



LABORATOIRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE DES ÉCHINOCOCCOSES

Rapport d'activité

Année 2022

*Centre Hospitalier Universitaire de Liège
Service de Microbiologie Clinique*



LABORATOIRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE DES ÉCHINOCOCCOSES

Rapport d'activités 2022

Rédaction par les membres du LNRE

- Sabrina Egrek^{1,2}
- Rosalie Sacheli^{1,2}
- Marie-Pierre Hayette^{1, 2}

Avec la collaboration du Dr Olivier Detry^{2,3} (groupe clinique EchinoLiège)

1. Laboratoire National de Référence des Échinococcoses, CHU de Liège
2. Groupe Echino-Liège, Liège
3. Service de chirurgie abdominale- endocrinienne et de transplantation, CHU de Liège

Contacts

Laboratoire National de Référence



Marie-Pierre Hayette : mphayette@chuliege.be

Sabrina Egrek : sabrina.egrek@chuliege.be

Rosalie Sacheli : r.sacheli@chuliege.be



www.chuliege.be/LNRBE

Groupe interdisciplinaire ECHINO-Liège



Olivier Detry : olivier.detry@chuliege.be

Philippe Léonard : philippe.leonard@chuliege.be

Jean-Baptiste Giot : jbgiot@chuliege.be

Paul Meunier: Paul.Meunier@chuliege.be

Pierre Lovinfosse : Pierre.Lovinfosse@chuliege.be

Benoit Pirotte : benoit.pirotte@citadelle.be



<http://echinococcose.be>

TABLE DES MATIERES

1	INTRODUCTION	5
1.1	Tests diagnostiques utilisés par le LNRE.....	5
1.1.1	Sérologie.....	5
1.1.2	PCR	7
2	MISSIONS SPÉCIFIQUES DU LNRE	7
3	SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE 2022.....	9
3.1	Méthodologie	9
3.2	Résultats.....	10
3.2.1	Échinococcose alvéolaire.....	10
3.2.2	Échinococcose kystique	13
3.2.3	Communication des cas rapportés en 2022 à l'ECDC	17
4	ÉVOLUTION DES ÉCHINOCOCCOSES, 2010-2022.....	17
5	BILAN DES ACTIVITÉS DE DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE ET MOLÉCULAIRE.....	18
6	DÉMARCHE QUALITÉ	21
7	TRAVAUX DE RECHERCHE, COMMUNICATIONS & COLLABORATIONS 21	
8	ACTIVITÉS ECHINO-LIÈGE.....	24
9	CONCLUSION.....	25
10	BIBLIOGRAPHIE.....	27

1 INTRODUCTION

Le laboratoire de Microbiologie 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 Carlier 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 faisant partie de la classe des cestodes, appartenant à la famille des Taeniidae et rattaché au genre *Echinococcus*. Cette parasitose 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* (*E.m*) et *Echinococcus granulosus sensu lato* (*E.g*). Les autres formes d'échinococcose sont néotropicales et causées par d'autres espèces plus rares. [1, 2]

Ces deux dernières décennies, une augmentation de l'incidence des cas a été observée en Belgique, particulièrement pour la forme alvéolaire. Cette dernière est transmise de façon autochtone en Belgique, et ce, plus précisément en Wallonie. À l'inverse, la Belgique ne constitue pas une zone d'endémie pour la forme kystique. Les cas recensés sont importés de régions endémiques comme le Maroc, la Bulgarie, la Turquie, la Roumanie entre autres. [3]

1.1 Tests diagnostiques utilisés par le LNRE

1.1.1 Sérologie

Au LNRE, plusieurs tests sérologiques ont été utilisés en 2022, à savoir des tests de dépistage (méthodes immunoenzymatiques), de confirmation (Western Blot) et de suivi spécifique de l'EA (méthode immunoenzymatique). Ces tests ont été réalisés à une fréquence hebdomadaire.

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

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 ≥ 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 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.

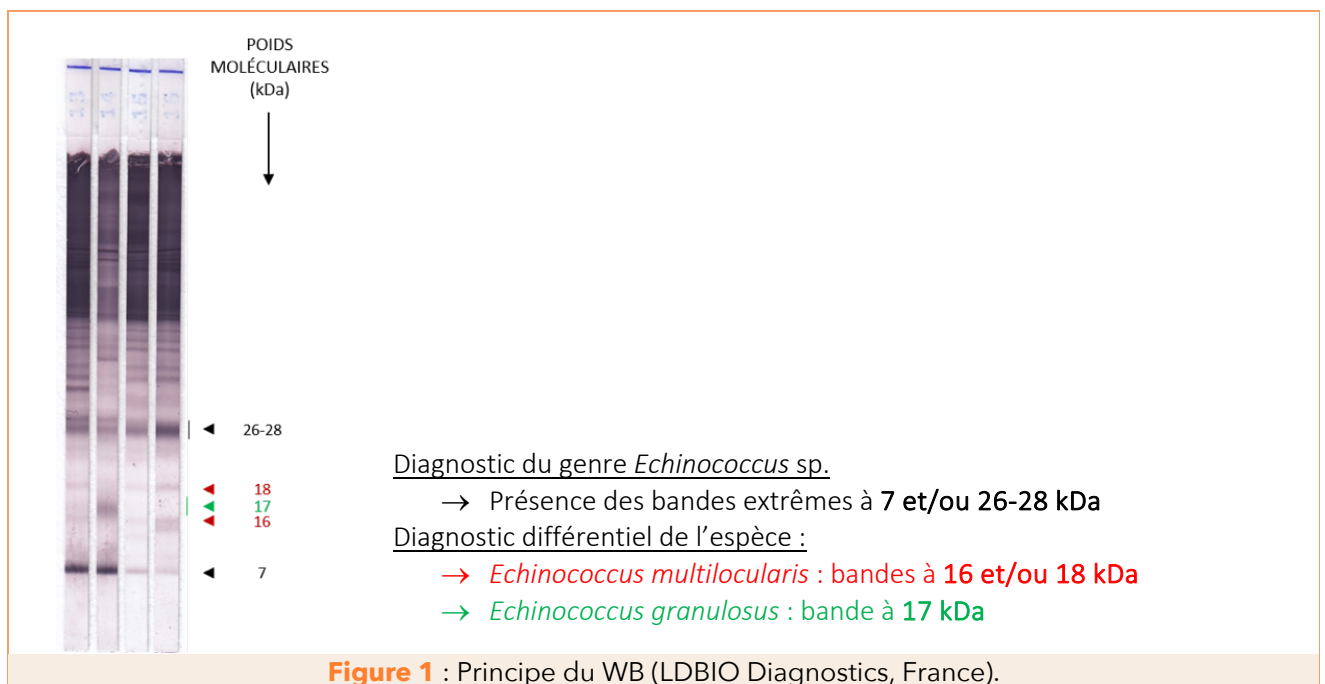
2) Test de dépistage pour EK : détection des IgG anti-*Echinococcus granulosus*

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 ≥ 0.9 et < 1.1 ; un résultat positif 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.

3) Test de confirmation : le 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 tels que les tests de screening ELISA. Lorsque ce dernier est négatif malgré des données cliniques/radiologiques et épidémiologiques évoquant une échinococcose alvéolaire, 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).



4) Test de suivi pour EA (Anticorps anti-Em18)

Il s'agit d'utiliser un test ELISA détectant dans le sérum les IgG dirigés contre l'antigène recombinant Em18 (rEm18) spécifique d'*E. multilocularis*. Ce test est un marqueur de 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 de suivre une guérison sous traitement ou l'absence de récurrence après exérèse chirurgicale associée à un traitement antiparasitaire.

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. C'est surtout la cinétique qui est importante à suivre plutôt qu'un index isolé.

1.1.2 PCR

Les PCR peuvent être réalisées sur biopsies ou tout liquide biologique relevant (bile, liquide pleural, expectoration, LBA, ...) à l'exclusion du sang où la méthode n'est pas validée.

