

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS
SUPERIEUR, SECONDAIRE ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
UN PEUPLE UN BUT UNE FOI

UNIVERSITE DU MALI
FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET
D'ODONTO-STOMATOLOGIE

Année 1997

Thèse N° /18/

TITRE

**LES INFECTIONS PARASITAIRES DIGESTIVES
CHEZ LES SIDEENS A L'HOPITAL DU POINT G:
INTERET THERAPEUTIQUE DE LA NITAZOXANIDE**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le.....Juin 1997 devant La
Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie du
Mali

Par Lalla KASSAMBARA

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

Examineurs:

Président: M. le Professeur Boubacar CISSE

Membres: M. le Professeur Amadou DIALLO

M. le Professeur Hamar A. TRAORE

M. le Professeur Harouna KEITA

M. le Professeur Ogobara DOUMBO Directeur de Thèse

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 1996 -1997

ADMINISTRATION

DOYEN : Issa TRAORE -Professeur

1er ASSESSEUR : Ousmane DOUMBIA- Maître de conference agrégé

2ème ASSESSEUR : Amadou DOLO - Maître de conference agrégé

SECRETAIRE GENERAL : BAKARY CISSE - Maître de conference

ECONOME : MAMADOU DIANE controleur des finances.

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Aliou BA	Ophthalmologie
Mr Bocar SALL	Ortho-Traumato.Secouriste
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr BALLA COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Aly Nouhoum DIALLO	Médecine interne

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R ET PAR GRADE

D.E.R DE CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chef DER de Chirurgie
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale

Mr Abdou Alassanr TOURE
Mr Kalilou OUATTARA

Ortho-traumatologie
Urologie

2. MAITRES DE CONFERENCE AGREGES

Mr Amadou DOLO
Mr Djibril SANGARE
Mr Abdel Karim TRAORE dit DIOP
Mr Alhousseini AG Mohamed

Gynéco-Obstétrique
Chirurgie Générale
Chirurgie générale
ORL

3 MAITRES DE CONFERENCES

MR Salif DIAKITE
Mme SY Aïda SOW

Gynéco-Obstétrique
Gynéco-Obstétrique

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Mamadou L.DIOMBANA
Mr Abdoulaye DIALLO
Mme DIALLO F.S. DIABATE
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Gangaly DIALLO
Mr Sékou SIDIBE
Mr Abdoulaye K.DIALLO
Mr Mamadou TRAORE
Mr Filifing SISSOKO
Mr Tiéman COULIBALY
Mme TRAORE J. THOMAS
Mr Nouhoum OMGOIBA

Odonto-Stomatologie
Ophtalmologie
Gynéco-Obtétrique
Anesth-Réanimation
Chirurgie Générale
Ortho-Traumatologie
Anesth- Réanimation
Gynéco-obstétrique
Chirurgie générale
Ortho-traumatologie
Ophtalmologie
Anatomie et chirurgie générale

5. ASSISTANTS

Mr Ibrahim ALWATA
Mr Sadio YENA

Ortho-traumatologie
Chirurgie générale

D.E.R DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Bréhima KOUMARE	Bactériologie Virologie
Mr Daouda DIALLO	Chimie générale et minérale
Mr Siné BAYO	Anatomie-Path. Histoembriologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique
Mr Yéya Tiémoko TOURE	Biologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie chef D E R
Mr Moussa ARAMA	Chimie Organique

2. MAITRES DE CONFERENCE AGREGES

Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie
Mr Anatole TOUKARA	Immunologie

3.MAITRES DE CONFERENCE

Mr Yéminégué A.DEMBELE	Chimie Organique
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abderhamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sekou F.M.TRAORE	Entomologie Médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr N'Yenigue S. KOITA	Chimie Organique
Mr Abdramane TOUNKARA	Biochimie
Mr Flabou BOUGOUDOGO	Bactériologie
Mr Amadou TOURE	Histo-Embryologie
Mr Benoit KOUMARE	Chimie analytique
Mr Ibrahim MAIGA	Bactériologie

D.E.R DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Mr Mamadou K.TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie

2. MAITRES DE CONFERENCE AGREGES

Mr Toumanie SIDIBE	Pédiatrie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Dapa Ali DIALLO	Hématologie
Mr Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Mr Sominta KEITA	Dermato- leprologie
Mr Hamar A.TRAORE	Médecine interne

3. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Abdel kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-Entérologie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-entérologie
Mr Mamadi KANE	Radiologie
Mr Sahari FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psichiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine interne
Mme Tatiana KEITA	Pédiatrie

4. ASSISTANT

Mr Adama KEITA	Radiologie
----------------	------------

D.E.R DE SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1.PROFESSEURS

Mr Boubacar CISSE Toxicologie

2 MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KEITA Matière Médicales
Mr Ousmane DOUMBIA Pharm chimique chef DE R

3. MAITRES DE CONFERENCE

Mr Boulkassoum HAIDARA Législisation
Mr Elimane MARIKO Pharmacologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO Matière médicale
Mr Alou KEITA Galénique
Mr Abacar I. MAIGA Toxicologie

D.E.R DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA Santé Publique(chef D E R)

2. MAITRE DE CONFERENCE AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA Santé Publique

3. MAITRES DE CONFERENCE

Mr Yanick JAFFRE Anthropologie

Mr Sanoussi KONATE

Santé publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE

Santé Publique

Mr Sory I KABA

Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Massambou SACKO

Santé publique

CHARGES DE COURS ET VACATAIRES

Mr N'golo DIARRA

Botanique

Mr Bouba DIARRA

Bactériologie

Mr Salikou SANOGO

Physique

Mr Bakary I. SACKO

Biochimie

Mr Sidiki DIABATE

Bibliographie

Mr Boubacar KANTE

Galenique

Mr Souleymane GUINDO

Gestion

Mme DEMBELE Sira DIARRA

Mathématiques

Mr Modibo DIARRA

Nutrition

Mme MAIGA Fatoumata SOKONA

Hygiène du milieu

Mr Mamadou KONE

Physiologie

Mr Kaourou DOUCOURE

Biologie

Mr Niamanto DIARRA

Mathématique

Mr Mamadou Bacary DIARRA

Cardiologie

Mme SIDIBE Aissata TRAORE

Endocrinologie

Mr Siaka SIDIBE

Médecine nucléaire

Mr Moussa I DIARRA

Biophysique

PERSONNEL D'ENCADREMENT (STAGE ET TP)

Docteur Madani TOURE

G.H.T

Docteur Tahirou BA

H.G.T

Docteur Amadou MARIKO

H.G.T

Docteur Badi KEITA

H.G.T

Docteur Antoine Niantao

H.G.T

Docteur Kassim SANOGO	H.G.T
Docteur Yéya I. MAIGA	I.N.R.S.P
Docteur Chompére KONE	I.N.R.S.P
Docteur Almahdy DICKO	PMI Sogoniko
Docteur Mohamed TRAORE	Kati
Docteur REZNIKOFF	IOTA
Docteur N'DIAYE F. N'DIAYE	IOTA
Docteur Hamidou B.SACKO	HGT
Docteur Hubert BALIQUE	CT MSSPA
Docteur Sidi Yehiya TOURE	HGT
Docteur Youssouf SOW	HGT

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr E.A. YAPO	Biochimie
Pr ML SOW	Med légale
Pr D.BA	Bromathologie
Pr M.BADIANE	Pharmacie chimique
Pr B.FAYE	Pharmacodynamie
Pr Eric PICHARD	Pathologie infectieuse
Dr G. FARNARIER	Physiologie

DEDICACE ET REMERCIEMENTS

A tous mes grands parents: *in mémorium*

En souvenir de votre affection et de votre disponibilité qui ne m'avaient jamais fait défaut. Puisse Dieu vous accorder sa paix éternelle.

A la mémoire de notre père feu Alpha Nouhoum KASSAMBARA:
Pour ton amour filial et tes conseils sans oublier les sacrifices que tu as tout le temps consentis à notre endroit. Tu m'as suivi pas à pas tout au long de mon cursus scolaire et universitaire. Tu as toujours eu confiance en moi ce qui m' a permis d'aboutir à ce résultat. Ce travail est le modeste témoignage de toute mon affection et mon profond respect.
Puisse Dieu t'accorder la paix éternelle.

A nos mamans Kadiatou BARRY et Balkissa KASSAMBARA:
Femmes sages et " mères poules ". Vous nous avez toujours illuminé par vos comportements exemplaires et votre respect pour l'amour du prochain.
A mes yeux , vous resterez des références.
Trouvez à travers ce modeste travail un début de récompense de vos nombreux sacrifices. Je suis sûre que vos voeux seront exhaussés par le tout Puissant et que vos conseils ne seront pas vains.

A mes oncles maternels et paternels
Tous mes respects.

A mon homonyme Mme BORE Lalla SOUCKO
Tu m'a toujours compris, conseillé, encouragé et entouré d'affection,
je te dédie ce modeste travail.

A mes frères et soeurs
Puisse la franchise, la spontanéité avec laquelle nous nous sommes aidés
rester inalterable.

A mon fiancé: Mr Mouhamadou Hady TALL
Ta patience, ta compréhension et ton amour ont permis la réalisation de ce travail qui est aussi le sien.
Puisse l'amour et l'amitié qui nous unis rester inébranlable.

A mes beaux frères et belles soeurs
Recevez mon attachement total.

A tous les ressortissants de la region de Mopti et particulièrement ceux de
Korientze.

A mes cousines et cousins
A mes nièces et neveux
Je leur souhaite un brillant avenir

A mes amis
Que ce travail soit pour vous l'expression de mon attachement amical.

Mes sincères remerciements vont aux familles:

BORE	Missira I
TRAORE	Missira II
COULIBALY	Missira I
DIARRA	Mopti, Bamako, Koutiala
KASSAMBARA	Paris, Sikasso
BAMBA	Base B
SOW	Badialan III
COISSY	Genève
HAIDARA	Korofina
TALL	Lafiabougou
DOUCOURE	Boukassoumbougou
TIRERA	Sikasso
KANTE	Wolofobougou
DRAME	Badialan II
FOFANA	Point G

A tous ceux qui n'ont pas été cité dans ce travail. Qu'il en soit tous
remerciés.

A tous mes collegues et amis de la promotion 1989-1995 du FMPOS
Vous nous avez toujours fait confiance. En souvenir de la solidarité et du
courage dont nous avons fait preuve durant ces années d'étude.

Nous vous souhaitons bonne chance.

Au Dr Abdoulaye DABO

Vos conseils, votre disponibilité totale, votre amour pour le travail bien fait ont contribué à améliorer les qualités techniques de ce travail. Mes vifs remerciements.

Aux Dr Ousmane KOITA, Bourèma KOURIBA, Amagana DOLO
Abdoulaye DJIMDE, Mahamadou DIAKITE, KEITA Fanta TRAORE,
KEITA Awa DEMBELE, Belco POUDIOUGO, Alassane DICKO, Daouda
Kassoum MINTA, Samba DIOP, Abdoulaye TOURE, Seydou DOUMBIA.
A Mr Nafomon SOGOBA, et Mr Mouctar DIALLO.

Nous avons bénéficié de vos expériences et de vos conseils. Nous avons beaucoup apprécié votre franche collaboration au sein du DEAP.
Votre assiduité dans le travail bien fait seront pour nous un idéal à suivre
Toute ma reconnaissance.

Au Pr Yeya Tiémoko TOURE et Richard K.SAKAI

Mes remerciements sincères pour votre disponibilité totale.

A toute l'équipe du Malaria Research and training center (MRTC)
Merci pour votre franche collaboration.

A tous les membres du DEAP, Mme COULIBALY Assa DAMBA, Danzele
COULIBALY, Araba MARADOU, Yacouba DEMBELE.
Mes vifs remerciement et totale reconnaissance.

A tous mes collègues internes du DEAP
Issaka SAGARA, Kassoum KAYENTAO
Courage et bonne chance.

A Mr Mathieu Owono MEDANG
Mes sincères amitiés

A mes cadets internes du DEAP

Amed OUATTARA, Ousmane TRAORE, Aoua KONARE, Mme DOUMBO
Safiatou NIARE, Drissa COULIBALY, Hamadoun GUINDO.
Courage et beaucoup de succès.

A la direction du FMPOS

A la bibliothèque du FMPOS.

Aux membres du jury

A NOTRE MAITRE PRESIDENT DU JURY LE PROFESSEUR

Boubacar S. CISSE

- Recteur de l'université du Mali
- Professeur de Toxicologie à la FMPOS

C'est un honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de cette thèse malgré vos multiples occupations.

Votre sens de la responsabilité, vos qualités scientifiques et votre constante disponibilité à parfaire notre formation font de vous un maître écouté et respecté.

Recevez l'expression de notre grande admiration.

A NOTRE MAITRE JUGE LE PROFESSEUR Hamar A. TRAORE

Nous avons apprécié au cours de ce travail vos immenses qualités de professeur méthodique, connu pour sa rigueur et son amour du travail bien fait.

Nous avons trouvé auprès de vous compréhension et conseils.

Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE LE PROFESSEUR Harouna KEITA

Nous avons apprécié la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de faire partie du jury de cette thèse. Homme de science, nous avons été fasciné par votre compétence, votre disponibilité et surtout votre goût du travail bien fait.

Veillez recevoir ici l'expression de notre profonde gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE LE PROFESSEUR Amadou DIALLO

- Chef de DER des sciences fondamentales à la FMPOS
- Professeur à la FMPOS.

C'est avec un réel plaisir que vous avez accepté de faire partie de ce jury.

Plus qu'un encadreur vous avez été pour moi un père et un ami. Vous nous avez guidé tout au long de ce travail, encourageant toujours nos initiatives.

C'est avec beaucoup de compréhension et de générosité que vous nous avez consacré des heures précieuses malgré vos multiples occupations.

C'est ici l'occasion de vous réitérer ma sincère reconnaissance et mes remerciements paternels.

**A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE, LE PROFESSEUR
OGOBARA DOUMBO**

- Agrégé de parasitologie

- Medecin chef du Departement d'Epidemiologie des Affections
Parasitaires .

- Directeur du cours supérieur d'épidémiologie pour l'Afrique occidentale
de l'OMS.

- Chargé de cours de parasitologie à la FMPOS.

Vous nous faites un honneur en nous confiant ce travail tout en mesurant
l'ampleur des difficultés. Cependant vous n'avez cessé de donner un corps
et une âme à ce sujet par vos qualités et vos compétences.

L'amour profond que vous vouez à la recherche et l'estime que vous
portez à ce qui s'y intéresse font que vous sacrifiez vos multiples
occupations pour toujours répondre à tous ceux qui vous sollicitent comme
guide.

Nous retiendrons votre humanisme, votre intégrité morale et surtout votre
grande patience.

Soyez assurés que notre volonté est de rester dignes et fiers de votre
confiance et de l'enseignement reçu.

Notre profond respect et estimation.

