

Ministère de l'Éducation Nationale

République du Mali
Un peuple -Un but- Une Foi

Université de Bamako

Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Année : 2004 -2005

N°...../

TITRE

*ETUDE DE LA PREVALENCE DES CRYPTOSPORIDIOSES
ET DES MICROSPORIDIOSES CHEZ DES PATIENTS
INFECTES PAR LE VIH/SIDA DANS 4 CENTRES DE SUIVI
DE NIAMEY (NIGER)
A propos de 172 cas*

Présentée et soutenue publiquement le 05/07/2005 par

Mr ABDOULAYE GAMBO Moustapha

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

MEMBRES DU JURY :

PRESIDENT :

Professeur Amagana DOLO

MEMBRES :

Docteur KAMISSOKO Fanta TRAORE

CODIRECTEUR DE THESE :

Docteur Gay Adrieu Françoise

DIRECTEUR DE THESE :

Professeur Amadou DIALLO

INTRODUCTION

Les progrès thérapeutiques récents dans la prise en charge de l'infection par le Virus de Immunodéficience humaine (VIH) ont permis de diminuer notablement l'incidence des maladies opportunistes. Celles-ci n'ont toutefois pas disparus.

Les diarrhées sont extrêmement fréquentes chez les patients séropositifs ; aux Etats-Unis et en Europe, 50-60% des patients présentent un ou plusieurs épisodes de diarrhées liés à leur pathologie, ce pourcentage monte à plus de 90% chez les patients africains **[48]**

Au Niger la diarrhée est la troisième cause de morbidité. A l'Hôpital National de Niamey (HNN), le taux de mortalité dû aux diarrhées est supérieur à 20% en 2004 en milieu pédiatrique. **[25]** La présence d'une diarrhée chronique en milieu hospitalier en Afrique est hautement corrélée à l'infection VIH. Ainsi une étude faite au Mali en 1992 objective une prévalence de 77% de cas de diarrhée chronique chez les patients hospitalisés atteints par le SIDA. **[26]** Les étiologies de ces diarrhées sont nombreuses et ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche clinique et biologique.

Ces étiologies sont donc mieux connues, non seulement en occident mais aussi en Afrique où les diarrhées sont fréquentes, causes d'une lourde mortalité. Ces diarrhées sont attribuables, non seulement aux bactéries mais aussi aux coccidies et aux microsporidies.

La cryptosporidiose et la microsporidiose sont des affections opportunistes qui en raison des diarrhées qu'elles entraînent chez les sujets parasités sont assez souvent causes de décès chez les malades infectés par le VIH.

A l'occasion de ces diarrhées, la recherche de ces germes est, le plus souvent menée très tardivement, voire pas du tout ; leur présence dans les selles signe pourtant un stade critique de l'infection par le VIH.

Le dépistage précoce de ces parasites pourrait donc guider les praticiens dans les recommandations thérapeutiques pour assurer aux malades un mieux être tout en réduisant le risque de contamination d'autres sujets.

Il apparaît donc utile d'évaluer la prévalence des cryptosporidies et des microsporidies chez une population mixte (enfants et adultes) infectés par le VIH à Niamey et de mettre en route à l'HNN les différentes méthodes de diagnostic.

Pour réaliser ce travail, nous nous sommes fixé les objectifs suivants :

Objectif général :

Etudier la prévalence des cryptosporidies et des microsporidies chez des sujets infectés par le VIH et suivis dans 4 centres prescripteurs d'ARV de Niamey (Niger).

Objectifs spécifiques :

- Déterminer la prévalence de la cryptosporidiose chez des patients infectés par le VIH présentant une diarrhée ou non et suivie dans l'un des 4 centres prescripteurs d'ARV de Niamey (CTA, CESIC, HNN, HNL).
- Déterminer la prévalence de la microsporidiose chez les séropositifs dans 4 centres de suivi de Niamey
- Corréler la présence de ces parasites à la diarrhée.

- Corréler la présence de ces parasites au taux de CD4.
- Mettre en route les méthodes de recherche des microsporidies et des cryptosporidies à l'HNN.
- Faire des recommandations pour limiter la survenue de ces parasitoses opportunistes.

1.1. CRYPTOSPORIDIES

Les cryptosporidies sont des protozoaires intracellulaires, infectant l'épithélium digestif de l'Homme et de nombreuses espèces animales. Chez l'homme, *Cryptosporidium* est responsable de la cryptosporidiose qui se manifeste par des diarrhées bénignes, spontanément résolutive chez les sujets immunocompétents, et de diarrhées sévères et incoercibles, menaçant gravement le pronostic vital chez les patients immunodéprimés parmi lesquels les patients infectés par le VIH.

1.1.1. HISTORIQUE [27, 40, 45]

Cryptosporidium est un parasite connu des vétérinaires depuis plusieurs années.

La première observation de la maladie a été faite par Tyzzer en 1907 sur des souris de laboratoire. Il a décelé le parasite au niveau de la muqueuse gastrique de la souris.

En 1912, Tyzzer a considéré que chez la souris le parasite retrouvé dans les biopsies intestinales était *Cryptosporidium parvum*.

En 1920 il a retrouvé *Cryptosporidium sp.* chez le lapin. Il l'a nommé *Cryptosporidium tyzzeri*. Dans la même année, Triffit a retrouvé *Cryptosporidium sp.* dans le cæcum du poulet et chez le serpent.

En 1955, Slavin a isolé une autre espèce de *Cryptosporidium* chez la dinde : *Cryptosporidium meleagridis*.

Barupt, en 1964, a décrit *Cryptosporidium sp.* chez le dingo où les oocystes sont détectés dans les selles.

En 1966, Jervis et coll., ont décrit chez le cobaye *Cryptosporidium wrairi*.

En 1971, Panciera et coll. ont observé *Cryptosporidium* chez le veau tandis que Barker et Carbonella l'ont observé chez le chevreau et l'agneau.

En 1972, Kovatsh et weit ont isolé *Cryptosporidium sp.* chez le singe rhésus.

Levine, en 1973, a tenté de classer les cryptosporidies.

Proctor et Kem ont retrouvé *Cryptosporidium sp* chez l'oie en 1974.

C'est en 1976 que *Cryptosporidium* a été détecté pour la première fois chez l'homme. Deux premiers cas de cryptosporidiose humaine ont été observés par Nim et coll., et par Meisel et coll.

On a montré que les cryptosporidies d'origine humaine étaient infectieuses pour les bovins et les agneaux. [42, 43]

On a aussi incriminé d'autres espèces de *Cryptosporidium*, comme *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium canis*, *Cryptosporidium muris* et *Cryptosporidium meleagridis*, dans des infections humaines. [27]

Depuis, les recherches se sont multipliées pour une meilleure connaissance de cette parasitose.

1.1.2. TAXONOMIE

Le genre *Cryptosporidium* est un parasite unicellulaire (protozoaire) donc appartenant au règne des protistes, embranchement des Apicomplexa, classe des Coccidea, ordre des Eimariida, famille des Cryptosporiidae [38].

Environ 20 espèces de *Cryptosporidium* ont été décrites mais seulement 10 sont généralement reconnues.

La principale est *C. parvum*, avec à ce jour huit génotypes identifiés chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages, dont deux sont infectieux pour l'homme (génotypes I et II) [19]. Des cas de contamination par les autres espèces de *Cryptosporidium* ont été également rapportés.

Bien que l'on ait proposé de nombreux noms d'espèces en fonction de l'identité de l'hôte, la plupart des isolats de *Cryptosporidium* de mammifères, y compris les isolats humains, sont similaires à *C. parvum* décrit par Tyzzer (1907, 1912) [41].

On reconnaît actuellement 10 espèces valides [21] : *C. parvum*, *C. muris*, *Cryptosporidium andersoni*, *C. felis* et *C. wrairi*, qui infectent les mammifères ; *Cryptosporidium baileyi* et *C. meleagridis*, qui infectent les oiseaux ; *Cryptosporidium septentis* et *C. saurophilum*, qui infectent les reptiles ; et *Cryptosporidium nasorum*, qui infecte les poissons [36].

1.1.3. EPIDEMIOLOGIE

C. parvum est généralement considéré comme étant la principale espèce responsable de la maladie clinique chez les humains et les animaux domestiques ; la transmission zoonotique est possible, particulièrement chez les agneaux, les chèvres, les oiseaux, les chevaux et les singes.

1.1.3.1. STATUT EPIDEMIOLOGIQUE

C'est une parasitose cosmopolite, observée sous forme sporadique ou épidémiologique.

Les taux d'infection varient entre 0,6 et 2 % dans les pays industrialisés et entre 4 % et 32 % dans les pays en développement [19].

Des taux plus élevés ont été observés chez des sujets atteints du SIDA et présentant une diarrhée chronique (3 % à 20 % aux Etats-Unis, 50 % à 60 % en Afrique et à Haïti) [19].

De nombreuses épidémies ont été signalées et rapportées à plusieurs origines :

- contamination de réservoirs d'eau destinés à la consommation humaine par exemple Milwaukee, 403000 cas [19].
- contaminations accidentelles de l'eau ou des aliments (jus de pomme) ;

- contamination interhumaine directe : épidémies familiales ou de collectivité (crèche) ;
- contamination des eaux récréatives (ex : piscine) ;
- contamination directe avec des animaux infectés.

1.1.3.2. RESERVOIR

Pour *C. parvum*, il s'agit principalement de jeunes bovins, ovins et caprins pour le génotype II et de l'homme pour le génotype I.

Les animaux adultes sont également réservoirs mais les niveaux d'excrétion sont beaucoup plus faibles (portage asymptomatique possible).

De nombreux vertébrés sauvages (en particulier cervidés) et domestiques sont porteurs d'autres génotypes de *C. parvum* et d'autres espèces de *Cryptosporidium*.

La dose infectante 50 % (ID50) pour l'adulte immunocompétent varie de moins de 10 à plus de 1000 oocystes en fonction de la souche [19].

Chez l'homme immunodéprimé, l'ID50 n'est pas connue, mais elle est de 1 à 5 oocystes chez l'animal immunodéprimé [19].

1.1.3.3. MODE DE TRANSMISSION

L'origine de la contamination est fécale à partir d'un hôte (homme ou animal) infecté.

La transmission peut être directe par l'ingestion d'oocystes par l'intermédiaire des mains sales ou indirecte par ingestion d'eau ou de nourriture contenant des oocystes.

La période d'incubation est de 5 à 11 jours en moyenne suivant les souches (minimum : 3 jours, maximum : 22 jours) [19].

Les oocystes éliminés dans les selles sont immédiatement et directement infectants.

Ils sont émis dans les selles dès l'apparition des premiers symptômes de la parasitose et persistent pendant plusieurs semaines après la disparition des symptômes.

1.1.4. CYCLE PARASITAIRE

Cryptosporidium sp. présente un cycle monoxène ou direct (cycle à un seul hôte) [4].

Ce cycle se déroule dans l'épithélium intestinal, plus rarement respiratoire. L'étape la plus importante de son cycle de vie est celle de l'oocyste rond, à paroi épaisse, stable dans l'environnement et d'un diamètre de 4 à 6 µm.

Il arrive parfois qu'il ait une suture externe visible ; on peut colorer les noyaux des sporozoïtes à l'aide d'un colorant fluorogénique tel le 4', 6-diamidino-2-phénylindole [27].

Il a été démontré en laboratoire que les oocystes de *Cryptosporidium* survivaient dans les eaux froides (4 °C) pendant une période pouvant atteindre 18 mois [27].

Robertson *et al.* ont en 1992 [27] signalé que les oocystes du *C. parvum* pouvaient résister à toutes sortes de contraintes environnementales, y compris à la congélation (viabilité fortement réduite) et à l'exposition à l'eau de mer. Lorsqu'il est ingéré par les humains, le parasite achève son cycle de vie dans le tube digestif.

L'ingestion déclenche le désenkystement de l'oocyste et libère quatre sporozoïtes, qui adhèrent à la surface épithéliale du tube digestif.

Le sporozoïte se transforme rapidement et les différents stades de développement du parasite sont intracellulaires, mais extra cytoplasmiques inclus dans une vacuole parasitophore.

Toutes les phases présentent une organelle nourricière qui est, tout comme le corps du parasite, protégée par une membrane externe.

On ignore si la membrane externe provient de la cellule hôte (intracellulaire) ou si elle est d'origine parasitaire (extracellulaire).

Le sporozoïte se reproduit de façon asexuée et se transforme en gamète.

Certains de ces gamètes libèrent des microgamètes, qui fécondent d'autres macrogamètes pour former des zygotes (**Figure 1**)

Un petit nombre de zygotes conservent une mince paroi cellulaire, qui se rompt après le développement des sporozoïtes pour entretenir l'infection chez l'hôte.

Chez la majorité des zygotes, il se forme une épaisse paroi cellulaire et quatre sporozoïtes, qui deviennent des oocystes et sont évacués dans les fèces.

La durée du cycle varie de 48h à 10-14 jours selon l'hôte.

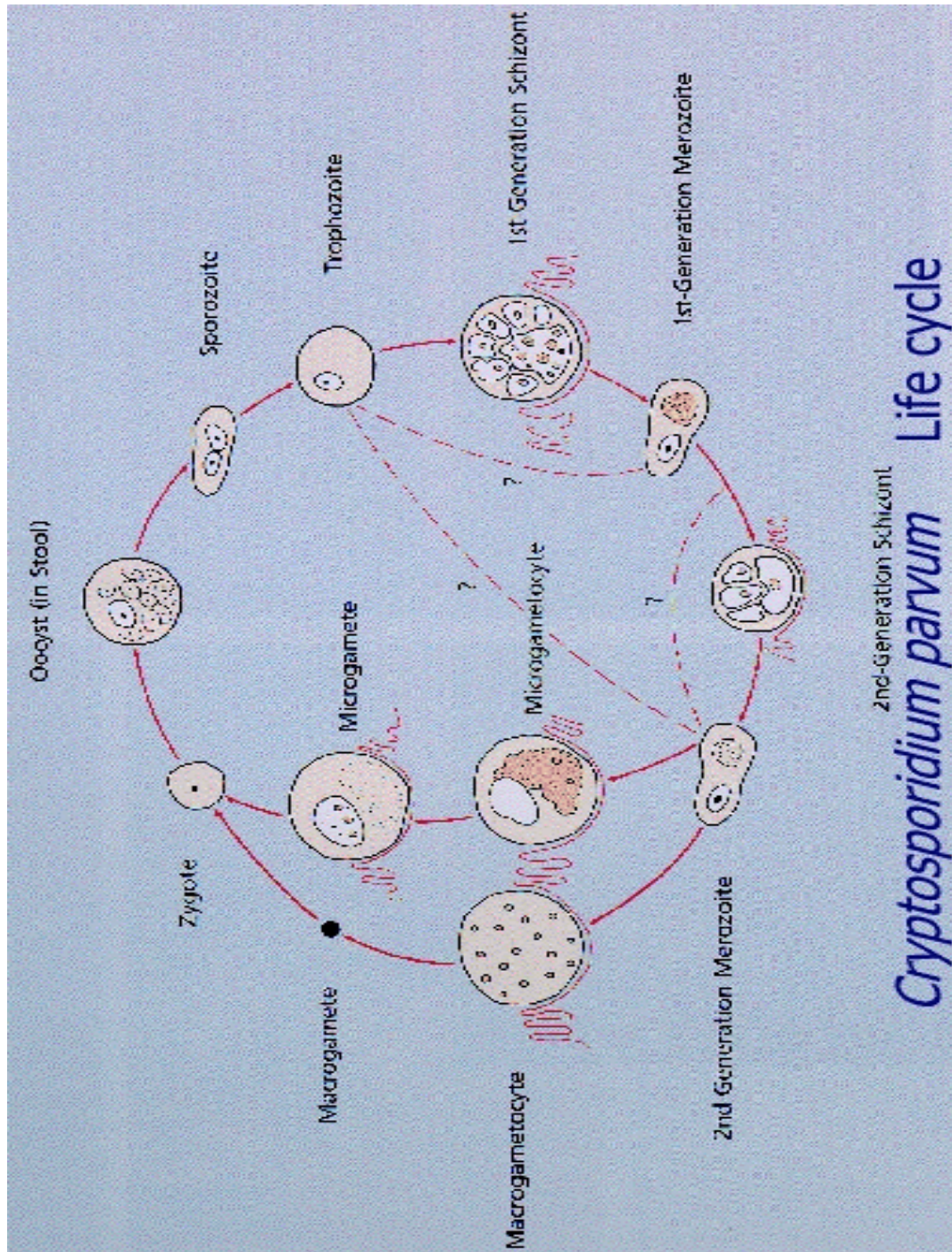


Figure 1 : Cycle de *Cryptosporidium parvum*

Source: *Enterocytozoon life cycle from the Atlas of foundation Medical parasitology.*

1.1.5. MANIFESTATIONS CLINIQUES

Cryptosporidium sp. est considéré comme un entéropathogène fréquent en médecine humaine et vétérinaire.

Chez l'Homme, la cryptosporidiose est de gravité variable ; le tableau clinique de la cryptosporidiose est dominé par une diarrhée hydrique dont l'intensité varie selon le statut immunitaire du sujet [9].

