

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université Constantine1
جامعة قسنطينة 1



Institut des Sciences Vétérinaires
معهد العلوم البيطرية
Département l'Hygiène et Santé Animale
قسم الوقاية و الصحة الحيوانية

N° d'ordre.....

N° de série.....

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT Es SCIENCES

Option : Parasitologie

THEME

Etude épidémiologique et moléculaire
d'*Echinococcus granulosus* en Algérie

Présentée par
KOHIL KARIMA

Devant le jury :

Président	Mr. MOULAHM T	Université de Constantine 3
Examineurs	Mr. BENAKHLA A	Université d'El Taref
	Mr. ROUABHIA S	Université de Batna
	Mme. SATTA D	Université de Constantine 1
	Mme. AISSI M	E.N.S.V d'El Harrach Alger
Rapporteur	Mr. BENCHIKH ELFEGOUN MC	Université de Constantine 1

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université Constantine1
جامعة قسنطينة 1



Institut des Sciences Vétérinaires
معهد العلوم البيطرية
Département l'Hygiène et Santé Animale
قسم الوقاية و الصحة الحيوانية

N° d'ordre.....
N° de série.....

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT Es SCIENCES

Option : Parasitologie

THEME

Etude épidémiologique et moléculaire
d'*Echinococcus granulosus* en Algérie

Présentée par
KOHIL KARIMA

Devant le jury :

Président	Mr. MOULAHM T	Université de Constantine 3
Examineurs	Mr. BENAKHLA A	Université d'El Taref
	Mr. ROUABHIA S	Université de Batna
	Mme. SATTA D	Université de Constantine 1
	Mme. AISSI M	E.N.S.V d'El Harrach Alger
Rapporteur	Mr. BENCHIKH ELFEGOUN MC	Université de Constantine 1

REMERCIEMENTS

*En premier lieu, je tiens à remercier mon directeur de thèse,
Le Professeur **BENCHIKH ELFEGOUN**, pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant
d'encadrer ce travail doctoral, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'il a
consacrées à diriger cette recherche.*

Merci à tous les membres du jury qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail de thèse :

*Au Professeur **MOULAHM** qui m'a fait l'honneur de présider cette thèse,*

*Au Professeur **BENAKHLA** qui a accepté d'examiner ma thèse et qui m'a enseigné la
parasitologie au cours de mon cursus de Sciences Vétérinaires et qui serait certainement aux
côtés de Monsieur **BENCHIKH ELFEGOUN** le précurseur de ma carrière en parasitologie.*

*A Monsieur **ROUABHIA SAMIR** Maître de conférences B au CHU HADJ LAKHDAR
Université de Batna qui m'a fait l'honneur d'examiner ma thèse.*

*Au Professeur **SATTA DALILA** que je remercie pour son accueil chaleureux et ses conseils
si précieux*

*Au Professeur **AISSI MIRIAM** qui m'a toujours encouragé à aller au devant*

*Je remercie le Professeur **RENAUD PIARROUX** Directeur du Laboratoire de Parasitologie
et de Mycologie à Marseille (France), pour sa gentillesse, sa disponibilité et pour m'avoir
intégré dans son équipe cela m'a permis de m'initier à la biologie moléculaire, et en cette
occasion je remercie toute l'équipe du laboratoire en particulier **MARION LLEU, ANNE
CECILE NORMAND, CORALIE L'OLIVIER**, ainsi que tout le personnel administratif.*

*Je remercie également le Professeur **SAID HAOUAM** pour m'avoir accueilli si gentiment
dans son cabinet médical d'anatomie pathologique*

*A **LARBI AFOUTNI** pour son aide et à qui je souhaite une belle carrière*

*A tous mes aînés, collègues et amis enseignants de l'Institut des Sciences Vétérinaires
d'El Khroub Constantine*

Dédicaces

Je remercie DIEU pour m'avoir donné la force d'aller jusqu'au bout dans ce travail

Je dédie cette thèse à mon défunt père qui m'a toujours encouragé à aller si loin dans mes études, à respecter mon travail, j'espère que tu es fier de moi

A ma chère maman qui m'a tout appris dans la vie merci pour ton amour incommensurable

À mon frère et mes sœurs

À mes amies

À tout le personnel administratif et technique de l'Institut des Sciences Vétérinaires de Constantine

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	01
PREMIERE PARTIE: PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I. ETUDE DU PARASITE.....	04
1-Classification taxonomique des échinocoques	04
2-Description des formes parasitaires d' <i>Echinococcus granulosus</i>	05
2-1-Description de l'adulte	05
2-1-1-Etapes du développement de l'adulte.....	06
2-2-Description des œufs (embryophores)	07
2-3-Description des larves (ou hydatide) d' <i>E. granulosus</i>	08
3-Etude biologique	11
3-1-Cycle évolutif.....	11
4-Etude épidémiologique.....	14
4-1-Sources d'infestation.....	14
4-2- Modes de transmission de l'E.K	14
CHAPITRE II : PREVALENCE ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE L'ECHINOCOCCOSE KYSTIQUE	16
1-Prévalence de l'échinococcose kystique dans le monde.....	16
1-1-Prévalence chez les animaux herbivores (HI).....	16
1-2-Prévalence chez l'homme.....	19
1-3-Prévalence de l' <i>Echinococcus granulosus</i> chez le chien (HD).....	20
CHAPITRE III : L'ECHINOCOCCOSE KYSTIQUE MALADIE.....	22
1-Etude clinique et lésionnelle	22
1-1-L'échinococcose kystique chez les animaux	22
1-2-L'échinococcose kystique chez l'homme	25
CHAPITRE IV : DIAGNOSTIC DE L'ECHINOCOCCOSE à <i>E. GRANULOSUS</i>.	28
1-Diagnostic chez le chien.....	28
2-Diagnostic chez l'homme	31
3-Diagnostic chez les hôtes intermédiaires.....	32
4-Traitement	33
CHAPITRE V: ETUDE GENETIQUE DE L'ESPECE <i>Echinococcus granulosus</i>	35
1-Introduction à l'étude génétique	35
2-Etude des souches d' <i>Echinococcus granulosus</i>	37
3-Etude de la PCR	39
4- Etude des génomes	41

DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I : Echinococcose kystique en Algérie : les camelins comme réservoirs d'<i>Echinococcus granulosus</i> pouvant contribuer à la contamination humaine	42
1-Introduction	42
2-Matériel et méthodes.....	43
2-1- Stratégie de l'étude.....	43
2-2- collecte des échantillons.....	44
3-Description des techniques	45
3-1- Contrôle de la fertilité des kystes hydatiques.....	45
3-2- Extraction de l'ADN.....	47
3-3-Analyses moléculaires	47
4-Résultats et discussion.....	53
CHAPITRE II : Recherche de la fécondation croisée entre les souches d'<i>Echinococcus granulosus</i> G1 et G6 après une infection mixte expérimentale chez l'hôte définitif	59
1- Introduction.....	59
2- Matériel et méthodes	61
2-1- Collecte et caractérisation des deux kystes	61
2-2- Double infestation d'un chien	63
2-3- Analyses des adultes par EmsB	64
3- Résultats	65
4-Discussion.....	67
CHAPITRE III. Cibler les abattoirs pour contrôler l'échinococcose kystique en Algérie	69
1- Introduction	69
2- Matériel et méthodes.....	70
2-1- zone d'étude.....	70
2-2- La collecte des données.....	71
3-Résultats.....	72
4- Discussion.....	74
Conclusion générale.....	88
Programme de contrôle de l'échinococcose kystique à <i>Echinococcus granulosus</i>	81
Actions et perspectives de l'OMS	85
Références bibliographiques.....	87
Annexe	105
Résumé en arabe.....	113
Abstract.....	114
Résumé	115

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

E.g :*Echinococcus granulosus*

EK : Echinococcose kystique

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (OAA)

HD : Hôte définitif

HI : Hôte intermédiaire

INSP: Institut National de Santé Publique

KH : Kyste hydatique

PCR : Polymerase Chain Reaction

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

INTRODUCTION GENERALE

L'échinococcose kystique est une zoonose parasitaire majeure provoquée par le stade larvaire d'un cestode, *Echinococcus granulosus*, évoluant principalement chez le chien. Le cycle épidémiologique domestique est entretenu par le chien (hôte définitif) hébergeant le ver adulte dans son intestin grêle et le bétail qui sert d'hôte intermédiaire (Thompson et al., 2001). Cette parasitose hautement endémique sévit dans tous les continents et constitue un problème de santé publique et socio-économique notamment dans les pays d'élevage de moutons tels les pays de l'Afrique du Nord (Eckert et al., 2001 ; Shambesh, 1997 ; Dakkak, 2010). Les pertes économiques annuelles, dans le monde, ont été évaluées chez les humains et le bétail à 193.529.740 dollars et 141.605.195 dollars respectivement (Budke et al., 2006).

Les études moléculaires ont montré que le parasite *E. granulosus* n'était pas homogène. Plusieurs variants génétiques, définis comme souches ont été caractérisés au sein de cette espèce après amplification par PCR par séquençage des marqueurs mitochondriaux dans les gènes cytochrome c oxydase 1 et NADH déshydrogénase 1, à partir de diverses espèces d'hôtes intermédiaires dans diverses régions. Dix génotypes distincts (G1-G10) ont été identifiés avec un impact potentiel sur la pathologie et l'épidémiologie. Chaque génotype a été associé avec un hôte particulier et des modes épidémiologiques (Mc Manus, 1989, 2002 ; Bowles et al., 1992 ; Bowles et al., 1993) : souche ovine (G1), souche bovine (G5), souche équine (G4), souche cameline (G6)...

L'identification des souches est essentielle pour définir une stratégie de lutte contre l'E.K bien adaptée. Les souches se différencient par leur pouvoir pathogène pour l'homme, par la durée de la période prépatente chez l'hôte définitif et par le pouvoir antigénique. Ainsi, des recherches récentes ont révélé que l'antigène du vaccin (EG95), mis au point pour le génotype G1, est immunologiquement différent dans le génotype G6 (Alvarez Rojas et al., 2013).

En Algérie, deux souches, la souche commune « ovine » et la souche « cameline », ont été identifiées. (Bardonnet et al., 2003 ; Bart et al., 2004 ; Benchikh ElFegoun, 2004). La souche ovine a été trouvée chez les humains et circulant chez les ovins, bovins, caprins, et rarement, chez les camelins. Quant à la souche « cameline » (G6), elle n'a pas été souvent identifiée chez les humains vivant en Afrique du Nord sauf en Egypte (Azab et al., 2004) et en Mauritanie (Bardonnet et al., 2002), où elle a été supposée jouer un rôle important dans la transmission de l'échinococcose kystique chez les humains. Cette souche a été trouvée le plus

souvent chez les camelins en Mauritanie (Bardonnnet et al., 2002), en Egypte (Azab et al., 2004) et en Algérie (Bardonnnet et al., 2003 ; Maillard et al., 2007 ; Kohil, 2008), et quelques fois, chez les ovins, bovins et caprins (Bardonnnet et al., 2002).

L'implication des ovins et des bovins, hébergeant la souche commune ovine (G1) dans l'infection humaine via le chien, a été démontrée dans des études précédentes dans le nord et sud de l'Algérie (Bardonnnet et al., 2003 ; Benchikh ElFegoun, 2004). Cependant, l'importance des camelins n'est pas connue dans la transmission de l'E.K humaine via le chien. Dans une étude antérieure, l'évaluation de la prévalence et de la fertilité des kystes hydatiques chez les dromadaires, dans le sud de l'Algérie, a révélé des taux élevés : 24,8% et 100% respectivement (Benchikh ElFegoun, 2004).

Sur la base de ces données épidémiologiques et parasitaires, l'objet de notre présente étude est de définir, le rôle des camelins dans la dynamique de transmission d'*E. granulosus* aux chiens (H.D.) et indirectement aux humains.

Actuellement la classification à l'intérieur d'*Echinococcus granulosus* sensu lato a été révisée. Les souches ont été classées individuellement ou par groupe, et de nouvelles espèces ont été définies (Lavikainen et al., 2006 ; Nakao et al., 2007 ; Thompson, 2008 ; Saarma et al., 2009 ; Tappe et al., 2010). Ainsi, *E. granulosus* (sensu stricto) regroupe G1, G2 et G3. *Echinococcus equinus* et *Echinococcus ortleppi* correspondent à G4 et G5 respectivement. Les souches (G6-7, G8, G10) représentent l'espèce *Echinococcus canadensis* (Alvarez Rojas et al., 2013).

Concernant en particulier la souche commune G1 et la souche G6 cameline, des études précédentes ont montré en Algérie la présence d'une zone sympatrique G1/G6 (Bart et al., 2004; Maillard et al., 2007 ; Kohil, 2008). Cependant, malgré un panel important de kystes recueillis dans divers hôtes de cette zone, aucun cas de fécondation croisée n'a été identifié, corroborant la séparation de ces deux souches en des espèces distinctes.

Pour identifier efficacement les G1 et G6 et détecter les fécondations croisées éventuelles (G1/G6), Bart et coll. (2006) ont développé un nouveau marqueur génétique, le microsatellite multilocus répété en tandem (EmsB). Celui-ci a montré un niveau plus élevé de la variabilité intra-spécifique par rapport aux autres marqueurs génétiques. En outre, en raison de sa localisation dans le génome nucléaire, les fécondations croisées éventuelles peuvent être impliquées dans la modification de l'EmsB.

Le but de cette deuxième étude moléculaire est d'évaluer le potentiel de reproduction entre les souches G1 et G6 grâce à l'apport de l'EmsB. Ce nouveau marqueur génétique est en mesure de discriminer G1 et G6 et détecter surtout leurs échanges génétiques éventuels.

Sur le plan épidémiologique, la forte incidence de l'E.K démontre la nécessité de renforcer la surveillance et le contrôle de la maladie. Les chiens s'infestent habituellement après ingestion de viscères contaminés avec des kystes hydatiques qui n'ont pas été détruits après l'abattage. Pour rompre le cycle épidémiologique entre les hôtes définitifs et intermédiaires, il est impératif d'empêcher les chiens de s'infester par les organes parasités, et éviter ainsi la transmission de l'échinococcose kystique aux humains et aux animaux réceptifs. L'objet de cette troisième partie est de savoir si les conditions actuelles des abattoirs, en Algérie, sont satisfaisantes pour éviter la propagation de l'échinococcose kystique, ou au contraire, sont favorables à la contamination de l'hôte définitif.

Avant d'exposer tous nos résultats et les commenter, nous avons estimé qu'il était important de faire un rappel sur la taxonomie, la morphologie et la biologie du parasite *Echinococcus granulosus*, ainsi que sur la prévalence et le diagnostic de l'échinococcose kystique.

PREMIERE PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. ETUDE DU PARASITE

1-Classification taxonomique des Echinocoques (Craig., 2007 ; Ito et al., 2006 ; Yang et al., 2006 ; Xiao et al., 2005)

Règne : Metazoa
Phylum : Platyhelminthe
Classe : Cestoda
Sous classe : Eucestoda
Ordre : Cyclophyllidea
Famille : Taeniidae
Genre : Echinococcus

La taxonomie d'Echinococcus a longtemps été controversée. Basée principalement sur les différences morphologiques et les caractéristiques de spécificité hôte-parasite, 16 espèces et sous-espèces, 13 ont été initialement décrites. Par la suite, la plupart de ces taxons ont été considérés comme synonymes de *Echinococcus granulosus* et seulement 4 espèces valides ont été reconnues : *E. granulosus* sensu lato; *E. multilocularis* ; *E. oligarthrus* et *E. vogeli*. Mais , au cours des 50 dernières années , les observations de terrain et en laboratoire ont révélé la variabilité phénotypique considérable entre les isolats d'Echinococcus , en particulier ceux de *E. granulosus* , qui comprennent les différences dans : la morphologie, dans les deux stades larvaires et adultes , le développement in vitro et in vivo , pouvoir infectant pour l'hôte et de la spécificité d'hôte , de la composition chimique , le métabolisme , les protéines et les enzymes, la pathogénicité et l'antigénicité. L'application d'outils moléculaires a révélé des différences dans les séquences d'acides nucléiques qui reflètent cette variation phénotypique et les caractéristiques génétiques. Le fait que certains de ces variants ou souches sont ou pas infectieux pour l'homme a donné lieu à une réévaluation de l'importance de la santé publique d'Echinococcus dans les zones où ces variants circulent. Une révision de la taxonomie des espèces du genre Echinococcus a été proposée qui est généralement admise, et est fondée sur les nouvelles données moléculaires et les caractéristiques biologiques et épidémiologiques des espèces et des souches adaptées à l'hôte.

Concernant *Echinococcus granulosus sensu lato*, la nouvelle classification donne comme nouvelles espèces (Nakao et al., 2007 ; McManus, 2013)

- *Echinococcus granulosus* sensu stricto,
- *Echinococcus equinus*
- *Echinococcus ortleppi*

- *Echinococcus canadensis*
- *Echinococcus felidis*
- et *Echinococcus schiui* identifiée récemment au Tibet (Xiao et al., 2006).

Seules les caractéristiques morphologiques et biologiques de *Echinococcus granulosus sensu lato*, objet de notre étude, seront décrites.

2-Description des formes parasitaires d'*Echinococcus granulosus*

2-1-Description de l'adulte

Le cestode adulte se caractérise par une petite taille, mesurant quelques mm (3 à 4 mm environ), et possède en moyenne 3 à 4 segments, l'avant dernier segment est mûr et porte un pore génital ouvert, comme chez le segment grévide, dans sa moitié postérieure. Le dernier segment grévide mesure habituellement plus que la moitié de la longueur totale du ver entier. La partie antérieure ou scolex est munie d'un rostre armé de 30 à 42 crochets de taille variable et disposés en 2 couronnes dont ceux de la première mesurent 25 à 49 μm et ceux de la deuxième 17 à 31 μm . Les caractères morphologiques des crochets et leur disposition sont utilisés dans la diagnose morphologique de l'espèce. L'utérus grévide présente des branches latérales bien développées.

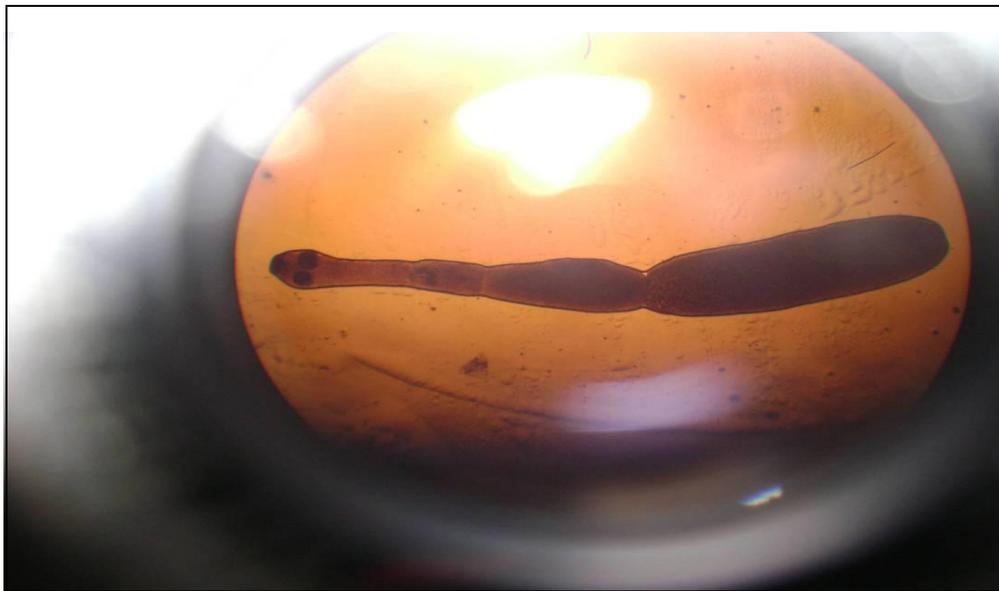


Photo 1. *Echinococcus granulosus* adulte observé au microscope optique (Kohil, 2008)

2-1-1-Etapes du développement de l'adulte

Dans l'intestin grêle

- Jour 1 : le protoscolex est évaginé et prolongé; il contient de nombreuses corpuscules calcaires.
- Jour 11-14 : les corpuscules calcaires disparaissent; les canaux excrétoires latéraux sont remarquables; formation de dénotations actuelles de rédimment génital de premier proglottis; construction d'un secteur claire au dessous du cou "bande" marque l'emplacement du premier segment.
- Jour 14-16 : le rédimment est divisé en deux et se prolonge; premier segment entièrement formé.
- Jour 17-20 : les testicules rudimentaires apparaissent dans le premier proglottis; étape initiale dans la formation du deuxième proglottis.
- Jour 20-28 : deux segments; les organes génitaux mâles "testicules, sac cirrus et conduit spermatique" se sont développés; organes génitaux femelles "ovaires et glandes de vitelline" se développant toujours; l'utérus apparaît strié; sac de cirrus et vagin ouvert à l'extérieur par le pore génital.
- Jour 28-33 : les organes génitaux mâles et femelles dans le proglottis terminal mûrissent entièrement; utérus dilatant toujours; le proglottis avant-dernier se développe; une bande ou le troisième segment apparaît.
- Jour 33-37 : l'ovulation et la fertilisation dans le proglottis terminal; l'utérus entièrement dilaté contient des zygotes divisés; organes génitaux mâles et femelles se dégénéralent dans le proglottis terminal; le strobile est divisé en 3 ou 4 segments.
- Jour 37-45 : le segment grvide avec des œufs embryonnés (oncosphères) dans l'utérus; le strobile est divisé en 3, 4 ou 5 segments (Thompson *et al.*, 1995).

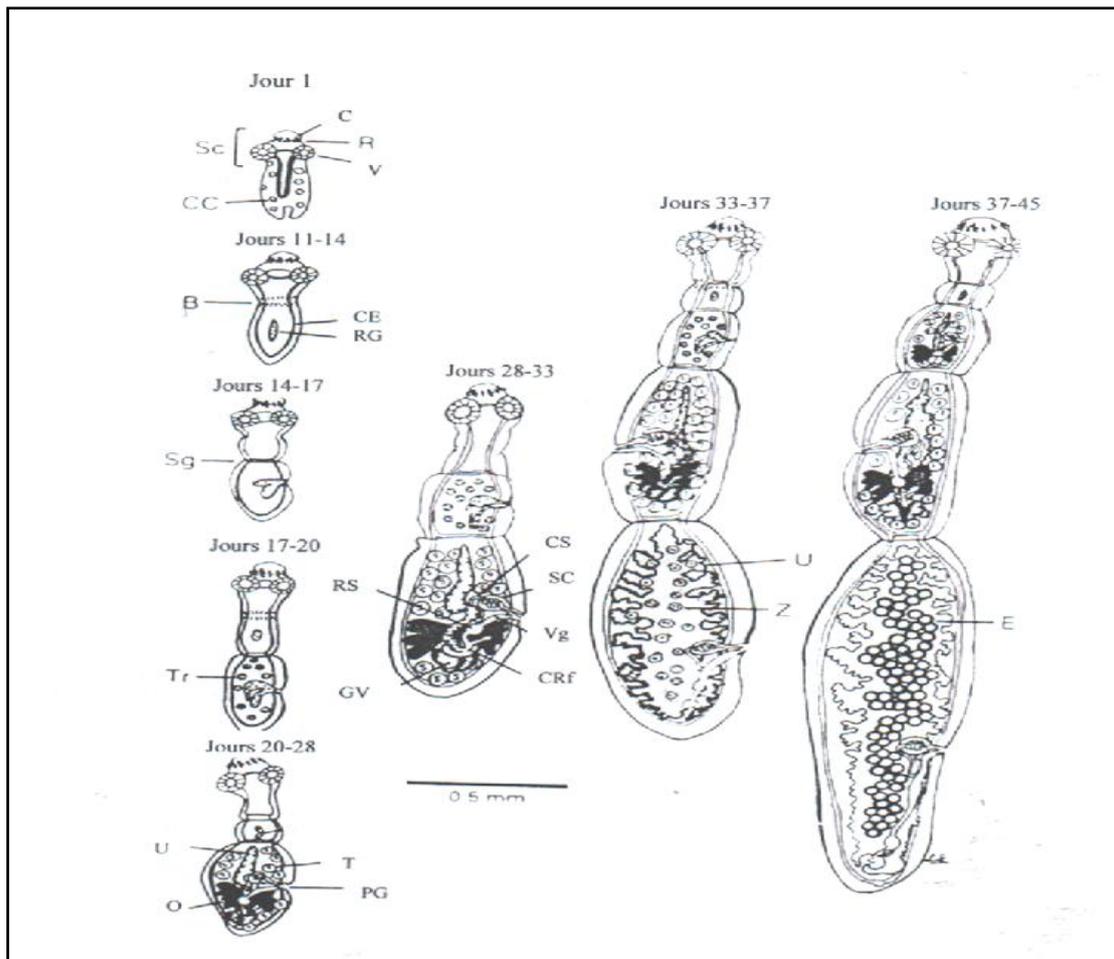


Figure 1. Les étapes de développement de l'adulte *Echinococcus granulosus* dans l'intestin grêle du chien (Thompson et al., 1995)

2-2-Description des œufs (embryophores)



Figure 2. Œufs de *Tania* spp (Bathiard et al., 2002)

Ce sont des éléments microscopiques de 35 à 45 μm de diamètre légèrement ovalaires et morphologiquement semblables aux œufs de *Tænia hydatigena* et *Tænia pisiformis* et donc ne peuvent pas être différenciés entre eux.

Les œufs d'*E.granulosus* sont de forme sphérique à ellipsoïde, de 30-50 μm sur 22-24 μm de diamètre. Ils sont entourés d'une coque épaisse, ou embryophore, striée transversalement, contenant à l'intérieur un embryon hexacanthé pourvu de six crochets disposés par paires, appelé encore oncosphère. La maturation de l'œuf se réalise dans le milieu extérieur (Euzéby., 1966; Marion, 2009).

Ils sont résistants dans le milieu extérieur et devront être ingérés par l'hôte intermédiaire réceptif pour poursuivre leur évolution.

2-3-Description des larves (ou hydatide) d'*E. granulosus*

La larve d'*E. granulosus*, parfois désignée sous l'appellation de *Echinococcus polymorphus* ou hydatide, possède des dimensions très variables, mais elle a habituellement le volume d'une noix et atteint souvent celui d'une orange, parfois celui de la tête d'un enfant (Euzéby., 1998).

La forme larvaire, *E. polymorphus* appelée aussi vésicule échinococcique ou hydatide, est de couleur blanche, globuleuse et de taille variable.

