



LABORATOIRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE DE L'ECHINOCOCCOSE

Rapport d'activité Année 2021

*Centre Hospitalier Universitaire de Liège
Service de Microbiologie Clinique*

En collaboration avec EchinoLiège



LABORATOIRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE DE L'ÉCHINOCOCCOSE

Rapport d'activités 2021

Les auteurs et collaborateurs

- Marie-Pierre Hayette^{1, 2}
- Rosalie Sacheli¹
- Sabrina Egrek¹
- Olivier Detry²
- Philippe Léonard²
- Jean-Baptiste Giot²
- Tinne Lernout³
- Amber Litzroth³

1. Laboratoire national de référence de l'échinococcose, CHU Sart Tilman, Liège
2. Groupe Echino-Liège, Liège
3. Sciensano

Contacts

Laboratoire National de Référence



Marie-Pierre Hayette : mpayette@chuliege.be

Rosalie Sacheli : r.sacheli@chuliege.be

Sabrina Egrek : sabrina.egrek@chuliege.be

ECHINO-Liège



Olivier Detry : olivier.detry@chuliege.be

Philippe Léonard : philippe.leonard@chuliege.be

Jean-Baptiste Giot : jbgiot@chuliege.be



<http://echinococcose.be>

1	L'échinococcose : généralités	5
1.1.	Cycle parasitaire	5
1.1.1.	Echinococcus multilocularis	6
1.1.2.	Echinococcus granulosus	7
1.2.	Symptomatologie chez l'homme.....	7
1.3.	Diagnostic.....	8
1.3.1.	Imagerie médicale.....	8
1.3.2.	Sérologie	9
1.3.3.	Histologie	9
1.3.4.	Biologie moléculaire	9
1.4.	Traitement.....	9
2	Activités du Laboratoire National de Référence (LNR).....	11
2.1.	Caractéristiques et missions du LNR.....	11
2.2.	Tests diagnostiques utilisés par le LNR	11
2.2.1.	Tests sérologiques	12
2.2.2.	Tests de biologie moléculaire.....	13
2.3.	Démarche qualité	14
3	Surveillance épidémiologique de l'échinococcose en 2021, en Belgique	15
3.1.	Méthodologie	15
3.2.	Résultats	15
3.2.1.	Échinococcose alvéolaire	15
3.2.2.	Échinococcose kystique	18
3.2.3.	Communication des cas rapportés en 2021 à l'ECDC	21
3.2.4.	Évolution de l'échinococcose, 2015-2021	21
3.3.	Résumé des activités du LNR pour l'année 2021	22
3.4.	Discussion	23
4	Travaux de recherche, collaboration et communication.....	24
5	Activités d'Echino-Liège	26
6	Bibliographie.....	28

1 L'échinococcose : généralités

L'échinococcose est une zoonose provoquée par le stade larvaire d'un petit ténia faisant partie de la classe des cestodes, appartenant à la famille des Taeniidae et rattaché au genre *Echinococcus*. Cette maladie parasitaire se différencie principalement en deux formes en fonction de l'espèce impliquée: l'échinococcose alvéolaire (EA) et l'échinococcose kystique (EK), causées respectivement par *Echinococcus multilocularis* et *Echinococcus granulosus sensu lato* [1, 2]. On observe plus rarement, l'échinococcose néotropicale, provoquée par les espèces *E. vogeli* et *E. oligarthrus*, qui sont presque exclusivement rencontrées en Amérique centrale et Amérique du sud [1, 3].

D'un point de vue géographique, l'échinococcose kystique sévit particulièrement en Asie centrale, Amérique du Sud et Afrique de l'Est alors que l'échinococcose alvéolaire touche principalement l'Europe Centrale, l'Amérique du Nord et l'Asie Centrale [1]. La **figure 1** illustre la répartition géographique de l'*E. multilocularis* et *E. granulosus sensu lato*.

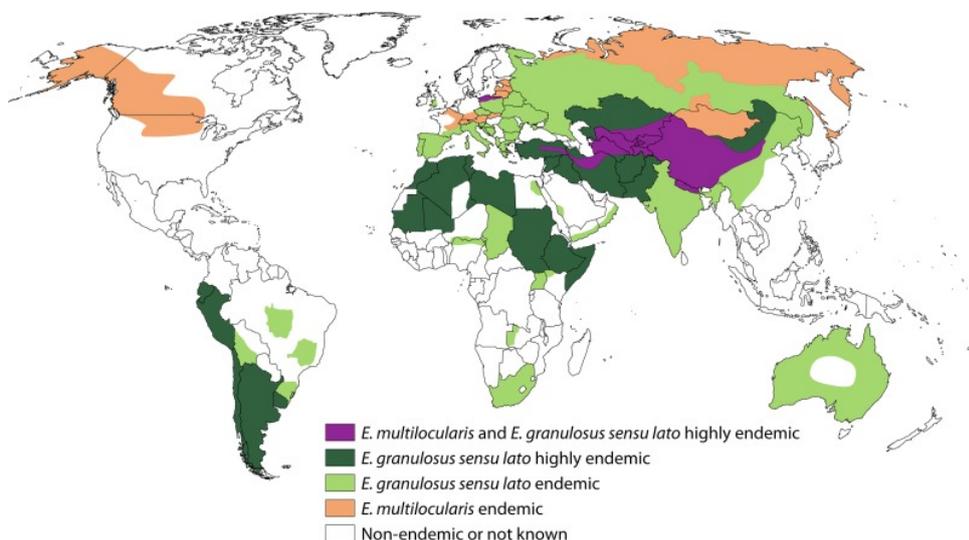


Figure 1 : répartition géographique d'*Echinococcus multilocularis* et *granulosus sensu lato*. [2]

Les différentes espèces d'échinocoque se distinguent par leur génétique, leur mode de vie, les hôtes qu'ils parasitent et leur zone de distribution géographique.

1.1. Cycle parasitaire

Le type d'échinococcose contracté dépend, d'une part, des hôtes ciblés par le cycle parasitaire et, d'autre part, de l'espèce impliquée. Les échinocoques sont de tous petits ténias de quelques millimètres de longueur, vivant à l'état adulte dans l'intestin de carnivores tels que les renards ou les chiens.

Le schéma de survie pour l'échinocoque est qualifié de cycle indirect (hétéroxène) suite à l'intervention de plusieurs hôtes dits intermédiaires (hébergent le stade larvaire) et définitifs (hébergent le ver). Les carnivores servent d'hôtes définitifs pour les ténias au stade adulte, tandis que leurs proies herbivores agissent comme hôtes intermédiaires pour le stade larvaire

(métacestodes). L'humain, quant à lui, ne fait pas partie du cycle normal du parasite et constitue un hôte accidentel. Autrement dit, sa présence constitue une voie sans issue qui empêche la transmission du parasite, mais constitue un terrain favorable au développement de la forme larvaire. Dans le cadre d'une greffe d'organe, la transmission interhumaine peut cependant avoir lieu. [2, 4]

1.1.1. *Echinococcus multilocularis*

En Belgique, le cycle de vie d'*E. multilocularis* est principalement sylvatique, ce qui implique le renard roux (*Vulpes spp.*) comme hôte définitif tandis que les petits rongeurs (*Arvicola terrestris* et *Microtus arvalis*) sont les hôtes intermédiaires principaux [5]. Les chiens et chats peuvent également être des hôtes définitifs.

Le cycle de vie du parasite se déroule principalement à l'état sauvage, et le ver sous sa forme adulte se trouve dans l'intestin d'un carnivore, le renard roux. Dans l'intestin, le parasite se développe entre les villosités et produit, à maturité, des œufs qui sont rejetés dans l'environnement via les fèces. Les petits rongeurs s'infestent en ingérant des matières végétales souillées par ces œufs. Les embryons hexacanthés (oncosphères) libérés dans l'intestin des rongeurs migrent vers d'autres organes, le plus souvent le foie où se développe la forme larvaire ou métacestode. Le cycle s'achève lorsque ces rongeurs deviennent la proie des carnivores. La transmission à l'homme, un hôte accidentel, se fait par la voie féco-orale lors de l'ingestion directe des œufs présents sur des aliments contaminés (fruits ou légumes souillés par les déjections animales de l'hôte définitif) ou directement par un contact avec le pelage d'un animal contaminé. [5, 6] La **figure 2** illustre le cycle sylvatique d'*E. multilocularis*.