1.1.5.1. CHEZ LE SUJET IMMUNOCOMPETENT

Il s'agit le plus souvent des enfants ; à ce niveau *Cryptosporidium* peut provoquer une diarrhée aqueuse faite de 5 à 10 selles par jour ; des crampes, des douleurs abdominales, une perte de poids, une anorexie, un ballonnement et un malaise et, dans certains cas, des nausées, des vomissements, de la fièvre et des myalgies.

Les symptômes sont spontanément résolutifs (5 jours en moyenne).

1.1.5.2. CHEZ LE SUJET IMMUNODEPRIME

Si le portage sain est fréquent chez les sujets immunocompétents, il n'en est pas de même chez les immunodéprimés. En effet chez ces derniers, en particulier chez les personnes atteintes du SIDA ; lorsque les lymphocytes CD4 sont supérieurs à 150/mm³, les patients se comportent comme les immunocompétents vis-à-vis de la cryptosporidiose.

A un stade de déficit immunitaire sévère (CD4 < 100/mm³), les patients développent une infection chronique grave les faisant entrer au stade SIDA.

La cryptosporidiose est inaugurale dans environ 50 % des cas. Différentes entités cliniques peuvent être individualisées.

1.1.5.2.1. Cryptosporidiose digestive

La diarrhée est au premier plan : diarrhée liquide, cholériforme, non sanglante, incoercible, faite de 10 à 20 selles par jour et pouvant entraîner une déperdition liquidienne de plus de 10 litres.

L'évolution se fait vers une aggravation progressive avec perte de poids importante.

La cachexie extrême peut entraîner la mort du patient.

Il peut exister une insuffisance rénale fonctionnelle et un syndrome de malabsorption.

La localisation duodénale peut se compliquer d'une atteinte biliaire avec tableau de cholangite sclérosante et de cholécystite alithiasique provoquant des douleurs invalidantes.

Dans les formes invasives, tout le tractus digestif peut être infesté par *C. parvum*. Dans les localisations digestives hautes, *C. muris* peut être rencontré.

1.1.5.2.2. Cryptosporidiose pulmonaire

Lors d'infestation digestive massive, il peut exister un envahissement pulmonaire par contiguïté.

Les pneumopathies interstitielles sont décrites avec présence d'oocystes dans le lavage bronchiolo-alvéolaire.

Toutefois il existe la plupart du temps un agent pathogène associé dont le traitement assure la guérison ; la pathogénicité dans cette localisation reste donc discutée.

1.1.6. LES METHODES DIAGNOSTIQUES

Le diagnostic de certitude est obtenu par la mise en évidence d'oocystes par examen microscopique dans les frottis fécaux, liquide biliaire ou duodéal après coloration par la méthode de Ziehl Neelsen modifié (ZNM) ou un marquage par un anticorps monoclonal fluorescent. Une recherche histologique peut être réalisée sur biopsie duodénale ou des voies biliaires.

Ce diagnostic n'est pas réalisé en pratique courante en cas de diarrhée, sauf chez les patients atteints de SIDA ou dans un contexte épidémique.

1.1.6.1 Diagnostic parasitologique

Il repose sur la mise en évidence des oocystes du parasite dans les produits pathologiques (selles, les liquides d'aspiration jéjunale).

Les meilleures techniques sont celles qui colorent le parasite lui-même plutôt que celles avec lesquelles le parasite apparaît en contraste de phase.

- Les techniques de coloration

- Le lugol à 2 % fait apparaître les oocystes de *Cryptosporidium sp* en clair sur fond brun et les levures sont colorées en brun [9].
- Le Giemsa fait apparaître les oocystes de *Cryptosporidium sp* en rose à violet foncé et les sporozoïtes en rouge [12]. Cependant il est souvent difficile de les différencier avec d'autres éléments de la selle.
- La coloration de Henriksen-Poblentz ou ZNM.
- Semble offrir le meilleur rapport entre simplicité et fiabilité.

Les oocystes apparaissent sur le fond vert de la préparation comme des éléments sphériques de 3 à 5 µm de diamètre rouge brillant.

Certains d'entre eux peuvent être de couleur rose. La paroi est épaisse, le cytoplasme est finement granuleux avec une zone centrale souvent plus claire. Le corps résiduel et les sporozoïtes, sont colorés en brun et

nettement visibles. Les levures qui ne prennent pas la coloration apparaissent uniformément colorées en vert.

- **L'immunofluorescence directe**

Cette technique permet de bien différencier sur le fond rougeâtre de la préparation les oocystes de fluorescence vert pomme.

Le test Monofluo kit *Cryptosporidium* permet cette détection des oocystes de *Cryptosporidium sp.* directement sur frottis de selles par une technique d'immunofluorescence directe en utilisant un anticorps monoclonal spécifique du parasite marqué à la fluoresceïne.

- **Technique de concentration**

La technique de Ritchie est de loin la plus employée. C'est une technique diphasique qui permet l'examen des frottis obtenus à partir du culot de centrifugation après coloration. En effet l'enrichissement de Ritchie est associé avec la coloration de ZNM pour le diagnostic des cryptosporidies.

- **Examen anatomopathologique**

Il a été longtemps le seul utilisé pour révéler la parasitose chez l'homme et chez l'animal [12]. Les biopsies sont effectuées au niveau de l'estomac, du duodénum, du jéjunum, du colon et du rectum.

Cet examen permet de poser le diagnostic, lorsque les parasites sont rares et l'élimination intermittente des oocystes dans les selles rend le diagnostic parasitologique difficile.

1.1.6.2. Diagnostic sérologique (Pas utilisés en pratique)

Les anticorps anti-*Cryptosporidium sp.* sont présent chez de nombreuses espèces animales [9,12,20]. Ils apparaissent habituellement vers le 14^{ème} jour de l'infestation, atteignent leur taux maximum en 2 à 3 mois et persistent plus

d'un an. Pour leur détection, on utilise la technique de l'Immunofluorescence indirecte (IFI). Cependant il faut noter que les taux d'anticorps obtenus sont très bas chez les immunodéprimés à un stade avancé de la maladie. Il existe aussi des réactions croisées avec une autre coccidie zooanthropotique : *Toxoplasma gondii* [9,12,20].

1.1.7. TRAITEMENT

Il n'existe malheureusement aucun traitement d'efficacité indiscutable dans les infections à *C. parvum* qui sont responsables de diarrhées chroniques invalidantes chez les patients infectés par le VIH. Un grand nombre d'études comparatives ont été réalisées, mais les résultats sont discordants.

Les difficultés d'interprétation des résultats de ces études sont en partie liées à l'émission intermittente des spores de cryptosporidies dans les selles, ce qui rend difficile l'interprétation des critères de jugement parasitologique.

Cependant, l'utilisation de la paromomycine (aminoside non absorbable ; Humatin®) à raison de 2 g par jour pendant 4 semaines semble pouvoir procurer chez certains patients un bénéfice clinique, voire parasitologique [46]. L'association à l'azithromycine (600 mg/j) a également été proposée [36].

En cas de réponse, un traitement d'entretien par la paromomycine (500 mg deux fois par jour) semble souhaitable. La nitazoxanide (NTZ) pourrait avoir une efficacité chez les patients non infectés par le VIH, à la posologie de 1 à 2 g/jour. Une seule étude a retrouvé une réduction du risque de cryptosporidiose chez les patients recevant en prophylaxie de la rifabutine ; les données sont,

pour le moment, insuffisantes pour établir des recommandations en prophylaxie primaire (sur le plan thérapeutique).

Ce produit a aussi manifesté une activité anti-cryptosporidiose chez les patients en phase SIDA avancée (moins de 10 CD4/mm³ au cours d'études effectuées au Mali et au Mexique).

Les participants à l'essai effectué au Mali ont été infectés avec d'autres parasites que *C. parvum*, et à la différence de la plupart des patients souffrant du SIDA aux Etats-Unis, les Maliens n'ont pas reçu de traitement ARV. Néanmoins, après une semaine de NTZ (500mg deux fois par jour), les deux tiers des 24 patients ont manifesté une amélioration clinique et une élimination des cryptosporidies [18].

Toutefois, la reconstitution immunitaire sous trithérapie a permis de contrôler efficacement les infections à cryptosporidies. Un traitement antirétroviral efficace constitue donc aujourd'hui la principale thérapie de ces infections.

1.2. MICROSPORIDIES

Les microsporidies sont des agents infectieux appartenant au groupe des parasites unicellulaires et dont les analyses phylogéniques indiquent qu'il s'agit de microorganismes proches des levures.

Ce sont des microorganismes intracellulaires stricts, amitochondriaux, présentant un cycle complexe de développement et de maturation intracellulaire et une forme sporulée de résistance en milieu extracellulaire.

Les microsporidies sont connues surtout parce qu'elles infectent assez fréquemment les insectes, les poissons et les mammifères, mais on n'en parle en médecine humaine que depuis les années 1980. [6]

Leur apparition récente en pathologie humaine en fait un type de pathogène émergent.

1.2.1 HISTORIQUE

Les microsporidies furent observées pour la première fois par Naegeli en 1838 [22].

Responsable de la pébrine dans les années 1850, elles ont initialement retenu l'attention des vétérinaires, car elles peuvent infecter la plupart des espèces animales.

Elles n'étaient en revanche qu'exceptionnellement observées chez l'homme. Avant l'apparition du SIDA, moins d'une dizaine de cas humains avaient été identifiés.

Le premier cas fut décrit en 1922 par Tores au Brésil [22].

Depuis 1985, date à laquelle Desportes Livage rapporta le premier cas de microsporidiose due à l'espèce *Enterocytozoon bienewisi* chez un patient infecté par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), les publications se sont multipliées parallèlement au développement du SIDA, atteignant une prévalence de 7 à 50 % [6].

Une autre espèce de microsporidies (*Encephalitozoon intestinalis*), localisée dans l'épithélium de la lamina propria de l'intestin grêle de sujets atteints de SIDA, est à l'origine de quelques autres cas de microsporidioses décrits aux Etats-Unis par Orenstrein et coll. en 1992 [26].

La mise en évidence récente, fréquente chez les patients infectés par le VIH a entraîné un regain d'intérêt pour ces parasites

1.2.2 TAXONOMIE

Les microsporidies sont des protozoaires unicellulaires, eucaryotes dépourvus de mitochondries et de peroxyosomes ; elles possèdent un ARN ribosomal de type bactérien dont le séquençage fait supposer une séparation phylogénique très précoce au sein des eucaryotes.

Elles sont présentes chez les protistes libres (ciliés) ou parasites [6] et chez les métazoaires libres ou parasites : myxosporidies, plathelminthes, insectes, crustacés, poissons, oiseaux, mammifères.

Plus de 1300 espèces de microsporidies ont été décrites selon Larson [6].

Elles sont réparties en 144 genres et constituent le phylum des Microspora.

Trois genres sont plus particulièrement responsables d'infection chez l'homme.

- le genre *Enterocytozoon* ne comportant qu'une espèce : *E. bienewisi*.
- le genre *Encephalitozoon* comportant trois espèces : *E. hellem*, *E. intestinalis* et *Encephalitozoon cuniculi*.
- le genre *Nosema* comportant huit espèces dont seule l'espèce *Nosema corneum* est isolée en pathologie humaine.

1.2.3 EPIDEMIOLOGIE

1.2.3.1 STATUT EPIDEMIOLOGIQUE

C'est une parasitose cosmopolite et endémique, observée principalement au cours du SIDA et à une fréquence moindre, chez les transplantés d'organe.

La prévalence de la microsporidiose est probablement sous estimée car les microsporidies ne sont pas recherchées systématiquement et leur identification reste difficile.

Au cours du SIDA elle atteint principalement les sujets très immunodéprimés dont le taux de CD 4 sanguin est $< 50/\text{mm}^3$.

En Europe et en Amérique du nord, des taux d'infection atteignant 30% ont été observés chez des sujets au stade SIDA présentant une diarrhée chronique [15].

L'utilisation des traitements anti-rétroviraux (ARV) conduisant à une reconstitution immunitaire partielle a réduit considérablement cette incidence.

Quelques cas ont été rapportés chez des sujets immunocompétents au retour d'un voyage en Afrique et au Moyen-orient principalement [15].

Sur les 1300 espèces de microsporidies identifiées, seulement douze ont été rapportées en pathologie humaine, dont essentiellement deux, à savoir, *Enterocytozoon bieneusi* surtout, et dans une moindre mesure ; *Encephalitozoon sp.*

1.2.3.2 RESERVOIR

L'homme est à l'heure actuelle le seul réservoir de parasites connu. Le rôle d'un réservoir animal (le porc par exemple) est suspecté mais non prouvé par des études génotypiques.

Il est possible que *E. bienewisi* soit présente dans l'eau et infectent les personnes fragilisées à partir de l'eau de baignade ou de l'eau de boisson ; les perruches et les perroquets domestiqués sont une source potentielle d'infection par *E. hellem*.

1.2.3.3 MODE DE TRANSMISSION

Les spores présentes dans les selles sont directement infectantes.

L'origine de la contamination est fécale à partir d'un hôte sujet infecté.

La transmission peut être directe par l'ingestion de oocystes par l'intermédiaire des mains sales ou indirectement par ingestion d'eau ou de nourriture contenant des oocystes

Une contamination par voie aérienne semble possible.

1.2.4 CYCLE PARASITAIRE

La contamination s'effectue à partir des spores infestantes dès leur émission.

Durant cette phase, ce sont les spores de microsporidies qui entrent en contact avec un hôte, le plus souvent par voie digestive, plus rarement par voie aérienne et exceptionnellement par contact directe (traumatisme, inoculation directe au niveau cornéen par voie aérienne ou probablement par l'intermédiaire des doigts souillés).

La spore renferme un filament polaire enroulé en spirale accroché d'une part à un disque d'ancrage situé à l'apex de la cellule et d'autre part au sporoplasme (Forme infestante composée du cytoplasme et du noyau).

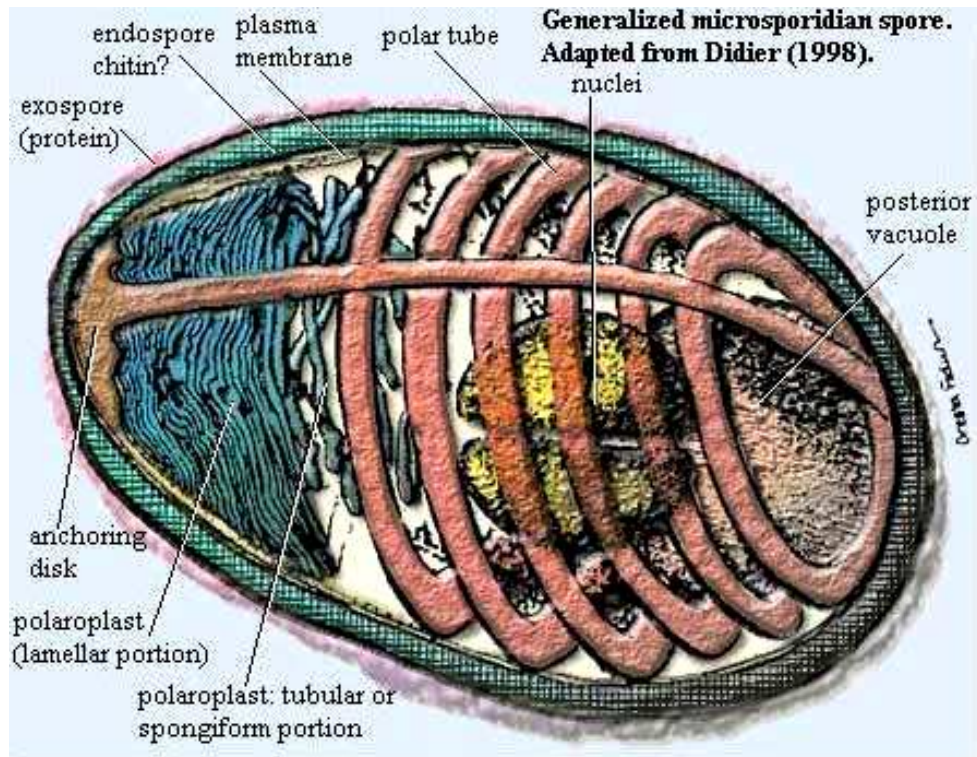


figure 2 : La spore microsporidienne

Source: *Enterocytozoon life cycle from the Atlas of foundation Medical parasitology.*

L'infection de la cellule cible se fait par l'accrochage du filament polaire qui se détend comme un ressort et permet l'extrusion du sporoplasme par effraction de la membrane plasmatique ou par endocytose.

Le développement intracellulaire peut alors commencer.

Après intrusion dans la cellule, le sporoplasme devient trophozoïte et va se multiplier aboutissant à la formation d'un méronte.

Les mérozoïtes résultant de cette schizogonie entreprennent ensuite un autre cycle de multiplication gamétogonique produisant un sporonte constitué de sporocystes.

Après maturation, ces derniers deviennent des spores infestantes qui seront libérées dans le milieu extérieur par lyse cellulaire (**figure 2**).

1.2.4. MANIFESTATIONS CLINIQUES

Parasitoses opportunistes, les microsporidioses sont essentiellement observés chez les patients infectés par le VIH présentant une profonde immunodépression (lymphocytes CD4 < 100/mm³ et index de Karnofsky très bas).

