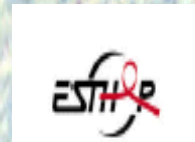


MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
UN PEUPLE UN BUT UNE FOI



FACULTÉ DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET
D'ODONTOSTOMATOLOGIE



Année universitaire 2009-2010 N° 238

THÈSE

DIAGNOSTIC DE LA MICROSPORIDIOSE CHEZ LES PATIENTS VIH DIARRHÉIQUES À BAMAKO (MALI)

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE SAMEDI 13 MARS 2010
DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PHARMACIE ET
D'ODONTOSTOMATOLOGIE PAR :

M. Aboudramane BATHILY

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE (DIPLÔME D'ÉTAT)

JURY

Président du jury : Pr. Ogobara K. DOUMBO

Membre : Dr. Abdoulaye A. DJIMÉ

Co-directeurs de Thèse : Dr. Boubacar TRAORÉ
Dr. Mouctar DIALLO

Directeur de Thèse : Pr. Ag. Amagana DOLO

ANOFEL



**CETTE THÈSE A BÉNÉFICIÉ DU
FINANCEMENT DU PROGRAMME ENSEMBLE
POUR UNE SOLIDARITÉ THÉRAPEUTIQUE
HÔPITALIÈRE EN RÉSEAU (ESTHER)**

EPIGRAPHE

« Même si notre travail est couronné du plus grand succès, nous n'avons aucune raison de nous en glorifier. On fait des progrès quand on est modeste, tandis que l'orgueil fait retomber en arrière : gardons toujours cette vérité présente à l'esprit. »

Mao Tsé Tsoung

A ALLAH,

Louange et gloire à Toi, qui nous as permis de lire en Ton Nom, qui nous as enseigné ce que nous ne savions pas.

Point de Dieu en dehors de Toi L'unique sans associé. A Toi la royauté, la suprême louange. Gloire à Toi, Le loué, Le plus grand, point de force ni de puissance en dehors de Toi.

Seigneur accroit nos connaissances, n'égare pas nos cœurs après les avoir guidés. Donne nous une part dans ce bas monde et dans l'au-delà.

Nous implorons Ta miséricorde pour les fautes que nous avons commises et que nous aurons à commettre de manière volontaire ou involontaire.

Nous Te prions de nous guider sur le chemin de ceux que Tu as comblés de Ta grâce et non des égarés, et de nous gratifier de Ton paradis.

A MUHAMMAD (Paix et Salut de Dieu sur Lui),

Tu es le Prophète de l'ISLAM, la religion que nous avons embrassée. Nous demandons à Dieu de faire de nous les élus de ta communauté le jour du jugement dernier.

DEDICACES

A mon père El Hadj Saloum BATHILY,

Nous t'appelons affectueusement BABA.

Dès notre plus jeune âge, tu nous as inculqué l'amour de la religion, le courage dans tout ce que nous entreprenons. Tu n'as ménagé aucun effort pour que nous puissions mener à bien nos études.

Merci pour la confiance que tu me portes, et trouves en cette occasion toute ma reconnaissance, mon dévouement et ma profonde affection.

Qu'ALLAH te garde encore longtemps auprès de nous, et qu'Il te réserve Son paradis.

A ma maman Feue Mariam TAMBADOU dite matougouné,

Soninké, j'étais prédestiné à devenir commerçant ou un aventurier, mais par ta détermination tu as été celle qui a guidé mes premiers pas à l'école et à les maintenir jusqu'à ton départ, la rigueur dans l'éducation que tu m'as inculquée a fait le reste. A notre enfance nous avons pensé que tu étais sévère, mais avec l'âge nous avons su que c'était par amour et pour notre bonheur que tu le faisais, ne dit on pas qui aime bien châtie bien.

L'une des fructifications des efforts que tu as consentis pour nous est cette thèse de médecin.

De là où tu es maman, trouves en ce travail une fierté.

Ton petit Dramane a grandi, et sache que je t'ai aimée, je t'aime et je t'aimerai durant le reste de mon existence ; et que tu occupes une grande place dans mon petit cœur.

Qu'ALLAH t'accorde Son paradis.

A ma mère Adja Bata KANOUTE,

Tu nous aimes, éduques et conseilles sans aucune distinctions entre nous tes enfants. Tu es celle avec qui j'ai passé la plus grande partie de mon enfance à tel point que l'on pensait que tu étais ma mère biologique.

En ce jour, je te dis merci pour tout surtout pour tes bénédictions qui ne m'ont jamais fait défaut, et d'avoir été toujours à mes côtés.

Qu'ALLAH te garde encore longtemps auprès de nous, et qu'Il te réserve Son paradis.

A mes frères : Amara, Bakary, Madou, Kissima et Moussa ; mes sœurs : Niouma, Djarietou, Maïmouna, Kadidjatou, Fatoumata, Sossé, limou, Ami, Sali, Nènè et Binta (THE DREAM FAMILY),
Que de chemin parcouru, des hauts et des bas, de la joie et aussi de la tristesse, tous ces moments nous les avons partagés unis comme les doigts de la main.
Merci ne suffira pas pour la reconnaissance que je vous dois.
Cette thèse est la votre, et je prie ALLAH de maintenir la fraternité qui nous lie, de réaliser nos rêves, et de nous gratifier de Son paradis.

REMERCIEMENTS

A Salam DIAKITE et famille,

Vous avez été une famille d'accueil pour moi où je n'ai manqué de rien. Vous m'avez adopté comme votre propre enfant, et moi j'ai trouvé en cette famille un père Bouha, des mères M'ma et tantie Kadidja ; des frères Boutout, Doudou, Al Hassan et Al Houssein ; des sœurs Taïnie, Manène et Bakadidja.

Je ne saurai vous remercier pour tous les bienfaits que vous m'avez procurés ; que Dieu vous le rende au centuple et qu'Il vous gratifie de Son paradis.

A Daouda Touré et famille,

Tu fais partie des personnes qui m'ont guidé à opter pour la médecine après l'obtention du baccalauréat.

Je n'oublierai jamais les soutiens sans cesse, la joie immense que me procurent les séjours que je passe dans votre famille. Merci pour tout, que Dieu vous le fructifie et vous gratifie par son paradis.

A mes parents paternels et maternels,

Merci pour votre amour, et votre assistance. Que le paradis soit notre future résidence.

Aux habitants de la villa rouge,

Vous êtes une famille de plus pour moi, recevez en ce jour toutes mes excuses et ma gratitude, et que Dieu mette Sa baraka dans notre cohabitation.

Au grin VIP : Solo, Boutout, Prési, Dra, Djila, Barka, Papou, Stomy, Chitou, Seydou, Sall, Français, Chef de grin, Rachid, Cheick, Afro, Boss, Mosé, Sy, Oudou, Algoridez, Hamala et MC,

Cette citation de Roger Garaudy << l'enfer c'est l'absence des autres >> pour résumer toute votre importance.

Que Dieu soit l'Artisan de nos vies.

A la ``dream team C₂`` : Dino, foba, Dri, Rubino, Sember, Diaroukou, Seydou, Mahamane, Blo, Cissé, Coulmo, IB, MTK, Kalil, Namory, Castro, Ouatt, Baga, Samba, Blo rasta et Hamzy,

Nous formons l'exemple type de l'amitié. Je ne pourrai oublier tous les bons moments que nous avons passés ensemble ; entre autres les cours de cuisine, les nuits blanches d'études à l'internat, le partage des motivations lors des examens...

Nous sommes pratiquement tous des médecins ou en voie de l'être. Que la réussite qui nous a accompagnés durant notre cursus soit continuelle durant nos différentes carrières, et que Dieu réalise nos rêves d'ici bas et de l'au-delà.

A la 201 : Hawoye, Ticha, Zeïnabou, Macou, Ra, Nènè, Hawa, berthé, Django, Penda, Fanta, Djodjo et Oumou Fomba,

Notre amitié ferait revenir Jean Paul Sartre sur sa citation au sujet d'autrui << l'enfer c'est les autres >>.

Du plus profond de mon cœur, Je souhaite à vous toute une excellente carrière, et un heureux ménage avec DIEU comme Berger.

A mes enfants : Mapi, baga, ouatt, Guindo, Emma, et amis,

Que dire devant l'amour et le respect que vous me portez, la joie d'être appelé PAPA que vous me procurez, sauf vous exprimer la réciprocité de ces sentiments et vous souhaiter bonne chance pour la suite de vos études et une vie d'ici bas et dans l'au-delà heureuse.

A Ben Oumar, Sali, Maourata, Roland, Prince, Pascal, Aboubacar, Bamogo, Mamery, Al Hassane, Moussa, Arsène, Goly et aux membres du secteur A,

De l'école qui a été notre point de rencontre, nous y avons tissé des liens au-delà de l'amitié. Sachez que même si je suis actuellement loin de vous je vous porte toujours dans mon cœur. Que Le Seigneur nous assiste.

A Hawoye et famille, Ananih et famille, May et famille, Mariam et famille, Ticha et famille, Mama, Tandina, la vieille, mariam, majoie, Fatou, Yattara, Tidiane, Irène, Audrey, Fanta, Fatim, Jolie, Batoss, aïssata et Maï,

Merci pour tout l'amour, l'attention, l'affection et le soutien que vous m'accordez. Vous avez été d'un soutien dans la réalisation de ce travail, que votre récompense soit une vie pleine de bonheur.

A ma dulcinée,

J'ignore si j'ai déjà fait ta rencontre, mais je prie Dieu de mettre Sa baraka dans notre union, ainsi que dans la progéniture qu'il nous fera don ; et qu'Il fasse que nous nous aimions, chérissions, supportions dans les moments heureux comme difficiles.

Je ne suis pas facile à vivre, alors je te prie d'emblée de m'excuser pour tous les efforts que tu consentiras pour me supporter.

A l'AEEMCI, à la LIEEMA, à la grande famille RASERE, au CAB, à l'e-net, à la JCI, au ROTARACT et à l'ASP Com III,

Vous êtes une association, que dis-je une école pour moi. Recevez mes remerciements pour la formation que vous m'avez octroyée, et soyez assurés de mon entière disponibilité.

A mes Maîtres du primaire : Ecole Primaire Public (EPP) Koumassi Kankakoura II et de l'EPP lagune de l'école régionale de Treichville ; mes Professeurs du Collège Moderne de l'Autoroute de Treichville et du Lycée Classique d'Abidjan, mes Maîtres de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'OdontoStomatologie,

Merci pour le savoir que vous avez bien voulu me léguer.

Je vous en serai gré durant toute mon existence, et que vous en soyez rétribués par DIEU.

Au Directeur du DEAP/MRTC le Professeur Ogobara K.DOUMBO, son personnel et aux thésards,

Par crainte d'omettre des personnes, je tairais les noms.

La formation que j'ai reçue à vos côtés toute une vie je ne pourrai vous manifester toute ma reconnaissance.

Merci pour tout ; succès aux différentes études menées ; courage et abnégation aux thésards.

A l'unité PREMA : Dr Boubacar TRAORE, Dr KAYENTAO, Dr NIARE, Dr DOUNTABE, Dr ONGOIBA, Dr KONE, DR TRAORE, SORY, SANGARE, Ousmane, NIANGALY, BARRY, Awa, Siriki et Dia. Au Dr Mouctar DIALLO,

Depuis mon intégration dans l'unité après ma rencontre à l'aéroport d'Abidjan avec le Dr TRAORE, je n'ai cessé d'apprendre à vos côtés, et ceci dans une ambiance fraternelle.

Recevez toute ma reconnaissance et toute ma disponibilité.

Aux agents de santé des sites d'études,

Merci pour toute votre collaboration dans la réalisation de ce travail.

Aux patients,

Sans votre consentement ce travail n'aurait pu être effectué.

Recevez toute ma gratitude, et vivement qu'un vaccin puisse être découvert pour mettre fin aux maux, et à la stigmatisation dont vous souffrez.

A ceux que je n'ai pas cités,

Autant le géomètre ne pourrait démontrer qu'un cercle est un triangle, autant le médecin ne pourrait empêcher le mortel de mourir, autant je ne saurai être parfait dans cet exercice de remerciement. Cela est loin d'être une volonté délibérée de ma part. Veuillez donc m'en excuser.

REMERCIEMENT SPECIAL

AUX PARTENAIRES INSTITUTIONNELS

❖ CHU Angers

Au Professeur Eric PICHARD,
Au Professeur Dominique CHABASSE,

❖ CHU Pitié Salpêtrière

Au Professeur Marc THELLIER,
A M. Sylvestre BILIGUI,

Merci d'avoir été d'une aide précieuse à travers le programme ESTHER qui sans leur appui ce travail n'aurait vu le jour.

Profonde gratitude pour la connaissance que vous nous avez léguée.

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Professeur Ogobara K. DOUMBO,

MD, PhD ;

Professeur titulaire de parasitologie-Mycologie à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie ;

Médecin chef du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaire, (DEAP) ;

Directeur du Pôle d'Excellence de Recherche sur le paludisme, Malaria Research and Training Center (MRTC) ;

Membre correspondant de l'Académie Nationale de Médecine de France ;

Membre honoraire « Alpha Omega Alpha Honor Medical Society » des États Unis d'Amérique ;

Chevalier de l'ordre national du Mali.

