

Le Bumétanide dans l'autisme. Expérience pilote du service de pédopsychiatrie de l'hôpital Razi Tunisie.

Bumetanide in the management of autism. Tunisian experience in Razi Hospital

Melek Hajri^{1,4}, Arwa Ben Amor^{1,4}, Zeineb Abbes^{1,4}, Soumeyya Dhouib^{1,4}, Sami Ouanes^{1,4}, Ali Mrabet^{2,4}, Riadh Daghfous^{3,4}, Asma Bouden^{1,4}

1-Service de pédopsychiatrie- Hôpital Razi- Manouba

2- Centre Militaire de Protection de la Santé et de l'Environnement/

3- Centre National de Pharmacovigilance- Tunis

4- Faculté de Médecine de Tunis/ Université de Tunis El Manar

RÉSUMÉ

Objectif : Evaluer l'efficacité du bumétanide (un diurétique de l'anse) chez les enfants atteints de trouble du spectre de l'autisme.

Méthodes : Etude expérimentale, transversale, menée après d'enfants présentant un trouble autistique selon les critères du Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders dans sa 4ème version (DSM-IV) et de l'ADI-R (Autism Diagnostic Interview Revised), suivis à la consultation de pédopsychiatrie de l'hôpital Razi. Les sujets ont bénéficié d'une évaluation à l'aide de l'ADI-R (Autism Diagnostic Interview Revised), de l'échelle comportementale CARS (Childhood autism rating scale) et de la CGI (clinical global impression), avant mise sous bumétanide. Au cours du protocole, les enfants ont bénéficié de contrôles à J7, J14, J30, J60, J90 puis tous les trimestres. Ce protocole comprend: une évaluation clinique; une évaluation biologique ; et des évaluations par les échelles CARS et CGI.

Résultats : Vingt-neuf enfants ont été inclus dans notre étude. L'âge moyen était de 7,9 ans. La durée du protocole était de 12 mois. Seize enfants ont quitté l'étude. L'étude des corrélations à la CARS, a montré une efficacité à 3 mois ($p \leq 10^{-3}$), à 6 mois ($p \leq 10^{-3}$), à 9 mois ($p = 0,010$), et à 12 mois ($p = 0,04$), et ceci par rapport à l'évaluation initiale. Une amélioration significative ($p \leq 10^{-3}$) a été retrouvée entre le 3ème et le 6ème mois.

Conclusion : Certes les résultats de notre étude semblent être prometteurs. Une évaluation après l'arrêt du traitement serait nécessaire.

Mots-clés

Bumétanide ; Diurétiques ; Trouble autistique.

SUMMARY

Background : Autism is a multifactorial disease with multiple etiologic hypotheses. Some studies suggest changes in brain GABA mediated inhibition in autism, and a higher intracellular chlorine levels in autistic children. Given these data, clinical trials are conducted to test the efficacy of diuretics in improving clinical symptoms in autism.

Aim : The aim of our study was to evaluate the effectiveness of Bumetanide in autistic children.

Methods: This is an experimental study of cross-type. We included children older than 5 years, with autistic disorder according to the diagnostic criteria of DSM- IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, IV) and ADI-R (Autism Diagnostic Interview Revised), followed by the child psychiatry consultation Razi hospital. The subjects underwent assessment using the ADI-R, the behavioral scale CARS (Childhood autistic rating scale) and CGI (Clinical Global printing) prior to take diuretic (Bumetanide). In the protocol, the children received checks to day7, day14, day30, day60, day90 comprising: a clinical evaluation (weight gain, blood pressure, general examination for potential adverse effects); biological evaluation; and evaluations by scales (CARS and CGI) after every 3 months of evolution to objectively assess effectiveness.

Results: Twenty-nine children were included in our study. The average age was 7.9 years. Initiation of medication was carried out with a dose of 1 mg / day, in all children. The average duration of the protocol was 12 months. Sixteen children were excluded from the study for the following reasons: appearance of hypokalemia, poor tolerance of treatment, insufficient efficacy as estimated by parents. Measuring the effectiveness of diuretic, by studying correlations in the CARS showed an efficacy of this treatment at 3 months ($p \leq 10^{-3}$), 6 months ($p \leq 10^{-3}$), at 9 months ($p = 0.010$) and 12 months ($p = 0.04$), and this compared to the initial assessment. Significant improvement ($p \leq 10^{-3}$) was found between the 3rd and 6th month.