Elles sont plus rarement décrites dans d'autres déficits immunitaires : cancéreux, greffés.

Le portage asymptomatique fécal a été également signalé [22].

1.2.5.1. CHEZ L'IMMUNOCOMPÉTENT

Les microsporidies ne provoquent qu'exceptionnellement des pathologies chez les personnes immunocompétentes. Une dizaine de cas sont rapportés dans la littérature, dont de rares cas de diarrhées transitoires avec, malgré tout, possibilité d'une atteinte systémique ou localisée grave comme par exemple, des atteintes cornéennes à *Nosema*. Quatre cas d'atteintes graves de la cornée causées par *Nosema corneum* ont été décrits [6].

Il s'agit de quatre personnes immunocompétentes dont trois ont vécu ou séjourné en régions tropicales. L'origine d'une telle infection reste inconnue.

Dans un cas néanmoins, on mentionne la notion de traumatisme oculaire.

L'atteinte unilatérale se présente sous forme de kératite nécrosant avec risque d'ulcère perforé et de cécité [6].

De même, dans une autre publication, un seul cas de syndrome diarrhéique aigu et limité a été rapporté ; le jeune patient immunocompétent, revenait d'un voyage en Egypte [6].

1.2.5.2. CHEZ L'IMMUNODEPRIME

A l'opposé du cas précédent, chez les patients immunodéprimés et surtout depuis l'augmentation de l'incidence du SIDA, le nombre de cas rapportés est beaucoup plus élevé.

Les deux grands types de pathologies décrites sont les diarrhées chroniques (surtout *E. bienewisi*) et les atteintes oculaires (surtout *Encephalitozoon sp.*).

Mais les microsporidies causent un éventail d'autres pathologies moins fréquentes avec des manifestations cliniques fort divers [6].

1.2.5.2.1. LES DIARRHEES CHRONIQUES

Elles sont au premier rang des pathologies digestives causées par les microsporidies.

Chez les patients atteints du SIDA souffrant de cette manifestation clinique, la prévalence des microsporidies intestinales (*E. bienewisi* et *E. intestinalis*) peut s'étendre de 7 à 50% [6].

E. bienewisi peut causer, à un stade avancé de l'immunodéficience, des diarrhées chroniques évoluant lentement mais de façon continue, menant à la malnutrition et à la déshydratation.

Le patient présente, assez souvent des nausées et des vomissements sans pyrexie.

L'appétit est conservé mais la prise alimentaire aggrave ces diarrhées [6,16].

Des cas de cholangite sclérosante et de cholécystite alithiasique provoqués par *E. bienewisi* ont également été rapportés [6].

E. intestinalis a été identifié dans environ 3% des biopsies intestinales de patients VIH positif, atteint de diarrhée chronique [6].

On retrouve le parasite au niveau des entérocytes ou au sein des macrophages, des polynucléaires neutrophiles et des fibroblastes de la lamina propria [6].

1.2.5.2.2. ATTEINTES OCULAIRES

Le genre *Encephalitozoon* peut provoquer des kéro-conjonctivites bilatérales chez des patients atteints du SIDA.

Les plaintes sont des impressions de corps étrangers intraoculaires, vision trouble et photophobie.

Cette kératite superficielle semble se transmettre par contact avec de petits animaux domestiques.

Les deux espèces responsables de cette pathologie sont *Encephalitozoon cuniculi* et *E. hellem* [6].

1.2.5.2.3. AUTRES INFECTIONS

Une série de publication relate des infections très variées [6].

Ainsi, *E. intestinalis*, *E. hellem* et *N. connori* ont été décrits dans les infections disséminées (atteignant de multiples organes)

Chez les patients atteints de l'infection à VIH à un stade avancé, la dissémination de *E. intestinalis* s'est manifestée chez un patient par des diarrhées, une perte de poids de 7Kg, des douleurs abdominales, de la toux et une hyperthermie.

Deux cas de myosites avec fièvre, myalgies importantes, faiblesse, perte de poids causé par *Pleistophora* (autre espèce de microsporidie, mal connue) ont été rapportés chez des patients atteints du SIDA.

On observe, pour le genre *Encephalitozoon*, un spectre fort large de pathologie : bronchiolites ; sinusites ; névrites ; cystites ; hépatites ; péritonites [6].

Aussi *E. intestinalis* peut infecter les appareils urinaire et respiratoire et donner des rhino-sinusites chroniques, lors de dissémination [6].

D'autre part, *E. bienewisi* semble être responsable de rhinites et a pu être isolé dans le tractus respiratoire d'un patients atteint d'une infection pulmonaire symptomatique [6].

Cependant, aucun lien de cause à effet à ce sujet n'a pu être mis en évidence [6].

1.2.5. LES METHODES DIAGNOSTIQUES

Le diagnostic parasitologique repose sur la mise en évidence des spores extracellulaires dans les liquides biologiques ; selon la localisation de l'infection : selles, liquide duodénal, bile, urines, sécrétion nasale, liquides de ponction sinusale ou pleurale, lavage bronchoalvéolaire, grattage cornéen...

Le diagnostic des infections à microsporidies est devenu fort utile dans le cadre du suivi des patients immunodéficients, et en particulier des patients atteints du SIDA.

De plus, la distinction entre *E. bienewisi* et *E. intestinalis* doit être faite, vu l'impact que cela a en clinique.

En effet, *E. intestinalis* est capable de disséminer et de toucher d'autres organes que le tractus digestif.

De plus, il est beaucoup plus sensible à l'albendazole que ne l'est *E. bienewisi*. Son identification conditionne donc la démarche thérapeutique [6].

La principale méthode diagnostique reste actuellement, comme la majorité des diagnostics des infections parasitaires, l'examen microscopique.

Depuis peu, des techniques de détection antigénique et d'amplification génique sont venues compléter l'arsenal diagnostique.

1.2.5.1. TECHNIQUES MICROSCOPIQUES

La microscopie optique est peu coûteuse, rapide et assez facilement applicable en routine, ce qui la privilégie par rapport à la microscopie électronique.

1.2.5.1.1. MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

Cette technique reste le diagnostic de confirmation par excellence.

Elle se base sur l'identification de l'ultra structure des microsporidies (filament polaire) [6].

Le diagnostic différentiel entre *E. intestinalis* et *E. bienewisi* repose sur la taille, (*E. bienewisi* étant plus petit), mais repose surtout sur la membrane parasitophore septée caractéristique de *E. intestinalis* [6].

1.2.5.1.2. MICROSCOPIE OPTIQUE

Cette microscopie permet de visualiser des microsporidies à partir des selles colorées.

Différentes publications traitent de ces colorations, ayant des spécificités et des sensibilités fort variables, parfois complémentaires.

a) COLORATIONS CLASSIQUES

Les colorations de Gram, de Giemsa, d'Hématoxyline éosine et de bleu de toluidine O semblent manquer de spécificité.

Les spores sont difficilement discernables des autres éléments fécaux [4,6].

b) COLORATION AU BLEU TRICHROME SIMPLE

Cette coloration a permis un net progrès dans l'identification des parasites ; elle est rapide et facile.

Des modifications de cette coloration portant tantôt sur les constituants du colorant [4,6,26], tantôt sur des facteurs tels la température, le temps de coloration (6) ont été réalisés afin d'obtenir la meilleure spécificité possible.

c) COLORATION AU TRICHROME MODIFIÉ PAR WEBER (coloration de Weber)

Cette technique de coloration semble être la plus communément admise, actuellement.

Elle est associée à la coloration par fluorochromes.

d) TRICHROME ACID FAST

L'avantage majeur de cette technique est qu'elle permet une coloration simultanée des microsporidies et *C. parvum*, autres parasites responsables de diarrhées chroniques chez les immunodéficients [6].

Cette coloration est facile, peu coûteuse et rapide.

e) QUICK HOT GRAM CHROMOTROPE

Cette technique à une bonne spécificité vis à vis des microsporidies par coloration violette de la spore.

f) IMMUNOFLUORESCENCE

On dispose, à l'heure actuelle, d'antisérums spécifiques de *E. intestinalis* obtenus à partir de cultures, mais *E. bienewisi* ne pouvant pas être cultivé, l'obtention d'antisérums spécifiques vis-à-vis de ce parasite s'avère beaucoup plus difficile.

On ne peut le mettre en évidence que par réaction croisée (mélange d'antisérum de lapin anti-*Encephalitozoon cuniculi* et d'antisérum de lapin anti-*Encephalitozoon hellem* à la dilution 1/200).

L'immunofluorescence, utilisée dans la recherche de *E. intestinalis*, fait apparaître les spores en fluorescence verte [4,6].

Cette technique est spécifique des spores de microsporidie.

La technique de coloration de VanGool est aussi à fluorescence mais non spécifique des spores de microsporidies.

1.2.5.2 P C R

Cette méthode est de loin la plus sensible et la plus spécifique.

Elle permet de distinguer des espèces aussi proches que *E. hellem*, *E. cuniculi* et *E. intestinalis*. [6].

Une paire d'amorces complémentaires d'une séquence conservée de la petite sous unité de l'ARN ribosomal permet l'amplification des quatre genres majeurs de microsporidies. [6].

La restriction par des endonucléases permet la différenciation entre *E. bienewisi* et *E. intestinalis* par obtention de fragments de tailles différentes [6]. Cette différenciation peut également s'obtenir par utilisation d'une sonde spécifique.

La méthode PCR est donc une méthode fort fiable mais son application en routine reste problématique [6] car lourde techniquement et cher.

1.2.6. TRAITEMENT

En cas d'infection à *Encephalitozoon*, responsable en général d'infections disséminées avec élimination des spores dans les selles et dans les urines, l'albendazole (Zentel®) à la posologie de 400 mg 2 fois par jour pendant 3 semaines est efficace [28].

Un traitement d'entretien ne semble pas nécessaire.

En cas d'infection à *E. bienewisi*, qui représente la majorité des cas de microsporidies responsables de diarrhée chronique avec malabsorption, la fumagilline à raison de 20 mg 3 fois par jour pendant 14 jours a récemment démontré son efficacité et représente actuellement le seul traitement disponible [29]. Son efficacité est contrecarrée par ses effets secondaires (thrombopénie) [6].

Le TNP-470 est un analogue de la fumagilline qui semble moins toxique et assez prometteur mais nous manquons, pour l'instant, d'expérience clinique à son sujet [6].

La thérapie de combinaison antirétrovirale offre, enfin, l'avantage d'utiliser le traitement du SIDA pour simultanément traiter, de façon indirecte la microsporidiose par son action sur l'immunité.

1.3. PHYSIOPATHOLOGIE [3,9,20,41].

Les mécanismes physiopathologiques par lesquels les cryptosporidies et les microsporidies provoquent la diarrhée sont encore mal connus.

1.3.1. La Cryptosporidiose

Les infections à *Cryptosporidium sp.* dans l'intestin humain causent des dommages aux muqueuses, notamment l'atrophie villositaire et l'allongement de la crypte. La plupart des données pathologiques disponibles proviennent de malades atteints du SIDA mais la présence d'autres parasites opportunistes a rendu difficile l'évaluation des dommages attribuables au *Cryptosporidium sp.* Certains auteurs [20], pensent qu'il n'existe pas d'anomalies majeures au niveau des villosités intestinales, mais la présence de nombreux parasites dans la bordure en brosse des entérocytes pourrait entraîner un trouble dans le processus de transport des électrolytes.

La diarrhée provoquée par le *Cryptosporidium sp.* est de type sécrétoire (sécrétion par le parasite d'une entérotoxine). Cette diarrhée est souvent associée à une malabsorption du D-xylose, de la vitamine B 12 et à une stéatorrhée [20].

1.3.2. Microsporidiose

Parasites de l'intestin grêle, les microsporidies entraînent une atrophie villositaire avec infiltration lymphocytaire provoquant un syndrome de malabsorption comme dans le cas de la cryptosporidiose [22].

Les cryptosporidies et les microsporidies semblent provoquer les mêmes types de diarrhées : profuses sans glaires, ni sang, et sans fièvre.

1.3.3. Le type de diarrhée provoquée par ces parasites

Il s'agit des diarrhées aqueuses provoquées par des entérotoxines agissant sur la fonction sécrétoire de l'entérocyte, touchant plutôt l'intestin grêle proximal. Si l'on considère les échanges énormes d'eau et de soluté qui ont lieu dans l'intestin grêle, atteignant 50 litres par jour de sécrétion et de réabsorption, on comprend facilement qu'une altération, même légère, de cette balance puissent provoquer des diarrhées aqueuses parfois massives [3].

L'affection étant uniquement due à un trouble fonctionnel par production d'entérotoxines, il n'y a pas de réelle inflammation de la muqueuse et par conséquent pas de leucocytes dans les selles.

2. METHODOLOGIE

2.1. CADRE D'ETUDE

2.1.1. PRESENTATION DU NIGER

Le Niger est un pays sahélien de l'Afrique de l'ouest, situé en zone tropicale sèche avec une superficie de 1.267.000 km² et une densité brute de 8.5 hbts/km².

Au dernier recensement en 2002, le Niger compte 10.790.352 habitants [35]. Il est limité au Nord par l'Algérie et la Libye, à l'ouest par le Mali et le Burkina – Faso, à l'Est par le Tchad et au Sud par le Nigeria et le Bénin.

Dans son ensemble le pays est caractérisé par une température moyenne très élevée (37°C).

On distingue une saison des pluies très courte de Juin à Septembre et une saison sèche d'Octobre à Mai avec alternance de froid (Novembre - Février) et de chaleur (Mars - Mai).

On rencontre au Niger plusieurs groupes ethniques : les haoussa, les djerma, les béri-béri, les touareg, les arabes, les peulh, les gourmantché, les toubou.

Les Haoussa et les Djerma sont majoritaires.

Au plan technique, le système de santé est constitué de trois niveaux de prestations [35] :

- Le niveau périphérique, qui correspond aux hôpitaux de district et les CSI,
- Le niveau régional avec cinq hôpitaux,
- Le troisième niveau ou niveau central avec les hôpitaux nationaux.

La situation épidémiologique actuelle du Niger se caractérise par une prédominance des maladies infectieuses et parasitaires, notamment : le paludisme (37.38 %), IRA (13.69 %) les diarrhée et déshydratations (7.69 %), la méningite (7.36 %), la rougeole (5.68 %) [34].

2.1.2. PRESENTATION DE L'HOPITAL NATIONAL DE NIAMEY

2.1.2.1. Situation géographique de l'Hôpital National de Niamey

Situé dans la zone administrative, l'Hôpital surplombe le fleuve sur la rive gauche. Il est limité :

- A l'Est par l'avenue François Mitterrand
- A l'Ouest par l'avenue Jules Brevier
- Au Nord par l'Ecole National de Santé Publique (ENSP)
- Au Sud par les falaises surplombant le fleuve Niger.

Il couvre une superficie de 541 hectares.

2.1.2.2. Historique de l'Hôpital

L'Hôpital National de Niamey a été inauguré par le Gouverneur des colonies Jules Brevier en 1922. Il s'appela hôpital Brevier jusqu'en 1965, date à laquelle il devient l'Hôpital National de Niamey. Il comprenait au total trois bâtiments qui correspondent respectivement au service actuel d'hygiène et assainissement plus la kinésithérapie, au magasin de la pharmacie et à la cafétéria. Il s'est agrandi au fil des ans.

En 1938, a été construit le pavillon A, qui deviendra ensuite le service de gynécologie, puis en 1942 la chirurgie de première catégorie que nous connaissons actuellement.

En 1952 ont été construit le pavillon B qui hébergeait la chirurgie au rez de chaussée et la médecine à l'étage.

En 1954 un nouveau bloc opératoire a été inauguré.

Le pavillon E a été construit en 1955. Il était destiné au service de psychiatrie et l'emplacement correspond à l'actuel ORL. En 1956 le pavillon D a vu le

jour : Il hébergeait les contagieux. En 1958, les bâtiments de la Direction, du service social, l'ophtalmologie et l'ORL à l'entrée de l'hôpital voient le jour.

En 1970, sont construits les bâtiments de la chirurgie (1^{ère} et 5^e section), de l'ORL, de la buanderie, de la pédiatrie et du laboratoire.

En 1977, c'est la 6^e section de chirurgie qui apparaît et en 1980, c'est le bâtiment de l'aiguillage. La pharmacie actuelle a été ouverte en 1985.

En 1988, a été construit le bâtiment de la stomatologie avec les consultations, les soins et la chirurgie maxillo-faciale.

En 1988-1989, la première section qui abritait les post-opérés est remplacée par un nouveau service : la réanimation. Les post-opérés sont transférés en deuxième section avec adjonction d'une salle de réveil.

En fin 1994 et 1996, ont été construits deux bâtiments : celui des consultations en urgence et celui du bloc intégrant le service de stérilisation centrale et la salle de réveil.

L'Hôpital a toujours été un centre de référence pour le pays. A sa mission de soins, se sont ajoutées de nouvelles missions d'éducation sanitaire, d'enseignement et de recherche.

En 1992, l'ordonnance n°92/011 du 06 avril transforme l'hôpital en un établissement public à caractère administratif (EPA) doté de la personnalité juridique et de l'autonomie financière, le décret 92-237/PM/PSP du 07 juillet 1992 porte approbation des statuts.

