



FACULTÉ DE MÉDECINE, DE PHARMACIE ET
D'ODONTOSTOMATOLOGIE



Année universitaire 2009-2010 N° _____ /

THESE

DIAGNOSTIC
DE L'ISOSPOROSE
CHEZ LES PATIENTS
VIH DIARRHEIQUES Á BAMAKO
(MALI)

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE Samedi 11 Septembre 2010

DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PHARMACIE ET
D'ODONTOSTOMATOLOGIE PAR :

M. Ousmane O COULIBALY

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

JURY

Président du jury : Pr. Ogobara DOUMBO
Membre : Pr. Daouda K MINTA
Pr. Amagana DOLO

Co-directeur de Thèse : Pr. Boubacar TRAORE
Directeur de Thèse : Pr. Mouctar DIALLO

**CETTE THESE A BENEFICIE DE L'APPUI
FINANCIER DU PROGRAMME "ENSEMBLE
POUR UNE SOLIDARITE THERAPEUTIQUE
HÔPITALIERE EN RESEAU" (ESTHER)**

A ALLAH,

Louange et gloire à Allah, maître de l'univers, nous implorons Ta miséricorde pour les fautes que nous avons commises (volontaires ou involontaires).

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

A MUHAMMAD,

□ Paix et salut de Dieu sur Lui”, Prophète de l’ISLAM. Nous demandons au bon Dieu de faire de nous les élus de ta communauté le jour du jugement dernier.

DEDICACES

A ma maman Yâ KONE

Affectueusement nous t'appelons BANI. Depuis l'enfance, vous avez guidé mes pas dans ce monde, me donnant le meilleur de vous et vos conseils multiples pour surmonter cette épreuve de la vie. Merci pour vos soutiens qui ne m'ont pas fait défaut pour la réalisation de ce travail, qui est le vôtre. Que Dieu te garde près de nous aussi longtemps que possible. Je t'aime.

A mon père Oumar COULIBALY

En bon père, vous vous êtes toujours battu pour l'avenir de vos enfants, leur bien être et le bonheur de la famille. Vous avez toujours cherché à rendre votre entourage heureux. Ce travail est le résultat de tous les sacrifices que vous avez consentis pour moi. Soyez assuré de mon profond attachement.

A mon oncle Karim COULIBALY

Vous nous avez aimés, éduqués et conseillés sans aucune discrimination entre nous vos enfants. Vous m'avez adopté comme votre vrai enfant durant tout ce temps.

En ce jour solennel, je vous dis merci pour tout ce que vous m'avez rendu comme service.

A ma tante Madame SOUMARE Sira KONE

Merci de m'avoir appris les vraies valeurs de la vie. Tu es pour moi l'exemple à suivre car tu as toujours été honnête et amoureux du travail bien fait. Voici enfin l'aboutissement de cette partie du chemin.

Puisse Allah le tout puissant me donner la chance de t'exprimer toute l'affection que j'ai pour toi.

A mes frères et sœurs

Vous avez été toujours à côté de moi ; merci, ce travail est aussi le vôtre.

A mes oncles et tantes

Vos soutiens ne m'ont jamais manqué. Ce travail est le fruit de votre sagesse. Puissiez-vous trouver à travers ce travail l'expression de ma profonde gratitude.

A feu Dossama COULIBALY

Je ne vous oublierai jamais. Ce travail est le vôtre. Que votre âme aie la paix éternelle du seigneur (Amen).

A la famille SIDIBE de Sébénikoro

Merci de votre bon voisinage. Ce travail est également le vôtre.

REMERCIEMENTS

Au Professeur Ogobara K DOUMBO

Cher maître ! Transmettre son savoir et sa connaissance aux autres est un bon acte de foi, un devoir sacré de valeur inestimable. Ayant accepté de nous transmettre cette richesse infinie, nous ne saurions trouver les mots exacts pour vous exprimer notre reconnaissance.

Au Pr. Boubacar TRAORE et Au Pr. Mouctar DIALLO

Merci pour tous vos conseils, votre rigueur scientifique, votre sens du travail bien accompli, mais surtout votre grand sens d'écoute et de sagesse, indispensable pour notre carrière.

Veillez, Chers maîtres croire, en l'expression de notre profonde gratitude. Soyez assurés de notre immense admiration et de tout notre respect.

Au personnel et aux étudiants du DEAP/MRTC.

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

A l'unité PREMA : Dr KAYENTAO, Dr NIARE, Dr DOUNTABE, Dr ONGOÏBA, Dr KONE, Dr TRAORE, BATHILY, Sory, SANGARE, NIAGALY, BARRY, Awa, Siriki, DIA.

Depuis mon intégration dans l'unité après l'atelier ESTHER d'octobre 2008, je n'ai cessé d'apprendre à vos côtés, et ceci dans une ambiance collégiale.

Recevez toute ma reconnaissance et toute ma disponibilité.

A mes amis

Docteur DEMBELE Ousmane Nago dit Homo, Maïmouna T Diarrah, Korotoumou TRAORE, Thara BABY, Assitan KOUROUMA dite Adia la Princesse, Kalifa MOUNGORO, Diakaridia DOUMBIA, Natanian DABO, Allassane TOURE, Nana KEITA, en souvenir pour la marque de notre amitié.

A mes cousins et cousines

Merci très infiniment pour vos soutiens qui n'ont jamais fait défaut.

Aux agents de santé des sites d'études,

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

Aux patients des différents sites :

Sans votre accord ce travail était impossible. Encore une fois de plus merci et nous souhaitons qu'un traitement curatif puisse être découvert pour traiter cette pandémie et même un jour si possible un vaccin.

Enfin, merci à tous ceux qui, de près ou de loin, ont participé à l'élaboration de ce travail.

AUX PARTENAIRES INSTITUTIONNELS

- **CHU Angers**

Au Professeur Eric PICHARD

Au Professeur Dominique CHABASSE

- **CHU Pitié Salpêtrière**

Au Professeur Marc THELLIER,

A Monsieur Sylvestre BILIGUI

Merci d'avoir été les pionniers du Programme ESTHER qui sans leur appui ce travail n'aurait pas vu le jour.

Profonde gratitude pour la connaissance que vous nous avez léguée.

A notre Maître et co-directeur de thèse

Professeur Boubacar TRAORE

- **Maître de Conférences en Parasitologie- Mycologie à la FMPOS.
Vice Doyen de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d’Odonto-
Stomatologie**
- **Responsable de l’unité Paludisme et grossesse et du laboratoire
d’Immuno-pathologie parasitaire du MRTC.**

Permettez-nous de vous remercier cher maître de la confiance que vous nous avez faite en nous proposant ce travail.

Nous avons beaucoup admiré vos immenses qualités humaines, sociales et scientifiques tout au long de ce travail. Vous avez cultivé en nous, le sens du travail bien fait.

Votre simplicité, votre disponibilité, votre rigueur, votre dynamisme font de vous un maître apprécié de tous.

Trouvez ici, cher maître l’expression de notre profonde gratitude et de notre indéfectible disponibilité.

A notre Maître et directeur de thèse

Pr Mouctar DIALLO

- **Maître de conférences en Parasitologie-Mycologie au DEAP de la faculté de Médecine Pharmacie et d'Odontostomatologie du Mali ;**
- **Msc, PhD, Responsable de l'Unité de Diagnostic Parasitaire au MRTC.**

Cher maître, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de diriger cette thèse malgré vos multiples occupations.

Permettez nous de vous exprimer notre profonde gratitude et notre grand respect.

A notre Maître et Président du jury

Professeur Ogobara K. DOUMBO

- Professeur Titulaire de Parasitologie-Mycologie à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie du Mali.
- Directeur du Pôle d'Excellence de Recherche sur le paludisme du Malaria Research and Training Center (MRTC).
- Membre correspondant de l'Académie Nationale de Médecine de France ;
- Membre Honoraire de la « Alpha Omega Alpha Honor Medical Society » des Etats-Unis d'Amérique.
- Chevalier des palmes académiques du CAMES,

Permettez nous de vous remercier cher maître de la confiance que vous nous avez faite en nous acceptant à vos côtés.

Votre rigueur scientifique, votre persévérance et votre dévouement constant pour un travail bien fait, font de vous un chercheur émérite.

C'est un honneur pour nous d'être cité parmi vos élèves.

Veillez accepter le témoignage de notre sincère et profonde gratitude.

A notre Maître et juge

Professeur Agrégé Daouda K MINTA

- Maître de conférences Agrégé de maladies infectieuses et tropicales ;
Chef de service des maladies infectieuses et tropicales du CHU Point G ;
- Master en science biologie médicale ; chercheur au DEAP/ FMPOS ;
- Directeur du Centre d'Excellence VIH du Mali ;

Nous avons admiré vos qualités scientifiques et humaines tout au long de cette thèse. Votre assistance dans la réalisation de ce travail relève de votre bonté et votre amour pour le travail bien fait.

A notre Maître et juge

Professeur Agrégé Amagana DOLO

- PharmD. PhD ;
- Maître de conférences Agrégé de Parasitologie-Mycologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.
- Chef de D.E.R des Sciences Fondamentales à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Votre simplicité, votre disponibilité constante, votre rigueur, votre dynamisme font de vous un maître apprécié par tout le monde.

Trouvez ici, cher maître toute notre reconnaissance et notre indéfectible attachement.

TABLE DES MATIERES

I- INTRODUCTION	20
II-OBJECTIFS	22
1- Objectif général	22
2- Objectifs spécifiques	22
III-GENERALITE	23
1-Définition et importance en santé publique	23
2-Epidémiologie	23
2-1- Agent pathogène.....	23
2-1-1-Classification	24
2-1-2-Cycle parasitaire	24
2-2-Mode de contamination	28
2-3-Facteurs favorisants	28
2-4-Répartition géographique	28
3-ETUDE CLINIQUE	29
3-1- Chez l'immunocompétent	29
3-2-Chez l'immunodéprimé	29
4- Diagnostic positif.....	30
4-1- Les signes cliniques.....	30
4-2 Diagnostic biologique	33
5- Diagnostic différentiel.....	33
5-1- Cryptosporidiose.....	33
5-2- Microsporidiose.....	33
6-TRAITEMENT	33
6-1- Buts	33
6-2- Moyens (molécules).....	33
6-2-1- Cotrimoxazole (sulfaméthoxazole-triméthoprime)	34
6-2-2- Autres molécules	36
7-PROPHYLAXIE	36

IV-METHODOLOGIE.....	38
1- Lieu d'étude.....	38
2- Les sites d'études	40
3- Type d'étude	42
4- Période d'étude.....	42
5- Population d'étude.....	42
6- Déroulement de l'étude	42
7- Echantillonnage.....	43
8- Critères d'inclusion	43
9- Problèmes éthiques	43
10- Gestion, analyse et saisie des données	44
V- RESULTATS.....	45
1- Caractéristiques socio démographiques.....	45
1-1- Sexe.....	45
1-2- Age.....	46
1-3- Sites de prescription.....	46
2- Caractéristiques biologiques et thérapeutique.....	47
2-1- Taux de CD4.....	47
2-2- Traitement ARV.....	47
3- Analyses descriptive des résultats parasitaires.....	48
3-1- Isosporose.....	48
4- Résultats analytiques.....	49
4-1- Relation entre isosporose et traitement ARV.....	49
4-2- Relation entre isosporose et le taux de CD4.....	50
5- Suivi des patients atteints d'isosporose.....	51
VI- COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	52
VII- CONCLUSION.....	56
VIII- RECOMMANDATIONS.....	57
REFERENCES.....	59