Conclusion: While our results seem to be promising. A larger sample and a medium and long-term evaluation after the end of treatment are needed.

Key-words

Autism ; Bumetanide ; Diuretic.

INTRODUCTION

Le diagnostic de l'autisme est un diagnostic clinique, basé sur l'étude du comportement de l'enfant. Ses critères ne cessent d'évoluer au sein des nosographies. Dans sa description initiale, Kanner a parlé de « core symptoms » fait d'un retrait, d'une immuabilité et d'un retard du langage (1). Dans les classifications diagnostiques, à savoir la Classification internationale des maladies mentales (CIM 10) (2), où les troubles ont été regroupés sous le terme « d'autisme infantile », et le DSM IV-R (3) sous le terme de « trouble autistique », le noyau est caractérisé par la présence de perturbations qualitatives de la socialisation et de la communication ainsi que le caractère restreint, répétitif et stéréotypé des comportements, des intérêts et des activités. Ces perturbations commencent avant l'âge de trois ans. La conception de ces troubles a évolué depuis la description princeps, menant à inclure sous le terme de spectre des formes plus ou moins sévères du point de vue des symptômes et des troubles associés. En effet, le diagnostic de spectre du trouble autistique inclu récemment dans le DSM- 5 rend compte de la diversité des tableaux cliniques (4).

L'étiologie de l'autisme est reconnue comme étant multifactorielle. En effet depuis 1946, les hypothèses étiopathogéniques ne cessent de se multiplier et de se diversifier. Parmi ces hypothèses, on retrouve l'hypothèse « chlorée ». Cette hypothèse est partie du constat de concentrations élevées de chlore intracellulaire chez des patients épileptiques ou cérébrolésés et de l'observation d'aggravation de certaines épilepsies par le diazepam, aggravation en rapport avec l'augmentation des taux du chlore intracérébral induite par les benzodiazépines.

Cette élévation du taux de chlore intracellulaire diminuerait l'effet inhibiteur de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), ce qui entrainerait un effet excitateur sur le neurone et aggraverait ces patients. Partant de ces constatations, Ben Ari et al. (5), suggèrent que les troubles du spectre de l'autisme seraient dus à un dysfonctionnement cérébral établi dès la naissance impliquant l'ocytocine. Ce neuropeptide a la fonction neuro-protectrice de baisser le taux de chlore intra cellulaire lors de la gestation et de l'accouchement. La perturbation de l'action de l'ocytocine serait à l'origine de taux élevés de chlore intracellulaire et de l'inversion de l'effet inhibiteur du GABA. L'excitation neuronale induite serait à l'origine en partie des symptômes autistiques. Ce constat a été démontré dans les modèles animaux où des taux élevés de chlore dans les neurones

de souris « autistes » ont été retrouvés (6, 7, 8).

Au regard de ces données, des essais cliniques ont été menés pour tester l'efficacité des diurétiques dans l'autisme. Le choix de la molécule s'est porté sur le Bumétanide devant ses propriétés pharmacodynamiques et notamment sa demi-vie courte (9). L'effet natriurétique obtenu, proportionnel à la dose, est rapide. Il débute aux environs de la 30^{ème} minute avec un pic en une à deux heures, il est intense et de courte durée. Ce diurétique de l'anse induit une élimination sodée et chlorée importante associée à une élimination potassique proportionnellement moindre.

Le premier essai pilote, utilisant le Bumétanide a été mené en 2010 sur cinq enfants autistes, avec une efficacité prometteuse se traduisant par la diminution de la sévérité des symptômes autistiques (7). Une seconde étude randomisée en double aveugle, a été menée, portant sur 60 patients âgés de 3 à 11 ans présentant un trouble du spectre autistique.

Le Bumétanide a été prescrit à la dose de 1 mg par jour pendant trois mois. Les auteurs rapportent une régression significative des symptômes autistiques chez les patients, mesurée par l'échelle comportementale CARS (Childhood Autism Rating Scale) et l'ADOS G (Autism Diagnostic Observation Schedule Generic) (10). Une autre étude portant sur 88 enfants a montré une amélioration significative à la CARS chez les enfants ayant reçu le bumétanide par rapport à ceux ayant reçu le placebo (11).

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'efficacité du Bumétanide chez un groupe d'enfants autistes.