Nous disposons de deux tests PCR de sensibilité complémentaire. La **PCR multiplexe en temps réel** est la méthode utilisée en première ligne car la plus rapide. Cette PCR cible simultanément d'*E. multilocularis* (échinococcose alvéolaire) et *E. granulosus sensu stricto*. Cette dernière est la sous-espèce du complexe *E. granulosus sensu lato* la plus fréquemment retrouvée dans les cas d'échinococcose kystique. L'élaboration du protocole a été développée et validée par le laboratoire de Microbiologie du CHU de Liège (technique in house).

En cas de négativité de cette PCR, une PCR multiplexe classique. Outre l'identification de l'*E. multilocularis*, elle présente l'avantage de cibler également toutes les sous-espèces du complexe *E. granulosus sensu lato* par l'amplification d'un gène commun à toutes. Cependant, un recours à un séquençage post-PCR (séquençage Sanger) est nécessaire afin de discriminer précisément la sous-espèce. [4]

2 MISSIONS SPÉCIFIQUES DU LNRE

Le LNRE a pour missions principales l'**expertise biologique**, le **conseil scientifique et l'appui aux professionnels de la santé**, la **surveillance épidémiologique**, l'**alerte et la prévention** des échinococcoses. À côté de ces missions spécifiques, une collaboration étroite est entretenue avec les membres du groupe interdisciplinaire liégeois, le groupe Echino-Liège, qui rassemble des cliniciens du CHU de Liège impliqués dans la prise en charge des échinococcoses, mais aussi des vétérinaires de la Faculté de médecine vétérinaire de l'ULiège. D'autre part des collaborations avec d'autres Centres de Référence tels que le CNR échinococcoses du CHU de Besançon (France) ou l'ANSES de Nancy, pour la partie vétérinaire, sont actives. Ces échanges multidisciplinaires permettent ainsi de gérer de façon optimale les cas d'échinococcose les plus difficiles, d'une part, et d'échanger sur le plan plus fondamental, d'autre part, avec des

échanges de ring-tests (test interlaboratoires pour comparer la qualité des techniques utilisées), ou participation à des études communes.

Mission : Expertise biologique, que faisons-nous au LNRE ?

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

- ❖ le diagnostic de l'échinococcose 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 microsattellites EmsB ;
- ❖ le développement de nouvelles méthodes de diagnostic ou de typage.

Mission : Surveillance épidémiologique

Le recensement des cas d'échinococcose sur le territoire belge a été initié dès les années 1990 par le Professeur Yves Carlier (ULB), puis le Professeur Carine Truyens, assurant la direction du laboratoire de référence pour l'échinococcose alvéolaire. Depuis 2021, le laboratoire de microbiologie du CHU de Liège assure le rôle de laboratoire de référence suite à une réorganisation des laboratoires de l'ULB. Nous poursuivons l'activité de recensement des cas, par le biais de l'envoi du formulaire ECDC (« European Centre for Disease Prevention and Control ») qui est adressé à tous les laboratoires belges de biologie clinique en début d'année. Les laboratoires sont également invités à se renseigner auprès des infectiologues de leur institution si des cas d'échinococcoses non diagnostiqués par sérologie et/ou PCR ont été détectés durant l'année.

Bien que la participation soit sur base volontaire, cette démarche permet de suivre l'évolution des échinococcoses en Belgique (notifiée depuis 2010), d'en déterminer la distribution géographique et de cibler les populations à risque. Les données d'une surveillance épidémiologique permettent ainsi d'orienter les mesures préventives à mettre en œuvre pour freiner l'émergence de nouveaux cas et d'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.

Mission : Alerte & prévention

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les échinococcoses touchent plus d'un million de personnes à l'échelle mondiale [5]. 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 [6]. Cette étude constituait 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 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.

3 SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE 2022

3.1 Méthodologie

La surveillance épidémiologique, organisée par le LNR, repose sur la collecte des cas EA ou EK confirmés durant l'année 2021. Ces cas doivent répondre à la 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 [7] :

- Analyse histologique qui confirme la présence d'*Echinococcus multilocularis* ou *Echinococcus granulosus* (par exemple par la visualisation directe de protoscolex) ;
- Mise en évidence dans les prélèvements chirurgicaux de la morphologie caractéristique d'un *E. granulosus* ;
- Détection des lésions parasitaires par les techniques d'imagerie médicale suivi de la confirmation par un test immunologique ou PCR ;
- 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. 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, les laboratoires ont également demandé à leurs infectiologues s'ils avaient recensé des cas non détectés par la sérologie et/ou PCR. En 2022, 12 laboratoires/ hôpitaux ont rapporté au moins un cas d'échinococcose :

- L'hôpital Erasme (LHUB)
- CHU Saint-Pierre à Bruxelles
- Les cliniques de l'Europe
- L'hôpital GZA à Anvers (campus Sint-Augustinus)

- CHU UCL (site Mont-Godinne)
- L'hôpital AZ Sint-Lucas à Gand
- La clinique Saint-Joseph à St Vith
- L'hôpital AZ Turnout
- L'hôpital ASZ à Aalst
- L'hôpital Oost-Limburg à Genk
- L'hôpital de Libramont (Vivalia)
- L'hôpital régional de la province de Liège (Citadelle)

Enfin, les cas pris en charge au CHU de Liège étaient automatiquement répertoriés. En comparaison avec l'année 2021, un plus grand nombre de laboratoires ont répondu positivement à l'enquête avec 12 laboratoires participants en 2022 contre 8 en 2021.

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 2022, **12 nouveaux cas d'échinococcose alvéolaire** ont été rapportés sur l'ensemble du territoire belge. Rapportés à la population belge [8], les 12 cas d'EA diagnostiqués en 2022 représentent un taux d'incidence de 0,10 par 100 000 habitants, une donnée plus élevée que l'année 2021 (0,03/100 000 habitants). Tous les cas d'EA recensés en 2022 sont des résidents belges et ils étaient vivants lors du rapportage des données épidémiologiques.

