

Rapport D'activité 2023

Laboratoire National de Référence des échinococcoses (LNRE)
Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Liège
Service de Microbiologie Clinique

Rédaction par Sabrina EGREK et Marie-Pierre HAYETTE
Avec la collaboration du Dr Olivier DETRY (groupe clinique ECHINO-Liège)

Septembre 2024

TABLE DES MATIERES

A.	Introduction	- 2 -
I.	Méthodes de diagnostic utilisées au LNRE	- 2 -
1.	Méthodes sérologiques	- 2 -
1.1.	Test de dépistage pour l’EA	- 2 -
1.2.	Test de dépistage pour l’EK	- 3 -
1.3.	Test de confirmation par Western Blot (WB)	- 3 -
1.4.	Test de suivi pour l’EA	- 4 -
2.	Méthodes moléculaires	- 4 -
B.	Missions spécifiques du LNRE	- 5 -
I.	Mission : Expertise biologique	- 5 -
II.	Mission : Surveillance épidémiologique	- 5 -
III.	Mission : Alerte & prévention	- 6 -
C.	Surveillance épidémiologique 2023	- 6 -
I.	Methodologie	- 6 -
II.	Echinococcose alvéolaire	- 7 -
1.	Répartition selon le sexe et l’âge	- 7 -
2.	Répartition selon le lieu de résidence	- 7 -
3.	Répartition selon les méthodes de diagnostic employées	- 8 -
4.	Répartition selon la localisation des lésions	- 10 -
III.	Echinococcose kystique	- 10 -
1.	Répartition selon le sexe et l’âge	- 10 -
2.	Répartition selon le lieu de résidence	- 10 -
3.	Répartition selon les pays de contamination	- 11 -
4.	Répartition selon les méthodes de diagnostic employées	- 11 -
5.	Répartition selon la localisation des lésions	- 13 -
IV.	Communication des cas à l’ECDC	- 13 -
D.	Evolution des cas d’échinococcose, 2010-2023	- 13 -
E.	BILAN DES ACTIVITÉS DE DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE ET MOLÉCULAIRE	- 15 -
F.	DÉMARCHE QUALITÉ	- 17 -
G.	TRAVAUX DE RECHERCHE, COMMUNICATIONS & COLLABORATIONS	- 17 -
I.	Travaux de recherche	- 17 -
1.	Évaluation des performances analytiques du test anti- <i>Echinococcus</i> (IgG) EUROLINE WB (Euroimmun, Allemagne) pour le sérodiagnostic de l’échinococcose alvéolaire et kystique	- 17 -
2.	Analyse de la diversité génétique des spécimens d’ <i>E. multilocularis</i> isolés chez des patients atteints d’EA et chez des animaux grâce au typage moléculaire des microsatellites EmsB	- 18 -
3.	Projet EkyScreen : dépistage sérologique de patients porteurs asymptomatiques d’une échinococcose kystique chez les résidents belges originaires de pays endémiques	- 19 -
II.	Communications	- 19 -
1.	Symposium « <i>L’échinococcose alvéolaire, vous connaissez ?</i> »	- 19 -
2.	ARIZE Meeting, Actualités diagnostiques et thérapeutiques sur les échinococcoses	- 20 -
3.	Mise en place d’une page web pour le LNRE	- 20 -
III.	Collaborations	- 20 -
H.	ACTIVITÉS ECHINO-LIÈGE	- 21 -
I.	Conclusion	- 21 -
	Bibliographie	- 22 -

A. INTRODUCTION

Le service de Microbiologie clinique du CHU de Liège a été désigné Laboratoire National de Référence pour les échinococcoses alvéolaires et kystiques (LNRE) en 2021. Il a succédé au LNRE encadré par les professeurs Yves Cartier à partir des années 2000, puis Carine Truyens (ULB) de 2012 à 2021.

L'échinococcose est une zoonose parasitaire provoquée par le stade larvaire d'un petit ténia de la classe des cestodes, appartenant à la famille des Taeniidae et rattaché au genre *Echinococcus*. Cette parasitose se divise principalement en deux formes selon l'espèce impliquée : l'échinococcose alvéolaire (EA) et l'échinococcose kystique (EK), causées respectivement par *Echinococcus multilocularis* (*E.m*) et *Echinococcus granulosus sensu lato* (*E.g*). Les autres formes d'échinococcose sont néotropicales et causées par des espèces plus rares. [1, 2]

Au cours des deux dernières décennies, une augmentation de l'incidence des cas a été observée en Belgique, particulièrement pour la forme alvéolaire. Bien que la Belgique ait été considérée comme un pays faiblement endémique pour l'EA, des études sur des autopsies de renards ont révélé une prévalence d'infection allant jusqu'à 38 % dans certaines régions de la Wallonie. [3] Depuis 1999, des cas humains autochtones ont été traités en Belgique, avec une augmentation récente de la prévalence de l'EA. [4] Cependant, cette prévalence reste probablement sous-estimée en Belgique, notamment en raison du manque de connaissances chez les médecins, particulièrement les médecins généralistes qui sont en première ligne. [5] L'EA est transmise de manière autochtone en Belgique, plus précisément en Wallonie. En revanche, la Belgique n'est pas une zone d'endémie pour la forme kystique. Les cas recensés sont importés de régions endémiques comme le Maroc, la Turquie et les pays des Balkans. [6]

I. MÉTHODES DE DIAGNOSTIC UTILISÉES AU LNRE

1. Méthodes sérologiques

En 2023, plusieurs types de tests sérologiques ont été utilisés au LNRE. Ces tests incluaient des méthodes de dépistage incluant des tests immunoenzymatiques et un test utilisant la chimiluminescence (CLIA), des tests de confirmation tels que le Western Blot (WB), ainsi que des tests de suivi spécifique de l'EA par une méthode immunoenzymatique.

1.1. Test de dépistage pour l'EA

Un test ELISA est utilisé au LNRE pour le dépistage sérologique d'une échinococcose alvéolaire. Celui-ci permet une détection quantitative des IgG dirigés contre des antigènes recombinants spécifiques d'*E. multilocularis* (Em2 et Em18) (Bordier, France). Les résultats sont exprimés sous forme d'index. Le LNRE a établi une zone grise plus large que celle recommandée par le fabricant, à savoir tout résultat $\geq 0,6$ et $< 1,1$ est considéré comme étant « douteux » et une valeur $\geq 1,1$ est positive. Malgré la spécificité des antigènes employés par le test ELISA, des réactions croisées sont observées en cas de taux élevé d'IgG ciblant *E. granulosus*. C'est pourquoi, une confirmation par un

immunoblot (Western Blot) est toujours réalisée en complément d'un test positif ou lorsqu'il y a une forte suspicion évoquée à l'imagerie même en cas de négativité du test ELISA de dépistage.

1.2. Test de dépistage pour l'EK

Un test ELISA (Ridascreen Echinococcus IgG, R-Biopharm, Allemagne) utilisant des antigènes bruts d'*E. granulosus* a été utilisé pour le dépistage d'une EK. Les résultats sont exprimés sous forme d'index avec une zone grise comprise entre $\geq 0,9$ et $\leq 1,1$; et un résultat positif est accordé lorsque l'index est $> 1,1$. À cause de la similarité des antigènes utilisés avec ceux présents chez toutes les espèces d'échinocoque, le test manque de spécificité. Cette dernière est apportée par le Western Blot. A noter qu'une sérologie fortement positive de façon isolée (Western Blot négatif et ELISA positif) évoque une réaction croisée avec une autre helminthiase. Il est alors nécessaire de compléter l'analyse avec d'autres sérologies parasitaires (ascaris, ténia, anguillule) selon les cas.

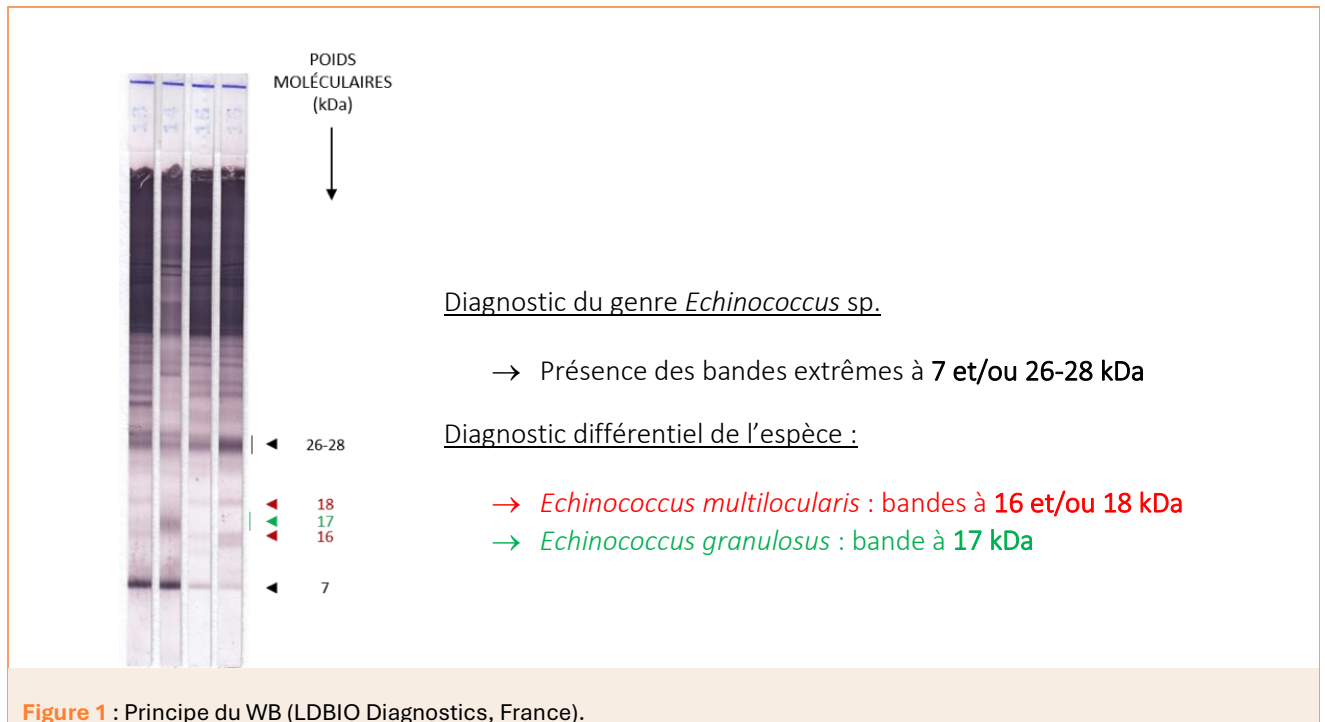
À partir du 17 juillet 2023, le test Ridascreen Echinococcus IgG ELISA a été remplacé par le test Hydatidose VirClia IgG (Vircell, Espagne). Ce changement a été nécessaire car le test Ridascreen, non conforme aux normes CE-IVDR, ne sera plus commercialisé. En 2022, une évaluation du test Hydatidose VirClia IgG a été réalisée de manière automatisée sur l'automate VirClia (Vircell, Espagne). Les résultats ont montré des performances similaires à celles du test Ridascreen, avec en plus les avantages du format monostest, offrant une rapidité d'exécution et un flux de travail réduit. Le test présente une sensibilité de 100 % et une spécificité de 77 % selon notre étude.