FICHE SIGNALÉTIQUE.....65

ANNEXES

SERMENT D'HIPOCRATE

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Cycle évolutif de l' <u>Isospora belli</u>	27
Figure 2: Taille d' <u>I belli</u> : 20-30 microns environ. A droite la forme mature d' <u>Isospora belli</u>	31
Figure 3 : Oocyste d' <u>Isospora belli</u>	32

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification d' <u>I. belli</u>	24
Tableau II : Répartition des patients selon le sexe.....	45
Tableau III : Répartition des patients selon l'âge.....	46
Tableau IV : Répartition des patients selon le site de prescription.....	46
Tableau V : Répartition des patients selon le taux de CD4.....	47
Tableau VI : Répartition des patients selon la prise d'ARV.....	47
Tableau VII : Répartition des patients selon la positivité à l'isosporese par la technique de Ziehl Neelsen modifiée.....	48
Tableau VIII : Fréquence des patients positifs à l' <u>I. belli</u> par site de prescription.....	48
Tableau IX : Répartition des patients positifs à l'isosporese selon la prise des ARV.....	49
Tableau X : Répartition des patients positifs ou non à l' <u>Isospora belli</u> selon le taux de CD4.....	50
Tableau XI : Répartition des patients selon l'évolution de l'isosporese.....	51

ABBREVIATIONS

Ac: Anticorps

Ag: Antigène

ARV : Anti Retro Viral

CD : Classe de Différenciation

CESAC : Centre d'Ecoute de Soins d'Animation et de Conseils

CHU : Centre Hospitalo-universitaire

COM : Commune

DEAP : Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires

EB : Enterocytozoon bienewisi

EI : Encephalitozoon intestinalis

EPS : Examen Parasitologique des Selles

ESTHER : Ensemble pour une Solidarité Thérapeutique Hospitalière en Réseau

F CFA : Franc de la Communauté Financière Africaine

GT : Gabriel Touré

HCNLS : Haut Conseil National de Lutte Contre le SIDA

I : Isospora

IFI : Immunofluorescence Indirect

IO : Infections opportunistes

Km : kilomètre

Mg : milligramme

Mm : millimètre

MRTC : Malaria Research & Training Center

Na : Sodium

ND : Non Déterminé

PCR : Polymerase Chain Reaction

PG : Point G

PVD : Pays en Voie de Développement

PVVIH : Personne Vivant avec le Virus de l'Immuno Déficience Humaine

RDC : République Démocratique du Congo

SIDA : Syndrome Immuno Déficience Acquise

USA: United States of America.

USAC : Unité d'Ecoute, de Soins, d'Animation et de Conseils

VIH : Virus de l'Immuno Déficience Humaine

I- INTRODUCTION

L'isosporose est une protozoose causée par une coccidie intestinale, Isospora belli. C'est une affection due à un parasite spécifique de l'homme et surtout fréquente aux zones tropicales. Avec la pandémie du Syndrome de l'Immunodéficience Acquis (SIDA) il a été constaté une augmentation de la fréquence de cette parasitose (1-4).

L'homme se contamine par absorption des formes de résistance (oocystes) disséminées sur les végétaux (5). Les facteurs favorisants sont multiples. Le mode de contamination oro-anal pourrait être responsable de la dissémination du parasite(6, 7).

L'isosporose peut toucher l'immunocompétent et l'immunodéprimé. Cette maladie survient chez 2 à 3% des patients atteints du SIDA (8). L'infection chez l'immunodéprimé se traduit par une diarrhée sévère (9-11) . La morbidité et la létalité au cours du SIDA sont dues principalement aux infections opportunistes (1). Ces infections opportunistes y comprise l'isosporose disposent de traitements bien codifiés et ont un bon pronostic.

L'Isospora belli est un parasite plus fréquemment rencontré dans les régions tropicales et sub-tropicales et sa prévalence varie selon les différentes régions. En 2003 la prévalence de l'isosporose était de 14% au Venezuela, 15% en Haïti et moins de 2% aux Etats Unis (12). R. Vignesh et *al* (13) obtenaient une prévalence de 26,1% au Sud de l'Inde.

En Afrique la prévalence était de 9% au Congo-Brazzaville, 21,60% au Zaïre (République Démocratique du Congo) et 13,00% en Ouganda (7).

Au Mali Minta et *al*. (1989), rapportait une prévalence de 5% dont 2 décès et 1 disparu (14) ; suivi de TRAORE et *al*. (1997) qui avaient trouvé 9%. Une étude récente d'Omar et *al* (2008) a noté 6,7% comme prévalence (15) .

Depuis l'avènement de la gratuité des ARV au Mali en Juillet 2004, peu d'études ont porté sur les infections opportunistes en général et sur l'isosporose en particulier. Ainsi, nous avons entrepris cette étude pour déterminer la fréquence de l'isosporose chez les patients VIH/SIDA diarrhéiques dans les sites de prise en charge de Bamako.

II-OBJECTIFS

1. Objectif général

L'objectif général est d'améliorer le diagnostic et la prise en charge de l'isospore au cours du VIH/SIDA à Bamako, au Mali.

2. Objectifs spécifiques :

Ils sont au nombre de quatre :

a-Déterminer la fréquence globale de l'isospore chez les patients VIH/SIDA à Bamako, au Mali.

b-Déterminer la fréquence de l'isospore chez les patients VIH/SIDA par site de prise en charge dans le district de Bamako, au Mali.

c-Etablir la relation entre le taux de CD4 et la survenue de l'isospore chez les patients VIH/SIDA à Bamako, au Mali.

e-Etablir la relation entre les patients sous ARV et la survenue de l'isospore.

III-GENERALITES SUR L'ISOSPOROSE

1-Définition et importance en santé publique

L'isosporose est une protozoose causée par une coccidie intestinale, Isospora belli. C'est un parasite de l'homme et limité aux zones tropicales.

En 1860 KJELLBERG a décrit la phase tissulaire de l'Isospora belli chez l'homme au cours d'une autopsie (16) . En 1890 RAILLIET et LUCET décrivent la forme kystique de l'Isosporose (16). La taxonomie de ce groupe a été récemment révisée par FRENKEL en 1974 (16) . Isospora belli a été récemment connu comme étant une affection chez les malades atteints de SIDA (6). Cette parasitose s'est révélée par sa gravité et sa fréquence avec la pandémie du VIH/SIDA. Elle fait partie des protozooses opportunistes.

2-Epidémiologie

Observée initialement sur le front pendant la première guerre mondiale d'où son nom, l'isosporose se manifeste en dehors du SIDA par de petites épidémies ou des cas isolés dans les pays en voie de développement (5). Les diarrhées dues à Isospora belli sont plus fréquentes en milieu tropical et intertropical (17). Il existe une endémie en Amérique du Sud et en Afrique (18).

Nous ne disposons pas suffisamment d'information sur l'épidémiologie et la transmission pour expliquer les différentes fréquences observées (6) . L'homme se contamine par absorption des formes de résistance (sporocystes) disséminées sur les végétaux (5).

2-1-Agent pathogène

L'homme héberge une seule espèce, Isospora belli

2-1-1-Classification

Tableau I : Classification l'Isospora belli

Classification	
Embranchement	<i>Protozoa</i>
Sous-embranchement	<i>Apicomplexa</i>
Classe	<i>Coccidea</i>
Ordre	<i>Eimeriida</i>
Famille	<i>Eimeriidae</i>
Genre	<i>Isospora</i>

2-1-2-Cycle parasitaire

C'est un parasite de l'intestin grêle dont le cycle comporte une multiplication asexuée (schizogonie) et une multiplication sexuée (gamogonie).

La forme infectante est le sporozoïte contenu dans l'oocyste où il survit, dans le milieu extérieur, protégé par une paroi épaisse. L'oocyste est ingéré par l'hôte et, dans l'intestin, les sporozoïtes sont libérés sous l'influence de la trypsine et des sels biliaries et pénètrent dans les cellules de la paroi intestinale par refoulement de la paroi cellulaire et formation d'une vacuole parasitophore. A l'intérieur de la cellule hôte, le sporozoïte s'arrondit et commence à grandir. Pendant la croissance, le noyau se divise et on aboutit à la production d'un schizonte contenant plusieurs noyaux.

A la fin de la schizogonie, la division du cytoplasme donne des merozoïtes, de forme allongée, libres dans la lumière intestinale. Ces merozoïtes de première génération pénètrent à l'intérieur de nouvelles cellules et donnent des schizontes de deuxième génération qui libèrent à leur tour des merozoïtes.

Après deux ou plusieurs cycles asexués, les mérozoïtes issus de la dernière génération de schizontes (qui sont toujours localisés dans l'épithélium intestinal) subissent, à l'intérieur des cellules la différenciation sexuelle. Certains merozoïtes donnent une cellule multinucléée (microgametocyte) qui se fragmente en petits parasites flagellés (trois flagelles) très mobiles : ce sont les gamètes mâles ou microgamètes.

D'autres mérozoïtes vont donner un grand parasite dont le noyau reste unique à l'intérieur de la cellule hôte : c'est le gamétocyte femelle ou macrogamétocyte. La fécondation de ces deux gamètes entraîne la formation du zygote qui évolue en oocystes. Ce sont les oocystes qui sont éliminés dans les selles (5, 17, 19).