2.1.2.3. Organisation structurelle de l'Hôpital National de Niamey

- Les services administratifs :
 - la surveillance
 - la direction
 - le bureau des recettes
 - le service de recouvrement et des statistiques

- Les services hospitaliers
 - L'aiguillage
 - Le pavillon A
 - Le pavillon Raymond Madras
 - La pédiatrie A
 - La pédiatrie B
 - La médecine B avec 4 unités de soins : B1, B2, B3, B4
 - Le pavillon E
 - Le bloc opératoire
 - Le service d'ophtalmologie
 - Le service d'oto-rhino laryngologie (ORL)
 - Le service de stomatologie
 - La réanimation
 - La salle de réveil
 - Le PO
 - Le service de chirurgie (urologie, chirurgie générale femmes et enfants, chirurgie générale homme, traumatologie orthopédie)

- Les services médicaux techniques
 - La pharmacie
 - Le laboratoire de biologie
 - Le service de kinésithérapie
 - La radiologie
 - La fibroscopie
 - Le service d'hygiène et assainissement
 - Le service social.

- Les services généraux :
 - La cuisine
 - La buanderie
 - Le magasin

- Le standard
- La morgue.

Actuellement l'Hôpital National de Niamey compte huit cent cinquante huit (858) lits répartis de la façon suivante :

- Médecine et spécialités médicales : 545 lits
- Chirurgie et spécialités chirurgicales : 291 lits
- Urgences : 22 lits.

L'effectif du personnel en fin 2004 est de 769 personnes dont 371 titulaires, 49 coopérants vacataires et 248 contractuels.

2.1.3. Présentation du laboratoire de biologie :

- **Description du service**

Notre étude s'est déroulée au laboratoire de biologie médicale de l'HNN dans la section de Parasitologie.

Ce laboratoire a ouvert ses portes en 1958. La majorité des techniciens qui y travaillaient, n'avaient pas la qualification requise. Ils étaient en grande partie des infirmiers ayant reçu une formation accélérée de base. Les travaux du laboratoire se limitaient alors aux besoins internes de l'hôpital.

En 1982, après plusieurs transferts de locaux, survint une réforme. L'ancien laboratoire connut une extension et une modernisation.

Ainsi fut installé le laboratoire actuel de Biologie médicale avec, cette fois, beaucoup plus de techniciens. C'est un complexe qui regroupe quatre sections à savoir : la parasitologie, l'hématologie, la séro-immunologie et la bactériologie.

Il comprend aussi deux grands magasins, un secrétariat, une salle de garde, un laboratoire de garde, une salle préparatoire, le bureau du chef de service, deux salles de prélèvements, dont une pour la bactériologie, l'autre pour l'hématologie et deux toilettes.

- **Organisation du service**

Le laboratoire de biologie est actuellement dirigé par un médecin hématologue qui est aussi le chef de service de la Médecine B 4. Il dispose de 12 techniciens supérieurs, 11 techniciens de laboratoire, 1 ingénieur biologiste, 1 physiologiste, 4 microbiologistes, 3 secrétaires, 1 aide laborantin, 1 fille de salle et 2 manœuvres.

Le laboratoire fonctionne tous les jours même fériés. Pour les jours ouvrables les horaires sont ceux établis par la fonction publique. Pour les jours fériés il y a toujours un technicien pour assurer la garde et la permanence.

Ce laboratoire ne possède pas de budget autonome, mais le responsable du service veille à l'utilisation rationnelle du matériel. Ainsi il lui revient de superviser la gestion du matériel de travail et de dresser la liste de produits dont a besoin le service. Cette demande est ensuite adressée au Directeur de l'HNN pour approbation.

Le Médecin-chef du laboratoire dirige le laboratoire et supervise les travaux qui y sont effectués, au besoin, il peut demander à refaire une analyse qui lui paraît douteuse. C'est lui qui décide de l'application de telle technique ou de telle autre, soit pour des raisons de fiabilité soit pour des raisons de rentabilité. Il est secondé par le major du service qui a un rôle de surveillance au niveau des différentes sections, à part ses prestations journalières, il sert d'intermédiaire entre le chef de service et les techniciens.

Au niveau de toutes les sections il y a un responsable reconnu par le chef de service. En fonction des sections qui existent, le laboratoire de biologie effectue les examens biologiques suivants :

➤ **Parasitologie et Mycologie**

- Analyses spécialisées (leishmanioses, filarioses...).
- Examens mycologiques
- Examens coprologiques
- Recherche des parasites urinaires
- Recherche des cryptosporidies et des microsporidie
- Spermogramme

➤ **Hématologie**

- Coagulation : TP, TCA, Fibrinogène
- Goutte épaisse
- Myélogramme
- Numération formule sanguine (NFS)
- Test d'Emmel
- Taux de réticulocytes
- Vitesse de sédimentation (VS).

➤ **Séro-immunologie**

- AgHBs Sérodiagnostic de Widal
- ASLO
- Facteurs rhumatoïdes
- Hépatite C
- MNI test
- Sérologie HIV
- Sérologie rougeole
- Sérologie rubéole
- Sérodiagnostic de Widal
- TPHA
- Test de Coombs (direct et indirect)
- Waaler Rose

➤ **Bactériologie**

- Examen cytbactériologique des urines
- Examen cytbactériologique des selles
- Examen cytbactériologique du liquide céphalo-rachidien
- Examen cytbactériologique d'ascite
- Examen cytbactériologique du liquide pleural
- Examen cytbactériologique des liquides articulaires
- Hémoculture
- Examen cytbactériologique du pus
- Spermoculture

Cette répartition repose en partie sur des considérations pratiques ce qui explique les gouttes épaisses en hématologie et les spermogramme en parasitologie.

2.1.4. Présentation des services cliniques

Notre étude a eu lieu dans 4 centres prescripteurs d'ARV de Niamey : HNN, HNL, CTA, CESIC.

a. Présentation du pavillon Raymond Madras (HNN).

Ce pavillon d'une capacité de 80 lits accueille les personnes de tout âge atteintes de maladies infectieuses et/ou contagieuses.

L'activité médicale est répartie entre les consultations externes et les hospitalisations.

Le personnel comprend (en 2005) :

- Un (1) médecin spécialisé dans les maladies infectieuses
- Trois (3) médecins généralistes
- Quatre (4) infirmiers

- Deux (2) manœuvres
- Deux (2) filles de salle.

b. Présentation du centre de traitement ambulatoire (CTA)

Ce centre a vu le jour grâce à une convention entre le Ministère de la Santé Publique et de la Lutte Contre les Endémies (MSP/LCE), la croix rouge française et nigérienne et l'Organisation Panafricaine de Lutte contre le SIDA (OPALS). Il a pour objectif de contribuer à la réduction de la propagation du VIH/SIDA au Niger par la promotion des activités de prévention et de soins en matière de SIDA.

C'est un centre qui a démarré ses activités le 23 janvier 2004.

Le CTA occupe les anciens locaux du centre anti-lèpre (trypano).

Pour son bon fonctionnement, le centre dispose de :

- Trois salles de consultations médicales
- Deux salles de consultations psychosociales
- Un laboratoire
- Une salle de soins
- Une salle de radiographie
- Un hôpital du jour (8 lits)
- Une pharmacie
- Une salle d'attente
- Une salle de réunion.

Le personnel du service est composé de :

- Trois Médecins (1 spécialiste en maladies infectieuses et 2 généralistes) ;
- Deux techniciens supérieurs de laboratoire (TSL) et Deux stagiaires ;
- Deux infirmiers diplômés d'Etat (IDE) ;

- Un psychologue ;
- Une assistante sociale ;
- Un responsable de la pharmacie (IDE) ;
- Un responsable administratif et financier ;
- Une secrétaire d'accueil ;
- Le personnel auxiliaire

c. Présentation du service de médecine B (HNN).

Ces sections sont au nombre de quatre : la Médecine B1, la Médecine B2, la Médecine B3 et la Médecine B4. Ces services ont un recrutement mixte d'homme et de femme de plus de 15 ans et sont repartis en deux groupes : les Médecines B1 et B4 accueillent des patients de sexe masculin, les Médecines B2 et B3 accueillent que des femmes.

d. Présentation de la cellule d'écoute, de soutien, d'information et de conseil (CESIC)

L'ONG "Mieux Vivre avec le SIDA" ; dans le souci de soutenir moralement psychologiquement et thérapeutiquement les personnes vivant avec le VIH (PVVIH) a mis en place la cellule d'écoute, de soutien, d'information et de conseil (CESIC).

Cette cellule occupe les box 5 (consultations) et 6 (pharmacie) au sein de l'aiguillage de l'HNN. Ces box servent aussi de salle de consultation dermatologique et de médecine générale au compte de l'HNN.

- Prestations de la CESIC (2004)
 - 410 consultations
 - 134 visites à domicile
 - Tenue de 6 ateliers.

- Personnel de la CESIC
 - 2 Médecins (1 permanent et 1 contractuel)
 - 2 assistantes sociales (1 titulaire et 1 stagiaire)
 - 1 éducatrice thérapeutique
 - 1 infirmière vacataire.

e. Présentation de l'Hôpital National Lamordé (HNL).

Situé sur la rive droite du fleuve Niger, il est connu comme une unité d'hôpital communautaire au sein de la Faculté des Sciences de la Santé. Par décret N°84/PCMS/MES/R du 12 janvier 1984, il fut transformé en centre hospitalier universitaire (CHU) pour servir de terrain de stage aux étudiants en médecine sous la tutelle du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche.

A partir du 1^{er} janvier 1986, le CHU passa sous la tutelle du Ministère de la Santé Publique et prit la dénomination d'Hôpital National Lamordé. Il est érigé en établissement public à caractère administratif par ordonnance N°92/237/TM/MSP du 07 juillet 1992.

- Les différents services de l'HNL

L'HNL comporte :

- Un service de Chirurgie ;
- Un service de consultation externe ;
- Un service des Urgences ;
- Un service de Médecine et Cardiologie ;
- Un service d'Ophtalmologie ;
- Un service de Stomatologie ;
- Un service de Pédiatrie ;
- Un service d'ORL ;
- Un service de Néphrologie ;

Les prélèvements de selles des patients de ce centre ont été effectués au CTA.

2.2. Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective réalisée sur des prélèvements de selles de patients VIH positif suivis dans les différents centres prescripteurs d'ARV de Niamey (CTA, CESIC, HNN, HNL)

2.3. Période d'étude

Nos données ont été récoltées du mois de novembre 2004, au mois d'avril 2005, soit une durée de six (6) mois.

2.4. Echantillonnage

2.4.1. Critères d'inclusion

Ont été inclus dans notre étude tous les patients porteurs du VIH suivis dans l'un des 4 centres prescripteurs d'ARV de Niamey, souffrant ou non de diarrhée et ayant donné leur consentement.

2.4.2. Critères de non-inclusion

Sont exclus tous les patients VIH négatif ou VIH positif n'ayant pas donné leur consentement.

2.5. Déroulement pratique de l'étude

Il a été procédé à l'examen des échantillons de selles prélevés chez des patients (enfants et adultes) séropositifs pour le VIH et suivis dans les Centres prescripteurs d'ARV de Niamey cités plus haut.

Dans la pratique, les nouveaux patients sont recensés chaque matin, les renseignements utiles sont recueillis (taux de CD4, lymphocytes totaux, type de VIH), tous les prélèvements disponibles sont examinés au laboratoire de l'HNN et les pots destinés aux prélèvements du lendemain sont distribués.

Les prélèvements recueillis dans des petits emballages en carton ; sont transportés vers l'HNN. ; la distance séparant le centre le plus loin du lieu de traitement des échantillons ne dépasse pas trois minutes de route (à motocyclette).

Néanmoins, nous avons veillé à ce que le temps séparant le moment de l'émission de la selle et le traitement de la selle n'excède pas 2 heures.

Une fois les échantillons de selles parvenus au laboratoire, l'état frais, la concentration de Ritchie et la préparation des lames pour coloration après séchage et fixation sont immédiatement faits.

Le lendemain, il est procédé à la recherche des cryptosporidies par la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée et à la recherche des microsporidies par deux (2) méthodes :

- Technique de VAN GOOL
- Coloration de WEBER.

Les réactifs et produits chimiques pour les colorations de WEBER et de ZIEHL-NEELSEN modifiée ont été pris en charge par la coopération française : Programme d'Appui à l'HNN.

Ceux destinés à la technique de VAN GOOL ont été offerts gracieusement par **LDBIO diagnostics**, 19A Rue Louis LOUCHEUR ; 69009 LYON-France.

2.6. TECHNIQUES BIOLOGIQUES

Ces techniques ont été utilisées dans le laboratoire de biologie de l'HNN pour les recherches de spores de microsporidies et d'ocystes de cryptosporidies dans les selles de patients infectés par le VIH.

Chaque échantillon de selle a bénéficié d'un examen direct :

➤ Examen macroscopique

C'est une étape importante de toute exploration coprologique permettant de classer les selles en différentes catégories en fonction de l'aspect (homogène, hétérogène) et de la consistance (liquide, molle, semi liquide, pâteuse...).

➤ Examen microscopique

C'est l'examen direct proprement dit qui consiste en une observation directe des selles (éventuellement associée à la coloration une coloration au lugol 2%), entre lame et lamelle. Elle permet de mettre en évidence les parasites courants (formes végétatives et/ou de flagellés œufs d'helminthes, larves d'helminthes).

2.6.1. DIAGNOSTIC DES CRYPTOSPORIDIES

- **COLORATION DE ZIEHL–NEELSEN MODIFIEE**

- **PRINCIPE**

C'est la mise en évidence d'oocystes de cryptosporidies dans les selles.

Les cryptosporidies sont dues à un protozoaire intra cellulaire essentiellement localisé au niveau de l'épithélium digestif des hôtes vertébrés. La coloration de Ziehl-Neelsen modifiée à froid est la meilleure technique à utiliser en routine.

Elle se pratique sur un frottis de selle concentré. La lecture se fait à l'objectif x 40 après avoir recouvert la préparation d'une goutte d'huile à immersion et d'une lamelle.

- **Réactif et matériel**

- Réactif

- Méthanol absolu :

À changer chaque fois.

- Fushine de Ziehl

À filtrer avant chaque utilisation, changer une fois par mois, conserver à l'abri de la lumière.

- Acide sulfurique dilué

Acide sulfurique 95 %,

2,5 ml d'acide sulfurique dans 997,5 ml d'eau de robinet, à changer une fois par mois.

- Vert malachite à 5 %

Vert malachite oxalate,

5 g de poudre de vert malachite oxalate dans 100 ml d'eau de robinet.

Filtrer avant la première utilisation, changer une fois par mois et conserver à l'abri de la lumière.

- L'huile à immersion
- Eau de robinet.

- **Matériel**

- Lame super frost
- Pastettes
- Microscope optique
- Bacs à coloration
- Paniers porte lames
- Plateau porte lames
- Papier filtre
- Chronomètre
- Etuves

- **Techniques**

- **Concentration de Ritchie**

- ❖ **Matériels**

Réactif de Ritchie, éther, verre à pied, tube conique, agitateur, pastettes.

- ❖ **Mode opératoire**

Dans le verre à pied, diluer progressivement un volume de selles dans 10 volumes de réactif de Ritchie (100ml de formol + 9 grammes de NaCl + 900ml d'eau distillée).

Laisser sédimenter quelques secondes, verser dans un tube à centrifuger, le remplir à moitié.

Ajouter de l'éther dans la proportion de 1/3 pour 2/3 de liquide, boucher puis agiter à la main par retournement successifs pendant 30 secondes.

Reboucher et ranger le flacon d'éther juste après son utilisation.

Centrifuger pendant 5 minutes à pleine vitesse puis éliminer les trois couches supérieures par retournement brusque pour garder le culot, qui sera utilisé pour l'étalement.

- **Préparation des lames**

- Bien identifier les lames (nom, date, coloration)
- Après enrichissement de Ritchie, déposer une goutte à la pastette sur une lame super-frost et la réaspirer
- Fixer au méthanol absolu pendant 2 à 5 minutes
- Sécher (étuves à 37 °C ou à l'air libre pendant plusieurs heures).

- **Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée**

- Colorer à la fushine de Ziehl filtré pendant 1 heure 30 minutes
- Rincer à l'eau du robinet
- Différencier par une solution d'acide sulfurique dilué pendant 5 à 10 secondes (lors des premières utilisations du bain) ou 15 à 20 secondes (pour les bains plus anciens) en secouant le panier dans le bain.
- Rincer à l'eau du robinet
- Colorer par une solution de vert malachite à 5 % pendant 15 min
- Rincer à l'eau du robinet
- Sécher à l'air (ou à l'étuve à 37 °C).