- 1 : Adventice
- 2 : Cuticule
- 3 : Membrane prolifère
- 4 : Liquide hydatique
- 5 : Sable hydatique
- 6 : Vésicule fille exogène
- 7 : Vésicule prolifère
- 8 : Protoscolex
- 9 : Vésicule fille endogène
- 10 : Vésicule petite fille

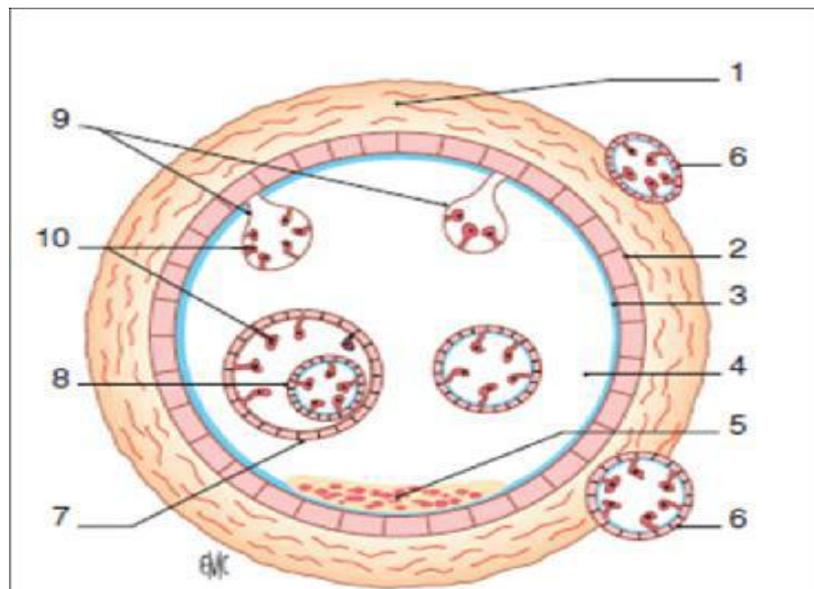


Figure 3. Structure de la larve hydatide (Lausier, 1987; Koltz et al., 2000)

Une fois sa structure complète acquise, la larve comporte les éléments suivants :

- une membrane externe cuticulaire, membrane hyaline, blanchâtre, protectrice vis-à-vis des bactéries et des grosses molécules mais laissant passer les éléments nutritifs. Immersée dans l'eau, elle se rétracte et s'enroule sur elle-même en cornet (caractère de diagnose).

- une membrane interne, germinative ou membrane proligère, est une mince pellicule plasmoidale, richement nucléée, et correspond à la partie fertile de l'enveloppe du parasite. Cette membrane a un rôle important car elle génère tous les éléments hydatiques internes de la larve.

- un liquide vésiculaire, clair appelé "eau de roche", toujours en hypertension. C'est le liquide hydatique qui est riche en histamines dans les hydatides fertiles. Il renferme des sels minéraux, de l'albumine, des acides aminés, de la lécithine, de la choline et diverses enzymes.

- des éléments germinatifs : appelés capsules ou vésicules proligères, Celles-ci contiennent des scolex larvaires ou protoscolex, à partir desquels, se forment chez l'hôte définitif, des vers adultes. Les nombreuses granulations que ces vésicules forment ressemblent à des grains de sable d'où l'appellation de "sable hydatique".

Les vésicules proligères qui sont produites par la membrane germinative, apparaissent d'abord à la surface de celle-ci comme de petits bourgeons qui, peu à peu, se développent et se creusent d'une cavité qui s'emplit de liquide. Quand elles atteignent leur développement complet, elles ne sont plus liées à la germinative que par un court pédicule.

Les scolex, à l'intérieur de ces capsules vont apparaître sous forme de petits bourgeons pariétaux, puis acquièrent leur structure céphalique typique. Ils sont fixés alors par un court pédicule à la face interne de la capsule proligère.

Autour du kyste, le parenchyme de l'organe parasité se tasse et devient l'adventice ou le péri-kyste, où se développent progressivement une importante réaction granulocléreuse et une riche néo-vascularisation.

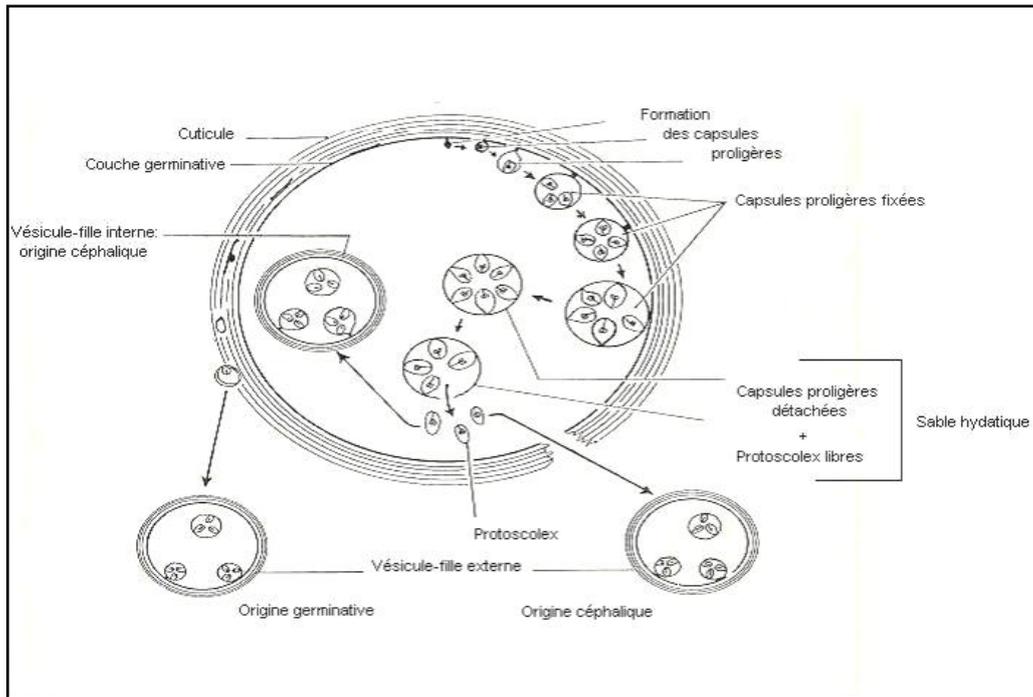


Figure 4. Schéma de la formation des vésicules filles (Euzéby, 1971)

3-Etude biologique

3-1-Cycle évolutif

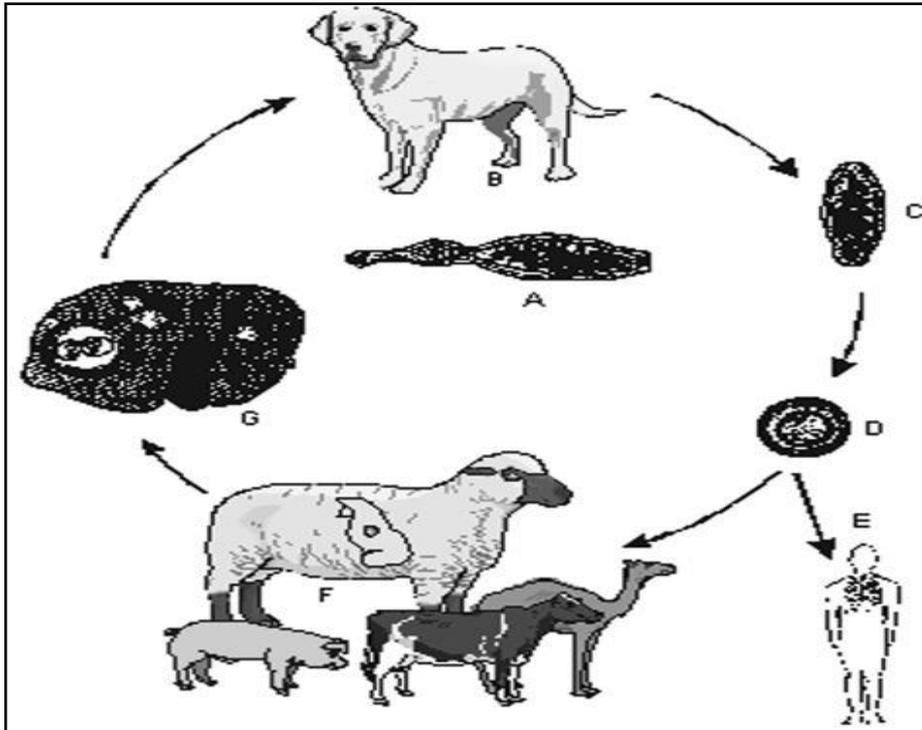


Figure 5. Cycle évolutif de *Echinococcus granulosus*
(Eckert et al., 2004)

- A : parasite adulte
- B : principal hôte définitif, le chien domestique.
- C : proglottis avec œufs.
- D : œufs avec oncosphères.
- E : infection chez les humains.
- F : mouton et autres ongulés (hôtes intermédiaires).
- G : le foie de mouton atteint de kyste hydatique.

Comme pour tous les taeniidés, le cycle biologique d'*Echinococcus granulosus* est de type hétéroxène, s'accomplissant chez deux hôtes ; un hôte définitif, principalement le chien et d'autres canidés sauvages (loup, chacal, coyote...) et des hôtes intermédiaires, le mouton principalement ainsi que d'autres herbivores (bovins, caprins, camelins, équins...), l'homme intervient dans le cycle comme hôte accidentel (Altintas, 2003). Le cestode adulte *E. granulosus* vit dans la partie proximale de l'intestin grêle du chien. Le nombre de vers échinocoques développés est fonction du nombre de protoscolex ingérés. Le chien est habituellement infesté par plusieurs centaines de vers fixés entre les villosités intestinales de

l'intestin grêle. Le segment ovigère, rempli d'œufs, se détache du strobile (corps du ver) et s'élimine avec les déjections dans le milieu extérieur où il se désintègre et libère les œufs. Chaque œuf ou embryophore renferme un embryon hexacanthé ou oncosphère. Après ingestion par un hôte intermédiaire, l'oncosphère est libérée de sa coque sous l'action des sucs digestifs, elle traverse la paroi intestinale à l'aide des crochets et de ses propres sécrétions, elle mesure 20 à 25 μ de diamètre mais sa plasticité lui permet de franchir tous les capillaires. Elle gagne par le système porte le foie, parfois dépasse le foie par les veines sus-hépatiques et parvient aux poumons. Plus rarement, la localisation peut se faire dans n'importe quel point de l'organisme par la circulation générale. Une fois dans le viscère, l'embryon se transforme par un processus de « vésiculation » en larve hydatide. Le cycle est fermé lorsque le chien (hôte définitif) ingère les viscères (foie, poumons) portant des kystes fertiles, des animaux (hôtes intermédiaires) parasités (Médecine Tropicale, Actualités, 2004). Les protoscolex ingérés subissent l'action de la pepsine de l'estomac et s'évaginent dans la partie antérieure du duodénum sous l'effet de la bile et de la modification du Ph. Ils se développent ensuite en vers sexuellement matures, (Schantz et al., 1995; Petavy et al., 1990 ; Bourdeau & Beugnet, 1993). Chaque protoscolex ingéré peut donner naissance à un cestode adulte au bout de six semaines en moyenne après l'infestation. Cependant, la durée de la période prépatente varie selon les souches de l'espèce *E. granulosus*. L'homme s'insère accidentellement dans le cycle du parasite, il constitue généralement une impasse parasitaire.

L'hydatide suite à une reproduction asexuée sous forme de polyembryonie active, renferme plusieurs centaines de milliers de protoscolex, éléments infestants pour l'hôte définitif. Le développement de l'hydatide est très lent et la fertilité (formation des protoscolex) n'est obtenue qu'au bout de 15 à 18 mois chez les ovins et les bovins. Par conséquent, la contamination des chiens est due essentiellement aux animaux âgés (brebis et vaches âgées).

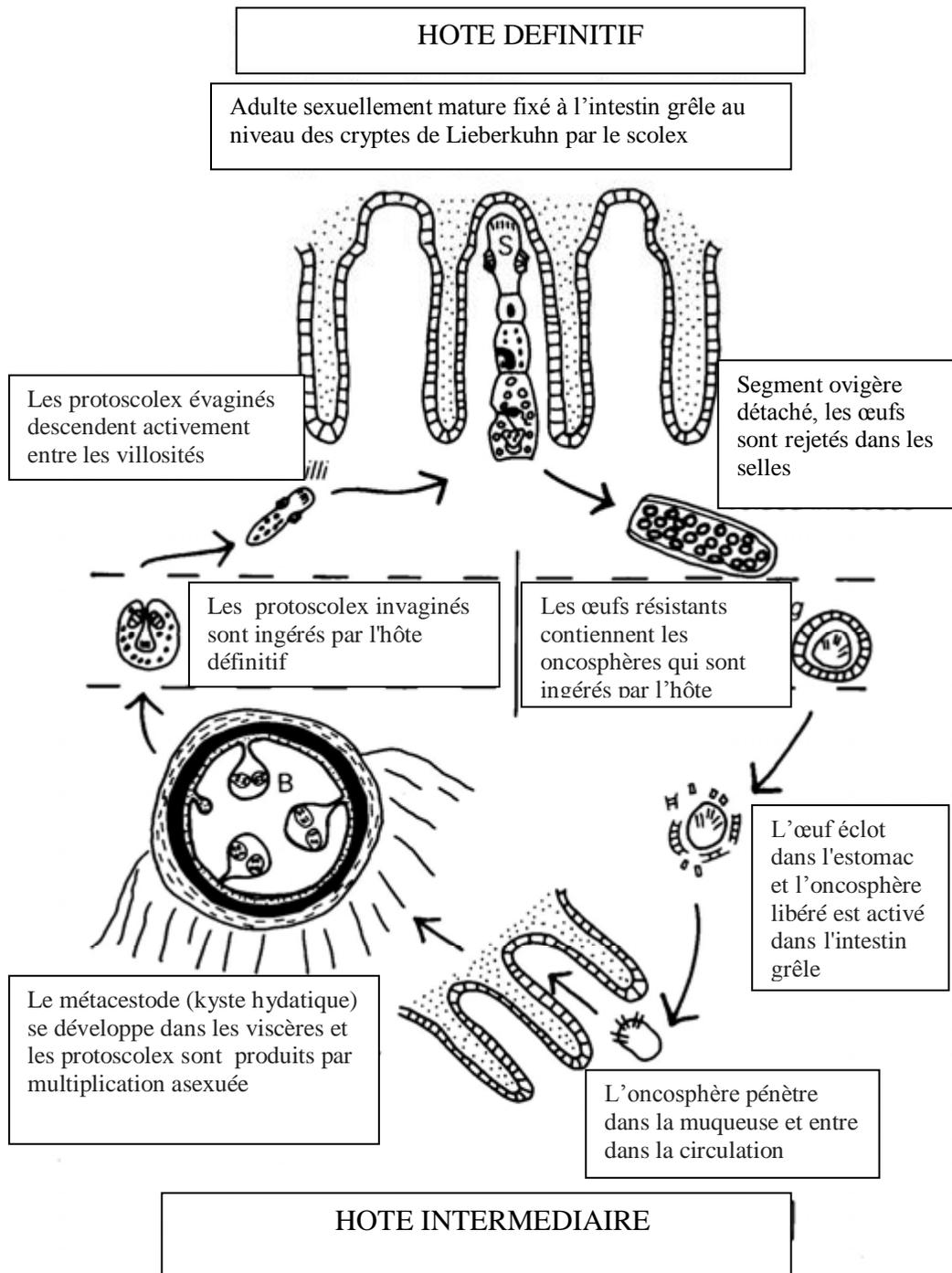


Figure 6. Cycle évolutif basique d'*Echinococcus granulosus* (Thompson, 1995).

4-Etude épidémiologique

4-1-Sources d'infestation

4-1-1- Sources indirectes

Les herbivores et les omnivores (hôtes intermédiaires), infestés par la larve d'*E. granulosus*, renfermant des protoscolex (larves fertiles) constituent des sources indirectes et, assurent l'infestation du chien et autres canidés sauvages (hôtes définitifs). Le mouton est considéré comme le principal hôte intermédiaire de l'échinococcose kystique en raison des taux d'infestation et de fertilité des kystes très élevés. Mais les taux d'infestation rapportés chez les autres ruminants (bovins et camelins surtout), montrent que le rôle de ces espèces dans l'entretien de l'échinococcose kystique n'est pas négligeable (Gusbi et al., 1990 ; Benchikh Elfegoun, 2004 ; Azlaf & Dakkak, 2006).

4-1-2- Sources directes

Ce sont les mammifères carnivores appartenant à la famille des canidés principalement le chien. Le chien parasité par le cestode adulte *Echinococcus granulosus* rejette dans ses déjections des segments ovigères remplis d'œufs (200 à 800 œufs) 42 à 61 jours (durée de la période pré patente), après absorption de viscères d'hôtes intermédiaires infestés par des kystes hydatiques fertiles (contenant des protoscolex).

4-2- Modes de transmission de l'E.K

4-2-1- Chez les animaux (hôtes intermédiaires)

Les animaux réceptifs contractent l'échinococcose kystique par ingestion d'œufs d'*Echinococcus granulosus* renfermant des embryophores hexacanthés viables. La contamination des ruminants se produit lors de la consommation des fourrages ou eau de boisson souillée par les matières fécales de chiens de bergers ou de chiens errants parasités.

4-2-2- Chez le chien (hôte définitif)

Le chien s'infeste par le téniasis à *Echinococcus granulosus* après ingestion de viscères (foie et poumons le plus souvent) parasités par des hydatides fertiles.

4-2-3- Chez l'homme

Les humains sont des hôtes accidentels conférant ainsi à la maladie un caractère zoonotique.

L'homme contracte l'infestation :

- soit par contact direct avec un chien parasité : les segments ovigères s'accumulent dans la région péri anale où ils se désintègrent et libèrent les œufs. Le chien disperse ces œufs avec la langue sur différentes parties de son corps et, l'homme (enfant surtout) se contamine en caressant le pelage de l'animal puis en portant la main chargée d'œufs dans la bouche. Un contact étroit et un manque d'hygiène sont des facteurs favorables à sa contamination.

- soit par contact indirecte après ingestion de végétaux (légumes, fruits) ou eau souillée par les œufs du parasite. L'homme peut être aussi contaminé dans le cadre de ses activités au quotidien tels les bergers, les vétérinaires et les éleveurs (Acha, 1989).

Les facteurs de risque de la contamination humaine ont été étudiés dans certains pays. A titre d'exemple, (Campos-Bueno et al., 2000) en Espagne, ont évalué plusieurs facteurs de risques dans une enquête touchant 127 patients atteints d'E.K prouvée et 127 témoins associés par le sexe, âge, et la résidence. Le risque d'infestation était plus élevé dans les petits endroits comptant jusqu'à 500 habitants et augmente avec le nombre de chiens dans la famille et le nombre d'année de coexistence avec eux. Par ailleurs, les facteurs de risques importants étaient des chiens ayant accès aux viscères crus des animaux abattus et des chiens gardés en liberté et capables de pénétrer dans les habitations. Par contre, l'ingestion des produits du potager familial sur une longue période n'a pas été associée avec l'augmentation du risque pour l'échinococcose kystique. Dans une enquête réalisée en Argentine, un des facteurs de risque pour l'E.K était de s'entourer par un grand nombre de chiens pendant leurs premières années de vie (Larrieu et al., 2002). Dans la région du Tibétain chinois (Sichuan), l'augmentation des risques était associée avec la vie nomade, l'âge, les jeux avec les chiens, l'absence de protection de la nourriture des insectes, et l'élevage des yacks et moutons (Wang et al., 2001). Dans les régions arides de l'Afrique, l'eau est une source d'infestation par *E. granulosus* où les humains et les carnivores utilisent souvent les mêmes points d'eau (Macpherson, 2001).

CHAPITRE II : PREVALENCE ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE L'ÉCHINOCOCCOSE KYSTIQUE

1-Prévalence de l'échinococcose kystique dans le monde

La prévalence de l'échinococcose uniloculaire à *Echinococcus granulosus* varie considérablement d'une aire géographique à l'autre, avec des foyers de hautes endémicité dans le sud de l'Amérique latine (Pérou, Chili, Argentine, Uruguay et du sud du Brésil), dans les pays de l'Europe du sud notamment la Grèce, Roumanie, Italie, sud de la France, Espagne et Portugal, le sud de la Russie, au Moyen-Orient, le sud ouest de l'Asie (Turquie, Iraq, Iran), et en Chine (Acha, Szyfres, 1989 ; WHO, 2001). En Afrique, la maladie sévit avec une grande endémicité dans les pays de l'Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye), mais aussi dans certains pays de l'Afrique de l'Est (Kenya dans la région du Turkana et au Massaï), Tanzanie, Ouganda, Soudan et Ethiopie (Macpherson & Craig, 1991 ; Romig, 1990 cité par Andersen et al., 1997 ; Eckert, 2001).

Dans certains pays l'E.K est un problème émergent (Eckert et Deplazes, 2004). Donnons l'exemple du Kazakhstan et du Kyrgystan où l'incidence humaine de l'E.K a augmenté de trois à quatre fois dans les dix dernières années (Torgeson et al., 2002 ; 2003). En Algérie, l'échinococcose kystique constitue un problème majeur de santé publique et économique. Autrefois, Senevet (1951), Pampiglione (1965) et plus tard Benhabyles (1984), considéraient les hauts plateaux, comme une zone d'enzootie de la maladie en raison de son statut de région traditionnelle de l'élevage pastorale du mouton. L'échinococcose kystique humaine a enregistré de forts taux dans les wilayas où l'élevage de mouton est important (M'sila, Saida, Sétif, Oum El Bouaghi,.....) (Benhabyles, 1984).

En 2002, les chiffres rapportés par l'INSP montrent que l'incidence la plus élevée de l'E.K humaine est enregistrée dans les régions à grand élevage ovin (M'sila : 44 cas, Médéa : 63 cas, Tiaret : 38 cas).

1-1- Prévalence chez les animaux herbivores (hôtes intermédiaires)

Le caractère endémique de l'échinococcose kystique a été rapporté chez le cheptel ovin dans de nombreux pays du monde avec des saisies et des pertes économiques importantes (Carmena et al., 2013), tous les pays de l'Afrique du Nord sont concernés par l'E.K. Ainsi au cours d'une enquête réalisée à grande échelle au niveau de divers abattoirs en Algérie, Larbaoui et al., (1980) ont relevé un taux d'infestation élevé de 21,2% sur 1.735.257 de

moutons abattus. Au Maroc, la prévalence a atteint 50% chez les jeunes ovins et plus de 90% chez les brebis âgées (Bulletin Mensuel de Liaison et d'Information. 2000).

En 2006, Azlaf & Dakkak, étudient la prévalence chez 2948 moutons, 2337 chèvres, 618 bovins, 482 chameaux et 455 équidés dans 4 régions du Maroc à élevage pastoral: le Rif (côte de la Méditerranée et les montagnes hautes du Rif), le Loukkos (plaine du nord et l'Atlantique), le centre (Rabat et les régions de Casablanca), les montagnes du centre de l'Atlas et le sud (région arides et semi désertiques). Le résultat montre des taux moyens d'environ 56% chez les bovins, 40% chez les ovins, 20 % chez les chameaux, 17,80% chez les équidés et 7 % chez les caprins. Ces taux étaient beaucoup plus élevés dans le Loukkos (85 % des bovins et 59 % des ovins) et dans le Moyen Atlas (68 % du bétail et 45 % des moutons) que dans les autres régions. En Tunisie, pays hautement endémique dans la région méditerranéenne, le taux d'infestation enregistré de 1993 à 1996, dans huit localités du pays, était de 65,6% (Lahmar, 1999). L'endémie hydatique a été aussi mise en évidence en Libye où Tashani en 2002 a trouvé un taux encore élevé de 20% sur un total de 1087 moutons.

Des taux d'infestation souvent élevés ont été trouvés chez les bovins dans les pays d'Afrique du Nord : 12,66% en Algérie (Benchikh Elfegoun, 2004), 22,98% (8,3% : <2ans, 83,4% : >5ans) au Maroc (Azlaf & Dakkak, 2006), 5,4% en Libye (Gusbi et al., 1990) et 6,4% en Egypte (Haridy et al., 2006). Le dromadaire constitue également un véritable réservoir de kyste hydatique. En effet, cette espèce est souvent très infestée, des taux élevés ont été rapportés en Algérie : 42,1% (Larbaoui et al., 1980) et 24,8% (Benchikh Elfegoun, 2004), et 12,03% (Azlaf & Dakkak, 2006), en Libye : 48% avec une prédominance de l'atteinte pulmonaire et 90 % de kystes fertiles (Ibrahim et al., 1998), en Mauritanie : 54 à 60% (Beurdeley et al., 1997).

L'échinococcose kystique est aussi répandue dans la plupart des pays sub-sahariens sur le long de la zone vaste du Sahel à l'Afrique du Sud. De récents rapports ont indiqué une prévalence variable chez le bétail dans divers pays. Les régions à haute endémicité sont retrouvées en Afrique de l'Est incluant le Soudan, l'Ethiopie, le Kenya et l'Ouganda. (Eckert, 2002). En Ethiopie, des taux d'infestation variant de 2 à 26% ont été rapportés chez le cheptel ovin dans deux localités (Eckert, 2002).

L'appréciation de la prévalence au Kenya a montré des taux assez élevés de 30%, 15% et 61,4% chez les bovins, caprins et camelins respectivement (Njoroge, 2002)

La maladie est endémique dans les pays du Moyen Orient. Les pourcentages d'infestation relevés chez les bovins en Iran et en Irak étaient respectivement 22,9% et 10,9% (Saeed et al., 2000). Chez les dromadaires, on a rapporté des taux de prévalence souvent très élevés : 26,7% en Jordanie (Seimenis, 2003), 11 à 61% en Iran (Dar & Alkarmi. 1997), 35,2% et 59,3% avec une prédominance de l'atteinte pulmonaire en Iran (Ahmadi, 2005).

En Europe, les foyers de forte endémicité sont situés principalement dans les pays du sud et du centre du continent tels l'Espagne, Italie, Portugal, Sud de la France, Grèce, Turquie, la Roumanie et la Yougoslavie (Fertin et al., 2006).

En Turquie, lors d'une enquête, le taux d'infestation a atteint 51,1% chez les ovins dans différentes régions du pays. (Eckert, 2002). L'échinococcose kystique est hautement endémique dans diverses régions d'Espagne. Une enquête basée sur les ultrasons pour la détection des kystes hydatiques chez les ovins a été réalisée en Sardaigne en 2012 sur trois fermes identifiées en A, B, C sur un total de 129 moutons ; les résultats ont montré 51, 30 et 48 animaux atteints respectivement dans les fermes A, B et C (Dore, 2014).

Le caractère fortement endémique de l'échinococcose à *E. granulosus* a été mis en évidence chez les moutons dans d'autres pays tels la République de Russie, Bashkorstostan : 38%, en Ouzbekistan : 47,2%, dans le district sud de Moldavie : 72, 6% (Bondari & Bondari, 1998).