Ce test détecte les IgG anti-*E. granulosus* par chimiluminescence. Les résultats sont exprimés sous forme d'index et utilisent la même zone grise que le test Ridascreen, c'est-à-dire un index compris entre 0,9 et 1,1. Une confirmation par Western Blot (WB) est également effectuée lorsque le test est positif ou en cas de forte suspicion clinique évoquée par l'imagerie, même si le test CLIA est négatif.

1.3. Test de confirmation par Western Blot (WB)

Le western Blot (WB) (LDBIO Diagnostics, France) est un test qualitatif, systématiquement réalisé pour confirmer un résultat positif ou équivoque obtenu par les tests de dépistage classique tel que le test de screening ELISA ou en chimiluminescence. Lorsque ces derniers sont négatifs malgré des données cliniques/radiologiques et épidémiologiques évoquant une échinococcose, le western blot est tout de même réalisé. Ceci est particulièrement vrai en cas d'échinococcose pulmonaire isolée.

Le WB permet la détection qualitative des IgG dirigés contre des antigènes spécifiques à *E. granulosus*, *E. multilocularis* et communs au genre *Echinococcus sp.* Il repose sur l'utilisation d'une membrane de nitrocellulose sur laquelle sont immobilisés différents antigènes. L'interprétation est rendue en tenant compte du poids moléculaire de(s) bande(s) apparue(s) (figure 1).



1.4. Test de suivi pour l'EA

Le test de suivi pour l'EA est un test ELISA détectant dans le sérum les IgG dirigés contre l'antigène recombinant Em18 (rEm18) spécifique d'*E. multilocularis*. Ce test vise à mesurer l'activité métabolique du parasite car il utilise un antigène issu de la membrane germinative du parasite. Sa décroissance est corrélée avec la diminution d'activité métabolique du parasite et permet ainsi de suivre une guérison sous traitement ou l'absence de récurrence après exérèse chirurgicale associée à un traitement antiparasitaire. Une évolution favorable est constatée lorsque l'index diminue au cours du suivi. Toute augmentation doit être réévaluée par imagerie.

2. Méthodes moléculaires

Les méthodes moléculaires utilisées pour le diagnostic des échinococcoses sont principalement les PCR, applicables sur des biopsies ou divers liquides biologiques comme la bile, le liquide pleural, les expectorations et le lavage broncho-alvéolaire (LBA). Il est important de noter que ces méthodes ne sont pas validées pour le sang.

Actuellement, le LNRE dispose de deux tests PCR complémentaires en termes de sensibilité. En première ligne, la PCR multiplexe en temps réel est privilégiée pour sa rapidité. Cette méthode cible simultanément *E. multilocularis* et *E. granulosus sensu stricto*, la sous-espèce la plus courante du complexe *E. granulosus sensu lato* dans les cas d'EK. Le protocole a été développé et validé par le laboratoire de Microbiologie du CHU de Liège (technique in house). En cas de résultat négatif avec cette PCR, une PCR multiplexe classique est réalisée. En plus d'identifier *E. multilocularis*, cette méthode présente l'avantage de cibler toutes les sous-espèces du complexe *E. granulosus sensu lato* en amplifiant un gène commun à toutes. Cependant, pour une identification précise de la sous-espèce, un séquençage post-PCR (séquençage Sanger) est nécessaire. [7]

B. MISSIONS SPÉCIFIQUES DU LNRE

Le LNRE a pour missions principales l'expertise biologique, le conseil scientifique et l'appui aux professionnels de la santé, ainsi que la surveillance épidémiologique, l'alerte et la prévention des échinococcoses. En plus de ces missions spécifiques, une collaboration étroite est maintenue avec les membres du groupe interdisciplinaire liégeois, Echino-Liège, qui rassemble des cliniciens du CHU de Liège impliqués dans la prise en charge des échinococcoses, ainsi que des vétérinaires de la Faculté de médecine vétérinaire de l'ULiège. Par ailleurs, des collaborations sont actives avec d'autres centres de Référence tels que le CNR échinococcoses du CHU de Besançon (France) et l'ANSES de Nancy, pour la partie vétérinaire. Ces échanges multidisciplinaires permettent de gérer de façon optimale les cas d'échinococcoses les plus complexes et de partager des connaissances fondamentales. Cela inclut des échanges de ring-tests (test interlaboratoires pour comparer la qualité des techniques utilisées), et la participation à des études communes. [6]

I. MISSION : EXPERTISE BIOLOGIQUE

Pour assurer la mission d'expertise biologique, les activités suivantes sont réalisées :

- le diagnostic de l'échinococcoses alvéolaire et kystique par des techniques sérologiques et moléculaires ;
- la confirmation du diagnostic établi par d'autres laboratoires de biologie clinique ;
- la confirmation d'un diagnostic histologique suggéré par un laboratoire d'anatomopathologie ;
- le suivi sérologique pour les cas d'EA traités (estimation de l'activité parasitaire)
- le typage moléculaire d'*E. multilocularis* par l'analyse des microsatellites EmsB ;
- le développement de nouvelles méthodes de diagnostic ou de typage.

II. MISSION : SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

Le recensement des cas d'échinococcoses en Belgique a commencé dans les années 1990 sous la direction du Professeur Yves Carlier (ULB), puis du Professeur Carine Truyens, qui dirigeait le laboratoire de référence pour l'échinococcoses alvéolaire. Depuis 2021, le laboratoire de microbiologie du CHU de Liège a repris ce rôle après une réorganisation des laboratoires de l'ULB. Nous poursuivons cette activité de recensement en envoyant le formulaire de l'ECDC (« *European Centre for Disease Prevention and Control* ») à tous les laboratoires belges de biologie clinique. Les laboratoires sont également invités à consulter les infectiologues de leur établissement pour identifier des cas d'échinococcoses non diagnostiqués par sérologie et/ou PCR durant l'année.

Bien que la participation soit volontaire, cette démarche permet de suivre l'évolution des échinococcoses en Belgique (notifiée depuis 2010), d'en déterminer la distribution géographique et d'identifier les populations à risque. Les données de cette surveillance épidémiologique aident à orienter les mesures préventives pour freiner l'émergence de nouveaux cas et à alerter les autorités sanitaires et les citoyens belges sur une éventuelle augmentation de l'incidence. Les données recueillies sont envoyées à l'ECDC pour compléter les données européennes.

III. MISSION : ALERTE & PRÉVENTION

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les échinococcoses touchent plus d'un million de personnes à l'échelle mondiale [8]. Cependant, elle reste une maladie négligée, voire totalement méconnue des spécialistes de la santé, comme l'a confirmé une étude réalisée en 2022 par le LNRE en collaboration avec le groupe ECHINO-Liège [9]. Cette étude visait à évaluer les connaissances sur l'EA auprès des médecins généralistes de la région liégeoise (TFE Maxime Boulanger, Uliège). Cette parasitose est généralement diagnostiquée tardivement, ce qui engage le pronostic vital des patients. Il est donc indispensable de mettre en place des mesures préventives et de sensibiliser les cliniciens afin d'améliorer la prise en charge. En ce sens, le LNRE assure cette mission de transmission des informations par le biais de communications orales et écrites.

C. SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE 2023

I. MÉTHODOLOGIE

La surveillance épidémiologique, organisée par le LNRE, repose sur la collecte des cas confirmés d'EA ou EK durant l'année 2023. Ces cas doivent répondre à la définition établie par la Commission européenne sur les maladies transmissibles et les problèmes de santé publique (2018) qui requiert le respect de l'un des critères suivants [10] :

- Analyse histologique confirmant la présence d'*E. multilocularis* ou *E. granulosus* (par exemple par la visualisation directe de protoscolex) ;
- Mise en évidence de la morphologie caractéristique d'un *E. granulosus* dans les prélèvements chirurgicaux ;
- Détection des lésions parasitaires par imagerie médicale, suivi de la confirmation par un test immunologique ou PCR ;
- Détection des anticorps sériques par sérologie, suivie de la confirmation du diagnostic par un test spécifique tel que le Western Blot ;
- Détection de l'ADN d'échinocoque par une technique de biologie moléculaire.