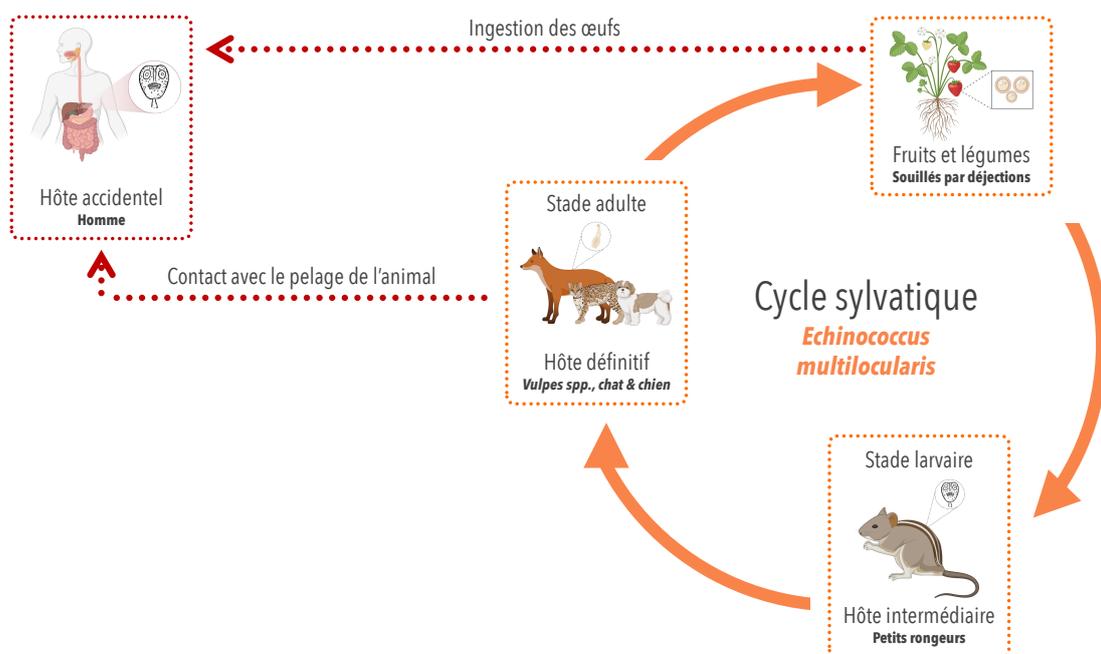


Figure 2: Le cycle sylvatique d'*Echinococcus multilocularis* (Sabrina Egrek).

1.1.2. *Echinococcus granulosus*

Le cycle de vie de l'*E. granulosus* se déroule entre un canidé, généralement le chien, jouant le rôle d'hôte définitif et un mammifère tel que le mouton, le cochon ou le cheval se comportant comme l'hôte intermédiaire. Le cestode adulte, se développant dans l'intestin grêle de l'hôte définitif, produit des œufs contenant des oncosphères infectieuses. Le segment du ver contenant ces œufs (proglottis) est libéré du tractus intestinal dans l'environnement via les selles du carnivore. Après l'ingestion des œufs par un animal hôte intermédiaire, un stade larvaire, le métacestode, se développe dans les organes internes comme le foie. Le cycle est bouclé lorsque l'hôte définitif se nourrit des abats des hôtes intermédiaires contenant le kyste hydatique. Accidentellement, l'homme peut s'infecter via un contact direct avec un animal contaminé ou indirectement en ingérant des aliments souillés par les selles de l'animal infectieux. [4] La **figure 3** illustre le cycle sylvatique d'*E. granulosus*.

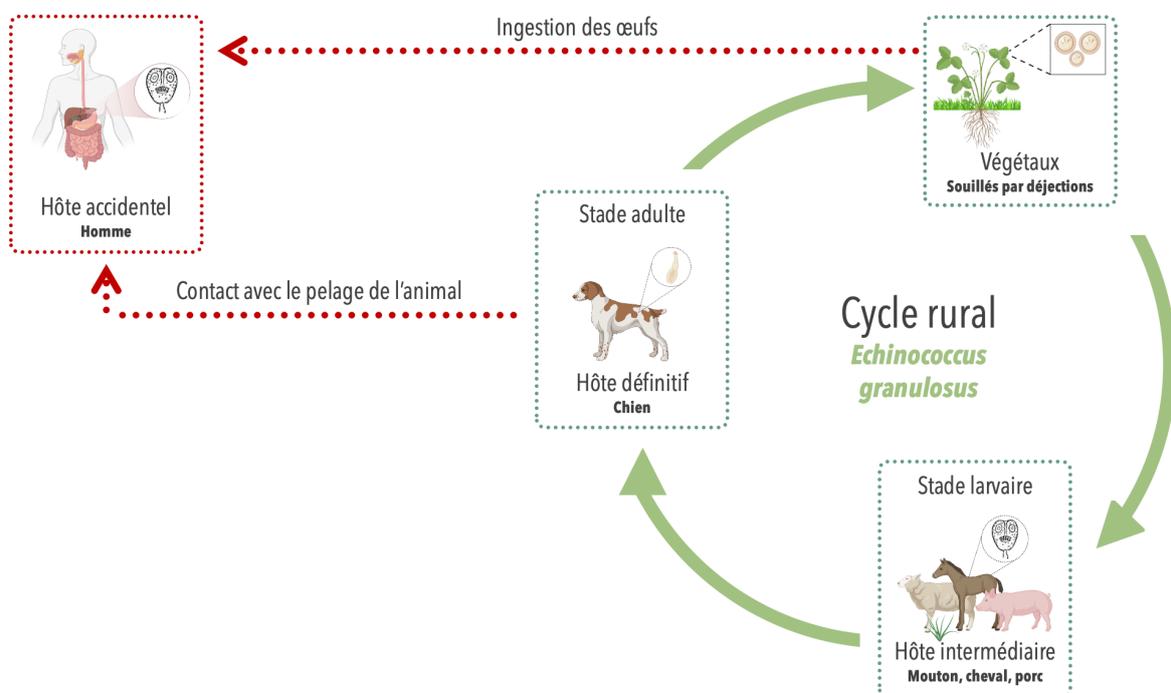


Figure 3 : Le cycle d'*Echinococcus granulosus* (S. Egrek).

1.2. Symptomatologie chez l'homme

Dans un premier temps, l'homme infecté reste asymptomatique pendant une durée variable évoluant de 5 à 15 ans [6]. L'échinococcose, quelle que soit sa forme, est une maladie localisée majoritairement au niveau du foie. Néanmoins, dans certains cas, le parasite peut atteindre le cerveau ou les poumons ou encore d'autres localisations extra-hépatiques, et se manifester par des symptômes tels des vomissements, des maux de tête, une toux chronique ou encore des essoufflements [7]. Les symptômes, ainsi que le caractère virulent du parasite sont fortement influencés par l'organe atteint, mais aussi le statut immunitaire du patient [2].

Plus précisément, **l'échinococcose alvéolaire** se manifeste principalement par des lésions hépatiques, parfois confondues avec une néoplasie. En effet, les contours mal délimités des lésions peuvent évoquer un processus tumoral. Les patients atteints de cette forme, qualifiée de la maladie du renard, restent soit asymptomatiques et la découverte de la maladie est fortuite ; soit, ils présentent des symptômes non-spécifiques comme une hypertension portale, des douleurs abdominales, un ictère ou un amaigrissement [1, 7].

En ce qui concerne **l'échinococcose kystique**, elle se caractérise également par la présence de kystes majoritairement localisés dans le foie. Ces derniers sont à l'origine de symptômes non spécifiques qui incluent la perte de poids, des douleurs abdominales et des vomissements. L'apparition de symptômes pour cette forme d'échinococcose est qualifiée de multifactorielle suite à des signes cliniques qui dépendent de la localisation et de la taille des kystes, ainsi que de la pression exercée par ceux-ci sur les organes avoisinants. La rupture des kystes peut également mener à une réaction anaphylactique causée par la libération du liquide hydatique [8, 9].

1.3. Diagnostic

En raison des symptômes aspécifiques, la plupart des patients souffrant d'échinococcose sont diagnostiqués de façon fortuite. Par ailleurs, la longue période d'incubation complexifie le diagnostic précoce, celui-ci étant nécessaire pour une prise en charge rapide. Les premiers signes de la maladie, se manifestant des années après l'infection, témoignent dès lors d'un stade souvent avancé de la maladie.

Souvent utilisés en association, l'imagerie médicale, la sérologie, l'histologie et la biologie moléculaire sont les outils actuellement utilisés pour le diagnostic d'une échinococcose [7].

1.3.1. Imagerie médicale

Les techniques d'imagerie médicale telles que l'échographie, la tomodensitométrie (CT) et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) sont des outils visuels non-invasifs mettant en évidence les organes touchés par le parasite, mais aussi l'ampleur et les caractéristiques des lésions parasitaires. Ces méthodes ont ainsi la particularité de fournir des informations cliniques importantes, utiles notamment pour la classification des échinococcoses et leur prise en charge. Le groupe de travail informel sur l'échinococcose (WHO-IWEG), fondé en 1985, a établi une classification pour l'échinococcose kystique et alvéolaire. La première se fondant sur la morphologie du kyste, permet de classifier en différents stades l'échinococcose kystique, ce qui atteste de la viabilité de la lésion [9]. À propos de la forme alvéolaire, la classification, dérivée d'une catégorisation élaborée pour les tumeurs (TNM), qualifie l'évolution de la maladie en se fondant sur 3 paramètres : la localisation de la lésion, l'invasion des organes voisins et la présence de métastase. Celle-ci est nommée la classification PNM (P : localisation et extension de la lésion primaire au sein du parenchyme hépatique, N : invasion des organes voisins, M : métastases à distance) [10].

1.3.2. Sérologie

La sérologie est un diagnostic indirect qui consiste à mettre en évidence dans le sérum du patient les anticorps de type IgG. La différenciation sérologique des deux espèces est assurée par l'utilisation des antigènes spécifiques à chaque espèce. Dans le cas de l'échinococcose alvéolaire, les tests sérologiques le plus performants détectent les IgG dirigés contre des protéines recombinantes telles que Em2 et Em18 tandis que le diagnostic d'*E. granulosus* repose sur la détection des IgG dirigés contre les antigènes 5 et B, contenus dans un mélange d'antigènes bruts issus du liquide hydatique. [7, 2] Au laboratoire, différentes méthodes sérologiques peuvent être employées, comme les immuno-essais (ELISA) ou l'hémagglutination indirecte, utilisés comme tests de dépistage. Ces tests sont très sensibles mais peu spécifiques, et nécessitent une confirmation par un test de haute spécificité tel qu'un immunoblot (Western Blot).