En Asie, et dans la République Populaire de Chine, des taux d'infestation très élevés ont été rapportés chez les ovins dans diverses régions du pays : de 0 à 99% dans la province de Xingjiang, 10 à 100% à Qinghai, 56% au Tibet. Pour les autres ruminants, les prévalences trouvées dans plusieurs provinces chinoises de 1984 à 1995, étaient de 0 à 88% et 4 à 42% chez les bovins et caprins respectivement dans la province de Xingjiang, 51% et 14 à 32% pour les bovins et caprins dans la province de Gansu, et 72% chez les bovins à Qinghai, 81% et 3% pour les bovins et caprins respectivement à Ningxia, et 66% des bovins au Tibet (WHO, 2001 ; Xiao, 2006).

En Australie, dans l'Ile de Tasmanie, la prévalence de l'échinococcose était très élevée avant l'établissement du programme de contrôle de la maladie, avec 12% de chiens parasités par *E. granulosus*, 52% des ovins et plus et 17% des bovins infestés par les kystes hydatiques (WHO, 2001).

1-2- Prévalence chez l'homme

L'E.K a un caractère anthroponotique. L'incidence chez l'homme est très élevée dans les pays de l'Afrique du Nord. En Algérie, 2,06 cas pour 100.000 habitants ont été notifiés en 2002 (INSP, 2002), mais ce chiffre est en deçà de la réalité car il ne tient compte que des cas chirurgicaux enregistrés dans les services de chirurgie. Au Maroc, de 1980 à 1992, 13.973 cas ont été enregistrés, avec une incidence annuelle de 4,8 cas hospitalisés par 100.000 habitants (Laamrani El Idrissi et al., 1997). De même, en Tunisie, l'incidence sociale de l'échinococcose kystique est très importante. Elle est à l'origine de 10% des opérations chirurgicales dont le coût est estimé à 800 dollars par malade. En Libye, l'utilisation de l'échographie (ultrasons) lors d'une enquête portant sur 4103 patients a permis de déceler 57 cas (1,4%) d'E.K (Shambesh, 1992).

L'échinococcose kystique revêt aussi une incidence humaine importante au Moyen Orient et dans les pays du Golf. A titre d'exemple, en Iran, une étude effectuée de 2000 à 2009, a montré que sur 294 patients atteints d'échinococcose kystique, 108 (36,9%) venaient de la région urbaine et 185 (63,1%) de la région rurale (Hajipirloo et al., 2013)

En Europe, l'E.K a une distribution géographique variée. Une endémicité élevée a été enregistrée dans les pays des Balkans, incluant la Yougoslavie, la Roumanie, la Bulgarie et la Grèce. En Bulgarie, entre 1983 et 1995, le nombre de cas d'échinococcose humaine est passé de 176 à 291 correspondant à une incidence annuelle de 2 à 3,3 pour 100.000 habitants (Shaikenov et al., 2002).

L'échinococcose kystique revêt chez l'homme un véritable problème de santé publique dans la Fédération de Russie et dans les Etats indépendants limitrophes (Larrieu et al., 2002 ; Powlowski, 2001).

En République Populaire de Chine, le cycle synanthropique impliquant le chien domestique et principalement le mouton est le mode de transmission le plus commun et la principale source d'infestation pour l'homme. Une étude a montré un total de 8939 cas d'échinococcose humaine signalé de 2006 à 2011, le taux de prévalence était de 818.7/100000, et 88,9% des patients étaient des bergers. Cas répartis dans la province du Sichuan (Xi et al., 2013).

En Amérique du Sud, l'E.K. est présente dans la plupart des pays, mais les prévalences les plus importantes sont enregistrées dans les régions d'Argentine, Pérou, Chili, Brésil et

Uruguay où le parasite est à l'origine de problèmes de santé publiques très importants. Ainsi, des taux d'incidence annuelle élevés ont été enregistrés en Argentine : à Rio Negro une enquête effectuée sur 560 a montré un taux de 189 (34%) enfants atteints et 371 (66%) adultes. Tous les participants à l'étude ont été examinés pour l'E.K en utilisant l'échographie abdominale, et des radiographies thoraciques (Bingham, 2014)

1-3- Prévalence de l'*Echinococcus granulosus* chez le chien (hôte définitif)

Le chien est le principal responsable de la transmission de l'échinococcose kystique à *E. granulosus* chez le bétail et chez l'homme (Zhang, 2006). Par conséquent, l'évaluation de la prévalence chez l'hôte définitif est très importante car elle permet d'évaluer les risques de contamination des animaux réceptifs (hôtes intermédiaires) et des humains en raison du caractère zoonotique de l'E.K. Les taux d'infestation élevés des chiens avec *E. granulosus* rapportés dans divers pays endémiques témoignent du rôle important de cette espèce dans l'entretien des cycles épidémiologiques. Ainsi, dans les pays de l'Afrique du Nord, des taux très élevés ont été enregistrés. En Algérie, en 2008, deux régions de l'Est ont servi à une recherche de la prévalence de l'échinococcose chez des chiens en utilisant l'ELISA, ainsi 372 sérums dont 87 provenant de Sétif et 285 de Constantine ont été analysés, les résultats ont montré que parmi 107 sérums de chiens de la région urbaine de Constantine 40 sérums répondaient positivement à l'ELISA, et 105 positifs parmi 178 provenant de la région rurale. 18 sérums étaient positifs parmi les 87 sérums de Sétif (Benchikh ElFegoun et al., 2008).

Une seconde étude, utilisant l'autopsie des chiens, effectuée dans les régions urbaine et rurale de Constantine, a montré des taux de 15,55% et 26,66% dans les deux régions respectivement (Kohil, 2008). 33% chez les chiens errants au Maroc (dans la province de Khemisset) (Ouhelli et al., 1997), 21% (Lahmar et al., 2001) en Tunisie, et enfin 35,9% en Libye (Awan et al., 1990).

En Afrique de l'Est, on a également relevé des taux d'infestation élevés avec *E. granulosus*: 39,4% dans la région du Turkana, au Kenya (Macpherson, 1995).

La prévalence de l'infestation a été aussi déterminée chez les chiens en Jordanie où 29,5% des sujets étaient parasités avec *E. granulosus* (Al-Qaoud et al., 2003), en Irak : 24,3% (Saeed et al., 2000) et en Iran : 48% et 33,3% de chiens urbains et de chiens nomades infestés respectivement (Maleky et al., 2000).

En Italie (en Sicile), Garippa (2006) a enregistré un taux d'infestation de 5,6% des chiens de bergers.

La prévalence a été aussi déterminée chez les chiens en Amérique latine. Ainsi, en Uruguay, des taux de 24% et 4% ont été trouvés sur des chiens de ferme et de ville respectivement dans la province de Tacuarembó (Oku et al., 2004).

L'évaluation de la prévalence d'*E. granulosus* a été faite en Chine, dans la province autonome de Xinjiang Uygur où 30% de la population canine étaient infestés (Liu, 1993).

Plus récemment, l'utilisation du test ELISA-coproantigène a permis d'enregistrer un taux encore plus important (36%) dans la région de Naren bukee en Chine (Wang et al., 2001).

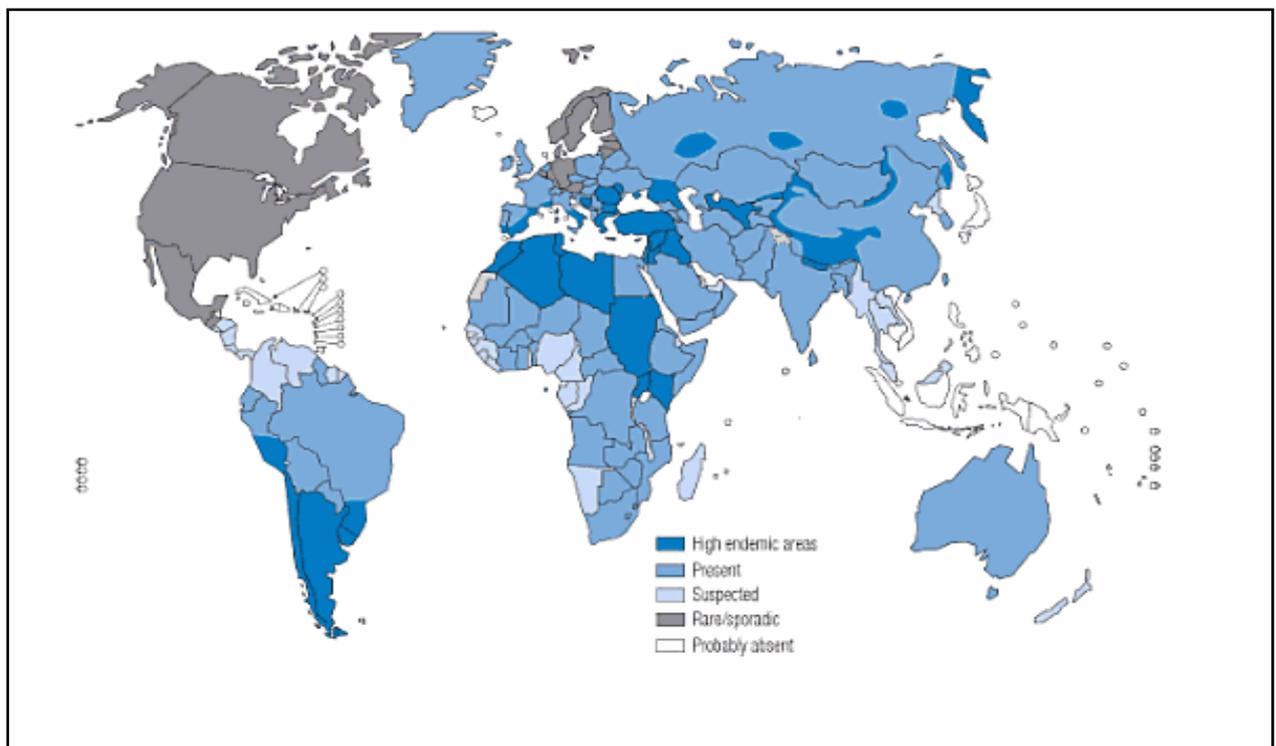


Figure 7. Distribution de l'échinococcose kystique dans le monde (WHO, 2010)

CHAPITRE III : L'ECHINOCOCCOSE KYSTIQUE MALADIE

1-Etude clinique et lésionnelle

1-1-L'échinococcose kystique chez les animaux

Il faut considérer, en matière d'échinococcose kystique : l'E.K primitive et l'E.K secondaire.

1-1-1-l'Echinococcose kystique primitive

Symptômes

Elle évolue consécutivement à l'absorption des oncosphères. Elle ne se manifeste que tout à fait exceptionnellement du vivant des animaux parasités. De plus, même lorsqu'elle s'exprime par quelques troubles objectifs, ceux-ci sont habituellement dépourvus de toute spécificité. Il existe plusieurs formes.

Forme hépatique, caractérisée par :

- l'irrégularité de l'appétit ; des troubles de la rumination chez les bovins et les ovins ; de la diarrhée rebelle.
- Dans quelque cas, l'hypertrophie hépatique est décelable à la percussion et à la palpation. Cette dernière peut même permettre la perception des kystes hépatiques.

Forme pulmonaire Dans cette forme, on rencontre

- La toux, la dyspnée, sans expectoration et sans signes physiques.
- Une légère sub-matité et l'absence locale de murmure vésiculaire.

Forme cardiaque Les symptômes de cette forme sont :

- la dyspnée.
- à l'auscultation on note une diminution de l'intensité des bruits du cœur (localisation myocardique) et des souffles (localisation endocardique).

Forme osseuse qui se manifeste par :

- des fractures spontanées, des déformations osseuses et des boiteries (Euzéby, 1971).

Lésions

Les lésions de base sont les kystes hydatiques.

Lésions macroscopiques

- La topographie des organes parasités est modifiée ou déformée en fonction du nombre et de la dimension des kystes; ils sont souvent hypertrophiés.
- Dans les infestations massives, une grande partie du tissu est remplacée par les kystes; à la surface de l'organe apparaissent plusieurs bosselures, à contour blanchâtre.

- Chez les animaux fortement infestés, le foie hypertrophié (hépatomégalie) ressemble à certains endroits, à une grappe de raisins. La surface des poumons apparaît irrégulière, en dépression ou surélévation.

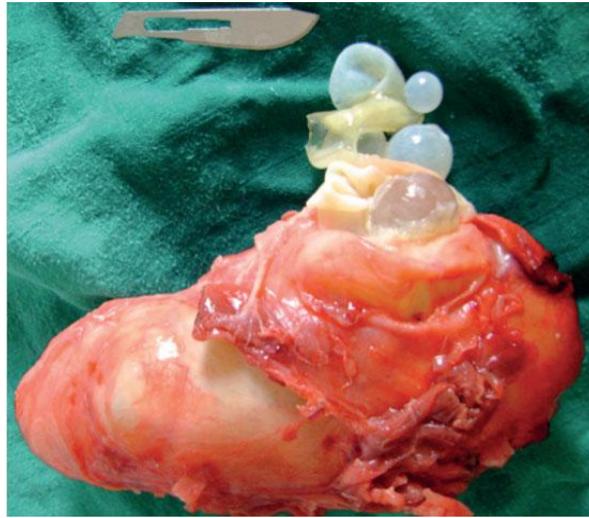


Photo 2. Kyste hydatique ouvert avec vésicules filles remplies d'un liquide clair contenant les protoscolex (Zejjari et al., 2014)

-Le liquide, sous pression dans le kyste jaillit à la ponction. A l'ouverture du kyste, on observe la morphologie classique du kyste hydatique. L'examen du liquide hydatique révèle la présence d'une masse de grains sableux, constitué par des capsules proligères et des protoscolex, signe d'une larve fertile.

- Le KH âgé peut subir des altérations dégénératives: suppuration, caséification, calcification. La lésion est alors dure et crisse sous le couteau. Sa nature hydatique n'est pas facile à déterminer.

Lésions microscopiques

- A l'examen microscopique, on observe les différents éléments de kyste hydatique: adventice, paroi, protoscolex, capsule proligère, et les modifications du tissu environnant.

- Le foie présente divers degrés de cirrhose, de dégénérescence, de désorganisation des cordons hépatiques et d'atrophie par compression. Entre les kystes, les cordons du tissu hépatique apparaissent comme les îlots.

- Au niveau des poumons, les lésions les plus importantes sont le collapsus et l'emphysème, caractérisé par la stratification des couches alvéolaires, la dilatation et la rupture des parois alvéolaires, créant ainsi la formation de larges zones alvéolaires qui communiquent entre elles.

- Les lésions péri kystiques de chaque organe montrent une forte infiltration par les mononucléaires avec prédominance de lymphocytes, de plasmocytes et de cellules géantes. On trouve également des cellules épithéloïdes et des fibroblastes.

1-1-2-l'échinococcose kystique secondaire

Elle est consécutive à la formation de vésicules filles à partir d'une hydatide primaire; elle est possible en l'absence d'une immunité acquise.

Symptômes

Sont généralement très effacés, comme ceux de l'E.K primitive. Seule l'autopsie permet de définir l'origine.

L'échinococcose kystique secondaire des voies biliaires, qui est souvent ictérogène et l'hydatidose secondaire des poumons, qui peut se traduire par de la broncho-pneumonie.

Lésions

Sont beaucoup plus démonstratives

- **L'échinococcose kystique secondaire des séreuses**

Affecte surtout le péritoine. Elle s'y traduit par la formation de vésicules-filles adhérentes à la face externe des viscères abdominaux, ou fixées sur le mésentère, le péritoine pariétal, l'épiploon, les ligaments du foie, etc.... Rarement libre dans la séreuse.

Les hydatides secondaires sont parfois si nombreuses qu'elles recouvrent intégralement tous les viscères abdominaux.

L'E.K secondaire des autres cavités séreuses est beaucoup plus rarement signalée.

- **L'échinococcose kystique secondaire des parenchymes**

Affecte principalement le foie, et rarement les poumons. Elle se traduit par la formation de nombreuses vésicules dans le tissu considéré. Ce processus ressemble à l'E.K poly kystique primitive.

- **L'échinococcose kystique secondaire des canaux muqueux**

Se caractérise par l'abondance des kystes secondaires, isolés ou contigus selon les cas, qui peuvent n'intéresser que les canaux ou même le tissu dans lequel ils se trouvent (Euzéby, 1971).

1-2-l'échinococcose kystique chez l'homme

La période d'incubation est variable, allant de 12 mois à plusieurs années, selon la localisation et la charge parasitaire.

Symptômes et complications

Ils dépendent de la localisation de cette tumeur parasitaire liquidienne.

L'échinococcose kystique hépatique

La plus fréquente des localisations avec une latence clinique très longue, la découverte est souvent faite suite à un examen échographique systématique ou d'une complication. Il comprime les tissus environnants sans les détruire en siégeant plus souvent au lobe droit (60 %) qu'au lobe gauche.

Les signes cliniques apparaissent progressivement avec la tumeur :

- sensation de tiraillement ou de pesanteur de l'hypocondre droit, dyspepsie, plénitude postprandiale.
- la palpation abdominale montre classiquement une hépatomégalie, une tuméfaction indolore, lisse, déformant la paroi (Koltz et al., 2000).

Dans les formes biliaires, des troubles dyspeptiques sont observés : nausées, vomissements, gêne ou parfois véritables douleurs abdominales. L'état général est habituellement bien conservé.

Les complications sont dominées par les fistules biliaires et la surinfection du contenu kystique.

L'échinococcose kystique pulmonaire

Cliniquement on distingue deux phases

- Primitive

Le kyste est découvert lors d'examen systématique ou lors d'une maladie intercurrente et se traduit par une toux, dyspnée ou hémoptysie (Koltz et al., 2000).

- *Secondaire*

A la rupture dont l'expression clinique est la «vomique hydatique»: le patient rejette par la bouche et les narines une importante quantité de liquide au goût salé, avec des débris parasitaires comparés à des «peaux de raisins sucées».

L'échinococcose kystique rénale

Elle est plus rare et exceptionnelle, généralement unilatérale se manifeste cliniquement par des douleurs de la fosse lombaire (Koltz et al., 2000).

Autres localisations

Kyste hydatique cérébral

Le kyste hydatique cérébral est très rare et représente environ 1-5% des cas. Chez l'enfant il est responsable d'un syndrome d'hypertension intracrânienne. Chez l'adulte, les premiers signes à apparaître sont la crise épileptique, l'hémi-parésie, l'hémi-anopsie, les troubles du langage (Koltz et al., 2000).

Kyste hydatique cardiaque

La localisation cardiaque de l'échinococcose kystique est rare et représente 0.5 à 2% des cas. L'échinococcose kystique cardiaque est habituellement latente mais peut se manifester par des douleurs angineuses, une dyspnée, des palpitations ou des lipothymies, Ischémie myocardique, hémoptysie.

La fissuration et la rupture sont les complications les plus importantes et les plus graves de cette localisation : embolie pulmonaire pour le kyste du cœur droit, déficit neurologique pour le cœur gauche (Koltz et al., 2000).

Kyste Hydatique osseux

Dans le tissu osseux, l'E.K à *E.granulosus* ne prend pas l'aspect d'un véritable kyste. Il réalise une infiltration sans aucune limitation par bourgeonnement multi vésiculaire ; l'ostéopathie hydatique affaiblit progressivement la colonne vertébrale.

Des complications neurologiques majeures à type de troubles sphinctériens, paresthésies, para-parésie ou paraplégie par compression médullaire (Koltz et al., 2000).

Kyste hydatique du pancréas

Caractérisé par les signes cliniques suivants : mauvais état général, température de 37°8 C (subfébrile), absence d'ictère (anictérique), douleur abdominale et amaigrissement. A la palpation de l'abdomen, on découvre une masse épigastrique de consistance ferme, sensible, fixe par rapport au plan profond.

Localisations rares des kystes hydatiques

Les kystes dus à *E. granulosus* peuvent se développer dans tous les tissus et organes (Feki et al., 2008).

Quelques localisations rares et / ou exceptionnelles ont été rapportées, l'échinococcose kystique du cordon spermatique (Haouas et al., 2006), des côtes (Karaoglanoglu et al., 2001), de la cuisse (Vicidomini et al., 2007), du genou (Ben Haha-Bellil et Chelly, 2005), du péricarde (Karadede et al., 2008), du cœur avec l'échinococcose kystique cérébrale multiple (secondaire à la chirurgie), du kyste hydatique para rectal (Bounaïm et al., 2006), de l'oreille moyenne et du lobe temporal (Llanes et al., 2008). Les kystes hydatiques de la thyroïde ont été rapportés chez l'enfant (Versaci et al., 2005).

La découverte des kystes hydatiques peut être fortuite ou due à la pression qu'exerce le kyste sur les tissus ou organes qui l'entourent. Le kyste peut se calcifier dans certains cas.

Les infections secondaires peuvent se produire lors de rupture d'un kyste hydatique primaire. Dans ce cas, les kystes sont surtout à localisation abdominale et peuvent s'y développer. Chez 40 à 80 % des patients atteints de kyste hydatique primaire, un seul organe est atteint avec un seul kyste (Eckert et Deplazes, 2004). Dans les zones d'endémie (Sud de l'Amérique, Afrique, Europe et Australie), l'odd ratio foie / poumons est égale à 2,5 : 1 avec des variations selon les régions.

Les kystes hydatiques dans le cas d'*E. granulosus* ont une prolifération endogène. La localisation est viscérale et atteint en premier lieu le foie et les poumons. Le kyste est uniloculaire, non infiltrant et non métastatique. Au Maroc, la localisation rénale est de 2 à 4 % des localisations viscérales (Ameur et al., 2002).

CHAPITRE IV : DIAGNOSTIC DE L'ÉCHINOCOCCOSE à *E. granulosus*

1-Diagnostic chez le chien

1-1-Diagnostic post-mortem

L'autopsie des chiens est la méthode la plus fiable pour la détection des infestations intestinales avec *E. granulosus* bien que ce procédé est sujet au risque de contamination des manipulateurs avec les échantillons préparés. Il demeure néanmoins le diagnostic de certitude en raison de sa sensibilité (proche de 100%) et sa spécificité (99%) élevées (Eckert et al., 2001). Le protocole de cette méthode sera développé dans le chapitre II de la partie expérimentale.

1-2-Diagnostic ante-mortem

De nombreuses méthodes ont été utilisées dans le cadre du diagnostic ante-mortem de l'échinococcose canine.

Recherche et identification des proglottis ou vers entiers

En effet, les segments gravides d'*E. granulosus* mesurant en moyenne 2,5 mm de long sont caractéristiques mais rarement présents dans les échantillons fécaux

Détection des œufs (embryophores)

La recherche des œufs s'effectue sur la peau des chiens en utilisant la technique « scotch tape » (Deplazes et Eckert, 1988) ou dans les échantillons de fèces par les techniques de flottaison. La recherche des œufs de Taeniidae n'a aucune valeur de diagnostic dans la détermination de l'échinococcose du chien : les œufs sont rarement présents dans les fèces de chiens parasités (absence d'orifice de ponte chez les Cyclophyllidea) mais lorsqu'ils sont présents, les œufs d'*E. granulosus* et ceux des espèces du genre *Taenia* apparaissent morphologiquement identiques (Craig et al., 1988).

Méthode de purgation au bromhydrate d'arécoline (taenifuge)

La méthode de purgation au bromhydrate d'arécoline (taenifuge) a été largement utilisée dans le cadre du diagnostic ante-mortem du téniasis à *Echinococcus granulosus* du chien mais aussi dans le dépistage de masse dans les régions endémiques (WHO, 1981 ; Gemmel, 1958 ; Economides et al., 1998). Ce test présente néanmoins des inconvénients, il est long, encombrant et hasardeux, nécessite le maintien des chiens à l'attache jusqu'à leur purge, suivi par un faible pouvoir d'analyse microscopique de la purge complète diluée pour la

recherche des vers adultes *Echinococcus granulosus* (Craig et al., 2003). Bien que sa spécificité est très élevée (100%), il a une sensibilité extrêmement variable (un résultat négatif après deux ou plusieurs traitements ne garantit pas que l'animal n'est pas infesté par *E. granulosus*). Selon les études réalisées sur la sensibilité et l'efficacité de ce test, à titre d'exemple en Uruguay, 25% des chiens échouent à la purge après une dose (Craig et al., 1995). Wachira et coll., (1990) trouvent un taux d'échec de la purgation de 10 à 20% au Kenya. En Tunisie, seulement 43% des chiens ont été purgés avec succès après une dose d'arécoline et 76,9% après deux doses. Cependant, la sensibilité était seulement 64% après deux doses d'arécoline (Lahmar et al., 2006). Outre sa faible sensibilité, notamment chez les chiens faiblement infestés (Wachira et al., 1990 ; Craig et al., 1995 ; Schantz, 1997), le médicament peut induire des effets secondaires tels vomissements après purgation chez de nombreux chiens (Wachira et al., 1990 ; Eckert et al., 2001). De plus, la manipulation et l'examen des fèces exposent le personnel de contrôle au risque de contamination.

De nouvelles approches dans le diagnostic ante mortem de l'échinococcose du chien ont été proposées, le diagnostic immunologique par l'utilisation des tests ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent assay). Le choix de ces méthodes est justifié par leur réalisation facile, rapide et sans risque et par leur capacité d'analyser de nombreux échantillons dans les dépistages épidémiologiques de masse.

Test séro-immunologique ELISA

La technique sérologique ELISA a pour but de détecter les anticorps spécifiques des parasites. Elle a été évaluée dans les régions endémiques de nombreux pays dans le cadre du dépistage du téniasis des chiens à *Echinococcus granulosus*. Deux types d'antigènes ont été utilisés : antigènes sécrétoires/excrétoires de scolex (Ag E/S) et des antigènes d'extrait somatique de protoscolex d'*E. granulosus* provenant de kystes hydatiques de ruminants domestiques. Bien que la spécificité soit généralement élevée, plus de 90%, la sensibilité, en revanche, varie de 40% à 70% (Gasser et al., 1988 ; Gasser et al., 1994 ; Craig et al., 1995).

Pour améliorer la sensibilité, un nouveau test ELISA a été développé récemment pour le diagnostic immunologique de l'échinococcose du chien basé sur la détection des coproantigènes spécifiques du genre (Deplazes et al., 1992 ; Baronnet et al., 1994 ; Craig et al., 1995).