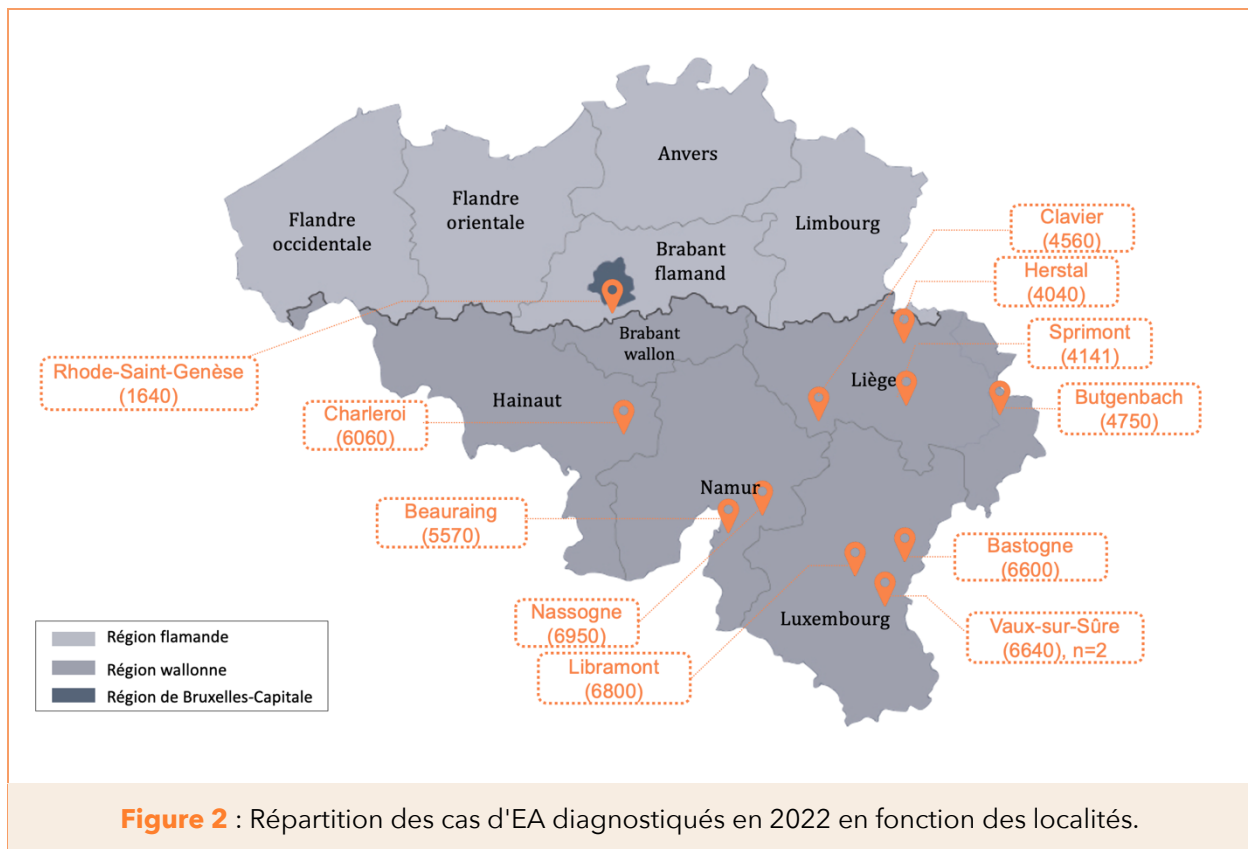
▪ Répartition selon le sexe et l'âge

Parmi les 12 cas d'échinococcose alvéolaire rapportés en 2022, les hommes représentent 58% (n=7) des cas pour 42% (n=5) de femmes. Le sexe ratio M/F pour ce groupe est 1,4 (7/5) et l'âge médian au moment du diagnostic est de 60,5 ans (25 à 77 ans). Ce dernier est légèrement inférieur à celui spécifié lors de la surveillance épidémiologique de 2021 (64 ans, intervalle 58 à 78 ans). De plus, des cas d'EA plus jeunes ont été diagnostiqués en 2022. En ce qui concerne le sexe ratio, il est en adéquation avec les données renseignées par Cambier *et al.* [9]. En effet, sur les 22 cas d'EA enregistrés entre 1999 et 2018 au CHU de Liège, les hommes sont plus touchés par la maladie avec un sexe ratio M/F de 1,75 (14/8).

▪ Répartition selon la zone géographique

Les patients atteints de l'EA résident exclusivement en région wallonne (92%), à l'exception d'un cas en provenance de la commune de Rhode-Saint-Genèse en région flamande. Cette commune se situe en périphérie bruxelloise dans la province du Brabant flamand. En Wallonie,

selon les données recueillies, les provinces les plus touchées par l'EA sont les provinces de Liège (4/12) et du Luxembourg (4/12). La **figure 2** illustre la répartition des cas rapportés en 2022 selon les localités.



▪ 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 2022**, ainsi que le résultat (positif, douteux, négatif) associé à chaque test.

Parmi les 12 patients,

- 10 patients ont bénéficié d'une analyse par **PCR**. Celle-ci était positive dans tous les cas sauf pour le cas n°1 pour lequel il n'y avait pas assez de matériel pour une réalisation optimale de la PCR (ce qui donne 90% de sensibilité à la technique). Parmi les 10 PCR réalisées, 8 PCR ont été pratiquées sur une pièce d'exérèse chirurgicale alors que 2 PCR ont été réalisées à partir de liquide de ponction hépatique.
- Tous les patients ont bénéficié d'une analyse par sérologie. Celle-ci a été confirmée au LNRE dans les 12 cas et était **positive en ELISA Em2-Em18 pour 9/12 sérums (75%)**, dans la « zone grise » pour 2/12 sérums, négative dans 1/12.
- 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 **92%** (11/12). L'identification jusqu'à l'espèce (apparition de la bande **16 kDa et/ou 18 kDa**) a été confirmée par WB pour 6/12 cas (**50%**).

- Le WB a été pour le cas n°6 le seul test sérologique positif. Pour ce cas, la PCR a permis de confirmer la spécificité à l'espèce.
- 10/12 réactions croisées pour *E. granulosus* ont été mises en évidence avec le test ELISA détectant les IgG anti-*Echinococcus granulosus* (R-biopharm, Allemagne).
- Tous les cas diagnostiqués en 2022 ont été confirmés par le LNRE avec 100% sérologie combinée positive (ELISA et WB).

	Les méthodes utilisées avec résultats					Diagnostic établi/confirmé par le LNRE	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 : <ul style="list-style-type: none"> PCR non concluante : pas assez de matériel Sérologie positive pour <i>E.m</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 2							Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 3							Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour <i>E.m</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 4	/						Diagnostic : sérologie positive pour <i>E.m</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 5							Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i>
Cas 6							Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> malgré la négativité des tests ELISA (WB seul test positif)
Cas 7							Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 8							Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> PCR concluante : pas assez de matériel Sérologie positive pour <i>E.m</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 9							Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> PCR concluante : pas assez de matériel Sérologie positive pour <i>E.m</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 10							Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.g</i>
Cas 11							Diagnostic : <ul style="list-style-type: none"> PCR concluante : positive pour <i>E.m</i> Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i>





Cas 12	/					Diagnostic : sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp.</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.g</i>
--------	---	---	---	---	---	---

Tableau 1 : les méthodes employées pour le diagnostic des 12 cas d'EA rapportés en 2022 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

CONCLUSIONS

- ❖ Tous les nouveaux cas d'EA diagnostiqués en 2022 ont bénéficié d'un analyse sérologique (ELISA + WB).
- ❖ 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 50% pour la détection de l'espèce *multilocularis* (6/12 cas)**
- ❖ Le WB a été parfois le seul test sérologique positif (cas n°6)
- ❖ 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%**)
- ❖ La **PCR** a été pratiquée pour 10/12 cas d'EA et a permis de confirmer la présence de l'*E. multilocularis* dans 90% des cas testés (9/10 cas) dont 6 cas pour lesquels le WB n'avait pas confirmé la spécificité à l'espèce *E. multilocularis*.

Localisation des lésions

Parmi les 12 cas rapportés en 2022 :

- Un total de 7 cas (cas n° 2, 3, 4, 6, 7, 11 et 12) présente une localisation strictement hépatique.
- Les cas n°5 et 8 ont une localisation hépatique et extra-hépatique au niveau des **poumons**. Ceci est également le cas pour le patient n°10 mais celui-ci a également des atteintes au niveau de la rate et du cerveau.
- Le cas n°1 a une atteinte hépatique et rétro-péritonéale.
- Le cas n°9 a une atteinte hépatique et médiastinale.

Le **foie** est l'organe qui a été touché dans **100%** des cas diagnostiqués en 2022, suivis des **poumons (25%)**.

3.2.2 Échinococcose kystique

En 2022, **13 nouveaux cas d'échinococcose kystique** ont été rapportés sur l'ensemble du territoire belge. Tous les cas d'EK recensés en 2022 étaient des résidents belges et ils étaient vivants lors du rapportage des données épidémiologiques. Rapportés à la population belge [8],

les 13 cas d'EK diagnostiqués en 2022 représentent un taux d'incidence de 0,11 cas par 100 000 habitants, une donnée plus élevée que l'année 2021 (0,08 cas par 100 000 habitants). Cette dernière est dans la lignée de l'incidence annuelle moyenne obtenue par Casulli *et al* (2023) pour la période 2005-2020 en Belgique (incidence annuelle moyenne : 0,08 cas par 100 000 habitants). Pour ce qui est de l'incidence annuelle moyenne en Europe, elle atteint 0,64 cas par 100 000 habitants pour la période 1997-2020. [10]

- 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 12 à 77 ans (âge médian 42 ans). Pour ce groupe, le sexe ratio M/F est de 11/2 avec une prévalence plus élevée chez les hommes (85 %). Les femmes, quant à elles, représentent 15 % (n=2) des cas d'échinococcose kystique confirmés en 2022. Ces données sont en adéquation avec ceux obtenus lors de la surveillance épidémiologique de 2021 (âge médian 43 ans, intervalle d'âge compris entre 7 et 74 ans et sexe ratio M/F 8/2).