Sommaire	Pages
1. Introduction	1
2. Objectifs	2
3. Rappels sur l'épidémiologie et le cycle biologique de quelques opportunistes du SIDA	3
3.1 Genre <i>Cryptosporidium</i>	4
3.2 Genre <i>Isospora</i>	5
3.3 Genre <i>Cyclospora</i>	6
3.4 les microsporidies	6
4 Description de la Nitazoxanide	9
4.1 Chimie	9
4.1.1 Principe actif	9
4.1.2 Formule brute et poids moléculaire	9
4.1.3 Formule chimique	9
4.1.4 Composition centésimale	9
4.2 Formulation pharmaceutique	9
4.3 Pharmacologie	10
4.3.1 Activité antiprotozoaire	10
4.3.1.1 <i>Trichomona vaginalis</i>	10
4.3.1.2 <i>Entamoeba histolytica</i>	10
4.3.2. Activité antimicrobienne et antifongique	10
4.3.3 Activité anthelmintique sur:	
4.3.3.1 <i>Syphacia obvelata</i> (nematode) <i>Hymenolepis nana</i> (cestode)	10
4.3.3.2 <i>Taenia pisiformis</i>	11
4.3.3.3 Les nematodes <i>Toxocara canis</i> , <i>Uncinaria stenocephala</i> , <i>Trichuris vulpis</i> et cestodes telque <i>Dypilidium caninum</i> .	11
4.3.3.4 <i>Taenia taeniaeformis</i> , <i>Toxocara cati</i> et <i>Ancylostma tubaeforme</i>	11
4.3.3.5 <i>Monieza expansa</i> , <i>Avitellina centripunctata</i> , <i>Stilesia globipunctata</i> et <i>Thysanieza ovilla</i>	11
4.3.4 Etude de la toxicité	11
4.3.5 Toxicité aigüe chez les animaux	12
4.3.6 Toxicité subaigüe	13
4.3.6.1 Chez le rat	13
4.3.6.2 Chez le chien	14
4.3.7 Embryotoxicité et tératogénicité	14
4.3.7.1 Chez le rat	14
4.3.7.2 Chez le lapin	15
4.3.8 Mutagenicité	15

4.4 Etude clinique chez l'homme

5. Malades et Méthodes	9
5.1 Lieux d'étude	9
6.2 Périodes d'étude	9
5.3 Population d'études	9
5.3.1 Critères d'inclusions	9
5.3.2 Critères d'exclusion	10
5.4 Essai clinique de la Nitazoxanide	10
5.4.1 Protocole de l'essai	10
5.4.1 Ethique	10
5.5 Techniques biologiques de recherche	11
5.5.1 L'examen à l'état frais	11
5.5.1.1 Examen macroscopique	11
5.5.1.2 Examen microscopique	11
5.5.2 Les techniques de concentration	20
5.5.2.1 La technique du KATO-KATZ	20
5.5.2.2 La technique de Ritchie simplifiée	21
5.5.3 Les techniques de coloration	22
5.5.3.1 La technique de Henrichsen et Pohblenz	23
5.5.4 La technique de l'Immunofluorescence Directe	23
5.6 Les techniques biologiques de recherche des spores des microsporidies	23
5.7 Gestion et analyse des données	24
6. Résultats	25
6.1 Résultats généraux	25
6.2 Résultats descriptifs et analytiques	26
6.2.1 Résultats épidémiologiques	26
6.2.1.1 Description de la population d'étude	26
6.2.1.2 Fréquence des opportunistes par produit pathologique	26
6.2.1.3 Fréquence des parasites observés toutes technique confondue	27
6.2.1.4 Résultats comparatifs par technique	27
6.2.2 Evaluation des techniques de diagnostic	27
6.2.2.1 <i>Cryptosporidium sp</i>	27
6.2.2.2 <i>Isospora belli</i>	30
6.2.2.3 <i>Enterocytozoon bienewisi</i>	32
6.2.3 Essai clinique de la Nitazoxanide	32

7 Discussion et commentaires	34
7.1 Difficultés méthodologiques	34
7.2 Epidémiologie	35
7.2.1 <i>Cryptosporidium sp</i>	35
7.2.2 <i>Isospora belli</i>	36
7.2.3 Les microsporidie	37
7.2.4 <i>Cyclospora</i>	37
7.3 Comparaison des techniques	38
7.4 Essai clinique de la NTZ	38
7. Conclusion et recommandations	41
8. Résumé	42
9. Références bibliographiques	44
10. Annexes et fiches d'enquête	55

Liste des abréviations

C.sp	<i>Cyrtosporidium sp</i>
DEAP	Departement d'Épidémiologie des affections Parasitaires
DL50	Dose Léthyale pour 50
FMPOS	Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie
HPG	Hôpital du point G
I. belli	<i>Isospora belli</i>
IFDA	Immunofluorescence Directe appliquée aux Aspirations duodénales.
IFDS	Immunofluorescence Directe appliquée aux selles
NTZ	Nitazoxanide
SIDA	Syndrome Immunodéficitaire Acquis
VIH	Virus d'Immunodéficience Acquis
µm	micronmètre

**LES INFECTIONS
PARASITAIRES DIGESTIVES
CHEZ LES SIDEENS A
L'HOPITAL DU POINT G:
INTERET THERAPEUTIQUE DE
LA NITAZOXANIDE**

INTRODUCTION ET GENERALITES

1. INTRODUCTION

L'émergence et le développement du Virus de l'Immunodéficience Humaine (V.I.H.) a favorisé l'expression de parasitoses rares. Ces parasitoses appelées "opportunistes du Syndrome Immunodéficient Acquis (SIDA)" font l'objet d'un regain d'intérêt à cause de leur fréquence et de leur gravité (80). Ce sont principalement les coccidioses intestinales (cryptosporidiose, isosporose, cyclosporose) et les microsporidioses intestinales à *Enterocytozoon sp* et *Encephalocytozoon sp* (4,6,9,10,37). Elles se manifestent par des diarrhées banales spontanément résolutive chez les sujets immunocompétents; graves et persistantes voire mortelles chez les patients immunodéprimés (6, 8,19,25,47).

ADAL et al. en 1995 ont noté que dans les pays développés et en voie de développement *Cryptosporidium* était responsable respectivement de 14% et 24% des diarrhées chez les sidéens (1). Au Mali, KEITA et al. en 1991 ont trouvé que 28,63% des patients immunodéprimés des hôpitaux du Point G et de Gabriel TOURE étaient porteurs d'oocystes de *Cryptosporidium sp* (39). Ce taux de prévalence semble sous-estimé à cause de la technique de diagnostic utilisée.

L'isosporose est fréquente principalement dans les régions tropicales et subtropicales surtout dans la population de sujets immunodéprimés (6). DEBRA et al. en 1995 estimaient sa prévalence à 15% chez les patients porteurs du VIH au stade de SIDA à Haïti (20). Au Mali, selon MINTA et al. et KEITA et al. cette fréquence varie de 5 à 10,37% au cours du SIDA (39,51). Ce taux semble également sous-estimé à cause de la sensibilité du parasite à certains médicaments en particulier l'association Sulfaméthoxazole/Triméthoprime très largement utilisée en milieu hospitalier.

Des infections mixtes de cryptosporidiose et d'isosporose ont été signalées dans les cas de SIDA (39, 45, 51).

La microsporidiose est une protozoose à découverte récente chez l'homme dont le premier cas a été décrit en 1927 (61). Selon les études effectuées en France (54) et aux Etats-Unis (42), les microsporidies sont la première cause de diarrhées chez les patients atteints de SIDA. Elles sont fréquemment observées chez les sujets VIH positif souffrant de diarrhées chroniques au Brésil (55) en Australie (29), en Ouganda, en Zambie(16,

24, 40, 45) et au Zimbabwe (76). La prévalence de la microsporidiose chez les individus immunodéprimés VIH positif n'a pas été évaluée à présent au Mali.

A présent la recherche de médicaments appropriés au traitement de ces parasitoses n'a pas permis d'obtenir une molécule efficace sur les cryptosporidies (31,68,79). Parmi les molécules synthétisées la Nitazoxanide, une nitrothiazole est présentée comme possédant une activité antiprotozoaire, anthelminthique, bactéricide et antifongique (14, 23,27,43,65).

Devant l'extension du SIDA en Afrique et dans le monde, il est nécessaire de faire le diagnostic précoce de ces protozooses et de proposer un traitement approprié.

Le but de ce travail est de déterminer la fréquence des parasitoses opportunistes du SIDA par différentes techniques utilisées et évaluer l'efficacité antiparasitaire *in vivo* de la Nitazoxanide.

2. OBJECTIFS:

- Déterminer la fréquence de *C.sp*, *I.belli*, et de *E.bieneusi* dans la population de malades sidéens à l'Hôpital du Point G,

- Evaluer les valeurs diagnostiques: sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive et négative des différentes techniques utilisées pour chaque opportuniste,

- Evaluer l'efficacité thérapeutique de la nitazoxanide dans le traitement des malades porteurs d'opportunistes du SIDA: essai clinique phase II .

3. Rappels sur l'épidémiologie et le cycle biologique de quelques opportunistes du SIDA: *Cryptosporidium*, *Isospora*, *Cyclospora* et les microsporidies.

3.1 Le genre *Cryptosporidium*

Le *Cryptosporidium*, protozoaire ubiquitaire initialement décrit chez l'animal et bien connu des vétérinaires, suscite un intérêt croissant en pathologie humaine où il est de plus en plus mis en cause dans les diarrhées (37,52). Il est décrit en 1907 pour la première fois par TYZZER dans l'estomac de la souris et chez d'autres animaux (11) (30,32,57). C'est en 1976 qu'ont été rapportés les deux premiers cas humains dont un concernait un immunodéprimé. Le premier cas mortel a été signalé en 1980 (8,11).

Jusqu'en 1982, seule une dizaine de cas humains avaient été repertoriés; l'irruption du SIDA (Syndrome d'Immunodéficience Acquise) a ensuite provoqué une explosion du nombre de cryptosporidioses humaines (18).

La cryptosporidiose est fréquente et responsable de diarrhées chez le jeune enfant; le voyageur ("tourista") et le sujet immunodéprimé surtout dans les pays tropicaux (8,26,48,53,80). Elle est spontanément résolutive chez les immunocompétents et les enfants, très grave chez les sujets immunodéprimés (8).

Cryptosporidium appartient au phylum des *Apicomplexa*; classe des *Sporozoaires*; sous-classe des *Coccidia*; ordre des *Eucoccidiida*; sous-ordre des *Eimeriina*; famille des *Cryptosporidæ*.

Nous notons plusieurs espèces de *Cryptosporidium* avec des localisations et des hôtes différents (11). Cependant la spécificité d'hôte n'est pas rigoureuse. Des espèces distinctes décrites chez divers animaux ne constituent pas une classification définitive: *C. muris* (rongeurs); *C. meleagridis* (oiseaux); *C. crotali* (reptiles); *C. nasorum* (poisson); *C. parvum*. Elles peuvent chacune infecter plusieurs espèces animales. Les infections, tant chez l'homme que les animaux domestiques, peuvent être dues à plusieurs de ces espèces actuellement séparées dans la nomenclature mais morphologiquement identiques (79). En 1991 DITRICH et al. ont trouvé *C. baileyi* (normalement rencontré chez les oiseaux) chez un sujet HIV positif (80). L'existence d'une espèce qui n'infecterait que l'homme et pour laquelle BIRD a proposé le nom de *C. garnhami* est incertaine.

Le cycle biologique est monoxène direct (8,) (fig1). Le parasite est éliminé dans les selles d'un hôte infecté sous forme d'ookystes sporulés contenant 4 sporozoïtes et un corps résiduel. Les ookystes sont sphériques ou ovoïdes et mesurent de 5,6 à 7,4 μm pour *C.muris* et de 4,5 à 5 μm pour *C.parvum* (fig 3).

Après ingestion ou inhalation, les oocystes, sous l'action combinée des enzymes et des sels biliaries, libèrent les sporozoïtes dans la lumière digestive.

Les sporozoïtes se transforment rapidement en trophozoïte. Les différents stades de développement du parasite sont intracellulaires, mais extracytoplasmiques, inclus dans une vacuole parasitophore. Le trophozoïte, après division nucléaire, se transforme en schizonte qui libère 8 mérozoïtes. Les mérozoïtes peuvent, soit infester d'autres cellules intestinales soit engendrer les formes potentiellement sexuées qui aboutissent, après fécondation, à la formation d'ookystes à paroi fine ou épaisse. Les ookystes à paroi fine peuvent excyster *in situ* et initier un cycle d'auto-infestation; les ookystes à paroi épaisse sont éliminés avec les fèces et sont responsables de la transmission.

La durée du cycle varie de 48h à 10-14 jours selon l'hôte; l'incubation chez l'homme est estimée à 5-21 jours. Chez ce dernier, le parasite se développe habituellement dans l'épithélium gastro-intestinal. On rapporte plus rarement des localisations biliaries et pulmonaires.

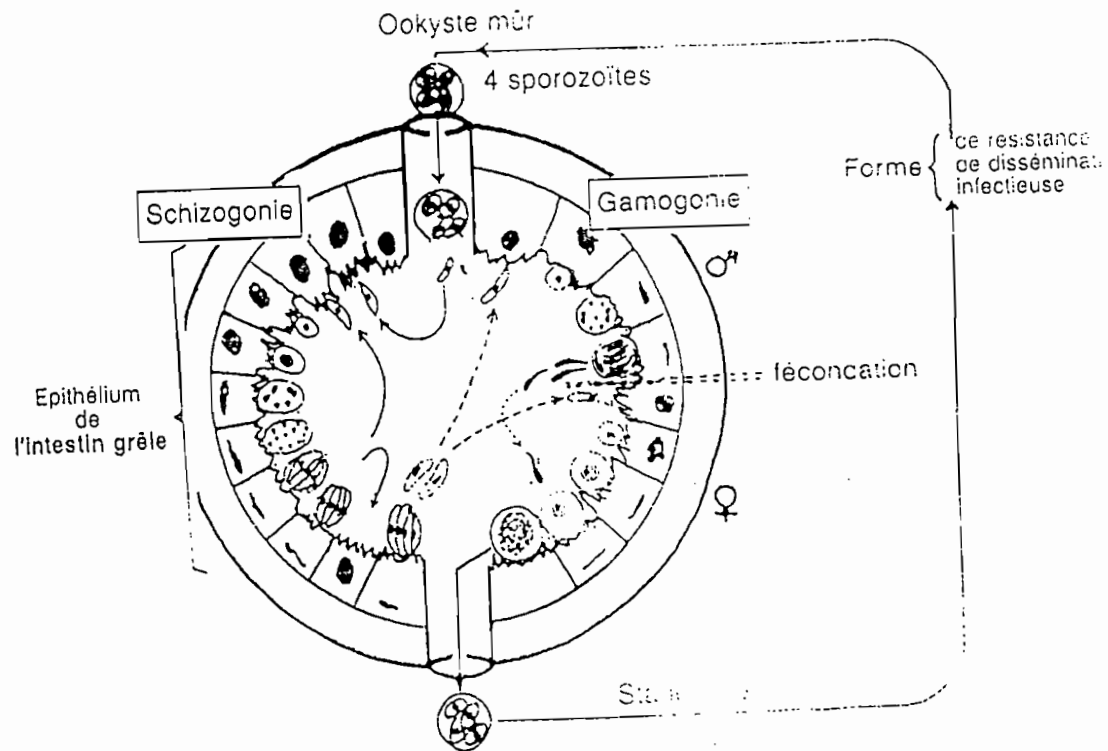


Figure 1: Cycle évolutif de *Cryptosporidium sp* in Parasitologie Mycologie. Nouvelle édition Page 267

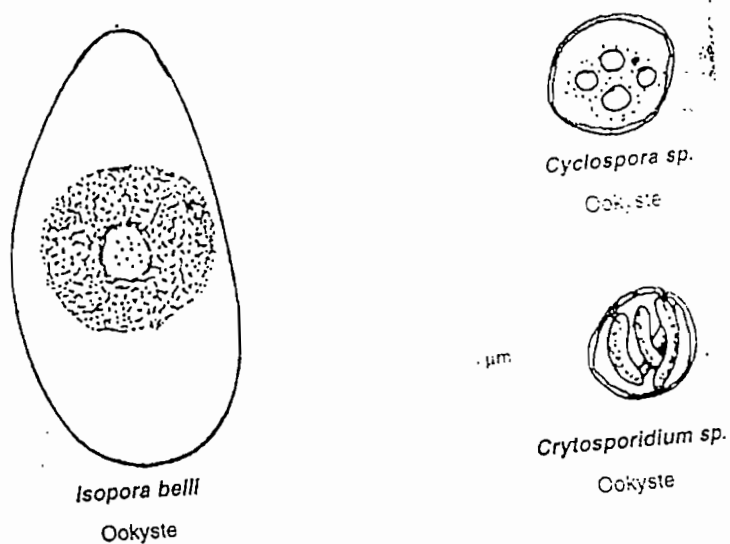


Figure 3: oocystes de *Cryptosporidium*, *Isospora*, et *Cyclospora* in Parasitologie Mycologie. Nouvelle édition Page 274

3.2 Le genre *Isospra*

Ce parasite a été décrit depuis très longtemps dans les selles de sujets venant des zones tropicales (6,9). En effet c'est en 1890 que, RAILLET et LUCET mettaient en évidence les oocystes d'*Isospora belli* pour la première fois (5).