Test Coproantigènes ELISA

Ce test utilise des anticorps polyclonaux anti-*Echinococcus granulosus* pour détecter les antigènes du cestode adulte, dans les surnageants fécaux. Les échantillons fécaux sont analysés par le test Coproantigène, basé sur le sérum hyper immun de lapin dirigé contre l'antigène somatique du stade adulte d'*Echinococcus granulosus* (Allan et al., 1992) et des produits d'excrétion/sécrétion des proglottis (Deplazes et al., 1992). Cette méthode a amélioré considérablement la sensibilité et la spécificité du diagnostic, et permet la détection du parasite durant la période pré patente (Ahmad et Nizami, 1998). Les spécificités du test coproantigène rapportées initialement étaient élevées : 96% (Allan et al., 1992) et 98% (Deplazes et al., 1992) avec une bonne sensibilité : 77-88% basée sur une confirmation par la purge à l'arécoline (Craig et al., 1995 ; Christofi et al., 2002 et Lopera et al., 2003). Des études plus récentes sur le test coproantigène ELISA ont rapporté une sensibilité de 83% confirmée par l'autopsie et 76% par la purgation, et une spécificité variant de 88% à 96% (Allan et Craig, 2006). En Tunisie, Lahmar et collaborateurs (2006) ont trouvé une sensibilité de 82,8% et une spécificité de 80% en utilisant les anticorps polyclonaux (Allan et al., 1992 ; Jenkins et al., 2000) sur des chiens infestés expérimentalement, pendant la période pré patente. Cependant, la sensibilité du test coproantigène ELISA est en étroite corrélation avec la charge parasitaire des chiens par *E. granulosus*. Les fausses réactions positives sont généralement liées à des charges parasitaires inférieures à 200 vers chez un chien (Allan et al., 1992 ; Deplazes et al., 1992) voire inférieures à 100 vers/chien (Lahmar et al., 2006).

PCR probes EgG derived DNA

La détection de l'infection pourrait être obtenue par une hybridation de l'ADN dérivé spécifique des produits de vers amplifiés par PCR (Réaction en Chaîne Polymérase) dans les fèces.

Ce test est basé sur l'ADN dérivant des œufs et il a été démontré qu'une sensibilité équivalente à un seul œuf détecté pourrait être théoriquement possible (Chapman et al., 1995) par augmentation de l'efficacité et la purification de la préparation des œufs des échantillons fécaux par tamisage et flottation au Chlorure de Zinc, la spécificité de la PCR peut atteindre 100% et la sensibilité 94% (Craig et al., 1997).

Des résultats faussement négatifs ont été rapportés seulement avec des chiens hébergeant des vers immatures (Mathis et al., 1996).

En pratique, le dépistage de l'échinococcose des carnivores se fait avec le test coproantigène et il est confirmé avec le test PCR EgG DNA dans chaque région étudiée.

2-Diagnostic chez l'homme

Le kyste hydatique est souvent découvert suite à un examen radiologique fortuit, car le kyste est asymptomatique.

- Souvent, il est découvert à l'occasion de la fissuration du kyste. Elle a pour principal symptôme l'hémoptysie accompagnée de fièvre, de dyspnée, de toux et de rash.
- La rupture du kyste dans une bronche est à l'origine d'une vomique. Celle-ci constitue la manifestation la plus caractéristique. Elle débute par une douleur thoracique suivie du rejet d'un liquide clair, salé, mélangé à des débris de membranes ressemblant à des peaux de raisins. Le kyste peut se rompre également dans la plèvre, le péricarde.
- La surinfection se traduit par un liquide purulent ou pyohémorragique et aboutit à des tableaux sévères d'abcès et de suppuration broncho-pulmonaire chronique, de bronchectasies, de pyosclérose.

Mais certaines fois, le diagnostic est orienté par l'interrogatoire et l'enquête épidémiologique,

Diagnostic indirect de présomption (avant l'intervention chirurgicale)

Non spécifique

L'éosinophilie est variable

- au stade de kyste avéré, elle est normale ou légèrement augmentée (7 à 15%)
- elle est plus élevée à la phase initiale de croissance où le contact entre le parasite et l'hôte est le plus intime, et en cas de fissuration ou de rupture.

Les paramètres hépatiques sont normaux sauf en cas de compression biliaire.

Une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles est observée en cas d'infection du kyste.

Les IgE totales sont augmentées dans 50 à 80 % des échinococcoses kystiques humaines.

Spécifique

La sérologie, associée aux signes cliniques et aux techniques d'imagerie, a beaucoup de valeur pour le diagnostic de l'échinococcose kystique avant l'intervention chirurgicale.

Les méthodes utilisées sont nombreuses

- certaines sont sensibles, utilisées comme test de dépistage : immunofluorescence indirecte, hémagglutination indirecte, ELISA.

- d'autres sont plus spécifiques tels l'électrosynérèse, l'immunoélectrophorèse avec identification d'un arc spécifique (l'arc 5) et maintenant western blot, ces dernières étant utilisées comme techniques de confirmation.

Ces tests (en général au moins deux de dépistage) permettent le diagnostic de la majorité des cas d'échinococcose kystique hépatique (90%) (sauf les kystes morts ou avec une paroi très épaisse et calcifiée).

Ils sont au moins constamment positifs dans les autres localisations, en particulier pulmonaires (65%) et osseux (30%).

La surveillance sérologique post-opératoire montre, après une ascension du titre des anticorps dans les 4 à 6 semaines après l'intervention chirurgicale, leur disparition en plusieurs mois (jusqu'à 5 ans) si la cure a été complète. Leur augmentation secondaire doit faire suspecter une récurrence du kyste.

Diagnostic direct ou de certitude

Analyse de vomique ou de ponction d'un kyste hydatique

L'examen microscopique direct **sur le liquide** contenu dans le kyste permet d'affirmer le diagnostic, en mettant en évidence des débris de membrane lamellaire, des crochets ou des protoscolex entiers. Cet examen direct permet de déterminer la vitalité éventuelle des protoscolex.

Analyse d'une pièce d'exérèse

L'examen macroscopique du kyste permet d'apprécier sa taille, l'épaisseur de la paroi kystique et l'état des membranes parasitaires : blanchâtres ou d'aspect pseudo-gélatineux.

L'examen microscopique anatomo-pathologique peut éventuellement être fait après fixation. Il ne permet pas d'apprécier la vitalité des protoscolex.

3-Diagnostic chez les hôtes intermédiaires

Bien que les symptômes de l'échinococcose kystique chez les ruminants soient frustrés et peu spécifiques les lésions kystiques sont découvertes à l'abattoir au cours de l'inspection des carcasses (palpation et /ou incision), ces kystes sont retrouvés essentiellement au niveau du foie et des poumons (Eckert et Deplazes, 2004).

Il existe deux types d'échinococcose, la primitive et la secondaire

L'échinococcose primitive est caractérisée par l'apparition de kystes uniloculaires, ils contiennent un liquide sous pression détectable à la palpation et qui jaillit en eau de roche, ce liquide est entouré par une membrane prolifère.

L'échinococcose secondaire caractérisée par des kystes multivésiculaires du fait d'une vésiculation interne.

L'échographie est une méthode qui ne permet pas de détecter tous les kystes pour des raisons de configuration anatomique (Lahmar et al., 2007).

L'ELISA, la détection des anticorps sériques est surtout utilisée dans les programmes de surveillance, elle pourrait aussi révéler l'infection chez les agneaux souvent difficile à mettre en évidence au post mortem.

La PCR en utilisant les protoscolex pour la détection des souches d'*E.g* (Eckert et al., 2001).

4-Traitement

Chirurgical (essentiellement)

Il faut enlever le kyste le plus complètement possible et éviter tout essaimage parasitaire au cours de l'intervention. L'idéal est d'enlever le kyste sans l'ouvrir.

Si le volume du kyste ou l'importance de ses rapports anatomiques l'interdit, il faut le stériliser au préalable en injectant de l'alcool à 95° (ou une solution salée hypertonique, ou de l'eau oxygénée), avant de l'ouvrir pour évacuer les éléments parasites (technique PAIR : ponction, aspiration, injection, ré-aspiration).

Une échographie de contrôle et une sérologie de contrôle sont à faire tous les trois mois pendant la première année suivant l'acte chirurgical.

Médical (parfois)

Le traitement médical seul est indiqué quand :

- L'état général ou cardiaque obligeant à différer l'intervention chirurgicale
- Les kystes sont inopérables (osseux, kystes multiples...)
- Il y a rupture pré-opératoire du kyste, en prévention d'une échinococcose secondaire.

- Il y a récurrence après l'acte chirurgical.

Actuellement, on utilise surtout un dérivé imidazolé, l'Albendazole (Eskazole®), il n'y a pas de consensus sur les doses et la durée du traitement.

L'efficacité de cette thérapeutique dépend de la taille et de la localisation des kystes, les meilleurs résultats étant observés pour des kystes de petite taille à localisation hépatique.

CHAPITRE V: ETUDE GENETIQUE DE L'ESPECE *Echinococcus granulosus*

1-Introduction à l'étude génétique

En 99, Haag apporta la preuve que les parasites du genre **Echinococcus** se reproduisent essentiellement par autofécondation en indiquant la présence d'un monomorphisme à l'intérieur des quatre souches identifiées (ovine, bovine, équine et porcine) avec toutefois une fécondation croisée entre souches bovine et ovine mais uniquement dans le sud du Brésil (dans cinq génotypes).

De 60 jusqu'au début du siècle, 4 espèces ont été découvertes : *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus vogeli*, *Echinococcus oligarthrus*, le problème était que le genre *Echinococcus* se reproduit par autofécondation donc pour démontrer le concept d'espèce cela relevait de l'impossible. Pourtant, grâce aux techniques de biologie moléculaire, le concept de monophylie a été quelque peu écarté par la découverte d'importantes variabilités intraspécifique chez *Echinococcus granulosus* (McManus, 1990). Le groupe d'*E.granulosus* sensu lato ne rassemble pas tous les descendants d'une espèce seule (paraphyletisque), la présence d'une grande variabilité hétérogène a fait que ce groupe contenait plusieurs espèces. Ces espèces contiennent des souches qui peuvent être très différentes les unes des autres au point où des espèces ont été établies (Bardonnet et al., 2002).

L'étude par la biologie moléculaire d'*E. granulosus* a montré l'existence de onze souches venant réactualiser la classification d'*E.granulosus* sensu lato.

Le but recherché par la découverte des souches (par la technique de PCR), est d'établir continuellement la taxonomie, spécifier les animaux hôtes, la source de leur contamination et surtout le risque de transmission à l'homme et donc s'intéresser à l'épidémiologie dans un foyer donné.

Pour lutter efficacement contre l'échinococcose kystique, il s'agit d'avoir une carte d'identité des différentes souches d'*Echinococcus granulosus* sensu lato car ces souches se différencient les unes des autres par les caractères biochimiques, morphologiques, physiologiques, de pathogénicité et d'infectiosité pour l'être humain et pour les animaux. Connaissant tous ces facteurs, il serait plus aisé d'établir un programme de contrôle et de prévention spécifique selon les souches en relation avec la période prépatente qui peut différer d'une souche à l'autre, c'est le cas de G6 souche cameline dont la période prépatente est moins longue que celle de G1 souche ovine.

Tableau1. Différentes souches d'*Echinococcus granulosus* sensu lato (Bowles et al., 1992 ; 1993a ; Mwambete et al., 2004 ; Romig et al., 2006 ; Varcasia et al., 2007 ; Rosenzvit, 1999 ; Scott et al., 1997 ; Thompson and McManus (2002))

Appellation ancienne	Génome mitochondriale	Nouvelle classification	Hôtes intermédiaires et accidentels	Hôtes définitifs
Souche ovine commune	G1	<i>Echinococcus granulosus</i> sensu stricto	Ovins, bovins, caprins, suidés, hommes, macropodes, camelins	Chien, renard, dingo, chacal, hyène
Souche ovine de Tasmanie	G2		Caprins, ovins, hommes	Chien, renard
Souche du buffle	G3		Caprins, bovins, ovins, hommes	Chien, renard
Souche équine	G4	<i>Echinococcus equinus</i>	Equins	Chien
Souche bovine	G5	<i>Echinococcus ortleppi</i>	Bovins, hommes	Chien
Souche cameline	G6	<i>Echinococcus canadensis</i>	Camelins, caprins, bovins, ovins, hommes	Chien
Souche porcine	G7/G9		Camelins, hommes	Chien
Souche du cervidé	G8/G10		Cervidés, hommes	Loup, chien
Souche du lion	-	<i>Echinococcus felidis</i>	Equins, bovins, antilopes, girafes, hippopotames	Lion

2-Etude des souches d'*Echinococcus granulosus* (tableau 1)

L'*Echinococcus granulosus* présente une grande variation de phénotype, ce qui a conduit les chercheurs à établir une nouvelle taxonomie (Romig et al., 2006 ; Thompson et McManus, 2002). En 1997, Euzeby a proposé une taxonomie des zoonoses à tendance épidémiologique qui tient compte des modalités de transmission et vient compléter la classification de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) qui est à tendance biologique.

Bussieras et Chermette (1995) décrivent 6 souches d'*E. granulosus* (G1, G4, G5, G6, G7 et G8). Les récentes études en biologie moléculaire révèlent l'existence de 10 souches d'*E. granulosus* (G1 à G10). Il s'agit d'*E. granulosus* au sens strict (G1 à G3), d'*E. equinus* (G4), d'*E. ortleppi* (G5) et d'*E. canadensis* (G6 à G10) (Ito et al., 2006 ; Jenkins et al., 2006 ; Romig, 2006 ; Romig et al., 2006). Les souches d'*E. granulosus* ont une morphologie variable ce qui rend difficile leur taxonomie (Moro et Shantz, 2006).

La souche G1 chien-mouton

La souche G1, affecte les ruminants, les porcins et l'homme. Les hôtes définitifs selon une révision de la taxonomie effectuée par Thompson et McManus (2002) sont le chien, le loup, le renard, le chacal et le dingo. La souche ovine affecte en plus des ovins, les bovins, les caprins, les porcins, le sanglier et l'homme (Mwambete et al., 2004), alors qu'en Italie la souche G1 affecte le buffle (Capuano et al., 2006). Cette souche prédomine dans le bassin méditerranéen, au Pays de Galles (Romig et al., 2006) et en Amérique du Sud (Kamenetzky et al., 2002).

Les études faites par Varcasia et al. (2007), révèlent que les ovins sont infectés à la fois par la souche ovine G1 et par la souche G3. Les souches G1 et G3 peuvent également coexister chez le buffle (Garippa, 2006).

La localisation chez l'hôte intermédiaire touche surtout le foie et les poumons.

La souche G2 de Tasmanie (Etat insulaire proche de l'Australie)

En 1999 Rosenzvit, découvrit cette souche, très proche de la souche commune G1, en Argentine chez des êtres humains, et chez les animaux d'abattoirs (Umhang et al., 2013)

La souche G3 du buffle

Souche très proche de G1 (Bowles et al., 1992, 1993), ce génotype a été peut affecter l'homme (Sharma et al., 2013)

La souche G4 du cheval

Bowles en 1992, découvrit cette souche chez le cheval. Cette souche a été décrite infectant l'homme (Torgerson et Budke, 2003). La localisation privilégiée chez l'hôte intermédiaire est le foie.

La souche G5 des bovins a été découverte en 1992 en Hollande par Bowles

Les hôtes définitifs sont le chien et le renard. Cette souche infecte l'homme (Sharma et al., 2013).

La localisation chez l'hôte intermédiaire est surtout pulmonaire (Kamenetzky et al., 2002). L'adulte se développe rapidement chez l'hôte définitif représenté par le chien.

La souche G6 dromadaire

Les hôtes intermédiaires sont le dromadaire et le lama

Les hôtes définitifs sont le chien. La souche G6 a été retrouvée chez l'homme, causant l'E.K humaine, en Iran, en Mauritanie, en Argentine, au Népal et en Afrique de l'Est (Rosenzvit et al., 1999 ; Bardonnnet et al., 2002 ; Harandi et al., 2002). Le foie et les poumons sont les organes les plus touchés chez les hôtes intermédiaires (Maillard et al., 2007 ; Bart et al., 2006 ; Kamenetzky et al., 2002).

La souche G7 chien - porc et inclus la variante G9

Elle infecte le porc, les caprins et le sanglier, Le génotype G7 est très proche du G6. La localisation principale chez l'hôte intermédiaire est le foie (Varcasia et al., 2007). Cette souche a infecté l'homme en Europe de l'est (Kedra et al., 1999 ; Powlowski et al., 2003), et pour la première fois en Afrique du sud (Mogoye, 2013)

La souche G8 des cervidés

Les hôtes définitifs sont le loup et le chien. Les hôtes intermédiaires sont les cervidés (renne, élan, cerf) et l'homme (MacManus et al., 2002). La localisation chez l'hôte intermédiaire est pulmonaire.

La souche G9

A été décrite en Pologne en 1997 chez des êtres humains (Scott et al., 1997), elle circule entre le chien les suidés et l'homme.

La souche G10 autre variant de la souche des cervidés (Lavikainen et al., 2006)

C'est la souche européenne ou souche cervidés (Romig et al., 2006). Elle a été décrite infectant l'homme dans le sud est de la Roumanie (Piccoli et al., 2013)

La souche lion

Echinococcus felidis a été décrit en 1937 chez les lions d'Afrique ensuite il est devenu une souche de *Echinococcus granulosus* (Huttner et al., 2008)

Les hôtes intermédiaires sont le zèbre, le buffle, l'antilope et probablement la girafe et l'hippopotame (Thompson et McManus, 2002).

Les caprins et les sangliers peuvent être infectés par les souches G1 et G7 (Mwambete et al., 2004).

3-Etude de la PCR (Polymerase Chain Reaction)

L'identification des espèces de parasites a été faite en premier lieu en utilisant leur morphologie, ceci n'a pas donné les résultats escomptés car les caractères morphologiques sont influencés par les conditions de l'environnement (Hobbs *et al.*, 1990). Cependant, l'analyse des caractères morphologiques a permis d'identifier deux souches distinctes d'*Echinococcus granulosus* en Australie (Kumaratilake & Thompson, 1984 a, b). Chacune de ces souches circulant au sein de cycles fermés : cycle domestique et cycle sylvestre. Plus tard, l'étude moléculaire a montré qu'il s'agissait de la même souche (Hope *et al.*, 1991 ; Lymbery *et al.*, 1990). Enfin la science s'est tournée vers les caractères moléculaires qui ne sont pas influencés par l'environnement ou l'hôte en utilisant des méthodes qui étudient le génome du parasite (McManus & Thompson, 2003 ; Thompson & Mcmanus, 2002).

Il existe deux types de génome : le mitochondrial et le nucléaire.

La PCR est une technique de biologie moléculaire mise au point en 1985, par Karry Mullis. C'est une technique d'amplification des séquences d'ADN pour permettre de dupliquer

de manière exponentielle la séquence à étudier (amplicon), même si la séquence initiale est très faible.

Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes : **une dénaturation** de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent, **une hybridation** des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, puis **une élongation** grâce à l'action d'une ADN polymérase ce cycle est ciblé (la durée d'un cycle est de l'ordre de la minute).

Les trois étapes, constituant un cycle de PCR, sont effectuées à des températures différentes permettant de contrôler l'activité enzymatique

- l'étape de dénaturation, est réalisée à environ 95°C, pour une dissociation complète des deux brins d'ADN.
- l'étape d'hybridation se fait à une température qui sera définie selon la nature des amorces (cette température varie de 50 à 60°C). Cette température va déterminer la stabilité des hybrides une fois que l'appariement amorces / matrice est réalisé.
- l'étape de polymérisation est à environ 72°C, température de « travail » de l'ADN polymérase thermorésistante utilisée. Au cours de cette étape, les brins complémentaires d'ADN sont synthétisés à partir des extrémités 3'OH libres des amorces hybridées.

Les températures de dénaturation et de polymérisation sont fixes, seule la température d'hybridation devra être calculée pour chaque nouvelle PCR. Cette température d'hybridation dépend de la composition en bases des oligonucléotides amorces. Elle est légèrement inférieure (environ de 5°C) au T_m qui est la température de demi-dénaturation.

Polymorphisme des Echinocoques

Au moment de la réplique clonale de l'Echinocoque, les recombinaisons génétiques sont minimales. Le polymorphisme viendrait du fait qu'il existe des mutations ponctuelles au sein d'un génome mitochondrial présent chez les Echinocoques. Grâce à ce polymorphisme des marqueurs de typage moléculaires ont été définis à l'intérieur des unités codantes (gènes) de ces génomes. Deux sont très utilisés comme référence : le gène codant pour la sous unité 1 de la NADH déshydrogénase (nad1) et le gène codant pour la sous unité 1 de la cytochrome c oxydase (cox1) (Bowles et al., 1992 ; Bowles et al., 1995).

4- Etude des génomes : mitochondrial et nucléaire

4-1-Génome mitochondrial

Il existe une relation étroite entre le génome mitochondrial et le génome nucléaire puisque la protéobactérie dont descendrait la mitochondrie aurait transféré une grande partie de son matériel génétique au sein du noyau de l'archéobactérie.

4-2-Génome nucléaire

Chez les eucaryotes, 90% du génome nucléaire est non codant et constitué de séquences classées en trois types selon leur nombre de copie et leur distribution dans le génome, parmi ces séquences il existe des séquences dites satellites qui sont répétées de nombreuses fois lorsqu'elles sont dispersées dans le noyau on dit qu'elles sont de deux types : les minisatellites et les microsatellites. Nous nous intéresserons aux microsatellites car nous avons utilisé dans l'une de nos études un microsatellite.

Les microsatellites sont de petits fragments d'ADN présents dans le génome nucléaire, ils ont la particularité de présenter un motif de 1 à 6 nucléotides, répété en tandem un certain nombre de fois, ce nombre est à la base du polymorphisme de taille souvent important des microsatellites (Maillard, 2009). Une banque d'ADN génomique a été réalisée à partir d'échantillons d'*Echinococcus granulosus* ce qui a permis l'identification de trois microsatellites : EmsK, EmsJ et EmsB.

CHAPITRE I Echinococcose kystique en Algérie : les camelins comme réservoirs d'*Echinococcus granulosus* pouvant contribuer à la contamination humaine.

1-Introduction

L'échinococcose kystique (E.K), due à l'infestation par la larve du cestode *Echinococcus granulosus*, est une zoonose hautement endémique dans les régions d'élevage de ruminants d'Afrique du Nord. Le parasite est principalement transmis dans un cycle épidémiologique évoluant généralement entre chiens (hôtes définitifs) et le bétail (ovins, bovins, caprins, camelins...) (Thompson et al., 2001). Des données récemment acquises, grâce à l'approche moléculaire, ont démontré que l'espèce *E. granulosus* fait preuve d'une grande diversité. Plusieurs variants intra-spécifiques, définis comme souches ont été caractérisés après amplification par PCR par séquençage des marqueurs mitochondriaux dans les gènes cytochrome c oxydase 1 et NADH déshydrogénase 1, à partir de diverses espèces d'hôtes intermédiaires dans diverses régions. Chaque génotype, classé de 1 à 10, a été associé avec un hôte particulier et des modes épidémiologiques (Mc Manus, 1989, 2002 ; Bowles et al., 1992 ; Bowles et al., 1993) : souche ovine (G1), souche bovine (G5), souche équine (G4), souche cameline (G6)... Cette hétérogénéité à l'intérieur de l'espèce *E. granulosus* peut influencer les modèles de cycle biologique, la spécificité d'hôte, la vitesse de développement chez l'hôte définitif, le pouvoir antigénique, la dynamique de transmission et le pouvoir infectant pour les humains.

L'identification des souches est donc essentielle pour définir une stratégie de lutte contre l'échinococcose kystique bien adaptée.

En Afrique du Nord, deux souches, la souche commune ovine et la souche cameline, ont été identifiées. La souche ovine a été décrite en Algérie (Bardonnnet et al., 2003 ; Benchikh ElFegoun, 2004 ; Bart et al., 2004), en Tunisie (Lahmar et al., 2004 ; 2009 ; M'rad et al., 2005), en Egypte (Macpherson et al., 1997), et en Libye (Tashani et al., 2002).

La souche « cameline » (G6) a été trouvée le plus souvent chez les camelins en Mauritanie (Bardonnnet et al., 2002), en Egypte (Azab et al., 2004) et en Algérie (Bardonnnet et al., 2003 ; Benchikh ElFegoun, 2004 ; Maillard et al., 2007 ; Kohil, 2008), et quelques fois, chez les ovins, bovins et caprins (Bardonnnet et al., 2002).

L'implication des bovins, à côté des ovins, hébergeant la souche commune ovine (G1) dans l'infection humaine via le chien, a été démontrée dans des études antérieures dans le nord et le sud de l'Algérie (Bardonnet et al., 2003 ; Benchikh ElFegoun , 2004). Cependant, l'importance des camelins n'est pas connue dans la transmission de l'E.K. humaine via le chien. Dans une étude antérieure, l'évaluation de la prévalence et de la fertilité des kystes hydatiques chez les dromadaires, dans le sud de l'Algérie, a révélé des taux élevés : 24,8% et 100% respectivement (Bardonnet et al., 2003 ; Benchikh ElFegoun , 2004). Sur la base de ces données, il est important de définir dans une nouvelle étude le rôle des camelins dans la dynamique de transmission d'*E. granulosus* aux chiens (H.D) et indirectement aux humains.

L'objectif de la présente étude est de caractériser les souches d'*Echinococcus granulosus* circulant chez les dromadaires par analyse moléculaire dans les régions du sud de l'Algérie d'une part, et évaluer leur capacité dans la contamination humaine d'autre part.