MÉTHODES

Population d'étude :

Il s'agit d'une étude expérimentale, de type transversal. Cette étude a débuté en Avril 2014. Elle s'est déroulée dans le service de pédopsychiatrie de l'hôpital Razi, en collaboration avec le centre de pharmacovigilance de Tunis.

Ont été inclus, dans notre étude, des enfants âgés de cinq et 16 ans, présentant un trouble du spectre de l'autisme, selon les critères diagnostiques de DSMIV-R, et confirmés par l'ADI-R (Autism Diagnostic Interview Revised). Ces patients sont suivis à la consultation de pédopsychiatrie de l'hôpital Razi. Chez les enfants inclus, un arrêt de toute médication a été institué avant le début de l'étude (arrêt

progressif sur un mois). Ces enfants n'ont rien changé dans leur prise en charge pluridisciplinaire habituelle. Les enfants ayant présenté des anomalies biologiques lors des contrôles (une hypokaliémie par exemple...) ou des effets secondaires gênants ont quitté l'étude.

Outils d'évaluation

- L'ADI-R : entretien diagnostique semi-structuré qui recherche les symptômes autistiques dans les trois domaines fonctionnels : interaction sociale, communication, comportements restreints, stéréotypés et répétitifs. Cet outil a permis la confirmation du diagnostic (12).
- La CARS : Childhood Autism Rating Scale est une échelle comportementale dont l'objectif est de mesurer la sévérité du tableau autistique et de suivre l'évolution des symptômes au cours du processus thérapeutique dimension par dimension (13).

Déroulement de l'étude

En deux phases :

-Une phase pré thérapeutique qui comporte la passation de l'ADI-R et de la CARS ainsi qu'un bilan sanguin (ionogramme, bilan hépatique, acide urique, glycémie à jeun) et un ECG.

-Une phase thérapeutique : Cette phase commence au premier jour de prise de bumétanide, elle comporte des contrôles à J7, J14, J30, J60, J90, puis tous les trois mois. La surveillance est clinique (prise de poids, de tension artérielle, examen physique complet) et biologique (ionogramme, bilan hépatique, acide urique, glycémie à jeun).

Cette phase comprend aussi :

- La recherche des effets indésirables à l'aide d'une fiche de surveillance élaborée en collaboration avec le service de pharmacovigilance.
- Le contrôle systématique de la CARS tous les 3 mois.

La durée du protocole était de 12 mois.

Afin d'évaluer objectivement l'efficacité du traitement, la passation de cette échelle s'est faite par le même clinicien.

Traitement statistique des données

La saisie des données et l'analyse statistique ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) dans sa 20e version. Le traitement statistique des données a comporté un volet descriptif où nous avons calculé des fréquences simples et des

fréquences relatives pour les variables qualitatives. Nous avons calculé des moyennes et des écarts-types et déterminé les valeurs extrêmes pour les variables quantitatives.

L'étude des corrélations a été effectuée à l'aide du test de Pearson. Nous avons utilisé les tests non paramétriques (le test U de Mann-Whitney) pour comparer les moyennes de la CARS. Dans tous les tests statistiques, le seuil de significativité a été fixé à 0,05.

Considérations éthiques

L'intégration au sein de protocole s'est faite toujours à la demande et avec le consentement libre et éclairé des tuteurs légaux de l'enfant. Les parents demandeurs ont bénéficié d'un entretien pour répondre à toutes leurs questions, et leur expliquer les modalités et le déroulement du protocole.

Le traitement des données s'est fait dans le respect de l'anonymat.

L'étude a été approuvée par le comité d'éthique de l'Hôpital Razi.

RÉSULTATS

Caractéristiques cliniques de la population :

Vingt-neuf enfants ont été inclus dans notre étude. L'âge moyen était de 7,9 ans avec des extrêmes allant de 5 à 16 ans. Le sex-ratio était de 8 garçons pour une fille.

32,3% de notre population étaient insérés dans un jardin d'enfants ordinaire, 9,7% dans un jardin d'enfants thérapeutique, 19,4% dans une école primaire avec la présence d'une auxiliaire de vie scolaire, 12,8% dans un centre spécialisé et 25,8% n'étaient pas insérés dans une institution mais bénéficiaient d'une prise en charge multidisciplinaire (orthophonie, psychomotricité et ergothérapie).