Cher Maître,

Servir dans votre département est pour nous un honneur, car depuis le premier cours que nous avons reçu de vous en deuxième année de médecine sur le paludisme, nous n'avons cessé d'être émerveillés par la qualité de vos formations et par l'immensité de votre savoir dont nous ne laisserons jamais d'y bénéficier.

Cher Maître,

Merci ne suffira, pour vous témoigner toute notre gratitude.

A notre Maître et juge

Docteur Abdoulaye DJIMDE,

PharmD, PhD ;

Maître assistant en Microbiologie-Immunologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie ;

Responsable de l'Unité d'Epidémiologie Moléculaire et de la Chimiorésistance du DEAP/MRTC ;

Senior fellow EDTCP ;

Lauréat du prix de la pharmacie francophone ;

Chevalier de l'ordre national du Mali.

Cher Maître,

C'est un honneur pour nous que vous ayez accepté de siéger dans ce jury en y apportant de la valeur ajoutée.

Cela témoigne de votre engagement à servir, qui pour nous n'est pas une surprise car vous êtes membre du Rotary international.

Cher Maître,

Veillez recevoir notre profond respect.

A notre Maître et co-directeur de thèse

Docteur Mouctar DIALLO,

Msc, PhD ;

Maître assistant en parasitologie-mycologie à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Cher Maître,

Travailler avec vous a été pour nous un immense plaisir.

Votre abord facile, votre franchise sont autant de qualités que nous apprécions chez vous.

Cher Maître,

Daignez recevoir en ce jour notre profonde gratitude pour la connaissance que vous nous avez octroyée.

A notre Maître et co-directeur de thèse

Docteur Boubacar TRAORÉ,

PharmD, PhD ;

Maître assistant de parasitologie-Mycologie à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie ;

Responsable de l'unité paludisme et grossesse, et immunopathologie parasitaire du MRTC.

Cher Maître,

Les mots nous manquent pour vous signifier toute notre reconnaissance pour nous avoir acceptés dans votre unité, et pour nous avoir inculqué votre rigueur scientifique, qui ne cessera de nous fasciner.

Cher Maître,

Recevez en ce jour, toute notre reconnaissance et notre entière disponibilité.

A notre Maître et directeur de thèse

Professeur Agrégé Amagana DOLO,

PharmD. PhD ;

Maître de conférences agrégé de parasitologie-Mycologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie ;

Chef de DER des sciences fondamentales de la FMPOS.

Cher Maître,

Votre contribution à l'amélioration de ce travail a été d'une précieuse aide pour nous.

Votre simplicité, votre humour sont des qualités entre autres que nous apprécions chez vous.

Cher Maître,

Recevez en ce jour, nos sincères remerciements.

LISTE DES FIGURES

- Figure I** : spore microsporidienne (D.R. ARORA, B. ARORA, 2009) _____ **6**
- Figure II** : Cycle de développement microsporidien (Isabelle DESPORTES, 2001) _____ **10**
- Figure III** : Spores d'*E. bienewsi* colorées par la coloration trichromique de Weber (Logiciel ANOFEL 3) _____ **13**
- Figure IV** : Spores d'*E. bienewsi* colorées par l'Uvitex 2B, x1000 (C. Sarfati, ANOFEL 2005) _____ **13**
- Figure V** : Représentation généralisée de la spore microsporidienne (<http://www.palaeos.com/Eukarya/Units/Microsporidia/Microsporidia.000.html> 12/07/08) _____ **14**
- Figure VI** : *E. bienewsi*, mouse IgG2a FITC-conjugate: 1/60 et *E. intestinalis*, mouse IgG1FITC-conjugate: 1/60 (M. Thellier et S. Biligui, www.bordier.ch/Microsporidia/index.htm 18/02/09) _____ **15**
- Figure VII** : PCR (groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, 2008) _____ **17**
- Figure VIII** : Microsporidiose intestinale à *E. bienewsi*. Noter la présence de parasites en position supra nucléaire, x1000 (F. Derouin, ANOFEL 2005) _____ **17**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques morphologiques et épidémiologiques des principales espèces de microsporidies rencontrées en pathologie humaine (S.BETTENS, Louvain Med. 1999)	7
Tableau II : Caractéristiques comparées des différentes techniques diagnostiques des microsporidioses humaines (S.BETTENS, 1995 modifié)	18
Tableau III : Répartition des patients selon le sexe	29
Tableau IV : Répartition des patients selon l'âge	30
Tableau V : Répartition des patients selon le site de prescription	31
Tableau VI : Répartition des patients selon le taux de CD4	32
Tableau VII : Répartition des patients selon la prise d'ARV	33
Tableau VIII : Détermination de la fréquence de la microsporidiose chez les patients VIH par Weber	33
Tableau IX : Détermination de la fréquence de la microsporidiose chez les patients VIH par IFI	34
Tableau X : Détermination de la fréquence de la microsporidiose par site de prescription	34
Tableau XI : Répartition des patients positifs aux microsporidies selon la prise des ARV	35
Tableau XII : Répartition des patients positifs ou non aux microsporidies selon le taux de CD4	35

LISTE DES ABBREVIATIONS

A

Ac
Anticorps
Ag
Antigène
ARV
Anti Retro Viraux

C

CD
Classe de Différenciation
CESAC
*Centre d'Ecoute de Soins d'Animation
et de Conseils*
CHU
Centre Hospitalier Universitaire
Com
Commune

D

DEAP
*Département d'Epidémiologie des
Affections Parasitaire*

E

E.b = E. bienewsi
Enterocytozoon bienewsi
E.i = E. intestinalis
Encephalitozoon intestinalis
ELISA
Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EPS
Examen Parasitologique des Selles
ESTHER
*Ensemble pour une Solidarité
Thérapeutique Hospitalière En
Réseau*

G

GT
Gabriel Touré

H

HCNLS
*Haut Conseil National de Lutte
contre le SIDA*

I

IFI
Immuno Fluorescence Indirect
IO
Infections opportunistes

M

Mg
milligramme
mm
millimètre
MRTC
Malaria Research and Training Center

N

ND
non déterminé

P

PCR
Polymerase Chain Reaction
PG
Point G

R

RFLP
*Restriction Fragment Length
polymorphism*

S

SIDA
Syndrome Immuno Déficience Acquis

U

UEMOA
*Union Économique et Monétaire Ouest
Africaine*
USA
Etats-Unis d'Amérique
USAC
*Unité de Soins, d'Animation et de
Conseils*

V

VIH
Virus de l'Immuno Déficience Humaine

TABLE DES MATIERES

EPIGRAPHE.....	III
DEDICACES.....	V
REMERCIEMENTS.....	VII
REMERCIEMENT SPECIAL.....	X
HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY.....	XI
LISTE DES FIGURES.....	XIV
LISTE DES TABLEAUX.....	XV
LISTE DES ABREVIATIONS.....	XVI
TABLE DES MATIERES.....	17
I. INTRODUCTION.....	21
II. OBJECTIFS.....	25
1. Objectif général.....	25
2. Objectifs spécifiques.....	25
III. GENERALITES.....	28
1. Historique.....	28
2. Morphologie.....	28
3. Classification.....	29
4. Réservoir du parasite.....	30
5. Répartition géographique.....	32
6. Cycle biologique.....	33
7. Etude clinique.....	34
7.1 Pathogénie.....	34
7.2 Manifestations cliniques.....	35
8. Diagnostic biologique.....	36
8.1 Diagnostic Parasitologique.....	36
8.1.1 La coloration au trichrome modifiée par Weber.....	36
8.1.2 La fluorescence de Van Gool à l'uvitex 2B.....	37
8.1.3 La microscopie électronique.....	38
8.2 Diagnostic immunologique.....	39
8.2.1 Immunofluorescence Indirecte (IFI).....	39
8.2.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	40
9. Technique de biologie moléculaire.....	40
10. Examen anatomopathologique.....	41
11. Traitement.....	43

12. Prophylaxie.....	43
IV. PATIENTS ET METHODES.....	47
1. Lieu d'étude.....	47
2. Les sites d'étude.....	49
3. Type et période d'étude.....	52
4. Population d'étude.....	52
5. Echantillonnage.....	52
6. Critères d'inclusion :.....	52
7. Critère de non inclusion :.....	52
8. Collecte et analyse des échantillons.....	53
9. Problèmes éthiques.....	53
10. Gestion, analyse et saisie des données.....	54
V. RESULTATS.....	57
1. Caractéristiques sociodémographiques.....	57
1.1 Sexe.....	57
1.2 Age.....	58
1.3 Sites de prescription.....	59
2. Caractéristiques biologiques et thérapeutiques.....	60
2.1 Taux de CD4.....	60
2.2 Traitement ARV.....	61
3. Analyses descriptive des résultats parasitaires.....	61
3.1 Microsporidiose.....	61
Les patients positifs au weber étaient de 5,76%.....	61
4. Résultats analytiques.....	63
4.1 Relation entre microsporidiose et traitement ARV.....	63
4.2 Relation entre microsporidies et le taux de CD4.....	63
VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	66
VII. CONCLUSION.....	71
VIII. RECOMMANDATIONS.....	74
FICHE SIGNALÉTIQUE.....	83
IDENTIFICATION SHEET.....	84
ANNEXE.....	86
SERMENT D'HIPPOCRATE.....	94



INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

La microsporidiose est une mycose cosmopolite connue en médecine vétérinaire dont l'émergence en pathologie humaine fait suite à la pandémie du Syndrome de l'Immunodéficience Acquise (SIDA) [11;13;42].

Ils affectent aussi bien les immunodéprimés que les immunocompétents.

Ils sont responsables de nombreuses pathologies entre autres des diarrhées chroniques, des kératoconjunctivites, des kératites nécrosantes, des hépatites, des péritonites, et des mycoses.

La diarrhée aiguë ou chronique affecte gravement les patients infectés par le VIH, et les parasitoses les plus fréquemment associées à cette pathologie sont les coccidioses (cryptosporidiose, isosporose, cyclosporose) et les microsporidies (*Enterocytozoon bienewisi*, et *Encephalitozoon intestinalis* [1].

La prévalence mondiale de la microsporidiose chez les séropositifs varie de 0 à 81% [6;18;23;39;40;44;51;52].

En Afrique subsaharienne elle oscille entre 3 et 51% [5;24;26;40;48].

A Bamako au Mali la prévalence était de 32% entre 1993 et 1996 [32] et de 13,1% d'avril à Juillet 2000 [8].

L'instauration de la trithérapie Anti-Retro-Virale (ARV) dans la prise en charge des patients infectés par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) a eu un impact sur la prévalence de la microsporidiose. En effet, une étude sur l'incidence du traitement ARV sur la prévalence de la

microsporidiose chez les séropositifs dans la ville de Sydney en Australie obtenait une régression des cas, de 11% à 0% entre 1995 et 2004 [51].

Une autre étude menée en 1987 aux Etats-Unis d'Amérique (USA), trouvait qu'avant l'utilisation des ARV, les microsporidies étaient responsables de 30 à 40% des cas de diarrhées chroniques présentées par les patients infectés par le VIH [28]. En 2007 la prévalence était de 1,5% après l'instauration des ARV [18].

Depuis l'avènement de la gratuité des ARV en juillet 2004, aucune donnée n'existe sur la prévalence de la microsporidiose au Mali, il nous apparaît donc important de déterminer le profil épidémiologique actuel de la microsporidiose intestinale au niveau de Bamako.

Ce travail a été rendu possible grâce à la mise en place d'un laboratoire de diagnostic des infections opportunistes, qui a bénéficié de l'appui financier et technique du programme Ensemble pour une Solidarité Thérapeutique Hospitalière en Réseau (ESTHER).



OBJECTIFS

II. OBJECTIFS

1. Objectif général

- Evaluer la fréquence de la microsporidiose chez les patients VIH diarrhéiques dans les sites de prises en charge du VIH à Bamako.

2. Objectifs spécifiques

- Déterminer la fréquence globale de la microsporidiose, et la fréquence par site de prises en charge;
- Déterminer le taux moyen de CD4 des patients atteints de la microsporidiose intestinale ;
- Déterminer la fréquence de la microsporidiose intestinale des patients sous traitement ARV.



GENERALITES

III. GENERALITES

1. Historique

En 1857, l'espèce *Nosema bombycis* fut identifiée pour la première fois par Näegli comme responsable de la pébrine du ver à soie.

Le premier cas humain fut décrit en 1927 par Tores au Brésil.

En 1985, l'espèce *Enterocytozoon bienewisi* (Eb) fut identifiée et décrite par Desportes chez un sidéen.

En 1992, l'espèce *Encephalitozoon intestinalis* (Ei) fut identifiée par Orenstein chez un sidéen.

Depuis la pandémie du SIDA, le nombre de cas a considérablement augmenté [9].