2-Matériel et méthodes

2-1- Stratégie de l'étude

L'ensemble des étapes suivies pour le typage des souches d'*E. granulosus* sont indiquées dans la figure 8

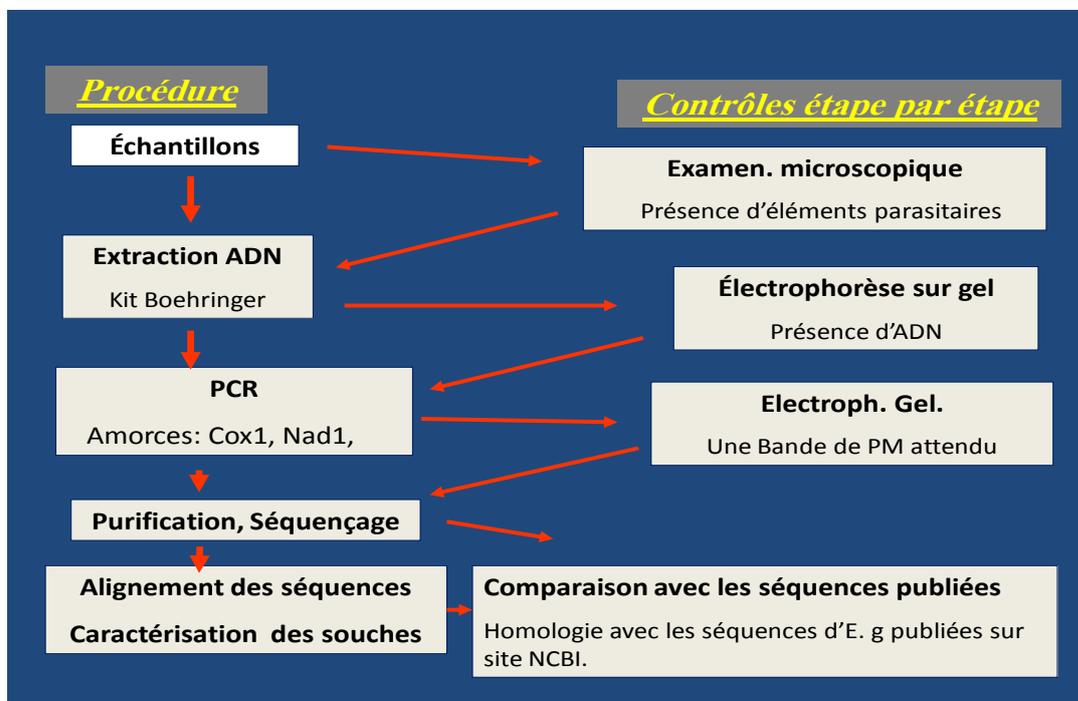


Figure 8. Différentes étapes de séquençage des souches d' *Echinococcus granulosus* (original)

2-2- collecte des échantillons

Les kystes hydatiques d'*E. granulosus* ont été collectés sur les animaux (hôtes intermédiaires) dans les abattoirs et sur les humains dans les services de chirurgie des hôpitaux situés dans trois régions du sud de l'Algérie : Biskra, Ouargla et Tamanrasset (17 kystes de dromadaires, 4 kystes d'ovins, 3 kystes de caprins, 4 kystes de bovins et 14 kystes humains) (Figure 9). Les caractéristiques de tous les échantillons sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2. Caractéristiques des échantillons d'*Echinococcus granulosus*

Echantillons	Hôtes parasités	Origine	Nature du prélèvement
17	Camelins	Tamanrasset Ouargla	Liquide hydatique
14	Humains	Ouargla Biskra	Liquide hydatique
4	Bovins	Tamanrasset	Liquide hydatique
4	Ovins	Tamanrasset Ouargla Biskra	Liquide hydatique
3	Caprins	Tamanrasset Biskra	Liquide hydatique

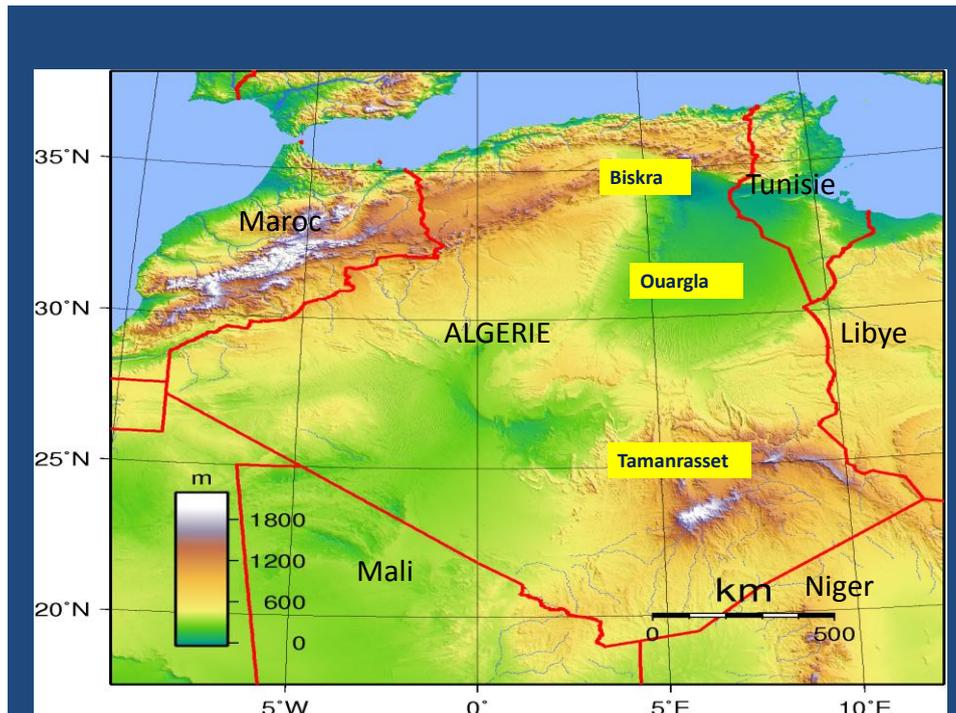


Figure 9. Situation géographique des régions d'étude

3-Description des techniques

3-1- Contrôle de la fertilité des kystes hydatiques

Le contrôle de la fertilité des kystes repose sur la mise en évidence de la membrane prolifère à l'examen macroscopique d'une part et, sur la recherche des protoscolex et crochets (éléments de fertilité) à l'examen microscopique (G: 10X25) d'autre part. Les protoscolex de tous les échantillons ont été centrifugés (10.000 g, 3 minutes), lavés trois fois avec du sérum physiologique (0,9% NaCl), puis congelés (-20°C) jusqu'à leur utilisation. Les échantillons ont été ensuite acheminés au Laboratoire de Parasitologie et Mycologie de l'Hôpital de La Timone à Marseille, en France pour procéder au typage des souches d'*E. granulosus*.

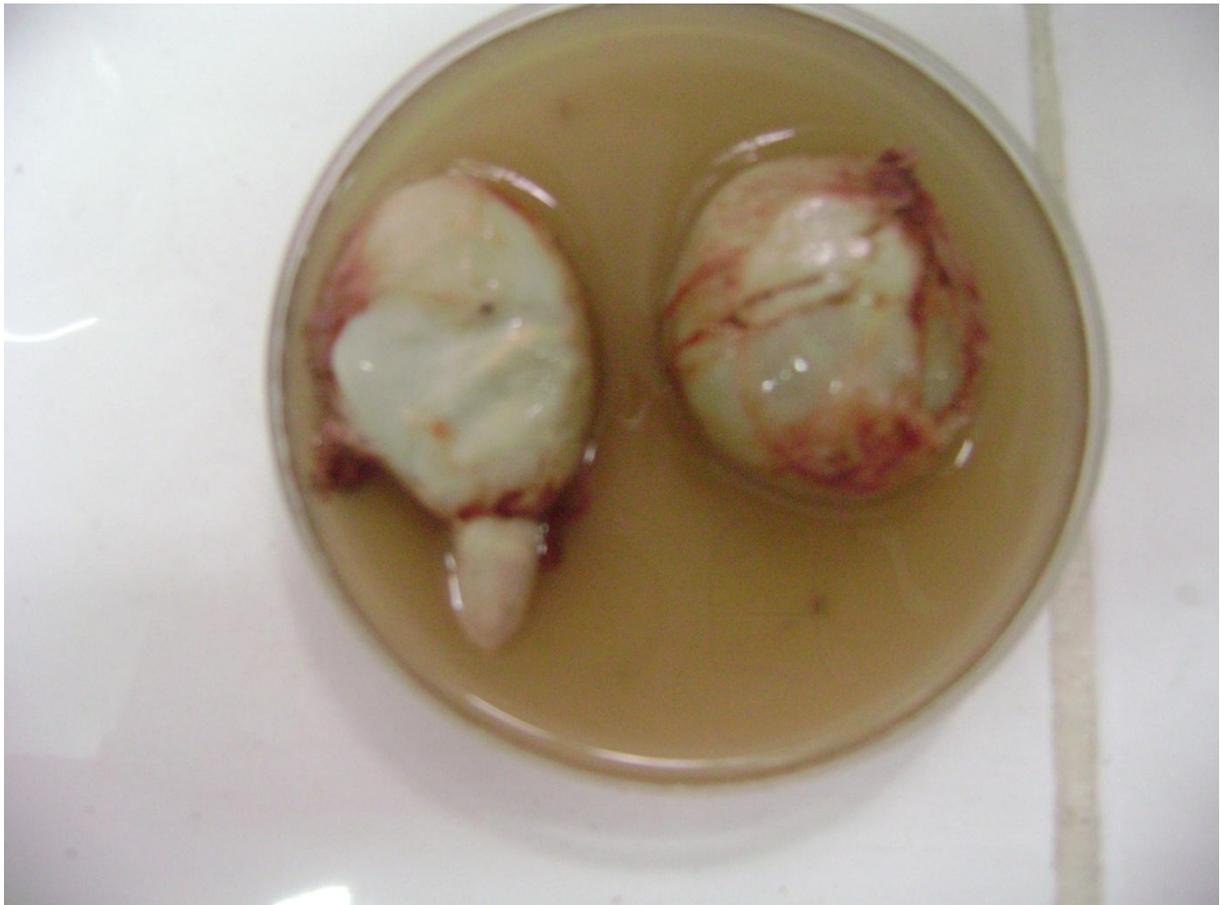


Photo 3. Représentation de deux kystes hépatiques chez un homme âgé de 44 ans (original)

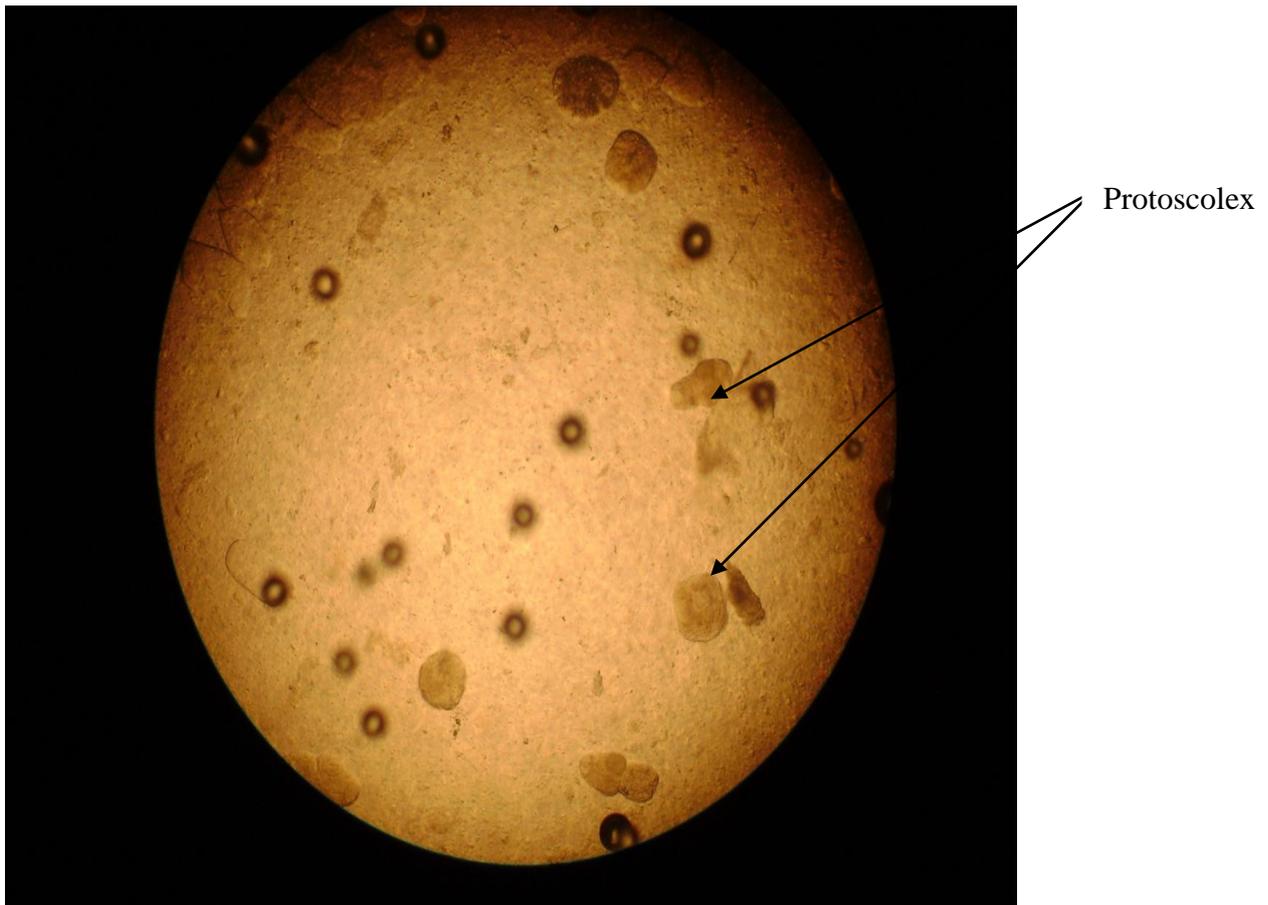


Photo 4. Observation au microscope optique des protoscolex G: 10×10 (original)

3-2- Extraction de l'ADN

L'ADN génomique a été extrait à partir des tissus hydatiques (protoscolex et/membrane germinale) prélevés à partir des kystes fertiles en utilisant le kit : High Pure PCR Preparation Kit (Roche Diagnostics, Mennheim, Germany). Les éléments hydatiques ont été digérés par la protéinase K. L'ADN obtenu a été soit utilisé immédiatement par amplification par PCR ou conservé à +4°C jusqu'à son utilisation.

3-3-Analyses moléculaires

Amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction)

Amorces utilisées

Deux cibles ont été amplifiées pour chaque échantillon, avec deux paires d'amorces NDI (région du gène 1 mitochondrial de la NADH déshydrogénase) et COI (portion du gène

mitochondrial qui code pour cytochrome c oxydase sous-unité 1). Les caractéristiques de ces amorces sont indiquées dans le tableau 3

Tableau 3. Caractéristiques des amorces utilisées

	Séquences des amorces	Températures d'hybridation	Cible pb (1)	Références
COI	5'- TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3' 5'- TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG- 3'	60°C	391	Bowles et al., 1992
NDI	5'-AGATTCGTAAGGGGCCTAATA-3' 5'-ACCACTAACTAATTCACACTTTC- 3'	45°C	471	Bowles et al., 1994

L'amplification a été faite selon les conditions suivantes : une phase initiale de dénaturation (30s à 94°C) suivie par 40 cycles de dénaturation successive (30s à 95°C), hybridation (30s à la température élevée), et l'élongation (30-75 s à 72°C), puis une élongation finale de 5 mn à 72°C. La taille et la spécificité des produits amplifiés ont été évaluées par électrophorèse dans 1,5% (w/v) des gèles d'agarose, Tris-acétate/EDTA. 2,5µl de chaque fragment amplifié ont été ensuite purifiés pendant 15 mn à 37°C, et 15 mn à 80°C. L'ADN purifié a été ensuite séquencé en utilisant le kit de cycle de séquençage : le DYEnamic-ET terminator (Amersham Pharmacia Biotech Europe GmbH, Freiberg, Germany). La détection des fragments a été effectuée dans un séquenceur automatique (CEQ 8000 Genetic Analysis System, Bekman Coulter, Fullerton, CA, USA). Les électrophorégrammes obtenus à partir d'une amorce ont été étudiés en parallèle avec ceux obtenus avec l'amorce complémentaire. Les séquences complètes ont ensuite été comparées les unes aux autres et avec les séquences publiées antérieurement dans la base de données Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) avec le système BLAST.

Les différentes étapes de la PCR sont décrites à l'aide des photos ci-dessous,



Photo 5. Dépôt des échantillons dans les tubes contenant le tampon de lyse plus les billes pour l'extraction de l'ADN (original)

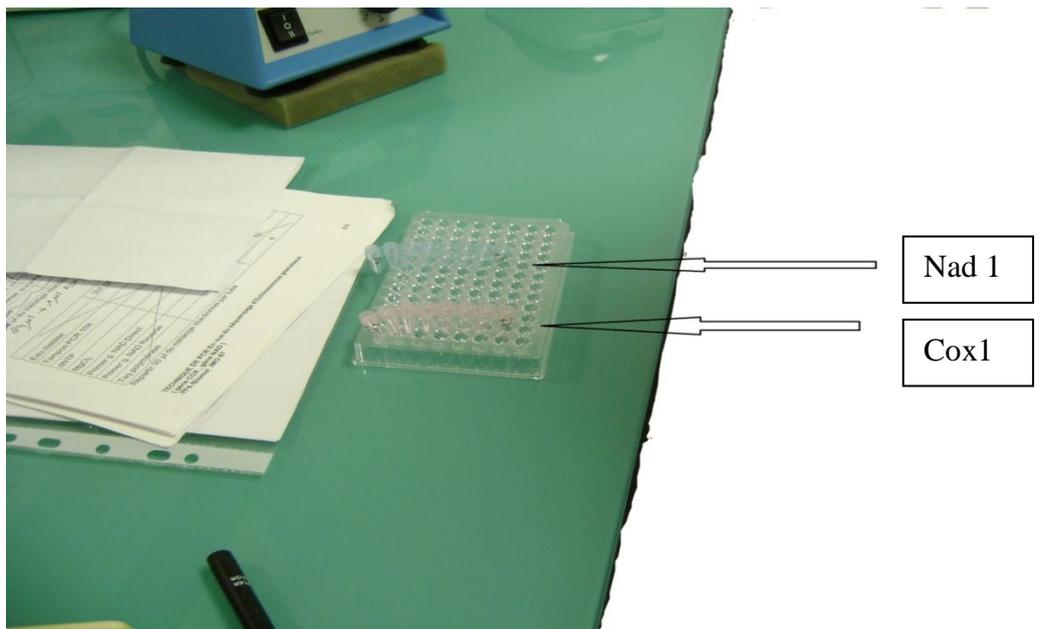


Photo 6. Barrettes des échantillons et les deux amorces Nad I et Cox I (original)

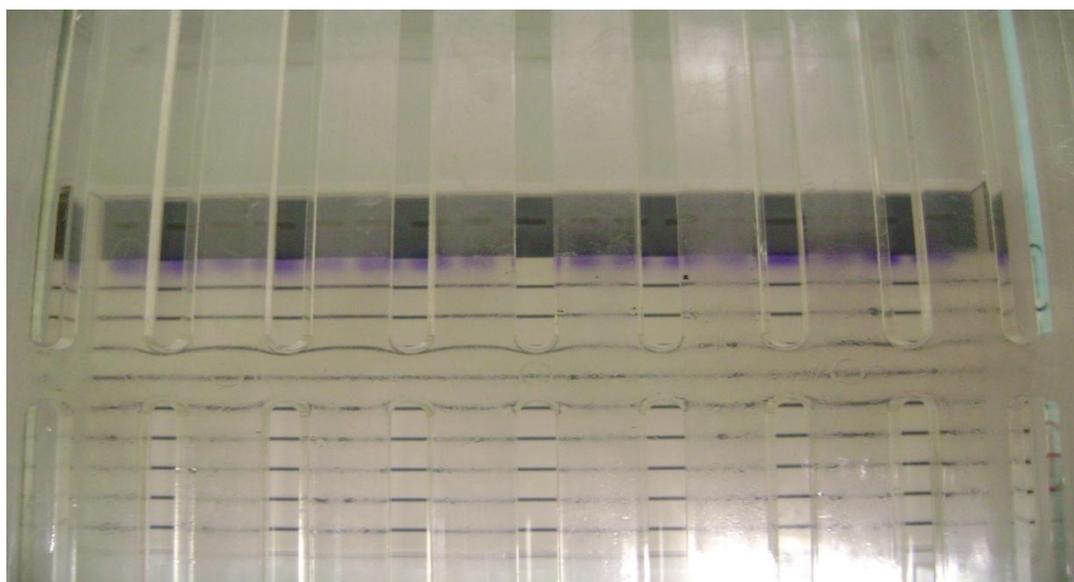


Photo 7. Représentation de la bande bleue en migration (original)

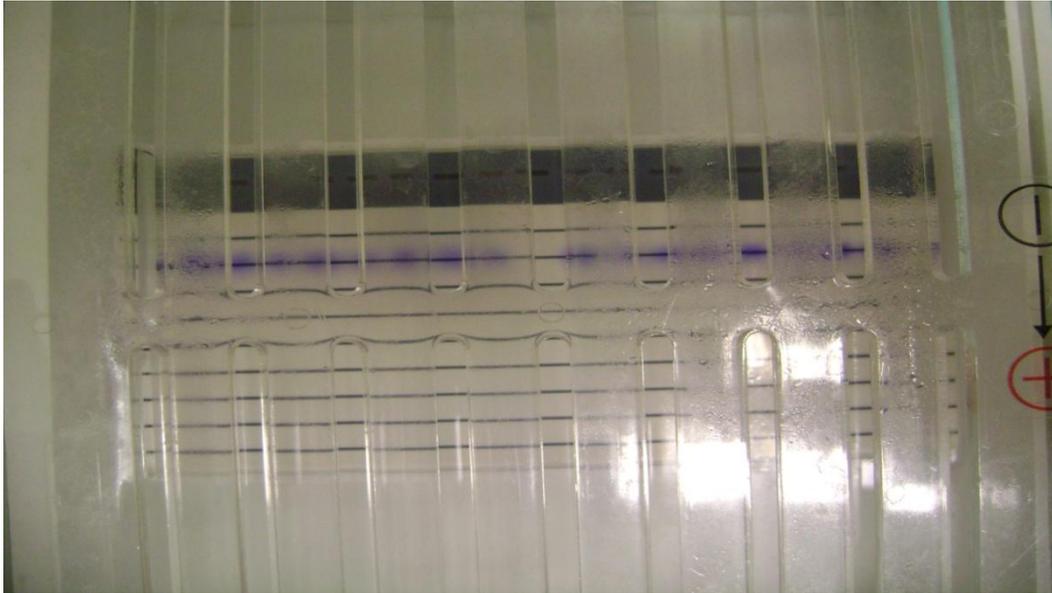


Photo 8. Migration des bandes des échantillons (original)



Photo 9. Représentation du révélateur (original)

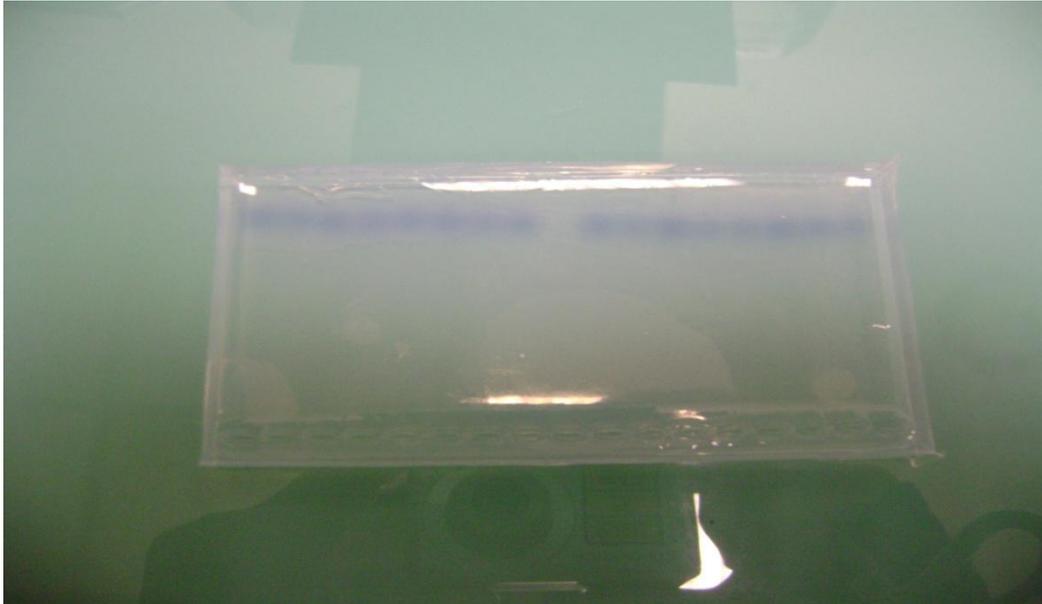


Photo10. Gel des échantillons après migration (original)



Photo 11. Automat et système informatique de collection et d'analyse des données (original)

4-Résultats et discussion

4-1- Examen microscopique des échantillons

Tous les échantillons examinés (42 au total) étaient fertiles (présence de protoscolex) (Photo 4).

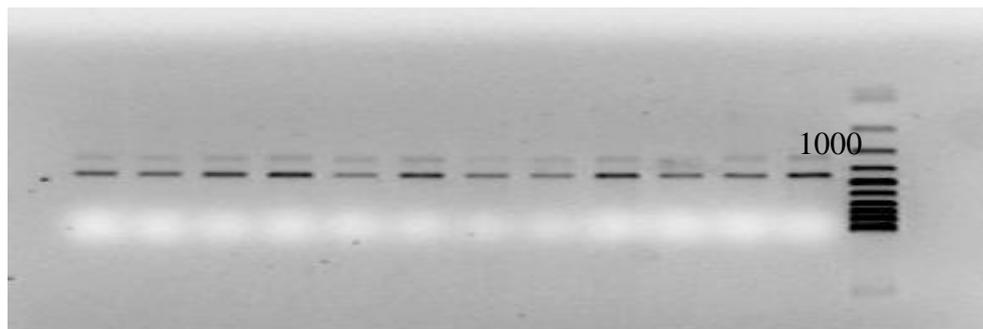
4-2- Extraction de l'ADN

L'électrophorèse post-extraction des échantillons a révélé la présence de bandes d'ADN génomiques avec tous les échantillons étudiés.

4-3- PCR

Les 2 fragments d'ADN génomique mitochondrial (COI et NDI) ont été amplifiés pour tous les échantillons. Une seule bande d'ADN de poids moléculaire attendu a été obtenue par PCR avec chacune des deux paires d'amorces (figure 10; figure 11), et le séquençage de la cible amplifiée a été possible pour tous les échantillons analysés.

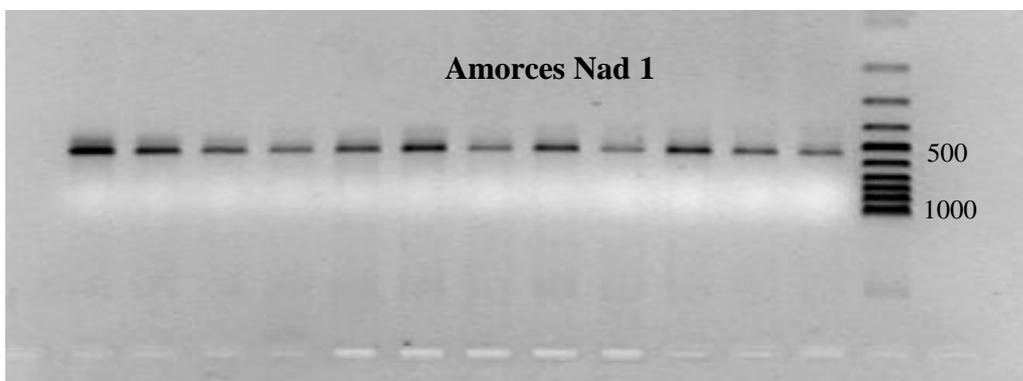
Amorce Cox1



N CM CM CM OV OV CP BV BV BV H H H PM

Figure 10. Electrophorèse post-extraction (paire d'amorces Cox1)

Amorces Nad 1



N CM CM CM OV OV CP BV BV BV H H H PM

Figure 11. Electrophorèse post-extraction (paire d'amorces Nad1)

Sur la base des séquences génomiques Cox1 et Nad1, deux génotypes ont été identifiés.