En 1923, WENYON en donnait une description morphologique précise. En 1970, BRADBORG fait une description complète du cycle évolutif. En 1973, les structures du parasite en microscopie électronique ont été décrites.

Il appartient également au *phyllum* des *Apicomplexa*; classe des *Sporozoaires*; sous-classe des *Coccidia*; ordre des *Eucoccidia*; sous-ordre des *Eimerina*; famille des *Eimeridae* avec d'autres genres telque *Caryospora*, *Eimeria*. Il est composé de nombreuses espèces provenant des animaux très divers, une seule espèce infectant l'homme (*Isospora belli*).

Isospora belli a une large distribution en zone tropicale: Amérique centrale et du Sud, Afrique, Sud-Est Asiatique. Son réservoir est strictement humain.

Il évolue selon un cycle monoxène (Figure 2). L'homme se contamine en ingérant des ookystes matures par l'intermédiaire d'eau ou d'aliments souillés ou à la faveur des mains sales.

Les ookystes d'*I. belli* libèrent 8 sporozoïtes infestants dans la lumière intestinale. L'évolution se fait ensuite en 2 phases: asexuée ou schizogonique de multiplication, sexuée ou gamogonique de dissémination.

Les sporozoïtes pénètrent dans la cellule intestinale pour se transformer en trophozoïte dont le noyau se divise pour donner un schizonte mature, arrondi (3µm) renfermant de nombreux mérozoïtes. Ce dernier éclate, libère les mérozoïtes qui envahissent de nouvelles cellules épithéliales ou donnent naissance à des gamétocytes mâles et femelles dont la fécondation aboutit à la formation d'ookystes non sporulés, non infestants. La durée du cycle complet est de 20 jours.

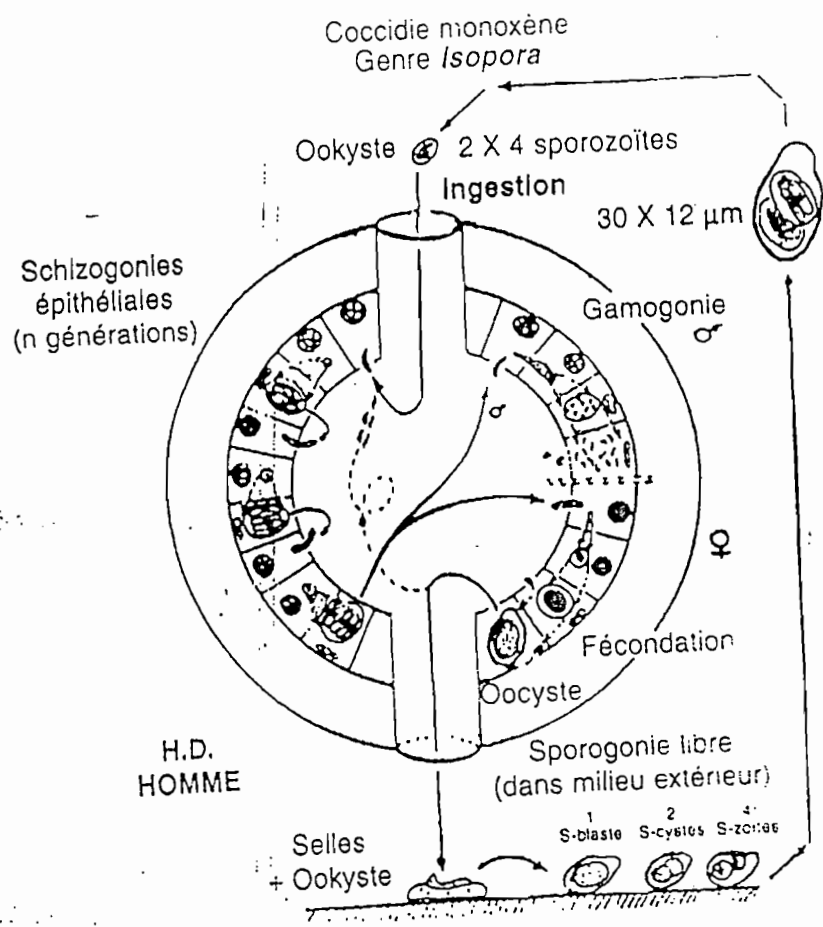


Figure 2: Cycle évolutif de *Isospora belli* in Parasitologie Mycologie. Nouvelle édition Page 271

3.3 Le genre *Cyclospora*.

Parasite cosmopolite a découverte très récente, *Cyclospora* est un protozoaire qu'on avait identifié comme des "granules cyanobactériens", ou comme des corpuscules arrondis à reflets bleuâtres dans les selles des sujets diarrhéiques, immunodéprimés ou non (83,59). L'examen en microscopie électronique, puis la sporulation provoquée des oocystes ont permis, en 1993, de connaître leur nature coccidienne. Dès alors le parasite est considéré comme une coccidie monoxène de l'homme tout comme *C.sp* (59,79).

L'eau, le lait cru et la viande crue sont les sources de contamination importantes.

On ne dispose pas beaucoup d'information sur un possible réservoir animal, ni sur la présence éventuelle d'un hôte intermédiaire.

La transmission d'animaux domestiques à l'homme est possible (82)

Les premiers cas de diarrhées dues à *Cyclospora* aux USA ont été rapportés en 1995 par HUANG et al. (35). Ces diarrhées peuvent être aiguës ou intermittentes chez les sujets immunocompétents (2,58) et les immunodéprimés (47,76). Les groupes à risque de cette infection sont les enfants des pays en voie de développement, les voyageurs et les individus porteurs de VIH (60,77).

Chez l'Homme, on a décrit des stades schizogoniques dans l'épithélium intestinal (intestin grêle) et les oocystes dans les matières fécales et aussi dans le liquide duodénale. Les oocystes incubés à 30°C subissent une maturation (sporulation) et placés dans une solution de trypsine, ils libèrent des sporozoïtes pourvus de micronèmes comparables à ceux des coccidies (*Apicomplexa*).

3.4 Les microsporidies

Les microsporidies sont des protistes unicellulaires eucaryotes, dépourvues de mitochondries et de cinétide (appareil flagellaire). Elles ont donc une vie exclusivement parasitaire avec localisation intracellulaire obligatoire à l'intérieur de l'hôte. La phase proliférative (schizogonie) est suivie de la phase disséminative (sporogonie). Les spores représentent leur forme de résistance et de dissémination, elles sont caractérisées par un filament polaire. Elles se rencontrent chez des hôtes multiples: protozoaires libres, invertébrés (insectes, crustacés), vertébrés (poissons, mammifères). Elles se développent dans les adipocytes, les cellules épithéliales et sanguines.

Le premier cas de microsporidiose humaine a été décrit en 1927 et la première microsporidiose généralisée en 1973.

Les microsporidies appartiennent au *phylum* des *Microspora*, à la classe des *Microsporea*, à l'ordre des *Microsporida* qui comporte 15 familles, 40 genres et 800 espèces dont les plus importants sont:

3.4.1 La famille des *microsporidiae*

- Genre *Pleistophora*

La spore mesure 2 à 3µm, le sporonte produit de nombreuses spores au noyau simple. Les espèces de ce genre se retrouvent en général chez les poissons et les amphibiens.

- Genre *Encephalitozoon*

Les spores produites (2 en général) par la sporonte mesurent 1 à 2µm avec un noyau simple. Trois espèces d'*Encephalitozoon* ont été décrites chez les vertébrés: *E.cuniculi*, *E.hellem* (mammifère), *E.intestinalis* (homme)

3.4.2 Famille des *Nosematidae*

- Genre *Nosema*

La sporonte produit 2 spores de 2 à 4µm à noyaux de type diplocaryotique (deux noyaux accolés). Les espèces appartenant au genre *Nosema* infestent surtout les invertébrés. Seules 2 espèces ont été trouvées chez l'homme: *Nosema connori* et *Nosema corneum*.

3.4.3 Famille des *Enterocytozoonidae*

- Genre *Enterocytozoon*

Ce sont des plasmodes multinucléés au stade prolifératif (méronte) avec des noyaux allongés simples à apparition précoce de la structure du tube polaire. On note des mérontes multinucléés également au stade sporogonique (sporonte) avec des noyaux en division et de petites spores de 1,5x1µm. Ce genre comprend 2 espèces: *E.bieneusi* infesté à l'homme et *E.salmonis* qui infecte surtout les salmonidés (47, 79).

Avant l'ère de l'immunodépression liée au VIH quelques cas d'infections avaient été décrits chez des patients dont le système immunitaire était incompetent pour des raisons divers:

- un cas de localisation musculaire causée par *Pleistophora sp*;
- cinq cas d'infection généralisée ou oculaire par *Nosema conori* et *Nosema corneum*;
- deux cas d'infections respectivement cérébrale et rénale par *Encephalitozoon cuniculi*.

A l'époque du SIDA, les patients présentent le plus souvent des infections digestives causées par le genre *Enterocytozoon* avec l'espèce *Enterocytozoon bieneusi* qui est la plus rencontrée chez l'homme

(61,79). Plus rarement des infections de l'oeil provoquées par *Encephalitozoon hellem*, exceptionnellement des localisations hépatiques ou péritonéales de *Encephalitozoon cuniculi*. Les genres *Pleistophora* et *Nosema* sont exceptionnels chez l'homme.

Le cycle biologique comprend 3 phases: infective, proliférative et sporogonique.

- Phase infective

Les spores présentes dans le milieu ambiant, entrent en contact avec un hôte. Elles contiennent dans une coque rigide et épaisse, un filament (filament polaire) attaché, d'une part, au disque d'ancrage situé à un pôle de la spore et d'autre part, au sporoplasme(ensemble cytoplasme-noyau)(fig4). Grâce à ce filament enroulé en spirale à l'intérieur de la coque et qui agit comme un ressort, l'extrusion se produit sous l'influence d'un stimulus, entr'ouvrant la coque et projetant le sporoplasme dans la cellule hôte(opération missile). La pénétration a lieu par effraction de la membrane plasmique de cette cellule sous la violence du choc ou par endocytose grâce à la présence sur la surface externe du sporoplasme d'une protéine de reconnaissance cellulaire. Le développement intracellulaire peut commencer.

- Phase proliférative

La cellule hôte va héberger deux phases successives de multiplication. Le sporoplasme(ejecté de la spore) devient un trophozoïte à son entrée dans la cellule. Son noyau se divise pour former un schizonte (méroonte). Les mérozoïtes résultant de cette schizogonie (mérogonie) restent à l'intérieur de la cellule et entament un deuxième cycle de divisions nucléaires aboutissant à la production d'un deuxième schizonte (sporonte).

- Phase sporogonique

La sporonte donne des sporoblastes puis des spores qui sont libérés, entraînant la mort de la cellule hôte, et qui vont coloniser d'autres cellules.

D'autre part, les spores, entourées d'une paroi épaisse, résistent dans le milieu extérieur pendant plusieurs mois et sont d'emblée infectantes. Elles proviennent des très nombreux animaux infectés naturellement. La contamination survient généralement par ingestion (forme digestive), à moins que ce ne soit par un contact direct avec des produits contaminés (oeil, peau) (fig5 et 6).

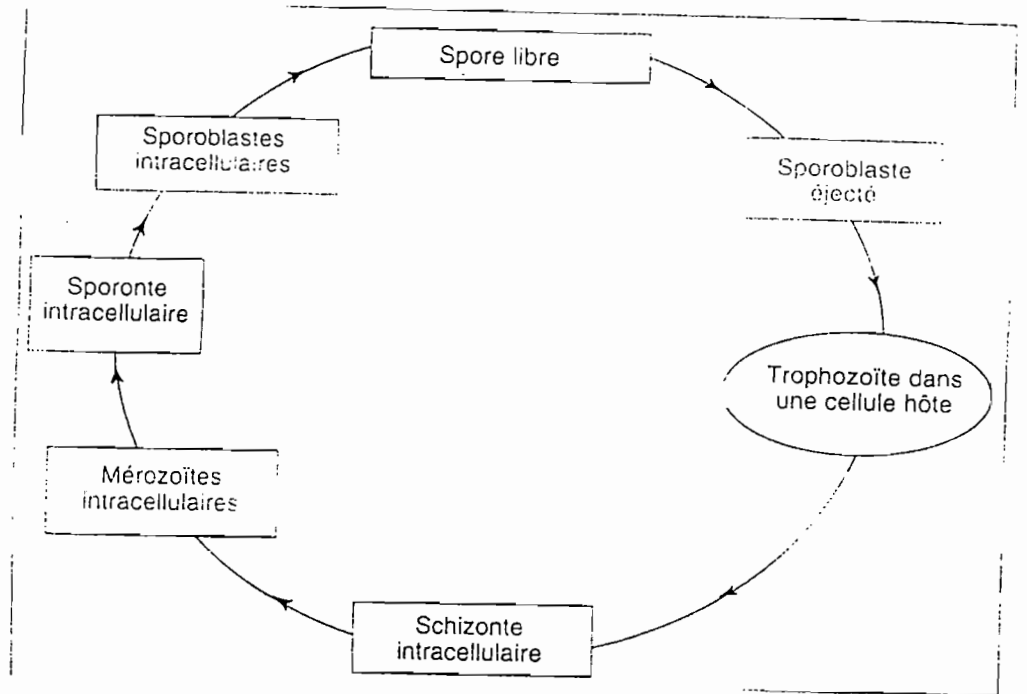


Figure 4: Cycle évolutif de des microsporidies in Protozoologie médicale
 Agence Francophone pour l'Enseignement et la Recherche
 D/1995/007/030. Page 210

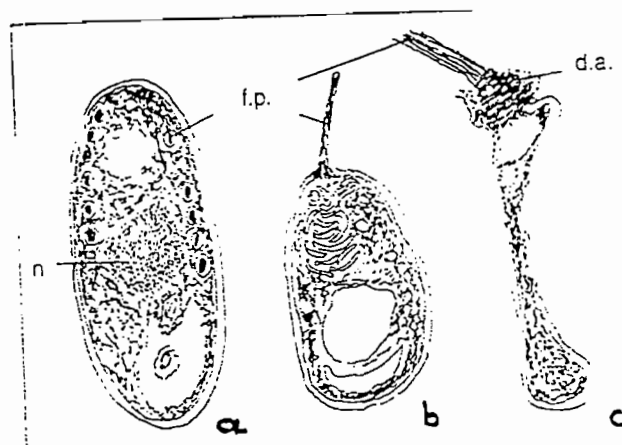


Figure 5:

a. spore de microsporidie montrant le filament polaire spirale (coupé transversalement) et le noyau

n=noyau

fp= filament polaire

b. spore en phase d'éjection du filament polaire

c. spore vidée après ejection du sporoplasme

d=disque d'ancrage.

In Protozoologie médicale Agence Francophone pour l'Enseignement et la
 Recherche D/1995/007/030. Page 209

4. GENERALITES SUR LA NITAZOXANIDE (NTZ)

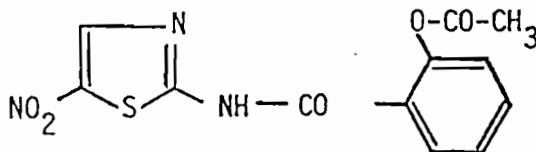
4.1.Chimie

Le principe actif de la nitazoxanide est la 2- (acetolytoxy)-N-(5-nitro-2 thiazolyl) benzamide qui est une poudre jaune pâle avec une faible odeur d'acide. Le point de fusion varie de 202 à 204°C et la stabilité est de deux ans à la température ambiante. Elle est insoluble dans l'eau, l'éthanol, l'éther le chloroforme, soluble dans la pyridine et la diméthylsulfoxyde.