2. Morphologie

Le caractère fondamental des microsporidies est la présence dans la spore d'un dispositif constitué par le filament polaire et ses annexes (sac polaire, polaroplaste, vacuole postérieure), dont la décharge, processus instantané, calcium dépendant, et inductible par différents facteurs, assure l'expulsion du contenu infectieux et son inoculation dans la cellule [12].

Les spores de microsporidies se distinguent par une forme ronde ou ovalaire et une taille variant de 1,5 x 0,5 à 3,7 x 3,5µm [4].

3. Classification

Ces fungi appartiennent au phylum des *microspora* regroupant plus de 1300 espèces répertoriés, réparties en 144 genres dont 8 infectant l'homme : *Encephalitozoon*, *Enterocytozoon*, *Nosema*, *Vittaforma*, *Brachiola*, *Pleistophora*, *Trachipleistophora*, et *Microsporidium* [20;57].

La définition des espèces repose surtout sur des particularités cytologiques, celles des genres et familles sur des modalités du développement ou les hôtes. En ce qui concerne la subdivision en sous-ordre, famille ou genre, elle repose surtout sur les modalités de la mérogonie et de la sporogonie, l'appariement des noyaux en diplocaryons permanent chez certaines microsporidies, jamais observé chez d'autres. Enfin chez certaines les noyaux sont appariés à la mérogonie et leur fusion précède la méiose et la production de spores haplocaryotiques [12].

Le classement des genres et des espèces de microsporidies se base essentiellement sur des critères morphologiques :

- la taille des spores ;
- le nombre de tours de spires du filament polaire ;
- l'existence ou non d'une membrane isolant le parasite lors de sa phase intracellulaire ;
- l'aspect di- ou pansporoblastique du cycle microsporidial [4].

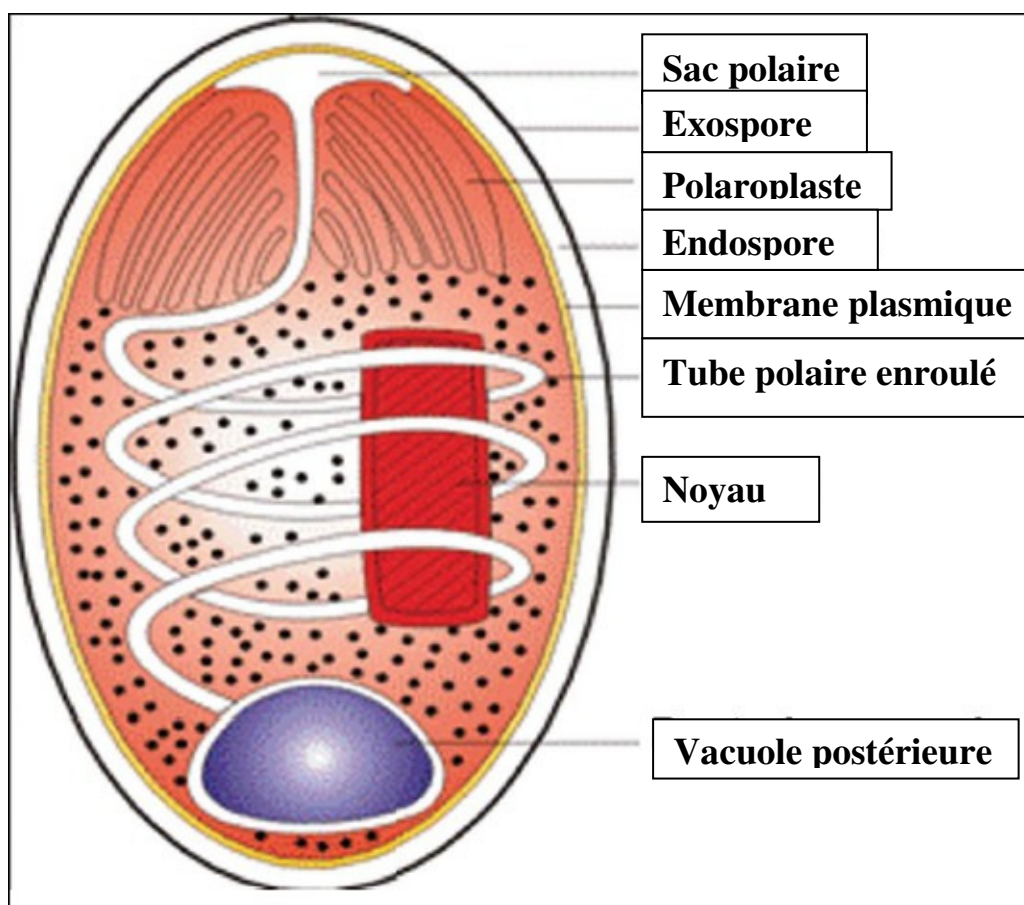


Figure I : (spore microsporidienne (D.R. ARORA, B. ARORA, 2009)

4. Réservoir du parasite

Le réservoir des microsporidies est très variés (cf. tableau 1).

Tableau I : Caractéristiques morphologiques et épidémiologiques des principales espèces de microsporidies rencontrées en pathologie humaine (S.BETTENS, Louvain Med. 1999)

Genres	Espèces	Morphologie				Réservoirs	Réservoirs	Pathologies
		Taille (µm)	MB	D ou P	FP			
Encephalitozoon	<i>cuniculi</i>	1.5 x 0.5	+	D	6	rongeurs, animaux domestiques	inhalation, contact direct, aérosol	hépatites, péritonites (ID)
	<i>hellem</i>	1.5 x 0.5	+	D	6	perruches		Kératoconjonctivites (ID)
Encephalitozoon	<i>intestinalis</i>	1.5 x 0.5	+	P	5-6	inconnu	ingestion	diarrhées chroniques, atteintes disséminées (ID)
Enterocytozoon	<i>bieneusi</i>	1.5 x 0.5	-	P	5-6	porcs, primates	ingestion	diarrhées chroniques (ID)
Nosema	<i>corneum</i>	3.7 x 1.0	-	D	5-6	insectes	?	kératites nécrosantes (IC)
Pleistophora		2.5 x 3.5	?	P	11	poissons, insectes	?	rare myosites (ID)

MB: membrane parasitophore; D: disporoblastique; P: pansporoblastique; FP: nombre de spires du filament polaire; ID: immunodéficient; IC: immunocompétent; ?: inconnu.

5. Répartition géographique

Les microsporidioses sont des parasitoses cosmopolites, fréquentes chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience Humaine (VIH) en Europe, aux Etats Unis mais également en Afrique, en Amérique du sud et en Australie [21;22]. Selon les études, 15 à 50% des diarrhées chroniques des sidéens sont dues aux microsporidies [14;43]. A Bamako, la microsporidiose intestinale a été diagnostiquée chez 32% des patients infectés par le VIH [32]. Cette prévalence est de 11.1% au Zimbabwe [49].

Les microsporidioses intestinales ont été également rapportées chez des sujets immunodéprimés non infectés par le VIH, principalement des malnutris et des patients sous immunosuppresseurs ou chimiothérapie [34;42].

Il faut préciser, cependant, que ces parasitoses intestinales ne sont pas uniquement l'apanage des immunodéprimés puisqu'elles ont été décrites chez des enfants et des adultes immunocompétents diarrhéiques [22;46].

Des cas de microsporidiose intestinale ont été également observés chez des voyageurs au retour d'un séjour en zone tropicale [38].

Le portage asymptomatique fécal a été aussi rapporté chez les sujets immunocompétents [46;50].

Des études sérologiques ont montré une forte séroprévalence du genre *Encephalitozoon* chez les sujets immunocompétents en France et aux Pays bas [50].

6. Cycle biologique

Durant la phase infectante, ce sont les spores de microsporidies représentant la forme de résistance et de dissémination qui entrent en contact avec un hôte, le plus souvent par voie digestive, plus rarement par voie aérienne et exceptionnellement par contact direct (traumatisme, inoculation directe au niveau cornéen par voie aérienne ou probablement par l'intermédiaire de doigts souillés). Elles contiennent, dans une coque rigide et épaisse, un filament polaire enroulé en spirale qui va agir comme un ressort et permettre l'extrusion du sporoplasme à l'intérieur de la cellule hôte par effraction de la membrane plasmique ou par endocytose. Le développement intracellulaire peut alors commencer [54].

La cellule va connaître deux phases successives de multiplication :

- **La phase proliférative ou mérogonie :**

°Le sporoplasme injecté devient trophozoïte à son entrée dans la cellule.

°Son noyau se divise pour former un méronte (schizonte) de type I qui donnera des mérozoïtes.

°Les mérozoïtes restent à l'intérieur de la cellule et entament un deuxième cycle de divisions nucléaires qui aboutissent à la production d'un deuxième schizonte, sporonte.

- **La phase de sporulation ou sporogonie :**

°Le sporonte donne des sporoblastes, puis des spores qui sont libérées entraînant la mort de la cellule hôte.

Les spores, entourées d'une paroi épaisse, résistent dans le milieu extérieur et sont d'emblée infectantes [53].

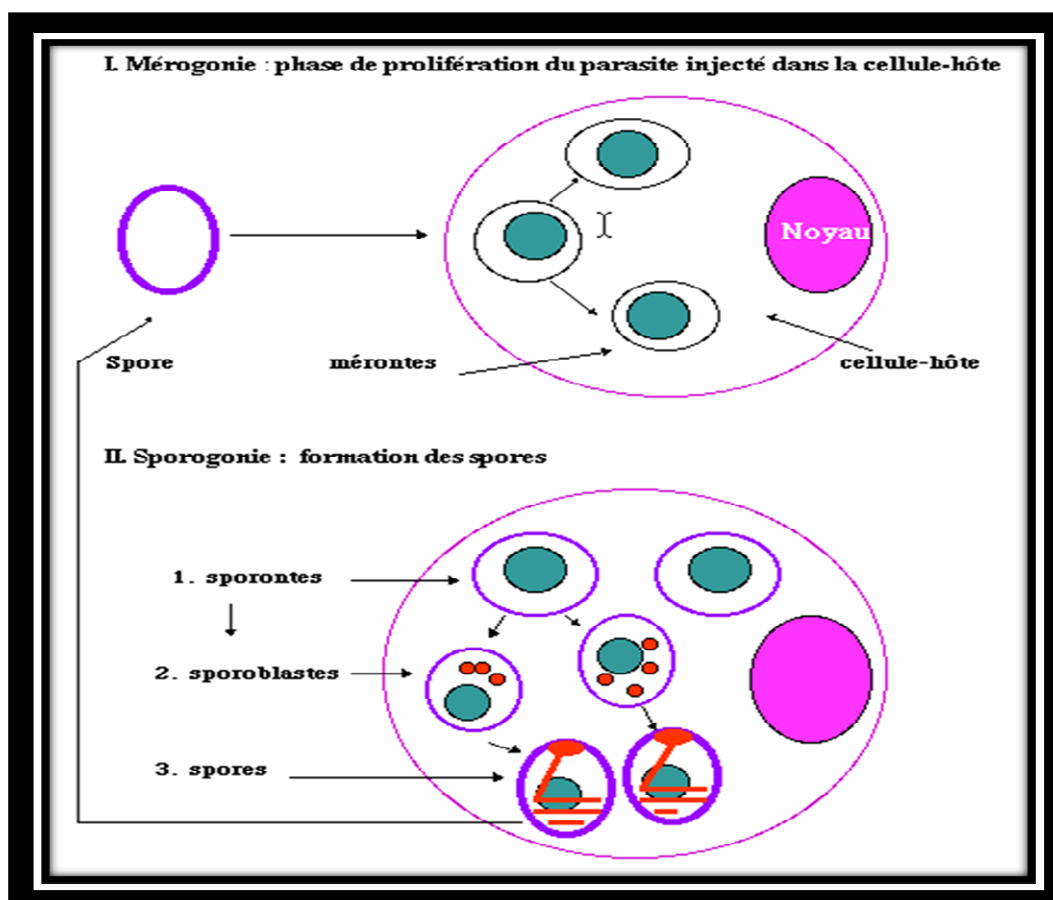


Figure II : Cycle de développement microsporidien (Isabelle DESPORTES, 2001)

7. Etude clinique

7.1 Pathogénie

Chez l'homme les microsporidies semblent peu pathogènes et leur morbidité est surtout la conséquence d'une désorganisation de l'immunité cellulaire [43]. Certaines études ont mis en évidence, en plus de l'immunité cellulaire, une stimulation par les microsporidies de l'immunité humorale

qui semble participer à la protection et la lutte contre ces parasites [11;43]. En effet, les microsporidies activent la production des anticorps qui, cependant, n'induisent pas une protection mais peuvent jouer le rôle d'opsonines facilitant l'intervention des macrophages et le système du complément [11]. Des données expérimentales confirment le rôle joué par le système immunitaire dans le contrôle des microsporidioses [11]. En effet, peu symptomatiques chez les animaux immunocompétents, ces infections deviennent létales chez ceux immunodéficients [16].

Au cours du SIDA, la microsporidiose intestinale s'observe habituellement à un stade avancé d'immunodépression avec des taux de lymphocytes T CD4 $<50/\text{mm}^3$ [29;43].