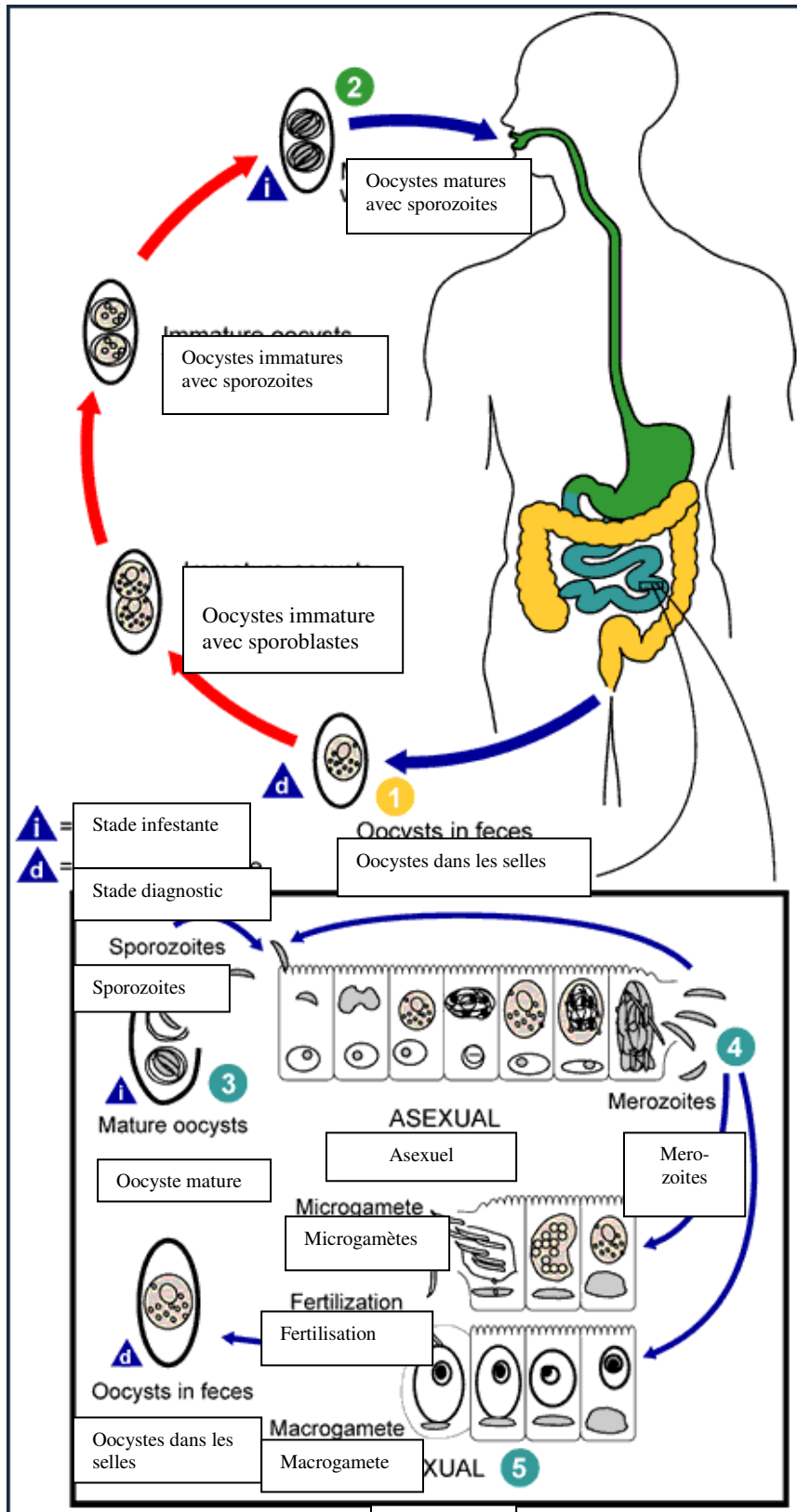
Le zygote sécrète une paroi épaisse qui sort de la cellule hôte, se retrouve dans la lumière intestinale, est entraîné par le transit et aboutit dans le milieu extérieur où la maturation se poursuivra jusqu'au stade de deux sporocystes contenant chacun quatre sporozoïtes. Cette maturation comporte la formation de cellules appelées sporoblastes ou sporocystes à l'intérieur desquelles sont formés les sporozoïtes.

L'oocyste est donc un stade capable de survivre en milieu extérieur. Contrairement aux oocystes de *Plasmodium*, les oocystes de coccidies ne changent pas de taille au cours de leur maturation. Le nombre de sporozoïtes est peu élevé (huit) et ils sont entourés par une membrane épaisse, apparaissant au microscope comme constituée de deux couches distinctes.

La schizogonie s'effectue au niveau des cellules épithéliales de l'intestin grêle.

La gamogonie conduit à la formation d'oocystes. Les oocystes sont émis dans la lumière intestinale sous forme non sporulée. La sporulation peut s'effectuer en partie lors du transit intestinal et conduire à l'émission d'oocystes infestant,

soit directement entre un homme malade et un hôte sain ou indirectement par ingestion d'aliments ou d'eau souillée. Les oocystes deviennent infestants après maturation dans le milieu extérieur.



From: Centers for Disease Control and Prevention

HIV Web Study (www.HIVwebstudy.org)

Supported by HRSA

2006-10 Université de Washington

Figure 1: Cycle évolutif de l'*Isospora belli*

2-2-Mode de contamination

La contamination est liée au péril fécal. Elle est indirecte par ingestion d'eau ou d'aliments souillés par les oocystes. Elle est directe par les mains sales suite à un contact avec une personne infectée.

Le bas niveau d'hygiène, une contamination alimentaire d'origine fécale et la grande fréquence de contacts interhumains sont autant de facteurs favorisant. Récemment il a été rapporté la présence d'Isospora belli chez les homosexuels et que la voie sexuelle constituait la voie de dissémination dans cette communauté (6). Le mode de transmission est oro-anal. Les formes asymptomatiques sont d'un grand apport dans la dissémination du parasite (5).

2-3-Facteurs favorisants

Une diminution, sur plusieurs années, des lymphocytes est responsable en deçà d'un certain nombre, habituellement inférieur à 200 CD4/mm³, d'une altération des défenses immunitaires et de la survenue des infections opportunistes (20-22). Ces infections peuvent s'observer également dans d'autres circonstances comportant une immunodépression majeure (chimiothérapie, greffe de moelle ou d'organe) (23-25).

L'utilisation agricole de l'engrais humain constitue un facteur épidémiologique favorisant la transmission.

2-4-Répartition géographique

L'Isospora belli est un protozoaire classé dans l'ordre des Eucoccidia du phylum Apicomplexa. Les infections à Isospora belli sont plus fréquentes dans les zones tropicales et subtropicales. Les infections atteignent principalement les patients au cours de l'infection à VIH/SIDA. La prévalence était très élevée dans certains pays comme l'Inde (26,1%), Haïti (48%) et Ouganda (13, 26-28).

La prévalence de l'isosporose est de 10 pour 100 pour les pays en voie de développement (PVD). A Bamako l'isosporose a été diagnostiquée chez 6,7% des patients infectés par le VIH/SIDA (15).

En plus des personnes VIH/SIDA la maladie peut toucher l'immunocompétent mais les symptômes sont rarement graves (5, 18).

3-Etude clinique

3-1-Chez l'immunocompétent

Chez un individu ne présentant pas de problème immunitaire c'est-à-dire immunocompétent, la guérison survient spontanément en une ou deux semaines le plus souvent (5, 18). Il est possible, néanmoins que l'isosporose devienne chronique sur une longue période aboutissant alors à une stéatorrhée (présence de graisse dans les selles), un syndrome due à une déshydratation (perte d'eau et de substances minérales par le corps) et un syndrome de malabsorption.

I.belli est une coccidie qui parasite l'intestin de l'homme. Ces parasites sont peu fréquents chez l'immunocompétent (29) et leur développement est favorisé au cours du sida où il est considéré comme des parasites opportunistes.

La clinique se singularise par une fièvre, des douleurs abdominales, une diarrhée muqueuse accompagnée parfois d'une fièvre, les nausées, les vomissements et un amaigrissement (5, 6, 18, 30).

3-2-Chez l'immunodéprimé

Chez un sujet présentant un déficit immunitaire ou l'on préfère qui a des difficultés pour se défendre contre les infections comme c'est le cas pour le sida par exemple. La maladie est susceptible d'être très grave et quelque fois même fatale (la mort du patient).

I.belli est l'unique espèce en cause. C'est un protozoaire invasif, qui parasite seulement l'homme. Il siège au niveau du duodéno-jéjunum.

L'isosporose entraîne des diarrhées non sanglantes, avec céphalées, fièvre, douleurs abdominales, déshydratation, malabsorption, perte de poids et une hypereosinophilie sanguine inconstante. Des cas d'isosporose extra-intestinale ont été rapportés chez des patients atteints de sida (atteinte ganglionnaire [ganglions mésentériques et médiastinaux], chorion, rate, foie, sinus,

cholédoque (28, 31, 32). L'évolution vers la chronicité et rechutes après traitement sont fréquentes (30).

4-Diagnostic positif

4-1.Les signes cliniques :

Isospora belli est un parasite agent de diarrhée chronique sévère, récidivante, d'intensité variable, aqueuse ou glairo sanglante chez les patients séropositifs pour le VIH. Le diagnostic d'isosporose doit être évoqué systématiquement chez le patient séropositif pour le VIH, quelque soit son niveau d'immunodépression, et à fortiori s'il est originaire des zones intertropicales, car en absence de traitement l'évolution peut être préjudiciable avec perte de poids et malabsorption, pouvant à terme compromettre l'efficacité du traitement antirétroviral. Les autres signes sont : les douleurs abdominales et la fièvre (28). L'évolution est habituellement chronique pouvant entraîner la mort (18, 28, 33).

4-2.Diagnostic biologique

Prélèvements : selles, aspiration duodénale

.Examen Direct et Kato :

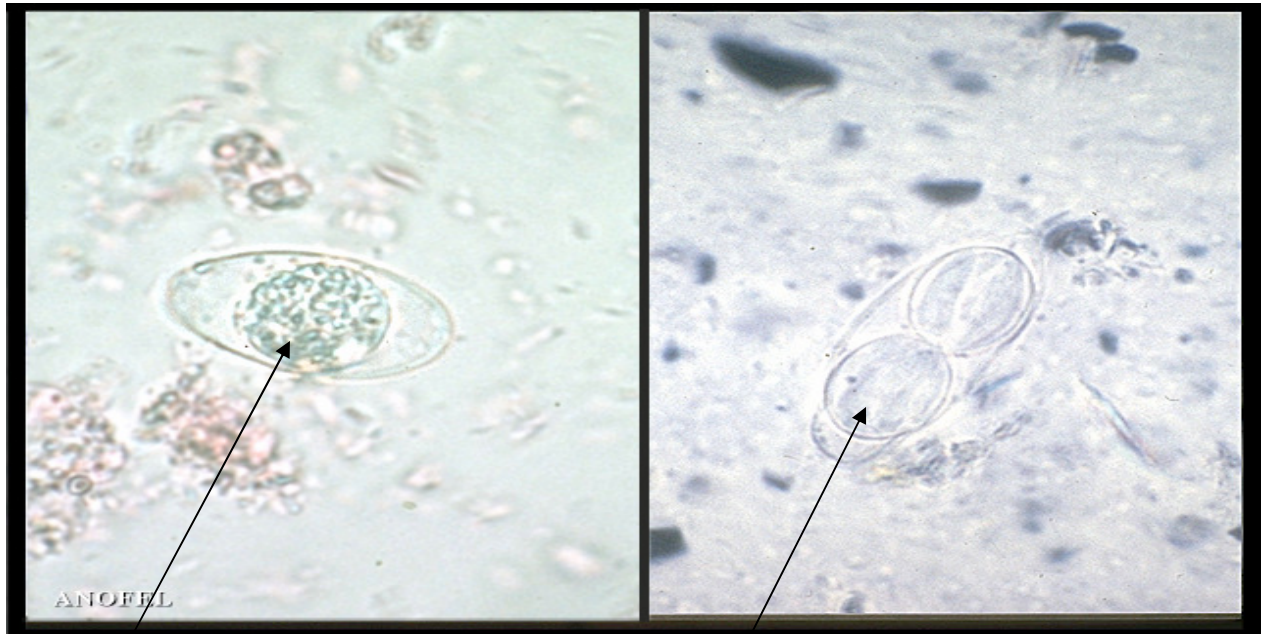
Les selles sont fraîchement émises. Il repose sur la mise en évidence des oocystes d'Isospora belli (5, 18, 28, 34). Les oocystes apparaissent dans les selles à intervalle variable après le début de l'infection et persistent parfois après un délai de 3 mois (19, 28). Les oocystes ont une forme ovale, allongée 25-30 microns de long. La largeur est de 12-16 microns avec une extrémité effilée.

