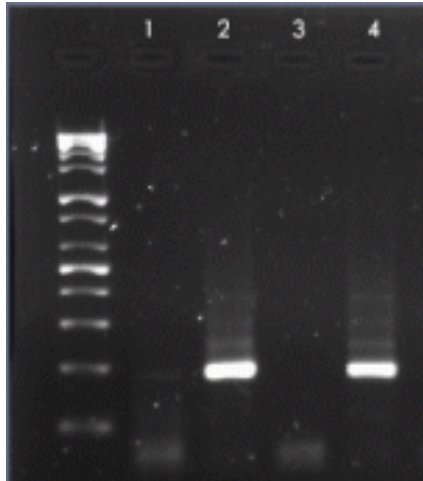


- **Selles +++** (prélèvements répétés):
liquide d'aspiration duodénale, bile, lavage
bronchioloalvéolaire

Selle \Rightarrow technique de concentration (expl:
technique de Ritchie).

\Rightarrow **Coloration trichromique de Weber**
SD= 10^4 spores/ml

- **Amplification génique (PCR)**
Cibles spécifiques du phylum ou de l'**espèce**
SD= 10^2 spores/ml



Carnevale et al. *Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology*. 2000

MICROSPORIDIOSE

- Rev Tun Biol Clin (22) 2009



276 selles → 11+ (3,98%)

- Pathologie Biologie 59 (2011) 234–239



35 selles 7+ (PCR *Enterocytozoon bieneusi* 7+/
Coloration de Weber 3+) (20%)

Au niveau respiratoire

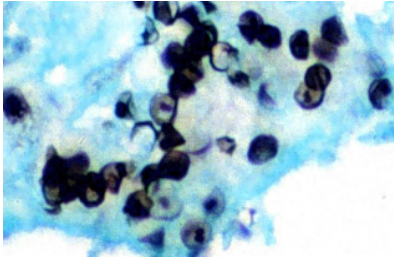
Pneumocystose

Pneumocystose

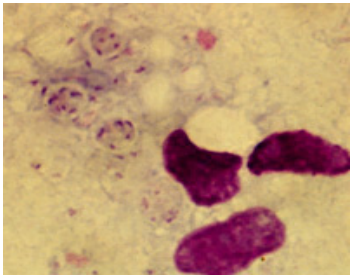
Pneumocystis jiroveci , Frenkel (1999)
(*P. carinii* sp hominis)

LBA +++

Expectoration induite



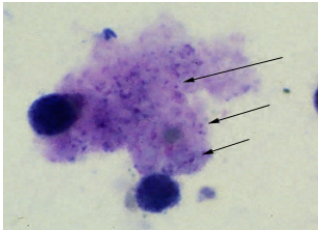
Technique de Gomori-Grocott modifié
par Musto



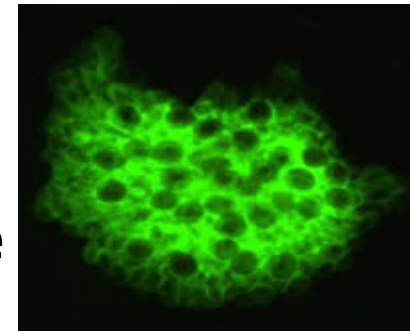
Technique de coloration au May Grünwald
Giemsa

⇒ 25 à 67%

Flori P et coll. *J. Med. Microbiol.* 2004; 53, 603-607.
Sing A et coll. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38, 1461-1467.



- Immunofluorescence directe



Pneumocystose

- **PCR en point final** \Rightarrow prélèvements invasifs (sensibilité **88%**)/ prélèvements non invasifs (sensibilité **75%**)

détection de faibles quantités d'ADN (0,5-1 ng/ μ l)

Latouche et coll. *Rev. Fr. labo.* 2000 ; 320, 63-69.

Durand et coll. *FEMS Immun. Microbiol.* 2005; 45, 405-410

Turner et coll. *Eur. Respir. J.* 2003, 21, 204-208.