D'autres causes d'immunodéficience (traitement par immunosuppresseurs, malnutrition) sont aussi des facteurs de risque accru [11;34]. La pathogénicité des microsporidies est la conséquence de leur prolifération incontrôlée souvent corrélée à une forte diminution de l'immunité cellulaire [11;43]. La gravité des microsporidioses intestinales résulte de l'altération de l'épithélium parasité dont le renouvellement n'arrive plus à compenser la desquamation [11;43]. Les microsporidies entraînent alors une atrophie villositaire avec infiltrat lymphocytaire évoquant un syndrome de malabsorption [29].

7.2 Manifestations cliniques

La manifestation clinique la plus fréquente des microsporidioses intestinales chez l'immunodéprimé est une diarrhée liquidienne non glaireuse et non sanglante [10;29]. L'infection qui évolue de façon chronique pendant des mois, provoque l'émission de 3 à 12 selles par jour.

Il s'y associe une malabsorption, une perte d'appétit et une chute progressive du poids aggravée dans les formes sévères par une déshydratation aboutissant progressivement à la cachexie [14]. Une dissémination de l'infection vers d'autres organes est également possible. En effet, Ei est à l'origine de néphrites et de sinusites, alors que, Eb a été trouvé dans l'arbre trachéo-bronchique et les cellules hépatiques [17;29]. Les 2 espèces peuvent être la cause de cholangite et de cholécystite [43].

Chez l'immunocompétent, la symptomatologie est plus discrète limitée à des diarrhées spontanément rémissibles en quelques jours et l'infection n'est jamais disséminée [45]. Le portage asymptomatique est possible tant chez l'immunocompétent que chez l'immunodéprimé [46].

8. Diagnostic biologique

8.1 Diagnostic Parasitologique

8.1.1 La coloration au trichrome modifiée par Weber

Elle est la technique la plus utilisée, et est considérée comme la méthode de référence [11;30]. Les spores apparaissent roses avec une vacuole excentrée. La coloration de Weber est une technique spécifique et simple, cependant sa lecture est délicate du fait de la petite taille des spores.

Après coloration dans la solution trichromique de weber de la lame de selles fixées au méthanol, différenciation à l'alcool acide, rinçage à l'éthanol, et séchage, on observe au microscope à l'objectif 100, sur fond vert les spores colorés en rouge ou rouge fuchsia de forme ovoïde avec une vacuole excentrée (cf. annexe N°2).

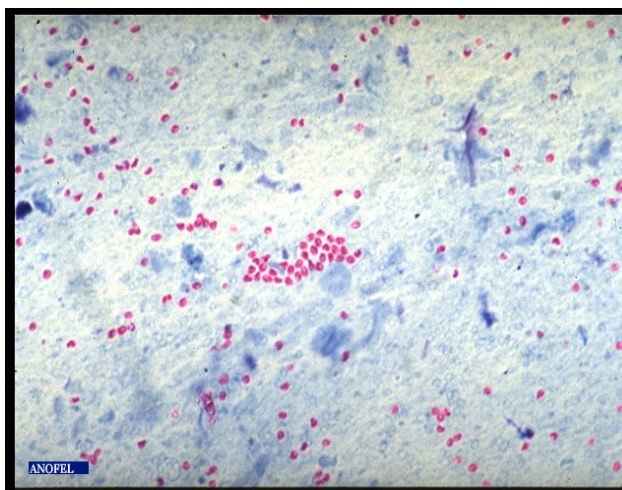


Figure III : Spores d'*E. bienewisi* colorées par la coloration trichromique de Weber (Logiciel ANOFEL 3)

8.1.2 La fluorescence de Van Gool à l'uvitex 2B

Cette technique utilise un fluorochrome, l'Uvitex 2B qui a une affinité sélective pour la chitine, constituant majeur de la paroi des spores [45].

Cette technique permet de repérer plus facilement les microsporidies grâce à leur fluorescence. Elle est donc créditée d'une meilleure sensibilité. Cependant, elle n'est pas assez spécifique pouvant donner de faux positifs principalement par fluorescence de bactéries, voire de levures dont les parois sont riches en chitine [45]. Elle est donc utilisée dans le dépistage mais pas dans le diagnostic.

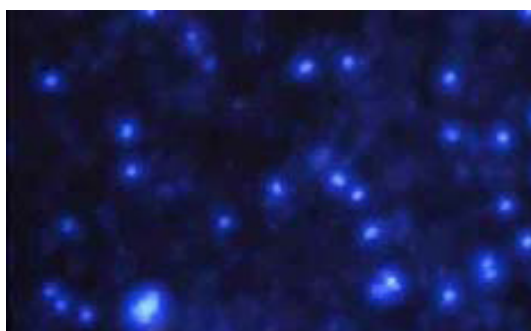


Figure IV : Spores d'*E. bienewisi* colorées par l'Uvitex 2B, x1000 (C. Sarfati, ANOFEL 2005)

8.1.3 La microscopie électronique

Elle est la méthode de diagnostic de confirmation par excellence. Le diagnostic se base sur l'identification de l'ultrastructure des microsporidies (filament polaire) [15]. Le diagnostic différentiel entre E.i et E.b repose sur la taille, E.b étant plus petit, mais repose surtout sur la membrane parasitophore septée caractéristique de Ei [7].

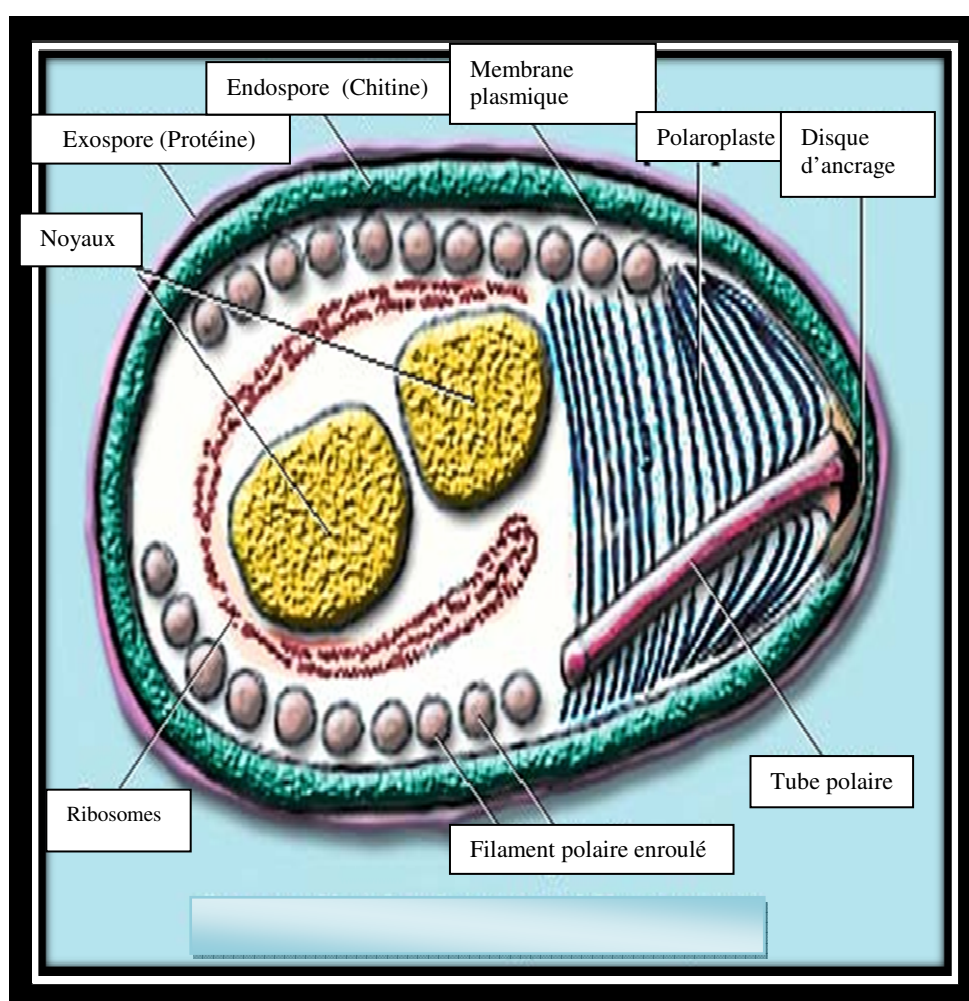


Figure V : Représentation généralisée de la spore microsporidienne
(<http://www.palaeos.com/Eukarya/Units/Microsporidia/Microsporidia.000.html> 12/07/08)

8.2 Diagnostic immunologique

8.2.1 Immunofluorescence Indirecte (IFI)

La production d'anticorps (Ac) monoclonaux spécifiques d'*Enterocytozoon bienewisi* et d'*Encephalitozoon intestinalis* a permis de faciliter le diagnostic d'espèce. Ces techniques immunologiques sont en effet, moins coûteuses, plus rapides et plus courantes [31;43;47].

Sur une lame à spot contenant dans les différents puits 2 à 4 µl de suspension de selles de Ritchie, et de contrôles y est déposée l'Ac puis le conjugué, on y observe au microscope à fluorescence après incubation dans l'obscurité les spores apparaissant en ver lumineux étincelant sur fond noir de forme arrondie, ovulaire, ou en grain de riz (cf. annexe N°3).

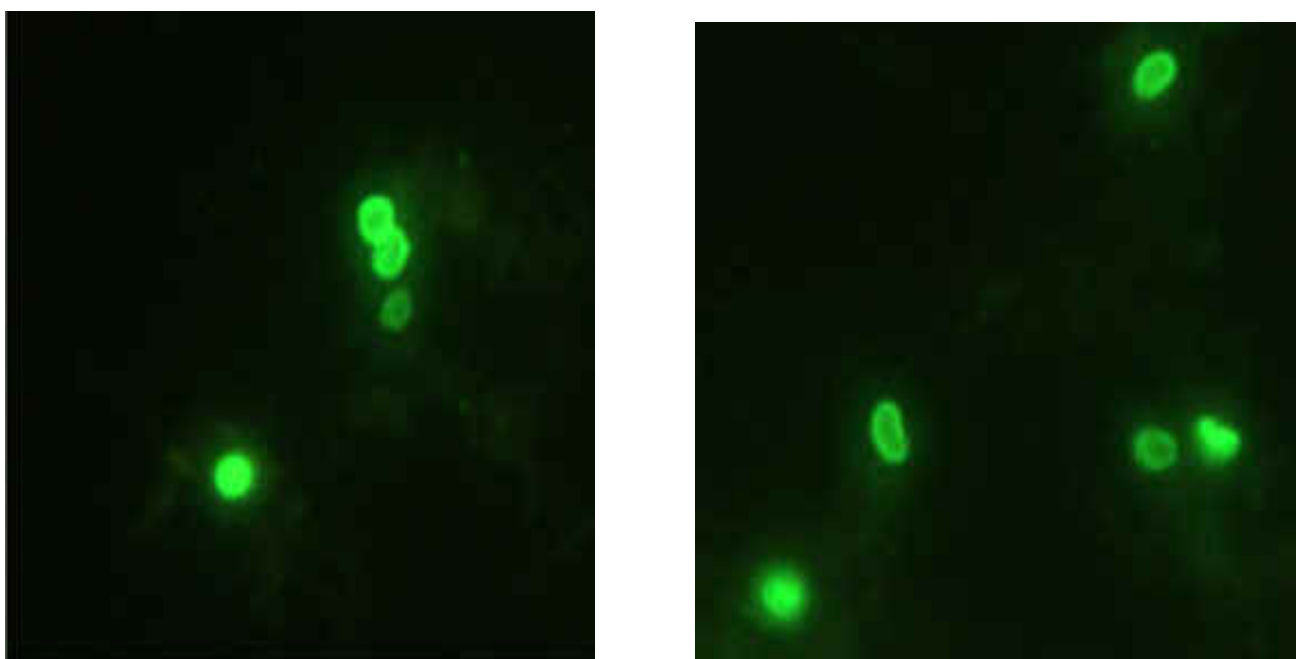


Figure VI : *E. bienewisi*, mouseIgG2a FITC-conjugate: 1/60 et *E. intestinalis*, mouse IgG1FITC-conjugate: 1/60 (M. Thellier et S. Biligui, www.bordier.ch/Microsporidia/index.htm 18/02/09)

8.2.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Cette technique utilise des antigènes (Ag) d'*Encephalitozoon* cultivés *in vitro* ; elle est limitée aux enquêtes séro-épidémiologiques à cause de l'interprétation délicate de la détection des Ac [8;50].

9. Technique de biologie moléculaire

Longtemps basée sur la microscopie électronique [21;35], l'identification d'espèce se fait actuellement grâce à la Polymerase Chain Reaction (PCR) associée ou non à une Restriction Fragment Length polymorphism (RFLP) [22;31;32].

Elle est de loin la plus sensible et la plus spécifique [4].

Malheureusement cette technique n'est pas encore applicable en routine et reste limitée à certains laboratoires spécialisés [3;11;47].