1.3.3. Histologie

L'analyse histologique consiste à visualiser directement le parasite (scolex) ou une des composantes kystiques à partir de biopsies ou de pièces chirurgicales. La coloration de référence utilise l'acide périodique de Schiff (PAS). Seule la visualisation de scolex permet de prouver l'existence d'une échinococcose. En cas d'absence de scolex (rares dans l'EA), le diagnostic histologique doit être complété par des analyses moléculaires pour la confirmation de l'espèce parasitaire impliquée ou de la nature parasitaire de la lésion.

1.3.4. Biologie moléculaire

Les tests PCR permettent de poser un diagnostic de confirmation par la détection de séquences de gènes spécifiques aux deux espèces d'échinocoque et complexe d'espèces. Ces méthodes se font généralement à partir d'une biopsie (fraîche ou incluse en paraffine après formolisation) qui subira au préalable une étape d'extraction de l'ADN parasitaire. Les techniques de biologie moléculaire sont également employées à partir d'autres types de prélèvements, comme la bile, le liquide pleural ou encore un frottis.

1.4. Traitement

La mise en œuvre d'un traitement nécessite au préalable l'évaluation de l'activité métabolique et l'étendue des lésions. Si celles-ci ne sont pas actives métaboliquement, et de faible taille, seul un suivi est réalisé. Dans les cas d'activité métabolique mise en évidence, les traitements employés associent la chirurgie et un traitement médicamenteux à base d'imidazolés (albendazole, et parfois mébendazole en cas d'intolérance à l'albendazole).

À ce jour, la prise en charge chirurgicale reste le traitement de référence pour l'**échinococcose kystique**. Les techniques chirurgicales employées vont de l'ablation kystique partielle à l'ablation totale (kystectomie), voire à la résection partielle du foie (hépatectomie). Ces procédures mènent souvent à une guérison complète sans récurrence. Dans le cas où les kystes sont inopérables, la méthode ponction, aspiration, injection, ré-aspiration (PAIR) est parfois utilisée [2].

En ce qui concerne la **forme alvéolaire**, la résection chirurgicale constitue également le traitement curatif et est associée à un traitement par albendazole pendant 2 ans après l'opération pour diminuer le risque de rechutes. Si la chirurgie est impossible à cause de l'étendue des lésions, le patient est mis sous traitement médicamenteux à vie. La transplantation hépatique est également envisageable [2, 11].

Actuellement, l'albendazole (Zentel®), un dérivé benzimidazolé est l'antiparasitaire standard contre l'échinococcose, tandis qu'un analogue, le mébendazole peut être utilisé comme alternative pour les patients intolérants à celui-ci. Ces médicaments antihelminthiques agissent sur le cytosquelette des helminthes en empêchant la formation des microtubules par l'inhibition de la tubuline. Leur action bloque ainsi l'absorption du glucose, une étape essentielle à la croissance du parasite. Néanmoins, cette approche thérapeutique est qualifiée de parasitostatique, car son effet neutralisant n'élimine pas totalement le parasite. C'est pourquoi le médicament est généralement prescrit à vie ou pendant une longue durée [7, 12].

2 Activités du Laboratoire National de Référence (LNR)

Le laboratoire de Microbiologie du CHU de Liège a été désigné depuis le 18 juin 2021 comme Laboratoire National de Référence (LNR) pour l'échinococcose alvéolaire. Le LNR était jusqu'en 2021 sous la direction du Professeur Carine Truyens, du Service de parasitologie à l'ULB, qui pour des raisons de restructuration des activités de l'ULB, n'était plus autorisée à prester. Le LNR continue cependant à collaborer avec le professeur Truyens, notamment via le suivi des patients. Par le biais de ses missions, le LNR participe activement à la lutte contre cette maladie.

2.1. Caractéristiques et missions du LNR

Le LNR est un laboratoire de référence qui est désigné par Sciensano en tant que tel, mais qui n'est pas désigné comme Centre National de Référence (CNR) et donc ne reçoit aucun subside de l'état. Il doit fonctionner comme les autres laboratoires de biologie clinique pour ce qui concerne le remboursement des tests.

Les principales missions du LNR sont :

- le diagnostic de l'échinococcose alvéolaire et kystique par techniques sérologiques et moléculaires ;
- la confirmation du diagnostic établi par un autre laboratoire de biologie clinique ;
- la confirmation d'un diagnostic histologique suggéré par un laboratoire d'anatomopathologie ;
- la surveillance épidémiologique sur l'ensemble du territoire belge ;
- la participation à l'enrichissement des connaissances liées à la maladie ;
- le développement de nouvelles méthodes de diagnostic ou de typage ;
- la collaboration avec d'autres laboratoires de référence ;
- la participation à des projets de recherche sur le sujet ;
- la communication de résultats de surveillance ou résultats/études cliniques.

Par ailleurs, le LNR travaille en collaboration avec le groupe multidisciplinaire, ECHINO-Liège. Ce dernier, associant des médecins et vétérinaires, se spécialise plus particulièrement dans la prise en charge de l'échinococcose alvéolaire. Le LNR est également en contact étroit avec le CNR échinococcose de Besançon (France) et le laboratoire de la faune sauvage de Nancy – Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail) (France).

2.2. Tests diagnostiques utilisés par le LNR

2.2.1. Tests sérologiques

Au LNR, plusieurs types de tests sérologiques sont utilisés en parallèle, à savoir des tests de dépistage (méthodes immunoenzymatiques), de confirmation (Western Blot) et de suivi spécifique de l'EA (méthode immunoenzymatique). Ces tests sont réalisés à une **fréquence d'une fois par semaine**.

1) Test de dépistage pour EA : détection des IgG anti-*Echinococcus multilocularis*

Un test ELISA est utilisé au LNR 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 LNR a établi une zone grise plus large que celle recommandée par le fabricant, à savoir tout résultat **> 0.6 et < 1.1** est considéré comme étant « douteux » et une valeur **≥ 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.

2) Test de dépistage pour EK : détection des IgG anti-*Echinococcus granulosus*

Un test ELISA (Ridascreen Echinococcus IgG, R-biopharm)) utilisant des antigènes bruts d'*E. granulosus* est utilisé pour le dépistage d'une EK. Les résultats sont exprimés sous forme d'index avec une zone grise comprise entre **> 0.9 et < 1.1** ; un résultat positif est **≥ 1.1**. Dû à 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.

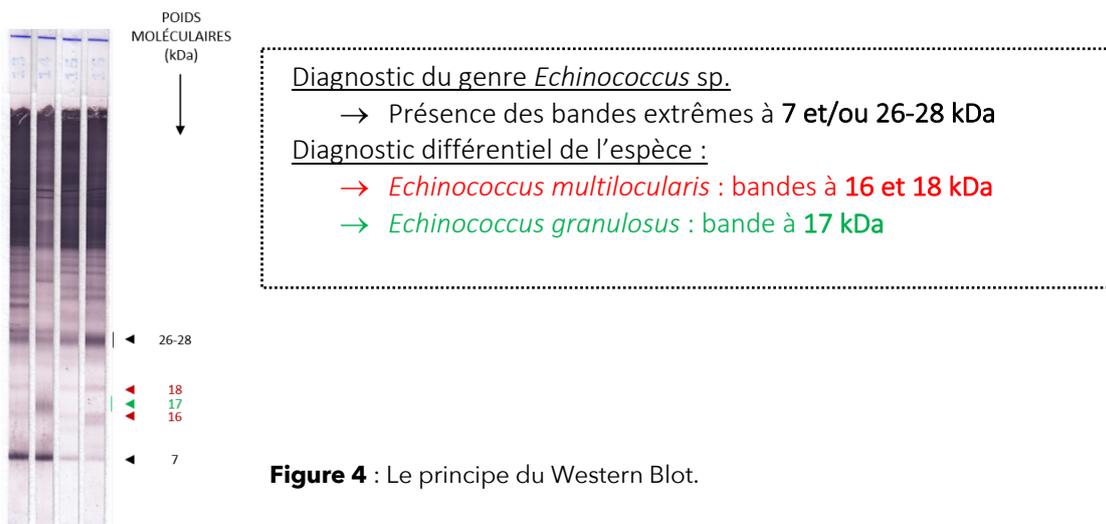
A noter qu'une sérologie fortement positive de façon isolée (Western Blot négatif et ELISA positif) évoque une réaction croisée avec une autre helminthiase. Il est alors nécessaire de compléter l'analyse avec d'autres sérologies parasitaires (ascaris, ténia, anguillule) selon les cas.

3) Test de confirmation : le Western Blot (WB)

Le western Blot (WB) est un **test qualitatif**, systématiquement réalisé pour confirmer un résultat positif ou équivoque obtenu par les tests de dépistage classique tels que les tests de screening ELISA. Cette méthode a la particularité d'être plus spécifique par rapport aux méthodes immunoenzymatiques qui sont, quant à elles, plus sensibles.