- **PCR en temps réel** \Rightarrow charge parasitaire

Pneumocystose

- Rev Tun Biol Clin (22) 2009

200 pvts bronchopulmonaires  26+ (13%)

- Pathologie Biologie 57 (2009) 373–377

15 cas +  11 VIH + (PCR 10+ (pvts invasifs et superficiels/ Colorations 5 LBA+)

Au niveau respiratoire

Autres infections opportunistes rares

Autres atteintes pulmonaires

PORTE D'ENTRÉE PULMONAIRE

- Cryptococcose

LOCALISATION RARE

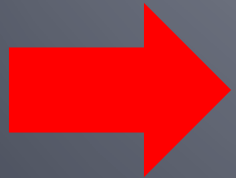
- Toxoplasmose

MYCOSES INVASIVES

- Histoplasmose
(de retour de voyage)
- Aspergillose
(stade terminal du SIDA)

Au niveau cérébral

Toxoplasmose



Diagnostic radiologique

Toxoplasmose

Toxoplasma gondii



- LCR +++ , sang
- **Inoculation à l'animal**



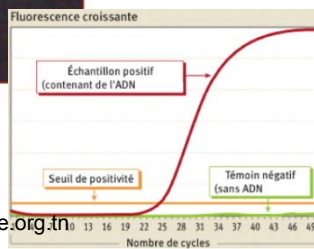
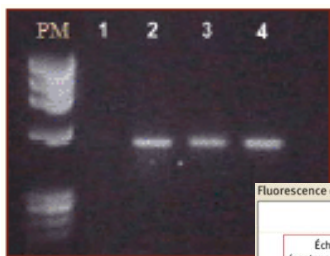
- **Culture cellulaire:** Rapidité de réponse (3 à 6 jours) Adaptée à la recherche

- **Polymerase Chain Reaction:**

Gènes cibles : B₁, AF

PCR en point final (Rapidité de réponse (1 à 2 jours))

PCR en temps réel (charge parasitaire)



Toxoplasmose

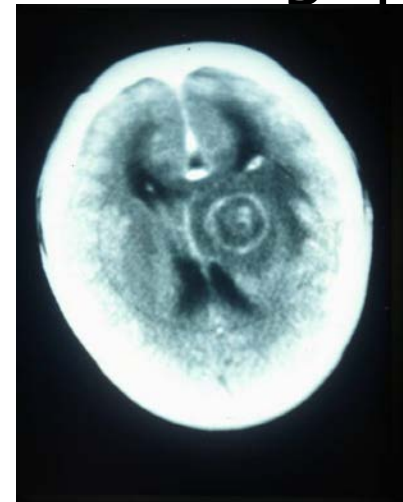
Résultats du service des Maladies Infectieuses La Rabta : (1987-2007)

Rev Tun Biol Clin (22) 2009

- 671 VIH+ colligés de 1987 à 2007



56 Cas (8,34%) (examens radiologiques)



Au niveau cérébral

Cryptococcose

Cryptococcosse

Cryptococcus neoformans



- **CNM +++**

LCR +++



Méningite à **liquide clair**,
lymphocytaire, hypo-glycorachie,
hyper-albuminorachie