4.1.1 Formule brute: $C_{12}H_9N_3O_5S$

4.1.2 Poids moléculaire: 307,2g

4.1.3 Formule développée:



4.1.4 Composition centésimale:

Carbon	:	46,90
Hydrogène:		2,95
Azote	:	13,68
Oxygène	:	26,04
Soufre	:	10,44

4.2. Formulation pharmaceutique

La nitazoxanide est présentée sous forme de comprimé simple dosé à 500 mg de principe actif .

Composition d'un comprimé:

- 2 (acetolytoxy)-N-(5-nitro-2 thiazolyl) benzamide	500 mg
- Farine de maïs	25 mg
- Explotab ^R	20 mg
- Stéarate de magnesium	5 mg

4.3. Pharmacologie

La nitazoxanide possède des activités variées qui sont antiprotozoaire, antimicrobienne, antifongique et anthelminthique.

4.3.1 Activité antiprotozoaire:

Les espèces sensibles sont: *Trichomonas vaginalis* et *Entamoeba histolytica*.

4.3.1.1 *Trichomonas vaginalis*

La nitazoxanide est active contre *T.vaginalis* avec une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de 0,5µg/ml; 100% d'inhibition est obtenue après 24 heures de culture (65).

Expérimentalement chez la souris infestée par *T.vaginalis* 100% d'efficacité a été obtenue avec la nitazoxanide par la voie orale à la dose de 100mg/kg/jour ou par la voie intravaginale à la dose de 5mg/kg/jour. CAVIER et al. ont également montré que la nitazoxanide et le metronidazole possèdent des activités comparables vis à vis de *T.vaginalis*.

4.3.1.2 *Entamoeba histolytica*

La nitazoxanide est active *in vitro* sur *E.histolytica*. La CMI est de 100µg/ml et inhibe le parasite à 100% en 24 heures pendant qu'avec 25µg/ml elle se fait en 96 heures (65).

4.3.2 Activité antimicrobienne et antifongique

La nitazoxanide exerce une activité bactériostatique sur *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Proteus vaginalis* avec une CMI de 25 et 50 µg/ml. Elle est aussi fongistatique sur les dermatophytes tels que *Microsporum audouini*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* et les levures telque *Candida albicans* avec une CMI de 5 à 10 µg/ml (23).

4.3.3 Activité anthelminthique:

Elle a été testée sur:

4.3.3.1 *Syphacia obvelata* (nematode) et *Hymenolepis nana* (platode)

Le traitement de la souris infestée expérimentalement avec *Syphacia obvelata* à la dose de 200mg/kg pendant 4 jours consécutifs est efficace à 60-80%; avec *H.nana* variété *fraterna* l'efficacité est de 100%. Cela suggère un large spectre anthelminthique contre les nematodes et les cestodes. Dans une seconde étude la dose unique de 50 mg/kg per os de la nitazoxanide

en comparaison avec le metronidazole montre une efficacité de 100% sur *H.nana* chez la souris (14).

4.3.3.2 *Taenia pisiformis*

La Nitazoxanide est efficace à 100% sur *T.pisiformis*(mature et immature) chez le chien infesté expérimentalement (27).

4.3.3.3 *Toxocara canis, Uncinaria stenocephala, Trichuris vulpis, Dypilidium caninum*

L'efficacité a été étudiée chez les chiens infestés naturellement par ces parasites. Le produit administré sous forme de comprimé mélangé à la nourriture à la dose de 100 à 250mg/kg a été efficace contre *Dypilidium caninum*, 70% contre *Uncinaria stenocephala* et 90% contre *Trichuris vulpis*. Son efficacité vis à vis de *Toxocara canis* n'est pas encore bien établie (27).

4.3.3.4 *Taenia taeniaeformis, Toxocara cati et Ancylostoma tubaeforme*

La nitazoxanide a été testée chez le chat infesté à la dose unique de 100mg/kg. Son efficacité est maximale sur *T.taeniaeformis* (100%) et moyenne sur *Ancylostoma tubaeforme* (65%). Par contre aucune activité n'est observée sur *Toxocara cati*. La tolérance est bonne sans effets secondaires (27).

4.3.3.5 *Moniezia expansa, Avitellina centripunctata, Stilesia globipunctata et Thysanieza ovilla:*

La dose unique de 100-200mg/kg a été efficace à 100% sur ces 4 tenia solitaires du mouton (27).

4.3.4 Etude de la toxicite:

En 1992 une étude a été conduite aux USA par Pharmakon Research International sur les effets secondaires liés à l'utilisation de la nitazoxanide comme antiparasitaire pour estimer les activités qui pourront affecter son usage antiparasitaire chez l'Homme. Les tests effectués sont les suivants:

- **Activité sur système nerveux central:** inhibition du reflexe, dépression, relaxation des muscles, catalepsie, activité convulsivante, antishock électrique, activité motrice, analgesie et antagoniste de la tetrabenzanine.

- **Activité antiinflammatoire:** il possède une action identique à celle de l'acide arachidonique sur l'oreille, activité antipyrétique.

- **Essais métaboliques:** tolérance au cholestérol (HDL, LDL, Triglycerides) et au glucose.

- **Activité gastrointestinale:** action antisécrétoire et antiulcéreux chez le rat.

- **Action antimicrobienne** sur *Staphylococcus aureus* (penicillino-sensible et résistante), *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Streptococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus vulgaris*.

- **Action cardiovasculaire :** directe sur la pression sanguine , le coeur du rat , antiarythmie et la diurèse.

- **Action sur le système immunitaire :** La nitazoxanide possède une activité immunosuppressive. Les études des antagonistes *in vitro* sont les suivantes:

- **Sur l'iléon**, elle est antagoniste avec l'angiotensine II, le calcium, la leukotriene D4, la substance P, l'acétylcholine et l'isoproterenol (Beta I antagoniste).

- **Sur la trachée :** elle est bronchodilatateur. Elle provoque une contraction de l'orifice auriculo-ventriculaire du cobaye.

- **Sur le facteur activant des plaquettes et l'histamine.**

A part quelques effets antisécrétoires dus aux fortes doses il n'y a aucun effet pharmacologique pouvant affecter l'utilisation antiparasitaire de la nitazoxanide chez l'homme.

4.3.5 Toxicité aigüe chez les animaux

La toxicité aigüe de la nitazoxanide par la voie orale a été étudiée chez la souris, le rat, le chat et chien.

La DL50(Dose Léthale pour 50) était de 1380 mg/kg pour la souris et plus de 10.000 mg/kg pour le rat, le chat et le chien. Les signes de l'intoxication étaient essentiellement dominés par le desordre gastrointestinal. La DL50 par la voie intra-péritoneale était de 105 mg/kg pour la souris, 165 à 192mg/kg pour le rat et les signes de l'intoxication étaient la diminution de l'activité et une faiblesse , immobilité pendant 3 à 5 minutes généralement, accélération de la respiration, coloration jaune vif des urines, détresse avec

une diminution des reflexes, rigidité avant la mort. Dans le groupe des survivants certains avaient des nodules subaigües. La DL50 par la voie dermique est nettement plus élevée que 3g/kg.

L'instillation de la nitazoxanide dans les yeux des lapins albinos provoque seulement une irritation passagère (56).

4.3.6 Toxicité subaigüe

4.3.6.1 Chez le rat:

Des rats ont reçu pendant 98 jours consécutifs 0mg/kg (groupe 1, contrôle), 50 mg/kg (groupe 2), 150 mg/kg (groupe 3) et 450mg/kg (groupe 4) de nitazoxanide en suspension à 0,2% dans la méthyl cellulose par la voie orale. Les éléments hématologiques et biochimiques tels que le glucose, le cholestérol total, les lipides totaux, le sodium, le potassium, le calcium, SGOT , SGPT et la phosphatase alcaline ont été initialement dosés, 7 et 91 jours après l'administration du mélange. Avant la fin du traitement tous les rats étaient anesthésiés par la voie intrapéritonéale. Les animaux sont sacrifiés et tous les organes étaient examinés sur le plan macroscopique, l'estomac était ouvert pour la recherche d'ulcérations. Les testicules, les ovaires, le foie, les reins, la rate, les glandes hormonales, l'hypophyse, le thyroïde, le thymus et le cerveau ont été pesés. Tous les organes cités ci-dessus sauf les testicules étaient conservés dans le formol à 10% aussi bien que l'estomac, l'oesophage, le duodénum, l'iléon, la vessie et les poumons pour les examens microscopiques dans le groupe de contrôle et le groupe 4. Les résultats peuvent se resumer comme suite:

Groupe 2: il n y a pas de changement des paramètres cités ci-dessus comparativement au groupe de contrôle.

Groupe 3: diminution du poids corporel à 12% comparativement au groupe de contrôle (groupe 1). On note également une légère anémie, les taux de SGOT, SGPT, et de cholestérol total étaient également diminués respectivement de 20, 32 et 13% à la fin de l'étude. De petites ulcérations de l'estomac étaient notées chez quelques rats.

Groupe 4: La diminution du poids corporel est de 8%, une légère anémie , le taux de leucocytes était élevé de 16% à 42% , le taux de SGOT et SGPT étaient diminués de 19% à 32% à la fin de l'étude. Une augmentation de 13% du poids de la rate, et 7% du poids du foie étaient observée uniquement chez les femelles comparativement au groupe de contrôle avec une diminution de 15% du poids du thymus. De petites ulcérations étaient

observées au niveau de l'estomac. Aucune anomalie histologiques n'était observée dans ce groupe ainsi que le groupe 2 et 3 (56).

4.3.6.2 Chez le chien:

Des chiens de chasse divisés en 4 groupes ont été traités per os avec la nitazoxanide pendant 28 jours consécutifs. Ils ont reçu respectivement 0mg/kg (groupe 1) 300mg/kg (groupe2), 900mg/kg (groupe 3) et 2700/1800mg/kg (groupe 4). L'évaluation de la toxicité portait sur: la survie, l'état physique (examen clinique détaillé) , poids corporel et alimentation, poids des organes et examen macroscopique et microscopique de certains tissus. Les signes cliniques observés dans le groupe 2 et 4 étaient: diarrhées, décoloration des selles qui sont souvent sanguinolentes; hypoactivité, coloration jaune du cuir chevelu; déshydratation; anorexie; faiblesse; dos vouté, anémie régénérative modérée, une thrombocytose marquée, une leucocytose modérée(due au neutrophile), légère hypoglycémie, diminution du taux de la phosphatase alcaline, de l'alanine aminotransferase, du sodium, et du calcium; du métabolisme des protéines dans le foie, de la protéinémie totale, du taux globulaire; du rapport albumine-globuline du taux de cholestérol total ; du taux des organo-phosphorés, du sodium et du potassium une élévation du taux de triglycérine, de la lactate déshydrogénase et du potassium. L'incidence de ces signes affiche généralement la dose absorbée. L'examen ophtalmologique des chiens n'a montré aucun signe clinique relative au produit. L'examen des urines a révélé une décoloration; une glucosurie et la présence d'autres substances réduites; une hématurie indiquant une atteinte du tractus génito-urinaire. Les principales lésions observées étaient: tâche noire au niveau du jéjunum, du colon; de l'ileon; noircissement du mesentère, des fosses iliaques, les testicules et les épидидymes .

4.3.7 Embryotoxicité et tératogénicité

4.3.7.1 Chez le rat

La toxicité de la nitazoxanide a été étudiée sur l'embryon foetal maternel chez les rates en gestation par la voie orale au moment de l'organogénèse. Quatre groupes de 6 rats ont été constitués: le groupe 1 est pris comme contrôle, les autres groupes ont reçus la NTZ respectivement par jour 200mg/kg(groupe 2), 800mg/kg (groupe 3), 3200mg/kg (groupe 4).

Toutes les rates ont survécues jusqu'au delais prevus a l'exception de quelques unes du groupe de contrôle et du groupe 2 . Les signes cliniques prédominants dans les groupes 3 et 4 étaient la coloration jaune brillante des urines, diminution de la consommation d'aliments. Les selles étaient normales et il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les groupes traités et le groupe de contrôle quant à la durée de la gestation.

4.3.7.2 Chez le lapin

Les effets tératogènes ont été recherchés au cours de l'organogénèse. Pour cela des doses variables ont été administrées à des groupes de lapin. Les doses administrées sont les suivantes: 0mg/kg; 100mg/kg, 300mg/kg, 900mg/kg et 1800mg/kg/jour(groupe5), le produit était mélangé à 0,5% dans de la méthylcellulose. Les lapins étaient sacrifiés au 29ème jour de la gestation pour l'examen des utérus et des ovaires. Pendant le suivi les signes observés étaient les suivants: avortement, délivrance prématurée, césarienne; anorexie; amaigrissement coloration jaune brillant des urines et du canal uro-génital, distention du tractus gastro intestinal, coloration noire des selles, mortalité.

Les résultats montrent que l'embryotoxicité et la foetotoxicité dépendent de la dose adminisrée et la dose maximale pour les études ultérieures doit être inférieure à 300mg/kg/jour. Les signes de l'intoxication apparaissent avec une dose de 100mg/kg/jour

4.3.8 Mutagenicité

La mutagénicité de la NTZ a été étudiée chez la bacterie *Salmonella thyphimurium* et la souris, aucun effet n'a été observé (56).

Toutes les études citées ci-dessus ont été faites aux Etats Unis d'Amerique par le laboratoire Hazleton inc., Vienne, Virginie en collaboration avec les laboratoires Litton-Bionetics, inc.Kensington, Maryland.

4.4 Etude clinique chez l'homme

Une étude clinique en phase II de l'efficacité de la NTZ sur les cestodes intestinaux tel *Taenia saginata* et *Hymenolepis nana* a été effectué au Département de Parasitologie et de Médecine Tropicale de la croix rouge de Lyon, en France par Herve Maisonneuve et al.en 1984.

Vingt-deux patients adultes infectés par *Taenia saginata* ont reçu une dose unique de 30mg/kg poids corporel de NTZ melangé à la nourriture. Ils ont été suivis pendant 90 jours. Vingt-un patients ont été guéris (95%) .

Un autre groupe de 18 adultes et enfants infectés par *Hymenolepis nana* ont été divisés en 2 groupes de traitement , le groupe 1(8 patients)a reçu 30mg/kg et le groupe2 (10 patients)a reçu 45mg/kg . Les examens de contrôle de selles ont été effectués 30 jours après le traitement . Dans le groupe 1, un seul patient a été guéri (12%) alors que 9 ont été guéris dans le groupe 2(90%). Une bonne tolérance clinique a été observée seulement chez 3 patients, 2 avec des douleurs épigastriques et le troisième avait une nausée et quelques légères diarrhées (66).

METHODOLOGIE

5. METHODOLOGIE

5.1. Lieux d'étude

Elle a porté sur des échantillons (selles, aspirations duodénales, biopsie duodénale) prélevés chez des malades dans les services de médecine interne A, B, C et D de l'Hôpital du Point G (HPG).

Le diagnostic de l'infection par le VIH a été effectué par ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) au laboratoire de biologie de l' HPG. Toutefois tous les résultats positifs ont été confirmés par Western Blot à l'Institut National de Recherche en Sante Publique (INRSP).

La recherche d'oocystes de *C. parvum* et d' *I.belli* dans les selles et les aspirations duodénales a été effectuée au Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP) de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS) du Mali.

Les lames d'immunofluorescence directe ont été lues à l'Institut d'Ophtalmologie Tropicale d'Afrique(IOTA).

La recherche de microsporidies dans les selles et les biopsies a été réalisée à l' Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) 313, Centre Hospitalier Universitaire de la Pitié-Salpêtrière de Marseille (France).

Ce travail a été réalisé en collaboration avec le Département de Parasitologie de l'Ecole de Santé Publique Tampa Floride (USA) et Romark Laboratories, LC., Tampa, Florida.