Les antigènes, spécifiques à *E. granulosus*, *E. multilocularis* et communs au genre *Echinococcus sp.*, sont immobilisés à la surface de la membrane de nitrocellulose par électro-transfert. Ceux-ci sont séparés de manière électrophorétique en fonction du poids moléculaire. Après l'incubation du sérum humain, les IgG spécifiques à l'un des antigènes présents forment un complexe antigène-IgG dont l'interaction est mise en évidence par le conjugué phosphatase alcaline anti-IgG humaines. De cette façon, ces complexes immuns sont révélés sous la forme

de bandes transversales violettes. L'interprétation des bandelettes est ainsi rendue en fonction du poids moléculaire des bandes. La **figure 5** illustre le principe du Western Blot.



4) Test de suivi pour EA

Le test ELISA, employé pour le screening de l'*E. multilocularis*, est également utilisé pour le suivi des patients atteints d'une échinococcose alvéolaire et sous traitement par benzimidazolés. Il détecte les IgG anti-Em18, témoin d'une activité parasitaire.

Ce suivi, a pour intérêt soit d'évaluer l'efficacité du traitement afin de détecter une éventuelle reviviscence de l'infection soit de suivre un patient dont les lésions sont à priori calcifiées et sans activité métabolique parasitaire. Une évolution favorable est validée lorsque l'index est inférieur à 0.6. Toute élévation doit faire l'objet d'une nouvelle évaluation par imagerie.

2.2.2. Tests de biologie moléculaire

Au LNR, deux techniques PCR multiplexes sont actuellement utilisées pour la détection simultanée d'*E. granulosus* et de *E. multilocularis*. La **PCR multiplexe en temps réel**, est celle utilisée en première ligne pour la détection simultanée d'*E. multilocularis* et *E. granulosus sensu stricto*. Celle-ci a été développée et validée par le laboratoire de Microbiologie du CHU de Liège. Elle cible les séquences spécifiques d'*E. granulosus* à savoir un gène proche de *cox2* et un gène codant pour la NADH déshydrogénase 3 d'*E. multilocularis*.

En cas de négativité, une PCR classique ciblant simultanément *E. multilocularis* et *E. granulosus sensu lato* est réalisée (**PCR multiplex classique** décrite par Trachsel et al. [13]). Cependant, la PCR de Trachsel ne permettant pas une discrimination précise de la sous espèce d'*E. granulosus*, un séquençage moléculaire est ainsi systématiquement réalisé en complément. Les techniques PCR sont réalisées **quotidiennement** au LNR **du lundi au vendredi**.

2.3. Démarche qualité

Le laboratoire de Microbiologie clinique du CHU de Liège met actuellement en place un système de qualité sous la norme ISO 15189 pour le LNR. Celle-ci se fonde sur la rédaction de procédures opératoires et la création d'un dossier de validation pour toutes les techniques proposées par le LNR. Ce dernier évalue les performances des méthodes, c'est-à-dire l'exactitude, la répétabilité, la fidélité intermédiaire, la robustesse et la limite de détection. La gestion du matériel, des réactifs et consommables sont également évaluées afin de garantir la fiabilité de ceux-ci.

Les méthodes de biologie moléculaire (PCR multiplexe en temps réel et la PCR multiplexe classique) ont déjà fait l'objet d'une validation de méthode en 2021. En ce qui concerne les méthodes sérologiques, elles sont en cours de validation pour l'année 2022.

Le LNR participe annuellement à un contrôle de qualité externe en collaboration avec l'Université de Franche Comté (Besançon) dans le but de valider les analyses proposées. Ce contrôle concernait uniquement les techniques de biologie moléculaire en 2021 et 100% des résultats étaient comparables entre les 2 laboratoires.

3 Surveillance épidémiologique de l'échinococcose en 2021, en Belgique

3.1. Méthodologie

La surveillance épidémiologique, organisée par le Laboratoire National de Référence pour l'échinococcose, repose sur la collecte des cas confirmés durant l'année 2021 pour l'une ou l'autre forme d'échinococcose. 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 [14] :

- l'analyse histologique est compatible avec un cas d'*E. multilocularis* ou *granulosus* (par ex. visualisation directe du protoscolex dans le liquide du kyste) ;
- la mise en évidence dans les prélèvements chirurgicaux de la morphologie caractéristique d'un *E. granulosus* ;
- la détection des lésions parasitaires par les techniques d'imagerie médicale suivi de la confirmation par un test immunologique ou PCR ;
- la détection des anticorps sériques par le biais de la 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 (European Center for Disease Control and Prevention). Cette collecte a été réalisée par le biais d'un formulaire envoyé à tous les laboratoires belges grâce à la collaboration de Sciensano. De plus, certains laboratoires ont également demandé à leurs infectiologues s'ils avaient recensé des cas non détectés par la sérologie. Seuls quelques laboratoires ont répondu positivement comme les laboratoires de l'Institut de médecine tropicale, de l'hôpital Erasme, du Centre Hospitalier de Mont-Godinne, de la KUL, de l'hôpital universitaire de Gand, des hôpitaux de la province de Liège (Citadelle et CHC Mont Légia) et de l'hôpital de Genk. Enfin, les cas pris en charge au CHU de Liège étaient automatiquement répertoriés.

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.

3.2. Résultats

3.2.1. Échinococcose alvéolaire

En 2021, **6 nouveaux cas d'échinococcose alvéolaire** ont été rapportés sur l'ensemble du territoire belge. Parmi ces cas, deux d'entre eux sont des non-résidents belges (Luxembourg). De plus, tous les cas d'EA recensés en 2021 étaient vivants lors du rapportage des données épidémiologiques.

▪ Répartition selon le sexe et l'âge

Parmi les 6 cas d'échinococcose alvéolaire rapportés en 2021, les hommes représentent 50% (n=3) des cas, tout comme les femmes. Le sexe ratio M/F pour ce groupe est 3/3 et l'âge médian au moment du diagnostic est de 64 ans (58 à 78 ans). Alors que ce ratio indique une prévalence identique entre les deux sexes, les données renseignées par Cambier *et al.* [15] sur les 22 cas d'EA enregistrés entre 1999 et 2018 au CHU de Liège, montre que les hommes sont plus touchés par la maladie (sexe ratio M/F est de 14/8). L'âge médian est, quant à lui, légèrement inférieur à celui spécifié par Cambier *et al.* (69 ans) avec un intervalle de 34 à 85 ans.

▪ Répartition selon la zone géographique

Les patients atteints de l'EA résident exclusivement en région wallonne pour la Belgique (67%), à l'exception de deux cas en provenance du Grand-Duché du Luxembourg. La **figure 9** illustre la répartition des cas rapportés en 2021 selon les localités. Les deux cas en provenance du Grand-Duché du Luxembourg ne sont pas présents sur la carte.

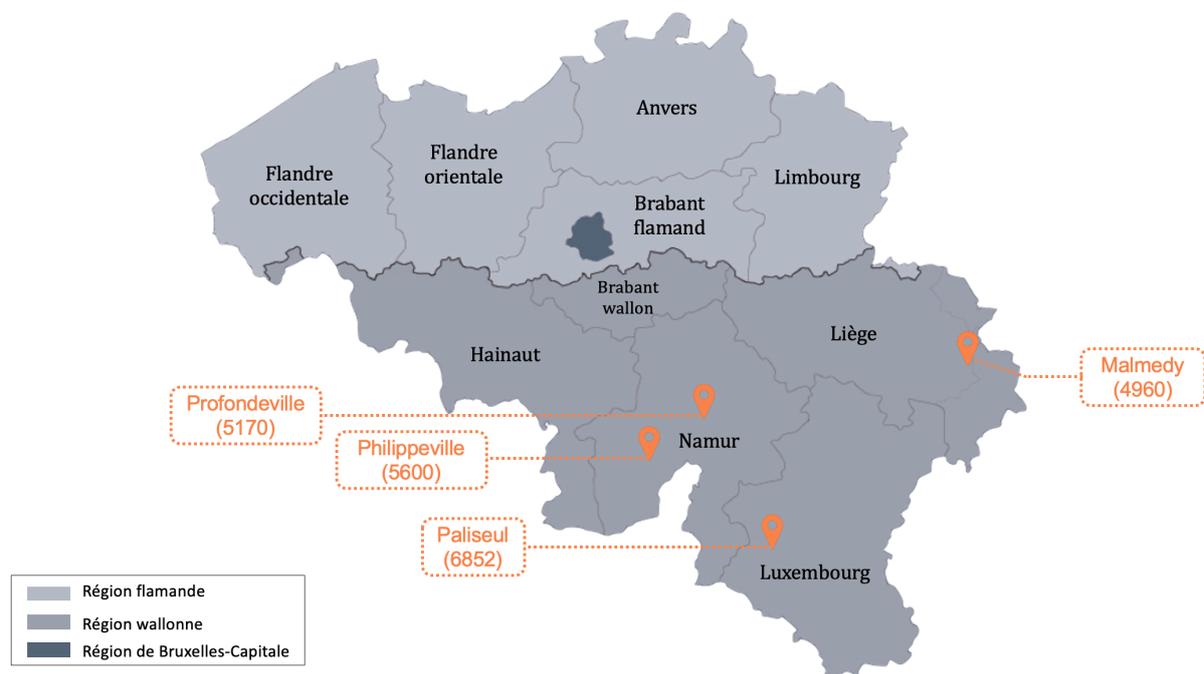


Figure 5 : répartition des cas d'EA belges en fonction des localités.