Concernant les antécédents personnels, 93,6% des patients n'avaient aucun antécédent somatique, 3,2% étaient épileptiques bien équilibrés sous traitement anti comitial et 3,2% avaient une dermatite atopique.

La moitié des patients inclus dans notre étude ne recevait aucun traitement médicamenteux avant l'inclusion dans le protocole, 32,3% étaient sous antipsychotiques et 16,1% sous vitaminothérapie.

La moyenne des scores à l'ADI-R de nos patients se répartit comme suit :

- La moyenne ADIB : 21 (min : 14, max 30)
- La moyenne ADIC Non Verbal : 12 (min : 10, max 14)

- La moyenne ADIC Verbal : 18 (min : 9, max 25)
- La sévérité moyenne objectivée par les scores de la CARS à J0 était de 37 (min : 29, max : 47).

Doses de bumétanide

L'initiation du protocole s'est faite avec une dose de 1 mg par jour, chez tous les enfants.

Devant des réponses jugées partielles, une augmentation progressive des doses chez les plus âgés (11-16 ans) a été faite jusqu'à atteindre des doses de 1,5 à 2 mg par jour.

La répartition des doses dans notre population était comme suit :

- 71% des enfants étaient sous 1 mg/j
- 9,6% sous 1,5 mg
- 19,4% sous 2 mg

EVOLUTION

Il est à souligner que 16 enfants ont été exclus de notre étude. Cinq d'entre eux l'ont été en raison d'effets indésirables liés à la molécule : hypokaliémie pour deux enfants, prurit et lésions de grattage pour deux autres enfants, et une polyurie gênante pour un enfant.

Sur les 11 autres enfants, huit ont quitté l'étude car le produit a été jugé inefficace par les parents; les autres ont été perdus de vue.

Pour les 13 enfants ayant achevé le protocole, aucun effet indésirable connu lié au bumétanide n'a été relevé. Cependant, nous avons noté une augmentation de l'instabilité et une exagération des stéréotypies chez quatre enfants, ainsi qu'une baisse de l'appétit chez deux d'entre eux.

A noter l'absence de différence statistiquement significative dans l'apparition des effets indésirables entre ceux qui ont arrêté le bumétanide et ceux qui ont poursuivi l'étude (p=0,077).

L'évolution a été objectivée par la mesure des scores de la CARS et par l'étude des corrélations à trois mois du traitement puis tous les trimestres.

Une amélioration du score total de la CARS a été observée aux différentes évaluations : 3^{ème}, 6^{ème}, 9^{ème}, 12^{ème} mois (Figure 1).

L'étude des corrélations a montré l'efficacité du traitement à 3 mois (p 10< ⁻³), 6 mois (p<10³), 9 mois (p=0,010) et 12 mois (p=0,04), et ceci par rapport à l'évaluation initiale. Une amélioration statistiquement significative (p 10< ⁻³)

a été également retrouvée entre le 3^{ème} et le 6^{ème} mois (Tableau 1).

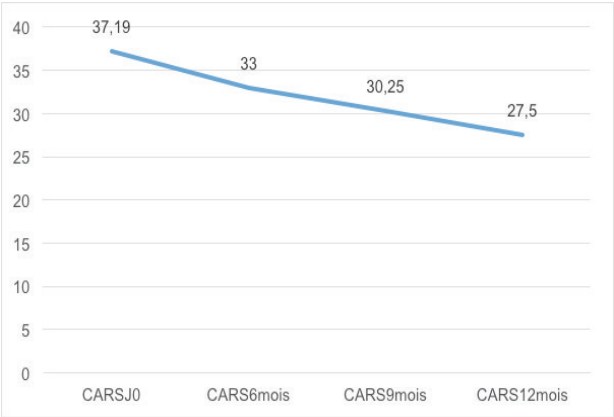


Figure 1 : Evolution de la moyenne des CARS sous Bumétanide

Tableau 1 : Efficacité de diurétique après chaque 3mois de traitement

Score	P
CARS J0-3mois	.000
CARS J0-6mois	.000
CARS J0-9mois	.010
CARS J0-12mois	.040
CARS 3mois-6mois	.000
CARS 6mois-9mois	.888
CARS 9mois-12mois	.060

L'amélioration a été objectivée dans plusieurs catégories de la CARS tout au long du protocole (Figure 2), comme l'atteste l'étude des corrélations (Tableau 2). Ainsi les catégories cliniques améliorées sont les suivantes (par ordre décroissant) :

Les relations sociales et l'utilisation des objets ont été améliorées tout au long du protocole et ce de manière exponentielle et statistiquement significative. L'imitation, la communication non verbale, l'adaptation au changement ainsi que le niveau intellectuel viennent en seconde position avec pour certaines catégories l'absence de bénéfices thérapeutiques à partir du 9^{ème} mois.