L'oocyste a une paroi lisse et un sporoblaste médian. Il contient un sporoblaste et parfois deux sporocystes bien différenciés. Dans le milieu extérieur, ce sporoblaste va donner naissance à deux sporocystes contenant chacun 4 sporozoïtes.

Habituellement les oocystes sont absents au moment des douleurs abdominales. A la période symptomatique, les examens de selles peuvent ne pas révéler d'oocystes (35).

Une biopsie duodénale peut être faite (18, 19, 36) apportant plus fréquemment une preuve parasitologique (18, 19).

.Hyper éosinophilie et présence de cristaux de Charcot-Leyden signifient très généralement la présence de parasite dans l'organisme.



Oocyste immature

Oocyste contenant 2 sporocystes contenant
chacun 4sporozoïtes

Figure 2 : Taille d'Oocyste d'Isospora belli : 20-30 microns environ

A droite la forme mature d'Isospora belli

Examen après coloration

La méthode de choix pour la recherche d'oocystes dans les selles est la technique de HENRIKSEN-POBLLENZ encore appelée Ziehl Neelsen modifié (28, 35) (voir annexe).

Résultats et interprétation :

Isospora belli peut être recherché essentiellement dans des biopsies intestinales ou dans des fèces.

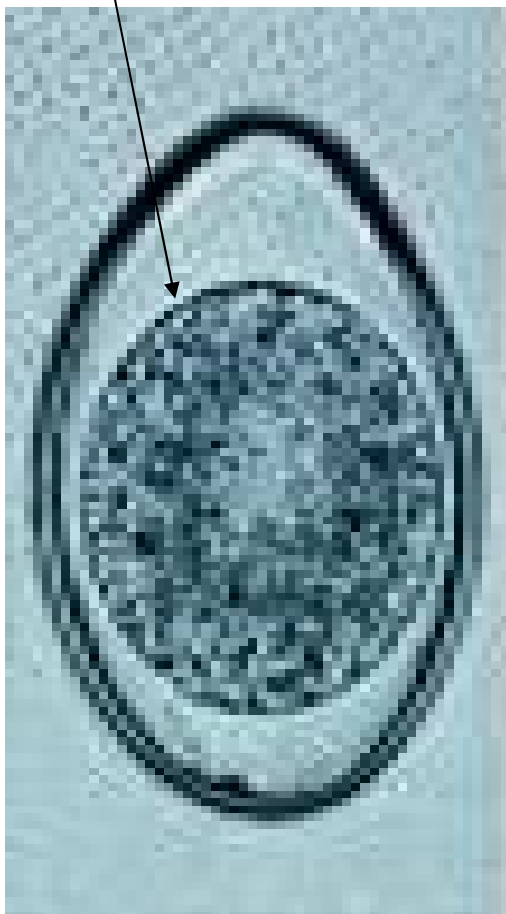
Les biopsies permettent de repérer tous les stades du parasite, mais il est plus simple de rechercher des oocystes dans les matières fécales. Des techniques spécifiques doivent être utilisées pour leur diagnostic et la technique de référence est la coloration de Ziehl-Neelsen, modifiée par Henricksenz, après concentration formol éther.

Les oocystes d'Isospora belli apparaissent colorés en rose fuchsia, et mesurent entre 20-30 microns environ.

Les levures sont colorées en rouges.

Les bactéries acido résistantes peuvent se colorées en rose, mais leur forme et leur taille différentes évitent de les confondre.

Un seul sporoblaste



Sporoblastes

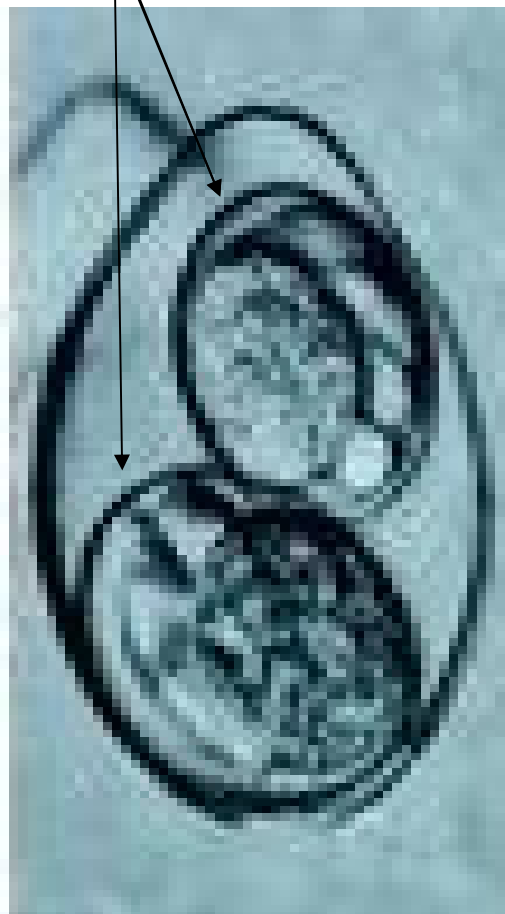


Figure 3 : Oocyste d'Isospora belli

5-Diagnostic différentiel

Il se fait avec les autres parasitoses digestives :

5-1 Cryptosporidiose

Le diagnostic de Cryptosporidium intestinal était porté par l'examen des biopsies intestinales. De nos jours la Cryptosporidiose est affirmée essentiellement par la découverte des oocystes dans les selles. Leur émission est discontinuée aussi est-il indispensable de répéter les examens des selles (26, 36-41).

5-2 Microsporidiose

-La coloration au trichrome modifiée par Weber :

Les spores de microsporidies apparaissent roses avec une vacuole excentrée. C'est la technique de référence pour le diagnostic de la microsporidiose (2, 42).

-Immunofluorescence Indirect (IFI) :

C'est une technique de diagnostic immunologique basée sur la production d'anticorps (Ac) monoclonaux spécifiques qui permet de faciliter le diagnostic (43-45).

6-Traitement.

6-1. Buts

Plusieurs médicaments sont utilisés dans le traitement de l'isospore. Le but du traitement est d'améliorer l'état de santé du malade sur le plan clinique et biologique.

6-2. Moyens (molécules)

Moyens médicamenteux :

6-2-1.Cotrimoxazole (sulfaméthoxazole-triméthoprime)

Forme comprimé ; composition

Le cotrimoxazole est composé de sulfaméthoxazole et du triméthoprime (6, 18, 19, 28, 34, 46). Il existe des comprimés de 960mg composés de 800mg de sulfaméthoxazole et de 160 mg de triméthoprime. Les excipients sont les suivants : amidon de maïs, cellulose poudre, sodium lauryl sulfate, croscamellose sel Na, gélatine, talc, silice colloïde, magnésium stéarate.

Indications

Le cotrimoxazole possède l'activité antibactérienne et anti parasitaire. Les caractéristiques pharmacocinétiques du sulfaméthoprime, du risque d'effets indésirables (hématologiques et cutanés en particulier) et doivent tenir compte, dans un pays donné, de l'évolution de la sensibilité des germes vis-à-vis du produit et des autres médicaments disponibles.

Selon les infections et les germes en cause, il convient d'utiliser en première intention la molécule présentant le meilleur rapport bénéfice/risque.

Les indications du cotrimoxazole sont :

- Les infections digestives et de la fièvre typhoïde, le cholera ,
- Prévention et traitement des infections à Pneumocystis jirovecii chez l'immunodéprimé et notamment : chez les patients infectés par le VIH et à risque de pneumocystose,
- Des infections urogénitales de l'homme, notamment les infections des voies urinaires,
- Certaines infections broncho-pulmonaires à germes sensibles,

Posologie et mode d'administration

Le triméthoprime –sulfaméthoxazole (960mg) demeure le traitement de choix car la réponse clinique à ce produit chez les personnes VIH et SIDA atteints d'isosporose peut être spectaculaire en deux jours (6, 28). La posologie est de 1comprimé toutes les 12heures.

Il faut deux à quatre semaines de traitement (8). En cas d'intolérance ou d'inefficacité, la pyriméthamine associée à l'acide folinique pendant 10 à 28 jours peut lui être substituée (47).

Mode d'administration

L'administration se fera de préférence au cours des repas.

Contre- indications

Contre- indications absolue (s)

- Prématuré,
- Nouveau-né de moins de 1 mois,
- Hypersensibilité à l'un des composants,
- Hypersensibilité aux sulfamides,
- Allaitement d'un enfant ayant un déficit en glucose-6-phosphate-déshydrogénase,
- Insuffisance hépatique sévère
- Allaitement d'un nouveau-né de moins d'un mois,

Contre- indications relative (s)

- Allaitement d'un nourrisson de plus d'un mois,

Effets indésirables

Les effets secondaires du cotrimoxazole sont multiples et dangereux :

- Erythème pigmenté fixe,
- Nausée, vomissement, douleur épigastrique,
- Réaction d'hypersensibilité, fièvre, œdème angioneurotique,
- Choc anaphylactique, réaction anaphylactique,
- Eruption cutanée, urticaire, érythème polymorphe,
- Syndrome de Stevens-Johnson, syndrome de Lyell,
- Colite pseudomembraneuse, pancréatite, hépatite,
- Transaminases (augmentation) ; bilirubinémie (augmentation),

- Thrombopénie, leucopénie, neutropénie,
- Agranulocytose, aphasie médullaire, anémie hémolytique,
- Troubles rénal, néphropathie interstitielle

6-2-2. Autres molécules

En plus du cotrimoxazole, il a été rapporté un bon effet avec le metronidazole et la furazolidone.

Le traitement symptomatique comprenant la rééquilibration hydro électrolytique et la nutrition parentérale est parfois indiqué (34).

Remarque :

La restauration de l'immunité par une prise correcte d'ARV est nécessaire pour augmenter le taux de CD4 si personne séropositive (48-51). Une augmentation du taux de CD4 permet de réduire les cas de rechute.

6-Prophylaxie

Les précautions d'hygiène habituelles dans la prévention des affections à transmission féco-orale sont nécessaires, surtout dans les collectivités et pour les sujets en contact avec les animaux diarrhéiques (5, 38, 41).

Il faut prendre des précautions pour le personnel manipulateur des produits infectés (port de gant, décontamination du matériel, incinération des résidus) pour le personnel de laboratoire et le personnel soignant (26, 38, 41).

Il faut désinfecter le matériel d'endoscopie par le formaldéhyde ou les solutions ammoniacuées (41).

Les mesures suivantes sont nécessaires :

***Individuelle.**

Education sanitaire

- Informé sur les dangers du péril fécal et enseigner les règles essentielles de l'hygiène en soulignant le danger des mains sales.
- Eviter les comportements sexuels à risque.

Assainissement du milieu

-Aménagement de latrines.

-L'interdiction ou la régulation de l'usage de l'engrais humain ou animal en agriculture.

-Le traitement des eaux usées afin de protéger des cultures contre la dissémination des oocystes par les selles humaines ou animales.