5.2. Période d'étude

L'étude épidémiologique et l'essai clinique ont été réalisés de Juin 1994 à Juin 1995.

5.3. Population d'étude et recrutement des malades

Nous avons recruté systématiquement tous les malades porteurs du VIH , les malades diarrhéiques des services de médecine interne de l'HPG et les patients qui nous ont été adressés au DEAP pour diarrhées

5.3.1.Critères d'inclusion

- être porteur du VIH
- avoir des selles diarrhéiques
- avoir un ou plusieurs parasites dans les selles.
- participation volontaire à l'essai.

5.3.2. Critères d'exclusion

- être non porteur de VIH
- selles non diarrhéiques
- absence de parasites dans les selles
- refus de participer à l'essai

5.4 Essai clinique de la nitazoxanide

5.4.1. Protocole de l'essai clinique en phase II:

Chaque individu inclus dans l'étude absorbait 500mg (1 comprimé) de nitazoxanide par voie orale matin et soir pendant 7 jours consécutifs et était suivi pendant 15 jours à partir du début du traitement. Le suivi consistait à mesurer tous les 2 jours le poids et la température corporels, la pression systolique et diastolique, le pouls artériel. La consistance et la couleur des selles étaient examinées. Les paramètres hématologiques et biochimiques de chaque individu étaient également déterminés à l'inclusion et au jour 7 du suivi.

Les malades pouvaient recevoir au cours du suivi des antibiotiques à large spectre et des sels de réhydratation orale. Si le patient était sous une quelconque médication anti-diarrhéique par exemple la loperamide, celle-ci était interrompue un jour avant la première prise de Nitazoxanide.

Deux examens parasitologiques des selles étaient effectués pour chacun des individus aux jours 7 et 14 du suivi.

NB: Aucun malade n'a reçu de traitement antiretroviral (en raison de la non disponibilité de ces médicaments), cependant l'amphotéricine B a été utilisée dans 90% des cas pour traiter les infections fongiques. les doses de Nitazoxanide ont été fournies par Romark Laboratories sous le nom commercial de NTZ.

5.4.2 Ethique:

Le but de l'étude a d'abord été expliqué à tous les individus et ils ont été inclus après adhésion à l'essai. Le protocole d'essai a été réalisé conformément aux recommandations de la déclaration d'Helsinki. Il a été approuvé par le comité national d'éthique du Mali.

5.5 Les techniques biologiques de recherche des oocystes de *C.parvum* et *I.belli*

5.5.1 L'examen à l'état frais.

5.5.1.1 L'examen macroscopique:

Il s'agissait de noter la consistance des échantillons. Elle pouvait être liquide, pâteuse et moulée.

5.5.1.2 Examen microscopique

***Principe.** C'est la recherche et la mise en évidence d'œufs, de kystes, de formes végétatives et de larves des parasites à partir des critères morphologiques et la mobilité.

*** Matériel et réactifs**

- lames porte-objet
- lamelles
- spatule
- marqueur
- solution physiologique à 9 pour 1000 de NaCl.
- solution de lugol à 1% (Iode 1g, Iodure de Potassium 2g, eau distillée qsp 100ml)

La solution de lugol doit être conservée à l'abri de la lumière et renouvelée tout les 15 jours.

*** Mode opératoire**

- Déposer quelques gouttes de solution physiologique au milieu d'une lame
- prélever un petit fragment de selles à l'aide d'une spatule; le prélèvement est effectué à l'intérieur et à la surface des selles lorsqu'elles sont molles ou pâteuses, dans la glaire sanguinolante et à la surface du liquide quand elles sont glaireuses ou liquides;
- triturer ensuite le fragment de selles dans la solution physiologique,
- déposer sur chaque extrémité d'une seconde lame une goutte du mélange;
- ajouter une goutte de lugol à l'une des gouttes
- recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air;
- observer la préparation au microscope optique avec les objectifs 10 et 40.

*** Avantages**

L'examen direct permet d'identifier en utilisant un matériel simple tous les stades parasitaires émis dans les selles (œufs, kystes, forme végétative et larves).

*** Inconvénients**

L'examen direct est peu sensible du fait de la trop faible quantité de selle à prélever. Une quantification de charge parasitaire n'est pas possible.

5.5.2 Les techniques de concentration

5.5.2.1 La technique de KATO-KATZ

*** Principe**

Elle consiste à étaler sur une lame une quantité déterminée de selle dans le but de rechercher et quantifier les œufs de parasites.

*** Matériel et réactifs**

- lame porte-objet
- spatule en verre ou en métal
- tamis à mailles de l'ordre de 200µm à 300µm.
- calibreur pour 40mg de selles
- chambre humide
- membrane de cellophane découpée et colorée dans la solution de KATO (Glycérine 100ml, solution aqueuse de vert malachite à 3% 1m, Eau distillée 100ml). Les membranes doivent être imprégnées dans la solution de Kato pendant au moins 24 heures avant leur utilisation.

*** Mode opératoire**

- Placer le calibreur au milieu de la lame porte-objet,
 - à l'aide de la spatule déposer un échantillon de selles sur le tamis,
 - faire passer les selles par les mailles,
 - mettre le tamisat dans le trou du calibreur et raser la surface à l'aide de la spatule
 - enlever le calibreur et recouvrir avec une membrane de cellophane,
 - étaler uniformément la selle sous la membrane de cellophane.
 - la lecture est effectuée au microscope optique à l'objectif 10x et 40x
- La charge parasitaire est évaluée en nombre d'œufs/g de selles.

Remarque: afin d'éviter le dessèchement rapide des étalements les lames doivent être gardées dans une chambre humide.

*** Avantages**

C'est une technique quantitative, peu onéreuse, facile à réaliser et bien adaptée aux enquêtes épidémiologiques de terrain.

*** Inconvénients**

Elle est limitée seulement à la recherche d'œufs d'helminthes.

5.5.2.2 La technique de RITCHIE simplifiée

*** Principe**

C'est une technique diphasique qui consiste à mettre les selles dans un mélange de deux solvants non miscibles pour séparer les débris et les éléments parasitaires.

*** Matériel et réactifs**

- tamis
- tube conique de 50 cc
- tube à centrifuger en verre
- centrifugeuse
- formol à 10%
- éther sulfurique

*** Mode opératoire**

- triturer une partie de selles dans dix parties de formol dans le tube conique
- tamiser et transvaser dans le tube à centrifuger
- ajouter un volume égal d'éther sulfurique
- agiter vigoureusement puis centrifuger à 1500 t/mn pendant 10 mn
- éliminer les 3 couches supérieures et observer le culot entre lame et lamelle.

*** Avantages**

Elle permet d'augmenter la sensibilité de l'examen microscopique.

*** Inconvénients**

La technique du Ritchie détruit les formes végétatives de protozoaires et est onéreuse.

5.5.3 Les techniques de coloration

5.5.3.1 La technique de HENRICKSEN et POHBLENZ

***Principe**

Elle consiste à rechercher les oocystes de *Cryptosporidium sp* et de *Isospora belli* sur les frottis en fonction de leur propriété acido-alcoolorésistante.

*** Matériels et réactifs**

- lame porte objet
- spatule

- râtelier
- solution de fuschine pheniquée (solution A 90ml, solution B 10ml)
 - . solution A (phénol 5 g, eau distillée 100 ml)
 - . solution B (fuschine basique 15 p1000 dans du méthanol)
- solution aqueuse d'acide sulfurique à 2%
- solution aqueuse de vert malachite à 5%:

Les réactifs doivent être renouvelés chaque mois.

*** Mode opératoire**

- Réaliser un frottis à partir des selles (les selles dures sont d'abord diluées dans la solution physiologique) ou des culots de concentration
- fixer le frottis séché à température ambiante dans du méthanol pur pendant 5 mn
- colorer avec la fuschine phéniquée pendant 1 h
- rincer abondamment à l'eau de robinet
- décolorer avec la solution aqueuse d'acide sulfurique à 2% pendant 20 s en agitant la lame
- recolorer avec la solution aqueuse de vert malachite à 5% pendant 8 mn
- rincer abondamment à l'eau de robinet
- sécher à la température ambiante
- lire au microscope optique à l'objectif 100 à immersion.

Les oocystes de *Cryptosporidium sp* et d'*Isospora belli* apparaissent colorés en rouge intense sur un fond vert.

*** Avantages**

La technique est peu onéreuse et spécifique des oocystes de *C.sp* et *I.belli*.

5.5.4 La technique de l'immunofluorescence directe (IFD)

*** Principe**

Elle consiste à utiliser des anticorps monoclonaux marqués à la fluoresceine dirigés contre les antigènes de surface d'oocystes de *C. parvum* et de kystes de *Giardia intestinalis* dans les selles et les aspirations duodénales.

*** Matériels et réactifs**

- . Eau distillée ou déionisée
- . pissette
- . chambre d'humidité
- . lamelle de taille 22X50mm

- . microscope à fluorescence
- . spatule
- . nous avons utilisé le kit MERIFLUOR *CRYPTOSPORIDIUM* et *GIARDIA* de Diagnostic Pasteur France. Le coffret contient:
 1. un réactif de détection(2ml) composé d'anticorps monoclonaux anti-*Cryptosporidium* et anti-*Giardia* dans une solution tamponnée de protéine stabilisée et 0,1% d'azide de sodium.,
 2. un contre colorant (1ml) composé d'une solution noire d'eriochrome,
 3. un flacon de liquide de lavage (50ml) qui est une solution tampon concentrée à 20N,
 5. un témoin positif (0,5ml) constitue de selles formolées contenant des oocystes de *C. parvum* et des kystes de *G. intestinalis*,
 5. un témoin négatif (0,5ml) constitué de selles formolées sans oocystes de *C. parvum* et de kystes *G. intestinalis*,
 6. un réactif d'immersion pour la lecture(3ml)
 7. des loupes pour l'étalement
 8. lames pour immunofluorescence

* Mode opératoire

Nous avons appliqué l'IFD sur les selles (IFDS) et les aspirations duodénales (IFDA) qui ont été préalablement concentrées par la technique de Ritchie. Nous avons opéré selon le protocole ci-dessous:

- étaler une goutte de culot dans un puits avec la loupe en évitant de rayer la surface.
 - laisser sécher à la température du laboratoire (pendant 30 minutes)
 - déposer une goutte de réactif de détection sur l'étalement
 - ajouter ensuite une goutte de contre-colorant
 - mélanger à l'aide d'une spatule
 - incuber la lame dans une chambre humide protégée contre la lumière pendant 30 minutes
 - préparer le liquide de rinçage en le ramenant à la concentration 1N avec de l'eau distillée ou désionisée. Cette solution peut être gardée à la température ambiante pendant un mois.
 - rincer doucement la lame sans décoller l'étalement.
- Eviter de mélanger les contenus des différents puits de la même lame au cours du rinçage
- chasser l'excès de liquide de rinçage et ajouter une goutte de réactif d'immersion dans chaque puits puis déposer la lamelle
 - lire à l'objectif 40 d'un microscope à fluorescence.

* **Interprétation**

La présence d'oocystes de *C. parvum* est décelée par une fluorescence verte sur fond noir.

Les oocystes de *C. parvum* sont rondes ou ovales avec 2 à 6µm de diamètre entourés d'une coque.

* **Contrôle de qualité:** les contrôles positif et négatif doivent être utilisés à chaque examen.

* **Avantages**

C'est une technique très spécifique et sensible; la lecture est aisée.

* **Inconvénients**

Elle est onéreuse et demande un temps de réalisation long.

4.6 Les techniques biologiques de recherche des spores de microsporidies

Elle a été faite à l'unité INSERM 313 de Marseille avec la coloration de Weber, la technique d'immunofluorescence Uvitex 2b et en microscopie électronique.

5.6 Gestion et analyse des données

Les échantillons de selles étaient recoltés chez tous les patients hospitalisés à J0, J7, J14 et les patients non hospitalisés une seule fois. Les aspirations duodénales et les biopsies ont été prélevées également à J0, J7, J15. Les biopsies duodénales, une partie des aspirations duodénales et les selles ont été envoyées à l'unité INSERM à Marseille pour la recherche de microsporidies.

Au DEAP, les échantillons de selles et les aspirations étaient traités immédiatement et conservés à 4°C.

Chaque malade hospitalisé avait deux fiches de renseignement, une au niveau du DEAP (parasitologie) et une au niveau de l'HPN (clinique). Les données ont été saisies et analysées au DEAP avec le logiciel Epi-info version 6.

Le coefficient de concordance Kappa a été calculé pour la quantification du degré de concordance entre deux techniques coprologiques.

Nous avons également calculé la sensibilité, spécificité, les valeurs prédictives positives et négatives pour la comparaison des techniques.

RESULTATS

6. RESULTATS

6.1 Résultats généraux

Nous avons examiné au total 70 échantillons de selles pour l'étude épidémiologique et la comparaison des techniques de diagnostic. Le nombre de porteurs d'oocystes de *C.parvum* est de 20 (soit 28,57% des patients) détectés par la technique de Henricksen et Pohblenz et de 24 (soit 34,29% des patients) par l'immunofluorescence directe. Le taux de prévalence globale de l'isosporose est de 7,1% (5/70) par la technique de Henricksen et Pohblenz et 4,3% (3/70) par la technique du Kato-katz et le direct. Nous avons obtenu un cas d'association de *C.sp* et *I.belli* (1,42%). Trois des 21 sidéens ayant bénéficié de la recherche de spores de *E.bieneusi* dans les selles et les biopsies étaient positifs soit un taux de 14,2%. Tous les 24 patients inclus (17 hommes et 7 femmes adultes) pour l'évaluation de l'efficacité de la nitazoxanide étaient au stade de SIDA et avaient une diarrhée chronique. Quatorze étaient porteurs d'oocystes de *C. parvum* soit 58,33% et un seul porteur d'oocystes d'*I. belli* soit 4,17%, le reste des patients exceptés deux avaient des parasitoses diverses. Neufs des 15 aspirations duodénales provenant de sidéens (soit 60%) contenaient des oocystes de *C.sp* détectés par immunofluorescence directe. La nitazoxanide a permis d'éliminer les parasites chez 15 (83,33%) des 18 malades traités.

6.2. Résultats descriptifs et analytiques

6.2.1 Résultats épidémiologiques

6.2.1.1 La description de la population d'étude:

- Selon l'âge

Classe d'âge(an)	fréquence	%
0-14	7	10
15-20	5	7,14
>20	58	82,86
Total	70	100

TableauI: Distribution des patients selon les classes d'âge

La majorité de nos patients était des adultes de plus de 20 ans. Le maximum d'âge était de 70 ans tandis que le plus jeune avait 1 an , la moyenne d'âge est de 32,30ans (plus ou moins 14 ans).

Le sexe masculin(58,6%) était plus nombreux que le sexe féminin.

- Selon l'aspect des selles

Aspect	fréq	%
Liquide	25	35,7
Pâteuse	39	55,7
moulé	6	8,6
Total	70	100

TableauII: Distribution des malades selon l'aspect macroscopique des selles

Le nombre de patients diarrhéiques était de 64 sur les 70 soit 91,43% .

- Selon la serologie VIH

Sur les 70 patients la sérologie VIH a été confirmée pour 27 (38,6%) parmi lesquels 24 étaient VIH+(17 de sexe masculin et 7 de sexe féminin) tous hospitalisés à l'HPG.

6.2.1.2 Fréquence des opportunistes par produits pathologiques

Parasites	selles		aspiration duodénale		biopsies duodénales	
	n/t	%	n/t	%	n/t	%
<i>C.parvum</i>	24/70	34,3	9/15	60	—	—
<i>E.bieneusi</i>	1/21	4,8	—	—	3/21	12,5
<i>I.belli</i>	5/70	7,1	—	—	—	—

Tableau III: Fréquence des opportunistes par produit pathologique
Ce tableau nous montre que le maximum de parasites est éliminé dans les selles et le parasite le plus fréquemment rencontré est *C.parvum*.