▪ Répartition selon les méthodes de diagnostic employées

Le **tableau 1** reprend les méthodes utilisées dans le diagnostic des **6 cas d'EA rapportés en 2021**, ainsi que le résultat (positif, douteux, négatif) associé à chaque test.

Parmi les 6 patients,

- 4 patients ont simultanément bénéficié d'une analyse par **PCR** et **sérologie**.
- 5 patients ont bénéficié d'une **PCR** qui était positive dans tous les cas (100% sensibilité).
- 5 patients ont bénéficié d'une **sérologie** qui était positive dans tous les cas pour le **genre *Echinococcus sp.*** Cependant, il a été observé :
 - o une réaction aspécifique pour le cas n°2 (Western Blot positif à *E.g* et ELISA *E.m*);
 - o un résultat positif isolé par Western Blot pour le cas n°6 (ELISA *E.m* négatif et Western Blot positif pour *Echinococcus sp.*).
 - o un patient (cas n°4) a uniquement été diagnostiqué par sérologie (PCR non réalisée). Malgré un résultat douteux lors du screening par ELISA (résultat en zone grise), le résultat a été confirmé par Western Blot pour *Echinococcus sp.*

	Les méthodes utilisées avec résultats					Diagnostic établi/confirmé par le LNR	Conclusion
	PCR	ELISA <i>E.m</i>	Western Blot (WB)				
			<i>E.m</i>	<i>E.g</i>	<i>E. sp</i>		
Cas 1	■	■		■		✓	Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> ▪ PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> ▪ Sérologie en défaut : présence d'une réaction croisée avec les anticorps anti-<i>E.g</i> (bande 17 kDa au Western Blot). Test réalisé à l'ULB.
Cas 2	■	■			■	✓	Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> ▪ PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> ▪ Sérologie concluante : Western Blot positif pour <i>Echinococcus sp.</i>
Cas 3	/	■			■	✓	Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> ▪ Sérologie concluante : malgré un résultat douteux pour ELISA <i>E.m</i> (zone grise), le résultat est confirmé par Western Blot (7kDa) ▪ PCR non réalisée (PET SCAN Négatif)
Cas 4	■	■		/		✓	Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> ▪ PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> ▪ Sérologie concluante (faite au Luxembourg)
Cas 5	■	■			■	✓	Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> ▪ PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> ▪ Sérologie concluante: Western Blot positif pour <i>Echinococcus sp.</i> (bande 7kDa)
Cas 6	■	/		/		✗	Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> ▪ PCR concluante: positive pour <i>E.m</i> ▪ Sérologie inconnue

Tableau 1 : les méthodes employées pour le diagnostic des 6 cas d'EA rapportés en 2021 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



CONCLUSION

Dans le cadre du diagnostic d'une échinococcose alvéolaire, la sérologie associant ELISA et Western Blot a montré une **sensibilité** atteignant **100%** pour le diagnostic du **genre *Echinococcus sp.* (5/5 cas)** et une sensibilité de **20%** pour la détection de **l'espèce multilocularis (1/5 cas)**. Un cas reste cependant inexpliqué avec un Western Blot positif pour *E.g* malgré la présence d'une EA. Aussi bien l'ELISA que le Western Blot ont permis, de façon isolée, un diagnostic dans **83%**. En ce qui concerne la PCR, elle a permis de détecter 100% des cas testés (**5/5 cas**).

■ Localisation des lésions et traitement

Parmi les 6 cas rapportés en 2021 :

- Un total de 5 cas (cas n° 2, 3, 4, 5 et 6) ont une localisation strictement hépatique.
- Localisation non précisée pour le cas n°7.

Pour les cas n° 2, 3, et 6 une exérèse chirurgicale a été réalisée en association avec un traitement par l'albendazole pendant 2 ans. Le patient du cas n° 4 n'a pas été traité mais il bénéficie néanmoins d'un suivi sérologique et par imagerie médicale. Pour les cas n° 5 et 7, aucune donnée n'est disponible.

3.2.2. Échinococcose kystique

En 2021, **10 nouveaux cas d'échinococcose kystique** ont été rapportés sur l'ensemble du territoire belge. Parmi ces cas, un d'entre eux est un non-résident belge (Pays-Bas). De plus, tous les cas d'EK recensés en 2021 étaient vivants lors du rapportage des données épidémiologiques.

■ Répartition selon le sexe et l'âge de diagnostic

Contrairement à la forme alvéolaire, la forme kystique se manifeste dans une population plus jeune avec un âge variant de 7 à 74 ans (âge médian =43 ans). Pour ce groupe, le sexe ratio M/F est de 8/2 avec une prévalence plus élevée chez les hommes (80 %). Les femmes, quant à elles, représentent 20 % (n=2) des cas d'échinococcose kystique confirmés en 2021.

■ Répartition selon la zone géographique

Parmi les 10 cas d'EK rapportés en 2021, 50% (n=5) et 40% (n=4) résident respectivement en Flandre et en Wallonie. Un cas diagnostiqué en Belgique est cependant un non-résident belge (Pays-Bas). Dans la mesure où *E. granulosus* n'est à priori pas endémique en Belgique, le lieu de résidence a peu d'importance dans l'évaluation de la situation si ce n'est qu'il permet de

voir où se concentrent les populations infectées. La **figure 6** illustre la répartition des cas belges rapportés en 2021 selon les localités. Le cas en provenance des Pays-Bas n'est pas représenté sur la carte.



Figure 6 : Répartition des cas d'EK belges rapportés en 2021 selon les localités.

■ Répartition selon les pays probablement à l'origine de la contamination

Pour l'année 2021, tous les cas d'échinococcose kystique ont été acquis à l'étranger avec 30% en provenance de la Turquie (3 cas) et 30% du Maroc (3 cas). Les autres cas ont potentiellement été infectés en Tunisie (10%, 1 cas), Bulgarie (10%, 1 cas), Roumanie (10%, 1 cas) et au niveau des pays du Moyen-Orient comme Kuwait et/ou Dubai (10%, 1 cas).

■ Répartition selon les méthodes de diagnostic employées

Le **tableau 3** reprend les méthodes utilisées dans le diagnostic des 10 cas d'EK rapportés en 2021, ainsi que le résultat (positif, douteux, négatif) associé à chaque test.

Parmi les 10 patients,

- 2/10 patients ont uniquement été diagnostiqués par PCR. Les résultats étaient concluants.
- 1 patient a simultanément bénéficié d'une analyse par **PCR et sérologie**. Les résultats de la PCR et sérologie étaient concluants.
- 5 cas ont bénéficié d'une sérologie qui était positive dans 100% des cas. Alors que trois patients (cas n°1, 3 et 5) présentaient des résultats concluants pour les tests sérologiques, les deux autres présentaient une sérologie en défaut à savoir :

- o une réaction croisée a été mise en évidence pour le cas n°4 qui était positif aux deux tests de screening Em et Eg. La spécificité de l'espèce présente a été apportée par le Western Blot.
 - o Pour le cas n°6, la spécificité du résultat obtenu par ELISA n'a pas été confirmée par Western Blot (résultat négatif).
- Les méthodes utilisées pour le diagnostic des autres cas sont inconnues.

	Les méthodes utilisées avec résultats					Diagnostic établi/confirmé par le LNR	Conclusion
	PCR	ELISA <i>E.m</i>	ELISA <i>E.g</i>	Western Blot (WB)			
				<i>E.m</i>	<i>E.g</i>	<i>E. sp</i>	
Cas 1	/	/	■		■		✓ Diagnostic : sérologie concluante
Cas 2	■	/	/		/		✓ Diagnostic : PCR concluante positive pour <i>E.g</i>
Cas 3	■	/	■			■	✓ Diagnostic : ▪ PCR concluante : positive pour <i>E.g</i> ▪ Sérologie concluante
Cas 4	/	■	■		■		✓ Diagnostic : sérologie en défaut réaction croisée avec les anticorps anti- <i>E.m</i>
Cas 5	/	■	■		■		✓ Diagnostic : sérologie concluante
Cas 6	/	■	■		■		✓ Diagnostic : sérologie positive dont la spécificité n'a pas été confirmée par Western Blot (WB négatif)
Cas 7	/	/	/		/		✗ Méthode diagnostique non précisée
Cas 8	/	/	/		/		✗ Méthode diagnostique non précisée
Cas 9	■	/	/		/		✗ Diagnostic : PCR concluante positive pour <i>E.g</i>
Cas 10	/	/	/		/		✗ Méthode diagnostique non précisée

Tableau 2 : les méthodes employées pour le diagnostic des 10 cas d'EK rapportés en 2021 et les résultats obtenues.

Légende :

E.m: *E. multilocularis*

E.g: *E. granulosus*

E.sp.: *E. species*

■ Résultat positif

■ Résultat douteux

■ Résultat négatif

/ : non réalisé ou inconnu

 **CONCLUSION**

Dans le cadre du diagnostic d'une échinococcose kystique, la sérologie a été davantage utilisée (5 cas sur 10) comparé à la PCR (3 cas sur 10). Cette observation paraît logique eu égard au risque de dissémination suite à une ponction à l'aiguille.