Hygiène alimentaire

-Se laver les mains, avant les repas et toute manipulation d'aliments et après contact avec un animal. Laver soigneusement les légumes et les fruits consommés crus avec une eau propre. Si l'eau de consommation est de qualité douteuse, il faut la faire bouillir.

*** Collective**

La prévention collective consiste à protéger les ressources naturelles d'eau de toute contamination fécale, animale ; de s'assurer de l'intégration des réseaux de distribution d'eau potable.

IV-METHODOLOGIE

1-Lieu d'étude

Bamako est la capitale du Mali, située dans le sud-ouest du pays sur les rives du fleuve Niger, appelé Djoliba («le fleuve du sang»), la ville de Bamako est construite dans une cuvette entourée de collines. Elle s'étend d'ouest en est sur 22 Km et du nord au sud sur 12 Km, pour une superficie de 267 Km². En 2009, la ville compte 2 209 225 habitants (Bamakois). Son rythme de croissance urbaine est actuellement le plus élevé d'Afrique (et le sixième au monde).

Bamako est le centre administratif du pays un important port fluvial et un et un centre commercial pour toute la région alentour. Bamako, originellement bàmako («marigot du caïman» en langue bambara), a été fondé à la fin du XVI^{ème} siècle par les Niaré, anciennement appelés Niakate, qui étaient des Sarakolés. Niaréla, le quartier des Niaré, est un des plus anciens quartiers de Bamako.

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

La commune I : compte 256 216 habitants. Limitée au nord par la commune rurale de Djalakorodji (cercle de Kati), à l'ouest par la commune II, au nord-est par la commune rurale de Sangarébourgou (cercle de Kati), à l'est par la commune rurale de Gabakoura III et au sud par le fleuve Niger, elle couvre une superficie de 34 26 Km². Neuf quartiers composent cette commune : sont Banconi, Boukassombougou, Djelibougou, Doumanzana, Fadjiguila, Sotuba, Korofina Nord, Korofina Sud et Sikoroni.

La commune II, limitée à l'est par le marigot de Korofina, à l'ouest par la colline du Point G, au nord par la limite nord du District et au sud par le lit du fleuve Niger, couvre une superficie de 1681 Km² et compte une population de 160 680 habitants. La commune compte onze quartiers : Niaréla (le plus ancien où réside la famille des fondateurs de Bamako), Bagadadji, Médina-courra, Bozola, Missira, Hippodrome, Quinzambougou, Bakaribougou, TSF, Zone industrielle et Bougouba. La commune II abrite 80% des industries du Mali.

La commune III est limitée au nord par la circonscription de Kati, à l'est par le Boulevard du Peuple qui la sépare de la commune II, au sud par la portion du fleuve Niger, comprise entre le pont des Martyrs et le Motel de Bamako, et à l'ouest, par la rivière de Farako à partir du Lido, l'Avenue Cheick Zayed El Mahyan Ben Sultan et route ACI 2000, couvrant une superficie de 23Km². Sa population est de 119 287 habitants. La commune III est le centre administratif et commercial de Bamako. Elle accueille notamment les deux grands marchés de la capitale, le Grand marché Dabanani et Dibida. Vingt quartiers composent cette commune et les villages de Koulouninko et Sirakoro doufing ont été rattachés à la commune III.

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

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

La commune V : couvre une superficie de 41Km². Elle est limitée au nord par le fleuve Niger, au sud par la zone aéroportuaire et la commune de Kalambancoro à l'est par la commune VI et le Niger. Elle est composée de huit quartiers Badalabougou, SemaI, Quartier Mali, Torokorobougou, Baco-Djikoroni, Sabalibougou, Daoudabougou et Kalaban-Coura. La commune compte 249 727 habitants.

La commune VI avec une superficie de 8 882 hectares est la plus vaste du district de Bamako. Sa population est d'environ 600 000 habitants. Elle est constituée de dix quartiers : Banankabougou, Djanékéla, Faladiè, Magnambougou, Missabougou, Niamakoro, Sénou, Sogoniko, Sokorodji et Yirimadio (52).

2-Les sites d'études

Notre étude concernait les structures sanitaires suivantes :

- Centre Hospitalier Universitaire (CHU) du Point G (PG)
- Centre d'Ecoute, d'Animation et de Conseils (CESAC)
- Unité de soins, d'Animation et de Conseils (USAC) de la commune V (ComV)

Le Département d'Epidémiologie des Affections Parasitologiques (DEAP) pour la partie laboratoire.

***Description générale du CHU du Point G**

L'hôpital du Point G, construit en 1905, couvre une superficie de 25 Hectares. Ancien hôpital militaire, devenu hôpital civil peu avant l'indépendance du Mali, il se situe sur une colline surplombant Bamako, nommée par le colonisateur français Point G (52). Le CHU est une structure de troisième référence. Il est doté de 6 blocs opératoires et de 18 services dont 11 services de spécialités médicales (cardiologie A, cardiologie B, hématologie oncologie, maladies infectieuses et tropicales, médecine interne, neurologie, néphrologie, pneumopathologie, psychiatrie, rhumatologie, urgences), 5 services de spécialités chirurgicales (Anesthésie, réanimation, chirurgie A, chirurgie B, gynécobstétrique, urologie), un service d'imagerie médicale et un laboratoire d'analyse médicale.

***Description générale du CHU Gabriel Touré**

Le CHU Gabriel Touré est le deuxième hôpital de Bamako ; Il porte le nom d'un jeune médecin et humaniste soudanais né en 1910 à Ouagadougou et mort en 1935 après avoir été contaminé par un malade atteint de la peste pulmonaire. Il a été créé le 17 Janvier 1959 à la place d'un ancien dispensaire (52). De par sa situation géographique il demeure le plus sollicité et est aussi au sommet de la pyramide sanitaire.

Il est situé au centre de Bamako en commune III avec à l'Est le quartier de Médine à l'Ouest l'Ecole Nationale des Ingénieurs(ENI), au Nord la garnison de l'état major de l'armée de terre, au Sud le TRANIMEX (société de dédouanement et de transit).

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

***Description générale du CESAC et de l'USAC ComV**

Le centre d'Ecoute de soins d'Animation et de Conseil(CESAC) a été créé en Septembre 1996 grâce au soutien financier de la coopération française en collaboration avec le Ministère de la santé, des personnes âgées et de la solidarité de l'époque et de l'Association de Recherche de Communication et d'Accompagnement à Domicile des PV-VIH (ARCAD/SIDA) qui assure la gestion et l'animation. Son but est d'apporter une réponse médicale et psychosociale adaptée aux problèmes de la prise en charge des personnes vivant avec le VIH/SIDA.

Il est situé en commune III et au centre commercial de Bamako. Il est sis au bord de la rue Archinard dans la même cours que le service social du district, contigu au Centre d'Accueil et d'Orientation des Enfants et à l'Est du Ministère de l'Administration Territoriale et des Collectivités locales.

Quand à l'USAC elle joue le même rôle que le CESAC mais situé dans les centres de santé de références qui constituent les deuxièmes niveaux de la pyramide sanitaire.

2-Type d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale.

3-Période d'étude

L'étude s'est déroulée sur une période de deux ans (de juillet 2007 à décembre 2009).

4-Population d'étude

Notre étude a porté uniquement sur les patients VIH/SIDA diarrhéiques hospitalisés et / ou suivis dans les structures sanitaires concernées par l'étude.

5-Déroulement de l'étude

C'était à la suite des prélèvements de selles effectués par les malades au matin de bonheur dans les services cliniques. Les selles étaient collectées dans des pots de prélèvement. Les échantillons de selles étaient adressés au laboratoire (DEAP) afin de pouvoir les examiner. Chaque prélèvement était accompagné d'une fiche d'enquête dûment remplie par le Médecin ou un Interne du dit service portant l'identité du patient, du prescripteur et du service demandeur.

-Les variables démographiques : l'âge, le sexe, le poids, période.

-Les variables cliniques : l'étude clinique comportait, la notion de fièvre récente, les céphalées, les vomissements, l'asthénie, les diarrhées, les algies (abdomen, poumon et courbatures), les signes cutanés et pulmonaires.

-Variable biologique : taux de CD4.

Les techniques biologiques : nous avons utilisé les techniques suivantes :

*L'examen direct

*La technique de concentration (Ritchie)

*Le Kato-Katz pour les selles molles ou dures

*La technique de coloration (la technique de Ziehl Neelsen modifiée)

Les principes et les matériels utilisés pour chacune des techniques sont présentés en «Annexe» page 67

Les résultats des différentes techniques et lectures étaient sous la supervision de nos responsables de laboratoire.

6-Echantillonnage

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

7-Critères d'inclusion :

- Sujets séropositifs au VIH hospitalisés ou non dans les sites d'études ;
- Sujets diarrhéiques ;
- Consentant à participer à l'étude.

8-Critère de non inclusion

- Avoir une sérologie VIH négative ;
- Patient présentant des infections opportunistes dont la sérologie n'a pu être connue ;

9-Considérations éthiques

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

Au cours de notre étude, nous avons utilisé des matériels stériles à usage unique pour le prélèvement des selles. Les données cliniques et biologiques ont fait l'objet d'une stricte confidentialité, et continuent à l'être. Les résultats ont été portés à la connaissance de tous nos partenaires.

10-Gestion, analyse et saisie des données

Le résultat de l'analyse des selles était consigné sur la fiche de demande d'examen (Cf. annexe N°1), ainsi que dans le cahier de laboratoire et dans le registre. La saisie des données a été faite avec le logiciel Microsoft office Access 2003, et l'analyse avec le logiciel Stata S E 10.

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

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

V- RESULTATS

Au terme de notre étude nous avons reçu 335 prélèvements de selles.

1- Caractéristiques sociodémographiques

1.1- Sexe

Tableau II : Répartition des patients selon le sexe

Sexe	Fréquence	Pourcentage
Masculin	161	48,20
Féminin	173	51,80
N D	1	-
Total	335	100

ND : Non déterminé

Le sex-ratio était de 1,07 en faveur des femmes.

NB : Le sexe d'un patient n'a pu être connu.

1.2- Age

Tableau III : Répartition des patients selon l'âge

Age	Fréquence	Pourcentage
0-10	14	4,68
11-20	16	5,35
21-30	61	20,40
31-40	116	38,80
41-50	64	21,40
51-60	22	7,36
61-80	6	2,01
ND	36	-
Total	335	100,00

La tranche d'âge 31-40 était la plus représentée avec 38,80% de l'effectif.

1.3- Sites de prescription

Tableau IV : Répartition des patients selon le site de prescription

Structure sanitaire	Fréquence	Pourcentage
CHU GT	90	26,87
CHU PG	161	48,06
CESAC	84	25,07
Total	335	100,00

Le CHU. Point G avait la fréquence la plus élevée avec 48,06%.

2. Caractéristiques biologiques et thérapeutiques

2.1- Taux de CD4

Tableau v : Répartition des patients selon le taux de CD4

Taux de CD4 (Cellules/mm ³)	Fréquence	Pourcentage
<200	160	68,67
200-499	47	20,17
≥500	26	11,16
N D	102	-
Total	335	100,00

Dans notre étude 68,67% des patients avaient un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/ mm³ avec un minimum de 0 cellule/ mm³ et un maximum de 5220 cellules/ mm³, Pearson chi² (2)=17,3824 ; $p < 10^{-3}$.