- **Lecture**

- Déposer une goutte d'huile à immersion et recouvrir d'une lamelle
- Faire une lecture rapide à l'objectif x 10 pour essayer de repérer des cryptosporidies (petits éléments roses) puis confirmer la morphologie en passant à l'objectif x 40.
- Faire dans tous les cas de manière systématique une lecture à l'objectif x 40 de tout le pourtour de la goutte épaisse (zone où la contre coloration verte du vert de malachite est intense) et de quelques champs à l'intérieur.
- Les oocystes apparaissent en rose indien sur fond vert. Ils sont arrondis, mesurent 5 à 6 μm de diamètre et contiennent des granulations foncées. Il existe souvent une zone centrale non colorée donnant un aspect de vacuole. Certains éléments apparaissent rétractés mais les granulations sont toujours très visibles. D'autres éléments sont plus ou moins bien colorés, ressortant en rose pâle.
- Une lame de contrôle positive doit toujours être réalisée en parallèle.

N.B. : Certains oocystes ne sont pas colorés par la fuschine et apparaître en négatif.

2.6.2. Diagnostics des microsporidies

2.6.2.1. Technique de Van Gool

- Principe

C'est la mise en évidence de spores de microsporidies dans les selles fraîches, non enrichies, diluées dans du formol à 10 %.

La technique de Van Gool est une technique de fluorescence directe après marquage par un fluorochrome, l'Uvitex 2B[®] (Uvibio[®]) qui se lie de façon non spécifique à la chitine de la paroi des spores. Cette méthode nécessite l'utilisation d'un couple de filtres spéciaux. La lecture se fait à l'objectif x 40 puis x 100.

Les spores apparaissent blanc-bleuté sur fond noir.

- Réactif et Matériel

• Réactif

- Uvibio ;
- PBS à 1 % de bleu Evans.

• Matériel

- Tubes en plastique à fond conique + pastettes ;
- Pots a urine + porte filtres ;
- Porte lames + lames + lamelles ;
- Agitateur (vortex) ;
- Etuves (pour laisser les lames à abri de la lumière) ;

- Microscope à fluorescence.

- **Technique**

• **Préparation des selles**

- Diluer la selle dans de l'eau distillée
 - si peu de selle : mettre l'eau distillée dans le pot (6 ml)
 - si beaucoup de selle : mettre 6 ml d'eau distillée dans un tube conique + une noisette de selle à l'aide d'une pastette.
- Agiter la selle qui est dans le tube, pendant au moins 1 min pour bien diluer la selle.
- Préparer les filtres avec les porte-filtres montés sur un pot à urine.
- Puis passer les 6 ml de selle dilué dans le filtre ; aider la selle à passer en utilisant une pastette.
- Récupération du filtrat dans le pot à urine.
- Pour conserver, mettre le filtrat non formolé au réfrigérateur entre 4 et 8°C.

• **Préparation des lames pour la technique de Van Gool**

- Déposer sur une lame super frost correctement identifiée (nom, date, coloration) une goutte de filtrat (10 à 20 μ l) avec une pastette et la réaspirer
- Bien faire sécher les lames :
 - Soit toute la nuit ou toute la journée
 - Soit dans une étuve pas trop chaude (37°C)
- Après utilisation du porte-filtre, le placer dans de l'eau de javel pendant une journée au minimum

- **Coloration**

- Fixer les lames dans le méthanol pendant 5 min
- Laisser sécher à l'air
- Mettre les lames à plat
- Déposer une à deux gouttes maximum de réactif Uvibio et étaler pour recouvrir complètement de prélèvement.
- Laisser incuber 5 min à l'abri de la lumière (à l'étuve)
- Préparer 5 ml de PBS à 1 % de bleu Evans (1 goutte de bleu Evans dans 5 ml de PBS).
- Après incubation de l'Uvibio, ajouter 10 gouttes du mélange de PBS + Bleu Evans et incuber 5 min à l'abri de la lumière (étuve).
- Rincer délicatement à l'eau distillée (dans un bac) pendant quelques secondes.
- Sécher et conserver les lames à l'abri de la lumière (étuve).

- **Lecture et interprétation**

La lecture se fait au microscope à fluorescence équipé de filtres d'excitation 340-380 nm.

- Mettre une goutte d'huile et recouvrir d'une lamelle
- Faire une première lecture à l'objectif x 40
- Puis lecture à l'objectif x 100 à immersion de façon systématique (rajouter une goutte d'huile sur la lamelle)

Les microsporidies apparaissent sous une forme ovoïde, d'une taille de l'ordre du micron et de fluorescence bleu-pâle sur fond noir. La taille varie du simple au double en fonction des espèces. Il est essentiel de rechercher le filament polaire pour éviter les confusions avec d'autres organites. La coloration des

spores par la fluorescence très prononcée au niveau de la périphérie, même quand son intensité est faible.

Pour ne pas confondre bactérie fluorescente et spore de microsporidie, une exposition sous lumière photonique est nécessaire lors de la lecture : les bactéries sont réfringentes alors que les spores de microsporidies deviennent invisibles et floues.

- Un contrôle positif doit être traité en parallèle
- Tout résultat après la technique de Van Gool doit être confirmé par la coloration de Weber.

2.6.2.2. Coloration de Weber

- Principe

C'est la mise en évidence des spores de microsporidies dans les selles fraîches, non enrichies dilués dans du formol à 10 %.

Un frottis fin est réalisé puis coloré par trichrome modifié contenant du chromotrope 2R qui se fixe préférentiellement aux spores, et du fast-green qui sert de contre-colorant. La lecture s'effectue avec un microscope optique muni d'un objectif x 100 à immersion.

- Réactif et matériel

- **Réactif**

- **❖ Liste des réactifs**

- Eau stérile
- Eau de robinet
- Eau de Javel
- Formol pur
- Méthanol
- Ethanol à 95 °C
- Ethanol absolu
- Acide acétique 100 %
- Xylène
- Vert lumière
- Chromotrope 2R
- Acide phosphotungstique
- Huile à immersion

❖ Préparation des réactifs

- Trichrome modifié :
 - Chromotrope 2R : 6g
 - Vert lumière : 3g
 - Acide phosphotungstique : 7g
 - Acide acétique : 10 ml

Mélanger en imprimant un mouvement de rotation et laisser reposer pendant 30 min

- Puis ajouter un (1) litre d'eau distillée

Bien mélanger et conserver dans un flacon fermer à l'abri de la lumière, le colorant est stable et s'utilise non dilué.

- Alcool à 90 °C

Mélanger 950 ml d'alcool à 95 °C (Ethanol à 95 °C) et 50 ml d'eau distillée.

- Mélange acide - alcool

Mélanger 4,5 ml d'acide acétique 100 % et 995,5 ml d'alcool à 90 °C

- **Matériel**

- Tubes en plastique à fond conique
- Pastettes (pipettes en plastique à usage unique)
- Agitateur électronique (vortex)
- Porte filtres
- Pots à urine
- Lames – lamelles
- Cuves à coloration
- Panier porte lames
- Plateau porte lames
- Microscope optique

- **Technique**

- **Préparation des selles**

La préparation est commune avec la technique de Van Gool (voir préparation de selle de Van Gool).

- **Préparation de lames pour la coloration de Weber**

- Ajouter du formol pur : si on a 5 ml de filtrat, ajouter 10 gouttes de formol pur ;
- Mettre une goutte sur la lame et étaler comme un frottis sanguin ;
- Bien identifier les lames (nom, date et coloration) ;
- Bien faire sécher les lames (une (1) journée à température ambiante ;

- Après utilisation du porte filtre, laver et placer dans de l'eau de javel pendant une journée au minimum ;
- Garder les filtrats bien identifiés au réfrigérateur.

- **Coloration de Weber (méthode de trichrome)**

- Fixer le frottis de selle avec du méthanol pendant 5 min au minimum ;
- Colorer pendant 90 min dans du trichrome modifié ;
- Rincer 10 secondes (maximum) avec le mélange acide alcool ;
- Rincer brièvement avec de l'alcool 95° (environ 10 secondes) ;
- Déshydrater le frottis :
 - Ethanol à 95° pendant 5 min.
 - Ethanol absolu pendant 10 min.
 - Xylène pendant 10 min.
- Séchage des lames à l'air puis lecture.

- **Lecture et interprétation**

Lire pendant 5 à 10 min en microscopie optique avec un objectif x 100 à immersion. Les spores de microsporidies apparaissent colorés en rouge rosé sur fond bleu. Elles sont ovoïdes, réfringentes, avec un renforcement de la coloration en bande équatoriale ou diagonale et présence d'une vacuole plutôt polaire. Leur taille varie de 0,9 à 1,5 µm de diamètre. Certaines spores apparaissent optiquement vide et seule leur paroi est alors colorée.

Certaines bactéries peuvent être colorées par le chromotrope 2R mais la coloration est uniforme et moins intense. De plus les bactéries ne sont jamais

réfringentes. La plupart des bactéries et des débris alimentaires sont colorée en vert.

Les levures sont aussi colorées par le chromotrope 2R mais elles sont d'un rouge plus soutenu et leur taille est beaucoup plus grande.

Cette technique est également applicable au liquide d'aspiration duodénale et à la selle conservée dans du formol à 10 %.

Un contrôle positif doit être traité en parallèle

2.7. ETUDE STATISTIQUE

Nous avons utilisé la version 6 du programme Epi-info pour l'analyse statistique.

Les tests de ANOVA and Kruskal Wallis ont été utilisés pour la comparaison des moyennes.

Le risque relatif à été estimé comme taux impair avec 95 % d'intervalle de confiance.

Pour tout test, une valeur $P < 0,05$ a été considéré comme significative.

2.8. CONSIDERATIONS ETHIQUES

Une fiche de renseignement anonyme, numérotée a été établie pour chaque malade ayant donnée son consentement, le prélèvement de selle n'étant pas invasif (voir **annexe I**).

3. RESULTATS

Au total, nous avons recueilli des selles chez 172 malades séropositifs pour le VIH présentant un syndrome diarrhéique ou non dans 4 centres prescripteurs d'ARV de Niamey.

3.1. Epidémiologie

3.1.1. Age

Tableau I : Répartition des patients par tranche d'âge

Tranche d'âge	Effectif	Pourcentage
Moins d'1 an	3	1,7
1 à 4 ans	5	2,9
5 à 14 ans	2	1,2
15 ans et plus	162	94,2
Total	172	100,0

L'âge moyen des patients était de $33,9 \pm 11,29$ ans avec des extrêmes de 3 mois à 58 ans.

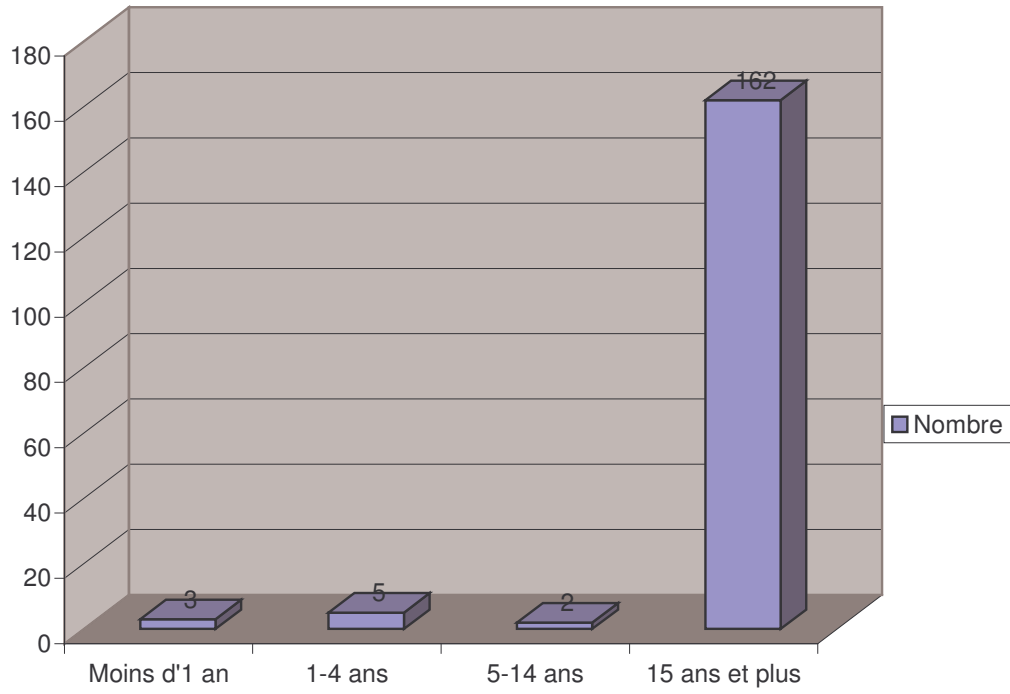


figure 3: Répartition des patients par tranche d'âge

Notre échantillon est constitué de 94,18% de patients âgés de plus de 15 ans et 1,7% ont moins de 1 an.

3.1.2. Sexe

Tableau II : Répartition des patients selon le sexe

Sexe	Effectif	Pourcentage
Féminin	82	47,7
Masculin	90	52,3
Total	172	100,0

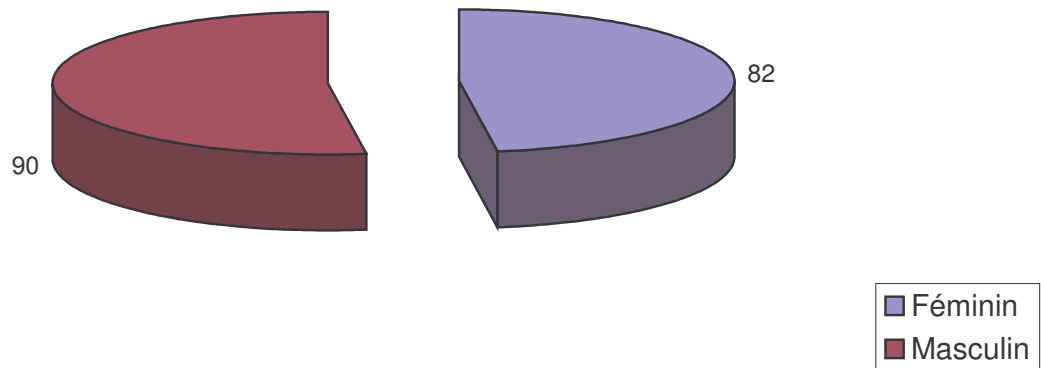


figure 4 : Répartition des patients selon le sexe

La répartition selon le sexe montrait 90 hommes (52,3%) pour 82 femmes (47,7%) soit un sex ratio de 1,09.

3.1.3. Provenance

Tableau III : Répartition des patients selon leur ville d'origine

Provenance	Effectif	Pourcentage
Agadez	14	8,1
Bamako	1	0,6
Ouagadougou	1	0,6
Diffa	4	2,3
Dosso	15	8,7
Gao	1	0,6
Maradi	8	4,7
Niamey	85	49,4
Taouha	6	3,5
Tillabery	26	15,1
Zinder	11	6,4
Total	172	100,0

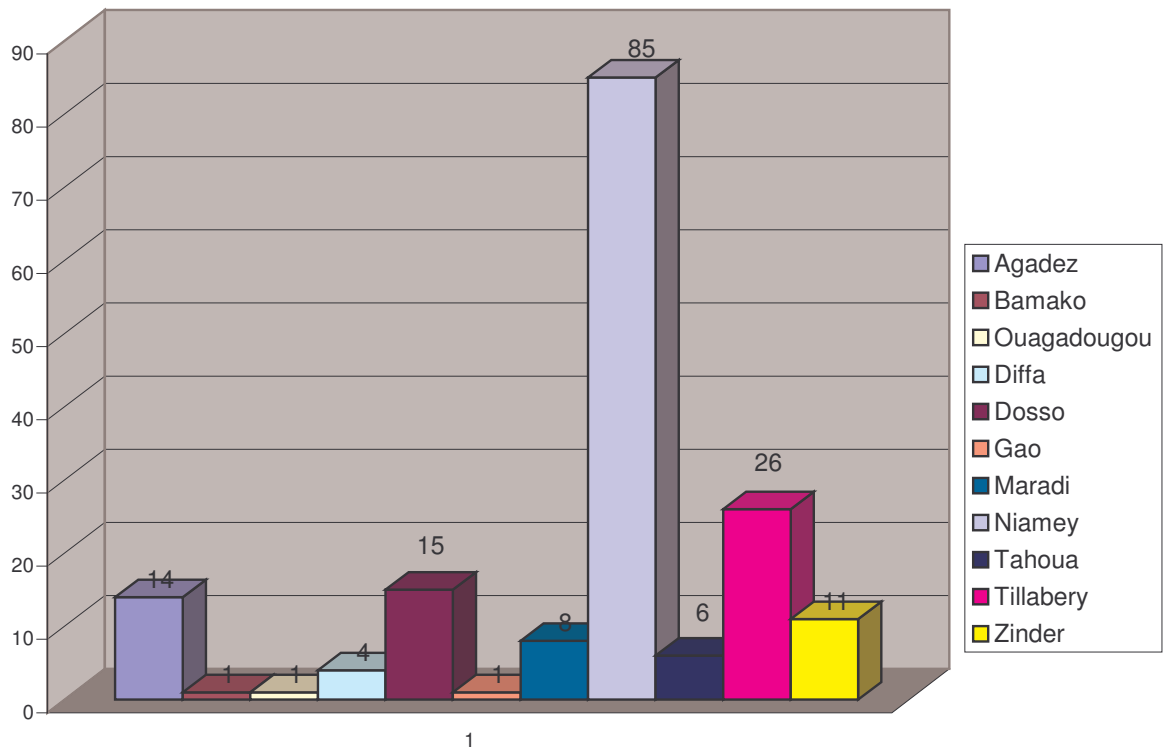


figure 5: Répartition des patients selon leur ville d'origine

Nous constatons qu'il y a plus d'habitants de la Communauté urbaine de Niamey (CUN) avec 49,4% de notre échantillon. Viennent les habitants des régions limitrophes : Tillabéry avec 15,1% et Dosso avec 8,7% (Voir Annexe II carte du Niger) . Il faut aussi noter la présence de patients venant des villes de pays voisins : Bamako 0,6% et Gao 0,6% au Mali et Ouagadougou 0,6% au Burkina Faso.