- Répartition selon la zone géographique

Parmi les 13 cas d'EK rapportés en 2022, 46% (n=6), 31% (n=4) et 23% (n=3) résident respectivement en Flandre, en Wallonie et dans la région Bruxelles-Capitale. Dans la mesure où *E. granulosus* n'est 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. Ces dernières se localisent principalement dans la province liégeoise (3/13), Flandre orientale (3/13), Anvers (2/13), Limbourg (1/13) et Luxembourg (1/13). Trois patients atteints d'une EK en 2022 résidaient dans la région Bruxelles capitale.

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

Pour l'année 2022, tous les cas d'échinococcose kystique ont été acquis à l'étranger avec 23% en provenance du Maroc (3/13 cas), 15% de la Turquie (2/13) et 15% la Bulgarie (2/13). Les autres cas ont été infectés en Roumanie (8%, 1/13), Azerbaïdjan (8%, 1/13), Iraq (8%, 1/13) et Liban (8%, 1/13). L'information sur le lieu de contamination est manquante pour 2 cas. Ces deux cas ont été rapportés par le laboratoire de Sint-Lucas à Gand et le campus Sint-Augustinus de l'hôpital GZA Anvers.

- Répartition selon les méthodes de diagnostic employées

Le **tableau 2** reprend les méthodes utilisées dans le diagnostic des 13 cas d'EK rapportés en 2022, ainsi que le résultat (positif, douteux, négatif) associé à chaque test.

Parmi les 13 patients,

→ 9/13 cas ont été confirmés par le LNRE

- 2/13 patients 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'une biopsie hépatique et d'un fluide hydatique.
- La sérologie associant les tests ELISA et le WB a été concluante dans 100% des cas (9/9 cas testés) avec au moins une positivité au genre *Echinococcus sp*. Pour les 4 cas pour lesquels la sérologie n'a pas été confirmée par le LNRE, aucun n'a bénéficié d'une confirmation par WB et le test ELISA anti-*E. granulosus* a été négatif pour 2 /4 cas. Pour ces 2 cas (cas n° 12 et 13), le diagnostic a été établi à partir de l'imagerie médicale.
- 13/13 cas ont été analysés avec le test ELISA anti-*E. granulosus* qui était positif pour 9/13 sérums, dans la zone grise pour 1 sérum et négatif pour 3/13 sérums (cas n°8, 12 et 13).
- Le WB a été pour le cas n°8 le seul test sérologique positif pour le genre *Echinococcus sp*. Pour ce cas, la PCR a permis de confirmer la spécificité à l'espèce.
- Pour le WB : la bande à **7 kDa**, spécifique du genre *Echinococcus sp*. était présente dans les 9 cas analysés (**100%**). Pour la bande relative à l'antigène de **26/28 kDa**, elle était présente à **44%** (4/9). L'identification jusqu'à l'espèce (apparition de la bande à **17 kDa**) a été confirmée par WB pour 6/9 cas testés (**67%**).
- 7 réactions croisées sur les 9 sérums analysés au LNRE ont été mises en évidence pour *E. multilocularis* avec le test ELISA Em2-Em18 (Bordier, France).

	Les méthodes utilisées avec résultats						Diagnostic établi/confirmé par le LNRE	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 : ▪ PCR concluante : positive pour <i>E.g</i> ▪ Sérologie positive pour <i>E.g</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.m</i>
Cas 2	/						✓	Diagnostic : Sérologie positive pour <i>E.g</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.m</i>
Cas 3	/						✓	Diagnostic : Sérologie positive pour <i>E.g</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.m</i>
Cas 4	/						✓	Diagnostic : sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp</i> dont la spécificité à l'espèce n'a pas été confirmée par Western Blot .
Cas 5	/						✓	Diagnostic : Sérologie positive pour <i>E.g</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.m</i>
Cas 6	/						✓	Diagnostic : sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp</i> dont la spécificité à l'espèce n'a pas été confirmée par Western Blot + présence d'une réaction croisée avec <i>E.m</i>
Cas 7	/						✓	Diagnostic : Sérologie positive pour <i>E.g</i>
Cas 8							✓	Diagnostic : ▪ PCR concluante : positive pour <i>E.g</i> ▪ Sérologie positive pour le genre <i>Echinococcus sp</i> malgré la négativité des tests ELISA (WB seul test positif)
Cas 9	/						✓	Diagnostic : Sérologie positive pour <i>E.g</i> mais présence d'une réaction croisée avec <i>E.m</i>
Cas 10	/	/			/		✗	Diagnostic : sérologie positive pour <i>E.g</i> dont la spécificité n'a pas été confirmée par Western Blot (WB non réalisé)


Cas 11	/	/		/		Diagnostic : sérologie positive pour E.g dont la spécificité n'a pas été confirmée par Western Blot (WB non réalisé)
Cas 12	/	/		/		Diagnostic établi par l'imagerie médicale. Sérologie non concluante et non réalisée au LNRE
Cas 13	/	/		/		Diagnostic établi par l'imagerie médicale. Sérologie non concluante et non réalisée au LNRE

Tableau 2 : les méthodes employées pour le diagnostic des 13 cas d'EK rapportés en 2022 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

CONCLUSIONS

- ❖ 9/13 cas (69%) ont bénéficié d'une analyse sérologique qui associe les tests ELISA et un WB. La sérologie a été concluante avec au moins une positivité au genre *Echinococcus sp.*
- ❖ la sérologie associant (ELISA *E.g* et Western Blot) a montré une sensibilité atteignant **100% pour le diagnostic du genre *Echinococcus sp.* (9/9 cas) et une sensibilité de 67% pour la détection de l'espèce *E. granulosus* (6/9 cas)**
- ❖ Le WB a été pour le cas n°8 le seul test sérologique positif (localisation pulmonaire). Ainsi, nous avons démontré toute l'importance du WB pour le diagnostic des échinococcoses. Il s'agit du test le plus sensible et spécifique car il peut être le seul test positif lors d'une analyse sérologique, comme c'est le cas pour le cas n°8 pour l'EK et cas n°6 pour l'EA.
- ❖ La PCR a été pratiquée pour 2/13 cas d'EK
- ❖ LA PCR a permis de confirmer la présence de l'*E. granulosus* dans 100% des cas testés dont un cas qui n'avait pas été confirmé jusqu'à l'espèce *E. granulosus* par le WB.

Localisation des lésions

Parmi les 13 cas rapportés en 2022 :

- Un total de 10 cas (cas n° 1, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12 et 13) ont une localisation strictement hépatique.
- Les cas n°2 et 7 ont une localisation hépatique et extra-hépatique (rate pour le cas n°2 et les poumons pour le cas n°7).
- Le cas n°8 a une atteinte pulmonaire.