- En troisième position, on peut regrouper les catégories suivantes : utilisation du corps, réponses visuelles et communication verbale avec également ici, l'absence de gain thérapeutique significatif à partir du 9^{ème} mois.

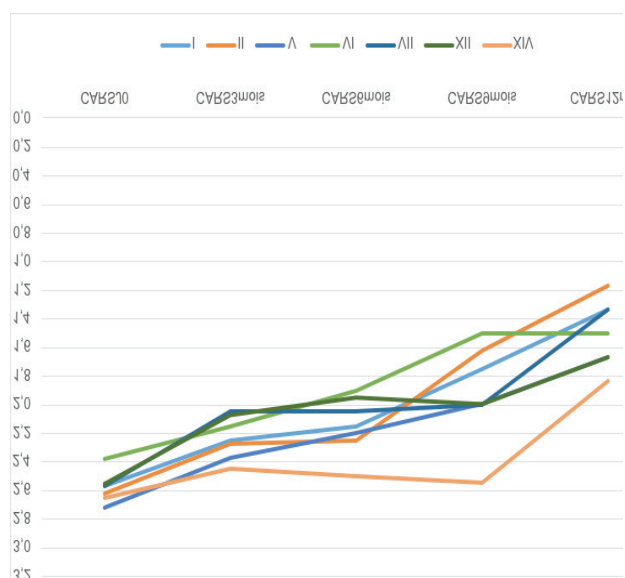


Figure 2 : Evolution de la moyenne de chaque Item de la CARS tout au long de protocole

Tableau 2 : Efficacité de la molécule dans chaque domaine par ordre décroissant de la CARS

		p
Relations sociales	I_J0 - I_3mois	0,000
	I_J0 - I_6mois	0,001
	I_J0 - I_9mois	0,035
	I_J0 - I_12mois	0,015
Utilisation des objets	V_J0 - V_3mois	0,000
	V_J0 - V_6mois	0,001
	V_J0 - V_9mois	0,018
	V_J0 - V_12mois	0,010
Imitation	II_J0 - II_3mois	0,000
	II_J0 - II_6mois	0,003
	II_J0 - II_9mois	0,035
	II_J0 - II_12mois	0,057
Adaptation au changement	VI_J0 - VI_3mois	0,004
	VI_J0 - VI_6mois	0,003
	VI_J0 - VI_9mois	0,141
	VI_J0 - VI_12mois	0,038
Communication non verbale	XII_J0 - XII_3mois	0,000
	XII_J0 - XII_6mois	0,003
	XII_J0 - XII_9mois	0,014
	XII_J0 - XII_12mois	0,074

Niveau intellectuel	XVI_J0 - XIV_3mois	0,014
	XVI_J0 - XIV_9mois	0,604
	XVI_J0 - XIV_6mois	0,037
	XVI_J0 - XIV_12mois	0,020
Utilisation du corps	IV_J0 - IV_3mois	0,015
	IV_J0 - IV_6mois	0,022
	IV_J0 - IV_9mois	0,423
	IV_J0 - IV_12mois	0,074
Réponses visuelles	VII_J0 - VII_3mois	0,000
	VII_J0 - VII_6mois	0,000
	VII_J0 - VII_9mois	0,092
	VII_J0 - VII_12mois	0,073
Communication verbale	XI_J0 - XI_3mois	0,002
	XI_J0 - XI_6mois	0,009
	XI_J0 - XI_9mois	0,215
	XI_J0 - XI_12mois	0,199
Réponses émotionnelles	III_J0 - III_3mois	0,297
	III_J0 - III_6mois	0,003
	III_J0 - III_9mois	0,319
	III_J0 - III_12mois	0,423
Réponses auditives	VIII_J0 - VIII_3mois	0,004
	VIII_J0 - VIII_6mois	0,051
	VIII_J0 - VIII_9mois	0,718
	VIII_J0 - VIII_12mois	0,225
Niveau d'activité	XIII_J0 - XIII_3mois	0,273
	XIII_J0 - XIII_6mois	0,397
	XIII_J0 - XIII_9mois	0,310
	IX_J0 - IX_3mois	0,186
Réponses et modes d'exploration	IX_J0 - IX_6mois	0,051
	IX_J0 - IX_9mois	0,092
	IX_J0 - IX_12mois	0,184
	X_J0 - X_3mois	0,186
Peurs et anxiété	X_J0 - X_6mois	0,096
	X_J0 - X_9mois	0,215
	X_J0 - X_12mois	0,057