3.1.4. Nationalité

Tableau IV : Répartition des patients VIH selon la nationalité

Nationalité	Effectif	Pourcentage
Nigérienne	166	94,5
Autres	6	5,5
Total	172	100,0

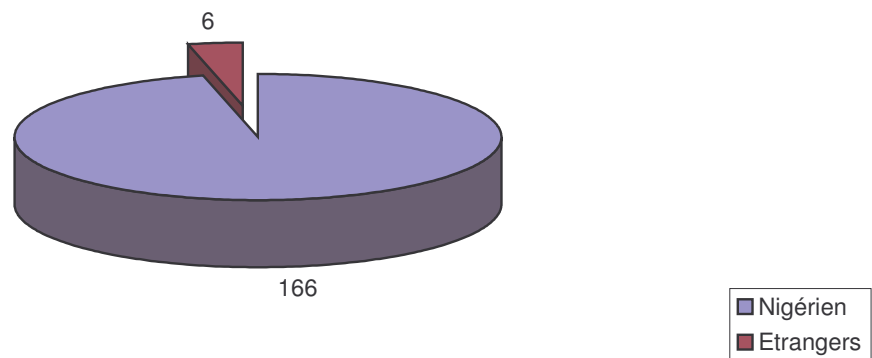


figure 6: Répartition des patients VIH selon la nationalité

Sur les 172 patients inclus, 166 soit 96,5% sont de nationalité nigérienne. Les non nigériens sont représentés par les nationalités burkinabé, congolaise, ivoirienne, malienne et togolaise.

3.1.5. Statut Clinique (Diarrhée)

Tableau V : Répartition des patients selon la présence ou non de diarrhée

Diarrhée	Effectif	Pourcentage
Présence de diarrhée	78	45,3
Absence de diarrhée	94	54,7
Total	172	100,0

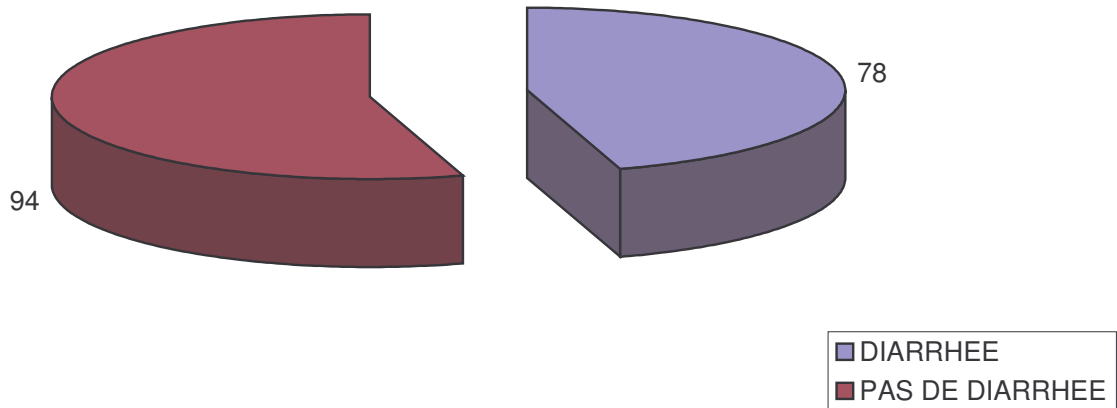


figure 7 : Répartition des patients selon la présence ou non de diarrhée

La seule symptomatologie clinique recherchée a été la présence ou non de diarrhée. La prévalence de la diarrhée sur la totalité des selles recueillies était de 45,3% (78/172).

3.2. Statut biologique

3.2.1. Type de VIH

Tableau VI : Répartition des patients selon le type de VIH

Type de VIH	Effectif	Pourcentage
VIH 1	168	97,7
VIH 2	2	1,2
VIH 1 et 2	2	1,2
Total	172	100,0

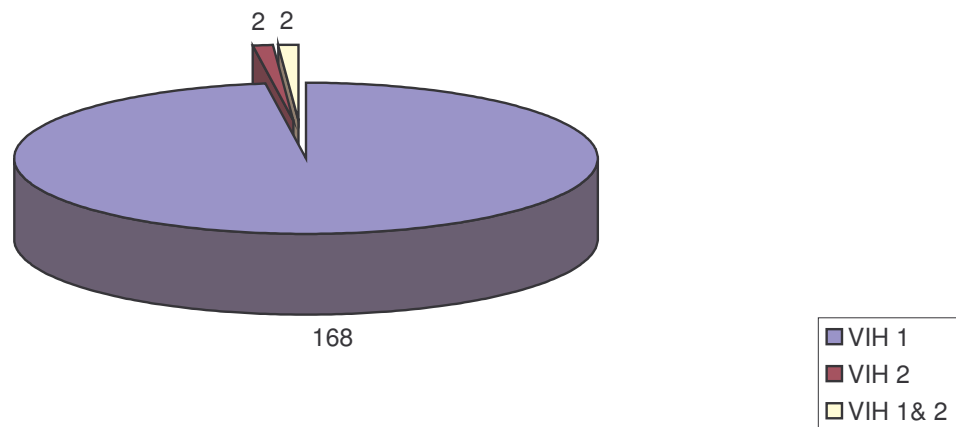


figure 8 : Répartition des patients selon le type de VIH

Le taux de portage de VIH 1 est de 97,7% (168/172). Cette prévalence est de 1,2% pour le VIH 2 et enfin 1,2% également pour les co-infections VIH 1 et 2.

3.2.2. Taux de CD4

Tableau VII : Répartition des patients selon le taux de CD4

Taux de CD4	Effectif	Pourcentage
Inf 100	61	35,5
100-200	42	24,4
Sup 200	69	40,1
Total	172	100,0

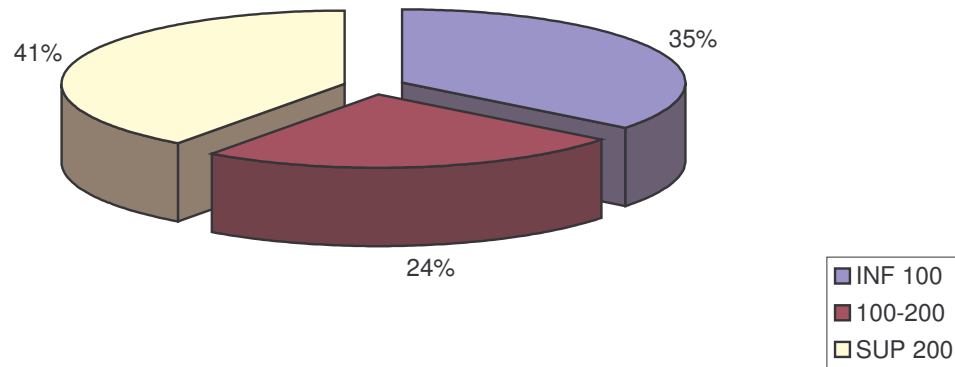


figure 9 : Répartition des patients selon le taux de CD4

Les patients ayant donc un taux de CD4 inférieur à 200 représentaient 59% de notre échantillon.

Tableau VIII : Répartition des patients selon le taux de CD4 par tranche d'age

Taux de CD4	Inf 100	100-200	Sup 200	Pourcentage
Moins d'1 an	1	0	2	1,7
1 à 4 ans	0	0	5	2,9
5 à 14 ans	0	1	1	1,2
Plus de 15 ans	41	60	61	94,2
Total	42	61	69	100,0

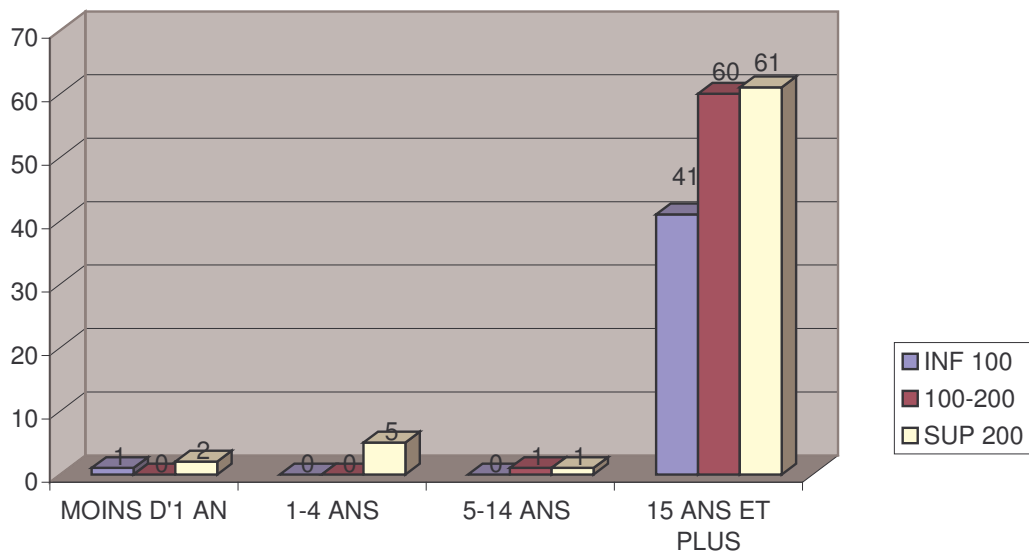


Figure 10 : Répartition des patients selon le taux de CD4 par tranche d'age

La figure10 nous montre chez les adultes que les patients ayant un taux de CD4 < 200 représentent 101 sur 162 soit 62,34%. Parmi eux 41 ont moins de 100 CD4 et 60 ont un taux compris entre 100 et 200.

3.2.3. Examens des selles

a) Examen direct

Tableau IX : Répartition des patients en fonction des autres parasites retrouvés

Provenance	Effectif	Pourcentage
<i>Blastocystis hominis</i>	8	11,9
<i>Chilomastix mesnili</i>	3	4,5
<i>Entameoba coli</i>	5	7,5
<i>Entameoba histolytica</i>	11	16,4
<i>Entameoba minuta</i>	1	1,5
<i>Giardia intestinalis</i>	5	7,5
Levures	16	23,9
Œuf de petite douve du foie	2	2,5
<i>Trichomonas intestinalis</i>	12	17,9
Autres	4	6
Total	172	100,0

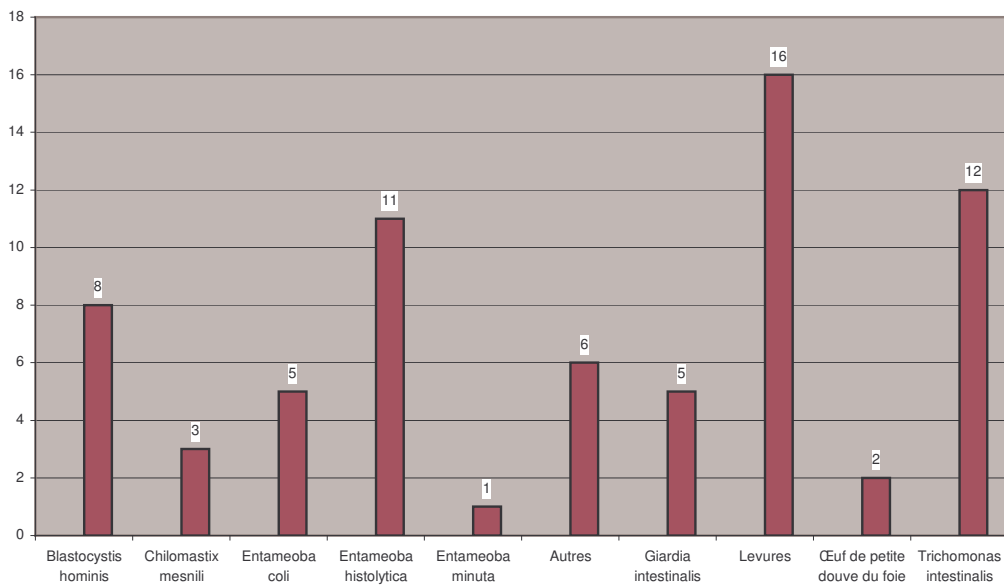


figure 11 : Répartition des patients en fonction des autres parasites retrouvés

Au total, dans notre échantillon nous avons retrouvé 54 patients hébergeant 1 ou plusieurs parasites soit 31,4%. Il s'agit par ordre de fréquence : Levures

(23,9%) ; *Trichomonas intestinalis* (17,9%) ; *Entamoeba histolytica* (16,4%) ;
Blastocystis hominis (11,9%) ; *Entamoeba coli* (7,5%) ; *Giardia intestinalis*
(7,5%) ; *Chilomastix mesnili* (4,5%) ; Œuf de petite douve du foie (2,9%) ;
Entamoeba minuta (1,5%) et autres (6%)

b) Cryptosporidiose

Tableau X : Répartition des patients selon le résultat de la coloration de ZNM

Résultats	Effectif	Pourcentage
Positif	14	8,1
Négatif	158	91,9
Total	172	100,0

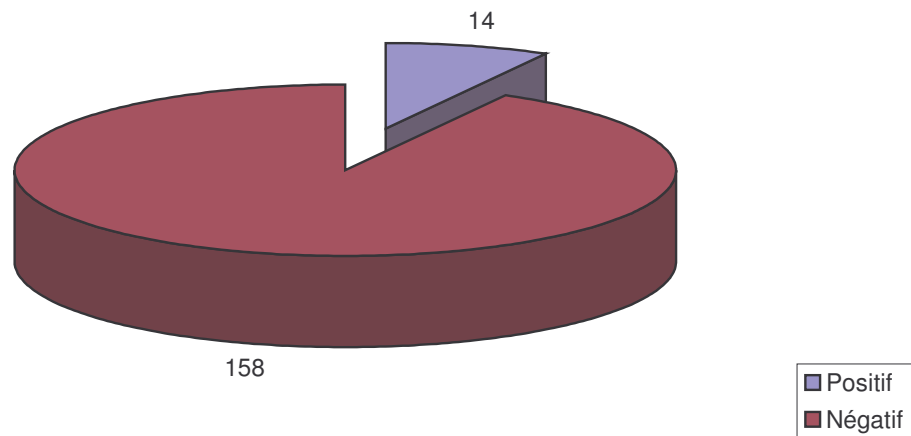


Figure 12 : Répartition des patients selon le résultat de la coloration de ZNM

Le taux de prévalence globale du portage d'oocystes de *Cryptosporidium sp.* était de 8,1% (14/172) dans les 4 centres de suivi de malades du SIDA de Niamey.