Les données épidémiologiques collectées sont ensuite communiquées à l'ECDC. Cette collecte a été réalisée grâce à un formulaire envoyé à tous les laboratoires belges, en collaboration avec Sciensano. De plus, les laboratoires ont également demandé à leurs infectiologues s'ils avaient recensé des cas non détectés par la sérologie et/ou PCR. L'enquête a recueilli un total de 23 réponses positives ou négatives, ce chiffre a doublé par rapport à l'année 2022 avec 11 réponses. Des doublons ont souvent été observés en raison de la décentralisation des analyses sérologiques. En effet, les laboratoires n'envoient pas systématiquement toutes les sérologies au LNRE, dispersant ainsi les analyses entre différents centres, notamment l'Institut de Médecine Tropicale (IMT) et le LNRE.

En 2023, 15 laboratoires/hôpitaux ont rapporté au moins un cas d'échinococcoses au LNRE:

- 1) Hôpital régional de la province de Liège (Citadelle)
- 2) CHU UCL Namur (site Mont-Godinne et site Saint-Elisabeth)
- 3) Hôpital AZ Sint-Lucas à Gand
- 4) Clinique Saint-Joseph à St Vith

- 5) Hôpital ASZ à Aalst
- 6) Laboratoire National de Santé (LNS) au Luxembourg
- 7) Universitair Ziekenhuis Gent
- 8) Laboratoire du Centre Hospitalier Bois de l'Abbaye à Seraing
- 9) Institut de Médecine Tropicale à Anvers
- 10) Laboratoire Hospitalier Universitaire de Bruxelles (LHUB)
- 11) Universitair Ziekenhuis Brussel
- 12) Hôpital Civil Marie Curie de Loddelinsart
- 13) Universitair Ziekenhuis Antwerpen
- 14) Algemeen Ziekenhuis (AZ) Turnhout
- 15) Hôpital de Libramont (Vivalia)

Enfin, les cas pris en charge au CHU de Liège étaient automatiquement répertoriés. En comparaison avec l'année 2021 et 2022, un plus grand nombre de laboratoires/hôpitaux a recensé au moins un cas d'échinococcose en 2023 avec 15 laboratoires/hôpitaux contre 8 en 2021 et 12 en 2022. Les renseignements demandés concernaient le patient (âge, sexe, code postal, patient hospitalisé ou non), le diagnostic de la maladie (présentation clinique d'une EA ou EK), l'espèce identifiée, la date de début des symptômes, la date de diagnostic et l'origine géographique de contamination.

II. ECHINOCOCCOSE ALVÉOLAIRE

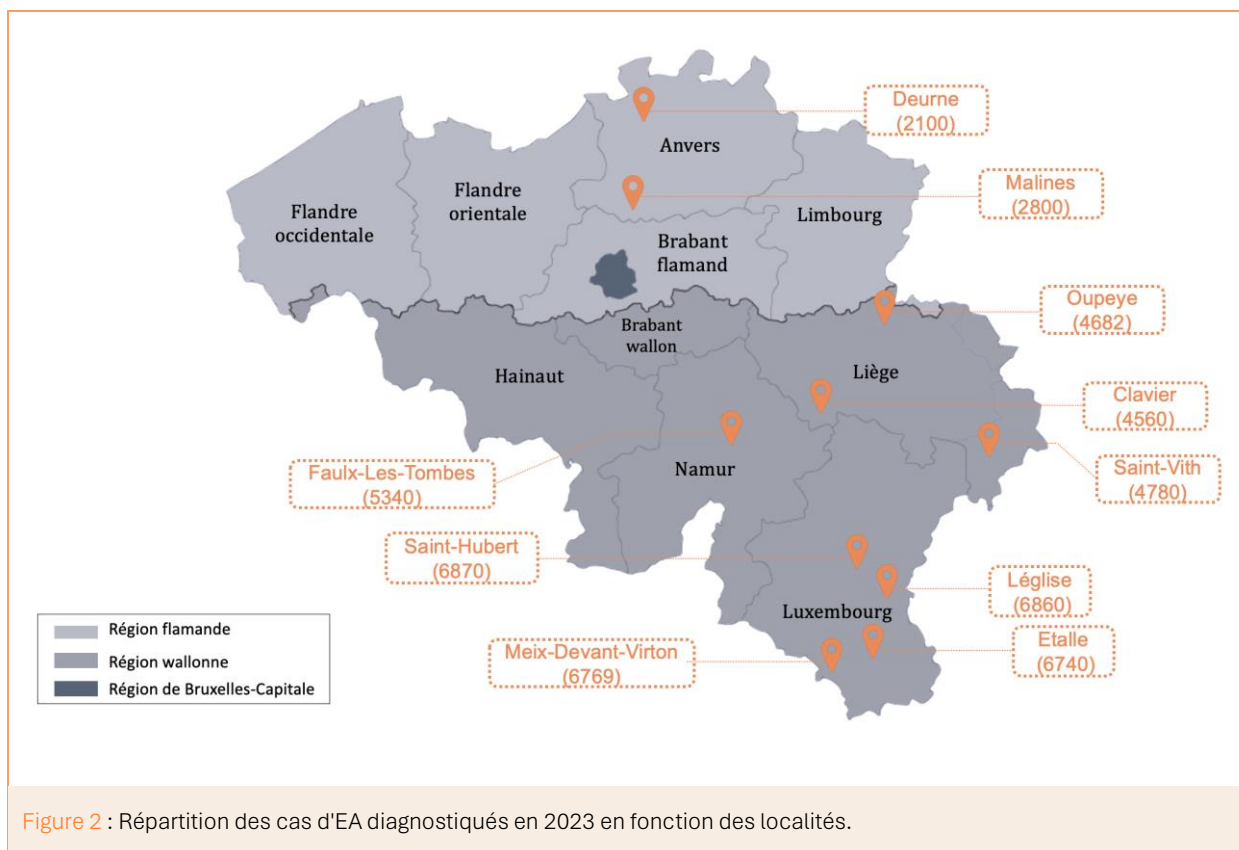
En 2023, **12 nouveaux cas d'échinococcose alvéolaire** ont été rapportés sur l'ensemble du territoire belge. Tous les cas ont été confirmés conformément à la définition établie par la Commission européenne sur les maladies transmissibles et les problèmes de santé publique (2018) [10]. Rapportés à la population belge [11], ces 12 cas représentent un taux d'incidence de 0,10 par 100 000 habitants, un chiffre plus élevé que celui de l'année 2021 (0,03/100 000 habitants) mais identique à celui de l'année 2022. Tous les cas d'EA recensés en 2023 sont des résidents belges, à l'exception de deux cas en provenance du Grand-Duché de Luxembourg et des Pays-Bas (mais originaire de Pologne et prise en charge à Gand). Ainsi au total, on estime que 10 personnes ont pu se contaminer en Belgique sur les 12 EA. Les deux autres cas s'étant contaminés probablement au Grand-Duché de Luxembourg et en Pologne. Tous les cas étaient vivants lors du rapportage des données épidémiologiques.

1. Répartition selon le sexe et l'âge

Parmi les 12 cas d'EA rapportés en 2023, les hommes et les femmes représentent la même proportion (50%). Le sexe ratio M/F pour ce groupe est donc égal à 1 (6/6) et l'âge médian au moment du diagnostic est de 63,5 ans (allant de 13 à 81 ans). Cet âge médian est légèrement supérieur à celui de l'année 2022 (60,5 ans, intervalle de 25 à 77 ans). De plus, le plus jeune cas d'EA a été diagnostiqué à l'âge de 13 ans.

2. Répartition selon le lieu de résidence

Les 10 patients atteints de l'EA et résidant en Belgique, sont situés principalement en région wallonne (80 %), à l'exception de 2 cas en provenance de la province d'Anvers. En Wallonie, les provinces touchées par l'EA sont le Luxembourg (4 cas sur 10), Liège (3 cas sur 10) et Namur (1 cas sur 10). La figure 2 illustre la répartition des cas rapportés en 2023 selon les localités.



3. Répartition selon les méthodes de diagnostic employées

Le tableau 1 reprend les méthodes utilisées pour le diagnostic (Sérologie/PCR) des 12 cas d'EA rapportés en 2023, ainsi que le résultat (positif, douteux, négatif) associé à chaque test.

Parmi les 12 patients,

- 5 patients (42%) ont bénéficié d'une analyse par PCR. Celle-ci était positive dans tous les cas (ce qui donne 100% de sensibilité à la technique). Parmi les 5 PCR réalisées, 4 PCR ont été pratiquées sur une pièce d'exérèse chirurgicale ou biopsie (foie et paroi thoracique) alors qu'une PCR a été réalisée à partir d'une expectoration.
- Ils ont tous bénéficié d'une analyse par sérologie qui a été confirmée au LNRE. Celle-ci était positive en ELISA Em2-Em18 pour 10/12 sérums (84%), dans la « zone grise » pour 1/12 sérums et négative pour 1/12 cas.
- Dans tous les cas, le WB a confirmé au moins la présence du genre *Echinococcus sp.* (12/12 cas). La bande de 7 kDa, spécifique du genre *Echinococcus sp.* était présente dans les 12 cas analysés (100%). Pour la bande relative à l'antigène de 26/28 kDa, elle était également présente à 100% (12/12). L'identification jusqu'à l'espèce (apparition de la bande 16 kDa et/ou 18 kDa) a été confirmée par WB pour 9/12 cas (75%).
- 100% réactions croisées pour *E. granulosus* ont été mises en évidence avec le test ELISA ou CLIA pour les 9 cas/12 testés.