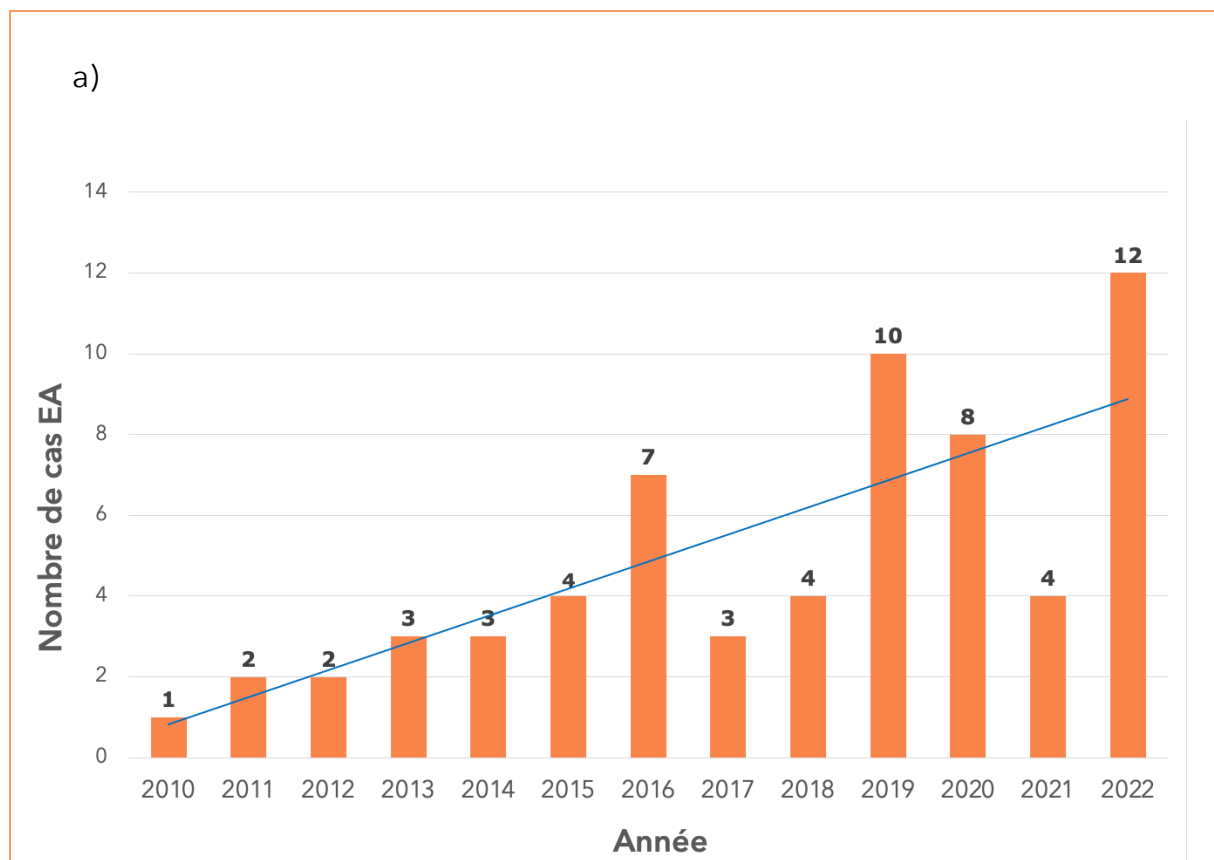
Le **foie** est l'organe qui a été touché dans **92%** des cas diagnostiqués en 2022, suivis des **poumons (15%)**.

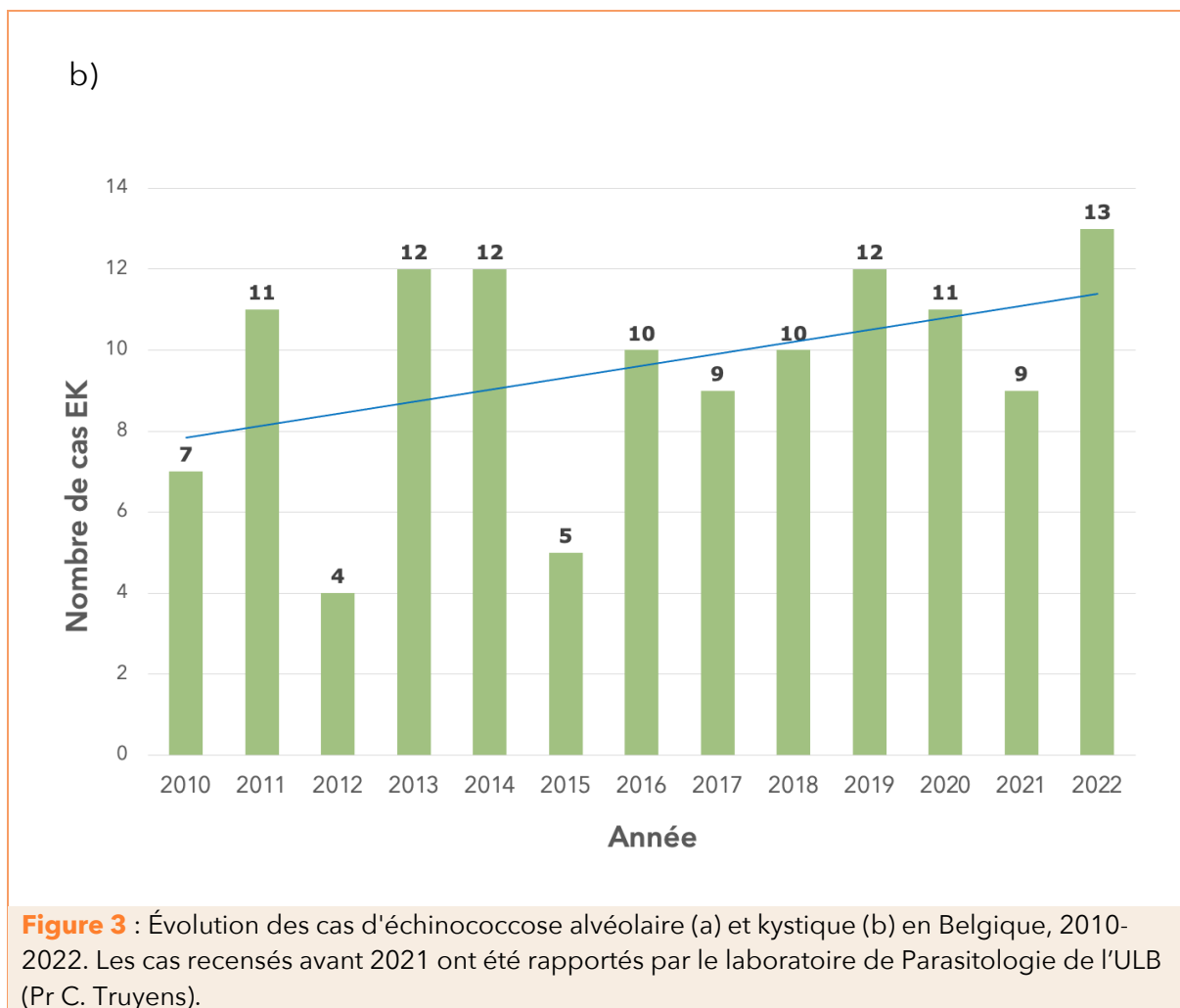
3.2.3 Communication des cas rapportés en 2022 à l'ECDC

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 2010. En ce qui concerne les cas recensés en 2022, tous les cas ont été rapportés à l'ECDC par Sciensano.

4 ÉVOLUTION DES ÉCHINOCOCCOSES, 2010-2022

En 2022, 25 nouveaux cas d'échinococcose ont été rapportés sur l'ensemble du territoire belge, dont 8 par le LNRE (CHU de Liège) et 17 par les autres laboratoires belges (cf. méthodologie de la surveillance épidémiologique 2022, page 9). Parmi les patients diagnostiqués d'une échinococcose, 12 d'entre eux présentent la forme alvéolaire tandis que la forme kystique s'est manifestée chez 13 patients. Tous les cas recensés en 2022 sont des résidents belges. La **figure 3** illustre l'évolution épidémiologique de l'échinococcose alvéolaire et kystique depuis l'année 2010, qui est l'année marquant le début du rapportage des cas belges à l'ECDC. [11] Les chiffres montrent une augmentation nette du nombre de cas d'EA et EK diagnostiqués en Belgique depuis l'année 2010 : on passe de 1 cas d'EA en 2010 à 12 cas en 2022 et 7 cas d'EK en 2010 à 13 cas en 2022. De plus, l'année 2022 enregistre le nombre de cas le plus élevé pour les deux formes d'échinococcose depuis le début du recensement des cas belges. En moyenne, 5 cas/an et 9 cas/an sont respectivement diagnostiqués pour l'EA et l'EK.