Elle est basée sur l'utilisation de courtes séquences d'ADN (oligonucléotides) comme amorces et une enzyme, la Taq polymérase, pour répliquer en copies multiples une portion d'ADN dont la séquence aux extrémités 3' et 5' est connue. Les deux oligonucléotides doivent avoir une séquence complémentaire des extrémités de chacun des 2 brins d'ADN. La synthèse à partir des deux amorces a lieu simultanément et aboutit à la duplication de la séquence initiale (cf annexe N°4).

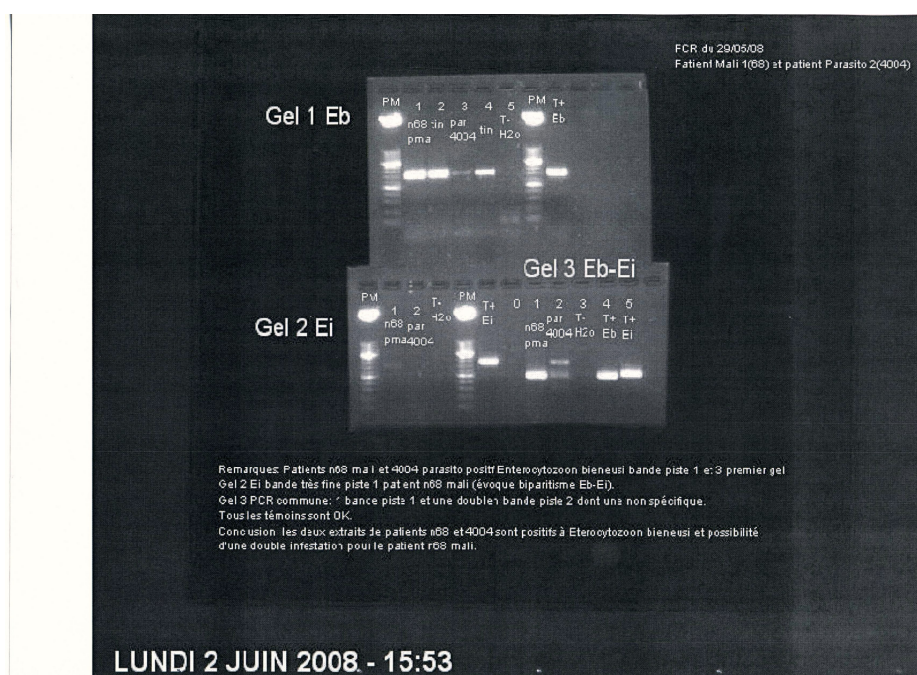


Figure VII : PCR (groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, 2008)

10. Examen anatomopathologique

Il se fait après biopsie, et utilise les colorants tels l'hématoxyline-éosine, le bleu de méthylène ou le Giemsa. Il permet d'observer les spores intracellulaires dans les entérocytes et ou dans la lamina propria [33].



Figure VIII : Microsporidiose intestinale à *E. bienewisi*. Noter la présence de parasites en position supra nucléaire, x1000 (F. Derouin, ANOFEL 2005)

Tableau II : Caractéristiques comparées des différentes techniques diagnostiques des microsporidioses humaines (S.BETTENS, 1995 modifié)

Techniques		Sensibilité	Spécificité	Caractéristiques	
Microscopie	électronique	+	++++	Identification basée sur l'ultrastructure. Diagnostic différentiel entre <i>E. intestinalis</i> et <i>E. bieneusi</i> d'après la présence d'une membrane septée (<i>E. intestinalis</i>)	
	optique	colorations classiques	+	+	Pas suffisamment performantes
		Bleu Trichrome simple	++	++	Méthode facile, rapide et plus performante que les colorations classiques.
		Trichrome modifié de Weber	+++	++++	concentrations des composants du trichrome simple, offrant une meilleure spécificité. Intérêt de l'associer aux fluorochromes.
		Fluorochromes	++++	++	Nécessité d'un microscope à fluorescence
		Trichrome Acid Fast	?	?	Détection simultanée des microsporidies et de <i>Cryptosporidium parvum</i> .
		Quick Hot Gram Chromotrope	?	+++	Coloration violette des spores de microsporidies
		Immuno-Fluorescence Indirect	++	++++	Sérum spécifique. Fluorescence verte. Nécessité d'un microscope à fluorescence
PCR		++++	++++	Séquences spécifiques des microsporidies et également séquences permettant le diagnostic différentiel entre <i>E. intestinalis</i> et <i>E. bieneusi</i> . Problème de l'application en routine.	
? Pas de données					

11. Traitement

Aucune molécule n'est actuellement retenue comme totalement efficace contre les microsporidies [43]. L'albendazole est utilisé pour traiter les infections par *Encephalitozoon intestinalis* aux doses de 400 milligrammes (mg)/jour pendant 4 semaines pour les immunodéprimés et sur une période plus courte pour les immunocompétents [17;35]. La substitution de certains résidus des séquences génomiques codant pour la β tubuline chez *Enterocytozoon bieneusi* expliquerait l'inefficacité de cette molécule sur cette espèce [17]. Des essais cliniques récents ont montré une sensibilité d'*Enterocytozoon bieneusi* à la Fumagilline [36]. Cependant, il faut préciser que la réponse au traitement est très variable d'un individu à un autre et que les récurrences sont fréquentes [11;57]. La dose est de 20 mg x 3/J pendant 14 j [58]. C'est plutôt la restauration immunitaire qui semble donner les meilleurs résultats [25]. Il faut noter qu'au Mali, il n'est pas disponible dans les officines et son coût élevé le rend inaccessible pour la majorité de la population.

12. Prophylaxie

❖ Individuelle

Education sanitaire : informer sur les dangers du péril fécal et enseigner les règles essentielles de l'hygiène en soulignant le danger des mains sales.

Assainissement du milieu : aménagement des latrines ; interdiction ou réglementation de l'usage de l'engrais humain en agriculture ; neutralisation des excréments humains par

l'eau de javel ou la chaux.

Hygiène alimentaire : se laver les mains, avant les repas et toute manipulation d'aliments, et après passage aux toilettes ; laver soigneusement les légumes et les fruits consommés avec une eau propre [9].

❖ **Collective**

Elle consiste à protéger les ressources naturelles d'eau de toute contamination fécale, animale et s'assurer de l'intégrité des réseaux de distribution d'eau potable.

Aussi, le traitement de masse à l'albendazole pourrait réduire l'impact de la transmission des porteurs sains au sein de la population.

La Fumagilline, le Thiabendazole utilisés dans l'alimentation, et dans le biotope des animaux permettent une réduction de la transmission des microsporidies [27;56;59]

Il n'existe aucun vaccin animal ou humain pour la microsporidiose [2].



PATIENTS ET METHODES

IV. PATIENTS ET METHODES

1. Lieu d'étude

Bamako (en bambara : Bamakɔ) est la capitale du Mali, Située dans le sud ouest du pays sur les rives du fleuve Niger, appelé Djoliba (« le fleuve du sang »), la ville de Bamako est construite dans une cuvette entourée de collines. Elle s'étend d'ouest en est sur 22 km et du nord au sud sur 12 km, pour une superficie de 267 km². En 2009, la ville compte 2 209 225 habitants (Bamakois). Son rythme de croissance urbaine est actuellement le plus élevé d'Afrique (et le sixième au monde)¹. Bamako est le centre administratif du pays, un important port fluvial et un centre commercial pour toute la région alentour. Bamako, originellement bàmakɔ (« marigot du caïman » en langue bambara), a été fondée à la fin du XVI^e siècle par les Niaré, anciennement appelés Niakate, qui étaient des Sarakolés. Niaréla, le quartier des Niaré, est un des plus anciens quartiers de Bamako.

Administrativement, Bamako est composée de six communes dont les quatre premières sont situées sur la rive gauche (les communes I, II, III et IV), les deux autres sont sur la rive droite (les communes V et VI). Le premier responsable du district est le gouverneur du district et les autorités municipales sont représentées par une mairie dont le premier responsable est le maire central.

La commune I compte 256 216 habitants. Limitée au nord par la commune rurale de Djalakorodji (cercle de Kati), à l'ouest par la Commune II, au nord-est par la commune rurale de Sangarébourgou (cercle de Kati), à l'est par la commune rurale

de Gabakourou III et au sud par le fleuve Niger, elle couvre une superficie de 34 26 km². Neuf quartiers composent cette commune : sont Banconi, Boukassombougou, Djélibougou, Doumanzana, Fadjiguila, Sotuba, Korofina Nord, Korofina Sud et Sikoroni.

La commune II, limitée à l'est par le marigot de Korofina, à l'ouest par le pied de la colline du Point G, au nord par la limite nord du District et au sud par le lit du fleuve Niger, couvre une superficie de 16 81 km² et compte une population de 160 680 habitants. La commune compte onze quartiers : Niaréla (le plus ancien où réside la famille des fondateurs de Bamako), Bagadadji, Médina-coura, Bozola, Missira, Hippodrome, Quinzambougou, Bakaribougou, TSF, Zone industrielle et Bougouba. La commune abrite 80 % des industries du Mali.

La commune III est limitée au nord par le cercle de Kati, à l'est par le boulevard du Peuple qui la sépare de la Commune II, au sud par la portion du fleuve Niger, comprise entre le pont des Martyrs et le Motel de Bamako, et à l'ouest, par la rivière Farako à partir du Lido, l'Avenue Cheick Zayed El Mahyan Ben Sultan et route ACI 2000, couvrant une superficie de 23 km². Sa population est de 119 287 habitants. La commune III est le centre administratif et commercial de Bamako. Elle accueille notamment les deux plus grands marchés de la capitale, le Grand marché Dabanani et Didida. Vingt quartiers composent cette commune et les villages de Koulouninko et Sirakorodounfing ont été rattachés à la Commune III.

La Commune IV, limitée à l'est par la Commune III, au nord et à l'ouest par le cercle de Kati et au sud par la rive gauche du fleuve Niger, couvre une superficie de 36 768 hectares, avec une population de plus de 200 000 habitants en 2001.

La commune IV est composée de huit quartiers : Taliko, Lassa, Sibiribougou, Djikoroni-Para, Sébénikoro, Hamdallaye, Lafiabougou et Kalabambougou.

La Commune V couvre une superficie de 41 km². Elle est limitée au nord par le fleuve Niger, au sud par la zone aéroportuaire et la commune de Kalanban-Coro, à l'est par la Commune VI et le Niger. Elle est composée de huit quartiers Badalabougou, Sema I, Quartier Mali, Torokorobougou, Baco-Djicoroni, Sabalibougou, Daoudabougou et Kalaban-Coura et compte 249 727 habitants.

La commune VI avec une superficie de 8 882 hectares est la plus vaste du district de Bamako. Sa population est d'environ 600 000 habitants. Elle est constituée de dix quartiers : Banankabougou, Djanékéla, Faladié, Magnambougou, Missabougou, Niamakoro, Sénou, Sogoniko, Sokorodji et Yrimadio [55].

2. Les sites d'étude

Notre étude concernait les structures sanitaires suivantes :

- Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Point G (PG)
- CHU de Gabriel Touré (GT) ;
- Centre d'Ecoute, de Soins, d'Animation et de Conseils (CESAC) ;
- Unité de Soins, d'Animation et de Conseils (USAC) de la commune V (com V)

Le Département d'Epidémiologie des Affections Parasitologiques (DEAP), et le groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière pour la partie laboratoire.

❖ Description générale du CHU du point G

L'hôpital du point G, construit entre 1905, couvre une superficie de 25 hectares. Ancien hôpital militaire, devenu hôpital civil peu avant l'indépendance du Mali, il se situe sur une colline surplombant Bamako, nommée par le colonisateur français Point G [55]. Le CHU du point G est une structure de troisième référence. Il est doté de 6 blocs opératoires et 18 services dont 11 services de spécialités médicales (cardiologie A, cardiologie B, hématologie oncologie, maladies infectieuses, médecine interne, neurologie, néphrologie, pneumo-phtisiologie, psychiatrie, rhumatologie, urgences), 5 services de spécialités chirurgicales (Anesthésie réanimation, chirurgie A, chirurgie B, Gynéco Obstétrique, Urologie), un service d'imagerie médicale et un laboratoire d'analyse médicale.

❖ Description générale du CHU Gabriel Touré

Le CHU Gabriel Touré est le deuxième hôpital de Bamako ; Il porte le nom d'un jeune médecin et humaniste soudanais né en 1910 à Ouagadougou et mort en 1935 après avoir été contaminé par un malade atteint de la peste pulmonaire. Il a été créé le 17 janvier 1959 à la place d'un ancien dispensaire [55]. De par sa situation géographique il demeure le plus sollicité et est aussi au sommet de la pyramide sanitaire. Il est situé au centre de Bamako en commune III avec à l'Est le quartier Médine à l'Ouest l'école nationale des ingénieurs (ENI), au Nord la garnison de l'état major de l'armée de terre, au Sud le TRANIMEX (Société de dédouanement et de transit).