La sérologie associant ELISA *E.g* et Western Blot montre une **sensibilité de 80%** pour le diagnostic du genre *Echinococcus* (**4/5 cas**). Trois cas sur 5 ont été confirmés pour l'espèce *E.m* par Western Blot (**60%**). Une réaction croisée avec l'ELISA *E.m* et un Western Blot limité à *Echinococcus sp.* ont été observées.

3.2.3. Communication des cas rapportés en 2021 à l'ECDC

Le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) a pour mission principale le renforcement de la protection contre les maladies infectieuses en Europe. Afin d'évaluer l'évolution des cas d'échinococcose, les chiffres belges sont reportés depuis 2015. En ce qui concerne les cas recensés en 2021 lors de la surveillance épidémiologique, tous les cas ont été rapportés à l'ECDC à l'exception de 5 cas d'EK (5/10 cas) pour lesquels la date du premier diagnostic était antérieure à 2021. Pour ces cas, aucune donnée n'est disponible sur un éventuel rapportage avant 2021 dans le pays de diagnostic et dans le but de ne pas fausser la tendance, ils n'ont pas été comptabilisés.

3.2.4. Évolution de l'échinococcose, 2015-2021

En 2021, 17 nouveaux cas d'échinococcose ont été rapportés sur l'ensemble du territoire belge, dont 12 par le Laboratoire National de Référence (CHU de Liège) et 5 par les autres laboratoires belges. Parmi les patients diagnostiqués d'une d'échinococcose, sept d'entre eux présentent la forme alvéolaire tandis que la forme kystique s'est manifestée chez 10 patients. La **figure 7** illustre l'évolution épidémiologique de l'échinococcose alvéolaire et kystique **depuis l'année 2015, qui est l'année qui marque le début du recensement des cas sur tout le territoire**. Afin d'évaluer la tendance épidémiologique la plus représentative de la situation belge, seuls les cas résidant en Belgique ont été pris en compte. Ainsi, pour l'année 2021, 5 cas d'EA et 9 cas d'EK ont été enregistrés en Belgique. Bien que le nombre de cas recensés soit relativement constant ces dernières années, on note cependant une baisse pour EA et EK en 2020 et 2021, qui peut s'expliquer en partie par une diminution des consultations médicales durant la période de COVID-19. Les chiffres montrent tout de même une tendance générale à la hausse depuis l'année 2015. Une augmentation de 25% et 80% sont respectivement observées pour l'échinococcose alvéolaire et l'échinococcose kystique, entre l'année 2015 et 2021.

Parmi les 12 cas rapportés par le LNR en 2021, un des prélèvements provenant du CHU UCL Namur (Mont-Godinne) était destiné à une confirmation de diagnostic alors que les autres étaient des cas envoyés au LNR pour un dépistage.

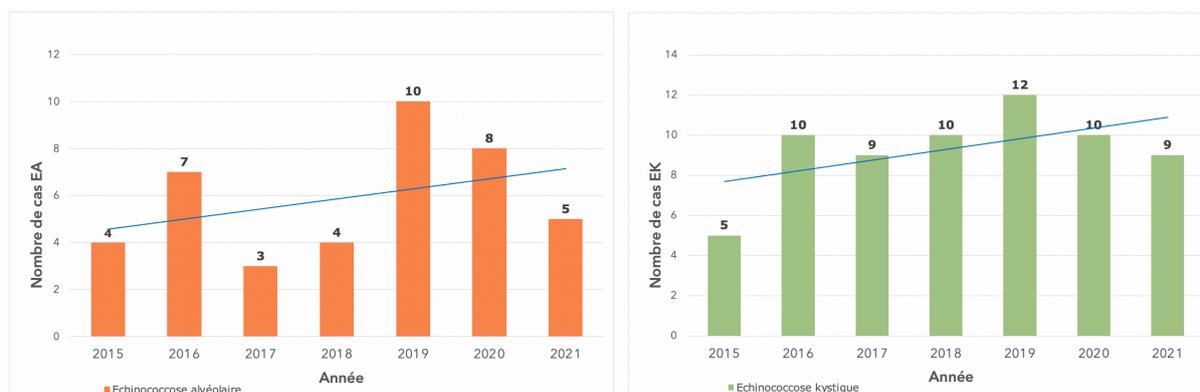


Figure 7 : Évolution des cas d'échinococcose alvéolaire (orange) et kystique (vert) en Belgique, 2015-2021.

3.3. Résumé des activités du LNR pour l'année 2021

Les activités du LNR pour l'année 2021 représentent un total de **504 tests sérologiques** sur 213 patients et **72 PCR** sur 43 patients pour le diagnostic de l'échinococcose.

La **figure 8** illustre ces activités 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 LNR. Ces résultats concernent aussi bien les nouveaux cas d'échinococcose diagnostiqués en 2021 que le suivi de patients déjà diagnostiqués. Pour les années à venir, ces chiffres constitueront un point de comparaison avec les données des années futures. Ceci dans le but d'en déterminer la tendance au fil des années et ainsi l'impact de la sensibilisation des cliniciens face à cette parasitose. Comme les techniques sérologiques et PCR utilisées ne sont pas totalement identiques entre l'ULB (ancien LNR) et le LNR, il est ainsi difficile de comparer les données des activités 2021 avec ceux enregistrés en 2020.

Parmi les résultats sérologiques, des réactions croisées avec d'autres helminthiases comme *Toxocara canis* ont été mises en évidence chez 7 patients. Il s'avère que la positivité d'un test de screening non confirmée par le Western Blot est souvent signe d'une réaction aspécifique surtout à titre élevé. Par ailleurs, la sérologie chez 2 patients souligne l'existence des réactions croisées avec les anticorps d'une autre espèce d'*Echinococcus* (positivité simultanée pour *E. multilocularis* et *E. granulosus*).

La PCR multiplexe, quant à elle, a été mise en défaut 2 fois avec un résultat non-concluant (ADN non détecté malgré une forte suspicion d'une échinococcose et PCR multiplex classique positive pour *E. granulosus* alors que l'ADN est non détecté lors de la PCR en temps réel) soulignant une sensibilité légèrement inférieure à la PCR classique.

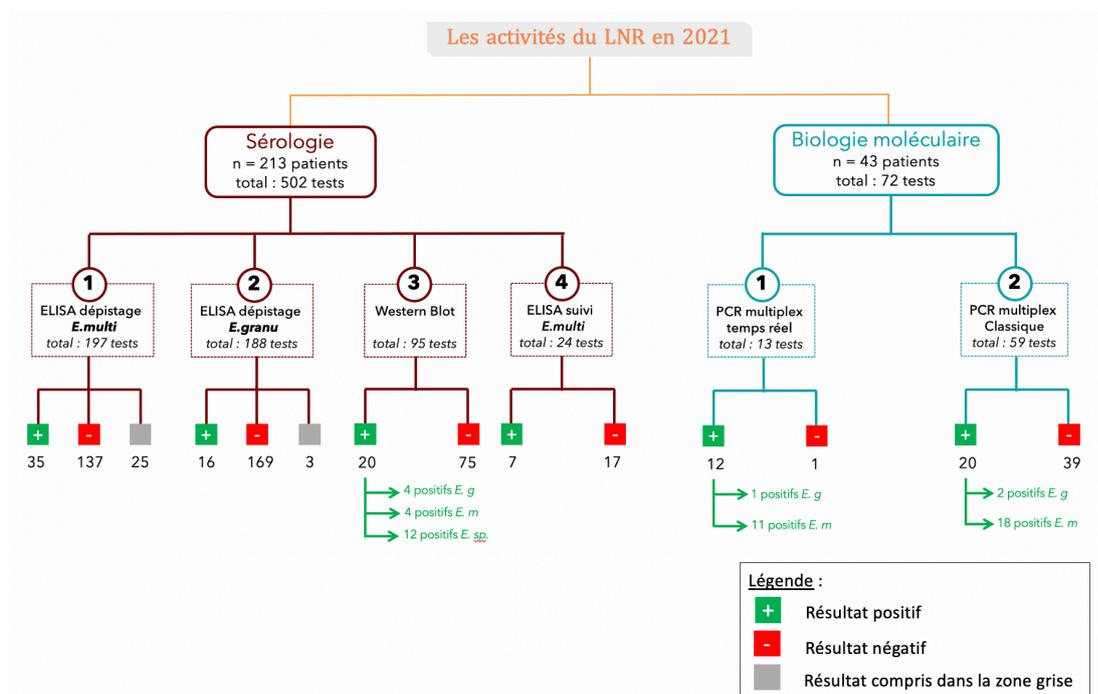


Figure 8 : Schéma exposant le nombre total de tests réalisés durant l'année 2021 au LNR.

3.4. Discussion

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, l'échinococcose touche plus d'un million de personnes à l'échelle mondiale [1]. Pour autant, cette parasitose reste une maladie négligée, voire totalement méconnue par les spécialistes de la santé. L'absence de connaissance par les médecins est ainsi un frein à l'éradication de la maladie. Généralement diagnostiquée tardivement, l'échinococcose engage le pronostic vital des patients atteints par une des formes de cette pathologie. Néanmoins, un diagnostic précoce suivi d'un trajet de soins adapté améliorerait l'espérance de vie de 20 ans [2]. Ces observations soulignent l'importance d'un suivi annuel de la situation pour, d'une part, mettre en place des mesures préventives à la propagation du parasite et, d'autre part, améliorer le diagnostic précoce.