6.2.1.3 Fréquence des parasites observés toutes techniques confondues

Parasites	direct		Kato-K		H-Poh		IFDS		IFDA		M.E		U2B/W	
	n/t	%	n/t	%	n/t	%	n/t	%	n/t	%	n/t	%	n/t	%
<i>C.parvum</i>	-	-	-	-	20/70	28,6	24/70	34,3	9/15	60	-	-	-	-
<i>E.bieneusi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3/21	14,3	1/31	4,8
<i>I.belli</i>	3/70	4,3	3/70	4,3	5/70	7,1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.coli</i>	7/70	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.histolytica</i>	4/70	5,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.minuta</i>	6/70	8,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>G.intestinalis</i>	7/70	10	-	-	-	-	6/70	8,6	0	0	-	-	-	-
<i>T.intestinalis</i>	7/70	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Levures	4/70	5,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E.vermic.s</i>	1/70	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.stercoralis</i>	2/70	2,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>D.aepes</i>	1/70	1,4	3/70	4,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N.americ.</i>	1/70	1,4	2/70	2,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>H.nana</i>	2/70	2,9	2/70	2,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.mansoni</i>	1/70	1,4	2/70	2,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A.lumbric.</i>	1/70	1,4	1/70	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau IV: Fréquence des parasites observés toutes techniques confondues

L'examen direct à l'état frais permet la mise en évidence de tous les parasites sauf *C.sp*, *E.bieneusi*.

6.2.1.4 Résultats comparatifs par technique

Technique	Direct		Kato		H-poh		IFDS		IFDA		ME		Uvitex		Weber	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
positif	35	50	13	18,6	24	34,3	28	40	9	60	3	14,3	1	4,8	1	4,8
négatif	35	50	57	81,4	46	65,7	42	60	6	40	18	85,7	20	95,8	20	95,8
Total	70	100	70	100	70	100	70	100	15	100	21	100	21	100	21	100

Tableau V: Comparaison des différentes techniques

Parmi les différentes techniques utilisées pour examiner les selles, le Direct a permis de détecter plus de cas de parasitose (35/70). Par contre le Kato ne détecte que 13 cas.

6.2.2 Evaluation des techniques de diagnostique

6.2.2.1 *Cryptosporidium sp*

- Concordance entre la technique de Henricksen et Pohblenz et l'immunofluorescence directe appliquée aux selles (IFDS).

	IFDS		Total
	+	-	
Henricksen	18	6	24
Pohblenz	10	36	46
Total	28	42	70

Tableau VI: Concordance entre la technique de Henricksen et Pohblenz et l'immunofluorescence directe appliquée aux selles (IFDS) pour la détection des oocystes de *C.sp*.

La sensibilité de la technique de Henricksen et Pohblenz est de 64,28%

(18/28) comparée au IFDS, sa spécificité est 85,71% (36/42). Les valeurs prédictives positives et négatives sont respectivement de 75% (18/24) et de 78,26% (36/46).

La statistique «kappa» indiquant le pourcentage de concordance entre les deux techniques est moyenne (0,51).

- Concordances entre la technique de Henricksen et Pohblenz et celle de l'IFDA

	IFDA		Total
	+	-	
Henricksen	5	2	7
Pohblenz	4	4	8
Total	9	6	15

Tableau VII: Concordances entre la technique de Henricksen et Pohblenz et celle de l'IFDA pour la detection dans les selles d'oocystes de *C.sp*

La sensibilité de la technique de Henricksen et Pohblenz est de 55,56% (5/9) comparée au IFDA, sa spécificité est 50% (4/8). Les valeurs prédictive positive et négative sont respectivement de 71,43%(5/7) et de 50%(4/8).

Quatre cas détectés positifs à l'IFDA ont échappés au Ziehl. Une faible concordance est observée entre les deux technique («kappa» = 0.21). Pour le diagnostic de la cryptosporidiose la technique de l'IFDS est la meilleure parmi les autres.

6.2.2.2 *Isospora belli*

- Concordance entre la technique de coloration de Henricksen et Pohblenz et le Kato-Katz

	Kato-Katz		Total
	+	-	
Henricksen Pohblenz	+	3	5
	-	0	65
Total	3	67	70

Tableau VIII : Concordance entre la technique de coloration de Henricksen et Pohblenz et le Kato-Katz pour la détection d'*I. belli*

La technique de Henricksen et Pohblenz a détecté plus de cas d'isosporose que le Kato-katz et tous les cas observés par cette dernière l'ont été aussi par la première. Sa sensibilité est de 100% et sa spécificité de 97,70% avec les valeurs prédictives positive et négative de 60% et de 100%. Il existe une bonne concordance entre les deux techniques.

- Concordances entre l'examen direct à l'état frais et la technique de Henricksen Pohblenz

	Henricksen et Pohblenz		Total
	+	-	
Direct état frais	+	3	3
	-	2	67
Total	5	65	70

Tableau IX: Concordances entre l'examen direct à l'état frais et la technique de Henricksen Pohblenz pour le diagnostic de l'isosporose.

L'examen direct à l'état frais a détecté moins de cas positifs que le Henricksen et Pohblenz (3 sur 5). Sa sensibilité de 60% et sa spécificité est 100%. Les valeurs prédictives positives et négatives sont respectivement de 100% et 97%.

- Concordance entre l'examen direct et la technique du Kato-Katz

	Kato-Katz		Total
	+	-	
Direct état frais	3	0	3
	0	67	67
Total	3	67	70

Tableau X: Concordance entre l'examen direct et la technique du Kato-Katz pour le diagnostic de l'isosporose.

Les 3 cas d'isosporose détectés par la technique du Kato-Katz ont été également détectés à l'examen direct ce qui donne une très bonne concordance entre les deux techniques ($Kappa=1$)

La technique de coloration de Henrichsen-Pohblenz est la mieux indiquée ici pour le diagnostic de l'isosporose.

6.2.2.3 *Enterocytozoon bienewisi*

Résultat	M.Electroni		Weber		Uvitex	
	n	%	n	%	n	%
Positif	3	14,3	1	4,8	1	4,8
Négatif	18	85,7	20	95,2	20	95,2
Total	21	100	21	100	21	100

Tableau XI: Récapitulatif des différentes techniques utilisées pour la détection des spores de *E.bieneusi*

La technique la plus efficace pour le diagnostic de la microsporidiose à *E.bieneusi* est la microscopie électronique sur des biopsies distales et les selles.

6.2.3 Essai clinique de la Nitazoxanide

En total 24 malades diarrhéiques HIV positifs tous au stade de SIDA sont recrutés pour cet essai. Deux malades n'avaient pas de parasitoses digestives, 3 malades sont décédés et un malade a refusé de suivre le protocole.

Dix huit malades tous excréteurs d'opportunistes et autres parasites ont donc été traités avec le produit à la dose de 500mg/kg 2 fois par jour pendant 7 jours consécutifs.

- Les parasites traités avec la NTZ

Parasites	Nbre cas
<i>C.parvum</i>	7
<i>C.parvum</i> + <i>G.intestinalis</i>	2
<i>C.parvum</i> + <i>E.histolytica</i>	2
<i>C.parvum</i> + <i>N.americanus</i>	1
<i>C.parvum</i> + <i>H.nana</i>	1
<i>C.parvum</i> + <i>A.lumbricoides</i> + <i>S.stercoralis</i> + <i>D.aepes</i>	1
<i>I.belli</i>	1
<i>G.intestinalis</i> + <i>S.stercoralis</i>	1
<i>E.histolytica</i>	2

Tableau XII: Les parasites traités avec la NTZ

La cryptosporidiose seule (7cas) ou associée a d'autres parasitoses (7cas) était la plus fréquente (14/18) soit 77,8%.

Huit de nos 18 patients étaient polyparasités soit un taux de 44,4%.

- L'efficacité de la Nitazoxanide sur les parasites traités

Parasites	J0 nbre cas	J7 nbre cas	J14 nbre cas	% guérison
<i>C.parvum</i>	7	1	1	85,7
<i>C.parvum</i> + <i>G.intestinalis</i>	2	2	2	0
<i>C.parvum</i> + <i>E.histolytica</i>	2	0	0	100
<i>C.parvum</i> + <i>N.americanus</i>	1	1	1	0
<i>C.parvum</i> + <i>H.nana</i>	1	0	0	100
<i>C.parvum</i> + <i>A.lumbricoides</i> + <i>S.stercoralis</i> + <i>D.aepes</i>	1	1	1	0
<i>I.belli</i>	1	0	0	100
<i>G.intestinalis</i> + <i>S.stercoralis</i>	1	1	1	0
<i>E.histolytica</i>	2	0	0	100

Tableau XIII : l'efficacité de la Nitazoxanide sur les parasites traités

Six des 7 patients ayant des infections monospécifiques à *C.parvum* (85,7%) et 3 des 7 patients avec des infections mixtes(42,8%) n'avaient plus de parasites dans les selles 14 jours après le début du traitement avec la NTZ. et que la molécule a été inefficace sur *S.stercoralis* et *N.americanus*. Le seul cas d'isoporoze a été efficacement traité.

Sur le plan clinique 4 des 6 patients monoparasités par *C.parvum* et parasitologiquement guéris n'avaient plus de diarrhées à la deuxième semaine du traitement; le poids corporel a été augmenté avec une bonne tolérance clinique et biologique. Chez le patient non guéris la diarrhée persistait toujours.

**DISCUSSION ET
COMMENTAIRES**

7. DISCUSSION ET COMMENTAIRES

7.1 Methodologie

L'objectif de cette étude était de déterminer la fréquence des affections opportunistes chez les malades VIH positifs au stade de SIDA, d'évaluer les valeurs diagnostiques des principales techniques utilisées et l'efficacité thérapeutique de la Nitazoxanide une nouvelle molécule antiparasitaire en essai clinique phase II.

Pour cela nous avons choisi les services de médecine interne de l'HPG où la grande majorité des cas de SIDA sont hospitalisés. Afin d'obtenir un échantillonnage suffisant pour l'évaluation des techniques nous avons recruté les malades hospitalisés pour diarrhée à l'HPG et les individus venant au laboratoire du DEAP pour examen coprologique.

Les échantillons à analyser étaient soit des selles, soit des aspirations duodénales ou des biopsies duodénales. Au total nous avons examinés 70 échantillons de selles et seulement 15 aspirations duodénales. Nous n'avons pas pu effectuer l'aspiration duodénale et la biopsie duodénale de tous les sidéens à cause de l'altération marquée de leur état général. La sérologie VIH positive a été confirmée pour seulement 27 patients tous parmi lesquels 24 étaient VIH Positifs. Nous n'avons donc pu déterminer la place de différents parasites dans la population de malades non infectée par le VIH. Pour l'essai clinique les 24 patients VIH positifs ont été inclus, cependant 3 des patients sont décédés avant la fin du protocole (2 au 6^{ème} jour après le début du traitement et 1 au 9^{ème} jour); un patient a volontairement quitté le protocole au 7^{ème} jour et deux patients n'avaient de parasites intestinales. Ainsi 18 patients séropositifs ont effectivement été suivis.

Le manque de moyens techniques de détection des spores de microsporidie nous a conduit à envoyer les échantillons à l'unité INSERM du Centre Hospitalo-Universitaire de la Pitié-Salpêtrière à Paris en France. Certaines biopsies n'ont pas été étudiées en raison de leur état d'altération. Au total 21 biopsies et échantillon de selles ont été traités à l'unité INSERM.

La mensuration des oocystes de *Cryptosporidium* n'a pu être effectuée bien qu'elle nous aurait permis d'identifier les oocystes de *Cyclospora* et de les discriminer de ceux de *Cryptosporidium*.

Contrairement à ce qui est décrit dans la littérature nous n'avons pas pu

detecter de trophozoïte de *Giardia intestinalis* dans les aspirations duodénales des patients ayant des kystes dans les selles cela peut être due à la grande dilution du parasite. Mais de tels résultats ont été obtenus par SUZUKI en 1994 au Portugal chez 21 patients, où 95% (20/21) des malades excrétaient des kystes dans les selles et seulement 43% (9/21) avaient des trophozoïtes dans les aspirations duodénales (70).

7.2. Epidémiologie

Nous avons obtenu en ce qui concerne la prévalence des différentes infections opportunistes du SIDA des résultats comparables à ceux décrits dans la littérature.

7.2.1 La cryptosporidiose:

Dans notre étude nous avons identifié 14 malades adultes infectés par le VIH sur 24 qui excrétaient des oocystes de *C. parvum* soit un taux de prévalence de 58,3%.

L'étude faite par TRAORE (74) à Bamako en 1991 sur 101 malades atteints de diarrhées au cours du SIDA en milieu hospitalier, donne une prévalence de 31,7% de la cryptosporidiose.

En République de Côte d'Ivoire, THERIZOL- FERLY et al. rapportent 10 cas de cryptosporidiose chez 148 patients adultes atteints de diarrhée chronique et suspectés d'infection par un virus VIH soit 6,7% (72).

A Bunjumbura, AUBRY et al. rapportent 8,44% de cryptosporidiose chez des sujets atteints de diarrhée au cours du SIDA entre 1987 et 1989 (6). En 1989, la fréquence de la cryptosporidiose chez les patients atteints de diarrhées au cours du SIDA va de 4% au Congo, 10,8% au Zaïre, 47% en Ouganda à 48% en Haïti (36). La cryptosporidiose est plus fréquente au Mali dans la population des malades VIH positif qu'en Côte d'Ivoire, au Zaïre, en Ouganda et à Haïti.

Les travaux de BONNIN et al. estimaient la prévalence de la cryptosporidiose dans les pays tropicaux et intertropicaux entre 5 et 20% (8).

Au Venezuela CHACIN-BONILLA et al. en 1992 ont trouvé 41,3% de cryptosporidiose chez les patients diarrhéiques atteints de SIDA (15). Cependant une étude faite en République Centrafricaine en 1990 sur 40 sujets atteints de diarrhée au cours du SIDA ne révèle aucun cas de cryptosporidiose (7).

Cryptosporidium sp est responsable de 39,7% de cas de diarrhées au cours du SIDA en Ethiopie (50), 37,3% en France (17), de 33,3% en Italie (12) et

3% aux USA (21).

Toute fois la fréquence de la cryptosporidiose atteint 15,9% dans une population de malades porteurs du VIH en Espagne (78). SAUDA FC et al. estiment à 19,1% la prévalence de la cryptosporidiose chez des sujets atteints de diarrhée au cours du SIDA au Bresil (67).

Les Cryptosporidioses sont soit isolées soit associées à d'autres parasites (3,7,41,49) au cours du SIDA. De notre série, l'excrétion d'oocystes de *Cryptosporidium sp.* était associée à *Entamoeba histolytica* (11,11%); *Giardia intestinalis* (11,11%), *Isospora belli* (5,56%), *Strongyloïdes stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*, *Dicrocoelium aepes* (5,56%). Ces résultats sont comparables à ceux de THERIZOL-FERLY et de MINTA (51,72). Certains auteurs trouvent également que l'association la plus fréquente est celle avec *Giardia intestinalis* (8,11).

Les oocystes de *C. parvum* sont également recherchés dans les aspirations duodénales (9,10). En effet dans notre étude nous en avons mis en évidence dans 9 aspirations (60%) par la technique de IFD.

7.2.2 L' isosporose.

Tout comme la cryptosporidiose, on assiste dès 1981 à l'émergence de l'isosporose au cours du SIDA (6,9,31).

Dans notre travail, nous retenons 1 cas d'isosporose associée à la cryptosporidiose chez les 24 sujets atteints de diarrhée au cours du SIDA soit 5,56%. Cette prévalence est comparable à celle des études précédentes faites à Bamako. TRAORE et al. en 1991 ont obtenus en milieu hospitalier à Bamako un taux de 9,9% pour l'isosporose chez des sujets VIH positif. La même prévalence (9,9%) a été obtenu par SAUDA et al. en 1993 au Bresil. PICHARD et al. font état de 3 cas d'isosporose chez 60 adultes hospitalisés pour diarrhée au cours du SIDA en 1990, soit une fréquence de 5% au Mali à Bamako (62).