Pour les catégories : adaptation au changement, niveau intellectuel, utilisation du corps, réponses visuelles, communication verbale, réponses émotionnelles, réponses auditives, peur et anxiété, il n'y a pas eu de bénéfices thérapeutiques à 9 mois.

Nous n'avons pas objectivé de différence statistiquement

significative de la CARS entre ceux qui ont reçu 1 mg/j versus 2 mg/j en matière de CARS J0 ($p=0,57$), 3^{ème} mois ($p=0,7$), 6^{ème} mois ($p=0,3$), 9^{ème} mois ($p=0,5$) et 12^{ème} mois ($p=0,6$).

DISCUSSION

Au terme de cette étude pilote, Bumétanide a été efficace sur notre échantillon d'enfants souffrant de troubles autistiques et cela comme l'atteste les mesures des scores de la CARS au 3^{ème}, 6^{ème}, 9^{ème} et 12^{ème} mois de traitement. Les catégories améliorées de manière significative sont surtout les interactions sociales et l'utilisation des objets (notamment stéréotypies et mouvements répétitifs). Viennent par la suite l'imitation, la communication non verbale, l'adaptation au changement et le niveau intellectuel. L'utilisation du corps, les réponses visuelles et la communication non verbale viennent en troisième position. Des catégories sur lesquelles le Bumétanide n'a montré que peu ou pas d'effets sont les réponses émotionnelles, les peurs et anxiété, les réponses auditives, le niveau d'activité. Nous avons également objectivé l'absence d'un bénéfice thérapeutique supplémentaire à partir du 9^{ème} mois pour la plupart des catégories.

Cette efficacité d'un diurétique de l'anse observée dans notre étude a été décrite dans des travaux similaires (7, 11,14). Les auteurs n'ont toutefois pas précisé sur quels domaines de la CARS l'amélioration a porté.

Notre étude est la première en Tunisie évaluant l'efficacité du Bumétanide dans la prise en charge des enfants avec autisme. De surcroît, elle a évalué cette efficacité dans les différents domaines de la CARS.

Dans notre étude nous avons prescrit la dose de 1 mg/j. Cependant, chez sept enfants parmi les plus corpulents, nous avons augmenté les doses jusqu'à 2 mg par jour (en deux prises), et ceci devant une amélioration jugée partielle. Nous n'avons toutefois pas observé de différence significative à la CARS entre les enfants ayant reçu 1 mg/j versus 2 mg/j. Dans la littérature, les doses prescrites étaient de 1 mg par jour (une seule prise le matin) dans certaines études de Lemonnier et al. (7,10), et variaient entre 0.5 et 2 mg/j dans une autre étude plus récente (11). Dans cette étude effectuée par Lemonnier et collaborateurs en 2017 (10), portant sur 88 enfants avec TSA, classés en quatre groupes selon la dose utilisée (0.5mg/j, 1 mg/j, 2 mg/j et placebo), l'amélioration la plus importante au niveau de la CARS intéressait le groupe

recevant 2 mg/j, et ce au 3^{ème} mois, mais elle n'est pas significative.

Une dose de 2 mg par jour a été également rapportée, dans une étude de cas, chez une fille présentant un syndrome d'Asperger avec un bénéfice thérapeutique notable (15).

La tolérance de cette molécule était globalement bonne dans notre étude. Cependant, des effets indésirables ont été observés chez certains enfants et ont conduit à l'arrêt du protocole. Il s'agissait surtout d'une hypokaliémie et d'une polyurie gênante. Ces effets ont été décrits aussi dans la littérature (11, 16), où leur fréquence et leur sévérité augmentaient avec la dose prescrite. La dose de 1 mg/j a été suggérée comme ayant le meilleur rapport bénéfice/risque (15). Par ailleurs, quatre enfants (parmi les 13 ayant achevé le protocole) ont présenté une exagération des stéréotypies et de l'instabilité motrice au début de la prise du bumétanide. Ce dernier effet n'a pas été rapporté dans d'autres études.