2-2 Traitement ARV

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

Traitement ARV	Fréquence	Pourcentage
Oui	200	62,90
Non	118	37,10
ND	17	-
Total	335	100,00

Les patients sous ARV représentaient 62,90% de la population d'étude.

NB : La notion de prise d'ARV pour 17 patients n'est pas connue.

3. Analyses descriptive des résultats parasitaires

Tableau VII : Répartition des patients selon la positivité à l'isospore par la technique de Ziehl Neelsen modifiée.

Patients	Fréquence	Pourcentage
Positifs	27	8,06
Négatifs	308	91,94
Total	335	100,00

En utilisant la technique de Ziehl- NELSEN , 8,06% des patients présentaient une isospore.

Tableau VIII : Fréquence des patients positifs à l'Isospora belli par site de prescription.

Structure sanitaire	Fréquence		Pourcentage
	n	+	
CHU GT	90	8	8,89
CHU PG	161	9	5,59
CESAC	84	10	11,90
Total	335	27	8,06

Le CESAC avait le fort contingent des positifs avec 10 cas et une prévalence de 11,90%.

4. Résultats analytiques

4.1- Relation entre isosporose et traitement ARV

Tableau IX : Répartition des patients positifs à l'Isospora belli selon la prise des ARV.

I belli ARV	Positif		Négatif		Total	
	n	%	n	%	n	%
Oui	20	76,92	180	61,64	200	62,89
Non	6	23,08	112	38,36	118	37,11
N D	1	-	16	-	17	-
Total	27	100	308	100	335	100

Des patients sous ARV, 62,89% étaient atteints de l'isosporose.

Pearson chi2 (1)=2,4 Pr=0,12

$$X^2 = 2,4$$

4.2-Relation entre isosporose et le taux de CD4

Tableau X : Répartition des patients positifs ou non à l'*Isospora belli* selon le taux de CD4

Isosporose Taux de CD4	Positifs		Négatifs		Total	
	n	%	n	%	n	%
<200	26	96,30	134	65,05	160	68,67
200–500	0	0,00	47	22,82	47	20,17
≥500	1	3,70	25	12,14	26	11,16
N D	-	-	-	-	102	-
Total	27	100	206	100	335	100

Dans notre série, 96,30% des patients atteints de l'isosporose avaient un taux de lymphocytes T CD4 moins de 200 cellules/mm³.

Pearson chi2 (2)=11,07 Pr=410⁻³

$$X^2 = 11,17$$

5. Suivi des patients atteints d'isoporose

Tableau XI : Répartition des patients selon l'évolution de l'isoporose.

Patients	Fréquence	Pourcentage
Amélioration	10	37,04
Décès	1	03,70
N D	16	59,26
Total	27	100

Durant le suivi des patients, un seul malade est décédé à la suite d'une détresse respiratoire.

VI-COMMENTAIRES ET DISCUSSION

- **Méthodologie**

Notre étude a été menée dans le district de Bamako au niveau de 2 structures sanitaires (le CHU Point G et le CHU. Gabriel Touré) et dans deux centres de prescription d'ARV (CESAC et USAC Com V). Les patients VIH/SIDA positifs ont été concernés pour cette étude. Le choix de ces sites se justifie par les raisons ci-après :

► Elles sont situées dans la capitale qui est la ville la plus peuplée du Mali, et celle avec la plus grande file active des patients VIH ;

► Les CHU sont les structures sanitaires de 3^{ème} niveau dans la pyramide sanitaire du Mali.

C'était une étude transversale portant sur l'amélioration du diagnostic de l'isospore et qui s'est déroulée de Juillet 2007 à Décembre 2009. Pour pouvoir diagnostiquer cette affection ces sites étaient en collaboration avec le laboratoire du DEAP/MRTC où nous avons effectué la biologie. Le diagnostic de l'isospore a été posé par la mise en évidence de l'agent pathogène à l'examen direct, la méthode de Ritchie, la technique de coloration (le Ziehl Neelsen modifiée) et le Kato-Katz ce qui a contribué à améliorer la sensibilité de notre étude.

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

Dans cette étude nous n'avons pas programmé de suivi au départ pour certains patients décelés positifs

- **Caractéristiques de base de la population d'étude**

La population d'étude était majoritairement de sexe féminin 51,80% avec un sexe ratio de 1,07.

L'étude de Minta (14) en 1989 à Bamako avait trouvé un sex-ratio de 1,61 en faveur du sexe masculin. Cependant, une autre étude s'est déroulée de janvier 1997 à juillet 1998 par H.A TRAORE et *al* trouvait une sex-ratio de 0,9 en faveur des femmes (7).

Le CHU du Point G avait le fort contingent des patients soit 161 (48,06%), puis le CHU.GT avec 90 (26,87%), et le CESAC avec 84 (25,07) patients. Ce fort taux des CHU s'expliquerait par le fait qu'en plus d'être des structures de prescription d'ARV comme le CESAC, ils sont aussi des centres de prise en charge des séropositifs. Le fort contingent du CHU. Point G pourrait s'expliquer par le fait que c'est le seul service de référence de la prise en charge des maladies infectieuses au Mali ; de nombreux patients VIH/SIDA y sont hospitalisés (15).

- **Caractéristiques biologiques**

❖ **Taux de CD4**

Sur le plan biologique selon les données de la littérature, l'isospore surviendrait à un stade d'immunodépression ($CD4 < 200$ cellules/mm³) (15, 53, 54).

Dans notre étude 26 patients avaient un taux de lymphocytes T CD4 inférieur à 200 cellules/ mm³ soit 96,30% des cas.

- **Traitement ARV**

Les ARV étaient administrés à 62,90 de nos patients, ce qui concorde avec celui de Oumar et *al* à Bamako, qui était de 68,7%(p=0,221) (15).

- **Caractéristiques parasitaires**

La prévalence de l'isosporose était de 8,06% au Ziehl Neelsen modifiée dans notre population d'étude. Au Mali Minta et coll. (1989) trouvaient une prévalence de 5% soit 3 cas sur 60 patients TRAORE et *al* Oumar et al (15) avaient eu respectivement 9% et 6,7%.

Notre prévalence est plus élevée que celle de Minta en 1989 et de Oumar en 2008. Par contre la prévalence de TRAORE et al en 1998 est supérieure à 8,06%. Nous constatons de 1998 à nos jours une diminution de la prévalence de l'isosporose. Cette diminution pourrait s'expliquer par l'instauration de la gratuité du traitement par les ARV qui restaurent l'immunité et réduisent l'avènement des infections opportunistes.

Dans notre étude nous avons effectué plusieurs techniques à la recherche d'Isospora belli cela pourrait expliquer la forte prévalence par rapport à celui de Oumar.

Cependant la fréquence de l'isosporose en 1989 était élevée en zone tropicale (27) ; il s'agissait pour la République Démocratique du Congo (21,60%), pour Haïti (16%) et pour Ouganda (13,00%)

Ces résultats nous permettent de dire que l'isosporose est une pathologie à spécificité tropicale avant l'avènement des trithérapies.

Par ailleurs, en 1986 elle restait faible aux USA (14) et au Brésil qui étaient respectivement moins de 0,2% et 0,1%, cela encore pour prouver que la fréquence de l'isosporose est élevée en milieu tropical.

Parmi les patients atteints d'isosporese 68,67% avaient un taux de lymphocyte T CD4 inférieur à 200 cellules/mm³. Nous arborons dans le même sens que la littérature qui affirme que les infections opportunistes sont l'apanage des patients séropositifs ayant un taux de lymphocyte T CD4 inférieur à 200 cellules/ mm³.

- **Suivi des malades atteints d'isosporese**

Seulement un malade est décédé à la suite d'une détresse respiratoire, par contre Minta et coll (1989) avaient obtenu deux cas de décès et un perdu de vu.

En 2008 Oumar et *al* ont trouvé que l'isosporese représente la deuxième cause de décès chez les patients VIH/SIDA après la tuberculose.

VII-CONCLUSION

Au terme de notre étude, nous constatons que l'isosporose est une affection opportuniste assez fréquente au Mali avec une fréquence globale de 8,06% chez les personnes VIH/SIDA.

Cependant, son émergence est sans doute liée à la pandémie du VIH/SIDA, surtout quant le taux de lymphocyte CD4 < 200 cellules/mm³.

La sévérité de son pronostic en terme de létalité pose le problème d'une meilleure prise en charge systématique de cette parasitose au cours du sida et nécessite aussi de rehausser le plateau technique des laboratoires de diagnostic.

Au cours du suivi de nos patients, nous avons pu constater un seul cas de décès.

VIII-RECOMMANDATIONS

Après cette étude nos recommandations sont les suivantes :

❖ **Aux autorités sanitaires et Organismes internationaux de lutte contre le sida :**

- Renforcer le plateau technique pour un diagnostic précoce et efficace de l'isosporose.
- Recycler le personnel médical et paramédical dans la prise en charge des patients atteints d'infections opportunistes au cours du VIH/SIDA.
- Etendre la recherche des infections opportunistes dans les hôpitaux régionaux.
- Améliorer le suivi des patients VIH/SIDA présentant des infections opportunistes.

❖ **Aux chercheurs/ ESTHER/ responsables de laboratoire**

- Poursuivre cette étude par le génotypage des cas positifs dans le but de chercher s'il existe d'autres espèces en plus d'Isospora belli.

❖ **Aux prescripteurs**

- Demander systématiquement un Examen Parasitologique des Selles (EPS) avec recherche des IO chez tout patient séropositif diarrhéique ou présentant une douleur abdominale.
- Améliorer le traitement antirétroviral et des IO ;
- Remplir correctement les fiches de demande d'examen complémentaire des IO.
- Informer les patients sur les modalités de recueil des selles.

❖ **Aux patients**

- Etre observant dans le traitement.
- Respecter les modalités de recueil des selles.
- Accepter l'EPS.

IX- REFERENCES

1. Diagnostic de l'isoporose chez les patients VIH à Bamako(Mali),le point sur l'épidemie de SIDA. www.unaids.org. 2005.

Ref Type: Internet Communication

2. E.Deicas. "Infections à microsporidies, Isospora et Sarcocystis. In Encyl Med Chir Maladies Infectieuses ." pp. 8-10. 1994.

3. I.L.C.Y.G.A.a.e.al.Desportes. "Occurrence of a new microsporidian: Enterocytozoon bienewisi in the enterocytes of a human patient with AIDS." J Protozoon 32,(1985):250-54.

4. J.a.B.P.Salat. "Encephalitozoon cuniculi and Encephalitozoon cuniculi and Encephalitozoon intestinalis causes of opportunistic infections." Epidemiol Microbiol Immunol 52,(2002):26-32.

5. J.J.L.B.Rousset. "Protozooses du tube digestif (sans l'amibiase à Entamoeba histolytica)

Encycl. Med. Chir. Paris, Maladies infectieuses." pp. 6-10. 1981.