Il comporte plusieurs services dont 7 de spécialités chirurgicales (orthopédie et de traumatologie, de chirurgie pédiatrique, urologie, des urgences chirurgicales, gynécologie-obstétrique, anesthésie et réanimation, d'oto-rhino-laryngologie), 4 de spécialités médicales (pédiatrie, hépato gastro-entérologie, cardiologie, diabétologie), un service d'imagerie médicale et de radiologie et un laboratoire d'analyse médicale.

❖ Description générale du CESAC et de l'USAC Com V

Le Centre d'Ecoute de soins d'Animation et de Conseil (CESAC) a été créé en septembre 1996 grâce au soutien financier de la coopération française en collaboration avec le Ministère de la Santé, des Personnes Agées et de la Solidarité de L'époque et l'Association de Recherche de Communication et d'accompagnement à domicile des PV-VIH (ARCAD/SIDA) qui assure la gestion et l'animation. Son but est d'apporter une réponse médicale et psychosociale adaptée aux problèmes de la prise en charge des personnes vivant avec le VIH/SIDA.

IL est située en commune III et au centre commercial de Bamako. II est sis au bord de la rue Archinard dans la même cours que le service social du district, contigu au Centre d'Accueil et d'Orientation des Enfants et à l'Est du Ministère de l'Administration Territoriale et des Collectivités locales. Quant à l'USAC elle joue le même rôle que le CESAC mais situé dans les centres de santé de références qui constituent les deuxièmes niveaux de la pyramide sanitaire.

3. Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale s'étendant de Juillet 2007 à Novembre 2008.

4. Population d'étude

Notre étude portait sur les patients séropositifs au VIH/SIDA et diarrhéiques hospitalisés et/ou suivis dans les structures sanitaires concernées par l'étude.

5. Echantillonnage

Il s'agissait de la totalité des prescriptions médicales pour recherche de parasites opportunistes digestives chez les patients diarrhéiques atteints du VIH/SIDA pendant une année.

6. Critères d'inclusion :

- Sujets séropositifs au VIH/SIDA suivis ou hospitalisés dans les sites d'études;
- Diarrhéiques ;
- Consentant à participer à l'étude.

7. Critère de non inclusion :

- Sujets de sérologies inconnues.

8. Collecte et analyse des échantillons

La collecte des prélèvements se faisait soit par passage systématique d'un étudiant du lundi au vendredi, soit en cas d'appel téléphonique des sites d'études, soit par acheminement au laboratoire par le patient ou par l'accompagnant du patient.

Chaque échantillon était accompagné d'une fiche de demande d'examen contenant les informations sociodémographiques, cliniques et biologiques dûment remplie par le prescripteur.

Les selles collectées bénéficiaient de la coloration de Weber et de l'IFI pour la recherche des microsporidies ainsi que de la PCR pour la confirmation des selles positives aux deux techniques. Ces différentes techniques sont détaillées dans le chapitre des annexes.

9. Problèmes éthiques

Au cours de notre étude, nous avons utilisé des matériels stériles à usage unique pour le prélèvement des selles.

L'inclusion des patients a été faite sur la base d'un consentement verbal. Les données cliniques et biologiques ont fait l'objet d'une stricte confidentialité, et continuent à l'être. Les résultats ont été portés à la connaissance de tous nos partenaires.

Ce travail a été approuvé par le Haut Conseil National de Lutte Contre le SIDA (HCNLS) et l'ensemble des médecins prescripteurs des sites de prise en charge des patients VIH qui collaborent avec le programme ESTHER.

10. Gestion, analyse et saisie des données

Le résultat de l'analyse des selles était consigné sur la fiche de demande d'examen (cf. annexe N°1), ainsi que dans le cahier de laboratoire et dans le registre.

La saisie des données a été faite avec le logiciel Microsoft Office Access 2003, et l'analyse avec le logiciel StataSE 10.

La rédaction de la thèse quant à elle a bénéficié du logiciel Microsoft Office Word, Publisher 2007 ; et de reference Manager 11 pour la bibliographie.

Dans l'interprétation des résultats une probabilité (p) inférieure ou égale à 0,05 était en faveur d'une relation statistiquement significative entre les variables mesurées.



RESULTATS

V. RESULTATS

Au terme de notre étude nous avons reçu **191** prélèvements de selles.

1. Caractéristiques sociodémographiques

1.1 Sexe

Tableau III : Répartition des patients selon le sexe

Sexe	Fréquence	Pourcentage
Masculin	99	51,83
Féminin	92	48,17
Total	191	100

Le sex-ratio était de 1,08 en faveur des hommes.

1.2 Age

Tableau IV : Répartition des patients selon l'âge

Age	Fréquence	Pourcentage
0-10	12	7,27
11-20	12	7,27
21-30	35	21,21
31-40	58	35,15
41-50	37	22,43
51-60	10	6,06
61-80	1	0,61
Total	165	100

La tranche d'âge 31-40 ans était la plus représentée avec 35,15% de l'effectif. Les percentiles 25, 50 et 75 étaient respectivement à 28, 34 et 42 ans, avec une moyenne d'âge de 33 ± 13 ans, le mode était de 30 et 32 ans, un minimum de 2 ans et un maximum de 75 ans.

1.3 Sites de prescription

Tableau V : Répartition des patients selon le site de prescription

Structure sanitaire	Fréquence	Pourcentage
CHU GT	73	38,22
CHU PG	72	37,70
CESAC	39	20,42
USAC COM .V	7	3,66
Total	191	100

Le CHU.GT avait la fréquence la plus élevée avec 38,22% des patients.

2. Caractéristiques biologiques et thérapeutiques

2.1 Taux de CD4

Tableau VI : Répartition des patients selon le taux de CD4

Taux de CD4 (Cellules/mm ³)	Fréquence	Pourcentage
<200	90	65,22
200-499	25	22,46
≥500	17	12,32
Total	138	100

65,22% des patients avaient un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/mm³.

Les percentiles 25, 50 et 75 étaient de 18, 95 et 312 cellules/mm³, avec une moyenne de 199 ± 251 cellules/mm³, le mode était de 2 cellules/mm³, avec un minimum de 1 cellule/mm³ et un maximum de 1585 cellules/mm³.

2.2 Traitement ARV

Tableau VII : Répartition des patients selon la prise d'ARV

Traitement ARV	Fréquence	Pourcentage
Oui	111	62,01
Non	68	37,99
Total	179	100

Les patients sous ARV représentaient 62,01% de la population d'étude.

3. Analyses descriptive des résultats parasitaires

3.1 Microsporidiose

Tableau VIII : Détermination de la fréquence de la microsporidiose chez les patients VIH par Weber

Patients	Fréquence	Pourcentage
Weber Positifs	11	5,76
Weber Négatifs	180	94,24
Total	191	100

Les patients positifs au weber étaient de 5,76%.

Tableau IX : Détermination de la fréquence de la microsporidiose chez les patients VIH par IFI

Patients	Fréquence	Pourcentage
IFI Positifs	11	5,76
IFI Négatifs	180	94,24
Total	191	100

L'IFI a confirmé toutes les lames positives au Weber ; *E. bienewisi* était à 100% l'espèce en cause.

Deux des onze échantillons positifs ont bénéficié de la PCR qui a confirmé l'espèce incriminée.

Tableau X : Détermination de la fréquence de la microsporidiose par site de prescription

Structure sanitaire	Fréquence		Pourcentage
	n	+	
CHU GT	73	6	8,22
CHU PG	72	3	4,17
CESAC	39	2	5,13
USAC COM.V	7	0	0
Total	191	11	5,76

Le CHU GT avait la fréquence la plus élevée des positifs avec 6 cas soit une prévalence 8,22%.

4. Résultats analytiques

4.1 Relation entre microsporidiose et traitement ARV

Tableau XI: Répartition des patients positifs aux microsporidies selon la prise des ARV

Microsporidies ARV	Positif		Négatif		Total	
	n	%	n	%	n	%
Oui	3	2,70	108	97,3	111	62,01
Non	5	7,35	63	92,65	68	37,99
Total	8	5,76	171	94,24	179	100

Des patients sous traitement ARV, 97,3% n'étaient pas atteints de la microsporidiose (OR=0,35 ; IC : 0,08-1,51).

4.2 Relation entre microsporidies et le taux de CD4

Tableau XII: Répartition des patients positifs ou non aux microsporidies selon le taux de CD4

Microsporidies Taux de CD4	Positifs		Négatifs		Total	
	n	%	n	%	n	%
<200	6	6,67	84	93,33	90	65,22
≥200	0	0	48	100	48	34,78
Total	6		132		138	100

Tous les patients atteints de la microsporidiose avaient un taux de CD4 à moins de 200 cellules/mm³ dans notre série.



COMMENTAIRES ET DISCUSSION

VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

❖ Méthodologie

Notre cadre d'étude était 2 CHU (PG et GT) et 2 centres de Prescription d'ARV (CESAC et USAC Com V) de la ville de Bamako, le choix de ces sites se justifie par les raisons ci-après :

- Elles sont situées dans la capitale qui est la ville la plus peuplée du Mali, et celle avec la plus grande file active des patients VIH;
- Les CHU sont les structures sanitaires de 3^{ème} niveau dans la pyramide sanitaire du Mali.

Des informations sur les patients omises par les prescripteurs lors du remplissage de la fiche de la collecte de données, n'ont pu être retrouvées malgré les recherches effectuées, ce qui expliquent la variation de la fréquence dans les tableaux.

❖ Caractéristiques de base de la population d'étude

La population d'étude était majoritairement de sexe masculin 51,83% avec un sex-ratio de 1,08. L'âge médian était de 34 ans avec un mode de 30 et 32 ans.

L'étude de Cissé, A.O. et al. en 2000 à Bamako trouvait un sexe ratio de 1,1 en faveur des femmes (p=0,56), avec un âge médian de 33 ans [8].

Le CHU GT avait le fort contingent des patients soit 73 (38,22%), puis le CHU PG avec 72 (37,70%), le CESAC avec 39 (20,42%) et l'USAC avec 7 (3,66%) patients. Ce fort taux des CHU s'expliquerait par le fait qu'en plus d'être des structures de prescription d'ARV comme le CESAC et l'USAC, ils sont aussi des centres d'hospitalisation des séropositifs ;

Aussi, la prédominance du CHU GT s'expliquerait par le fait qu'il soit plus accessible géographiquement aux patients par rapport au CHU PG car situé au centre ville, et qu'il y existe un service de Hépto- Gastro-Entérologie.

❖ **Caractéristiques biologiques et thérapeutiques**

➤ **Taux de CD4**

Les patients avec un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/mm³ représentaient 65,22% de notre échantillon. Ce résultat confirme les données de Gambo, M.A. au Niger qui trouvait dans sa série pour le même taux une fréquence de 59,9% (p=0,274) [23].

➤ **Traitement ARV**

Les ARV étaient administrés à 62,01% de nos patients, ce qui concorde avec celui de Oumar, A.A. et al à Bamako, qui était de 68,7% (p=0,221) [41].

❖ **Caractéristiques parasitaires**

La prévalence de la microsporidiose était de 5,76% au Weber et à l'IFI dans notre population d'étude.

Maïga, I., et al. trouvaient entre 1993 et 1996 au Mali une prévalence de 32% sur 88 patients (p=0,000) [32]. Cette différence s'expliquerait par le fait que leur étude ait été réalisée avant 2004 donc avant l'instauration de la gratuité du traitement par les ARV au Mali en juillet 2004. En effet, les ARV restaurent l'immunité tout en réduisant l'avènement des infections opportunistes.

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre notre résultat comparée à celle des études plus récentes effectuées au Niger et au Vietnam par Espern, A. et al. qui trouvaient respectivement une prévalence de 10,5 (p=0,079) et 9,5 (p=0,580) [19].

Eb représentait 100% des espèces retrouvées, ce résultat confirme celui de Cissé, O.A. et al. effectué en 2000 au Mali [8].

Le CHU GT représentait 54,54% des positifs avec une prévalence de 8,22%, ce pourcentage serait dû en partie à la plus grande fréquence des patients de ce site dans notre étude.

Des patients sous traitement ARV, 97,30% n'étaient pas atteints de la microsporidiose (p=0.262), la faible taille des positifs dans notre série justifierait la non existence de relation statistiquement significative ; En revanche, il est prouvé que les ARV réduisent les infections opportunistes chez les personnes séropositives par la restauration de leur défense immunitaire tel que démontré dans l'étude de Monkemuller, K.E. et al. en 2000 [37].

La littérature affirme que les infections opportunistes sont l'apanage des patients séropositifs ayant un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/mm³. Nos résultats arborent dans le même sens car tous les patients atteints de la microsporidiose avaient un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/mm³.



CONCLUSION

VII. CONCLUSION

Notre étude qui s'est tenue de Juillet 2007 à Novembre 2008 et qui a recensé 191 cas de séropositifs diarrhéiques, nous permet d'affirmer que la fréquence de la microsporidiose après l'instauration de la gratuité des ARV en juillet 2004 est de 5,76%.

Parmi nos sites, le CHU GT avait la prévalence la plus élevée avec 8,22%, s'en suit le CESAC avec 5,13%, le CHU PG était à 4,17%.