La fréquence de l'isosporose atteint 15% dans une population de malades haïtiens résidant aux USA (9,63). A Bujumbura, AUBREY trouve 12 cas d'isosporose chez 83 adultes atteints de diarrhées au cours du SIDA, soit 14,46% (6).

En République Centrafricaine, BELEC et al. rapportent 4 cas d'isosporose chez 40 sujets diarrhéiques au cours du SIDA (7). La fréquence de la maladie au cours du SIDA est de 9% au Congo, 13% en Ouganda, 16% en Haïti et 7 à 21,60% au Zaïre (36), 16,2% en République de Côte d'Ivoire (41). En France COTTE et al. trouvent 2% d'isosporose chez 148

malades atteints de diarrhée et infectés par le VIH (17).

Cette fréquence de l'isospore au cours du SIDA est plus faible au Mali que celle observée en République Centrafricaine au Burundi, en République de Côte d'Ivoire, en Ouganda, en Haïti et au Zaïre en 1989 (36). La faible prévalence de l'isospore pourrait s'expliquer par la sensibilité particulière du parasite aux antibiotiques couramment utilisés chez les sidéens (31, 44,60).

L'isospore a été classée en Juin 1985 par le CDC (Center for Disease Control) d'Atlanta parmi les infections dont la survenue permet d'évoquer le diagnostic du SIDA et de demander une preuve immunologique et/ou virologique (38).

Les auteurs de Côte d'Ivoire (41) décrivent les associations suivantes au cours du SIDA: avec *Cryptosporidium sp* (6,7%), *Trichomonas intestinalis* (6%), *Entamoeba coli* (8,8%), *Strongyloïdes stercoralis* (12%), et *Necator americanus* (14%)(41). L'associations retrouvée dans notre série est avec *Cryptosporidium sp*(5,56%).

7.2.3 La microsporidiose

Les microsporidies ont été détectées chez 14,3% de nos malades atteints de SIDA et la seule espèce identifiée en microscopie électronique est *Enterocytozoon bienesi*. Cette espèce serait donc plus fréquemment détectée qu'*Encephalitozoon intestinalis* chez les sujets infectés par le VIH. En effet ASMUTH et al. en 1994 trouvaient que *E.bienesi* était responsable de 78% des microsporidioses chez les sidéens (5). Des résultats similaires ont été obtenus par FIEL et al. en Australie en 1993 (29). Sa prévalence est de 2% en France dans la population de sidéens (17).

Il faut souligner qu'aucune donnée n'est disponible actuellement au Mali sur la microsporidiose.

La prévalence réelle de la parasitose reste difficile à cerner en raison de sa découverte récente, de ses difficultés diagnostiques et de la possibilité d'un portage sain (la majorité des études portent sur des patients diarrhéiques chroniques) (67). Les différentes séries publiées en Occident retrouvent une microsporidiose associée à une diarrhée chronique jusqu'alors inexplicée dans 10 à 50% des cas (13,54). A Amsterdam la fréquence de la microsporidiose dans la populations sidéens diarrhéiques était de 27% en 1993(75).

7.2.4 La cyclosporose

Une nouvelle coccidie appartenant au genre *Cyclospora* a été décrite récemment chez l'homme, *C.cayetanensis*, en association avec un syndrome diarrhéique, dans différents pays: Mexique, Haïti, Népal, Etats-Unis, Inde, Cambodge, Iles du pacifique (61). Des observations sont décrites chez des patients infectés par le VIH. La diarrhée due à *cyclospora* est rapidement résolutive chez les sujets immunocompétents, prolongée et grave chez les malades VIH positif au stade de SIDA(52,81).

La majorité des cas de cyclosporose sont rapportés dans les pays en voie de développement et chez des voyageurs de retour des zones tropicales (81). Nous n'avons pas détecté de cas de cyclosporose mais quelques oocystes de *C.sp* nous paraissaient suspects.

En effet les premiers cas décrits au USA et en Grande Bretagne concernaient des voyageurs venant d'Haïti, du Mexico, de Guatemala, de Porto Rico, du Maroc du Pakistan de l'Inde et d'Island(81).

HOGGE et al. ont trouvé en 1992 au Nepal 11% de cycloporose chez des patients atteints de diarrhées (34). Plus de 7% des immigrants américains au Bathmandu étaient infectés par *C.cayetanensis* en 1992.

En 1993 ORTEGA et al. ont rapporté dans deux études en Perou 6% et 8% la fréquence respective de *C.cayetanensis* chez des enfants(59).

La plupart des études trouvent que la cryptosporidiose, l'isosporose et la microsporidiose à *Enterocytozoon bienewisi* sont fréquentes chez les sidéens dans les pays en voie de développement (24,40,76).

Nous constatons à travers ces diverses études que la cryptosporidiose est la plus fréquente des trois affections étudiées. Ceci est également retrouvé par d'autres équipes en Afrique et dans le monde. PAPE et al. 1994 étudiant 804 patients séropositifs à Haïti ont identifié 30% de cryptosporidiose et 12% d'isosporose. CHACIN-BONILLA et al. 1992 ont trouvé avec 41.3% que *Cryptosporidium* est très répandu chez les sidéens au Vénézuéla(15). ADAL et al. en 1995 notent que 24% des patients VIH positifs avec diarrhées dans les pays en voie de développement sont infectés par *Cryptosporidium* (1).

7.3 Comparaison des techniques de diagnostic

Par une approche appropriée nous avons comparé les valeurs diagnostiques de la technique de Henricksen et Pohblenz à celles de

l'immunofluorescence directe appliquées sur les selles et les aspirations duodénales.

Nous avons trouvé que la technique de l'IFD est la plus sensible des techniques de diagnostic de la cryptosporidiose. Le même résultat est obtenu par TEE GH et al à Londres en 1993 qui ont trouvé que la technique de l'IFD était plus sensible que celle de Henricksen et Pohblenz pour le diagnostic de la cryptosporidiose. Par contre WEITZ et al. en Espagne en 1993 trouvaient que la technique de l'IFD n'est pas meilleure à celle de Henricksen et Pohblenz pour le diagnostic de *C.parvum* (78). De nombreux auteurs recommandent la technique de Henricksen et Pohblenz comme technique de diagnostic sensible et spécifique des cryptosporidioses (19,21,25,28,62).

La technique de Henricksen et Pohblenz nous a permis de détecter le maximum de cas d'isospore, cela concorde avec les résultats de PAPE et al. en 1991 au Etats Unis d'Amerique (60).

7.4 L'essai clinique de la NTZ

Cet essai clinique en phase II étant la première du genre au Mali nous a donné des résultats satisfaisants sur les protozoaires *C.parvum*, *I. belli*, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* le platode *Hymenolepis nana*, les nematodes, *Ascaris lumbricoides* et le platode *Dicrocoelium aepes*. La Nitazoxanide n'a pas eu d'effet sur *Necator americanus* et *Strongyloides stercoralis*. La Nitazoxanide a été efficace sur *Hymenolepis nana* à 90% dans l'étude de ROSSIGNOL et MAISONNEUVE en 1984 en France chez les enfants et les adultes avec la dose de 45mg/kg poids (66).

Cette molécule n'a pu être testée sur les microsporidies dans notre étude. En effet nous n'avons identifié que *Enterocytozoon bienewisi* la plus fréquence des microsporidies et qui jusqu'à présent ne répond à aucun traitement adéquat surtout sur un terrain immunodéprimé (54,61,79).

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

8. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Dans notre étude les fréquences des parasitoses intestinales opportunistes chez les sidéens sont de 58,33% pour la cryptosporidiose; 4,17% pour l'isosporese et 14,2% pour la microsporidiose.

Au Mali, la meilleure technique de detection des oocystes de *C.parvum* dans les selles et les aspirations duodénales est la technique de l'Immunofluorescence Directe. La technique ideale de detection des oocystes de *I. belli* dans les selles est celle de Henricksen et Pohblenz.

Dans le groupe des patients infectés par *C.parvum* seul, 6 (85,7%) n'éliminaient plus d'oocystes dans les selles après le traitement avec la nitazoxanide à la dose de 2 comprimés de 500mg par jour pendant 7 jours consécutifs. Par contre seulement 3 cas parmi les polyparasités ont présenté des selles négatives après le traitement soit 42,8%; les parasites associés à ces cas étaient *G.intestinalis*, *E. histolytica*, *A.lumbricoides*, *H.nana* et *D.aepes* .

La nitazoxanide n'a pas eu d'effet sur *Necator.americanus* et *Stongyloïdes.stercoralis*. Le seul cas d'isosporese a été efficacement traité.

Ces résultats nous permettent de formuler les recommandations suivantes:

- poursuivre ce travail en traitant beaucoup plus de cas de cryptosporidiose et d'isosporese chez les sidéens avec la nitazoxanide et dans les autres centres hospitaliers du Mali (Essai clinique phase III)
- poursuivre les recherches sur d'autres agents étiologiques de diarrhées chez les sidéens notamment les microsporidies et une nouvelle coccidie: le genre *cyclospora* au Mali.
- faire l'essai clinique de la nitazoxanide également sur *cyclospora* et les microsporidies.

RESUME

Nom : KASSAMBARA

Prenom : LALLA

Titre de la thèse :

Les infections parasitaires digestives chez les sidéens à l'hôpital du point G : Interêt thérapeutique de la Nitazoxanide.

Année de soutenance : 1996-1997

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Secteur d'intérêt : Parasitologie (opportunistes du SIDA).

9. Résumé

Nous avons étudié de 1994 à 1995 l'épidémiologie des protozooses intestinales opportunistes du SIDA dans la population de sidéens de l'hôpital national du point G. En même temps nous avons évalué l'efficacité thérapeutique de la Nitazoxanide contre ces parasites et les valeurs diagnostiques des techniques actuellement utilisées.

Les prévalences obtenues chez les sidéens sont de 58,33% pour la cryptosporidiose; 4,17% pour l'isosporese et 14,2% pour la microsporidiose. Il ressort de cette étude que les techniques de choix pour le diagnostic sont l'immunofluorescence directe dans le cas de la cryptosporidiose et de la méthode de Henricksen et Pohblenz dans celui de l'isosporese.

En ce qui concerne le traitement par la Nitazoxanide à la dose de 1000mg/kg pendant 7 jours les résultats obtenus sont satisfaisants. En effet dans le groupe des patients infectés par *C.parvum*, 6 (85,7%) n'éliminaient plus d'oocystes dans les selles et 3 cas de polyparasitisme avaient été guéris. Les parasites associés dans ces derniers cas étaient *G.intestinalis*, *E. histolytica*, *A.lumbricoïdes*, *H.nana* et *D.aepes* . Le seul cas d'isosporese a été efficacement traité. La nitazoxanide semble inefficace sur *Necator.americanus* et *Stongyloïdes.stercoralis*.

9. Summary

From 1994 to 1995 we have studied the epidemiology of intestinal protozoosis in AIDS patients from Hospital Point G at Bamako, Mali. We also evaluated the diagnostic values of the usuals techniques for diagnostic and the efficacy of Nitazoxanide, a new nitrothiazole derivative again these protozoa.

Among the AIDS patients, *Cryptosporidium parvum* was detected in 14 (58%) while *Isospora belli* was observed in only one patient (4,17%), and *Enterocytozoon bieneusi* was detected in 3 (14,2%).

Direct immunofluorescence for the oocyst was the best technic for *C.parvum* diagnostic, Wherease for *Isospora belli* it was the Henricksen and Pohblenz method.

Nitazoxanide was administered to 18 AIDS patients (500mg/kg twice a day for 7 consecutive days). *C. parvum* was eliminated from the feces in 6 of 7 (85,7%) patients with single infection and 3 of 7 with mixed infections. The patient with *I. belli* in association with *C.parvum* was also cured. In patients with mixed infections, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana* et *Dicrocoelium aepes* were eradicated but not *Necator americanus* and *Stongyloides stercoralis*.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

10. BIBLIOGRAPHIE

1. Adal K A, Kress K, Petri W A JR et al.
In infection of the gastrointestinal Tract (Blaser. M.) et al, eds, 1107-1128,
Rav Press 1995

2. Albert M J, Kabir I, Azim T, Hossain A, Ansaruzzaman M, Unicomb L.
Diarrhea associated with *Cyclospora Sp.* in Bangladesh.
Diag Micro and Inf dis. 19(1):49-9, 1994 May.

3. Alvarez P, Datry A.
Traitement des parasitoses au cours de l'infection à VIH: in SIDA infection à VIH. Aspects en zone tropicale/ROSENHEIM. M, ITOUA-NGAPORO. A. ELLIPSES/AUPELF. ed: Paris.1989. P299-302.

4. Arnaud-Battandier F.
Parasitoses, infections chroniques et déficits de l'immunité: in Gastroenterologie. Flammarion. ed: Med-sci; 1986, P 281-288

5. Asmuth D M, De Girolami P.C, Federman M. et coll. - Clinical features of microsporidiosis in patients with AIDS. *C.I. D*, 1994, 18,819-825.

6. Aubry P, Bigirimana F, Ndabaneze E, Kaden Ndayiradive E, Kamadu G, Nikoyagize E, Floch J J, Mpfizi B, Laroche R.
Aspects cliniques du syndrome d'immunodéficience acquise de l'adulte à Bunjumbura (Burundi): A propos de 300 cas observés en 2 ans 1987 à 1989. *Méd'Afr N*: 1990; 37(10).

7. Bellec L, Gerges M C, Courbot, Bourée P, Dicostanzo B, Gresenghet G, Georges A J.
Aspects étiologiques et thérapeutiques des diarrhées associées à l'infection VIH en RCA *Med Chirg Dig* 1990. 19; 415-419.

8. Bonnin A, Camerlynk P.

Cryptosporidiose Humaine: Aspects épidémiologiques et cliniques.
Med Mal infe. 1989, 19; 1, 35- 41

9. Bories C, Salmeron M, Medigliani R.

Diarrhée et Syndrome d'Immunodéficience Acquis
Gastr clin biol; 1985, 9; 354-360.

10. Bourée P.

Une nouvelle parasitose intestinale: la cryptosporidiose. *Med Chirg Dig*
1985, 14; 669-670.

11. Bourée P.

La cryptosporidiose. Encyclopedie Medicale , *Chirg Mal inf.* 8084. A¹⁰
1987; 4p.

12. Brandonisio O, Maggi P, Panaro M A, Bramante L.A. Di Coste A, Angarano G.

Prevalence of cryptosporidiosis in HIV-infected patients with diarrhoeal illness. *Eur J Epi.* 9(2):190-4, 1993 Mars.

13. Canning E U, Hollister W S.

Enterocytozoon bienersi (*Microspora*): prevalence and pathogenicity in AIDS patients. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* (1990) 84, 181-186.

14. Cavier R.

Efficacy of ph.5776 against *trichomonas vaginalis*, *Entamoeba histolytica*, *Syphacia obvelata*, *Hymenopsis nana* and *Biomphalaria glabrata*. Data on file.

15. Chacin-Bonilla L, Guanipa N, Cano G, Raleigh X, Quijada L.

Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome in Zulia State, Venezuela.