6. J.A.P.J.W.B.M.J.W.D.Dehovitz. "Clinical manifestations and therapy of Isospora belli infection in patient with Acquired Immunodeficiency Syndrome." Eng.J.Med., 315,(1986):87-89.

7. D.M.M.H.A.T.e.al.M. "Infections opportunistes chez les patients séropositifs pour le VIH à Bamako: à propos de 426 cas." Cahier Santé 7,(1999):257-62.

8. L.P.M.G.K. "Traitement et prévention des infections opportunistes au cours de l'infection par le VIH: mise au point en 2004. Partie 1: pneumocystose et protozooses." Médecine et maladies infectieuses 34,(2004):239-45.

9. A.Ioua-Ngaporo. "Les aspects cliniques du SIDA en Afrique." Rev.Prat. 40,(1990):2136-40.
10. E.G.J.M.e.al.Malebrancher.Arnoux. "Acquired immunodeficiency syndrome with severe gastro-intestinal manifestations in Haiti." Lancet 2,(1983):873-78.
11. W.K.B.M.N.e.al.Odio. "Le syndrome d'immunodéficience acquise (sida) à Kinshasa: observations cliniques et épidémiologiques." Ann.Soc.Belge Méd.Trop 65,(1985):357-61.
12. A.A.-P.e.al.Gabriela Certad. "Isosporiasis in Venezuelan Adults infected with human immunodeficiency virus: clinical characterization." Am.J.Trop.Med.Hyg 69,(2003):217-22.
13. V.P.B.e.a.R. "Short Report: High Proportion of Isosporiasis among HIV-Infected Patients with Diarrhea in Southern India." Am.J.Trop.Med.Hyg 77,(2007):823-24.
14. E.D.O.M.D.T.H.A.0Pichard. "Contribution à l'Etude des Diarrhées Infectieuses chez les Adultes à Bamako: place de Cryptosporidium d'Isospora belli et du Sida." Bull soc Pathol Exot 83,(1990):473-78.
15. A.O.S.D.S.D.M.K.K.I.A.C.A.T.A. "Prévalence des infections opportunistes au cours du SIDA en milieu hospitalier de Bamako." louvain médical 127,(2008):12-17.
16. R.Knight. "Gardiasis, Isosporosis and Balantidiasis." Clinic in Gastroenterology 7,(1978):31-47.
17. E.C.G.L.E.C.G.B.R.Faust. "Human isosporosis in the western Hemisphere." Am.J.Trop.Med.Hyg 10,(1961):343-49.

18. E.L.C.R.P.Westerman. "Chronic Isospora belli Infection treatment with cotrimoxazole." *Ann.Intern.Med* 91,(1979):413-14.
19. D.N.G.SS.Forthal. "Isospora belli enteridis in three homosexual men." *Am.J.Trop.Med.Hyg* 33,(1984):1060-64.
20. P.B.P.Drullhe. "Multi-chimio-résistance du VIH en Afrique. Données épidémiologiques." *Sem.Hôp.Paris* 9,(1992):54-68.
21. F.O.R.V. "Du diagnostic au traitement." In *Vadémecum Clinique*, pp. 215-217. 2001.
22. M.F.S.C.V.e.al.Wabwire. "Immunological effects of HIV -1 infection on the humoral response in an African population." *Am.J.Trop.Med.Med.Hyg* 41,(1989):504-11.
23. e.a.Assim. "Immunologie Revillard." pp. 104-105. 1998.
24. G.e.al.Herve. "Physiologie Humaine." pp. 303-304. 2001.
25. M.e.a.Yves. "Petit Larrousse de la médecine." In 39, pp. -37. 1997.
26. P.Bourée. "La cryptosporidiose." In *Encycl. Med. Chir. (Paris France), Maladies Infectieuses*, pp. 4-7. 1987.
27. A.Itoua-Ngaporo. "Manifestations digestives au cours de l'infestions à VIH." ed., *Ellipses/Aupelf*, 1989.
28. H.B.W.L.M.W.M.Tanowitz. "Diagnosis and treatment of Protozoan Diarrheas." *Am.Gastroenterol* 22,(1988):339-50.
29. C.E.Ber. "Infections à microsporidies, Isospora et Sarcocystis." In *Encyclopédie médico-chirurgicale(Maladies infectieuses)*, 1994.

30. Marie Elisabeth Bougnoux. "Parasitoses digestives de l'immunodéprimé." In Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, service de microbiologie, Hôpital Necker Enfants malades, 2007.
31. A.S.H.V.Curry. "Emerging pathogens: Isospora, Cyclospora and microsporidia." Suppl.S1 117,(1998):71-74.
32. L.I.D.A.Desportes. "Infections à microsporidies, isospora et sarcocystis." In Encycl. Med. Chir. (Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses, pp. 508-510. 2005.
33. M.Y.e.al.Maiga. Infections et affection opportunistes du tube digestif au cours de l'infection à VIH, 2005.
34. A.M.S.Ndayiragije. "Le traitement des infections opportunistes au cours du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA)." Med.Afr.Noire 32,(1985):557-73.
35. F.P.A.V.M.C.Miller. "Human Isosporosis: two cases." Am.J.Trop.Med.Hyg 20,(1971):23-25.
36. P.M.G.P.D.Aubry. "Diarrhée et Syndrome d'Immunodéficience Acquise sous les tropiques (SIDA tropical)
La phase des explorations endoscopiques digestives dans la recherche d'infections opportunistes." Med.Trop 47,(1987):287-90.
37. S.M.S.C.J.P.Bartczak. "La cryptosporidiose en milieu pédiatrique dans les pays en voie de développement." Med.Afr.Noire 34,(1987):51-57.
38. P.Bourée. "Une nouvelle parasitose intestinale: la cryptosporidiose." Med.Chir.Dig 14,(1985):669-70.

39. H.L.Dupont. "Cryptosporidiosis and the healthy host." N.Engl.J.Med 312,(1985):1319-20.
40. S.J.A.M.M.Jokipiil.Pohjola. "Cryptosporidiosis Associated with traveling and Giardiasis." Gastroenterology 89,(1985):838-42.
41. S.G.P.M.Matheron. "La cryptosporidiose." Conc.Med 109,(1987):1829-35.
42. J.I.R.Larsson. "Identification of Microsporidia." Acta protozool 38,(1999):161-97.
43. O.D.F.S.C.D.F.M.J.Liguory. "PCR (Polymerase Chain Reaction) diagnosis and species identification of intestinal microsporidia specimens from HIV infected Patients." Med Mal infect 27,(1997):994-99.
44. C.L.O.a.D.F.Sarfati. "Microsporidiosis." Presse Med 30,(2001):143-47.
45. M.B.D.L.I.Thellier. "Enabling the diagnosis of Encephalitozoon intestinalis in Fecal Specimens: Importance of the mode of selection of hybridomas." J Eukaryot Microbiol(2001):71-72.
46. H.A.E.K.N.e.al.A. "Association VIH-infections parasitaires et fongiques en Afrique.
Aspects cliniques et étiologique." Médecine d'Afrique Noire 39,(1992):8-9.
47. A.B.E.J.Ebrahimzadeh. "Persistent diarrhea caused by Isospora belli: therapeutic response to pyrimethamine and sulfadiazine." Diagn Microbiol Infect Dis 26,(1996):87-89.
48. C.C.D.S.L.G.N.J.M.B.Moreau. "Caractéristiques des personnes infectées par le VIH récemment dépistées prises en charge à l'hôpital en 1998." Bull Epiemiol Hebdo 30,(2000):1-6.

49. V.L.C.K.F.Q.A.Ka.Nissaporton. "AIDS-Related opportunistic infections in hospital Kuala Lumpur." *Jpn Infect Dis* 56,(2003):187-92.
50. N.M.M.L.ME.K.M.Okome. "Panorama des affections opportunistes au cours de l'infection par le VIH à Libreville, Gabon." *Cahier Santé* 10,(2000):329-37.
51. SM.O.M.N.A.Oudraogo. "Impact des affections opportunistes au cours du VIH/SIDA dans le service de Médecine interne au CHU de Treichville à propos de 279 cas." *Med Afr Noire* 51,(2004):172-74.
52. " Wikipedia. Bamako." [http:// fr.Wikipedia.org/ wiki/ Bamako](http://fr.Wikipedia.org/wiki/Bamako) (2010) Online.
53. M.A.Gambo. "Etude de la prévalence des cryptosporidies chez des patients infectés par le VIH/SIDA dans 4 centres de suivi de Niamey (Niger) à propos de 172 cas." 2009.
54. A.B.E.G.M.e.al.Shimelis. "Intestinal parasitic infections in relation to HIV/AIDS status, diarrhea and CD4 T-cell count." Published online 10,(2009):2334-39.

FICHE SIGNALITIQUE

Nom COULIBALY

Prénom Ousmane Oumar

Nationalité Malienne

Date de soutenance 11/ 09/ 2010

Ville de soutenance Bamako

Titre : Diagnostic de l'isosporose chez les patients VIH diarrhéiques à Bamako (Mali)

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

Résumé :

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

Pour atteindre cet objectif nous avons effectué une étude transversale portant sur les patients séropositifs de 4 structures sanitaires de prise en charge des personnes vivant avec le VIH/SIDA, le CHU GT, le CHU Point G, le CESAC et l'USAC de la commune V. Notre étude s'est déroulée de Juiller 2007 à Décembre 2009. L'étude a porté sur 335 prélèvements qui ont bénéficié de l'examen direct, la technique du Ritchie et le Ziehl Neelsen modifiée pour la recherche d'Isospora belli.

Le taux de prévalence de l'isosporose était de 8,06% signifiant une légère régression de cette parasitose par rapport à l'année 1997(TRAORE et coll.). Le CESAC avait la prévalence la plus élevée avec 11,90%, le CHU GT était à 8,89%, le CHU Point G à 5,59%. Cependant 68,59% des patients positifs à l'Isospora belli avaient un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/mm³ et 37,11% n'étaient pas sous ARV.

Au cours de l'évolution de la maladie nous avons observé un seul cas de décès.

Mots clés : *Bamako, diarrhées, isosporose, VIH positifs*

IDENTIFICATION SHEET

Name: COULIBALY

First Name: Ousmane Oumar

Nationality: Malian

Date of defense: 11 September 2010

Title: Diagnosis of isosporiasis among HIV diarrheal patients in Bamako (Mali)

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

Abstract:

This work aimed to evaluate the isosporiasis diarrhea in HIV patients in sites of care for HIV in Bamako after the introduction of free ARV treatment in July 2004.

To achieve this goal we conducted a cross-sectional study on the HIV-positive diarrhea of 4 health facilities caring for people living with HIV/AIDS, GT Hospital, CHU Point G, CESAC and the common V USAC. Our study was conducted from July 2007 to December 2009.

The study focused on 335 samples that have benefited direct examination, the technique of Ritchie and Ziehl Neelsen modified for the detection of Isospora belli.

The prevalence rate of 8.06% was isosporiasis meaning a slight decline of this parasitic disease compared to 1997 (TRAOTE and al.). CESAC had the highest prevalence with 11.90%, CHU GT was 8.89%, CHU Point G to 5.59%. However 68.59% of patients positive for Isospora belli had a CD4 count less than 200 cells/mm³ and 37.11% were not on ARV.