- **Autres formes cliniques**

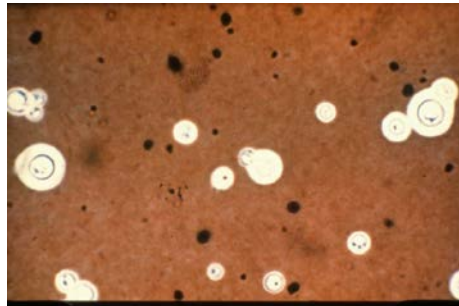
LBA, liquide d'abcès, biopsies
cutanées

Cryptococcose

Cryptococcus neoformans

Centrifugation du LCR

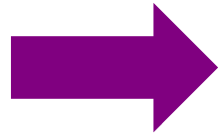
culot surnageant



Cryptococcose neuroméningée

- Méd. Mal Infect (39) 2009 914-919

174 VIH+
(1991-2006)



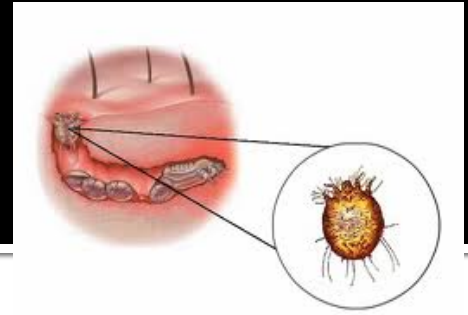
16 cas (incidence 9,19%)
dont 6 cas inauguraux du SIDA

Au niveau cutané

La gale

La gale

Sarcoptes scabiei



- Dermatose cosmopolite prurigineuse et contagieuse (Prurit absent chez le VIH+)

pvt cutané (grattage des sillons scabieux)



Gale vulgaire



© D.Tennstedt U.C.L.

Co- infection Leishmaniose viscérale/ SIDA

Leishmaniose viscérale

Leishmania infantum



- Rare en Tunisie
- Symptomatologie inhabituelle : pulmonaire, digestive...
Fièvre+++

prélèvements :

Moelle osseuse (**prélèvement de référence**)

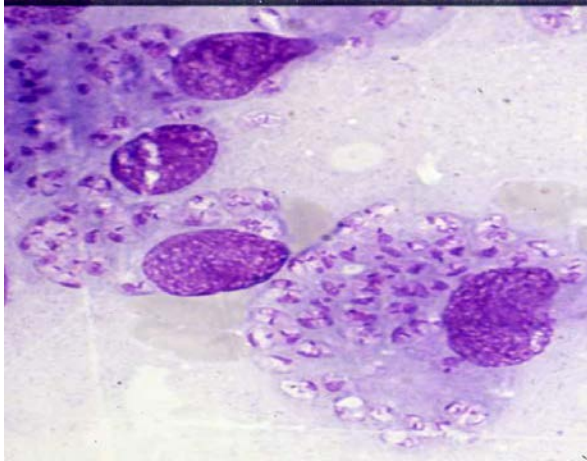
Sang périphérique prélevé sur anticoagulant (**sur citrate de Na+**)

Biopsie



Leishmaniose viscérale

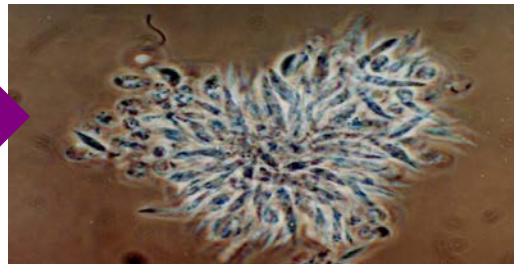
Leishmania infantum



- **Examen direct (MGG)**
Forme amastigote



- **Culture sur milieux spécifiques**
(Milieu Novy Mc Neal Nicolle)



forme promastigote

Leishmaniose viscérale

Leishmania infantum



PCR en point final

SD = 0,12 – 22,5 p/ml

Piarroux R. et al. *J Clin Microbiol* 1994

Mathis et Deplazes *J Clin Microbiol* 1995

Costa J.M. et al *J Clin Microbiol* 1996

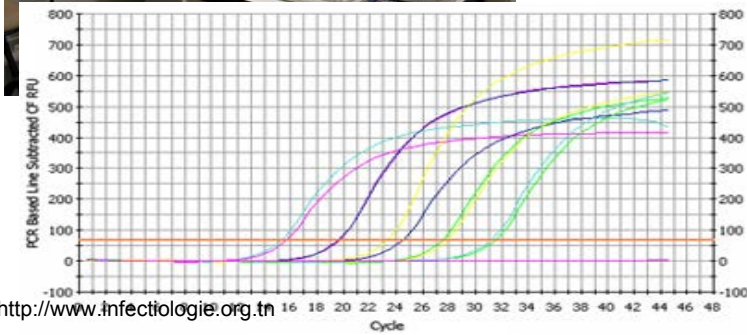
Spanakos et al. *Molecular Cell Probes* 2002