	Les méthodes utilisées avec résultats						Diagnostic confirmé par le LNRE	Conclusion
	PCR	ELISA E.m	ELISA/CLIA E.g	Western Blot (WB)				
				E.m	E.g	E. sp		
Cas 1	■	■	/	■			✓	<ul style="list-style-type: none"> PCR positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour <i>E.m</i>
Cas 2	■	■	/	■			✓	<ul style="list-style-type: none"> PCR positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour <i>E.m</i>
Cas 3	/	■	■	■			✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour <i>E.m</i>
Cas 4	/	■	■	■			✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour <i>E.m</i> Réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 5	■	■	■	■			✓	<ul style="list-style-type: none"> PCR positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour <i>E.m</i> Réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 6	/	■	■			■	✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> Sérologie confrontée à l'imagerie médicale et aux données cliniques et épidémiologiques
Cas 7	/	■	■	■			✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour <i>E.m</i> Réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 8	/	■	■	■			✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour <i>E.m</i> Réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 9	■	■	■	■			✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour <i>E.m</i> malgré la valeur du test ELISA <i>E.m</i> dans la zone grise. La spécificité a été confirmée par le WB.
Cas 10	/	■	■			■	✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> Sérologie confrontée à l'imagerie médicale et aux données cliniques et épidémiologiques
Cas 11	/	■	■			■	✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> malgré la négativité du test ELISA <i>E.m.</i> (index<0,6)
Cas 12	■	■	/	■			✓	<ul style="list-style-type: none"> PCR positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour <i>E.m</i>

Tableau 1 : les méthodes employées pour le diagnostic des 12 cas d'EA rapportés en 2023 et les résultats obtenus.

Légende :

E.m: *E. multilocularis*

E.g: *E. granulosus*

E.sp.: *E. species*

■ : Résultat positif

■ : Résultat douteux

■ : Résultat négatif

/ : non réalisé ou inconnu

En conclusion :

- 1) Tous les nouveaux cas d'EA diagnostiqués en 2023 ont bénéficié d'une analyse sérologique (ELISA + WB) au LNRE.
- 2) La sérologie associant ELISA *E.m* et WB a montré une sensibilité atteignant 100% pour le diagnostic du genre *Echinococcus sp.* (12/12 cas) et une sensibilité de 84% pour la détection de l'espèce multilocularis (10/12 cas). Le WB seul a une sensibilité de 75% pour la détection de l'espèce multilocularis (9/12 cas).
- 3) Le WB est parfois un test plus sensible que le test ELISA *E.m* (cas n°11, résultat négatif en ELISA *E.m*).
- 4) Pour le WB, la bande à 7 kDa est l'antigène immunodominant car on détecte la présence d'anticorps dans tous les cas (sensibilité à 100%).

- 5) Des réactions croisées avec *E.g* sont observées dans tous les cas testés avec le test ELISA ou CLIA détectant les IgG anti-*E. granulosus* (9 cas sur 12 testés).
- 6) La PCR a été pratiquée pour 5/12 cas d'EA et a permis de confirmer la présence de l'*E. m* dans 100% des cas testés.
- 7) La PCR peut être réalisée à partir d'une expectoration, prélèvement pour lequel la PCR n'avait jamais été testée auparavant au LNRE.

4. Répartition selon la localisation des lésions

Parmi les 12 cas rapportés en 2023 :

- 9 cas (cas n° 1, 3 à 9, 11) présentent une localisation strictement hépatique.
- Les cas n°2 et 12 ont une localisation hépatique et extra-hépatique au niveau des poumons.
- Le cas n°10 a une atteinte hépatique et pancréatique

Le **foie** a été touché dans **100%** des cas diagnostiqués en 2023 avec une extension vers des localisations extra-hépatiques (poumons et pancréas) dans 25% des cas.

III. ECHINOCOCCOSE KYSTIQUE

En 2023, **20 nouveaux cas d'EK** ont été rapportés sur l'ensemble du territoire belge. Tous les cas d'EK recensés en 2023 étaient des résidents belges et ils étaient vivants lors du rapportage des données épidémiologiques. De plus, tous les cas ont été confirmés conformément à la définition établie par la Commission européenne sur les maladies transmissibles et les problèmes de santé publique (2018) [10]. Rapportés à la population belge [11], ces 20 cas représentent un taux d'incidence de 0,17 cas par 100 000 habitants, ce qui est plus élevé que les taux de l'année 2021 (0,08 cas par 100 000 habitants) et 2022 (0,11 cas par 100 000 habitants). Ce taux est également supérieur à l'incidence annuelle moyenne rapportée par Casulli *et al* (2023) pour la période 2005-2020 en Belgique (incidence annuelle moyenne : 0,08 cas par 100 000 habitants). En Europe, l'incidence annuelle moyenne en Europe pour la période 1997-2020 atteint 0,64 cas par 100 000 habitants. [12]

Il est important de noter que 6 cas supplémentaires ont été signalés en 2023, mais ceux-ci ont été diagnostiqués avant 2023 et ils n'avaient pas été déclarés au LNRE auparavant. Pour éviter de fausser les résultats annuels, ces cas n'ont pas été inclus dans l'analyse des données.

1. Répartition selon le sexe et l'âge

Contrairement à la forme alvéolaire, la forme kystique se manifeste chez une population plus jeune avec un âge variant de 16 à 81 ans (âge médian 42.5 ans). Pour ce groupe, le sexe ratio M/F est de 10/10, montrant une répartition équivalente entre les hommes et les femmes. Ces données diffèrent de celles obtenues en 2022, où plus d'hommes ont été recensés (le sexe ratio M/F en 2022 était de 11/2).

2. Répartition selon le lieu de résidence

Parmi les 20 cas d'EK rapportés en 2023, 50% (n=10), 40% (n=8) et 10% (n=2) résident respectivement en Wallonie, en Flandre et dans la région Bruxelles-Capitale. Bien que l'*E. granulosus* ne soit pas endémique en Belgique, le lieu de résidence permet de visualiser les zones

où les populations infectées se concentrent principalement. Ces zones incluent la province d'Anvers (5 cas sur 20), de Liège (3 cas sur 20), de Namur (3 cas sur 20), du Hainaut (3 cas sur 20), de Flandre Orientale (2 cas sur 20), du Luxembourg (1 cas sur 20), du Limbourg (1 cas sur 20) et la région de Bruxelles-Capitale (2 cas sur 20).

3. Répartition selon les pays de contamination

En 2023, tous les cas d'EK signalés ont été contractés à l'étranger dont 20% provenant de la Turquie (4/20 cas) et de la Roumanie (4/20). Les autres cas ont été acquis en Afghanistan (5%, 1/20), Albanie (5%, 1/20), Bulgarie (5%, 1/20), Israël (5%, 1/20), Italie (5%, 1/20), Maroc (5%, 1/20), Mauritanie (5%, 1/20), Népal (5%, 1/20), Pologne (5%, 1/20), Syrie (5%, 1/20), et Ukraine (5%, 1/20). L'information sur le lieu de contamination est manquante pour un cas, rapporté par le laboratoire de ULB.

4. Répartition selon les méthodes de diagnostic employées

Le **tableau 2** reprend les méthodes utilisées pour le diagnostic (Sérologie/PCR) des 20 cas d'EK rapportés en 2023, ainsi que le résultat (positif, douteux, négatif) associé à chaque test. Sur les 20 cas d'EK recensés, 11 ont été confirmés par le LNRE. Pour les autres cas, les tests ont été effectués par des laboratoires externes, mais les détails sur les méthodes de test utilisées ne sont pas connus.

Parmi les 11 cas confirmés par le LNRE,

- 5 patients (25%) ont bénéficié d'une analyse par PCR. Celle-ci était positive pour *E.g* dans tous les cas. Pour ces PCR, l'ADN a été extrait à partir d'un kyste ou d'un fragment tissulaire (foie et poumons, 4/5 cas) et d'un liquide de ponction hépatique (1/5 cas) .
- La sérologie associant les tests ELISA ou CLIA et le WB a été concluante dans 91% des cas testés avec au moins une positivité au genre *Echinococcus sp.*
- Le test ELISA IgG anti-*E.granulosus* ou CLIA a été positif pour 8 cas sur 11 (73%) tandis qu'il était négatif pour 3/11 cas. Pour ces derniers, le WB a permis d'éviter un résultat faussement négatif pour 2 cas (cas n°2 et 4) grâce l'apparition unique de la bande à 7 kDa.
- Le WB a confirmé au moins la présence du genre *Echinococcus sp.* pour 10/11 cas. La bande de 7 kDa, spécifique du genre *Echinococcus sp.* était présente dans les 10/11 cas analysés (91%). Pour la bande relative à l'antigène de 26/28 kDa, elle était présente à 36% (4/11). L'identification jusqu'à l'espèce (apparition de la bande à 17 kDa) a été confirmée par WB pour 4/11 cas (36%).
- La sérologie (test CLIA + WB) était négative pour le cas n°12 et ceci peut s'expliquer par le fait qu'il s'agit d'une EK pulmonaire isolée. Néanmoins, l'EK a été confirmé par PCR pour ce cas.
- Le WB a été pour le cas n°2 et 4 le seul test sérologique positif pour le genre *Echinococcus sp.* Pour le cas n°4, la PCR a permis de confirmer la spécificité à l'espèce.
- 18% réactions croisées pour *E. multilocularis* ont été mises en évidence avec le test ELISA Em2-Em18, ce qui souligne la relative bonne spécificité de ce test ELISA.