During the course of the disease we observed a case of death.

Keywords: *Bamako, diarrhea, isosporiasis, HIV positive.*

ANNEXES



MODE OPERATOIRE NORMALISE (MON) POUR L'EXAMEN À L'ETAT FRAIS D'UN ECHANTILLON DE SELLES

Objet

Cette procédure décrit les différentes étapes de l'examen à l'état frais d'un échantillon de selles

Domaine d'Application

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

Sommaire

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

I- Principe

Il repose sur la mise en évidence des Œufs, de kystes des formes végétatives et des larves des parasites à partir des critères morphologiques.

II- Matériels et Réactifs

- Lames porte-objet
- Lamelles
- Spatule
- Marqueur
- Pipette Pasteur ou Pastette
- Solution physiologique de NaCl 0,9%, ou de PBS, ou d'Eau distillée
- Solution de lugol à 1% (Iode 1g, iodure de potassium 2g, eau distillée 100ml)
- Gants
- Blouse
- Microscope optique

III- Mesures de sécurité et de Protections

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

IV- Techniques : Etapes par étapes

1- Examen macroscopique

Décrire

- La couleur (noire, jaune, brune,...)
- La consistance (dures, moulées, molles, pâteuses, semi-liquides, liquides)
- L'odeur

Observer les adultes de certains parasites comme l'oxyure, l'ascaris, et les anneaux de ténia

2- Examen microscopique

- Ecrire le numéro du patient sur la lame
- Sur une autre lame déposer quelques gouttes de soluté physiologique à l'aide d'une pastette
- Prélever à l'aide d'une spatule une portion de selles (à l'intérieur et à la surface lorsque les selles sont moulées ou pâteuses, dans la glaire et à la surface du liquide lorsqu'elles sont glaireuses ou liquides)
- Déposer ce prélèvement sur la lame d'eau physiologique, et le triturer
- Déposer une goutte de cette solution aux 2 extrémités de la lame identifiée
- Ajouter une goutte de lugol à l'une des 2 gouttes.
- Recouvrir les gouttes de lamelles en évitant la formation de bulles d'air.
- Observer la préparation au microscope à l'objectif 10 et 40.

V- Résultats et interprétation

L'examen direct permet l'observation de tous les stades parasitaires.

VI- Inconvénients

L'examen direct est peu sensible et non quantitatif.

VII- Avantages

L'examen direct est peu sensible et non quantitatif.



**LABORATOIRE CLINIQUE
FMPOS/DEAP/MRTC**



**MODE OPERATOIRE NORMALISE (MON) POUR LA TECHNIQUE DE
CONCENTRATION PAR LA METHODE DE RITCHIE**

Objet

Cette procédure décrit les différentes étapes de la technique de concentration selon RITCHIE

Domaine d'Application

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

Sommaire

I- Principe

II- Matériels et Réactifs

III- Mesures de sécurité et de Protections

IV- Techniques : Etapes par étapes

V- Résultats et Interprétation

VI- Inconvénients

VII- Avantages

I- Principe

Il repose sur l'examen d'une plus grande quantité de selles sous un petit volume, ce qui facilite la mise en évidence des parasites même s'ils sont peu nombreux.

Cette méthode de concentration dite diphasique résulte de 3 phénomènes.

- La mise en présence de 2 phases non miscibles dont l'une aqueuse et l'autre lipophile, qui crée pour chacune des particules fécales (parasites, débris alimentaires, et microbes) un coefficient de partage leur permettant de s'orienter en fonction de leur équilibre hydrophile-lipophile.
- La résultante de ce coefficient qui est une élimination des éléments à prédominance lipophile et par conséquent, une concentration des particules à tendance hydrophile (éléments parasitaires)
- A ce mécanisme fondamental, vont s'ajouter :
 - L'action dissolvante des réactifs qui supprime certains constituants fécaux (éléments protéiques coagulés par le formol, les graisses et les lipides solubilisés par l'éther)
 - La densité des parasites est supérieure à celle de la phase aqueuse, ce qui permet de former le culot

II- Matériels et Réactifs

- Lames porte-objet
- Lamelles
- Spatule
- Marqueur
- Verre à pied
- Baguette
- Pipette Pasteur ou Pastette
- Tubes Eppendorf

- Solution physiologique de NaCl 0,9%, ou de PBS, ou d'Eau distillée
- Formol
- Ether
- Tubes coniques de 15ml ou 50ml
- Gants
- Blouse
- Microscope optique
- Centrifugeuse

III- Mesures de sécurité et de Protections

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

IV- Techniques : Etapes par étapes

- Mettre une portion de selles dans un verre à pied
- Faire une dilution au 1/3 si selles liquides, 1/4 si selles semi-liquides, 1/6 si selles pâteuses ou moulées avec du formol.
- User d'une baguette pour rendre le mélange homogène ;
- Filtrer à l'aide d'une passoire (puis d'un tamis de 100mm si culot prévu pour IFI, weber, ziehl)
- Recueillir le filtrat dans un tube conique.
- Ajouter de l'éther au 1/3
- Secouer le tube refermé pour homogénéiser.
- Ouvrir le tube pour laisser échapper le gaz, puis refermer.
- Centrifuger la suspension a 2500trs/mn pendant 5 minutes
- Après centrifugation nous obtenons 4 couches (1^{ère} couche contient l'éther, 2^{ème} les débris, 3^{ème} le formol, 4^{ème} le culot d'œufs et de kystes.

- Récolter le culot avec pipette ou une pastette dans un tube Eppendorf.
- Déposer quelques gouttes du culot sur une lame porte objet et couvrir avec une lamelle
- Lire à l'objectif 10 ou 40.

V- Résultats et interprétation

L'examen du culot permet l'observation des œufs, larves et les kystes de protozoaires.

VI- Inconvénients

La technique de concentration n'est pas recommandée pour les formes végétatives des protozoaires

VII- Avantages

C'est une technique sensible permettant d'observer le maximum de parasite.



**LABORATOIRE CLINIQUE
FMPOS/DEAP/MRTC**



MODE OPERATOIRE NORMALISE (MON) POUR LA TECHNIQUE DE KATO-KATZ

Objet

Cette procédure décrit les différentes étapes de la technique de Kato-Katz

Domaine d'Application

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

Sommaire

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

I- Principe

Il repose sur l'éclaircissement des œufs d'helminthes à l'aide du glycérol.

C'est une technique semi-quantitative.

II- Matériels et Réactifs

- Lames porte-objet
- Lamelles
- Spatule
- Marqueur
- Tamis à maille de 200 à 300 μ m
- Calibreur de 40mg
- Pipette Pasteur ou Pastette
- Tubes Eppendorf
- Solution physiologique de NaCl 0,9%, ou de PBS, ou d'Eau distillée
- Cellophane
- Glycérol
- Vert de malachite (glycérine 100ml, solution aqueuse de vert de malachite 1ml, eau distillée 100ml)
- Gants
- Blouse
- Microscope optique

III- Mesures de sécurité et de Protections

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

IV- Techniques : Etapes par étapes

- Ecrire le numéro du patient sur la lame porte objet devant recevoir la préparation
- Prélever une portion de selles à l'aide de la spatule et faire passer à travers les mailles du tamis en raclant.

- Déposer le calibre sur la lame
- Racler les selles ayant passé à travers les mailles et remplir la partie évidée du calibre.
- Enlever le calibre de façon à ce que les matières fécales restent sur la lame.
- Recouvrir la portion de selles à l'aide de la cellophane imprégnée de vert de malachite.
- Retourner la lame, et appuyer la portion de selles contre une surface plane.
- Lire au microscope à l'objectif 10 ou 40.

V- Résultats et interprétation

Les œufs apparaissent clairs sur un fond bleu ou vert de la préparation.

Le nombre d'œufs X/g est donné par la relation $X = Y \times 25$ avec Y le nombre d'œufs comptés sur la lame.

VI- Inconvénients

Elle est limitée seulement aux œufs d'helminthes, et ne s'applique pas aux selles liquides.

VII- Avantages

C'est une technique rapide et les réactifs utilisés sont moins chers.



LABORATOIRE CLINIQUE FMPOS/DEAP/MRTC



MODE OPERATOIRE NORMALISE (MON) POUR LA TECHNIQUE DE ZEHL NEELSEN MODIFIEE A LA RECHERCHE DE CRYPTOSPORIDIES

Objet

Cette procédure décrit les différentes étapes de la technique de Ziehl Neelsen modifiée.

Domaine d'Application

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

Sommaire

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

I- Principe

Mise en évidence des oocystes de microsporidies par leur perméabilité à la fuscine et non à l'acide sulfurique.

II- Matériels et Réactifs

- Lames porte-objet super Frost
- Crayon à papier
- Pipette Pasteur ou Pastette
- Gants
- Blouse
- Microscope optique
- Huile à immersion
- Fuchsine phéniquée :

50 ml de fuchsine de Ziehl (fournisseur : RAL)

+

150 ml d'eau phéniquée 5% {100ml d'eau distillée pour 5g de phénol cristallisé réf : 20598294 fournisseur : VWR)

- Vert de malachite à 3%.
- Méthanol
- Acide sulfurique à 2%

III- Mesures de sécurité et de Protections

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

IV- Techniques : Etapes par étapes

- Déposer une goutte ou 10µl du culot obtenu par la technique de Ritchie (cf. SOP)
- Laisser sécher à la température du labo
- Fixer au méthanol jusqu'à l'évaporation de celui-ci
- Colorer la ou les lames pendant 1heure dans la fuchsine phéniquée
- Rincer à l'eau du robinet
- Différencier dans une solution d'acide sulfurique à 2% pendant 20 secondes
- Rincer à l'eau du robinet
- Faire une contre coloration avec une solution verte de malachite à 3% pendant 5 à 10mn
- Rincer à l'eau de robinet
- Laisser sécher
- Lire au microscope à l'objectif 50 ou 100 à immersion

V- Résultats et interprétation

Cryptosporidium sp. Peut être recherché essentiellement dans des biopsies intestinales ou dans les fèces.

Les biopsies permettent de repérer tous les stades du parasite, mais il est plus simple de rechercher des oocystes dans les matières fécales.

Des techniques spécifiques doivent être utilisées pour leur diagnostic et la technique de référence est la coloration de Ziehl- Neelsen, modifiée par Henricksenz, après concentration formol éther.

Les oocystes de cryptosporidies apparaissent colorés en rose fuchsia, et mesurent entre 5 à 8 µm selon l'espèce causale.

Les levures sont colorées en rouges.

Les bactéries acido résistantes peuvent se colorées en rose, mais leur forme et leur taille différentes évitent de les confondre.

Les oocystes peuvent être recherchés parfois dans le LBA ou dans la bile (les mêmes colorations sont utilisées).

VI- Inconvénients

Pour faire cette technique nous utilisons beaucoup de réactifs qui sont souvent chers. Elle prend du temps en moyenne 2 heures.

VII-Avantages

Elle est très sensible pour la détection des parasites comme l'Isospora belli et Cryptosporidium sp.



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

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

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

Je ne permettrai pas que les considérations de religion, de nation, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient. Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception. Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

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

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

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

Je le jure !