Tableau XI : Fréquence des diarrhées chez les patients atteints de cryptosporidiose

Résultats	Effectif	Pourcentage
Présence de diarrhée	11	78,54
Absence de diarrhée	3	21,46
Total	14	100,0

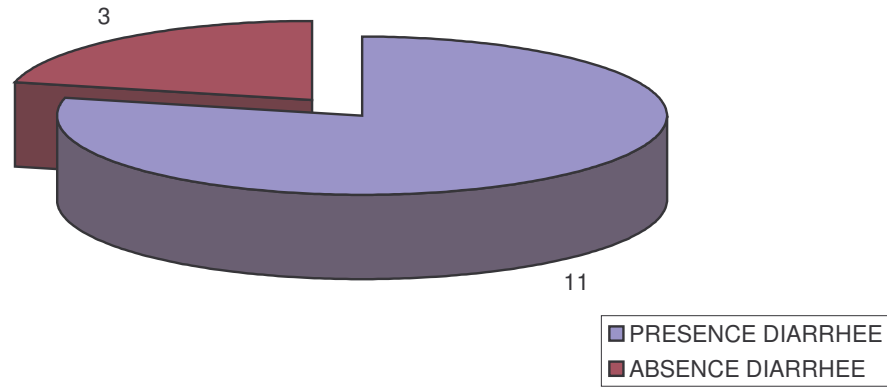


FIGURE 13 : Fréquence des diarrhées chez les patients atteints de cryptosporidiose

Parmi les 14 patients qui présentaient un ZNM positif, nous avons retrouvé la diarrhée chez 11 soit 78,57%.

c) Microsporidiose

Tableau XII : Répartition des patients selon le résultat de la technique de Van Gool

Résultats	Effectif	Pourcentage
Positif	29	16,9
Négatif	143	83,1
Total	172	100,0

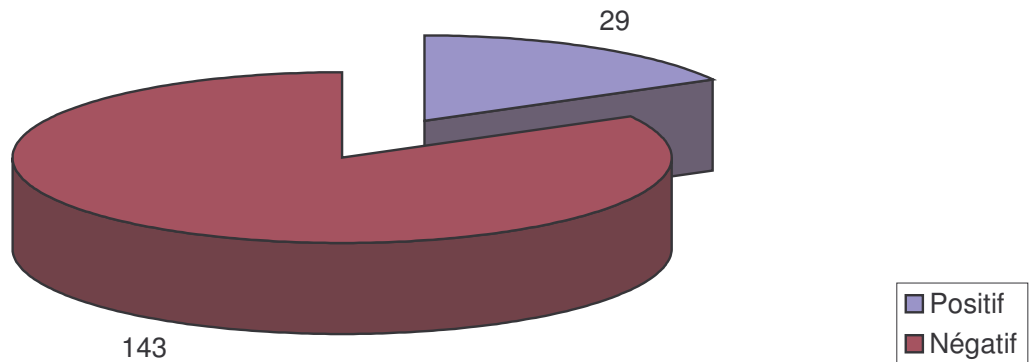


figure 14 : Répartition des patients selon le resultat de la technique de Van Gool

La fréquence d'excrétion de spore de microsporidies détecté par la technique de Van Gool était de 16,9% (29/172)

Tableau XIII : Répartition des patients selon le résultat de la technique de Weber

Résultats	Effectif	Pourcentage
Positif	28	96,55
Négatif	1	3,45
Total	172	100,0

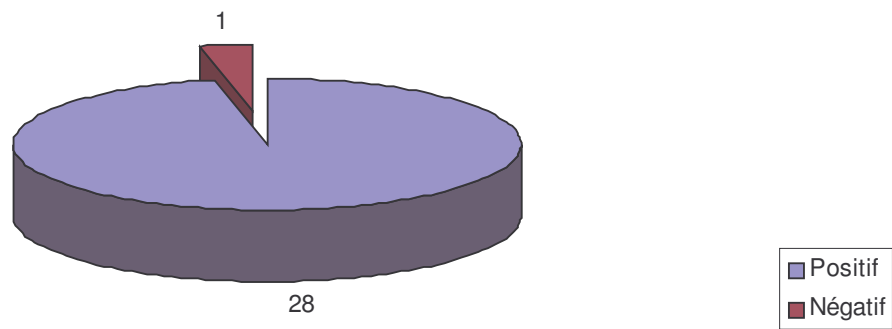


figure 15 : Répartition des examens des patients selon le résultat de la technique de Weber

Sur les 29 patients ayant un Van Gool positif, 28 cas de microsporidioses ont été confirmés par la coloration de Weber soit 96,55%.

Tableau XIII : Fréquence de la diarrhée chez les patients hébergeant les spores de microsporidies (VanGool)

Résultats	Effectif	Pourcentage
Présence de diarrhée	14	48,27
Absence de diarrhée	15	51,73
Total	29	100,0

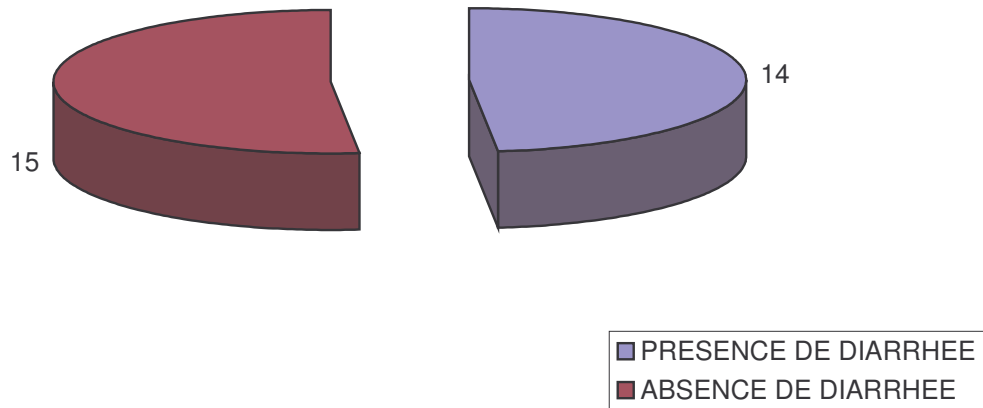


figure 16 : Fréquence de la diarrhée chez les patients hébergeant les spores de microsporidies (VanGool)

Sur les 29 patients ayant un Van Gool positif, seuls 14 avaient une diarrhée soit 48,27%.

Tableau XIV : Fréquence de la diarrhée chez les patients atteints de microsporidiose confirmée par la coloration de Weber

Résultats	Effectif	Pourcentage
Présence de diarrhée	14	50
Absence de diarrhée	14	50
Total	28	100,0

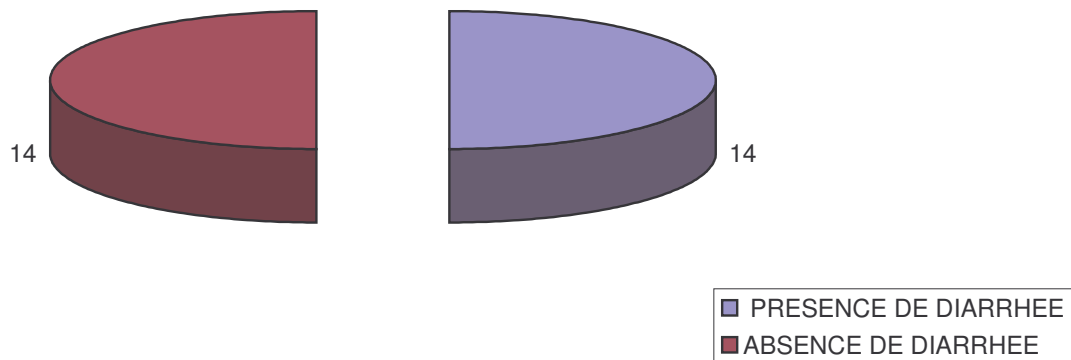


figure 17 : Fréquence de la diarrhée chez les patients atteints de microsporidiose confirmée par la coloration de Weber

Sur les 28 patients ayant un Weber positif, 14 soit 50% ont une diarrhée.

Nous avons identifié également 7 cas de double excrétion d'oocystes de *Cryptosporidium sp.* et de spores de microsporidies.

DISCUSSION

Notre étude a été effectuée au Laboratoire de biologie médicale de l'HNN à partir de malades recrutés dans quatre (4) centres prescripteurs d'ARV de Niamey (HNN, HNL, CESIC, CTA).

Cette étude épidémiologique de la cryptosporidiose et de la microsporidiose est la première au Niger dans ces différents centres chez les patients VIH positifs.

Sur le plan méthodologique, nous avons été en contact direct avec les malades afin de recueillir les informations nécessaires pour éviter les doublons. Les échantillons de selles prélevés ont été analysés au laboratoire pour rechercher les oocystes de cryptosporidie et/ou les spores de microsporidies.

C'est ainsi que nous avons prélevé les échantillons de selles des patients infectés par le VIH et suivis dans les 4 centres prescripteurs du 28 novembre 2004 au 30 avril 2005. Pendant cette période, 172 patients ont été prélevés.

- Pour la coloration de WEBER :

Il y a autant de patients atteints de microsporidiose chez les patients présentant une diarrhée (50 %) que chez les témoins.

- Par la technique de Vangool

Parmi les 29 patients chez qui la recherche a été positive, 14 présentent une diarrhée contre 15 chez les témoins.

La majorité des études concernant ces parasites porte sur des sujets diarrhéiques exclusivement. N'ayant pas de cas témoins (sujet ne présentant pas de diarrhée), il n'y a pas de comparaison.

❖ Données épidémiologiques

Age

Les infections par les cryptosporidies et les microsporidies dépendent également de l'âge du patient. Chez les enfants, les taux les plus élevés sont rencontrés chez ceux qui ont moins de 2 ans [45]. En effet au Niger, des études similaires à notre étude ont porté exclusivement sur des enfants en bas âge.

L'étude de Wafa A, au Niger en 1993 [45], corrobore cette idée. En effet, elle a trouvé chez des enfants d'âge inférieur ou égal à 2 ans, une prévalence de 6,1% contre 1,3% chez les enfants d'âge supérieur.

Dans notre étude, l'âge des patients varie de 5 mois à 58 ans.

Parmi les 172 patients, 3 ont moins d'un an ; 5 ont entre 1 et 4 ans ; 2 ont entre 5 et 14 ans et enfin 162 ont 15 ans et plus soit 94,2 % (**voir figure III**).

Notre étude n'a pas concerné spécifiquement un service de pédiatrie.

La tranche d'âge 15 ans et plus était la plus importante en nombre.

Provenance

Nous notons dans notre étude, que 85 patients venaient de la capitale (49,4%), les autres viennent des autres régions du Niger ; Agadez (8,1%) ; Diffa (2,3%) ; Dosso (8,7%) ; Maradi (4,6%) ; Tahoua (3,5%) ; Tillabery (15,2%) et Zinder (6,4%).

Mais aussi, d'autres villes de pays voisins Bamako (1,2%) ; Gao (0,6%) et Ouagadougou (0,6%).

Dans l'étude de Wafa A. [45], il a été enregistré un nombre plus important d'enfants vivant en zone urbaine, par rapport à ceux provenant de zone rurale (487 contre 106). Cela est peut être du au fait que ces études ont toujours eu lieu dans des centres urbains. Ce qui ne permet pas de voir la vraie prévalence en milieu rural.

Diarrhée

La diarrhée est une manifestation fréquente chez les patients séropositifs. En Afrique, elle est souvent associée à un grand nombre d'agents entéropathogènes et plusieurs germes peuvent être retrouvés. Dans plusieurs études [20], il est retrouvé dans environ 60% des cas, 1 à 3 germes.

La diarrhée chronique accompagnée d'une perte de poids sont des signes cliniques majeurs au cours de l'infection par le VIH, ainsi une étude faite au Niger en 2004 objective une prévalence de 51,81% de cas de diarrhée chronique chez des patients hospitalisés dans les services de pédiatrie de l'HNN [25].

Dans notre étude, la prévalence de la diarrhée au cours de l'infection à VIH est de 45,3%. Nos résultats sont comparables à ceux de Illa H.[25] et aussi à ceux rapporté en France [49], où elle est de 50%.

On note qu'elle est plus basse que celle d'une étude faite au Mali en 1992 qui objective une prévalence de 77% de cas de diarrhée chronique chez les patients hospitalisés atteints par le VIH [33].

Ces diarrhées surviennent au Niger chez les enfants, surtout en début de saison pluvieuse donc de la période allant du mois d'avril au mois de juin [45]. Notre échantillonnage est en dehors de cette période.

❖ Données biologiques

VIH

Tous les patients ont été testés pour le VIH dans un premier temps par le test double check VIH1 et 2 qui n'est pas discriminatoire.

En cas de positivité au premier test, deux [2] tests ont été utilisés pour la différenciation des types sérologiques :

- Immuno Coombs II VIH1 et 2
- Bispot

Si les résultats sont discordants, il est procédé à un second prélèvement dans les 24 heures qui suivent puis dans un mois.

La répartition en fonction du sérotype viral donnait :

168/172 VIH1 soit 97,7%

02/172 VIH2 soit 1,2%

02/172 VIH122 soit 1,2%.

Le taux de portage de VIH dans notre échantillon est de 100%.

Dans les études antérieures concernant les micro et les crypto menées au Niger, le statut sérologique VIH était inconnu [25,45].

Lebbad. M. et al. [30] ont effectué la recherche de parasites chez des patients présentant une diarrhée chronique dans un échantillon de 52 patients répartis comme suit :

- 5 patients VIH1 (9,6%)
- 28 patients VIH2 (53,8%)
- 4 patients VIH1 et 2 (7,8%)
- 15 patients séronégatifs (28,8%).

Taux de CD4

Les lymphocytes TCD4 jouent un rôle clé dans la réponse immunitaire. Ainsi l'infection à VIH est responsable de l'affaiblissement des défenses immunitaires expliqué surtout par la lymphopénie que ce virus entraîne par différents mécanismes.

Y.Dieng et al [18] retrouve, que le taux de CD4 était beaucoup plus faible chez les patients chez qui il était retrouvé des cryptosporidies comparativement à ceux qui n'en avait pas.

Très peu d'études élaborées en Afrique, ont fait cas du taux de CD4 chez des patients infectés par le VIH à cause du coût de cet examen pourtant nécessaire pour la mise en route du traitement ARV.

Dans notre série, la figure XIX montre que la diarrhée est plus fréquente chez les patients ayant un taux de CD4 inférieur à 100.

Cela confirme que ces infections opportunistes sont des complications tardives de l'infection à VIH.

CRYPTOSPORIDIOSE

La cryptosporidiose est une protozoose volontiers responsable de diarrhée chez les sujets immuno-déprimés en général et en particulier chez les sujets infectés par le VIH. [11,23].

Dans cette étude, nous avons employé une méthode décrite par nombre d'auteurs comme étant une technique simple, pratique et fiable : la méthode de Ziehl Neelsen modifiée (ZNM) [16]. Cette dernière est recommandée par de nombreux auteurs comme technique de diagnostic sensible et spécifique des cryptosporidioses [33].

Toutes nos recherches d'oocystes de cryptosporidies ont été effectuées par cette méthode de ZNM.

En pratique, il est possible que cette technique sous estime la fréquence réelle de cette protozoose et que le recours à des méthodes plus sensibles aboutisse à établir des taux de prévalence plus élevés que ceux que nous avons relevés.

Confrontation de nos résultats aux données de la littérature :

Nous avons confronté nos résultats aux autres données de la littérature, plus particulièrement à celles concernant les pays en voie de développement comme le Niger.

Il faut exprimer néanmoins une réserve, lorsque des comparaisons sont faites avec d'autres enquêtes, car les populations étudiées ne sont pas toujours les mêmes (hospitalisés, non hospitalisés, adultes, enfants, diarrhéiques...).

Les méthodes pour mettre en évidence les cryptosporidies sont parfois différentes et d'autres paramètres peuvent entrer en jeu (climat, milieu socio-économique, milieu rural ou urbain...).

Notre chiffre global de prévalence de la cryptosporidiose est de 8,1%, soit 14 cas sur 172 patients VIH positifs avec ou sans diarrhée.

- Okofor J.I. et Okunji P.O. [31] retrouvent une prévalence de la cryptosporidiose de 12,5% soit 52 cas sur 413 patients présentant une diarrhée en 1994 au Nigeria.
- Pichard E. et Coll. [33] au Mali, chez des adultes diarrhéiques hospitalisés en 1990, notent une prévalence de la cryptosporidiose de 38% dont 91% sont associées à une sérologie de VIH positive.
- Cette prévalence de la cryptosporidiose est de 22% au Zaïre, de 47,8% en Ouganda et de 4% au Congo chez des adultes diarrhéiques infectés par le VIH [20].
- Therizol-Ferly P.M. et coll. [39] retrouvent une prévalence de la cryptosporidiose de 6,7% chez des adultes présentant une diarrhée chronique et suspectés d'être infectés par le VIH en 1989 en Cote d'Ivoire.
- Au Sénégal, Dieng T. et Coll [16] relèvent une prévalence de la cryptosporidiose de 8,3% soit 6 cas sur 72 patients au stade SIDA souffrant de diarrhées et hospitalisés dans l'unité de maladies infectieuses de l'hôpital de Fann en 1994.

- En Guinée Bissau, Lebbad M. et Coll. [30] signalent une prévalence de la cryptosporidiose de 25% chez des patients HIV-2 positif avec diarrhée chronique en 2001.

Des chiffres de prévalence de la cryptosporidiose sont également notés dans quelques pays développés ; 24% en France [49] ; 2,8% aux Etats Unis d'Amérique [47].

La plupart des études sur la cryptosporidiose dans les pays en voie de développement, comme le Niger ont porté sur des enfants s,

Au Niger, des études antérieurs portant sur des enfants diarrhéiques rapportent des prévalence de la cryptosporidiose de 6,23% [45] et 5,45% chez des enfants de 6 mois à 5 ans dans les deux services de pédiatrie de l'HNN [25].

MICROSPORIDIOSE

A côté des cryptosporidies, les microsporidies sont actuellement reconnues comme une cause fréquente de diarrhée, principalement chez des sujets infectés par le VIH.

Le diagnostic des microsporidies reposait principalement sur l'étude anatomo-pathologique de la biopsie intestinale. Ce qui constituait un obstacle comme méthode de diagnostic de routine dans nos structures sanitaires. Actuellement de nombreux auteurs recommandent pour la mise en évidence des spores sur les frottis de selles par la coloration au trichrome (WEBER) et/ou l'uvitex 2 B (Uvibio).

Nous avons dans notre étude entreprise la recherche de ces spores par la coloration à l'Uvibio et la confirmation par la coloration au trichrome de WEBER.

Dans notre série, nous retenons 29 cas de microsporidies chez les 172 patients VIH positif soit 16,9%.

Cette prévalence est plus élevée que celle de l'étude précédente faite à Niamey [10] qui retrouve 0,8% chez 990 sujets dans une enquête en population générale.

Cette différence dans les résultats est probablement liée :

- au recrutement différent de nos malades (population générale contre sujets immunodéprimés)
- à la différence de taille de nos échantillons (990 contre 172)
- à l'amélioration des techniques de détection des spores microsporidiennes (technique à l'auramine contre trichrome de Weber).