	Les méthodes utilisées avec résultats						Diagnostic confirmé par le LNRE	Conclusion
	PCR	ELISA E.m	ELISA/CLIA E.g	Western Blot (WB)				
				E.m	E.g	E.sp		
Cas 1							✓	<ul style="list-style-type: none"> PCR positive pour <i>E.g</i> Sérologie positive pour <i>E.g</i>
Cas 2	/						✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> Sérologie confrontée à l'imagerie médicale aux données cliniques et épidémiologiques (WB le seul test positif)
Cas 3							✓	<ul style="list-style-type: none"> PCR positive pour <i>E.g</i> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> Sérologie confrontée à l'imagerie médicale et aux données cliniques et épidémiologiques
Cas 4							✓	<ul style="list-style-type: none"> PCR positive pour <i>E.g</i> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> Sérologie confrontée à l'imagerie médicale et aux données cliniques et épidémiologiques (WB le seul test positif)
Cas 5	/						✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> Sérologie confrontée à l'imagerie médicale et aux données cliniques et épidémiologiques
Cas 6	/						✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour <i>E.g</i> Réaction croisée avec <i>E.m</i>
Cas 7	/						✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour <i>E.g</i>
Cas 8	/						✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> Sérologie confrontée à l'imagerie médicale et aux données cliniques et épidémiologiques
Cas 9							✓	<ul style="list-style-type: none"> PCR positive pour <i>E.g</i> Sérologie positive pour <i>E.g</i>
Cas 10	/						✓	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> Sérologie confrontée à l'imagerie médicale et aux données cliniques et épidémiologiques
Cas 11	/	Sérologie positive pour <i>E.g</i> (tests réalisés par un laboratoire extérieur)					✗	<ul style="list-style-type: none"> Sérologie positive pour <i>E.g</i>. Tests réalisés par un laboratoire extérieur
Cas 12							✓	<ul style="list-style-type: none"> PCR positive pour <i>E.g</i> Sérologie négative (EK pulmonaire isolée)
Cas 13 à 20	Données inconnues (tests réalisés par des laboratoires extérieurs) non confirmés au LNRE.							

Tableau 2 : les méthodes employées pour le diagnostic des 20 cas d'EK rapportés en 2023 et les résultats obtenus.

Légende :

E.m: *E. multilocularis*

E.g: *E. granulosus*

E.sp.: *E. species*

: Résultat positif

: Résultat douteux

: Résultat négatif

/ : non réalisé ou inconnu

En conclusion :

- 1) 55% des nouveaux cas d'EK diagnostiqués en 2023 ont bénéficié d'une confirmation sérologique au LNRE (ELISA ou CLIA + WB). Les autres cas ont été réalisés par des laboratoires extérieurs.

- 2) La sérologie associant ELISA ou CLIA *E.g* et WB a montré une sensibilité atteignant 91% pour le diagnostic du genre *Echinococcus sp.* (11/11 cas) et une sensibilité de 36% pour la détection de l'espèce *granulosus* (4/11 cas).
- 3) La sérologie peut être négative lorsqu'il s'agit d'une EK pulmonaire isolée (cas n°12) ou positive au WB seul.
- 4) Le WB est parfois un test plus sensible et spécifique que le test ELISA ou CLIA *E.g* (cas n°2 et 4, WB seul test positif).
- 5) Concernant le WB, **la bande à 7 kDa** est l'antigène immunodominant car il est mis en évidence dans 91% des cas. Cet antigène est détecté spécifiquement chez les espèces du genre *Echinococcus sp.* mais il ne permet pas de différencier précisément les espèces.
- 6) Des réactions croisées avec *E. m* (18%) sont observées, mais dans une moindre proportion par rapport aux cas d'EA (où 100% des réactions croisées sont avec *E. g*).
- 7) La PCR a été pratiquée pour 5/11 cas d'EK et a permis de confirmer la présence de l'*E.g* dans 100% des cas testés.

5. Répartition selon la localisation des lésions

Parmi les 20 cas d'EK rapportés en 2023 :

- 10 cas (cas n° 1 à 3, 5 à 9 et 11) présentent une localisation strictement hépatique.
- Les cas n°4 et 12 ont une localisation strictement pulmonaire
- Le cas n°14 a une localisation hépatique et pulmonaire.
- La localisation primaire n'est pas connue pour 8 cas.

Le foie a été l'organe touché dans 83% des cas connus en 2023, suivi des poumons (20%).

IV. COMMUNICATION DES CAS À L'ECDC

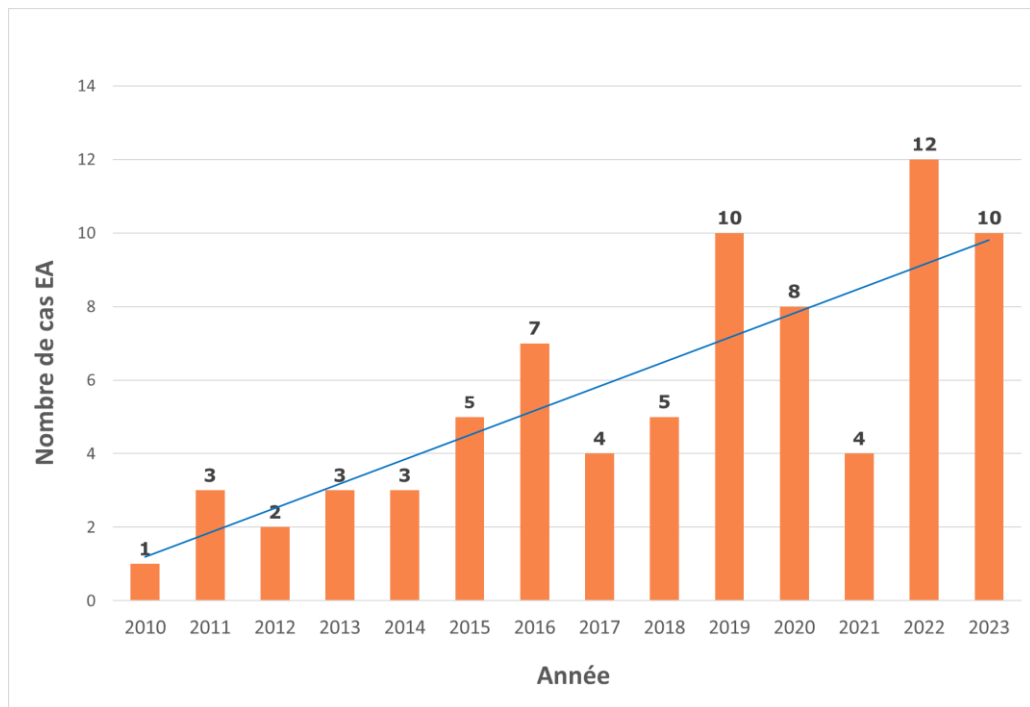
Le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) se consacre principalement au renforcement de la protection contre les maladies infectieuses en Europe. Depuis 2010, les chiffres belges relatifs aux cas d'échinococcose sont systématiquement transmis à l'ECDC pour évaluer l'évolution de la maladie. En 2023, tous les cas recensés ont été rapportés à l'ECDC par Sciensano.

D. EVOLUTION DES CAS D'ÉCHINOCOCCOSE, 2010-2023

En 2023, un total de 32 nouveaux cas d'échinococcose a été signalés en Belgique, dont 17 ont été rapportés et testés par le LNRE (CHU de Liège), et 15 par les autres laboratoires belges (cf. méthodologie de la surveillance épidémiologique 2023, page 6). Parmi les patients diagnostiqués, 12 présentaient la forme alvéolaire (10 résidents belges et 2 non-résidents belges) et 20 la forme kystique. La figure 3 illustre l'évolution épidémiologique de l'EA et EK depuis l'année 2010, année marquant le début du rapportage des cas belges à l'ECDC [13]. Seuls les cas résidant en Belgique sont représentés sur la figure 3. Les données montrent une augmentation significative du nombre de cas d'EA et EK diagnostiqués en Belgique depuis l'année 2010 : de **1 cas d'EA en 2010 à 10 cas en 2023**, et **7 cas d'EK en 2010 à 20 cas en 2023**. De plus, l'année 2023 enregistre le nombre

le plus élevé de cas de la forme kystique depuis le début du recensement des cas belges. En moyenne, 5 cas d’EA et 10 cas d’EK sont diagnostiqués chaque année.

a)



b)

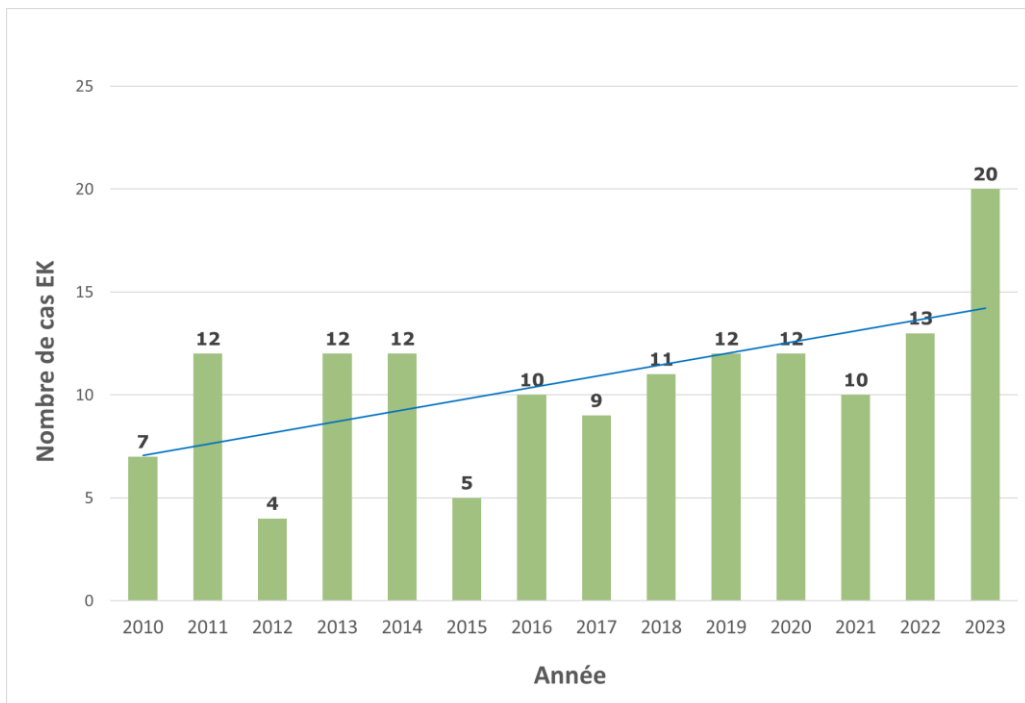


Figure 3 : Évolution des cas d'échinococcose alvéolaire (a) et kystique (b) en Belgique, 2010-2023. Les cas recensés avant 2021 ont été rapportés par le laboratoire de Parasitologie de l'ULB (Pr C. Truyens).