- Le premier génotype a été obtenu à partir de 36 échantillons (14/17 camelins, 3/4 ovins, 4/4 bovins, 3/3 caprins et 12/14 humains) sur 42 au total, soit 85,71%. La séquence obtenue à partir de ces 36 échantillons présentait 99,2% à 100% d'homologie (2 à 0 différence /391 paires de bases) entre eux, alors que 99% à 100% d'homologie ont été trouvés avec la séquence génomique partielle COI du génotype (G1), souche ovine d'*E. granulosus* identifiée à partir d'autres échantillons algériens par Bardonnnet et al., (2003) et Maillard et al., 2007.
- Le second génotype a été obtenu à partir de 6 échantillons (3/17 camelins, 1/4 ovin et 2/14 humains) soit 14,28%. Cent pour cent d'homologie ont été trouvés entre cette séquence et les séquences correspondant au génotype souche cameline (G6) identifiées chez les camelins en Algérie (Bardonnnet et al., 2003) en Mauritanie (Bardonnnet et al., 2002) et dans d'autres pays d'Afrique (Bowles et al., 1992).

Tableau 4. Résultats de la caractérisation des échantillons

Echantillons	Hôtes parasités	Origines	Amorces	Résultat
1	Camelins	Ouargla	Nad	
			Cox	G6
2	Camelins	Ouargla	Nad	
			Cox	G6
3	Camelins	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
4	Camelins	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
5	Camelins	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
6	Camelins	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
7	Camelins	Tamanrasset	Nad	
			Cox	G6
8	Camelins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
9	Camelins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
10	Camelins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
11	Camelins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
12	Camelins	Tamanrasset	Nad	G1

			Cox	
13	Camelins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
14	Camelins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
15	Camelins	Tamanrasset	Nad	
			Cox	G1
16	Camelins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
17	Camelins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
18	Humains	Biskra	Nad	G6
			Cox	
19	Humains	Biskra	Nad	G6
			Cox	
20	Humains	Biskra	Nad	
			Cox	G1
21	Humains	Biskra	Nad	
			Cox	G1
22	Humains	Biskra	Nad	
			Cox	G1
23	Humains	Biskra	Nad	G1
			Cox	
24	Humains	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
25	Humains	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
26	Humains	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
27	Humains	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
28	Humains	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
29	Humains	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
30	Humains	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
31	Humains	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
32	Bovins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
33	Bovins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	

34	Bovins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
35	Bovins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	
36	Ovins	Biskra	Nad	G1
			Cox	
37	Ovins	Ouargla	Nad	G1
			Cox	
38	Ovins	Tamanrasset	Nad	
			Cox	G6
39	Ovins	Biskra	Nad	G1
			Cox	
40	Caprins	Biskra	Nad	G1
			Cox	
41	Caprins	Biskra	Nad	G1
			Cox	
42	Caprins	Tamanrasset	Nad	G1
			Cox	

Le séquençage des deux cibles, amplifiées avec les deux paires d'amorces Cox1 et Nad1 a permis de confirmer avec les 42 nouveaux échantillons l'existence de deux génotypes ou souches d'*Echinococcus granulosus* dans le sud de l'Algérie :

- la souche ovine ou génotype (G1) circulant chez les ovins, bovins, caprins, et chez plus de la moitié des camelins, transmissible aux humains. L'ubiquité de cette souche a été rapportée dans de nombreux pays à travers le monde : au Maghreb: en Tunisie (Lahmar et al., 2004 ; M'rad et al., 2005) en Algérie (Bardonnet et al., 2003 ; Benchikh ElFegoun , 2004 ; Maillard et al., 2007 ; Kohil , 2008) et en Libye (Tashani et al., 2002). En Tunisie, lors d'une analyse moléculaire sur des échantillons de dromadaires, Lahmar et al. (2004) ont démontré que les animaux étudiés étaient infectés par la souche commune ovine (G1).

Les dromadaires âgés avaient un taux de prévalence élevé (□ 30%) et pourraient ainsi représenter une source importante de transmission pour les chiens et donc indirectement à l'homme de cette souche zoonotique. En Iran, ce caractère ubiquiste du génotype (G1) d'*E. granulosus* a été connu affectant les humains, les ovins, les bovins, les caprins et parfois des camelins (Shahnazi et al., 2011 ; Hajjalilo et al., 2012 ; Khademvatan et al., 2013). Dans le sud-est de l'Iran, la prédominance du génotype G1 a été enregistrée après séquençage et amplification des gènes mitochondriaux *cox1* et *nad1* des échantillons de ruminants : ovins (86,7%), bovins (80%), camelins (44,4%) et caprins (100%) (Hajjalilo et al., 2012). De même,

en Turquie, le génotype G1 est commun chez les humains et ovins (17/22 analysés), les échantillons ont été examinés par séquençage de l'ADN de quatre gènes mitochondriaux (Snábel et al., 2009).

Le génotype G1 est responsable de la grande majorité de l'échinococcose kystique humaine dans le monde entier (88.44 %), sa distribution est cosmopolite et il est souvent associé à la transmission humaine via les moutons comme hôtes intermédiaires (Alvarez Rojas et al., 2013). Cependant, les résultats de la présente étude ont démontré la participation des camelins aux côtés des autres ruminants domestiques (ovins, bovins) dans l'entretien du cycle évolutif de la souche commune ovine dans les régions du sud de l'Algérie, et leur implication dans la contamination humaine. Ceci vient corroborer les données rapportées dans des études moléculaires réalisées en Iran où les camelins sont susceptibles d'héberger la souche commune ovine. En effet, le typage des souches d'*E. granulosus* indique parfois des fréquences élevées du génotype G1 chez cette espèce: 44,4% (Hajjalilo et al., 2012) et 66,7% (Sharbatkhori et al., 2010) des camelins ont été trouvés infectés par le génotype G1 suggérant la participation des camelins dans la dynamique de transmission de cette souche zoonotique aux humains via le chien.

- Dans la présente étude, la souche cameline ou génotype (G6) a également été identifiée chez les dromadaires et circulant occasionnellement chez les autres ruminants (1 échantillon ovin dans la présente étude). Cette souche a été isolée pour la première fois en Algérie dans deux échantillons humains et est identique à celle trouvée chez les camelins dans la région de Touggourt dans une étude préliminaire (Bardonnet et al., 2003) et chez les camelins, bovins et humains de Mauritanie (Bardonnet et al., 2002). Le génotype G6 est généralement bien adapté aux camelins mais peut également circuler chez d'autres ruminants (bovins, ovins, caprins) et infecter les humains (Rosenzvit et al., 1999 ; Bardonnet et al., 2002 ; Omer et al., 2010 ; Sharifiyazdi et al., 2011 ; Aaty et al., 2012). La prédominance de cette souche cameline a été rapportée chez les animaux et les humains dans certains pays: le génotype G6 a été détecté dans 100% d'isolats d'origine animale et dans 96,8% isolats humains en Egypte (Aaty et al., 2012). Cette souche a été détectée dans 98,7% et 100% des kystes hydatiques collectés sur le bétail et sur les humains respectivement au Soudan (Omer et al., 2010). Toujours dans le même pays, Ahmed et al., (2013) confirment dans une nouvelle analyse phylogénétique la prédominance du génotype G6 où 98% des échantillons de kystes de dromadaires correspondent à cette souche cameline (G6). Bien que les camelins constituent les réservoirs

potentiels de la souche cameline (G6), d'autres espèces notamment les caprins peuvent représenter des réservoirs importants. C'est le cas de l'Amérique du Sud (Argentine), où elle semble être principalement hébergée par les caprins (Soriano et al., 2010). En Algérie, sa présence (G6) a des implications pour les programmes de contrôle local en raison de la durée de la période prépatente plus courte chez les chiens par rapport à celle de la souche commune ovine (G1).

En conclusion, cette nouvelle étude a démontré la participation des camelins aux côtés des autres ruminants domestiques dans l'entretien du cycle évolutif de la souche commune ovine et leur implication dans la contamination humaine. La présence du génotype G1 chez les camelins, souche infectante pour l'homme, suggère que les camelins dont la prévalence et la fertilité des kystes est souvent élevée, pourraient représenter, dans les régions du sud, une source de transmission indirecte aux humains de cette souche zoonotique. Les programmes de contrôle devraient prendre en considération le risque potentiel de cette espèce animale dans l'entretien du cycle évolutif du parasite et surtout dans la contamination humaine. Par ailleurs, le rythme de traitement médical des chiens (H.D) devra être adapté à la durée de la vitesse de développement du cestode adulte de la souche cameline (G6) qui est légèrement plus courte (40 jours au lieu de 45 jours pour le génotype G1).

Une meilleure connaissance de l'évolution des souches ovine et cameline nécessite le typage de nouveaux échantillons camelins et humains dans le sud de l'Algérie. Ceci nous permettra de redéfinir le cycle d'*E. granulosus* et proposer des mesures prophylactiques adaptées et efficaces.

CHAPITRE II . Recherche de la fécondation croisée entre les souches d'*Echinococcus granulosus* G1 et G6 après une infection mixte expérimentale chez l'hôte définitif

1- Introduction

Des études basées sur l'ADN mitochondriale ont montré que le groupe *Echinococcus granulosus* est composé de variants hétérogènes. Tout d'abord considérés comme des souches (G1-G10), ces variants ont été classés progressivement, individuellement ou par groupe, et de nouvelles espèces ont été définies (Lavikainen et al., 2006; Romig et al., 2006; Nakao et al., 2007; Huttner et al., 2008 ; Thompson, 2008; Saarma et al., 2009; Tappe et al., 2010). Ainsi, *E. granulosus* (sensu stricto) regroupe actuellement : G1 (souche ovine), G2 (souche ovine de Tasmanie), G3 (souche du buffle), *Echinococcus équinus* et *Echinococcus ortleppi* correspondent à G4 (souche équine) et G5 (souche bovine) respectivement. Les autres souches pourraient aussi être considérées comme un groupe bien soutenu, mais des études récentes suggèrent la distinction de deux sous-groupes: le premier formé par G6 (souche cameline), G7 et G9 (souche porcine) : *Echinococcus intermedius*, et le second par G8 (souche des cervidés) : *Echinococcus canadensis*. Le génotype G10 (souche du lion) correspond à *E. felidis* (Nakao et al., 2007).

Concernant en particulier la souche commune G1 et la souche G6 cameline, deux études précédentes ont montré en Algérie la présence d'une zone sympatrique G1/G6 (Bart et al., 2004; Maillard et al., 2007). Cependant, malgré un panel important de kystes recueillis dans divers hôtes de cette zone, aucun cas de fécondation croisée n'a été identifié, corroborant la séparation de ces deux souches en des espèces distinctes. A ce jour, malgré les infestations multiples, avec l'observation des différents variants d'*Echinococcus granulosus* (Xiao et al., 2006; Yang et al., 2006), peu de travaux ont été réalisés pour étudier la présence ou l'absence de fécondation croisée (Haag et al., 1999). En outre, une telle étude nécessite un marqueur génétique qui peut à la fois identifier efficacement les G1 et G6 mais aussi, de détecter les fécondations croisées éventuelles (G1/G6). Récemment, Bart et al. (2006) ont développé un microsatellite multi locus répété en tandem. Lorsqu'on le compare à d'autres marqueurs, celui-ci a montré un niveau plus élevé de la variabilité intra-spécifique et une sensibilité très élevée. En outre, en raison de sa localisation dans le génome nucléaire, les fécondations croisées éventuelles peuvent être impliquées dans la modification de l'EmsB. Dans une étude antérieure, à partir d'isolats identifiés comme G1, G3, G5, G6 et G7, l'EmsB a fourni un

degré élevé de discrimination génétique et en plus, a présenté un profil génotypique hybride suggérant des échanges génétiques entre G1 et G5 (Figure 12) (Maillard et al., 2009).

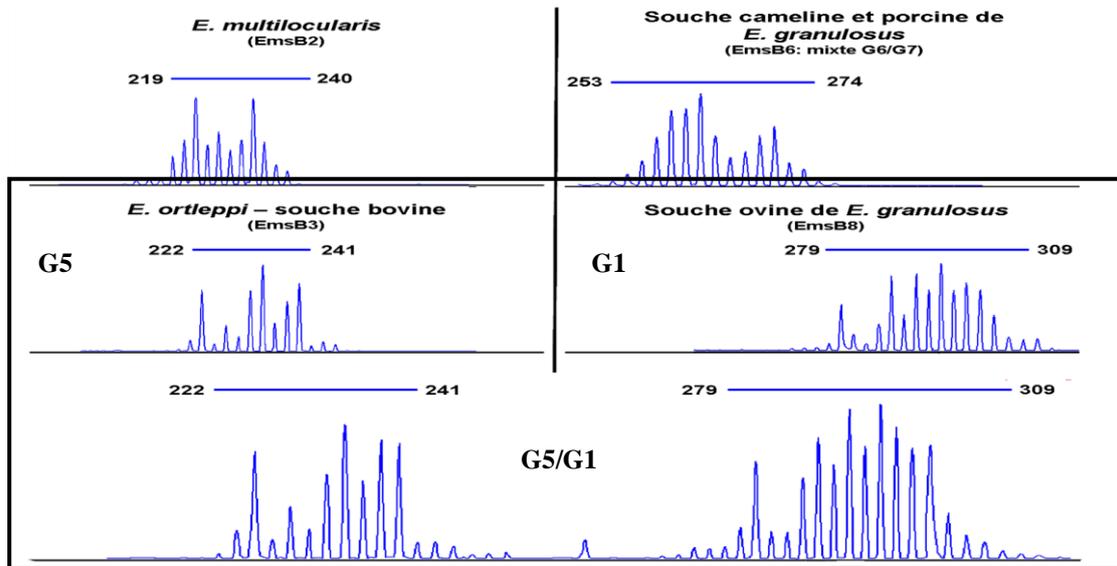


Figure 12. Profils génotypiques G1, G5 et G1/G5 (profil hybride) (Maillard et al., 2009)

Par conséquent, l'EmsB pourrait être également en mesure de discriminer G1 et G6 et détecter leurs échanges génétiques. L'objectif de la présente étude est de réaliser une infestation expérimentale sur un chien (hôte définitif) avec un nombre égal de protoscolex de G1 et de G6. Chacun des vers adultes recueillis dans l'intestin grêle du chien, a été analysé avec le microsatellite EmsB, avec un intérêt particulier pour leurs unités de reproduction (œufs de parasites dans l'utérus des segments ovigères).

2- Matériel et méthodes

2-1- Collecte et caractérisation des deux kystes

Les kystes hydatiques ont été prélevés dans un abattoir de la ville de Ouargla dans le sud de l'Algérie: un appartenant à un bovin et l'autre à un dromadaire. La confirmation de leur fertilité a été réalisée par la mise en évidence des protoscolex dans le contenu kystique (photo 14)



Photo 12. Présence de protoscolex dans le contenu kystique (original)

L'ADN génomique a été extrait de chaque kyste (50mg de couche germinale mélangés avec 200 µl de protoscolex) en utilisant le kit PCR High Pure Préparation (Roche Diagnostics, Mennheim, Allemagne). Ensuite, pour chaque kyste, l'ADN génomique a été utilisé pour l'amplification des marqueurs mitochondriaux *cox1* et *nad1*. La purification par l'éthanol, l'amplification par PCR et le séquençage ont été réalisés comme décrits précédemment dans la partie typage et par Maillard et al. (2007). Pour identifier les génotypes des deux kystes, les séquences ont été comparées aux génotypes déterminés par Bowles et al. (1992) et Bowles et Mc Manus (1993). Ensuite, les deux kystes ont également été caractérisés par le microsatellite EmsB.

L'amplification par PCR et l'analyse des fragments ont été réalisées comme décrit précédemment par Maillard et al. (2009).

-Définition du microsatellite EmsB (Bart et al., 2006)

Le marqueur microsatellite EmsB est une séquence répétée en tandem dans le génome d'*E. granulosus*. Le nombre de répétitions dépend de l'isolat. L'analyse de la taille des fragments permet d'obtenir différents profils EmsB pour *E. granulosus* dans le monde.

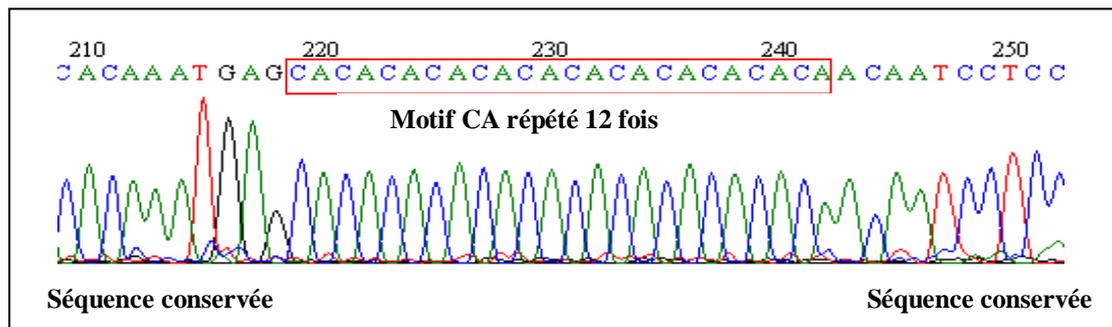


Figure 13. Représentation du tracé de l'EmsB (Maillard et al., 2009)

Description de la méthode microsatellite EmsB (Maillard et al., 2009)

-L'amplification par PCR des fragments EmsB a été réalisée dans un mélange réactionnel avec un volume final de 10 pi contenant 1 pi de l'ADN génomique, 150 µM de chaque désoxynucléoside triphosphate (GeneAmp ; Applied Biosystems) , 0,5 pM de fluorescence avant l'amorce / 1 pM de l'amorce inverse non marqué (les amorces utilisées ont été décrites par Bart et al., 2006) , et 0,5 U de Taq polymérase rouge dans 1,5 pi 10 x tampon de réaction (Sigma -Aldrich , St. Louis, MO) . La réaction a été effectuée comme suit : 30 cycles de dénaturation à 94 ° C pendant 30 secondes, hybridation à 60 ° C pendant 30 secondes et extension à 72 ° C pendant 1 minute. La présence des amplicons a été déterminée par électrophorèse dans 1,5 % (poids / volume) de Tris- acétate - EDTA gels d'agarose.

- L'analyse de fragment a été effectuée avec un séquenceur automatique (ABI Prism 3130, Applied Biosystems). Pour chaque échantillon, on a obtenu un profil composé de plusieurs pics, le temps de migration de chaque fragment est en abscisse, et l'intensité de la fluorescence est en ordonnée. Pour chaque échantillon, nous avons obtenu des profils spécifiques. Ceci est directement lié à la taille de chaque locus et le nombre de répétitions du locus dans le génome (Maillard et al., 2009).

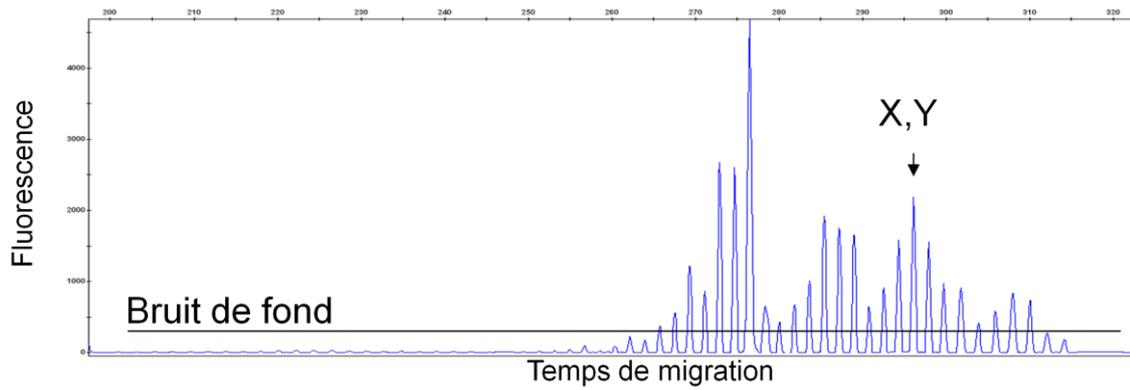


Figure 14. Profil de l'analyse de fragment (Maillard et al., 2009)

Les génotypes G1et G6 ont été confirmés, la viabilité de leurs protoscolex a été évaluée par coloration à l'éosine aqueuse à 1% et l'observation au microscope. Les contenus kystiques ont ensuite été utilisés pour l'infection expérimentale.

2-2- Double infestation d'un chien



Photo 13. Chien destiné à être infesté avec deux kystes hydatiques (original)

Un chien mâle âgé d'un an, sans pedigree, a été sélectionné parmi un groupe de chiens capturés dans la ville de Constantine lors d'une campagne d'abattage des chiens errants. Pour écarter toute infestation éventuelle par les helminthes, l'animal a été isolé et a reçu un traitement anthelminthique: Mébendazole (VermoxN.D), 20mg/kg PV, par voie orale, deux fois par jour pendant cinq jours. Avant son utilisation dans l'expérimentation, un examen coproscopique a été effectué par une technique de flottation avec une solution de sulfate de zinc à 33% au laboratoire de Parasitologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires d'El Khroub (Université de Constantine1). Une semaine après traitement, le chien a reçu simultanément par voie orale à l'aide d'une seringue 50ml d'une suspension de protoscolex de G1 et 50ml d'une suspension de protoscolex de G6, qui avaient été précédemment recueillies dans les deux kystes. Pour les deux génotypes, la viabilité des protoscolex a été > 80%.

Les protoscolex n'ont pas été comptés individuellement, mais une estimation visuelle de leur concentration a été faite en utilisant un certain nombre de parasites apparemment égal. Pendant la période d'incubation (correspondant à la période pré-patente), le chien a reçu quotidiennement des rations alimentaires de qualité, et ad libitum d'eau potable. Après soixante jours, le chien a été euthanasié par une injection intraveineuse de Pentobarbital, identique à celle des autres chiens capturés pendant la campagne de contrôle. Le chien a ensuite été autopsié et la partie proximale de l'intestin grêle a été ligaturée et isolée. La portion intestinale a été congelée à -80 ° C pendant une semaine pour éviter la digestion des vers et inactiver les œufs. Quatre-vingt-cinq adultes ont été collectés, un par un, tout le long de la muqueuse intestinale, séparés individuellement et conservés à -20 ° C. De même que pour les kystes, les vers adultes ont ensuite été acheminés au Laboratoire de Parasitologie de Besançon en France pour l'analyse moléculaire.

2-3- Analyses des adultes par l'EmsB

Chacun des 85 vers adultes a été disséqué sous un microscope de manière à isoler le scolex et la partie postérieure du strobile (segment ovigère). L'ADN génomique de chaque partie a été extrait à l'aide du Kit "High Pure PCR Preparation" (RocheDiagnos-tics, Mennheim, Allemagne). Chaque échantillon d'ADN a été analysé par le microsatellite EmsB, suivant la même méthode que pour les kystes. Les deux profils distincts (un pour les scolex et un pour le strobile) obtenus ont été comparés entre eux-mêmes, et avec ceux des autres adultes ainsi que ceux des kystes. Cette comparaison a été faite avec le logiciel ABI GeneMapper v3.7. Le microsatellite EmsB se caractérise par une grande sensibilité (Bart et al., 2006).

Par conséquent, les profils de ce marqueur peuvent indiquer la progéniture mixte (Maillard et al., 2009), ils peuvent également indiquer tout mélange entre les œufs présumés homo ou hétérozygotes et le parenchyme des proglottis homozygotes.

3- Résultats

3-1- Caractérisation génétique des kystes

Le typage génétique à l'aide des marqueurs mitochondriaux *cox1* et *nad1* a montré une séquence G1 correspondant à la souche commune ovine pour le kyste d'origine bovine et une séquence G6 correspondant à la souche cameline pour le kyste d'origine cameline.

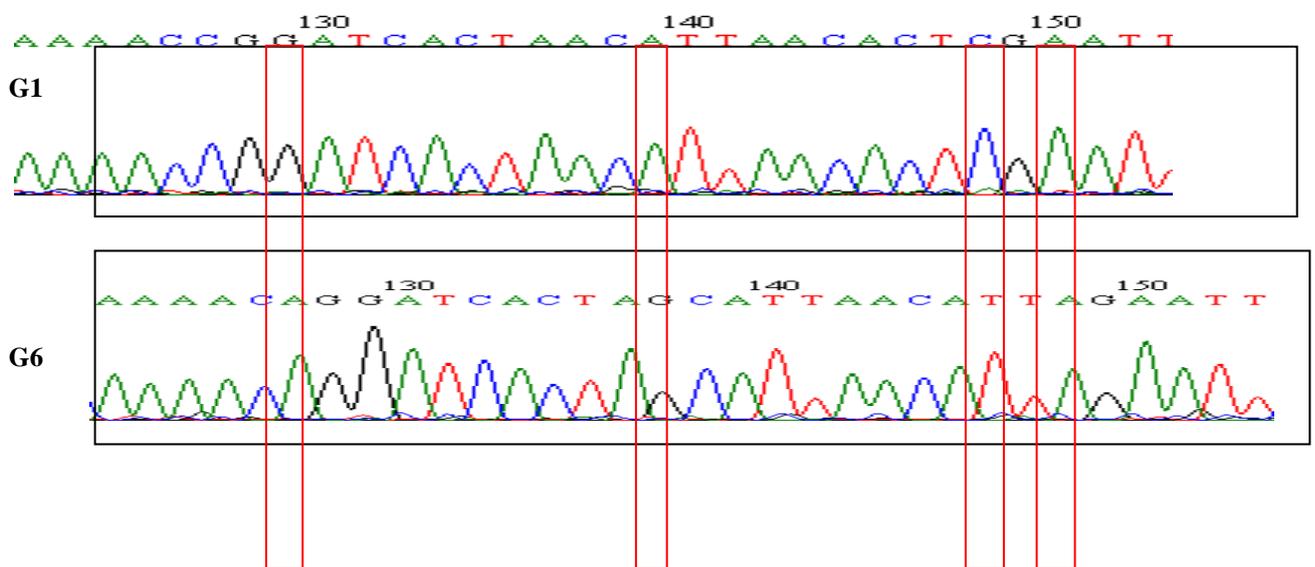


Figure 15. Tracés partiels des séquences COI, amplifiés à partir des souches : ovine (G1) et cameline (G6).

Avec l'EsmB microsatellite multi-locus, les kystes G1 et G6 ont montré deux profils distincts (Figure 15).

3.2. Analyses des adultes par l'EsmB

Pour tous les 85 adultes, les segments gravides de cette double infestation ont donné le même profil que les scolex correspondant. Pour 70 d'entre eux, ce profil correspondait à celui du kyste G1, tandis que pour les 15 autres, ce profil a été identifié comme celui du kyste G6. Aucun profil EsmB n'a présenté de modèle mixte G1/G6. Par conséquent, aucun cas de fécondation croisée entre les souches G1 et G6 n'a pu être détecté.