Notre protocole a duré 12 mois, avec une amélioration exponentielle significative entre le 3^{ème} et le 6^{ème} mois. Nous n'avons toutefois pas évalué les enfants après arrêt du traitement.

Dans la littérature, la durée des protocoles a varié de 3 à 18 mois avec persistance du gain thérapeutique à l'arrêt du traitement (11 ,14).

Parmi les limites de notre étude, nous citons la faible taille de l'échantillon, qui limite la portée de nos résultats.

Il aurait été également préférable d'adopter la méthodologie d'un essai clinique, mais ceci n'était pas réalisable à la date de début du protocole.

CONCLUSION

Les conclusions de notre étude vont vers une efficacité prometteuse du bumétanide sur les symptômes clés du trouble autistique. Ceci, nous encourage à élargir notre échantillon afin de confirmer l'efficacité et l'innocuité de cette molécule à moyen et à long terme.

Conflits d'intérêt :

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts.

Remerciements :

Nous remercions tous les enfants ayant participé à cette étude, ainsi que leurs parents.

RÉFÉRENCES

1. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nerv Child* 1943;2:217-30
2. Organisation mondiale de la santé CIM 10. Classification internationale des troubles mentaux et des troubles du comportement : descriptions cliniques et directives pour le diagnostic. Paris: Masson; 1994
3. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 4th edition. Washington, Dc, USA: American Psychiatric Press; 1994
4. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders Fifth Edition. Arlington, VA: American Psychiatric Publishing; 2013
5. Ben-Ari Y. Excitatory actions of GABA during development: the nature of the nurture. *Natur rev Neuroscience* 2002; 3(9): 728-739
6. Nardou R, Yamamoto S, Chazal G, et al. Neuronal chloride accumulation and excitatory GABA underlie aggravation of neonatal epileptiform activities by Phenobarbital. *Brain* 2011; 134 (4):987-1002
7. Lemonnier E, Ben-Ari Y. The diuretic bumetanide decreases autistic behaviour in five infants treated during 3 months with no side effects. *Acta Paediatr* 2010; 99:1885-8
8. Tyzio R, Nardou R, Ferrari DC, Sintsadze T, Shahrokhi A, Ben Ari Y. Oxytocin mediated GABA inhibition during delivery attenuates autism pathogenesis in rodent offspring. *Science* 2014; 343:675-79
9. Donovan MD, Schellekens H2, Boylan GB, Cryan JF, Griffin BT. In vitro bidirectional permeability studies identify pharmacokinetic limitations of NKCC1 inhibitor bumetanide. *Eur J Pharmacol* 2016 ; 770 :117-125
10. Lemonnier E, Degrez C, Phelep M, et al. A randomised controlled trial of bumetanide in the treatment of autism in children. *Transl Psychiatry* 2012; 2:e202. doi: 10.1038/tp.2012.124
11. Lemonnier E, Villeneuve N, Sonie S, Serret S, Rosier A, Roue M, Brosset P, Viellard M, Bernoux D, Rondeau S, Thummler S, Ravel D and Ben-Ari Y. Effects of bumetanide on neurobehavioral function in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Transl Psychiatry* 2017; 7 (3):e1056. doi: 10.1038/tp.2017.10
12. Fitzgerald M. The clinical utility of the ADI-R and ADOS in diagnosing autism. *Br J Psychiatry* 2017; 211(2):117. doi: 10.1192/bjp.211.2.117
13. Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, Daly K. Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *J Autism Dev Disord* 1980; 10: 91-103
14. Du L, Shan L, Wang B, et al. A Pilot Study on the Combination of Applied Behavior Analysis and Bumetanide Treatment for Children with Autism. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2015; 25(7):585-8
15. Grandgeorge M, Lemonnier E, Degrez C, Degrez C, Jallot N. The effect of bumetanide treatment on the sensory behaviours of a young girl with Asperger syndrome. *BMJ Case Rep* 2014; 2014. doi:10.1136/bcr-2013-202092
16. Lykke K, Töllner K, Römermann K, et al. Structure-activity relationships of bumetanide derivatives: correlation between diuretic activity in dogs and inhibition of the human NKCC2A transporter. *Br J Pharmacol* 2015; 172(18):4469-80