■ PCR en temps réel

SD= 0,0125 parasites /ml

Mary et al. *J Clin Microbiol* 2004



Leishmaniose viscérale

- Rev Tun Biol Clin (22) 2009

338 pvts (sang ou moelle osseuse) ➡ 12 cas+
(3,55%)

- Pathologie Biologie 55 (2007) 521–524

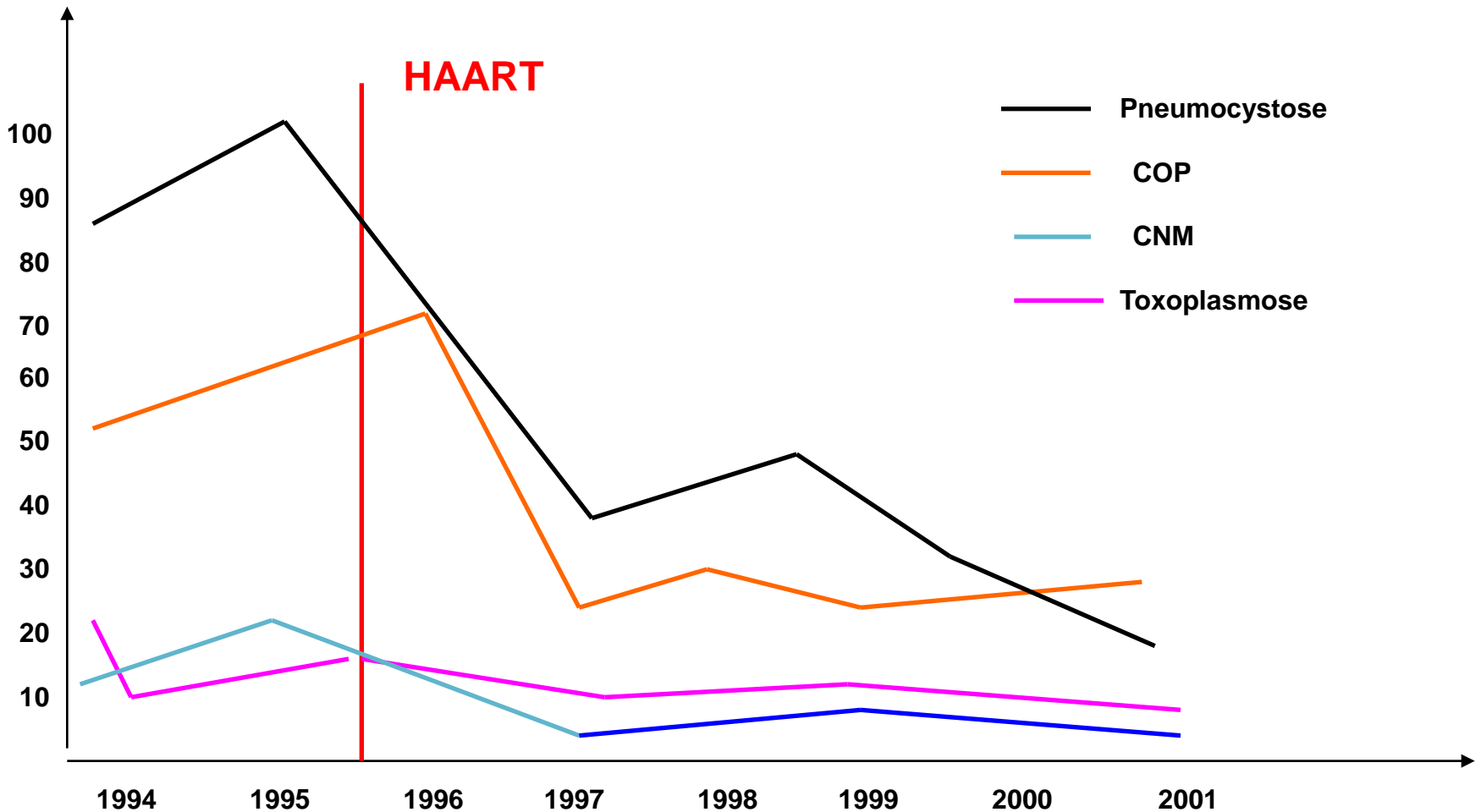
25 VIH + ➡ 17 cas de portage asymptomatique
(PCR sur sang périphérique)