E. BILAN DES ACTIVITÉS DE DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE ET MOLÉCULAIRE

En 2023, un total de 1474 tests sérologiques sur 540 patients et 84 PCR sur 69 patients ont été effectués par le LNRE. En ce qui concerne la sérologie, les analyses effectuées concernent à 93% des primo-diagnostic et à 7% des suivis sérologiques pour l'*E. multilocularis*. Plus précisément, le test ELISA Em2-Em18 (Bordier, France) a été pratiqué dans 37% des cas (544 sérums/1474) et le test ELISA Ridascreen ciblant l'*E. granulosus* (R-Biopharm, Allemagne) a été utilisé dans 18% des cas (263 sérums/1474). Notons qu'à partir du 14/07/2023, il y a eu un changement dans le test de dépistage pour l'EK: le test ELISA Ridascreen a été remplacé par un test à chimiluminescence Hydatidosis VirClia® IgG monotest de la firme Vircell (Espagne). Ce test a été utilisé dans 17% des cas (244 sérums sur 1474) et fait maintenant partie intégrante des tests de routine pour le dépistage de l'EK. Le tableau 3 résume le nombre de tests effectués pour l'année 2023 en exposant le nombre total de tests positifs, négatifs et les résultats compris dans la zone grise pour les différentes analyses actuellement en place au LNRE.

Pour l'*E. multilocularis*, 2,7% des analyses (8/296) combinant ELISA *E.m* et WB ont révélé des faux positifs (ELISA positif, WB négatif). Pour l'*E. granulosus*, 1,1 % des analyses (3/273) combinant ELISA ou CLIA *E.g* et WB ont montré des résultats similaires (ELISA positif mais WB négatif). Ainsi, le WB a permis de réduire significativement la fréquence des résultats faussement positifs, soulignant par la même occasion l'importance de la confirmation par ce test.

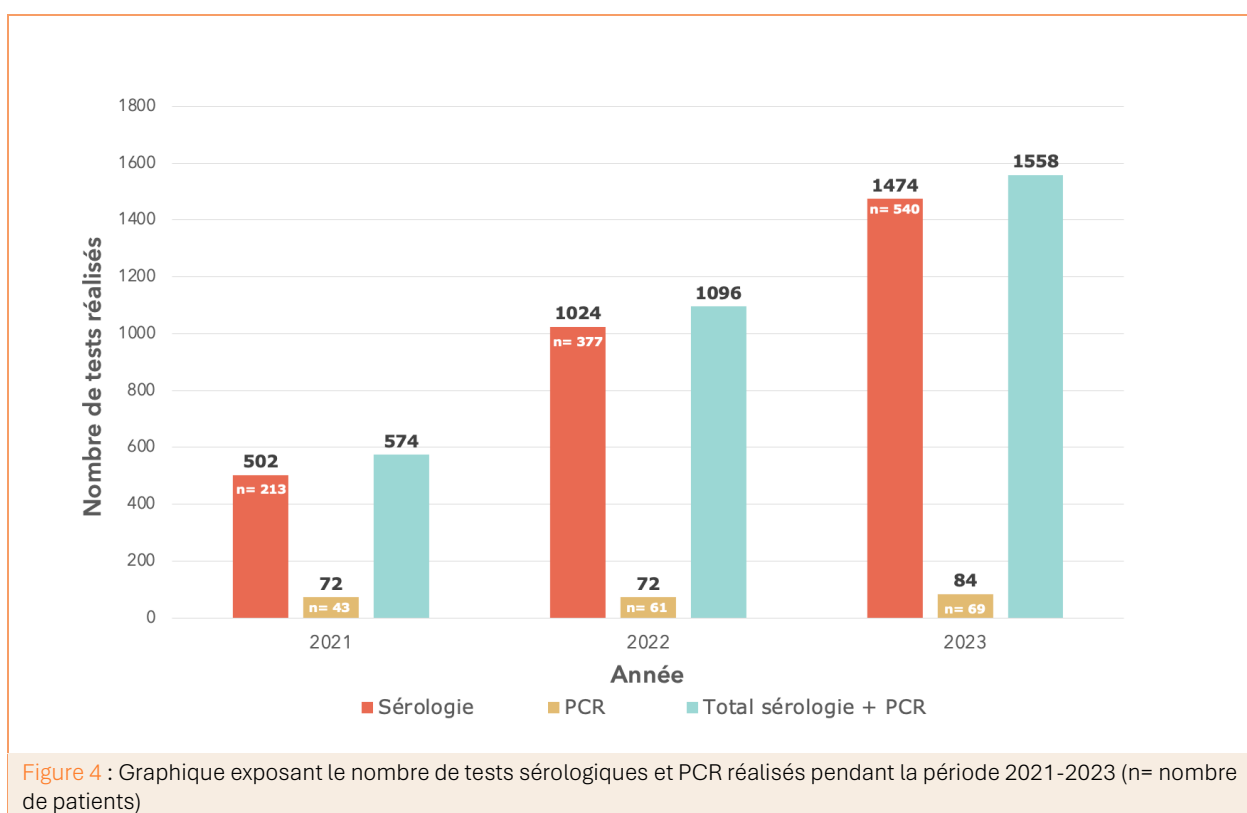
Sérologie (n= 540)				
	Positif	Valeur seuil	Négatif	Total
ELISA <i>E.m</i> (n=514)	43 (8%)	20 (4%)	481 (88%)	544
ELISA <i>E.g</i> (n= 263)	17 (6%)	2 (1%)	244 (93%)	263
Test CLIA <i>E.g</i> (n= 240)	19 (8%)	3 (1%)	222 (91%)	244
WB (n=307)	58 (18%)	NA	263 (82%)	321
Suivi <i>E.m</i> (n=81)	32 (31%)	5 (5%)	65 (64%)	102
				1474
Biologie moléculaire (n=69)				
	Positif		Négatif	Total
	<i>E.m</i>	<i>E.g</i>		
PCR (PCR temps réel + PCR trachsel) (n=69)	10 (12%)	11 (13%)	63 (75%)	84

Tableau 3: Nombre de tests sérologiques et PCR réalisés en 2023 au LNRE. (n= nombre de patients)

Parmi les prélèvements envoyés au LNRE pour une identification par PCR, 24 (29%) provenaient de tissus, incluant des biopsies ou pièces chirurgicales ; 33 (39%) provenaient de liquides biologiques (fluide hydatique, liquide de ponction hépatique, LBA) ; 15 (18%) étaient de l'ADN extrait à partir de tissus ou biopsies en bloc de paraffine (extraction effectuée par le service d'anatomopathologie du CHU de Liège) ; 1 provenait d'un frottis hépatique ; et 6 étaient des autres prélèvements tels que des selles et des cristaux au niveau d'une articulation.

La figure 4 illustre le nombre de tests sérologiques et PCR réalisés annuellement au LNRE. Les chiffres antérieurement à l'année 2021 n'y figurent pas car ces analyses étaient effectuées à l'ULB, l'ancien LNRE. Étant donné que les techniques sérologiques et PCR utilisées ne sont pas totalement identiques, il est difficile de faire une comparaison directe. En 2023, le nombre de PCR réalisées a légèrement augmenté avec 84 PCR pour 69 patients contre 72 PCR pour 61 patients en 2022.

Concernant les tests sérologiques, ceux-ci ont considérablement augmenté, passant de 1024 tests en 2022 à 1474 tests en 2023. Cette augmentation est une conséquence directe de la sensibilisation des cliniciens par les échanges, communications et travaux menés par le LNRE et le groupe ECHINO-Liège. En testant un plus grand nombre de patients susceptibles d'être porteurs d'une forme d'échinococcose, on détecte plus précocement des cas. En 2023, le nombre de cas d'EK le plus élevé a été enregistré en Belgique. Par ailleurs, le nombre d'EA diagnostiqués a également augmenté depuis 2022 avec 12 cas détectés annuellement.



En 2023, il a été mis en évidence qu'un nombre plus élevé d'hôpitaux ont adressé des prélèvements au LNRE pour sous-traiter ou confirmer un diagnostic sérologique. Bien que d'autres laboratoires réalisent le dépistage sérologique des échinocoques, le LNRE est le seul laboratoire belge à pratiquer des méthodes très spécifiques et sensibles qui confirment un diagnostic sérologique et permettent d'assurer le suivi des patients pour ce qui concerne l'EA. En effet 31 hôpitaux/laboratoires, en dehors du CHU de Liège, ont envoyé des sérums au LNRE durant l'année 2023 contre 23 en 2022 et 17 en 2021. Ces hôpitaux belges concernent aussi bien ceux de la région wallonne que la région flamande. Pour le diagnostic moléculaire, 12 hôpitaux extérieurs ont envoyé des prélèvements pour une PCR en 2023 contre 8 en 2022 et 7 en 2021. Ce nombre est certes plus bas que ceux pour les analyses sérologiques mais ceci peut s'expliquer par le fait que la majorité des patients opérés d'EA sont pris en charge par les cliniciens du CHU de Liège.

F. DÉMARCHE QUALITÉ

Le laboratoire de Microbiologie clinique du CHU de Liège fait partie de l'Unilab qui regroupe tous les laboratoires de l'hôpital académique du CHU de Liège. Le laboratoire est accrédité selon la norme ISO 15189 par BELAC pour de nombreuses analyses. Il fait l'objet d'audits annuels avec un scope étendu au fil des ans. Actuellement, un système de qualité sous la norme ISO 15189 se met en place pour les activités qui concernent le LNRE. Cette démarche de qualité se fonde sur la rédaction de procédures opératoires et la création d'un dossier de validation pour toutes les techniques proposées par le LNRE. Les méthodes de biologie moléculaire (PCR multiplexe en temps réel et la PCR classique) ont déjà fait l'objet d'une validation de méthode en 2021.