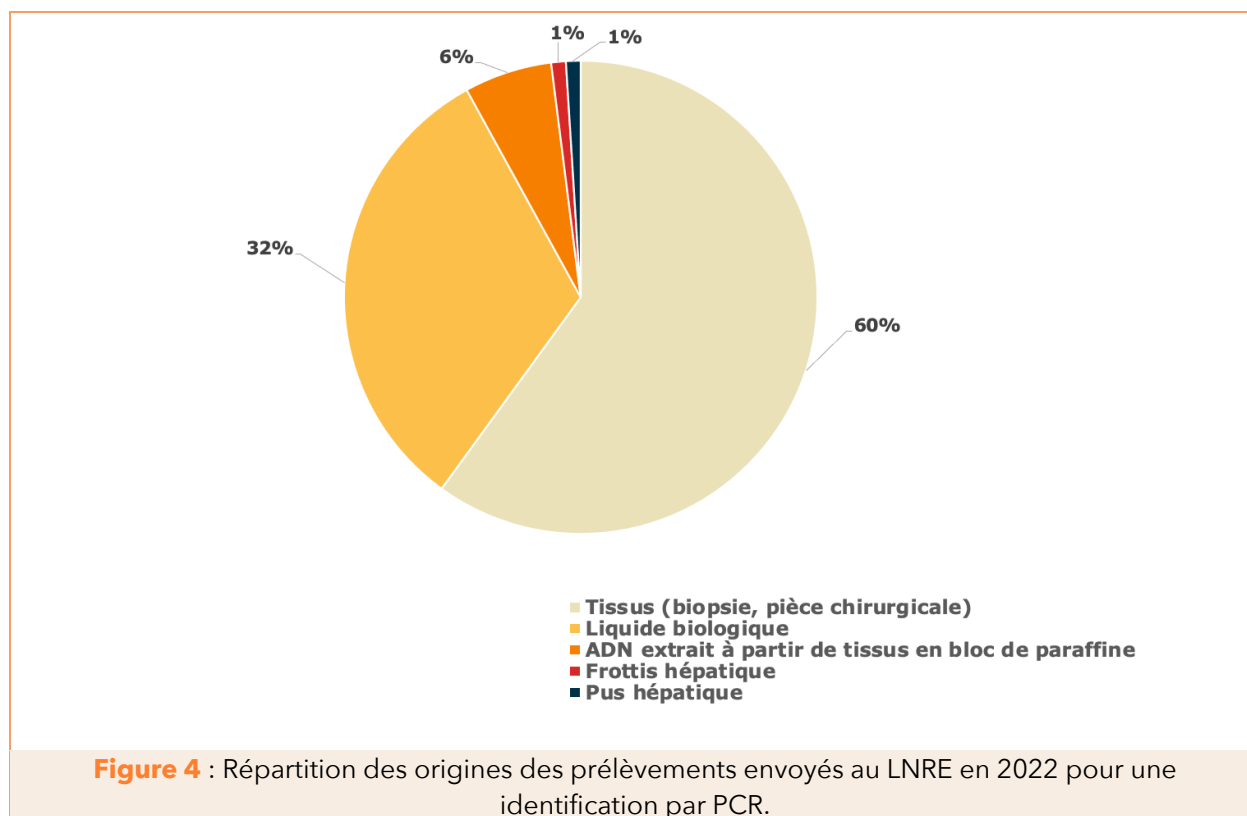
5 BILAN DES ACTIVITÉS DE DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE ET MOLÉCULAIRE

En 2022, un total de 1024 tests sérologiques sur 377 patients et 72 PCR sur 61 patients ont été effectués par le LNRE. En ce qui concerne la sérologie, les analyses effectuées concernent à 95% des primo-diagnostic et à 5% des suivis sérologiques pour l'*E. multilocularis*. Plus précisément, le test ELISA Em2-Em18 (Bordier, France) a été pratiqué à 37% (380 sérums/1024) et le test ELISA ciblant l'*E.granulosus* (R-Biopharm, Allemagne) a été employé à 36% (365 sérums/1024). Le tableau 3 résume le nombre de tests effectués pour l'année 2022 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.

Sérologie (n= 377)				
	Positif	Valeur seuil	Négatif	Total
ELISA <i>E.m</i> (n=344)	43 (12%)	17 (5%)	305 (83%)	365
ELISA <i>E.g</i> (n= 376)	33 (9%)	6 (1%)	341 (90%)	380
WB (n=217)	49 (21%)	NA	182 (79%)	231
Suivi <i>E.m</i> (n=34)	21 (44%)	2 (4%)	25 (52%)	48
				1024
Biologie moléculaire (n=61)				
	Positif		Négatif	Total
	<i>E.m</i>	<i>E.g</i>		
PCR (PCR temps réel + PCR trachsel) (n=61)	13 (18%)	3 (4%)	56 (78%)	72

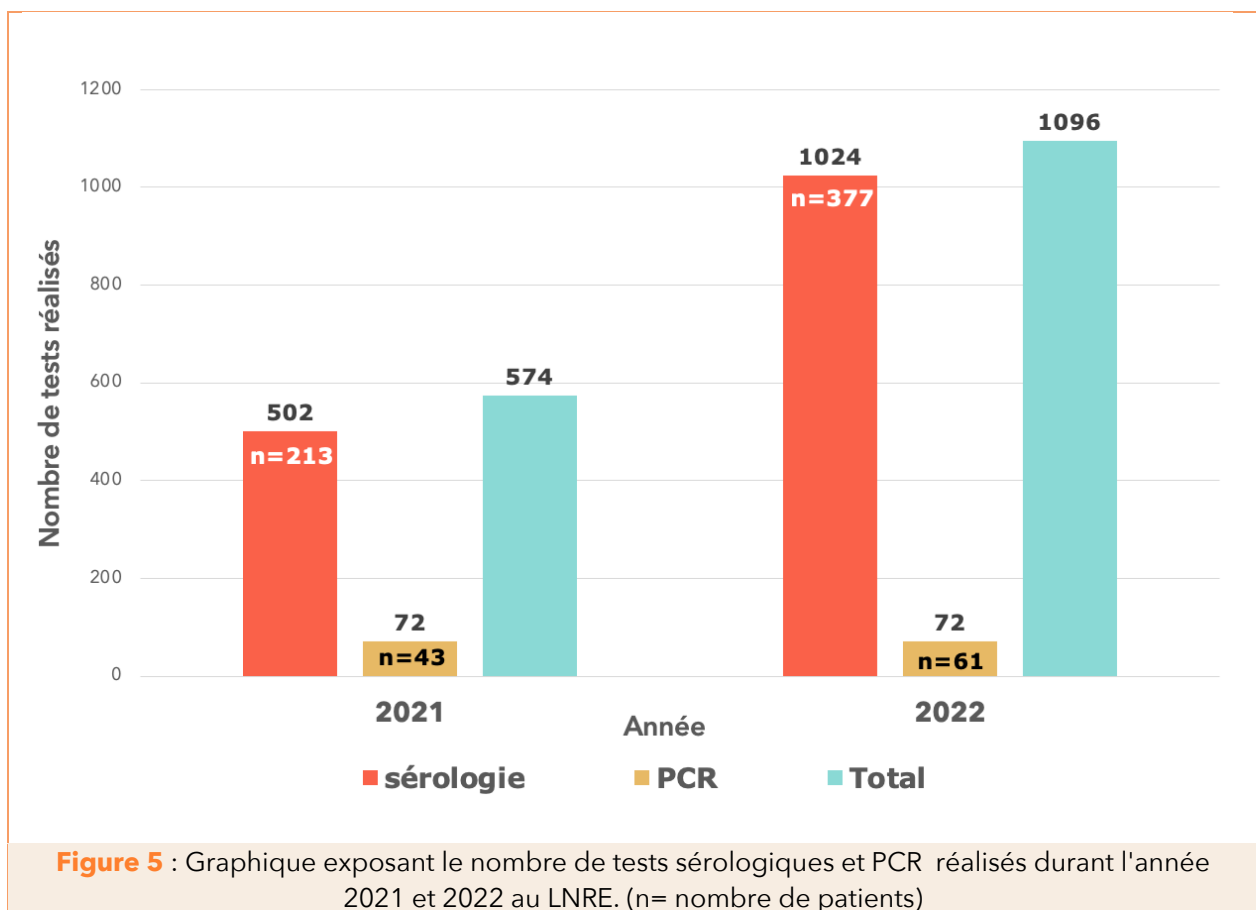
Tableau 3: Nombre de tests sérologiques et PCR réalisés en 2022 au LNRE. (n= nombre de patients)

Parmi les prélèvements envoyés au LNRE pour une identification par PCR, 43 (60%) provenaient de tissus incluant des biopsies ou pièces chirurgicales, 23 (32%) provenaient de liquide biologique (fluide hydatique, liquide de ponction hépatique, LBA), 4 (6%) étaient de l'ADN extrait à partir de tissus en bloc de paraffine (extraction faite par le service d'anatomopathologie du CHU de Liège), 1 provenait d'un frottis hépatique et 1 provenait d'un pus hépatique. La figure 4 illustre la répartition de l'origine des prélèvements envoyés au LNRE en 2022.