Confrontation de nos résultats aux données de la littérature :

- A Niamey, au Niger, Bretagne et Coll. [10] faisaient état de 8 cas de microsporidiose chez 990 sujets avec diarrhée mais dont le statut sérologique n'était pas défini.
- En l'an 2000 au Mali, sur 61 examens de selles de patients VIH positif et souffrant de diarrhée, Alpha Cissé O. et Coll. [2] trouvent 9 cas de microsporidiose par la technique de Vangool soit une prévalence de 14,8%. I. Maiga *et Coll.* [19] rapportèrent 32% de cas de microsporidiose en 1997. Plus récemment, Abdou Nouhou I [1] en 2001 au Mali, trouvait une prévalence de 17,5%.
- L'examen des selles de 32 patients séropositifs pour le VIH effectué au Sénégal par Y. Deng et Coll. [17] permettait de retrouver 2 cas de microsporidioses.
- En Tanzani, parmi une population de 86 adultes infectés par le VIH et souffrant de diarrhée chronique, J. Peter and al. [23] retrouve 3 cas de microsporidiose soit 3,5% en 1993.
- Au Zimbabwe, *Microsporidium Sp.* a été identifié dans 11% des cas sur une population de 106 individus atteints d'une diarrhée persistante en 1995. [44].
- En Guinée-Bissau et en 2001, sur 52 patients adultes présentant une diarrhée chronique, Lebbad M. et Coll. [30] trouvèrent 11% de microsporidioses. Ces dernières ont été vues seulement chez des patients VIH positifs.

CONCLUSION

Au terme de cette étude dans ces différents centres prescripteurs d'ARV de Niamey (Niger), sur un échantillon de 172 patients VIH positif âgés de 3 mois à 58 ans, nous avons apprécié l'impact qu'ont ces parasitoses opportunistes au cours du SIDA.

Au vu de nos résultats, il ressort que la microsporidiose intestinale chez les personnes infectées par le VIH est importante avec une prévalence de 16.9% bien que cette enquête ait été menée pendant la saison sèche.

La cryptosporidiose n'est pas non plus à négliger avec une prévalence globale de 8.1%.

Le dépistage de ces parasites est possible actuellement à l'HNN, grâce à ces techniques simples, fiable et utilisables dans nos laboratoires.

RECOMMANDATION

L'expérience tirée de l'étude des prévalences de ces parasitoses dont la gravité est liée à l'infection à VIH, permet d'élaborer des recommandations en termes d'alerte, de prévention et de collaborations pour l'investigation de telles infections :

➤ **Au MSP/LCE :**

- ✓ Mettre en place dans les autres centres prescripteurs d'ARV, particulièrement au CTA les matériels de dépistage de ces parasitoses.
- ✓ Faire une enquête en population générale pour mieux comprendre la survenue de ces infections parasitaires.

➤ **Aux praticiens :**

- ✓ Demander la recherche des microsporidies et des cryptosporidies systématiquement dans le bilan initial des patients VIH immunodéprimés.
- ✓ Sensibiliser le malade sur les risques de contaminations.
- ✓ Prescrire le cotrimoxazole en prévention chez le PVVIH.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Nouhou A.

Les parasitoses intestinales chez les malades du SIDA à Bamako.
Mémoire de fin d'étude ; cycle ingénieur biologiste. FAST Bamako-Mali,
2001.

2. Alpha Cisse O., Ouattara A., Thellier M., Accocebery I., Biligui S., Minta D., Doumbo O., Desportes-Livage I., Thera M. A., Danis M. et Datry A.

Evaluation of an Immunofluorescent-Antibody Test Using Monoclonal
Antibodies against *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon*
intestinalis for diagnosis of microsporidiosis in Bamako (Mali).

3. Andre Zwahlen

Physiopathologie des diarrhées infectieuses Revue médicale de Suisse
Romande ; 2000 ; 120 : 25-29.

4. Association des Enseignants de parasitologie.-

Parasitologie Mycologie. Anofel ; edit 1998 ; 2 : 132-133.

5. Awwa

Roundtable *Cryptosporidium*.

J. Am. Water Works Assoc. 1988, 80: 14-28.

6. Bettens S. ; Gigi J. et Delmee M.

Les infections à microsporidies ;
Louvain Med.1999, 118 : 446-456.

7. Bogaerts S., Lepage P. Rouroy D. et Vande Pitte J.

Cryptosporidium sp., a frequent cause of diarrhea in central Africa.
J. Clin Microb., 1984, 20, 874-876.

8. Bonnin A. Camerlynck P.

Cryptosporidiose humaine. Aspects épidémiologiques et clinique
Revue générale Med. Mal. Inf., 1989, 19,1 : 35-41.

9. Bouree P.

La cryptosporidiose.
Encycl-Med-Chirg-Maladies infectieuses. 1987. P4.

**10. Bretagne S. ; Foutet F. ; Alkassoum A.; Fleury-Feith J. et Develoux
M.**

Prevalence of microsporidial spores in stools from children in Niamey,
Niger.
AIDS, 1993, 7 (suppl.3) : 534-535.

11. Current W. L. et Garcia L.S.

Cryptosporidioses.
Clin Microbiol. Rev. 1991; 4: 325-358.

12. Deluol A. M.

Atlas de parasitologie : Guide pratique de diagnostic au microscopie. Tomell.
Flagelle ; infusoires et Coccidies.
Ed. Varia décembre 1987.

13. Deluol A. M., Cenac. J., Matherous Manche C., Saveh J.

“*Enterocytozoon* -405. la cryptosporidiose diagnostic. Biologique
Ann. Biol. Clin. , 1984, 42 : 399

14. Derouin F., Molina J.M., Eliaswicz M.

“*Enterocytozoon bienewisi*”

<http://www.afssa.fr./ftp/afssa/fiches/mic/enterocytozoon%20bienewisi/Fiche%20e>

15. Desportes I.

Spécialité parasitaire des microsporidies

[http : //www.mnhn.fr/mnhn/bpph/Enseignement/Evolution.2001.htm](http://www.mnhn.fr/mnhn/bpph/Enseignement/Evolution.2001.htm)

16. Dieng T, Ndir O, Diallo S, Coll-Seck A M et Dieng Y:

Prevalence of *Cryptosporidium* sp and *Isospora belli* in patients with
Acquired immunodeficiency syndrom (AIDS) in Dakar (Senegal).
Med Mal infect: 1994; 39 (2):121- 4.

17. Dieng Y., Dieng T.H., Diouf G. Coll-seck A.M. et Diallo S.

Recherche des spores de microsporidies chez des patients sidéens au CHU de Fann à Dakar (Sénégal) Résultats préliminaires.
Med. Mal Infect. 1998 ; 28 : 265-267.

18. Doumbo O., Rossignol J.F., Pichard E., Traoré H.A., Dembelé T.M., Diakité M., Traoré F., Diallo D.A.

Nitazoxanide in treatment of cryptosporidial diarrhea and other intestinal parasitic infections associated with acquired immunodeficiency syndrome in Tropical Africa.

A.M., J. Trop Med Hyg., 1997, 56 : 637-639.

19. Dumoulin A.

Cryptosporidium spp. Fiches f CURIT f alimentaire d'un micro-organisme
<http://www.afssa.fr/ftp/afssa/fiches/mic/cryptosporidium/Fiche%20cryptosporidium>

20. Fanta T.

Contribution à l'épidémiologie de la cryptosporidiose et de l'isosporose au Mali.

Thèse en pharmacie FMPOS, 1992. Bamako-Mali.

21. Fayer R., Morgan U. et Upton S.J.

Epidemiology of *cryptosporidium* transmission, detection.
Int J. Parasitol., 2000, 30:1305-1322.

22. Galeazzi G.

Microsporidies.

Annales du contrôle de qualité.

<http://pascal.def.chez.tiscali.fr/micropo.htm>

23. Goodgame R. W., Genta R.M, White A.C. CHappbell C.L.

Intensity of infection in AIDS-associated cryptosporidioses

Z. infection 1993, 167 : 704-709.

24. Ibrahim Maiga, Ogobara Doumbo, Mamadou Dembele et coll

Microsporidiose intestinale humaine à Bamako (Mali) : présence de *Enterocytozoon bienewisi* chez les patients séropositifs pour le VIH.

Cahier Santé 1997 ; 7 : 257-262.

25. Illa. Hachimou

Prévalence des cryptosporidies chez les enfants de 0 à 5 ans en Pédiatrie A et B de l'Hôpital National de Niamey.

Mémoire de fin de cycle de technicien supérieur de Laboratoire. ENSP 2004.

26. Maïga L.

Microsporidiose intestinale en milieu hospitalier à Bamako.

Thèse en Médecine FMPOS 1996 ; Bamako-Mali.

**27. Marc D.P.(Cire) ; Sylvia C. (Cire) ; Pascal B.(Invs) ; Estelle C. (Invs)
et Anne G.(Invs)**

Epidemie de gastro entérites à *cryptosporidium*. 2001.

[http : //www.hc-sc.gc.ca/hecs-sesc/eau/publications/protozoa/chapitre11.htm](http://www.hc-sc.gc.ca/hecs-sesc/eau/publications/protozoa/chapitre11.htm)

28. Molina J.M., Sarfati C., Goguel J.et al.

Albendazole for treatment and prophylaxis of microsporidiosis due to *Encephalitozoon intestinalis* in patients with AIDS.

A randomized double-blind controlled trial J. Infect. Dis 1998 ; 177 : 1373-1377.

29. Molina J.M., Sarfati C., Tourneur M. et al.

Flumagillin for treatment of intestinal microsporidiosis in immunocompromised patients.

A randomized double blind controlled trial (ANRS090) ICAAC 2001, abstract 1129.

30. Lebbad M., Norrgren H., Naucér A., Dias F.,Anderson S.et Linder E.

Intestinal parasites in HIV-2 associated AIDS cases with chronic diarrhoea in Guinea-Bissau.

Acta tropica; 2001; 80: 45-49.

31. Okafor J.I. et Okunji P.O.

Cryptosporidiosis in patients with diarrhea in five hospitals in Nigeria.

J.commun Dis. 1994, 26 : 75-81.

32. Peter Cegielski J., Ortega Ynes R.,Mckee S. et coll

Cryptosporidium, *Enterocytozoon* and *Cyclospora* infections in Pediatric and adult patients with diarrhea in Tanzania.

Clinical Infectious Diseases. 1999 ; 28 : 314-321.

33. Pichard E., Doumbo O., Minta D., Traoré H.A.

Role cryptosporidiosis in diarrhoea among hospitalised adults in Bamako.

Bull Soc Pathol Exot. 1990, 83: 473-478.

34. PNLS/IST.

Cadre stratégique de lutte contre le VIH/SIDA, Niger 2000

35. RGP (Recensement Général de la Population).

Rapport du Bureau Central de Recensement. RGP/H-2001, P. décembre 2002.

36. Smith H.V.

Environemental aspects of *Cryptosporidium* species.

A review J.R.soc. Med., 1990; 83:629-631.

37. Smith N.H., Cron S., Valdez L.M. et al.

Combination drug therapy for cryptosporidiosis in AIDS.

J.Infect Dis 1998 ; 178:900-903.

38. Thérèse L., Lucien D. et Daniel A.

Cryptosporidioses

http://pharmacie.univ-lille2.fr/labos/parasito/internat_cours_par/cryptosp.html

**39. Therizol-Ferly P.M., Tagliante Saracina J., Kone M., Konan A.,
Ouhon J., Assoumou A., Aka K. et Assale G.**

La diarrhée et parasitose chronique chez les adultes suspectés de SIDA en Côte d' Ivoire.

Taureau Soc Pathol Exot Filiales 1989 ; 82 (5) : 690-693.

40. Tiangtip R. et Jongwutines S.

Molecular analysis of *Cryptosporidium* species isolated from HIV-infected patients in Thailand.

Trop. Med. Int. Health, 2002, 7:357-364.

41. Tyzzer E.E.

Cryptosporidium parvum (sp nov): a coccidian found in the small intestine of the common mouse

Arch. Protistenk. 1912; 26: 394-418.

42. Tzipori S.

Cryptosporidiosis in animals and humans.

Microbiol Rev 1983, 47: 84-96.

43. Upton S.J. et Current W.L.

The species of *cryptosporidium*. (Api complexa : cryptosporidiidae).

J.Parasitol 1985; 71 : 624-629.

44. Vangool T., Luderhoff E., Nathoo K. J., Kiive C.F. Dankert J. et Mason P.R.

High prevalence of *enterocytozoon bienewisi* infections among HIV-positive individuals with persistent diarrhoea in Harare, Zimbabwe.

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and hygiene 1995, 89: 478-479.

45. Wafa A.

Cryptosporidiose chez l'enfant à Niamey, thèse en médecine ; université de Niamey. Faculte des sciences de la santé (FSS) ; 1992. Niamey-Niger.

46. White C.; Cappell C.; Hayat S. et al.

Paramomycin for cryptosporidiosis in AIDS;

a prospective double-blind trial. J. Infect. Dis 1994; 170:419-424.

47. Wolfson J. S., Richter J.M., Wali Ross M. A. Weber D.J., MC. Carthy D. M., Hopkin S.

Cryptosporidiosis in immuno competent patients.

N. Engl. J. Med., 1985, 312: 1278-1282.

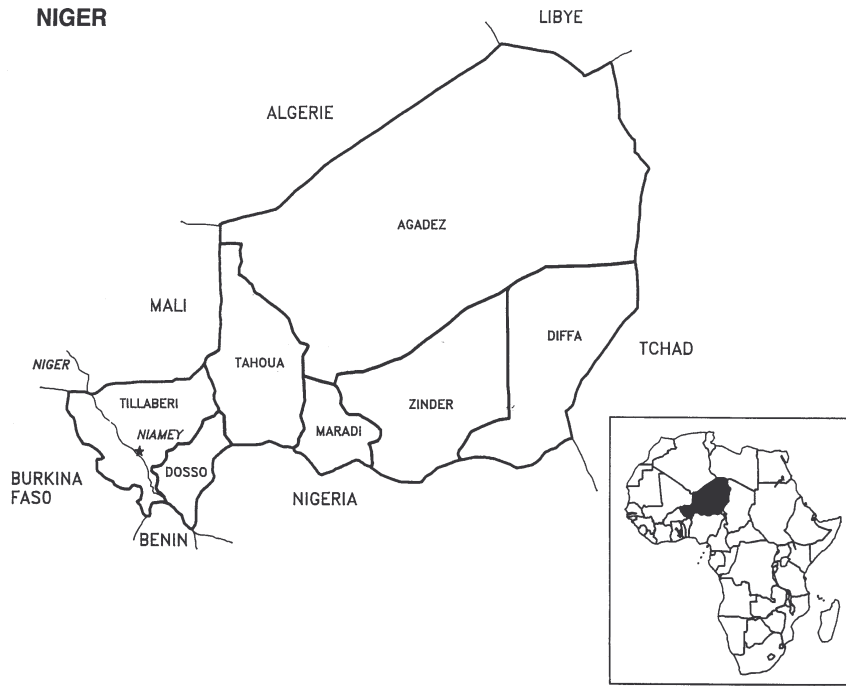
48. Y. Van Laethem:

Manifestation digestive chez les patients VIH+ (Manifestations entériques et diarrhée.)

Acta Urologica Belgica Vol. 61 n° :1 ; 1993 : 1-2

49. Gerard P.M., Marche C., Maslo C, Rene E., Leport J., Martheron S., Michon , Coulaud , J. P., Saimot A. G. :

Digestives manifestations in the acquired immunodeficiency disease.
Ann. Med. (Interne)1998 ;138(6) : 411 – 5.



PRESENTATION GENERALE DU NIGER
ANNEXE II

RESUME

Nom et Prénom : ABDOULAYE GAMBO Moustapha

Titre : Etude sur la prévalences des cryptosporidioses et des microsporidioses chez des patients infectés par le VIH/SIDA et suivi dans 4 centres prescripteurs d'ARV de Niamey-Niger

A propos de 172 cas

Année de soutenance : 2005

Ville de soutenance : Bamako (Mali)

Pays d'origine : Niger

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et Odonto-stomatologie du Mali.

Secteur d'intérêt : Parasitologie

Résumé : La présente étude avait pour but de déterminer les prévalences des cryptosporidies, des microsporidies et corréler la présence de ces parasites à la diarrhée et au taux de CD4.

Cette étude de nature prospective et descriptive a été réalisée au laboratoire de biologie de l'hôpital national de Niamey et dans 4 centres prescripteurs d'ARV de Niamey à propos de 172 patients infectés par le VIH, présentant une diarrhée ou non. Les patients infectés par le VIH1 représentaient (97,7%), VIH2 (1,2%) et VIH1&2 (1,2%).

Ceux qui présentaient une diarrhée représentaient 45,3% et 32,05% d'entre eux abritaient des oocystes et/ou des spores de ces parasites.

La prévalence des cryptosporidies est de 8,1% et celle des microsporidies est de 16,9% selon la méthode de Van Gool et confirmé à 96,55% par la coloration de Weber.

Les patients ayant un taux de CD4 inférieur à 200 représentaient 59% des patients.

Mots clés : Cryptosporidiose - Microsporidiose - VIH/SIDA – Niger.

SERMENT DE GALIEN :

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner 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 les actes criminels.

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