Depuis 2022, le LNRE participe annuellement à un contrôle de qualité externe (ring-test) en collaboration avec le CNR des échinococcoses du CHU de Besançon (France) dans le but de valider les analyses proposées. Ce contrôle concernait les techniques de biologie moléculaire en 2023 et 100% des résultats étaient comparables entre les 2 laboratoires.

G. TRAVAUX DE RECHERCHE, COMMUNICATIONS & COLLABORATIONS

I. TRAVAUX DE RECHERCHE

En 2023, plusieurs études ont été menées par le LNRE.

1. Évaluation des performances analytiques du test anti-*Echinococcus* (IgG) EUROLINE WB (Euroimmun, Allemagne) pour le sérodiagnostic de l'échinococcose alvéolaire et kystique

Une étude a été menée pour évaluer les performances analytiques du test western blot (WB) anti-*Echinococcus* (IgG) EUROLINE (Euroimmun, Allemagne) en le comparant à un autre immunoblot (WB *Echinococcus* IgG, LDBio Diagnostics, France). Pour cette étude, 61 sérums ont été rétrospectivement inclus : 22 sérums de patients atteints d'une EK, 23 sérums de patients atteints d'une EA, 2 sérums de patients atteints d'une toxocarose et 14 contrôles négatifs correspondant à des sérums de patients négatifs pour *Echinococcus sp.* et *Toxocara sp.* . Tous les sérums ont été analysés par les deux méthodes, à savoir le WB anti-*Echinococcus* Euroline (IgG) et le WB *Echinococcus* IgG.

Parmi les 45 cas d'échinococcose, l'identification au moins jusqu'au niveau du genre a été respectivement assignée à 38 cas sur 45 (84%) et 44 cas sur 45 (98%) par les tests Euroimmun et LDBio. Concernant la différenciation des espèces, une identification à l'espèce *E.m* a été attribuée à 48% (11 cas sur 23) des cas d'EA avec le test Euroimmun contre 57% (13 cas sur 23) avec le test LDBio Diagnostics. Parmi les 22 cas d'EK, les tests Euroimmun et LDBio Diagnostics ont respectivement confirmé la présence de l'espèce *E.g* pour 64% (14 cas sur 22) et 59% (13 cas sur 22). Concernant les réactions croisées entre les espèces d'*Echinococcus*, des réactions croisées avec *E.g* et *E.m* ont été respectivement mises en évidence dans 2 cas sur 23 et 1 cas sur 22 avec le

test Euroimmun, tandis qu'aucune réaction croisée n'a été observée avec le test LDBio Diagnostics, ni pour les cas de toxocarose ni pour les contrôles négatifs.

Bien que les performances des deux méthodes soient comparables statistiquement (p -value > 0,05), le test Euroimmun pourrait être amélioré en réduisant le seuil à une intensité de 10. Cette modification a permis de détecter 6 sur 7 résultats faussement négatifs pour le genre *Echinococcus* sp. comme positifs, et d'éviter 2 sur 3 réactions croisées. De plus, le test Euroimmun présente plusieurs avantages, notamment un temps de manipulation plus rapide, une utilisation simple et une analyse standardisée facilitée par le logiciel EUROLiScan.

Les résultats de cette étude ont été présentés sous forme de poster lors du 34e congrès ECCMID (27 – 30 avril 2024, Barcelone, Espagne). Cette étude a également fait l'objet d'un travail de fin d'études réalisé par Léa Delhalle (2022-2023, HELMo).

2. Analyse de la diversité génétique des spécimens d'*E. multilocularis* isolés chez des patients atteints d'EA et chez des animaux grâce au typage moléculaire des microsatellites EmsB

En 2021, un projet sur le typage moléculaire du microsatellite EmsB (méthode développée par Jenny Knapp) a été initié pour caractériser les profils génétiques des souches d'*E. multilocularis* circulant en Belgique et ainsi les comparer à d'autres profils à travers le monde. De plus, les données de ce typage peuvent être corrélées avec les sources d'infection, les manifestations cliniques, le pronostic de la maladie et les profils génétiques retrouvés chez les animaux. Le marqueur EmsB est un microsatellite présent en 40 copies au sein du génome d'*E. multilocularis* situé sur le chromosome 5. Les régions de part et d'autre d'EmsB sont hautement conservées mais le profil microsatellite (CA)_n (GA)_n, (n correspondant au nombre de répétitions) présente un haut degré de polymorphisme. [14, 15] Les données préliminaires ont fait l'objet d'une publication dans *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases* (**Rosalie Sacheli et al. (2023)**, *Genetic diversity of Echinococcus multilocularis specimens isolated from Belgian patients with alveolar echinococcosis using EmsB microsatellites analysis*). Le typage EmsB réalisé sur 18 échantillons provenant de 16 patients atteints d'EA traités entre 2006 et 2021 montre que ces échantillons se classent en 4 profils EmsB connus en Europe. Cependant, deux autres spécimens n'ont pas pu être attribués à un profil déjà identifié, suggérant ainsi la présence de profils génétiques uniques en Belgique. [16]

En 2023, l'étude du typage EmsB s'est poursuivie en incluant les derniers spécimens isolés chez des patients belges atteints d'EA. Parallèlement, l'analyse a été élargie pour inclure les animaux hôtes du parasite tels que les renards, les rongeurs du genre "*Ondatra*" et les rats laveurs. Les résultats de ces investigations font actuellement l'objet d'une analyse approfondie. Les échantillons examinés comprennent 22 ADN de renards, 10 ADN de rongeurs, 5 ADN de rats laveurs ainsi que 22 échantillons provenant de 16 patients. L'objectif principal de l'intégration des échantillons d'animaux est de déterminer si les profils génétiques trouvés chez les humains sont également présents chez les animaux.

Les étudiants impliqués dans cette étude étaient Océane Mievis (master 2 en pharmacie à l'ULiège), Caroline Pholien (technologue de laboratoire médical, Haute École Charlemagne), et Amélie Contet (école de Biologie Industrielle à Cergy, France).

3. **Projet EkyScreen : dépistage sérologique de patients porteurs asymptomatiques d'une échinococcose kystique chez les résidents belges originaires de pays endémiques**

En 2023, le projet EKYSREEN a été initié grâce au financement du Fonds d'Investissement de la Recherche Scientifique (FIRS) du CHU de Liège. L'objectif principal de ce projet est de déterminer si le dépistage sérologique permettrait de diagnostiquer précocement l'EK chez les porteurs sains. Les objectifs secondaires incluent l'évaluation de la séroprévalence de l'EK et la sensibilisation des populations immigrées aux risques de contamination encourus dans les pays endémiques. En effet, le diagnostic de l'EK est souvent fortuit, réalisé lors d'examens pour d'autres pathologies ou à la suite de symptômes évocateurs. L'étude, qui s'étendra de janvier 2024 à décembre 2025, impliquera plusieurs services du CHU et du CHR de Liège, ainsi que des centres d'accueil pour demandeurs d'asile. À ce jour, aucune étude n'a déterminé l'intérêt clinique du dépistage systématique de la population à risque pour l'EK, notamment dans le contexte des maladies rares. Une analyse approfondie de ces populations pourrait évaluer l'efficacité d'un dépistage sérologique chez les patients originaires de pays endémiques. La réponse à cette question est essentielle pour juger de la pertinence du dépistage sérologique, en tenant compte des contraintes économiques et logistiques du système de santé belge.

Ce travail fera l'objet du travail de fin d'études en Santé publique de Caroline Adjetey à l'Université de Liège.

II. COMMUNICATIONS

1. **Symposium « L'échinococcose alvéolaire, vous connaissez ? »**

L'année 2023 a été marquée par le symposium « *L'échinococcose alvéolaire, vous connaissez ?* » qui a eu lieu le 28 février 2023 à l'occasion de la Journée Mondiale des Maladies rares au CHU de Liège. Cet événement a été organisé conjointement par le groupe ECHINO-Liège (Pr. Olivier DETRY) et le Laboratoire National de Référence des Échinococcoses (Pr. Marie-Pierre HAYETTE). Un programme détaillé abordant les aspects cliniques au traitement de l'échinococcose alvéolaire en passant par l'épidémiologie et la surveillance des renards a été présenté. De plus, ces différents points ont été abordés par des experts belges de l'échinococcose alvéolaire. Le programme détaillé du symposium est accessible via le lien suivant :

https://www.chuliege.be/jcms/c2_25722702/symposium-sur-l-echinococcose-alveolaire.

Afin de promouvoir l'évènement, le numéro 23 du chuchotis (newsletter des médecins et des professionnels de la santé au CHU de Liège) a traité du thème de l'EA via une interview de différents membres d'ECHINO-Liège dont le Pr Meunier (Service de radiologie), Dr Pierre Lovinfosse (service de médecine nucléaire), Dr Philippe Léonard (Service d'infectiologie), Pr Olivier Detry (Service de Chirurgie abdominale et transplantation) et Pr Marie-Pierre Hayette (LNRE). Le numéro 23 du chuchotis est disponible via le lien suivant :

https://www.chuliege.be/jcms/c2_25723620/echinococcose-le-chu-de-liege-referencenationale

L'évènement a accueilli un total de 107 participants incluant des médecins, des microbiologistes, des vétérinaires, des scientifiques, des techniciens et infirmières, des étudiants,

2. ARIZE Meeting, Actualités diagnostiques et thérapeutiques sur les échinococcoses

Lors de l'évènement *ARIZE Meeting* (AntibioRésistance, Infectiologie et Zoonoses Emergentes) organisé le 20 décembre 2023, le Pr Marie-Pierre Hayette, en collaboration avec le Dr Philippe Léonard, ont présenté les dernières avancées diagnostiques et thérapeutiques sur les échinococcoses. Cet évènement, soutenu par les Facultés de Médecine et de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège, s'inscrit dans l'initiative « *One Health* ». Ces réunions, qui se tiennent deux fois par mois, abordent divers sujets sur les maladies infectieuses humaines avec une approche vétérinaire.