La figure 5 illustre le nombre de tests sérologiques et PCR réalisés par an au LNRE. Les chiffres avant 2021 n’y figurent pas étant donné que ces analyses étaient effectuées à l’ULB, l’ancien LNRE. Les techniques sérologiques et PCR utilisées n’étant pas totalement identiques, il est difficile d’en faire une comparaison. En 2022, bien que le nombre de PCR réalisées reste identique, le nombre de patients ayant bénéficié d’une PCR a largement augmenté avec 61 patients contre 43 patients en 2021.

Concernant les tests sérologiques, ceux-ci ont doublé avec 1024 tests sérologiques en 2022 contre 504 tests en 2021. Cette augmentation est la conséquence directe de la sensibilisation des cliniciens par les échanges, communications et travaux menés par le LNRE et le groupe ECHINO-Liège. En testant plus de patients susceptibles d’être porteurs d’une des formes d’échinococcose, on détecte plus précocement des cas d’échinococcose. C’est d’ailleurs en 2022 que le nombre de cas d’échinococcose le plus élevé a été enregistré en Belgique pour les deux formes principales.



6 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 échinococcoses. 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 LNR.

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. Les dossiers seront soumis lors du prochain audit BELAC. En ce qui concerne les méthodes sérologiques, la majorité des analyses a été validée techniquement et la rédaction des dossiers est en cours.

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 2022 et 100% des résultats étaient comparables entre les 2 laboratoires.

7 TRAVAUX DE RECHERCHE, COMMUNICATIONS & COLLABORATIONS

Travaux de recherche

En 2022, plusieurs études ont été menées par le LNRE.

- a. **Évaluation des connaissances de l'échinococcose alvéolaire réalisée auprès des médecins généralistes de la province de Liège : impact d'une intervention formative. Travail réalisé en collaboration avec le Professeur Olivier Detry et Docteur Philippe Léonard (Echino-Liège)**

Résumé : L'échinococcose alvéolaire est une zoonose autochtone provoquée par le développement tissulaire de la larve d'un petit ténia, *Echinococcus multilocularis*. Malgré une faible incidence en Belgique, avec une moyenne de 10 cas recensés par an, cette parasitose pose un réel problème de santé publique car elle reste souvent difficile à diagnostiquer et potentiellement mortelle en l'absence de traitement. Les médecins généralistes sont en première ligne, mais ils ne connaissent pas toujours suffisamment la maladie, ce qui retarde le diagnostic et compromet le pronostic. L'étude visait à évaluer les connaissances à propos de l'échinococcose alvéolaire des médecins généralistes de la province de Liège via un questionnaire approprié et à accroître leur niveau de connaissance via une intervention

formative sous forme de capsule vidéo. Pour cela, deux groupes se sont formés, un groupe contrôle composé de médecins généralistes répondant à un questionnaire et un groupe expérimental composé de médecins généralistes sollicités à répondre au même questionnaire, mais après visualisation de la capsule vidéo. Au total, 95 médecins ont participé à l'étude (42 médecins dans le groupe expérimental et 53 dans le groupe contrôle). Cette étude à visée expérimentale randomisée contrôlée a montré que les médecins généralistes ont des connaissances partielles sur la symptomatologie, les outils de diagnostic et le traitement. Cependant, l'intervention formative a permis d'augmenter leur niveau de connaissances à propos de cette maladie. En effet, le pourcentage de bonne réponse est de 40 % pour le groupe expérimental versus 25 % pour le groupe contrôle.

Cette étude a fait l'objet d'un travail de fin d'études de Master en Santé Publique, réalisé par Maxime Boulanger (2021-2022, Uliège). Ce travail a donné lieu à une publication dans la Revue Médicale de Liège. L'article est disponible via le lien suivant : <https://orbi.uliege.be/handle/2268/300918>

b. Évaluation du test Hydatidose VirClia® IgG, un nouveau test immunologique chemiluminescent automatisé pour le diagnostic sérologique de l'échinococcose kystique

Résumé : Le LNRE a évalué le test immunologique chemiluminescent CE-IVD nommé Hydatidose VirClia IgG (Vircell, Espagne) et l'a comparé à deux autres tests immunologiques. Les 3 tests qui ont été comparés sont le test Hydatidosis VirClia® IgG monotest qui a été utilisé de façon automatisée sur le Virclia Lotus (Vircell, Espagne) ; le test Ridascreen Echinococcus IgG (R-Biopharm, Allemagne) et le test Bordier Echinococcus granulosus IgG ELISA (Bordier, Suisse), qui ont été testés sur l'automate ETI-Max 3000 (DiaSorin, Italie). Pour cela, un total de 79 sérums ont été rétrospectivement inclus provenant de 15 patients atteints d'une EK, 29 d'une EA, 16 d'une toxocarose et 19 témoins négatifs.

Les 3 méthodes ont montré une sensibilité de 100 %. Concernant la spécificité, les tests Ridascreen (78,1%) et VirClia (76,6%) ont montré des performances comparables (p-value : 1), alors que le test Bordier a eu des résultats plus faibles (54,7%) (p-value : 0,0007). Le test Bordier a montré 76 % de réactions croisées avec *E. multilocularis* (22/29) et 31 % avec *Toxocara sp.* (5/16), tandis que le test VirClia montrait 51,7 % (15/29) et aucune réaction croisée avec les antigènes de *Toxocara sp.* Pour le test Ridascreen, 34 % et 19 % de réactions croisées ont été observées pour *E. multilocularis* (10/29) et *Toxocara sp.* (3/16), respectivement. Des réactions non spécifiques chez les témoins négatifs n'ont été observées qu'avec les tests Ridascreen (1/19) et Bordier (2/19). Le délai d'exécution le plus court a été observé avec le test VirClia, 1 heure contre 3 heures pour les deux autres tests.

En conclusion, tous les tests ont montré une sensibilité très élevée. Cependant, en ce qui concerne la spécificité, le test VirClia est plus performant que le Bordier et similaire au test Ridascreen. De plus, le format monotest prêt à l'emploi offre de nombreux avantages tels

qu'une méthodologie plus rapide et un flux de travail réduit. Par conséquent, le test VirClia est une méthode de dépistage efficace pour la détection de l'EK, mais il doit toujours être combiné avec un immunoblot pour confirmer la spécificité. [12]

Les résultats de cette étude ont été présentés sous forme d'un poster lors du 33^e congrès ECCMID (15 – 18 avril 2023, Copenhague, Danemark). Le poster est disponible via le lien suivant : <https://orbi.uliege.be/handle/2268/302674>

Cette étude a fait l'objet d'un travail de fin d'études de Master en Pharmacie, réalisé par Élise Beaumaikers (2022-2023, Uliège). Pour la réalisation de cette étude, l'automate Virclia Lotus (Vircell, Espagne) a été placé au LNRE pour une période de deux mois pour l'évaluation de celui-ci. Au vu des résultats générés de cette étude, une demande d'acquisition de l'automate a été initiée en 2022.

Communications

En 2022, une communication orale a eu lieu lors du meeting annuel organisé par la société belge de parasitologie et protistologie (Louvain, 10 novembre 2022). Cet événement, qui a englobé tous les aspects de la parasitologie, a été l'occasion d'exposer l'épidémiologie belge des échinococcoses, ceci dans le but de sensibiliser le public sur l'émergence de ces maladies parasitaires. Les données recueillies lors de la surveillance épidémiologique de l'année 2021 ont été abordées. [13]

L'abstract en lien avec cette communication est disponible via le lien suivant : <https://orbi.uliege.be/handle/2268/299191>.