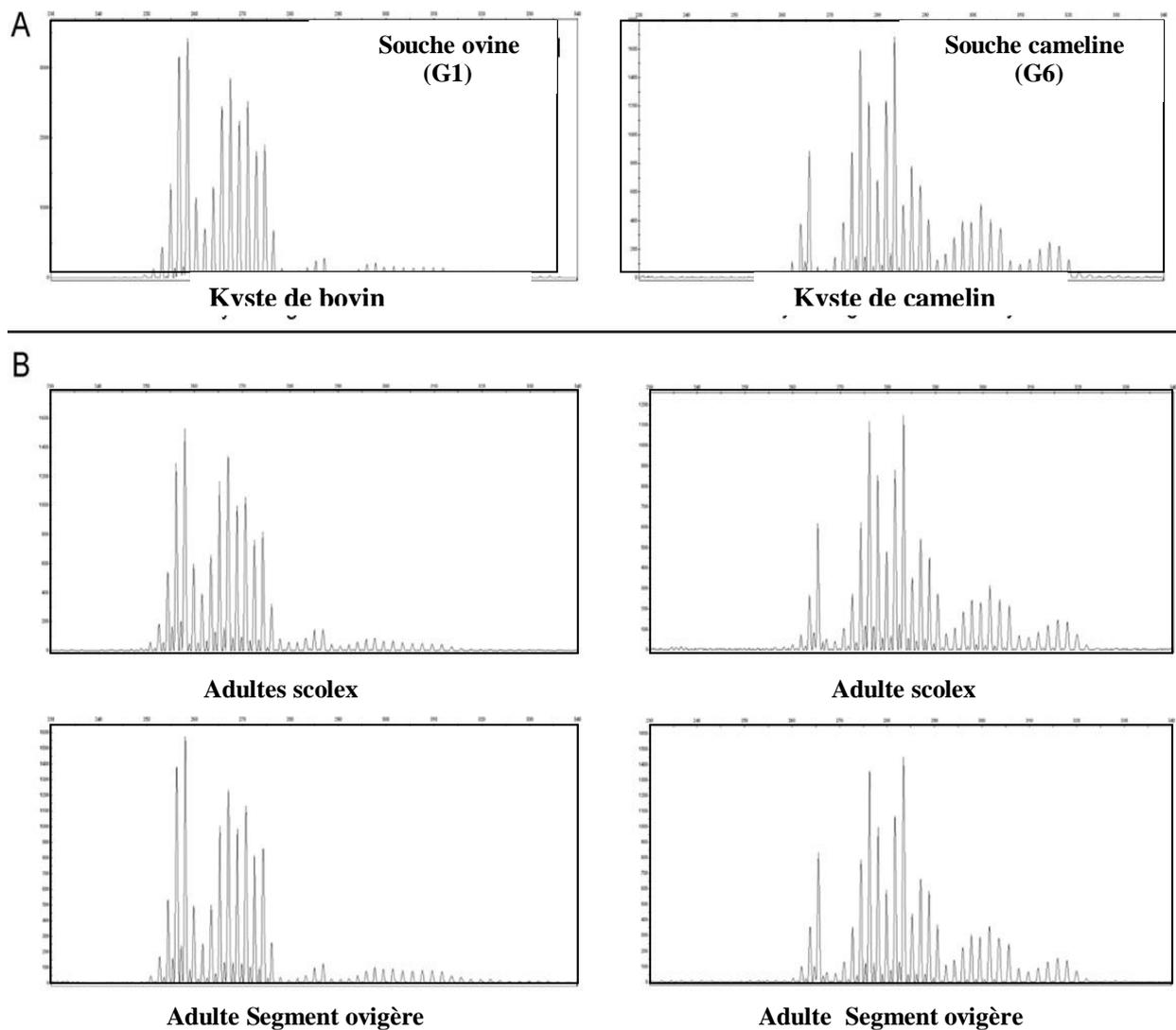


Figure 16. Profils complexes obtenu avec le microsatellite multilocus EmsB. Les deux premiers profils ont été fournis par deux kystes hydatiques l'un de bovin et l'autre de dromadaire, ces deux kystes ont servi à infecter un chien (A), ensuite à l'aide de *cox1* et *nad1* ces échantillons ont été caractérisés en souche ovine G1 et en souche cameline G6 les quatre autres profils ont été fournis par deux des 85 adultes *Echinococcus granulosus* prélevés de l'intestin grêle du chien infecté (B) pour chacun d'eux il y a eu une séparation du scolex et du segment ovigère.

4-Discussion

Le statut taxonomique proposé antérieurement aux souches d'*Echinococcus granulosus* sensu lato a été progressivement réévalué. En effet, la taxonomie a été modifiée par la phylogénie moléculaire et a permis de reconstituer les relations phylogénétiques de *E. oligarthrus*, *E. vogeli*, *E. multilocularis*, *E. shiquicus*, *E. equinus*, *E. ortleppi*, *E. granulosus* stricto sensu et 3 génotypes de *E. granulosus* sensu lato (G6, G7 et G8) à partir de leur génome mitochondrial complet d'*E. granulosus* correspondant aux camelins (G6), porc (G7), et cervidés (G8) étant monophylétiques, et leur niveau élevé de similitude génétique, il était donc admis de les unir dans une même espèce désignée *E. canadensis*. Le concept de souche est donc controversé à l'intérieur de l'espèce *E. granulosus sensu lato*. Dans une étude précédente réalisée en Algérie, les distances génétiques mitochondriales observées entre les souches caractérisées G1/G2 et G1/G6 étaient, respectivement, 0.7 et 11.6%, alors qu'une moyenne de 13.5% a été rapportée entre G1 et *E. multilocularis* (Kohil, 2008; Maillard et al., 2007). Dans des études de typage moléculaire menées par McManus (2006) et Nakao et coll. (2007), les valeurs obtenues avec les mêmes marqueurs pour G1/G4 (souche équine) et G1/G5 (souche bovine) ont été très similaires à celles observées pour G1/G6. La séparation des souches équine et bovine de l'espèce *E. granulosus* et leur attribution de statut d'espèce à part entière (*E. equinus* et *E. ortleppi*) est acceptée. Les souches communes ovine et cameline semblent être biologiquement distinctes et aussi génétiquement différentes l'une de l'autre comme elles le sont avec *E. multilocularis*.

Des études précédentes ont révélé en Algérie la présence d'une zone où les deux souches G1/G6 coexistent ensemble (Bart et al., 2004 ; Maillard et al., 2007 ; Kohil, 2008). Cette présence sympatrique des génotypes G1 et G6 d'*E. granulosus*, non seulement dans la même région mais aussi dans le même hôte définitif, soulève la question intéressante de la recombinaison génétique entre ces génotypes d'*E. granulosus*. Malgré l'analyse de nombreux échantillons kystiques collectés dans divers hôtes dans une région du sud de l'Algérie (Touggourt-Ouargla), aucun cas de fécondation croisée n'a été observé, suggérant la séparation de ces deux souches en des espèces distinctes.

En conclusion, les résultats préliminaires indiquent que la souche ovine commune (G1) est génétiquement très différente de la souche cameline (G6). De plus, ces deux souches ont des spectres d'hôtes différents. Par ailleurs, l'utilisation des marqueurs nucléaires n'a pas révélé d'hybrides G1/G6.

Cependant, pour confirmer cet isolement reproductif entre les souches d'*E. granulosus*, il est nécessaire de disposer d'un marqueur génétique qui peut à la fois identifier efficacement les G1 et G6 mais aussi, de détecter les fécondations croisées éventuelles (G1/G6). Aussi, pour confirmer le statut d'espèce, une nouvelle étude moléculaire a été réalisée en vue de rechercher des hybrides dans le cadre d'une double infestation expérimentale sur un chien. Pour ce faire, Bart et al. (2006) ont développé un marqueur plus discriminant et plus sensible que les autres marqueurs, un microsatellite multi locus répété en tandem (EmsB).

Le but de cette étude moléculaire est d'évaluer le potentiel de reproduction entre les souches G1 et G6 grâce à l'apport de l'EmsB. Ce nouveau marqueur génétique pourrait être en mesure de discriminer G1 et G6 et détecter leurs échanges génétiques éventuels.

Malgré sa complexité, ce microsatellite multilocus répété en tandem possède les trois caractéristiques importantes pour un marqueur moléculaire, c'est à dire la sensibilité, la répétitivité et la puissance discriminatoire. Il permettra d'évaluer le polymorphisme génétique de *E. granulosus* et d'étudier sa distribution spatiale en détail (Bart et al., 2006).

L'objectif de cette présente étude était d'effectuer une double infestation expérimentale chez l'hôte définitif qui pourrait révéler une fécondation croisée entre la souche commune ovine G1 et la souche cameline G6 de *Echinococcus granulosus*, qui sera plus tard caractérisée par une hybridation croisée potentielle au niveau des œufs. Pour tous les 85 adultes isolés et étudiés, le microsatellite multilocus EmsB a montré les profils G1 ou G6 mais aucun profil mixte G1/G6 n'a été identifié. L'absence d'échange génétique visible entre les adultes G1 et G6, alors qu'ils infestaient concomitamment l'intestin du même hôte définitif, suggérant un isolement reproductif fort et donc, pourrait corroborer la reclassification récente des souches G1 et G6 en deux espèces distinctes.

Néanmoins, même si cette étude a été conçue pour offrir les meilleures conditions d'épreuves de fécondation croisée, une double infestation ne garantit pas de contacts suffisants entre les adultes afin d'assurer la présence de tels événements, même dans le cas d'une faible barrière reproductive. Par conséquent, des études complémentaires pourraient être envisagées, comme par exemple, d'infester plusieurs chiens par différentes quantités de protoscolex ou avec différents rapports entre G1/G6. La souche commune ovine G1 et la souche cameline G6 n'ont pas le même profil épidémiologique ou le même impact sur la santé publique. Ainsi, dans le cadre du programme de contrôle, une action visant G1 pourrait être inappropriée pour cibler G6 et vice versa. Ainsi, leur séparation en deux espèces distinctes est pertinentes et à différents niveaux.

CHAPITRE III: Cibler les abattoirs pour contrôler l'échinococcose kystique en Algérie

1-Introduction

En Afrique du Nord, l'échinococcose kystique sévit avec une forte endémicité. Ainsi, elle constitue, en Algérie, un problème majeur de santé publique et économique. Cette forte incidence démontre la nécessité de renforcer la surveillance et le contrôle de la maladie. Les chiens s'infestent habituellement après ingestion de viscères contaminés avec des kystes hydatiques qui n'ont pas été détruits après l'abattage. Pour rompre le cycle épidémiologique entre les hôtes définitifs et intermédiaires, il est impératif d'empêcher les chiens de s'infester par les organes parasités, et éviter ainsi la transmission de l'échinococcose kystique aux humains et aux animaux réceptifs. Notre étude a été réalisée afin d'évaluer si la stratégie basée sur les abattoirs agréés par le ministère de l'agriculture a réduit les pratiques qui favorisent la transmission du parasite entre le bétail et les chiens et a contribué à prévenir la propagation de la maladie chez l'homme. Nous avons étudié le niveau de protection des abattoirs publics et privés à l'égard de l'intrusion de chiens et évalué les stratégies utilisées pour rompre le cycle de transmission de l'échinococcose kystique.

2- Matériel et méthodes

2-1- Zone d'étude

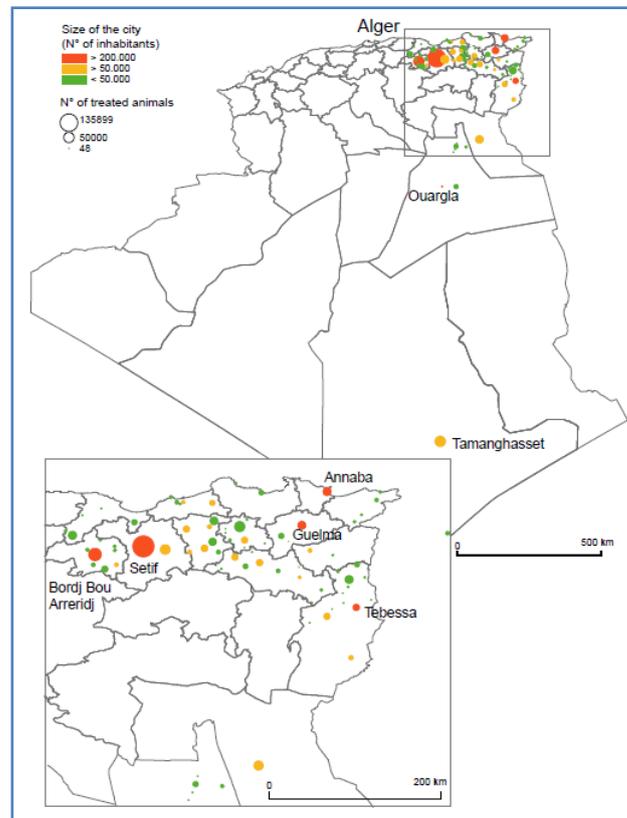


Figure 17. Répartition des abattoirs de notre étude

L'Algérie a une superficie de 2.381.741 km² et est divisé en 48 districts administratifs ou wilayas. L'enquête (voir annexes) de cette étude a été menée dans 81 abattoirs de 18 wilayas situées dans l'est de l'Algérie. La zone d'étude peut être divisée en trois régions représentatives des différents types de climats et de paysages de l'Algérie : la région littorale, la région centrale et la région sud, où ont été étudiés 17, 53 et 11 abattoirs, respectivement (Figure 17). Les abattoirs ont également été classés selon le nombre d'habitants des villes où ils se trouvaient: les zones urbaines, correspondant généralement aux wilayas (> 200 000 habitants), les zones semi-urbaines, correspondant à des daïras (50 000 à 200 000 habitants), et les zones rurales, ce qui correspond à des petites villes (< 50 000 habitants) (Tableau 5). Les abattoirs ont également été classés selon le nombre d'animaux abattus par an (tête / an) : grand (> 8000 têtes / an), à moyen (3,000-8,000 têtes /an) et de petite taille (< 3000 têtes / an).

Tableau 5. Affiliation et répartition des abattoirs selon la taille et la localisation géographique

	Littoral	Sud	Intérieur	Rural	Semi urbain	Urbain	Municipal	Privé	Total
Grands	4	2	17	8	10	5	22	1	23
Moyens	6	4	18	18	8	2	25	3	28
Petits	7	5	18	29	0	1	30	0	30

2-2- La collecte des données

Chaque abattoir a été visité, et un questionnaire a été remis aux inspecteurs vétérinaires et/ou les techniciens. Ce questionnaire portait sur les informations suivantes: la situation géographique et la wilaya d'affiliation, nombre d'animaux abattus par an classés par espèces animales (têtes par an), le nombre d'agents vétérinaires, des techniciens et des bouchers, le niveau de protection des abattoirs contre l'accès des chiens, les procédures d'inspection post-mortem des animaux et de l'élimination des abats infectés. L'évaluation fiable des procédures d'inspection post-mortem des animaux comprend la fréquence d'inspection et l'enregistrement des abats parasités saisis pour l'E.K lors de l'inspection post-mortem par un vétérinaire. La fréquence de l'inspection vétérinaire a été jugée acceptable si elle était supérieure à 12 fois par mois. Le niveau de protection de l'abattoir contre l'accès des chiens a été considéré comme fiable si les conditions suivantes sont réunies : les abats étaient gardés et isolés dans une chambre spécifique avant d'être éliminés et les abattoirs étaient entourés par une clôture complète. La procédure d'élimination pour les abats infectés a été évaluée en notant comment les abats ont été retirés selon les quatre méthodes suivantes : offertes aux chiens, rejetés dans l'environnant, incinérés ou enfouis à 50 cm sous le sol et recouverts de chaux. Les deux dernières procédures ont été jugés efficaces.

Dans l'ensemble, nous avons estimé que les abattoirs qui étaient engagés dans un comportement approprié à rompre le cycle de transmission de l'E.K, étaient ceux dont les chiens ne pouvaient pas accéder aux abats et dont les procédés d'élimination impliquaient l'incinération ou l'enfouissement des déchets. En revanche, si l'une de ces conditions n'était pas remplie, nous avons considéré que le niveau de protection était inadéquat.

2-3- L'analyse des données

Toutes les données ont été enregistrées dans le programme Microsoft Excel. Nous avons utilisé Phildigit version 2 et Philcarto (<http://philcarto.free.fr/>) pour l'emplacement de tous les 81 abattoirs étudiés en Algérie.

3-Résultats

Les résultats montrent que sur 81 abattoirs 57 possédaient une clôture intacte, il n'y a pas de grande différence entre les trois catégories d'abattoir, et dans 69 abattoirs les chiens erraient aux alentours, dans les moyens et petits abattoirs surtout (tableau 6).

Tableau 6. Statut d'isolation des 81 abattoirs (selon la taille)

Taille des abattoir (n)	Statut de l'isolation des abattoirs	
	% des abattoirs avec une clôture intacte (n)	Chiens dans les alentours des abattoirs (%) (n)
Grands (23)	91.3 (21)	87 (20)
Moyens (28)	64.3 (18)	85.7 (24)
Petits (30)	60 (18)	83.3 (25)
Total (81)	70.4 (57)	85.2 (69)

La fréquence de l'inspection montre que ce sont les grands abattoirs qui inspectent quotidiennement par rapport aux autres catégories d'abattoir et les viscères parasités sont enregistrés de façon moins régulière dans les petits abattoirs (tableau 7)

Tableau 7. Inspection des viandes selon la taille et la fréquence de l'inspection

Abattoirs, taille (n.)	Fréquence de l'inspection	Inspection vétérinaire	
		% des abattoirs inspectés (n)	% à infections enregistrées
Grands (23)	Toujours	100 (23)	87 (20)
	Quelque fois	0 (0)	13 (3)
	Jamais	0 (0)	0 (0)
Moyens (28)	Toujours	89,3 (25)	60,7 (17)
	Quelque fois	10,7	39,3 (11)
	Jamais	(3) 0 (0)	0 (0)
Petits (30)	Toujours	93,3 (28)	50(15)
	Quelque fois	6,7 (2)	46,7 (14)
	Jamais	0 (0)	3,3(1)

L'accès des chiens aux abats parasités est facilité lorsque les abats sont laissés sans surveillance, déversés dans la nature ou directement nourris par les êtres humains (tableau 8)

Tableau 8. Proportions des différentes catégories d'abattoirs (n = 81) par rapport au niveau de l'accès aux abats par les chiens.

	Nombre d'abattoirs aux mauvaises pratiques				Nombre d'abattoirs aux bonnes pratiques
	Abats laissés sans surveillance	Abats déversés dans l'environnement	Chiens nourris avec des abats	Total	
Unité urbaine*					
URBAIN	0	0	0	0	6
SEMI URBAIN	3	3	1	7	9
RURAL	4	18	5	27	32
Total	7	21	6	34	47
Taille**					
GRANDS	0	6	1	7	16
MOYENS	6	8	0	14	12
PETITS	1	7	5	13	19
Total	7	21	6	34	47

Les abattoirs ont été classés en fonction de leur taille et de leur unité urbaine.

* l'Unité urbaine correspondant aux préfectures (> 200 000 habitants), l'unité semi-urbaine correspondant aux sous-préfectures (50 000 à 200 000 habitants), et l'unité rurale correspondant à des petites villes (<50 000 habitants).

** Taille des abattoirs en fonction du nombre d'animaux abattus par an (tête / an): grands (> 8000 têtes / an), moyens (3000-8000 têtes / an) et de petits (<3000 têtes / an)

Des informations concernant les 81 abattoirs ont été fournies par les inspecteurs vétérinaires et / ou les techniciens. Selon le tableau 6, il est indiqué que 91,3% (21/23) des grands abattoirs ont une clôture intacte, 64,3% (18/28) pour les abattoirs moyens et 60% (18/30) pour les petits abattoirs. De plus, il a été observé la présence des chiens aux alentours des abattoirs dans 85,2%, (69/81) avec un accès aux abats de l'ordre de 41,97%.

Dans 6 abattoirs les abats ne sont pas isolés dans des chambres spéciales avant leur destruction et donc ces abats parasités peuvent être mis à la disposition des chiens ceci n'a pas été indiqué dans les grands abattoirs. Cependant, l'accès des chiens aux abattoirs a été noté dans les trois catégories.

La fréquence de l'inspection vétérinaire est jugée acceptable lorsqu'elle s'effectuait plus de 12 fois par mois dans notre enquête, elle s'effectue de façon irrégulière à raison de 6,17% en particulier dans les abattoirs situés dans les zones rurales et correspondent à de petits ou moyens abattoirs.

Les abats saisis impropres à la consommation sont éliminés selon différentes méthodes :

Incinérés, enfouis, déversés dans la nature. Ainsi 41,5% des abattoirs procèdent à l'incinération des abats parasités. Cependant ce sont les grands abattoirs qui incinèrent le plus à raison de 60,8% (14/23) et respectivement 32,1% (9 /28) et 6,7% (2/30) pour les moyens et petits abattoirs.

L'incinération est le mode de destruction légal des abats au sein d'un abattoir, alors que brûler des abats, pratiqué dans 58,5% des abattoirs, est un acte dangereux pour l'atmosphère et les humains (pollution et risque d'incendies) ; par contre l'enfouissement des abats saisis se fait à 50cm sous terre et recouvert par de la chaux, pratique réalisée dans 27,16% (n =22) des abattoirs.

Des pratiques dangereuses d'élimination des viscères saisis ont été observées dans de nombreux abattoirs, indépendamment de leur taille et localisation: telles nourrir les chiens 7,41% (6/81) ou déversés dans la nature 25,92% (21/81); c'est-à-dire jetés dans les décharges publiques et donc mis directement à la disposition des chiens, sachant que 37,03% des abats se sont révélés positifs pour le kyste hydatique lors des inspections post-mortem dans l'ensemble des abattoirs étudiés.

La situation où les abats sont mis en contact des chiens a été décrite au niveau des abattoirs ruraux mais dans aucun abattoir urbain, ce résultat met en évidence l'importance de la région rurale dans la persistance de l'échinococcose kystique, notamment par la présence des chiens errants qui sont en contact avec les chiens de bergers ceux-ci sont incriminés dans la transmission de l'échinococcose kystique chez les ruminants et l'homme.

4- Discussion

En Algérie l'infection par le kyste hydatique est commune chez le bétail. En 2003, le taux de prévalence enregistré chez les ruminants dans la partie orientale du pays a été estimé à 12,8% (Bardonnet et al., 2003 ; Benchikh ElFegoun, 2004) . Le cycle évolutif prédominant de *E. granulosus* implique un cycle synanthropique avec les chiens comme hôtes définitifs et les animaux d'élevage comme hôtes intermédiaires (Torgerson et al., 2003; Otero - Abad et al., 2013) . Les chiens contribuent de manière significative à la transmission de l'EK aux hôtes intermédiaires et à la biomasse parasitaire accrue dans l'environnement. En outre, ils sont une source potentielle de contamination de l'environnement humain immédiat, et ils peuvent exposer la population, surtout les enfants, à l'infection lorsque les chiens semi-errants parasités reviennent à leurs propriétaires (Ouhelli et al., 1997; Reyes, 2012). Un certain nombre de facteurs ont été trouvés pour influencer la fréquence de l'échinococcose canine.

Le plus important d'entre eux est l'accès potentiel des chiens aux abats crus infectés (Otero - Abad et al., 2013). En Algérie, le nombre de chiens errants infectés par *E. granulosus* est élevé : les taux de prévalence de l'échinococcose des chiens errants varient de 15% à 42% (Benchikh ElFegoun et al., 2004 ; Kohil, 2008 ; Bentounsi et al., 2009). Il a également été constaté que les chiens vivant dans les zones rurales présentaient un risque plus élevé d'infection par rapport aux chiens urbains (El Shazly et al., 2007; . Otero - Abad et al., 2013; Seimenis et al., 2006). Plusieurs études ont rapporté une prévalence élevée de l'échinococcose canine dans d'autres pays du Maghreb. Des taux de prévalences de 27%, 27,81% et 58% ont été enregistrés chez les chiens errants en Tunisie, la Libye et le Maroc, respectivement (Gusbi et al., 1987; Lahmar et al., 2001).

Par conséquent, les programmes de contrôle visent principalement à réduire la prévalence de l'échinococcose canine chez le chien et ainsi la contamination de l'environnement avec des œufs rejetés dans les excréments de chiens.

Dans la présente étude, le ciblage des abattoirs en Algérie constitue une stratégie importante pour le contrôle de l'échinococcose kystique. Les résultats de l'enquête montrent que les conditions de nombreux abattoirs favorisent la transmission de *Echinococcus granulosus* chez l'hôte définitif qui est la source d'infestation pour les hôtes intermédiaires.

Notre étude a montré que dans un tiers des abattoirs, les chiens pourraient avoir facilement accès aux abats potentiellement parasités. La mauvaise pratique la plus courante que nous avons trouvée est le déversement des déchets dans l'environnement naturel local à la place de l'élimination définitive des déchets par incinération ou enfouissement. Même une procédure d'élimination appropriée des abats ne protège pas nécessairement les chiens contre la contamination : les abats sont parfois laissés sans surveillance dans une chambre non scellée, les chiens peuvent y accéder. En outre, l'absence d'une clôture autour des abattoirs facilite aussi l'accès des chiens à l'intérieur de l'abattoir même si les processus en aval sont respectés. Ces lacunes sont tributaires de l'infrastructure des abattoirs et peuvent être relativement faciles à surmonter. Même si les grands abattoirs ont une meilleure infrastructure que les petits abattoirs, notre étude a montré que, indépendamment de la taille, les chiens peuvent avoir accès aux abattoirs, en particulier lorsque l'élimination de déchets contaminés n'est pas correctement effectuée.

Des pratiques encore plus graves ont également été observées, telles que l'alimentation directe des chiens avec des abats. Ces pratiques favorisent grandement la transmission du parasite

entre le bétail et les chiens. Tous ces facteurs de risque doivent être pris en considération lors de l'application du programme de contrôle et peuvent expliquer la persistance de l'infection et la disponibilité d'une biomasse parasitaire suffisante dans les zones rurales mais aussi dans les zones urbaines (abattage clandestin, décharges publiques). Dans cette étude, nous avons observé que pour un certain nombre d'abattoirs, l'inspection vétérinaire et l'enregistrement des animaux infectés sont très irrégulières. Ces opérations sont pourtant importantes pour dresser une carte précise de l'évolution de l'échinococcose kystique chez le bétail, ce qui permet une meilleure supervision des programmes de contrôle de la maladie.

Les mesures de contrôle doivent tenir compte des principaux facteurs de transmission, tels l'alimentation des chiens avec des abats parasités, l'accès des chiens aux abattoirs, la non destruction et l'absence d'enfouissement des viscères infestés de kystes hydatiques, et le manque de traitement antiparasitaire des chiens.