3. Mise en place d'une page web pour le LNRE

Afin d'augmenter la visibilité de nos activités, la mise en place d'une page WEB directement accessible sur le site du CHU de Liège a été initié en 2023. Il s'agit d'un moyen de diffusion en ligne pour y exposer des fiches d'information sur les formes d'échinococcose, une description des techniques de sérologie et biologie moléculaire employées au LNRE, les informations pour l'envoi d'un échantillon au LNRE et les documents utiles comme les rapports d'activités et les publications écrites. Cette page web est aussi un intermédiaire pour informer les professionnels de la santé et le grand public sur les évènements à venir et aussi présenter les actualités sur les échinococcoses. L'accès à la page web du LNRE est disponible via le lien suivant www.chuliege.be/LNRBE

III. COLLABORATIONS

Les collaborations avec les cliniciens du CHU de Liège (groupe ECHINO-Liège) et les autres institutions se sont poursuivies en 2023, notamment par le biais des réunions ECHINO-Liège, qui se déroulent en présentiel et en ligne. Ces entretiens multidisciplinaires ont permis de gérer de façon optimale les cas d'échinococcose les plus difficiles et de promouvoir les activités du LNRE.

Des collaborations ont également été menées avec le Professeur Annick Linden du Service de Santé et Pathologies de la Faune Sauvage de l'Université de Liège. Cette collaboration a permis d'intégrer des échantillons d'animaux (renards et rongeurs) dans l'étude du typage EmsB afin de déterminer si les profils génétiques circulants chez les animaux se retrouvent également chez l'homme.

Les échanges avec les collègues français du CNR des Échinococcoses de Besançon, le Professeur Laurence Millon et le Docteur Jenny Knapp ont aussi été maintenus en 2023, notamment via l'étude du typage moléculaire par les microsatellites EmsB pour les cas d'EA et le ring test annuel pour l'identification des échinococcoses par PCR. Par ailleurs, des échanges ont également eu lieu avec le professeur Adriano Casulli, délégué de l'OMS pour les maladies parasitaires et en particulier pour les échinococcoses, concernant le recensement de tous les cas européens d'EA depuis 1999.

Enfin, le LNRE a collaboré avec le service de communication institutionnelle du CHU de Liège pour la mise en place de projets de communication, notamment la page web dédiée aux activités du LNRE.

H. ACTIVITÉS ECHINO-LIÈGE

ECHINO-Liège est un groupe multidisciplinaire informel fondé en 2018 au CHU de Liège en réponse à l'augmentation du nombre de patients atteints d'échinococcose alvéolaire dans la région liégeoise, en particulier au CHU de Liège, hôpital de référence tertiaire. L'objectif principal d'ECHINO-Liège est d'améliorer la prise en charge spécialisée des patients atteints des différentes formes d'échinococcose. Le groupe rassemble des médecins du CHU de Liège, du CHR de la Citadelle, dont le Dr Benoit Pirotte, ainsi que des praticiens d'autres hôpitaux des provinces wallonnes. Il inclut des infectiologues, hépatologues, chirurgiens, radiologues, médecins nucléaristes, microbiologistes, anatomopathologistes et vétérinaires intéressés par les parasites de la faune sauvage et des animaux de compagnie. La coordination des réunions du groupe ECHINO-Liège est assurée par le LNRE et le Pr Olivier Detry supervise spécifiquement l'aspect clinique des cas présentés lors des réunions.

En 2023, le groupe ECHINO-Liège s'est réuni à trois reprises (le 22 mars, 13 septembre et 26 octobre) pour discuter des nouveaux cas cliniques, examiner les cas en cours de traitement et envisager des améliorations futures. Ces réunions, organisées en mode hybride (présentiel et distanciel), ont facilité la participation des membres du groupe ainsi que l'intervention de médecins d'autres provinces, désireux de soumettre des cas complexes pour bénéficier de l'expertise collective.

En 2023, une assistante médecin en chirurgie abdominale, Ysaline Wolf, a réalisé son travail de fin d'études sur l'échinococcose alvéolaire, sous la supervision du Pr Olivier Detry. Ce TFE portait sur l'échinococcose alvéolaire, en abordant à la fois la pathologie et sa prise en charge multidisciplinaire. Sur le plan de la communication, le Pr Olivier Detry a participé à l'organisation de la Journée Mondiale du Foie du 19 avril 2023 au CHU de Liège, en plus d'y intervenir pour aborder l'importance du diagnostic et de la gestion thérapeutique de l'échinococcose alvéolaire. Le programme détaillé de cette journée est disponible via le lien suivant : https://www.cancerologie.chuliege.be/jcms/c2_25898706/de/world-liege-liver-day

I. CONCLUSION

En 2023, les cas d'échinococcose kystique (20 cas) ont augmenté tandis que ceux d'échinococcose alvéolaire sont restés plus ou moins stables depuis 2022 (12 cas en 2022 et 10 cas en 2023). Cette hausse est liée à une augmentation du nombre de tests sérologiques et moléculaires réalisés et à une sensibilisation des médecins. Malgré une augmentation du nombre de laboratoires répondant à l'enquête lancée par Sciensano (23 réponses positives ou négatives en 2023 contre 11 en 2022), ce chiffre reste insuffisant, entraînant un sous-rapportage persistant. Des doublons de cas ont été observés, et certains cas non rapportés les années précédentes sont déclarés plus tard. Par exemple, en 2023, six cas précédemment diagnostiqués ont été signalés, démontrant ainsi que renforcer la surveillance épidémiologique permettra une meilleure évaluation de l'incidence belges des échinococcoses.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Wen, H., Vuitton, L., Tuxun, T., Li, J., Vuitton, D. A., Zhang, W., & McManus, D. P. (2019). Echinococcosis: advances in the 21st century. *Clinical microbiology reviews*, 32(2), e00075-18.
- [2] P. Deplazes et al., « Chapter Six - Global Distribution of Alveolar and Cystic Echinococcosis », in *Advances in Parasitology*, R. C. A. Thompson, P. Deplazes, et A. J. Lymbery, Éd., in and *Echinococcosis, Part A*, vol. 95. Academic Press, 2017, p. 315-493.
- [3] Présentation du Pr Annick Linden, ULiège, Symposium « L'échinococcose alvéolaire, vous connaissez ? », CHU Liège, 28/02/2023.
- [4] Detry OH. Endemic alveolar echinococcosis in Belgium? *Acta Gastroenterol Belgica* 2005;68:1–4.
- [5] Boulanger, Maxime, et al. "Évaluation des connaissances de l'Échinococcose alvéolaire réalisée auprès des médecins généralistes de la province de liège: impact d'une intervention formative." *Revue Médicale de Liège* (2023).
- [6] Rapport d'activité 2021 du LNRE, consulté le 22/08/23 : https://www.sciensano.be/sites/default/files/rapport_activites_lnr_2021_final_05062023_0.pdf.
- [7] Trachsel, D., Deplazes, P., & Mathis, A. (2007). Identification of taeniid eggs in the faeces from carnivores based on multiplex PCR using targets in mitochondrial DNA. *Parasitology*, 134(6), 911-920.
- [8] *Site de l'Organisation mondiale de la Santé, consulté le 22/07/2023 à partir du lien <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>.*
- [9] Boulanger, M., Léonard, P., EGREK, S., Detry, O., & Hayette, M. P. (2023). Évaluation des connaissances de l'Échinococcose alvéolaire réalisée auprès des médecins généralistes de la province de liège. *Revue Médicale de Liège*.
- [10] *Commission implementing decision (EU) 2018/945 on the communicable diseases and related special health issues ... Disponible sur : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018D0945&from=EN#page=19>, consulté le 24/06/24.*
- [11] Chiffres de la population belge par province et par commune, à la date du 1e janvier 2022. Disponible sur : https://www.ibz.rrn.fgov.be/fileadmin/user_upload/fr/pop/statistiques/population-bevolking-20220101.pdf, consulté le 15/07/2023.

- [12] Casulli, Adriano, et al. "Unveiling the incidences and trends of the neglected zoonosis cystic echinococcosis in Europe: a systematic review from the MEmE project." *The Lancet Infectious Diseases* (2023).
- [13] Rapport annuel 2013-2014 de ISP (consulté le 31/08/23): https://www.sciensano.be/sites/default/files/nrl_bacillus_report_zoonoses_et_maladies_a_transmission_vectorielle._rapport_annuel_2013_et_2014.pdf.
- [14] Knapp, Jenny, et al. "Assessment of use of microsatellite polymorphism analysis for improving spatial distribution tracking of *Echinococcus multilocularis*." *Journal of clinical microbiology* 45.9 (2007): 2943-2950.
- [15] Knapp J, Bart JM, Maillard S, Gottstein B, Piarroux R. The genomic *Echinococcus* microsatellite EmsB sequences: From a molecular marker to the epidemiological tool. *Parasitology* 2010. <https://doi.org/10.1017/S0031182009991612>.
- [16] Sacheli, Rosalie, et al. "Genetic diversity of *Echinococcus multilocularis* specimens isolated from Belgian patients with alveolar echinococcosis using EmsB microsatellites analysis." *Infection, Genetics and Evolution* 116 (2023): 105531.
- [17] Cambier, Audrey, et al. "Alveolar echinococcosis in southern Belgium: retrospective experience of a tertiary center." *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 37.6 (2018): 1195-1196..
- [18] JANSEN, F., CLAES, M., BAKKERS, E., et al. *Echinococcus multilocularis* in red foxes in North Belgium: Prevalence and trends in distribution. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 2020, vol. 22, p. 100470.