Rapportés à la population belge [16], les 14 cas d'échinococcose belges diagnostiqués en 2021 représentent un taux d'incidence de 0,12 par 100 000 habitants, une donnée presque comparable à l'année 2020 (0,16 par 100 000 habitants [17]). Bien qu'il y ait très peu de cas chiffrés en Belgique, cette pathologie reste un problème préoccupant pour la santé publique, particulièrement pour la forme alvéolaire eu égard à la contamination autochtone. Ces dernières années, la dissémination vers les zones urbaines, ainsi que la fréquence plus élevée d'infection à *E. multilocularis*, observée chez le renard roux, inquiètent les spécialistes. Par ailleurs, les différences climatiques entre les régions belges expliqueraient la prévalence élevée de cette espèce chez ces animaux en Wallonie [18]. Celle-ci était en moyenne de 25% en 2003. Les petits rongeurs, jouant le rôle d'hôtes intermédiaires dans le cycle de l'*E. multilocularis*, sont différents entre le nord et le sud du pays. Cela semblerait être une des raisons probables de la prévalence dominante en Wallonie. [18, 19] Ces observations sont en accord avec les données recueillies pour le suivi épidémiologique de l'année 2021, à savoir que tous les patients belges pour lesquels une échinococcose alvéolaire a été diagnostiquée en 2021, résident en Wallonie. De plus, le nombre de cas recensés pour cette forme d'échinococcose représente pratiquement le double de celui enregistré en 2015.

Pour ce qui est de l'échinococcose kystique, le flux migratoire, est très probablement à l'origine de la totalité des cas recensés en Belgique. Étant donné que la Belgique ne représente pas a priori une zone endémique pour ce type d'échinococcose, il y a une forte probabilité que ces cas soient en effet importés. En raison d'un manque d'information lors des surveillances antérieures, les données de l'année 2021, en termes du lieu probable de contamination, n'ont pas pu être comparées aux années précédentes. Cependant, au vu des pays rapportés en 2021, la Turquie suivie du Maroc sont les pays les plus fortement impliqués dans la propagation du parasite, ce qui est cohérent avec les nationalités les plus fréquemment retrouvées en Belgique.

Bien que le nombre de cas recensés pour l'échinococcose varie peu depuis 2019, une tendance à la hausse est néanmoins mise en évidence en comparaison avec les chiffres obtenus pour l'année 2015. Toutefois, la pandémie du COVID-19 a eu des conséquences sur la santé publique en Belgique, ceci ayant impacté indirectement les chiffres enregistrés en 2021. L'augmentation

du taux de mortalité observée essentiellement chez les personnes âgées, ainsi que la saturation des hôpitaux ont fortement affecté le dépistage des cas d'échinococcose par un ralentissement des soins de santé.

De plus, la collecte des nouveaux cas d'échinococcose par le réseau des laboratoires de biologie clinique belges est volontaire, impliquant un manque d'exhaustivité de la réelle situation belge. L'échinococcose ne constitue pas une maladie à déclaration obligatoire, ce qui accentue davantage la nécessité d'une surveillance épidémiologique annuelle.

D'un point de vue des méthodes de diagnostic, la sérologie (ELISA + Western Blot) montre une bonne performance atteignant 100% de sensibilité pour le diagnostic du genre *Echinococcus*, dans le dépistage de l'EA et de l'EK. La PCR montre également une excellente performance pour le diagnostic de confirmation d'une échinococcose. En effet, elle a permis d'établir avec certitude le diagnostic d'une EA ou EK pour les cas testés en 2021. Cependant, les prélèvements requis (prélèvements profonds comme une biopsie ou pièce chirurgicale) sont invasifs ce qui limite son utilisation en routine.

Au-delà des réactions croisées, le résultat sérologique est fortement influencé par les stades d'évolution des kystes et par l'immunité du patient, et probablement aussi par le génotype du parasite hébergé. Par exemple, lorsqu'un kyste hydatique est calcifié ou peu développé, le système immunitaire n'est pas stimulé. Par conséquent, ceci influence le résultat sérologique, qui sera séronégatif malgré la présence de l'infection. De plus, une sérologie fortement positive de façon isolée c'est-à-dire sans argument radiologique, est évocatrice de réaction croisée avec une autre helminthiase. Il est alors nécessaire de compléter l'analyse par des sérologies parasitaires (ascaris, ténia, anguillule, toxocara) selon les cas.

L'échinococcose constitue une pathologie complexe qui réclame un dialogue entre les médecins et biologistes afin de poser le bon diagnostic.

4 Travaux de recherche, collaboration et communication

a. Typage moléculaire par l'analyse des microsatellites EmsB pour la caractérisation des souches d'*Echinococcus multilocularis* isolées chez des patients atteints d'échinococcose alvéolaire et pris en charge au CHU de Liège

En 2021, une étude d'investigation de la diversité génétique au sein de *E. multilocularis* a été menée grâce au typage moléculaire du marqueur microsatellite **EmsB**. Ce dernier, présent en 40 copies dans le génome de *E. multilocularis*, se situe sur le chromosome 5 de l'ADN nucléaire, de façon répétée et à 2 endroits précis. Il présente la particularité d'un microsatellite hautement polymorphique avec néanmoins des régions hautement conservées de part et d'autre de la séquence microsatellite. Dans la littérature, il est largement décrit comme un bon marqueur pour le typage de *E. multilocularis*, alors qu'il est présent aléatoirement dans le

génomique de l'*E. granulosus*. Les prélèvements des patients atteints d'une échinococcose alvéolaire et pris en charge par le CHU de Liège de 1999 à 2020, ont été sélectionnés à partir de la bio-banque du CHU de Liège. Ceux-ci sont issus principalement de biopsies hépatiques, mais aussi de liquide pleural ou de biopsie pulmonaire. Les résultats après séquençage se présentent sous forme d'un spectre représentant l'intensité de fluorescence en fonction du nombre de paires de bases. Après le traitement des données, un dendrogramme est généré afin de visualiser le degré de similarité entre les différents ADNs extraits. De plus, les données ont été comparées avec ceux de la base de données EWET provenant de régions endémiques en Europe. Cette étude a montré que certains échantillons belges partagent le même profil génotypique mis en évidence par d'autres pays européens. Une diversité hétérogène a tout de même été mise en évidence en Belgique avec des profils uniques qui diffèrent des autres profils européens.

Les résultats préliminaires de cette étude ont été présentés sous forme d'un poster lors du 31^{ème} événement ECCMID (9 – 12 juin 2021) [20].

Cette étude a fait l'objet d'un travail de fin d'études de Master en Pharmacie, réalisé par **Océane Mievis (2020-2021)**. Il a été réalisé en étroite collaboration avec le CNR de Besançon.

b. Développement d'une PCR multiplex en temps réel pour la détection simultanée d'*Echinococcus multilocularis* et *Echinococcus granulosus sensu lato*

Dans le but d'optimiser les techniques utilisées par le LNR, le laboratoire de Microbiologie Clinique du CHU de Liège, en collaboration avec François Maclot, bioingénieur (Gembloux), a développé et mis au point une PCR multiplexe en temps réel. Cette nouvelle approche, utilisant des amorces inconnues de la littérature, a pour avantage de cibler deux espèces d'échinocoques, à savoir l'*E. multilocularis* et *E. granulosus sensu stricto*. Outre le fait de diminuer le temps d'analyse en détectant simultanément les deux espèces, la technique limite le risque de contamination. Après l'élaboration du protocole de la PCR, 44 échantillons de patients touchés par une EA et EK (36 pour *E. multilocularis* et 8 pour *E. granulosus*) ont été sélectionnés afin de comparer trois méthodes, à savoir la PCR multiplexe en temps réel, la PCR en temps réel *rrnL*, décrite par *Knapp et al.* [21] et la PCR classique de Trachsel. Les résultats obtenus ont démontré l'efficacité de la PCR multiplexe en temps réel avec une excellente spécificité des amorces utilisées. Cependant, au vu de la plus faible sensibilité de la PCR en temps réel, celle-ci sera complétée par la PCR classique de Trachsel qui est plus sensible. Outre cette sensibilité, la PCR classique offre l'avantage de détecter toutes les espèces de *E. granulosus* mais elle reste néanmoins plus longue à mettre en œuvre par rapport à la PCR en temps réel.

Cette étude a fait l'objet d'un travail de fin d'études de Bachelier en technologie de laboratoire médical, réalisé par **Caroline Pholien (2021-2022)**.

c. Validation des techniques de biologie moléculaire sous la norme ISO 15189

Les techniques de biologie moléculaire ont fait l'objet d'une validation de méthode afin de les implémenter dans la routine du LNR. La première méthode, la PCR multiplexe en temps réel qui détecte simultanément *E. multilocularis* et *E. granulosus sensu stricto*, a été validée pour les différents paramètres évalués (exactitude, répétabilité, reproductibilité, robustesse et limite de détection). Elle présente une spécificité de 100% et une sensibilité de 88%. La seconde méthode, la PCR classique de Trachsel, montre, quant à elle, une spécificité et sensibilité maximale. Malgré une plus faible sensibilité, la PCR en temps réel est la technique de premier choix pour le diagnostic d'une échinococcose de par sa rapidité et le risque de contamination diminué.