Incidence des infections opportunistes chez le patient adulte infecté par le VIH

Pozio E. Parassitologia. 2004. 46(1-2):89-93

Trends in Parasitology . 2005. 21,2,58-63.

Incidence pour 1000 personnes/an



Année 2000= Introduction de HAART Tunisie

Rev Tun Biol Clin (22) 2009

AVANT HAART

- 27 cas de Cryptosporidiose
- 2 cas de Microsporidiose
- 0 cas d'Isosporose
- 15 cas de Pneumocystose
- 18 cas de CNM
- 35 cas de Toxoplasmose
- 4 cas de LV

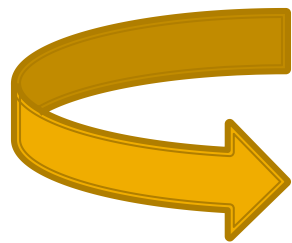
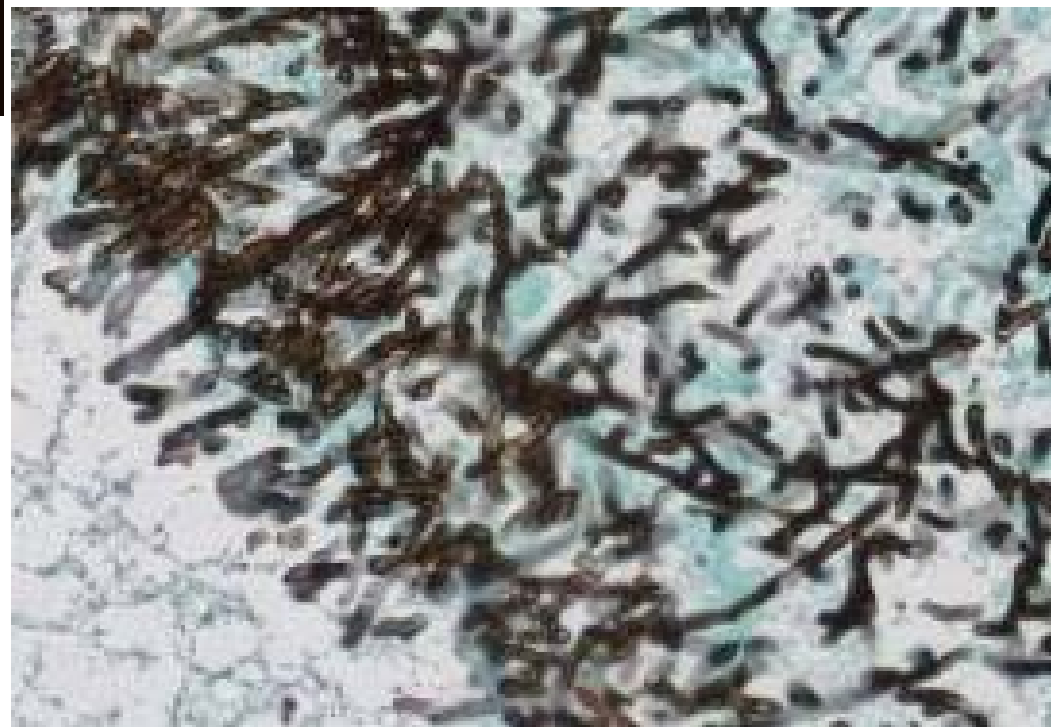
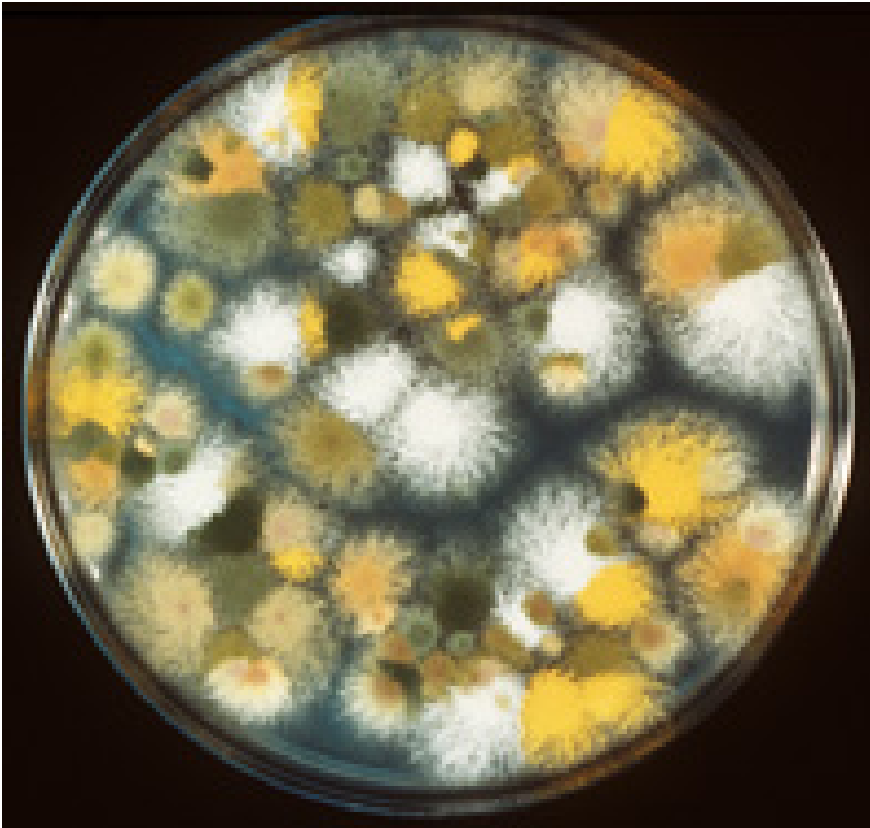
APRÈS HAART

- 16 cas de Cryptosporidiose
- 9 cas de Microsporidiose
- 5 cas d'Isosporose
- 11 cas de Pneumocystose
- 1 cas de CNM
- 21 cas de Toxoplasmose
- 8 cas de LV



Cas inauguraux

Au stade **terminal** du SIDA



Filaments mycéliens

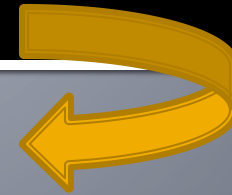
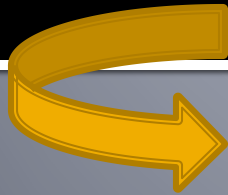
Conclusion

Les mycoses et parasitoses opportunistes sont nombreuses au cours du Sida

⇒ doivent être initialement évoquées devant tout signe d'appel chez tout VIH+ malgré la non spécificité des manifestations cliniques

⇒ leur diagnostic constitue une urgence

Le diagnostic parasitologique et/ou mycologique



les colorations spécifiques la biologie moléculaire (PCR)

- ✓ M.E.E du micro-organisme et/ou de son ADN
- ✓ Suivi post-thérapeutique