Tous les patients positifs à la microsporidiose avaient un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/mm³, et 62,50% de ces patients positifs à la microsporidiose n'étaient pas sous ARV.

La gratuité des ARV a permis de réduire considérablement la fréquence de la microsporidiose au Mali.

Malgré la fréquence relativement faible des microsporidies dans notre série, il est souhaitable de demander un Examen Parasitologique des Selles (EPS) à la recherche d'infection opportunistes chez les patients naïfs pour les ARV.

RECOMMANDATIONS

VIII. RECOMMANDATIONS

❖ Aux autorités sanitaires

- Poursuivre la gratuité des ARV ;
- Instaurer la Fumagilline dans la liste des médicaments fournis gratuitement aux personnes vivant avec le VIH/SIDA ;
- Former les techniciens de laboratoire des structures sanitaires au diagnostic des infections opportunistes (IO) digestives ;
- Appuyer la mise en place d'un laboratoire de référence des IO.

❖ Aux chercheurs/ESTHER

- Poursuivre cette étude par le génotypage des cas positifs aux IO.

❖ Aux prescripteurs

- Demander systématiquement un examen Parasitologique des selles (EPS) avec recherche des IO chez tout patient séropositif diarrhéique ;
- Initier le traitement adéquat dans la prise en charge des IO ;
- Remplir correctement les fiches de demande d'examen complémentaires des IO ;
- Informer les patients sur les modalités de recueillement des selles.

❖ Aux patients

- Respecter les modalités de recueil des selles.



BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1. Arnaud-Battandier, F. (1989) Parasitoses, infections chroniques et déficit de l'immunité. In Gastroenterologie pp. 281-288, Flammarion. Ed Med-sci, Paris
2. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL) (2008) Autres protozooses intestinales. In **Parasitologie médicale. Généralités et définitions** (Université Médicale Virtuelle Francophone, ed.), pp. 54-68,
3. Belhaj, S., Kallel, K., Boussen, N. et al. (1999) Place des cryptosporidies et des microsporidies dans les diarrhées des immunodéprimés. Tunis. Med. **12**, 638-640.
4. Bettens, S., Gigi, J. and Delmee, M. (1999) Les infections à microsporidies. Louvain Med **118**, 446-456.
5. Cegielski, J.P., Ortega, Y.R., McKee, S. and et al. (1999) *Cryptosporidium*, *Enterocytozoon*, and *Cyclospora* Infections in Pediatric and Adult Patients with Diarrhea in Tanzania. Clin Inf Dis. **28**, 314-321.
6. Chacin-B, L., Panunzio, A.P., Monsalve-C, F.M. and al. (2006) Microsporidiosis in Venezuela : Prevalence of intestinal microsporidiosis and its contribution to diarrhea in a group of human immunodeficiency virus-infected patients from Zulia state. Am. J. Trop. Med. Hyg. **74**, 482-486.
7. Chu, P. and West, A.B. (1996) *Encephalitozoon (Septata) intestinalis*: cytologic, histologic, and electron microscopic features of a systemic intestinal pathogen. Am J Clin Pathol **106**, 606-614.
8. Cisse, A.O., Ouattara, A., Thellier, M. and al. (2002) Evaluation of an immunofluorescent-antibody test using monoclonal antibodies directed against *Enterocytozoon bienewisi* and *Encephalitozoon intestinalis* for diagnosis of intestinal microsporidiosis in Bamako (Mali). J Clin Microbiol. **40**, 1715-1718.

9. Cours de parasitologie. Microsporidiose.
<http://coursdeparasitologie.ifrance.com/> . 22-4-2008. 22-4-2008.
Ref Type: Electronic Citation
10. Detry, A. (1996) Traité de parasitologie., Paris
11. Deicas, E. (1994) Infections à microsporidies, *Isospora* et *Sarcocystis*. In Encycl Med Chir Maladies infectieuses pp. 8-503-A-10:6p,
12. Desportes, I. Spécificité parasitaire chez les Microsporidies. 2001. 57 rue Cuvier, 75005 PARIS, École doctorale du muséum.
Ref Type: Pamphlet
13. Desportes, I., Le charpentier, Y., Gallian, A. and al. (1985) Occurrence of a new microsporidian : *Enterocytozoon bieneusi* in the enterocytes of a human patient with AIDS. J Protozool **32**, 250-4.
14. Didier, E.S. (1998) Microsporidiosis. Clin Inf Dis. **27**, 1-8.
15. Didier, E.S., Rogers, L.B., Brush, A.D., Wong, S., Traina-Dorge, V. and Bertucci, D. (1996) Diagnosis of disseminated microsporidian *Encephalitozoon hellem* infection by PCR-Southern analysis and successful treatment with albendazole and fumagillin. J Clin Microbiol. **34**, 952.
16. Didier, E.S., Warner, P.W., Didier, P.J. and al. (1994) Experimental microsporidiosis in immunocompetent and immunodeficient mice and monkeys. Folia Parasitol.(Praha). **41**, 1-11.
17. Dore, G.J., Mariott, D.J., Hing, M.C., Harkness, J.L. and Field, A.S. (1995) Disseminated microsporidiosis due to *septata intestinalis* in nine patients infected with human immunodeficiency virus, response to therapy with albendazole. Clin Inf Dis. **21**, 70-76.
18. Dworkin, M.S., Buskin, S.E., Davidson, A.J. et al. (2007) Prevalence of intestinal microsporidiosis in human immunodeficiency virus-infected patients with diarrhea in major United States cities. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo **49**, 339-342.
19. Espern, A., Morino, F., Miegerville, M. et al. (2007) Molecular study of Microsporidiosis Due to *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon intestinalis* among Human

- Immunodeficiency Virus-Infected Patients from Two Geographical Areas: Niamey, Niger and Hanoi, Vietnam. *J Clin Microbiol.* **45**, 2999-3002.
20. Franzen, C. and Muller, A. (2001) Microsporidiosis: human diseases and diagnosis. *Microbes Infect.* **3**, 389-400.
 21. Franzen, C. and Muller, A. (1999) Molecular techniques for detection, species differentiation and phylogenetic analysis of Microsporidia. *Clin Microbiol Rev* **11**, 243-285.
 22. Gainzerain, J.C., Canut, A., Laozano, M. and al. (1998) Detection of *Enterocytozoon bieneusi* in two human immunodeficiency virus negative patients with chronic diarrhea by polymerase chain reaction in duodena biopsy specimens and review. *Clin Inf Dis.* **27**, 394-398.
 23. GAMBO, M. A. Etude de la prévalence des cryptosporidies et des microsporidies chez des patients infectés par le VIH/SIDA dans 4 centres de suivi de Niamey (NIGER) à propos de 172 cas. 5-7-2005.
Ref Type: Thesis/Dissertation
 24. Gassama, A., Sow, P.S., Fall, F. and al. (2001) Ordinary and opportunistic enteropathogens associated with diarrhea in Senegalese adults in relation to human immunodeficiency virus serostatus. *Int.J.Infect.Dis.* **5**, 192-198.
 25. Goguel, J., Katlama, C., Sarfati, C. and al. (1997) Remission of AIDS associated intestinal microsporidiosis with highly active antiretroviral therapy. *AIDS* **11**, 1658-1659.
 26. Gumbot, T., Sarbah, S., Gangaidzo, I. and al. (1999) Intestinal parasites in patients with diarrhea and human immunodeficiency virus infection in Zimbabwe. *AIDS* **13**, 819-821.
 27. Johnny, S., Whitman, D.W. and Bridge study group (2008) Effect of four antimicrobials against an *Encephalitozoon sp.* (Microsporidia) in a grasshopper host. *Parasitol Int.* **57**, 362-367.
 28. Koch, H.H. and Pimsler, M. (1987) Evaluation of Uvitex 2B: A non specific fluorescent stain for detecting and identifying fungi and algae in tissue. *Lab Mes* **18**, 603-606.

29. Kolter, D.P. and Orenstein, J.M. (1998) Clinical syndromes associated with microsporidiosis. *Adv Parasitolol* **40**, 231-349.
30. Larsson, J.I.R. (1999) Identification of Microsporidia. *Acta protozool* **38**, 161-197.
31. Liguory, O., David, F., Sarfati, C., Derouin, F., Modai, J. and Molina, J.M.P. (1997) PCR (Polymerase Chain Reaction) diagnosis and species identification of intestinal microsporidia specimens from HIV infected Patients. *Med Mal infect* **27**, 994-999.
32. Maïga, I., Doumbo, O.K., Dembele, M. et al. (1997) Human intestinal microsporidiosis in Bamako (Mali): the presence of *Enterocytozoon bieneusi* in HIV seropositive patients. *Sante* **7**, 257-262.
33. Maïga, L. A. la microsporidiose intestinale en milieu hospitalier à Bamako. 1996. Ecole Nationale de Médecine, et de Pharmacie du Mali.
Ref Type: Thesis/Dissertation
34. Mohindra, A.R., Lee, M.W., Visvesvara, G. and al. (2002) Disseminated microsporidiosis in a renal transplant recipient. *transpl Infect Dis* **4**, 102-107.
35. Molina, J.M., Chastang, C., Goguel, J. and al. (1998) Albendazole fortreatment and prophylaxis of microsporidiosis due to *Encephalitozoon intestinalis* in patients with AIDS: a randomized double-blind controlled trial. *J Infect Dis* **177**, 1377.
36. Molina, J.M., Tourneur, M., Sarfati, C. and al. (2002) Fumagillin treatment of intestinal microsporidiosis. *N Engl J Med* **346**, 1963-1969.
37. Monkemuller, K.E. et al. (2000) Declining prevalence of opportunistic gastrointestinal disease in the era of combination antiretroviral therapy. *Am.J.Gastroenterol.* **95**, 457-462.
38. Muller, A., Bialek, R., Kamper, A., Fatkenheuer, G., Salzberger, B. and Franzen, C. (2001) Detection of microsporidia in travelers with diarrhea. *J Clin Microbiol.* **39**, 1630-1632.

39. Norhayati, M., Azlin, M., Al-Mekhlafi, M.H. and al. (2008) A preliminary study on the prevalence of intestinal microsporidiosis in patients with and without gastrointestinal symptoms in Malaysia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* **102**, 1274-1278.
40. Ouattara, A., Diarra, I., Minta, D. et al. (2002) Evaluation des tests diagnostiques et place de la microsporidiose intestinale à l'hôpital national du point G de Bamako (MALI). *Mali Médical* **3-4**, 41-45.
41. Oumar, A.A., Dao, S., Diallo, S. and al (2008) Prévalence des infections opportunistes au cours du SIDA en milieu hospitalier de Bamako, MALI. *Louvain Med* **127**, 12-17.
42. Salat, J. and Braunfuchsova, P. (2002) *Encephalitozoon cuniculi* and *Encephalitozoon intestinalis* causes of opportunistic infections. *Epidemiol Microbiol Immunol.* **51**, 26-32.
43. Sarfati, C., Liguory, O. and Derouin, F. (2001) Microsporidiosis. *Presse Med.* **30**, 143-147.
44. Sobottka, I., Schartz, D.A., Schottelius, J. and al. (1998) Prevalence and clinical significance of intestinal microsporidiosis in human immunodeficiency virus-infected patients with and without diarrhea in Germany: a prospective coprodiagnostic study. *Clin Inf Dis.* **26**, 475-480.
45. Sparfel, J.M., Auguet, J.L. and Miegerville, M. (1998) Optimisation du diagnostic parasitologique des microsporidioses intestinales humaines. *Bull Soc Path Ex* **91**, 138-148.
46. Svenungsson, B., Lagergren, A., Ekwall, E. and al. (2000) Enteropathogens in adult patients with diarrhea and healthy control subjects: a 1-year prospective study in a Swedish clinic for infectious diseases. *Clin Inf Dis.* **30**, 770-778.
47. Thellier, M., Biligui, S., Desportes-Livage, I., Accoceberry, I. and Datry, A. (2001) Monoclonal Antibody Enabling the diagnosis of *Encephalitozoon intestinalis* in Fecal Specimens : Importance of the mode of selection of hybridomas. *J Eukaryot Microbiol* 71-72.
48. Tumwine, J.K., kekitiinwa, A., Bakeera-kitaka, S. and al. (2005) Cryptosporidiosis and microsporidiosis in Ugandan children with persistent diarrhea with and without

- concurrent infection with the human immunodeficiency virus. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* **73**, 921-925.
49. Van Gool, T. and Luderhoffs and Nathoo (1995) High prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* infections among HIV-positive individuals with persistent diarrhea in Harare, Zimbabwe. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **89**, 478-480.
 50. Van Gool, T., Vetter, J.C.M., Weinmayr, B. and al. (1997) High seroprevalence of *Encephalitozoon* species in immunocompetent subjects. *J Infect Dis* **175**, 1020-1024.
 51. Van Hal, S.J., Muthiah, Matthews, G. et al. (2007) Declining incidence of intestinal microsporidiosis and reduction in AIDS-related mortality following introduction of HAART in Sydney, Australia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* **101**, 1096-1100.
 52. Viriyavejakul, P., Nintasen, R., Chaisri, U., and al. High prevalence of microsporidium infection in HIV-infected patients. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 40(2), 223-228. 2009.
Ref Type: Abstract
 53. Viviane, G. (2007) microsporidies. In *Parasitologie* (Viviane, G., ed.), pp. 40-44, De Boeck Université, Bruxelles
 54. Werry, M. (1995) Le groupe des microsporidies (Microsporidia). In *Protozoologie médicale* pp. 209-213, De Boeck et Larcier S.A., Bruxelles
 55. Wikipedia. BAMAKO. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Bamako> . 20-1-2010. 1-2-2010.
Ref Type: Electronic Citation
 56. William, G.R., Sampson, M.A., Shutler, D. and Rogers, R.E. (2008) Does fumagillin control the recently detected invasive parasite *Nosema ceranae* in western honey bees (*Apis mellifera*)? *J Invertebr Pathol.* **99**, 342-344.
 57. Wittner, M. and Weiss, L.M. (1999) *The Microsporidia and Microsporidiosis.*, ASM Press, Washington, DC.
 58. Wyplosz, B. (2007) SIDA-Complications digestives basses. In *Guide de Thérapeutique* (Perlemuter, L. and Perlumter, G., eds.), pp. 1038-1041, Masson, Paris
 59. Zbinden, M., Lass, S., Refardt, D., Hottinger, J. and Ebert, D. (2005) *Octospora bayeri*: fumidil B inhibits

vertical transmission in daphnia magna. Exp Parasitol.
109, 58-61.