Ce travail a fait l'objet d'un travail de fin d'études de Master en Pharmacie, réalisé par **Alice Leblanc (2021-2022)**.

d. Evaluation de la connaissance des médecins généralistes privés de la province de Liège au sujet de l'échinococcose alvéolaire

En 2021, une enquête visant à évaluer les connaissances des médecins généralistes liégeois sur l'EA, a été menée en collaboration avec le Pr O. Detry (Echinoliège). Pour cela, un questionnaire reprenant différents aspects de l'EA (les symptômes, les organes touchés, le diagnostic, les traitements, ...) a été envoyé à 1782 généralistes de la province de Liège. L'objectif principal de cette étude expérimentale randomisée contrôlée est d'améliorer les connaissances sur le sujet par le biais d'une vidéo formative après l'évaluation par le questionnaire. Autrement dit, il s'agit de mesurer l'effet interventionnel d'une information donnée via une capsule vidéo réalisée par des spécialistes de la question (Pr O. Detry, Dr Philippe Léonard, et Pr MP Hayette). Un total de 5,2% de réponse a été obtenu. Après une analyse uni et multivariées, l'étude montre que l'intervention via la capsule vidéo est formative avec une amélioration des connaissances de 68%. En effet, l'étude a permis de démontrer 35% de lacunes au sujet de l'EA chez les médecins généralistes de la province.

Cette étude a fait l'objet du travail de fin d'études de Master en Santé Publique, réalisé par **Maxime Boulanger (2021-2022)**.

5 Activités d'Echino-Liège

ECHINO-Liège est un groupe multidisciplinaire informel qui s'est constitué au CHU de Liège en réponse à l'augmentation du nombre de patients souffrant d'échinococcose alvéolaire pris en charge en région liégeoise, et particulièrement au CHU de Liège, hôpital de référence tertiaire. Le but premier d'ECHINO-Liège est d'améliorer la prise en charge médicale spécialisée des

patients souffrant d'échinococcose et particulièrement de l'échinococcose alvéolaire. ECHINO-Liège comprend des médecins du CHU de Liège mais également des hôpitaux liégeois qui veulent y participer, comme le CHR Citadelle ou le CHC Mont Léglia, et des hôpitaux des autres provinces wallonnes. Il comprend des infectiologues, des hépatologues, des microbiologistes, des chirurgiens, des radiologues, des médecins nucléaristes, des anatomopathologistes, mais aussi des vétérinaires s'intéressant aux parasites de la faune sauvage et des animaux de compagnie.

D'un point de vue clinique, le groupe ECHINO-Liège se réunit 3 fois par an pour discuter des cas cliniques nouveaux ou en cours de traitement. En 2021, le groupe ECHINO-Liège s'est ainsi réuni en mars, en juin et en octobre au CHU de Liège. En parallèle à cette prise en charge clinique, le groupe ECHINO-Liège a insisté pour que le laboratoire biologique du CHU de Liège réalise le dosage sanguin de l'albendazole, dosage important pour éviter les sous-dosages inefficaces ou les surdosages toxiques de ce médicament dont la fenêtre thérapeutique est étroite.

D'un point de vue enseignement, le groupe ECHINO-Liège participe à des cours destinés aux étudiants en médecine, à des présentations de cas cliniques, et à des réunions de formation continue des médecins (GLEM) afin d'améliorer la connaissance de la maladie et ainsi, à permettre un diagnostic et un traitement plus précoce. Le groupe ECHINO-Liège a également construit un site internet (www.echinococcose.be). En particulier, en septembre 2021, le groupe ECHINO-Liège a participé à une information des médecins généralistes de la région liégeoise via "le CHUchotis du jeudi" du 23 septembre 2021: https://www.chuliege.be/jcms/c2_24373378/fr/echinococcose-alveolaire.

D'un point de vue des recherches et publications, le groupe ECHINO-Liège a participé à l'élaboration du document OMS sur la prise en charge chirurgicale de l'échinococcose alvéolaire, une publication dans Lancet Infectious Disease sur l'échinococcose alvéolaire [22] et dans la Revue Médicale de Liège sur l'Echinococcose kystique [23]. Une banque de tissu d'EA est en cours de construction dans la biobanque du CHU de Liège (ECHINO-BANK).

D'un point de vue vétérinaire, un travail de recensement des infestations des renards de Wallonie est en cours (Pr Annick Linden).

6 Bibliographie

- [1] Site de l'Organisation mondiale de la Santé, consulté le 10/03/2021 à partir du lien <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>.
- [2] H. Wen, L. Vuitton, T. Tuxun, J. Li, DA. Vuitton, W. Zhang, DP. McManus, 2019, *Echinococcosis: Advances in the 21st Century, Microbiology Reviews Feb 2019, 32 (2) e00075-18*; <https://doi.org/10.1128/CMR.00075-18>.
- [3] THOMPSON, R.C.A., 2017, « *Biology and Systematics of Echinococcus* ». *Advances in Parasitology. And Echinococcosis, Volume 95, 2017, p.65-109*, <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.07.001>.
- [4] Site du Centers for Disease Control and Prevention, consulté le 10/03/2022 à partir du lien <https://www.cdc.gov/dpdx/echinococcosis/index.html>.
- [5] Losson, B., & Hanosset, R. (2004). *Épidémiologie de l'échinococcose multiloculaire en Europe. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France, 157(4), 25-28.*
- [6] O. Detry, MP. Hayette, J. Delwaide, JB. Giot, N. Meurisse, P. Leonard, P. Honore. *La maladie du Renard Wallon : l'échinococcose alvéolaire, CHU Liège.*

- [7] Cambier, A., GIOT, J. B., LEONARD, P., BLETARD, N., Meunier, P., Hustinx, R., ... & Detry, O. (2018). *Prise en charge multidisciplinaire de l'échinococcose alvéolaire: le groupe Echino-Liège*. *Revue Médicale de Liège*, 73(3), 135-142..
- [8] N. Valeix, 2019, *Parasitologie, mycologie: préparation pour le concours de l'internat en pharmacie*, 2e édition, deboeck supérieur, p.101-107..
- [9] P. Kern, A. Menezes da Silva, O. Akhan, B. Müllhaupt, KA. Vizcaychipi, C. Budke, DA. Vuitton, 2017, *The Echinococcoses: Diagnosis, Clinical Management and Burden of Disease*, *Advances in Parasitology*, Volume 96, p.261-369. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2>.
- [10] Kern, P., Wen, H., Sato, N., Vuitton, D. A., Gruener, B., Shao, Y., ... & Bresson-Hadni, S. (2006). *WHO classification of alveolar echinococcosis: principles and application*. *Parasitology international*, 55, S283-S287..
- [11] Richard D. Pearson, 2020, *Echinococcose, le manuel MSD*, consulté via le lien : <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/cestodes-t%C3%A9nias/echinococcose> le 12/03/2022..
- [12] McManus, D. P., Gray, D. J., Zhang, W., & Yang, Y. (2012). *Diagnosis, treatment, and management of echinococcosis*. *Bmj*, 344.
- [13] D. Trachsel, P. Deplazes, A. Mathis, 2007, *Identification of taeniid eggs in the faeces from carnivores based on multiplex PCR using targets in mitochondrial DNA*, *Parasitology* 134, p.911–920. <https://doi.org/10.1017/s0031182007002235>.
- [14] *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 12/04/22.*
- [15] 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..
- [16] *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 13/04/22.*
- [17] *Chiffres de la population belge par province et par commune, à la date du 1e janvier 2021. Disponible sur : https://www.ibz.rrn.fgov.be/fileadmin/user_upload/fr/pop/statistiques/population-bevolking-20220101.pdf, consulté le 13/04/22.*
- [18] Hanosset, R., Saegerman, C., Adant, S., Massart, L., & Losson, B. (2008). *Echinococcus multilocularis in Belgium: prevalence in red foxes (Vulpes vulpes) and in different species of potential intermediate hosts*. *Veterinary parasitology*, 151(2-4), 212-217..
- [19] Cambier, A., GIOT, J. B., LEONARD, P., BLETARD, N., Meunier, P., Hustinx, R., ... & Detry, O. (2018). *Prise en charge multidisciplinaire de l'échinococcose alvéolaire: le groupe Echino-Liège*. *Revue Médicale de Liège*, 73(3), 135-142..
- [20] Sacheli, R., Knapp, J., Miévis, O., et al. (2021) «Molecular typing of Belgian *Echinococcus multilocularis* specimens from alveolar echinococcosis human lesions using EmsB microsatellites analysis». *Poster présenté dans le cadre du « 31st European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (ECCMID) », juin 2021, en ligne.*

- [21] Knapp, Jenny, et al. "Real time PCR to detect the environmental faecal contamination by *Echinococcus multilocularis* from red fox stools." *Veterinary Parasitology* 201.1-2 (2014): 40-47.
- [22] Cambier, A., Hayette, M. P., Léonard, P., Kurth, W., Lovinfosse, P., & Giot, J. B. (2021). Isolated pelvic bone involvement as a presentation of alveolar echinococcosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 21(8), 1192.
- [23] Basbous, C., Hayette, M. P., LEONARD, P., Louis, E., LOLY, J. P., & Detry, O. (2021). Cholangite obstructive chez un patient atteint d'une hydatidose. *Revue Médicale de Liège*, 76(7-8).