L'année 2022 a également été marquée par les préparatifs du symposium « **L'échinococcose alvéolaire, vous connaissez ?** » qui a eu lieu le 28 février 2023 à l'occasion de la Journée Mondiale des Maladies rares. 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 mis en place. 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'événement, 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'EchinoLiège 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 résumé de cette journée dédiée à l'échinococcose alvéolaire sera exposé dans le rapport d'activité de l'année 2023. [14]

Le numéro 23 du chuchotis est disponible via le lien suivant :

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

Afin d'augmenter la visibilité de nos activités, le projet de mise en place d'une page WEB directement accessible sur le site du CHU de Liège a été initié en 2022. 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 événements à venir et surtout présenter les faits inquiétants à ne pas négliger comme l'émergence des cas d'échinococcose alvéolaire. Cette page web est en cours d'élaboration pour 2023 : www.chuliege.be/LNRBE

Collaborations

Les collaborations avec les cliniciens du CHU de Liège (groupe ECHINO-Liège) et les autres institutions se sont poursuivies en 2022, 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.

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 2022, 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. En 2023, un ring test sérologique sera organisé avec le Pr Grenouillet (CHR Besançon) attaché au CNR.

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

8 ACTIVITÉS ECHINO-LIÈGE

ECHINO-Liège est un groupe multidisciplinaire informel qui s'est constitué en 2018 au CHU de Liège en réponse à l'augmentation du nombre de patients souffrant d'EA et pris en charge en région liégeoise, et particulièrement au CHU de Liège, l'hôpital de référence tertiaire. Le but premier d'ECHINO-Liège est d'améliorer la prise en charge médicale spécialisée des patients souffrant d'une des formes d'échinococcose. Ce groupe comprend des médecins du CHU de Liège mais aussi du CHR de la Citadelle avec le Dr Benoit Pirote notamment, et des hôpitaux

des autres provinces wallonnes. Il comprend des infectiologues, des hépatologues, des chirurgiens, des radiologues, des médecins nucléaristes, des microbiologistes, des anatomopathologistes, mais aussi des vétérinaires s'intéressant aux parasites de la faune sauvage et des animaux de compagnie. Son coordinateur et animateur des réunions est le Pr Olivier Detry, très impliqué dans la prise en charge de la pathologie.

D'un point de vue communication, le groupe Echino-Liège s'est réuni deux fois en 2022 (08/06/22 et 26/10/22) pour la présentation des nouveaux cas cliniques, la discussion des cas en cours de traitement et des améliorations futures à apporter. Ces réunions ont été organisées en hybride (présentiel et distanciel) de façon à faciliter la participation des différents membres du groupe et également à inviter des médecins des autres provinces à présenter leurs cas plus difficiles à prendre en charge, pour lesquels l'expérience du groupe est appréciée.

9 CONCLUSION

Le bilan des activités de l'année 2022 montre d'une part que le nombre de cas d'échinococcoses continue à augmenter annuellement, et d'autre part que le nombre de tests sérologiques et moléculaires réalisés augmente également au fil des années. En effet, l'année 2022 enregistre le record de cas d'EA et EK diagnostiqués par an. Bien qu'une émergence des échinococcoses soit observée, les incidences restent probablement sous-estimées en Belgique par notamment un manque de connaissances des médecins mais aussi par un sous-rapportage au LNRE malgré l'appel à tous les laboratoires belges. En effet, il est nécessaire que tous les cas confirmés ou probables soient signalés au LNRE de façon à suivre l'évolution la plus représentative en Belgique et d'en informer les autorités sanitaires sur l'émergence de ces maladies zoonotiques pour en améliorer le suivi et la prévention. Pour ces raisons, le LNRE en collaboration avec le groupe ECHINO-Liège continue à mettre en place des moyens de communication pour sensibiliser davantage les cliniciens. Ceci a notamment débuté en 2022 par la mise en place d'une page WEB sur le site du CHU de Liège et l'organisation d'un symposium dédié à l'EA.

Ces pathologies restent ainsi des problèmes préoccupants pour la santé publique, particulièrement pour la forme alvéolaire eu égard à la contamination autochtone. Cette contamination a principalement lieu en Wallonie où 38,6% de renards roux (principaux hôtes définitifs) sont infectés (données Pr A. Linden, Faculté vétérinaire ULiège) contre 2,1% en Flandre selon Jansen et *al.* [15]. Ces observations sont en accord avec les données recueillies lors de la surveillance épidémiologique de l'année 2022, à savoir que tous les patients belges atteints d'une EA, à l'exception d'un cas flamand résident en périphérie bruxelloise.

Pour ce qui est de l'échinococcose kystique, elle n'est pas endémique en Belgique et les cas diagnostiqués sont des résidents belges d'origine étrangère dont le pays d'origine est endémique pour l'EK. En 2022, les pays endémiques rapportés par les résidents belges atteints

de l'EK restent la Turquie suivie du Maroc et des Balkans. Ces données sont en cohérence avec les nationalités retrouvées en Belgique et les pays endémiques rapportés lors des surveillances épidémiologiques précédentes.

D'un point de vue des méthodes de diagnostic, le nombre de tests réalisés annuellement est à la hausse par rapport à l'année 2021. En ce qui concerne la sérologie (ELISA + Western Blot), elle montre une bonne performance atteignant 100% de sensibilité pour le diagnostic du genre *Echinococcus*. Par ailleurs, le WB a démontré toute son utilité dans l'analyse sérologique des échinococcoses. En effet, il est parfois le seul test à être positif, ce qui lui confère les performances d'un test très sensible et spécifique. Afin d'améliorer le diagnostic sérologique, le WB est davantage pratiqué dans le but de minimiser les faux négatifs. Ainsi, il est utilisé en cas de positivité à un test ELISA pour confirmer la spécificité mais il est aussi pratiqué en cas de négativité lorsque les données cliniques sont évocatrices d'une des formes d'échinococcose. Au niveau du diagnostic moléculaire, la PCR montre également une excellente performance pour le diagnostic de confirmation d'une échinococcose, à l'exception d'un cas pour lequel la quantité de matériel n'était pas suffisante. En effet, elle a permis d'établir avec certitude le diagnostic d'une EA ou EK pour les cas testés en 2022. Cependant, les prélèvements requis (prélèvements profonds comme une biopsie ou pièce chirurgicale) sont invasifs ce qui limite son utilisation en routine.

En 2022, 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. En effet 23 hôpitaux, en dehors du CHU de Liège, ont envoyé des sérums au LNRE durant l'année 2022 contre 17 en 2021. Ces hôpitaux belges sont bien ceux de la région wallonne que la région flamande. Pour le diagnostic moléculaire, le nombre de prélèvements reçu par les hôpitaux extérieurs n'a pas fortement augmenté avec 8 hôpitaux extérieurs en 2022 contre 7 en 2021. Ceci s'explique par le fait que la majorité des patients opérés d'échinococcose alvéolaire ont été pris en charge par les cliniciens du CHU de Liège.

10 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] 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.
- [4] 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.
- [5] 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>.
- [6] Boulanger, M., Léonard, P., EGREK, S., Detry, O., & Hayette, M. P. (2023). Évaluation des connaissances de l'Échinococose alvéolaire réalisée auprès des médecins généralistes de la province de liège. *Revue Médicale de Liège*.
- [7] 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 22/07/23.
- [8] Chiffres de la population belge par province et par commune, à la date du 1e janvier 2022. Disponible sur : https://www.ibz.rn.fgov.be/fileadmin/user_upload/fr/pop/statistiques/population-bevolking-20220101.pdf, consulté le 15/07/2023.
- [9] 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.
- [10] 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).
- [11] 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.
- [12] Egrek, Sabrina, et al. "Evaluation of a commercial IgG monostest assay: a new automated chemiluminescent immunoassay for the serodiagnosis of cystic echinococcosis." 31rd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (ECCMID). 2023.
- [13] EGREK, Sabrina, SACHELI, Rosalie, GIOT, Jean-Baptiste, et al. Belgian laboratory surveillance of human alveolar and cystic echinococcosis in 2021. In : Belgian Society of Parasitology & Protistology, 10th November 2022.
- [14] Numéro 23 du CHUchotis, 24 janvier 2023. https://www.chuliege.be/jcms/c2_25723620/echinococose-le-chu-de-liege-reference-nationale.
- [15] 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.