FICHE SIGNALETIQUE IDENTIFICATION SHEET

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : BATHILY

Prénom : Aboudramane

Nationalité : Malienne

Date de soutenance : 13 03 2010

Ville de soutenance : Bamako

Titre : Diagnostic de la microsporidiose chez les patients VIH diarrhéiques à Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Résumé

Ce travail avait pour but d'évaluer la microsporidiose chez les patients VIH diarrhéiques dans les sites de prise en charge du VIH à Bamako après l'instauration de la gratuité du traitement ARV en Juillet 2004.

Pour atteindre cet objectif nous avons effectué une étude transversale portant sur les séropositifs diarrhéiques de 4 structures sanitaires de prise en charge des personnes vivant avec le VIH/SIDA, le CHU GT, le CHU PG, le CESAC et l'USAC

commune V. Notre étude s'est déroulée de Juillet 2007 à Novembre 2008.

L'étude a porté sur 191 prélèvements qui ont bénéficié de la coloration de Weber et de l'IFI pour la recherche des microsporidies ainsi que de la PCR pour la confirmation des positifs.

Le taux de prévalence de la microsporidiose était de 5,76% signifiant une régression de cette parasitose ; le CHU GT avait la prévalence la plus élevée avec 8,22%, le CESAC était à 5,13%, le CHU PG à 4,17%. 100% de des patients positifs à la microsporidiose avaient un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/mm³ et 62,50% n'étaient pas sous ARV.

Mots Clés : Bamako, microsporidiose, diarrhées, VIH positif.

IDENTIFICATION SHEET

Name: BATHILY

First Name: Abou Dramane

Nationality: Malian

Date of defense: 13 03 2010

City of Defense: Bamako

Title: Diagnosis of microsporidiosis among HIV diarrheal patients in Bamako

Location of Repository: Library of the Faculty of Medicine Pharmacy and Dentistry.

Abstract:

This work was funded by ESTHER to assess the microsporidiosis among HIV-diarrheal patients in sites supported HIV in Bamako after the introduction of free ARV treatment in July 2004.

To achieve this goal we conducted a cross study on the HIV-positive diarrheal of 4 health facilities caring for persons living with HIV / AIDS: University Teaching Hospital of Gabriel Touré ,University Teaching Hospital of Point G, listening, care, hospitality and advice center; listening,

care, hospitality and advice Unity of town 5. Our study was conducted from July 2007 to November 2008.



The study focused on 191 samples that have benefited Weber's coloration and IFI for the detection of *microsporidia* and the PCR to confirm positives.

The prevalence of microsporidiosis was 5.76% meaning a decline of this parasitic disease, the GT Hospital had the highest prevalence with 8.22%, CESAC was 5.13%, the PG Hospital to 4.17%. 100% of patients positive for microsporidiosis had a CD4 count below 200 cells/mm³ and 62.50% were not on ARVs.

Keywords: Bamako, microsporidiosis, diarrheal, HIV positive.

ANNEXES

ANNEXE N°2

	LABORATOIRE CLINIQUE FMPOS/DEAP/MRTC/ PREMA-UNIT	
MODE OPERATOIRE NORMALISE (MON) POUR LA TECHNIQUE DE WEBER MODIFIEE A LA RECHERCHE DE MICROSPORIDIES		

Objet

Cette procédure décrit les différentes étapes de la technique de Weber modifiée.

Domaine d'Application

Cette procédure s'adresse à tout médecin, pharmacien ou interne en médecine ou en pharmacie, stagiaires travaillant dans le laboratoire clinique de l'unité PREMA

Historique

Version	objet de la Création	Date D'application
1.0	création du document	Janvier 2008

Approbation

Rédacteur		Signature	Date
Approbateur		Signature	Date
Approbateur		Signature	Date

Sommaire

- I- Principe
- II- Matériels et Réactifs
- III- Mesures de sécurité et de Protections
- IV- Techniques : Etapes par étapes
- V- Résultats et Interprétation
- VI- Inconvénients
- VII- Annexes
- VIII- Formation

I- Principe

Il est basé sur la coloration des spores de *microsporidies* en rouge ou rouge fuchsia par le Chromotrope 2R.

II- Matériels et Réactifs

- Lames porte-objet super Frost
- Crayon à papier
- Pipette Pasteur ou Pastette
- Gants
- Blouse
- Microscope optique

- Huile à immersion
- Agitateur magnétique
- Etuve
- Ethanol à 95%
- Méthanol
- Tamis ref : 05015072
Prolabo
- (Diamètre 100mm, hauteur 40mm, ouverture de maille 0,05mm)
- Chromotrope 2R ref : C3143
Sigma chimie
- Fast Green FCF Ref: F7252
Sigma chimie
- Phosphotungstic acid ref: P4006
Sigma Chimie
- Acide acétique glacial ref : 401422
Carlo Erba
- Acide acétique ref: A0140
PCH
- Alcool éthylique absolu ref UN1170
Carlo Erba
- Masques mini-toucan ref : 01746958
Prolabo

***Préparation des réactifs**

» Colorant de Weber

Prendre 6g Chromotrope 2R
 0,6g Fast green
 1, 4 Acide phosphotungstique

Ajouter au mélange 3 ml d'acide acétique glacial.

Laisser reposer 30mn à l'abri de la lumière,

Et ajouter enfin progressivement 100ml d'eau distillée

L'eau peut être ajoutée en premier, mais il faut alors déposer la préparation sur agitateur magnétique 15mn.

» Alcool acide 90° C

Alcool à 90° C 995,5l + 4,5ml acide acétique

» Ethanol à 95° C

Enlever 50 ml d'éthanol absolu ajouté 50 ml d'eau distillée

III- Mesures de sécurité et de Protection

Les précautions universelles de bonne pratique de laboratoire devraient être observées tout au long des différentes expériences. Tous les échantillons biologiques seront considérés comme potentiellement infectieux. Aussi, le port

des gants et des blouses est obligatoire. Après chaque expérience au laboratoire, on doit enlever les gants et se laver les mains avant de quitter le laboratoire.

IV- Techniques : Etapes par étapes

- Ecrire le numéro du patient sur la lame
- Déposer sur la lame identifiée une goutte ou 10µl du culot obtenu par la technique de Ritchie (cf. SOP)
- Laisser sécher à la température du labo
- Fixer au méthanol jusqu'à l'évaporation de celui-ci
- La solution colorante est chauffée préalablement sur une plaque chauffante jusqu'à obtenir 50°C (ou pendant 2 heures à 50° C à l'étuve) et doit être maintenue à cette température pendant toute la coloration.
- Plonger les lames 10mn dans le colorant (qui se trouve dans l'étuve à 50° C)
- Rincer rapidement à l'eau
- Différencier 10 secondes dans l'alcool acide en agitant légèrement
- Rincer rapidement à l'éthanol à 95° (jeter cette solution)
- Plonger 5mn dans une autre solution d'éthanol à 95°
- Laisser sécher les lames
- Lire au microscope à l'objectif 50 ou 100 à immersion

V- Résultats et interprétation

Les spores, bien visibles sur fond vert, sont colorées en rouge ou rouge fuchsia, de forme ovoïde avec une vacuole excentrée.

Certaines spores ont 2 vacuoles avec un pourtour réfringent. Nous pensons qu'il pourrait s'agir de spores altérées car elles apparaissent vides en microscopie électronique.

La majorité des bactéries est colorée en vert et peu, en rouge ou gris clair.

VI- Inconvénients



La lecture nécessite un microscopiste chevronné.

VII- Annexes

Cahier de paillasse

Fiches ESTHER

ANNEXE N°3

	LABORATOIRE CLINIQUE FMPOS/DEAP/MRTC/ PREMA-UNIT	
MODE OPERATOIRE NORMALISE (MON) POUR LA TECHNIQUE D'IFI A LA RECHERCHE DE MICROSPORIDIES		

Objet

Cette procédure décrit les différentes étapes de la technique d'IFI.

Domaine d'Application

Cette procédure s'adresse à tout médecin, pharmacien ou interne en médecine ou en pharmacie, stagiaires travaillant dans le laboratoire clinique de l'unité PREMA

Historique

Version	objet de la Création	Date D'application
1.0	création du document	Janvier 2008

Approbation

Rédacteur		Signature	Date
Approbateur		Signature	Date
Approbateur		Signature	Date

Sommaire

- I- Principe
- II- Matériels et Réactifs
- III- Mesures de sécurité et de Protections
- IV- Techniques : Etapes par étapes
- V- Résultats et Interprétation
- VI- Inconvénients
- VII- Annexes

I- Principe

Il est basé sur la mise en évidence des Ag-Ei et Ag-Eb par Immuno Fluorescence Indirect en utilisant le fluorochrome FITC.

II- Matériels et Réactifs

- Lames à 18 ou 10 puits
- Methanol
- P20, P1000 Eppendorf
- Acetone glace
- PBS 1x
- Ac-Ei, Ac-Eb
- Conjugué FITC

- Bleu Evans (à diluer au 1/200)
- Liquide de montage (glycérol)
- Chambre à incubation
- Filtres 50µm
- Crayon à papier
- Pipette Pasteur ou Pastette
- Pipette de 2-20µl
- Embouts de 20µl
- Gants
- Blouse
- Microscope optique à fluorescence équipé d'un dispositif de lumière photonique et d'un filtre.

***Préparation du conjugué**

Pour une lame de 18 puits : 400µl PBS + 4µl de conjugué + 4µl de bleu Evans au 1/200

III- Mesures de sécurité et de Protection

Les précautions universelles de bonne pratique de laboratoire devraient être observées tout au long des différentes expériences. Tous les échantillons biologiques seront considérés comme potentiellement infectieux. Aussi, le port des gants et des blouses est obligatoire. Après chaque expérience au laboratoire, on doit enlever les gants et se laver les mains avant de quitter le laboratoire.

IV- Techniques : Etapes par étapes

- Dépôt de 2-4µl de suspension (contrôles et selles).
- Sécher à l'étuve.
- Fixer au méthanol sans toucher les puits 5mn.
- Fixer dans l'acétone glacé 10mn à -20° C.
- Sécher à l'étuve.
- Hydrater avec une goutte de PBS /puits à la pastette pendant 5mn
- Aspirer à l'aide de la trompe à vide.
- Déposer les Ac-Ei, et Ac-Eb (20µl/puits).
- Incuber 30mn dans la chambre à température ambiante.
- Rinçage au PBS.
- Aspirer le PBS à l'aide de la trompe à vide (Répéter 2 fois l'opération rinçage-aspiration).
- Déposer le conjugué (20µl/puits).

- Incuber 30mn dans la chambre à température ambiante à l'abri de la lumière.
- Aspirer à l'aide de la trompe à vide.
- Rincer avec du PBS : passage d'un puits à l'autre.
- Monter avec le liquide de montage.
- Laisser 60mn à l'obscurité.
- Lire au microscope à fluorescence à l'objectif 100.

V- Résultats et interprétation

La coloration des spores est spécifique par la fluorescence franche très prononcée au niveau de la paroi sporale même quand la fluorescence est faible.

Les spores apparaissent en ver lumineux (étincelant) sur fond noir.

E. intestinalis à une forme en grain de riz de diamètre inférieur celui de *E. bienewisi* qui à une forme ovale ou arrondie.

VI- Inconvénients

Elle est une technique assez exigeante, et coûteuse.

VII- Annexes

Cahier de paillasse
Fiches ESTHER

SERMENT D'HIPPOCRATE

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette faculté et de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure au Nom de l'Être Suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que les considérations de religion, de nation, de race, de parti, ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je ne permettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

JE LE JURE