Am J Trop Med Hyg; 47(5): 582-6, 1992 Nov

16. Colon C P, Pinchin AJ, Perera C U, Moody A, Luo N.P, Lucas S B. HIV-related enteropathy in Zambia: a clinical microbiological and histological study. *Am J Trop Med Hyg*, 1990 ; 42, 229-236.
17. Cotte L, Rabodonirina M, Piens M A, Peneard M, Mojon M, Trepo C. Prevalence of intestinal protozoa in French patients infected with HIV. *J Acq im Def Syn*, 6(9): 1024-9, 1993 Sep.
18. Current WL, Garcia LS. Cryptosporidiosis. *Clin Micr Rev*, 4(3):325-58, 1991 Jul.
19. Datry A. Diagnostic des parasitoses et mycoses : in *SIDA. Infection à V.I.H, Aspects en zone tropicale*. Rosenhein M, Itoua Ngaporo A, Ellipses/AUPELF.ed: Paris . 1989. 218-225
20. Debra A, Benator MD, Aubrey L, French M.D, Lisa M, Beaudet MD, Charles S, Levy MD, And Jan M, Orenstein MD
Isospora belli Infection Associated with Acalculous Cholecystitis in a patient with AIDS. *An Int Med*, 1994; 121:663-664.
21. Deluol A M, Cenac J, Matheron S, Marce C, Savel J. Diagnostic biologique des parasitoses opportunistes: *Annal de Biol Clin* 1984. 42. 399-405.
22. Deraedt S, Molina J M. Les microsporidioses en pathologie humaine. *Méd Mal Inf*. 25; 570-6. 1995
23. Desvignes H. In vitro antibacterial and antifungal activity of ph.5776. Data on file
24. Drobniowski F, Kelly P, Carw A, Ngwenya B, Luo N, Pankhurst C, Farthinf M.. Human microsporidiosis in African AIDS patients with chronic diarrhea. *J Inf Dis*, 1995 171, 515-516.

25. Dumond H, Herin P, Gilly S, Franck J, Gamberelli F, Quilici M. Diagnostic biologique des parasitoses opportunistes. *Feu Bio*, 1990, 1, 31, 173, 27-34.
26. Duong T H, Kombila M, Dufillot D, Richard-Lenoble D, Owono Medang M, Martz M, Gendrel D, Engohan E, Moreno J L. Place de la cryptosporidiose chez l'enfant au Gabon. Resultats de deux enquêtes prospectives. *Bull soc Pat Exo*. 84:635-44, 1991.
27. Euzeby J, Promtep S, Rossignol J F. Experimentation des proprietes anthelminthiques de la nitazoxanide chez le chien, le lechat et ovins. *Rev Med vet*. 1980; 131=687-696.
28. Fauchere V, Jary D, Brunel M, Rioux J A. Enquête réalisée en 1988 auprès des laboratoires de parasitologie sur l'incidence des examens liés à l'infection VIH. *Méd Mal Inf* 1991, 21. 738-745.
29. Field A S, Canning E U, Hing M C, Verre J, Marriot D J. *Microsporida* in HIV infected patients in Sidney, Australia: a report of 37 cases, a new diagnostic technique and the light microscopy and ultrastructure of a disseminated species. *AIDS*, 7(Suppl. 3), S27-S33. 1993.
30. Gari-Toussaint M, Marty P, LeFichoux Y, Pesce A, Saint-Paul C. Cryptosporidiose intestinale et pulmonaire temporairement asymptomatique chez un sidéen. *Med Mal Inf*. 1988. 11 843-844.
31. Gellin B G, Soave R. Coccidian infections in AIDS. Toxoplasmosis, cryptosporidiosis and isosporiasis. *Med Clin N Am* 76(1):205-34, 1992 Jan.
32. Godeberge P H, Godeberge G. Manifestations digestives au cours du SIDA: attitude pratique. *conc Méd*. 1992 18. 04. 114.

33. Guirard P M, Marche C, Maslo C.

Les manifestations digestives au cours du Syndrome d'immunodéficience acquise. *An Méd Int* 1987, 138, 411- 415.

34. Hoge C W, Shlim D, Scholes J V, Rajah R.

Epidemiologie of diarrhoeal illness associated with coccidian-like organism among travellers and foreign residents in Nepal.

Lancet 1993; 119: 377-82

35. Huang P, Weber J T, Sosin D M, Long E G, Murphy J J, Kocka F,

Peters C, Kallick C, The first reported outbreak of diarrheal illness associated with *Cyclospora* in the United States. *An Int Med*, 123(6): 406-14, 1995 Sep 15.

36. Itoua-Ngaporo A.

Manifestations digestives au cours du SIDA. *Infection à VIH, aspects en zone tropicale.*/Rosenheim M, Itoua-Ngaporo A, edition ellipses/Aupelf. Paris. 1989.

37. Katlama C.

Aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques de l'infection à VIH *Méd Mal Inf.* 1989-spécial Avril-234-240.

38. Katlama C.

Infections parasitaires au cours du SIDA en Afrique. SIDA et Infection par VIH/Luc Montagnier, Rozenbaum.W, Gluckman.J.C. Flammarion ed: *Méd-sc Pparis* 1989.

39. Keita F.

Comtribution à l'étude épidémiologique de la cryptosporidiose et l'isosporese au Mali. *Thèse de Doctorat en Médecine:* Bamako, 1991.

40. Kelly P, McPhail G, Ngwenya B. et al .

Septata intestinalis: a new microsporidium in Africa. *Lancet*, 344, 271-272. 1994

41. Koffi-Akoua G, Therizol-Ferly-M, Kouassi-Beugre M T, Timité-Konan A M, Assidou J, Assale G.

Incidence de la cryptosporidiose et des candidoses dans les diarrhées infantiles: étude de 104 enfants âgés de 0 à 4 ans hospitalisés dans le service de Pédiatrie du CHU de Coccody. *Publ Med Afr* 100. 157.

42. Kotler D P.

Gastrointestinal manifestation of immunodeficiency virus infection. *Adv. Int Med*, 40, 197-241. 1995

43. Kwa B H, Vickery A, Rossignol J F.

Efficacy of Nitazoxanide against experimentally infected nude mice by *Cryptosporidium parvum* 1994 (in preparation).

44. Levine GI.

Parasitic diseases. Diseases associated with acquired immunodeficiency syndrome. Primary Care; *Clin Off Prat.* 18(1): 129-52, 1991 Mars.

45. Lucas S B, Papadaki L, Conlon C, Sewankambo N, Goodgame R. and Serwadda D. 1989. Diagnosis of intestinal microsporidiosis in patients with AIDS. *J Clin Para*, 42, 885-887.

46. Lumb R, Hardiman R.

Isospora belli infection. A report of two cases in patients with AIDS. *Med J Aus.* 155(3): 194-6, 1991 Aug 5.

47. Maggi P, Brandonisio O, Larocca AM, Rollo M, Panaro M A, Marangi A, Marzo R, Angarano G, Pastore G.

Cyclospora in AIDS patients: not always an agent of diarrhoic syndrome. *Microbiologica.* 18(1): 73-6, 1995 Jan.

48. Mata L.

Les cryptosporidies. *Diarr-Dial.Comp* N°s 17 à 27. Avril 1989 ORANA.

49. Matheron S. Guirard P.M.

La cryptosporidiose. *Conc med*, 23(05):109-20.

50. Mengesha B.

Cryptosporidiosis among medical patients with the Acquired immunodeficiency syndrome in Tikur Ambessa Teaching Hospital, Ethiopia. *East Afr Med J*. 71(6):376-8, 1994 Jun.

51. Minta D.

Contribution à l'étude des diarrhées infectieuses chez les adultes à Bamako: place de *Cryptosporidium sp*, *d'Isospora belli* et du SIDA. *Thèse de Doctorat en Médecine*: Bamako 1990.

52. Molbak K, Aaby P, Hojlyng N, da Silva AP.

Risk factor for *cryptosporidium* diarrhea in early childhood: a case-control study from Guinea-Bissau, West Africa. *Am J Epi*, 139(7):734-40, 1994 April 1.

53. Molbak K, Hojlyng N, Gottschau A, Sa J C, Ingholt L, da Silva AP.

Cryptosporidiosis in infancy and childhood mortality in Guinea Bissau, *W Afr BMJ*. 307(6901):417-20, 1993 Aug 14.

54. Molina J M, Sarfati C, Beauvais B, Lémann M, Lesourd A, Ferchal F, Casin I, Lagrange Ph, Modigliani R, Derouin F, Modäi J.

Intestinal microsporidiosis in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic unexplained diarrhea: prevalence, clinical and biological features. *J Inf Dis*, 1993, 167, 217-221.

55. Moura H, Hirschfeld M P, Brasil P, Sodre F C, Palhares M C A..

Microsporidiosis among AIDS patients in Brasil: preliminary results. *Folia Parasitologica*, 1993 40, 251-252.

56. Murphy J, Friedmann J C.

Preclinical toxicology of nitazoxanide a new antiparasitic compound. *J app tox*, 1985; 5: 49 52.

57. Normand D L.

Veterinary Protozoology. Ed. *Iowa State Univ Press-Ames*. First edition. 1985. 123-213.

58 Ooi W W, Zimmerman SK, Needham CA.

Cyclospora species as a gastrointestinal pathogen in immunocompetent hosts. *J Clin Micro*. 33(5): 1267-9, 1995 May.

59. Ortega Y R, Sterling C R, Gilman R H, Cama V A, Diaz F.

Cyclospora species- a new protozoan pathogen of humans. *New Engl J Med*. 328(18):1308-12, 1993 May 6

60. Pape J W, Verdier R L, Boncy M, Boncy J, Johnson W D Jr.

Cyclospora infection in adults infected with HIV. Clinical manifestations, treatment, and prophylaxis. *An Int Med*. 12(9):654-7, 1994 Nov 1.

61. Parasitologie Mycologie

nouvelle édition 96/97 p265-275, 278-282.

62. Pichard E, Doumbo O, Minta D, Traore H. A.

Place de la cryptosporidiose au cours des diarrhées chez les adultes à Bamako. *Bull Soc Path Exo* 1990, 80, 473-478.

63. Rene E, Chevalier T, Ruzniewskip P, Vallot T, Rigaud D, Mignon M, Bonfil S.

Immunodeficiency acquired, congenital and pathology of the digestive tube. *Enc Med chirg EST* 4. 9080c 10. 7. 1987.

64. Robinson R D.

Parasitic infections associated with HIV/AIDS in the Caribbean. *Bull Pan Am Heal Org* 29(2): 129-37, 1995 June.

65. Rossignol J F, Cavier R.

New derivatives of 2-benzamido 5-nitrothiazoles. *US pat* No 3,950-351. April 13, 1976.

66. **Rossignol J.F, Maisonneuve H.**

Nitazoxanide in the treatment of *Taenia saginata* and *Hymenolepis nana*.
*Am J Trop med Hyg.*1984

67. **Sauda F C, Zamarioli L A, Ebner Filho W, Mello L de B.**

Prevalence of *Cryptosporidium sp.* and *Isospora belli* among AIDS patients. *J Para.* 79(3): 454-6, 1993 Jun.

68. **Sixdenier Fabienne**

Physiopathologie et anatomopathologie des coccidioses intestinales
(Isosporose, Cryptosporidiose, Microsporidiose)
Maitrise de Science Biologique et medicales C2 Parasitologie spécialisée
P: 1-12, Mai 1993.

69. **Smith P D, Lane H C, Gill V J.**

Intestinal infections in patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). Etiology and response to therapy. *An Int Med* 1988, 108, 328-333.

70. **Suzuki H U, de Morais M B, Medeiros E H, Do Corral J N, Fagundes-Neto U.**

Diagnostic limitations of the isolation of trophozoites of *Giardia lamblia* in duodenal aspirates.
Arq gast. 31(2):69-74 Apr-Jun.

71. **Tee G H, Moody A H, Cooke A H, Chiodini P L.**

Comparison of techniques for detecting antigens of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in faeces.
J Clin Path. 46(6):555-8, 1993 Jun.

72. **Therizol-Ferly M, Tagliante-saracino J, Kone M, konan A.B, Ouhon J, Assoumou A, Aka. K, Assale G.**

Diarrhée chronique et parasitoses chez les adultes suspects de SIDA en Côte d'Ivoire. *Publ med Afr* 1985 100, 158.

73. Topazian M, Bia F J

New parasites on the block: emerging intestinal protozoan.
Gastroenterologist. 2(2): 147-59, 1994 Jun

74. Traoré F T, Doumbo O, Diakité M, Traoré H A, Kassambara L, Maiga M, Pichard E, Diallo A et Guindo A.

La cryptosporidiose et l'isosporose chez les adultes atteints de diarrhées au Mali. *Mali Médicale*: 1995, 10 (3-4).

75. Van Den Bergh Weerman M A, Van Goll T Eeffinck Schattenkert J K, Dingeman K P.

Electron microscopy as an essential technique for the identification of parasites in aids patients.

Eur J Morph. 31(1-2): 107-10, 1993 Mars-Jun.

76. Van Gool T, Luderhoff E, Nathoo K, Kiire C f, Dankert J, Mason P.R.

1995. High prevalence of *Enterocytozoon bienersi* infection among HIV-positive individuals with persistent diarrhea in Harare, Zimbabwe. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*, 89, 478-480.

77. Weber R, Deplazes P.

New parasitic diseases in man: infection caused by *Microsporidia* and *Cyclospora* species. *J Sui Med* 125(18): 909-23, 1995 May 6.

78. Weitz J C, Astorga B.

Cryptosporidium parvum in patients with chronic diarrhea and AIDS: diagnosis by means of indirect immunofluorescence with monoclonal antibodies.

Rev Med Chile. 121(8): 923-6, 1993 Aug.

79. Wery M, Paskoff S, Janssens P.G, Gentilini M.

Protozoologie médicale

Agence francophone pour l'enseignement et la recherche D/1995/007/030
p 179-213

80. WHO

Memorium from a WHO meeting. persistent diarrhoea in children in developing countries. 1988, 66, 709-717.

81. Wurtz R.

Cyclospora: A Newly Identified Intestinal Pathogen of Humans
Clin Inf Dis 1994; 18: 620-3

82. Zerpa R, Uchima N, Huicho L.

Cyclospora cayetanensis associated with watery diarrhoea in Peruvian patients. *J Trop Med Hyg.* 98(5): 325-9, 1995 Oct.

FICHE D'ENQUETE PROTOCOLE NITAZOXANIDE

No____/

Nom_____/Prenom_____/ Service_____/

Age_____/ Sexe_____/ Ethnie_____/Profession_____/

Residence_____/ Situation matrimoniale_____/

Adresse_____/

Date d'entrée à l'hôpital_____/

Histoire de la maladie

Traitement reçu

Examens parasitologiques	J0	J7	J14
Selles			
Direct/Ritchie			
Kato			
Henricksen/Pohblenz			
IFD			
Aspiration			
Direct			
IFD			

Evolution

Date de sortie

Diagnostic de sortie

Ministère des Enseignements
Secondaire, Supérieur et de la
Recherche Scientifique.

République du Mali
Un Peuple, Un But, Une Foi

Ecole Nationale de Médecine
et de Pharmacie du Mali.

0 0 0 0 0 2

Président du Comité d'Ethique
Prof. Boubacar S. CISSE
Toxicologue

Au

Prof. Ogobara DOUMBO
Professeur de Parasitologie
Chercheur Principal du Projet
au Mali.

Cher Professeur et Collègue,

J'ai le plaisir de vous annoncer que votre Projet de recherche sur la Nitazoxanide dans le traitement de la Cryptosporidiose (Study Protocol N0 302) a été enregistré au niveau du secrétariat du comité d'éthique institutionnel de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie, sous le n0 002/95.

Après examen par les membres du comité à la séance ordinaire de revue de projet sur le plan éthique le 13 janvier 1995.

Le comité a décidé de vous autoriser à entreprendre vos activité de recherche en lui signifiant par écrit la date de début et de fin des travaux.

Par ailleurs le comité vous demande de traduire l'intégralité du protocole en français et l'adresser au moins deux copies au secrétariat du comité.

En souhaitant plein succès à vos activités de recherche pour le bonheur des populations bénéficiaires, je vous adresse cher Professeur et collègue, tous les encouragements des membres du comité d'éthique de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali.

Bamako le 23 janvier 1995.

Professeur B. S. CISSE

Président du Comité d'Ethique/ENMP.



SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la faculté des conseillers de l'ordre des pharmaciens et des condisciples:

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les preceptes de mon art et de leur témoignage; ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs, et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois couvert d'opprobre et mépriser de mes confrères si j'y manque.