Les mesures de contrôle doivent également se pencher sur l'éradication des chiens errants, et sur le traitement anthelminthique régulier des chiens semi-errants. Certes, des campagnes d'abattage des chiens errants sont programmées et organisées par les bureaux d'hygiène communaux mais ces opérations demeurent irrégulières, et la population de chiens errants a tendance à augmenter d'année en année. L'éducation sanitaire est impérative et doit cibler surtout les personnes exposées à la contamination (éleveurs, bouchers, enfants...) ainsi que le personnel des abattoirs en vue de les sensibiliser sur le cycle évolutif du parasite et les risques qu'il présente pour les personnes et les animaux. L'homme joue un rôle important dans la transmission d'*E. granulosus*. Aussi, les campagnes de sensibilisation menées sur le terrain dans les zones rurales et urbaines doivent inciter les humains à changer leurs habitudes et leur comportement vis-à-vis des animaux (Yang et al., 2006).

Il est encourageant de savoir que certains programmes de lutte dans d'autres pays ont montré que des résultats satisfaisants peuvent être obtenus en moins de 15 ans si toutes les mesures de contrôle sont effectuées sans les contraintes et les restrictions financières (Gemmell et al., 2001a ; Gemmell et al., 2001b ; Larrieu et al., 2000). Par exemple, dans la communauté de La Rioja en Espagne, un programme pour la prévention et le contrôle de la maladie hydatique a été lancé en 1987. L'accent du programme était de cibler les points critiques dans la transmission de *E. granulosus*, notamment en augmentant la sensibilisation aux risques de la maladie dans la population, le traitement des chiens avec le Praziquantel à des intervalles de 45 jours, l'amélioration du contrôle des chiens errants, et fournir des moyens

pour l'élimination sûre des abats de moutons abattus et l'élimination sécuritaire des moutons morts dans des fosses sanitaires. Ces mesures ont conduit à une baisse de la prévalence de *E. granulosus* chez les chiens de 7,0 % au début du programme à 0,2 % en 2000 et chez les ovins adultes de 82,3 à 20,3 % (Jimenez et al., 2002) . Cependant, nos résultats ont montré qu'en Algérie, les premières étapes d'un tel programme d'élimination doivent être entreprises rapidement. Même la prévention de l'accès des chiens domestiques et errants aux abattoirs officiels reste problématique, malgré le fait qu'il représente l'un des objectifs les plus faciles à atteindre lors de la mise en œuvre d'un programme de contrôle de l'échinococcose kystique.

CONCLUSION GENERALE

Le séquençage des deux cibles, amplifiées avec les deux paires d'amorces CoxI et NadI a permis de confirmer l'existence de deux génotypes ou souches d'*Echinococcus granulosus* dans le sud de l'Algérie:

- le génotype (G1), souche commune ovine d'*E. granulosus*, obtenu à partir de 36 échantillons (14/17 camelins, 3/4 ovins, 4/4 bovins, 3/3 caprins et 12/14 humains) sur 42 au total soit 85,71%.

- et le génotype (G6), souche cameline, a été obtenu à partir de 7 échantillons (3/17 camelins, 1/4 ovin et 2/14 humains) soit 14,28%.

Les résultats ont confirmé la prédominance et le caractère ubiquiste de la souche commune ovine (G1), circulant chez les ovins, bovins, caprins, et chez de nombreux camelins, transmissible aux humains.

La présente étude a par ailleurs démontré la participation des camelins aux côtés des autres ruminants domestiques (ovins, bovins) dans la dynamique de transmission de cette souche zoonotique aux humains via le chien, suggérant ainsi le cycle de transmission camelins-chiens dans le sud de l'Algérie.

La souche cameline (G6) trouvée chez les camelins et circulant occasionnellement chez les autres ruminants, semble moins fréquente que la souche ovine (G1). Cette souche a été isolée pour la première fois chez les humains dans le sud de l'Algérie. Habituellement, les camelins constituent les réservoirs potentiels de la souche cameline (G6), bien que d'autres espèces notamment les caprins peuvent représenter des sources importantes.

En Algérie, la présence de la souche cameline (G6) a des implications pour les programmes de contrôle local en raison de la durée de la période prépatente plus courte chez les chiens (hôtes définitifs) par rapport à celle de la souche commune ovine (G1) (40 jours pour G6 vs 45 jours pour le génotype G1).

Les stratégies de contrôle doivent être adaptées à l'épidémiologie moléculaire locale pour assurer un meilleur contrôle de l'échinococcose kystique.

Les souches commune ovine et cameline semblent être biologiquement distinctes et aussi génétiquement différentes l'une de l'autre comme elles le sont avec *E. multilocularis*. Pour confirmer le statut d'espèce, une étude moléculaire a été réalisée en vue de rechercher des hybrides dans le cadre d'une double infestation expérimentale sur un chien. Le potentiel de reproduction entre les souches G1 et G6 a été évalué à l'aide d'un nouveau marqueur nucléaire, un microsatellite multilocus répété en tandem (EmsB).

En raison de sa localisation dans le génome nucléaire, les fécondations croisées peuvent être impliquées dans la modification du EmsB.

Ce nouveau marqueur génétique est en mesure de discriminer G1 et G6 et détecter leurs échanges génétiques éventuels.

Au travers des résultats de la coinfection, et pour l'ensemble des cestodes adultes isolés et étudiés, les mictosatellites multilocus EmsB ont montré les profils G1 ou G6 mais aucun profil mixte G1/G6 n'a été identifié. L'absence d'échange génétique visible entre les adultes G1 et G6, alors qu'ils infestaient concomitamment l'intestin du même hôte définitif, suggérant un isolement reproductif fort et donc, pourrait corroborer la reclassification récente des souches G1 et G6 en deux espèces distinctes : *Echinococcus granulosus* sensu stricto et *Echinococcus canadensis* respectivement.

Les chiens contribuent de manière significative à la transmission de l'E.K aux hôtes intermédiaires et à la biomasse parasitaire accrue dans l'environnement. En outre, ils sont une source potentielle de contamination de l'environnement humain immédiat, et ils peuvent exposer la population, surtout les enfants, à l'infection lorsque les chiens semi-errants parasités reviennent à leurs propriétaires.

Un certain nombre de facteurs ont été trouvés pour influencer la fréquence de l'échinococcose canine. Le plus important d'entre eux est l'accès potentiel des chiens aux abats crus infectés. Par conséquent, les programmes de contrôle visent principalement à réduire la prévalence de l'échinococcose canine chez le chien et ainsi la contamination de l'environnement avec des œufs rejetés dans les excréments de chiens.

Dans la présente étude, le ciblage des abattoirs en Algérie constitue une stratégie importante pour le contrôle de l'échinococcose kystique. Les résultats de l'enquête montrent que les conditions de nombreux abattoirs favorisent la transmission de *Echinococcus granulosus* chez l'hôte définitif qui est la source d'infestation pour les hôtes intermédiaires :

- accès des chiens aux abats potentiellement parasités ;
- manque d'incinération et d'enfouissement des abats saisis... et déversement des déchets dans la nature ;

En outre, l'absence d'une clôture autour des abattoirs facilite aussi l'accès des chiens à l'intérieur de l'abattoir.

Tous ces facteurs de risque doivent être pris en considération lors de l'application du programme de contrôle et peuvent expliquer la persistance de l'infection et la disponibilité d'une biomasse parasitaire suffisante dans les zones rurales mais aussi dans les zones

urbaines. Il est aussi important d'observer la régularité de l'inspection sanitaire et de l'enregistrement des animaux infectés ;

Les mesures de contrôle doivent également se pencher sur l'éradication des chiens errants, et sur le traitement anthelminthique régulier des chiens semi-errants.

L'éducation sanitaire est impérative et doit cibler surtout les personnes exposées à la contamination (éleveurs, bouchers, enfants...) ainsi que le personnel des abattoirs en vue de les sensibiliser sur le cycle évolutif du parasite et les risques qu'il présente pour les personnes et les animaux. L'homme joue un rôle important dans la transmission d'*E. granulosus*. Aussi, les campagnes de sensibilisation menées sur le terrain dans les zones rurales et urbaines doivent inciter les humains à changer leurs habitudes et leur comportement vis-à-vis des animaux.

PROGRAMME DE CONTROLE DE L'ECHINOCOCCOSE KYSTIQUE A

Echinococcus granulosus

Le programme de lutte s'articule sur les recommandations suivantes :

- Nécessité d'un programme de contrôle à long terme, plus long que le mandat d'un politicien.
- Programme de lutte commune à l'encontre des maladies zoonotiques majeures en Algérie telles la leishmaniose, la rage dont le chien est le principal réservoir
- Réactivation de la structure chargée de l'autorité de la lutte (comité national de lutte contre les zoonoses). Définir les fonctions de cette structure chargée du programme de contrôle.
- Création d'un réseau d'activités permanentes à l'encontre de l'échinococcose kystique.
- Promulgation d'une législation dans laquelle sont incluses des mesures spécifiques pour interrompre la transmission du parasite.
- Implication des politiques, et collaboration inter professionnelle (entre la santé publique, santé animale, bureaux d'hygiènes municipaux, populations)
- Avant l'application du programme, des données de base utiles doivent être collectées pour servir comme référence pour mesurer les progrès de contrôle (évaluation de la prévalence d'*E. granulosus* chez les populations canines ; appréciation de la prévalence de l'échinococcose kystique chez le bétail domestique, et chez les humains).

De nouvelles approches sont utilisées dans les enquêtes ; à titre d'exemple l'ELISA coproantigène peut être utilisée pour détecter l'*E. granulosus* dans les populations de chiens et l'ultrasonographie seule ou en combinaison avec la sérologie peuvent être utilisées pour le diagnostic de masse chez les humains (Christofi et al., 2002 ; Craig, 1997 ; Fraser et al., 2002 ; Rogan et al., 2002 ; Schantz, 1997 ; Who, 2001).

- Mesures de contrôles spécifiques

Programme d'éducation sanitaire publique à long terme

Informé des risques de l'E.K et des sources de contamination de la maladie, en organisant des campagnes d'éducation sanitaire en particulier dans les régions endémiques, les personnes dont les métiers sont à risque : les vétérinaires, les bergers, les propriétaires de chiens.

Pour ce faire tous les moyens (médias : télévision, radios...) seront utilisés pour sensibiliser et informer les collectivités. Pour être efficace, L'éducation sanitaire doit viser à modifier l'attitude et le comportement de la population pour une destruction appropriée des abats parasités, sachant qu' en Algérie, le kyste hydatique chez l'homme a une prévalence élevée (Kayoueche., 2009) ce qui implique des dépenses économiques considérables suite à la prise en charge des malades, les soins hospitaliers et dans certains cas des rechutes possibles. Les campagnes de dépistage de l'E.K chez l'homme doivent concerner toutes les régions d'Algérie mais plus particulièrement les zones endémiques et aussi les habitations loin des hôpitaux.

Les enfants doivent connaître les risques de contamination avec *E. granulosus* car ils sont plus exposés par contact avec des chiens infestés, et ceci par un enseignement à l'école ou au sein des collectivités locales (maisons de jeunes, mosquées...). Des brochures, pamphlets, livres, peuvent être aussi utilisés, dans lesquels seront mentionnées certaines réglementations à suivre :

- . Eviter la promiscuité avec les chiens en zone d'endémie,
- . Se laver soigneusement les mains après avoir touché un chien,
- . Laver abondamment les fruits et légumes consommés crus.

1- Chez l'hôte définitif (le chien)

- Diminuer la biomasse parasitaire par

-L'abattage de tous les chiens errants : nécessité d'une politique ferme de réduction de la population canine. L'élimination des chiens errants doit être une activité régulière des bureaux d'hygiène communaux à travers tout le pays.

-Garder les chiens éloignés des lieux de préparation ou de conditionnement des aliments, ainsi que les jardins potagers.

. Traitement régulier de tous les chiens avec le Praziquantel car actuellement c'est le vermifuge de choix, efficace à 100% contre le *Taenia Echinocoque* agissant sur les formes immatures dès la quatrième semaine et même plus tôt (Eckert et al., 1997). Il est administré à

des intervalles correspondant à la période pré patente, variable selon la souche d'*E. granulosus* (en moyenne tous les 2 mois). Les propriétaires doivent être responsabilisés pour le traitement de leurs chiens.

- **Identification de tous les chiens à propriétaires** : établissement d'une carte individuelle dont les caractéristiques du chien et les traitements contre *E. granulosus* seront enregistrés.

- **Limitation du nombre de chiens par foyer**

- *Stérilisation des chiennes*

2- Chez les hôtes intermédiaires

-La lutte contre le kyste hydatique passe impérativement par l'interdiction des abattages clandestins du bétail. En Tunisie, les abattages clandestins représentent 40% de l'abattage national (Majorowski et al., 2005).

- Contrôle rigoureux des établissements d'abattage (abattoirs et tueries)

- Hygiène d'abattage et utilisation des incinérateurs pour la destruction des abats saisis

-Amélioration de l'inspection des viandes.

- Création d'une police sanitaire dans les abattoirs

-Eviter pendant les fêtes religieuses, de jeter les abats parasités dans les décharges publiques pour rompre le cycle entre les hôtes intermédiaires et l'hôte définitif en particulier les chiens errants.

Des programmes de lutte contre l'E.K dans divers pays avec des moyens financiers à long terme (jusqu'à 15 ans) (Gemmell et al., 2001a ; Gemmell et al., 2001c), ont aboutit à des résultats très satisfaisants dans des îles (Nouvelle Zélande, Tasmanie, Iles Falkland, et Chypre), et partiellement efficaces dans les régions continentales (Argentine, Chili, Uruguay, Bulgarie, Espagne, une partie de la Chine) (Christofi et al., 2002 ; Economides et al., 2002 ; Economides et al., 2001 ; Gemmell et al., 2001a ; Gemmell et al., 2001b ; Larrieu et al., 2001 ; Wen et al., 2002).

Citons le cas de **Chypre** où le programme de lutte était basé sur l'éradication des chiens errants, l'interdiction aux chiens d'accéder aux abattoirs en installant des clôtures, ce programme établi en 1971 a pris fin en 1985, dans ce programme le taux de kyste hydatique a seulement diminué mais n'a pas disparu totalement. Ainsi, un deuxième programme, mis en œuvre en 1993, a été adopté visant le contrôle des hôtes intermédiaires, le traitement des

chiens errants et de compagnie dans les zones endémiques ainsi l'E.K dans ce pays a été contrôlée.

Dans la Province de Rio Negro d'Argentine, un programme de contrôle incluant un traitement des chiens avec le Praziquantel (5 mg/kg de poids vif) à 2 mois d'intervalle a, au bout de 20 ans (1979/1980 à 1999), réduit la prévalence des kystes chez les ovins de 61 à 18% et des stades adultes intestinaux des chiens de 40 à 2-3% (Larrieu et al., 2001). En Uruguay, l'application rigoureuse des mesures de contrôle de *E. granulosus*, de 1991 à 1997, a permis de réduire de 66,7% les saisies de foies infestés par le kyste hydatique, correspondant à un gain de 32 millions de dollars américains (Orlando, 2002).

La lutte contre l'échinococcose kystique passe par une prise de conscience collective et individuelle ainsi que l'aide de l'Etat représenté par les différents ministères (Guide de lutte contre l'hydatidose. 2007).

ACTIONS ET PERSPECTIVES DE L'OMS

Action de l'OMS

En 1950, et à Genève les experts du groupe mixte OMS/FAO avaient organisé la première session dans le but de formuler des recommandations, concernant les zoonoses en général, qui serviraient de directives à l'OMS et à la FAO.

Les experts rédigent un rapport où ils interpellent les autorités à prendre des mesures efficaces contre certaines maladies zoonotiques parmi elles l'échinococcose kystique et ceci afin de préserver la santé publique et l'économie nationale.

Selon l'OMS, l'échinococcose kystique entraînerait chaque année la perte d'un million de DALY (année de vie ajustée sur l'incapacité) au moins, sans doute trois. Les coûts annuels imputables à l'échinococcose kystique sont estimés à 3 milliards de dollars (US \$) (traitement des cas et pertes pour le secteur de l'élevage). En fonction de l'espèce infectée, les pertes de production animale imputables à l'échinococcose kystique peuvent découler de l'impossibilité d'utiliser le foie, de la réduction du poids de la carcasse, de la perte de valeur des peaux, de la baisse de la production de lait et de la réduction de la fertilité (Echinococcose: Aide mémoire N° 377 Mars 2013).

Actions et perspectives de l'OMS

L'OMS a établi une liste non exhaustive de Maladies Tropicales Négligées (MTN) prioritaires et a élaboré un plan d'action pour la période 2008-2015. l'échinococcose kystique en fait partie et le programme de lutte contre cette maladie a débuté en 2009, ce programme repose sur une stratégie de lutte intersectorielle. Une circulaire interministérielle a été établie comportant des axes importants visant le contrôle de la population canine, l'éducation sanitaire de la population exposée, le dépistage de la maladie et la prise en charge des patients précocement. Le but de ce programme est de diminuer de moitié l'incidence de l'E.K pour l'année 2015 (Idrissi Azzouzi., 2008-2009).

On estime à 10 millions de dollars (US \$) le coût de la mise en œuvre entre 2013 et 2017 des projets pilotes sur l'échinococcose kystique. Après 2018, des programmes bien adaptés à certains pays seront validés et les efforts seront plus intenses afin de combattre de façon plus crédible l'échinococcose kystique. Enfin et selon l'Organisation Mondiale de la Santé, la vaccination du mouton, avec un antigène recombinant (EG95) d'*E. granulosus* ouvre des perspectives encourageantes dans la prévention et la lutte contre ce fléau.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AATY HE, ABDEL-HAMEED DM, ALAM-ELDIN YH, EL-SHENNAWY SF, AMINOU HA, MAKLED SS, DARWEESH SK (2012). Molecular genotyping of *Echinococcus granulosus* in animal and human isolates from Egypt. *Acta Trop.* Feb;121(2):125-8.

ACHA P.N., SZYFRES B. (1989). Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux, 2^{ème} édition, *O.I.E*, p : 794-813.

AHMAD G., NIZAMI W.A. (1998). Coproantigens: early detection and suitability of an immunodiagnostic method for echinococcosis in dogs. *Vet Parasitol. Jun 30; 77(4):237-44.*

AHMADI N.A. (2005). Hydatidosis in camels (*Camelus dromedarius*) and their potential role in the epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Iran. *J Helminthol. Jun; 79 (2):119-25.*

AHMED ME, ELTOM KH, MUSA NO, ALI IA, ELAMIN FM, GROBUSCH MP, ARADAIB IE (2013). First report on circulation of *Echinococcus ortleppi* in the one humped camel (*Camelus dromedaries*), Sudan. *BMC Vet Res. Jun 25;9:127.* doi: 10.1186/1746-6148-9-127.

ALLAN J.C., CRAIG P.S., GARCIA N. J., MENCOS F., LIU D., WANG Y., WEN H., ZHOU P., STRINGER R., ROGAN M., ZEYHLE E.(1992). Coproantigen detection for immunodiagnosis of echinococcosis and taeniasis in dogs and humans. *Parasitology. Apr;104 (Pt 2):347-56.*

ALLAN J.C., CRAIG P.S (2006). Coproantigens in taeniasis and echinococcosis. *Parasitol Int. 2006;55 Suppl:S75-80.*

ALTINTAS N (2003). Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Trop. 85:105-112.*

AL-QAOUD K.M., ABDEL-HAFEZ S.K., CRAIG P.S (2003). Canine echinococcosis in northern Jordan: increased prevalence and dominance of sheep/dog strain. *Parasitol Res. Jun; 90(3):187-91.*

ALVAREZ ROJAS C. A., GAUCI C. G and LIGHTOWLERS M. W (2013). Antigenic differences between the EG95-related proteins from *Echinococcus granulosus* G1 and G6 genotypes: implications for vaccination. *Parasite Immunology Volume 35, Issue 2, pages 99–102, February 2013*

AMEUR A, LEZREK M, BOUMDIN H, TOUTI D, ABBAR M, BEDDOUCHE A (2002). [Hydatid cyst of the kidney based on a series of 34 cases]. *Prog Urol. 2002 Jun; 12(3):409-14.*

ANDERSEN F.L., OUHELLI H., KACHANI M (1997). Compendium on cystic echinococcosis in Africa and middle eastern countries with special reference to Morocco.

AUBRY PIERRE. *Hydatidose ou Kyste hydatique Actualités 2011* Mise à jour le 12/10/2012 <http://medecinetropicale.free.fr/cours/hydatidose.pdf>.

AWAN M.A., GUSBI A.M., BEESLEY W.N. (1990). Echinococcosis in Libya. III. Further studies on the prevalence of *Echinococcus granulosus* in dogs. *Ann Trop Med Parasitol. Oct; 84(5):473-5.*

AZAB ME, BISHARA SA, HELMY H, OTEIFA NM, EL-HSEINY LM, RAMZY RM, AHMED MA. (2004). Molecular characterization of Egyptian human and animal *Echinococcus granulosus* isolates by RAPD-PCR technique. *J Egypt Soc Parasitol. 2004 Apr; 34(1):83-96.*

AZLAF R., DAKKAK A. (2006). Epidemiological study of the cystic echinococcosis in Morocco. *Vet Parasitol. Apr 15;137 (1-2):83-93.*

BARDONNET K, PIARROUX R, DIA L, SCHNEEGANS F, BEURDELEY A, GODOT V, VUITTON DA (2002). Combined eco-epidemiological and molecular biology approaches to assess *Echinococcus granulosus* transmission to humans in Mauritania: occurrence of the 'camel' strain and human cystic echinococcosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002 Jul-Aug;96(4):383-6.

BARDONNET K., BENCHIKH-ELFEGOUN M.C., BART J.M., HARRAGA S., HANNACHE N., HADDAD S., DUMON H., VUITTON D.A., PIARROUX R. (2003). Cystic echinococcosis in Algeria : cattle act as reservoirs of a sheep and may contribute to human contamination. *Veterinary Parasitology* 116 ; 35-44.

BART J.M, BARDONNET K, BENCHIKH-ELFEGOUN M.C, DUMON H, DIA L, VUITTON D.A, PIARROUX R.(2004). *Echinococcus granulosus* strain typing in North Africa: comparison of eight nuclear and mitochondrial DNA fragments. *Parasitology. Feb;* 128(Pt 2):229-34.

BART J.M., MORARIU S., KNAPP J., ILIE M.S., PITULESCU M., ANGHEL A., COSOROABA I., PIARROUX R. (2006). Genetic typing of *Echinococcus granulosus* in Romania. *Parasitol Res.* 2006 Jan; 98(2):130-7.

BART JM, KNAPP J, GOTTSTEIN B, EL-GARCH F, GIRAUDOUX P, GLOWATZKI ML, BERTHOUD H, MAILLARD S, PIARROUX R (2006). EmsB, a tandem repeated multi-loci microsatellite, new tool to investigate the genetic diversity of *Echinococcus multilocularis*. *Infect Genet Evol.* Sep;6(5):390-400.

BATHIARD T., VELLUT F (2002). Coproscopie parasitaire. Thèse médecine vétérinaire, Lyon.

BENABID M, CHAHED MK, NOUIRA R, GALAI Y, BOURATBINE A, AOUN K (2007). Connaissances, comportements et implications sur la transmission de l'hydatidose en Tunisie. *Rev Tun Infectiol, Sept 07, Vol 1, N°4, 22 – 28*

BENCHIKH ELFEGOUN.M .C, (2004), Outils moléculaires et immunologiques utilisés pour évaluer l'épidémiologie de l'échinococcose kystique, *Thèse d'état soutenu le 23 février 2004 à Constantine.*

BENCHIKH-ELFEGOUN M. C; BENAKHLA A; BENTOUNSI B; BERERHI H; SFAKSI A ; DUMON H; PIARROUX R (2008). Evaluation de l'infestation par *Echinococcus granulosus* des chiens par le test E.L.I.S.A. Sciences & Technologie C – N°27, juin (2008), pp.15-22

BEN HABA-BELLIL S, CHELLI I, ZAOUIA K, BELLIL K, MEKNI A, KCHIR N, ZITOUNA M, HAOUET S (2005). Hydatidic synovitis revealed by an acute monoarthritis of the knee. *Joint Bone Spine*. Jan;72(1):93-4.

BENHABYLES N. (1984). Situation de l'hydatidose en Algérie, *Institut National de la Santé Publique : Division d'épidémiologie.*

BENTOUNSI B., MERADI S., AYACHI A., CABARET J (2009). Cestodes of Untreated large stray dog populations in Algeria: a reservoir for herbivore and human parasitic diseases. *The Open Veterinary Science Journal*, 2009, 3, 64-67.

BEURDELEY A., KANE B., SALEM A. & CHOLLET J.Y (1997). – Is hydatidosis a problem in Mauritania? *Arch. int. Hidatid.*, 32, 240.

BINGHAM GM, BUDKE CM, LARRIEU E, DEL CARPIO M, MUJICA G, SLATER MR, MOGUILLANSKY S (2014). A community-based study to examine the epidemiology of human cystic echinococcosis in Rio Negro Province, Argentina. *Acta Trop.* Apr 15;136C:81-88

BONDARI L. & BONDARI V (1998). The intensity of epidemiologic and epizootologic progress of echinococcosis/hydatidosis in Republic of Moldova [in Romanian]. *Rev. rom. Parazitol.*, 7, 67-68.

BOUNAIM A, SAKIT F, JANATI IM (2006). [Primary pelvic hydatid cyst: a case report]. *Med Trop (Mars)*. Jun; 66(3):279-81.

BOURDEAU P., BEUGNET F (1993). Téniasis des carnivores domestiques, *Rec. Med. Vet*, 169 (5/6), p: 353-368.

BOWLES, J., BLAIR, D (1992). Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol. Biochem. Parasitol.* 54 (2), 165–173.

BOWLES J., MCMANUS DP (1993). NADH dehydrogenase 1 gene sequences compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. *Int J Parasitol.* Nov; 23(7):969-72.

BOWLES J, MCMANUS DP (1993a). NADH dehydrogenase I gene sequences compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. *Int. J. Parasitol.* 23: 969-972.

BOWLES J, BLAIR D, MCMANUS DP (1994) Molecular genetics characterization of the cervid strain ('northern form') of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*. 1994 Aug;109 (Pt 2):215-21.

BOWLES J, BLAIR D, MCMANUS DP (1995). A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus*. *Parasitology*. 1995 Apr;110 (Pt 3):317-28.

BUDKE CM, DEPLAZES P, TORGERSON PR (2006). Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerg Infect Dis*. 2006 Feb;12(2):296-303.

Bulletin Mensuel de Liaison et d'Information. Transfert de Technologie en Agriculture. MADRPM/DERD. Juin 2000 PNTTA. Sommaire N°69: Maladies parasitaires du mouton sur parcours.

BUSSIERAS J, CHERLMETTE R, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. Service de parasitologie Abrégé de parasitologie vétérinaire: Helminthologie vétérinaire (1995). Service de parasitologie, Ecole nationale vétérinaire, 1995 - 299 pages.

CAMPOS-BUENO A., LOPEZ-ABENTE G, and ANDRES-CERCADILLO A.M (2000). Risk factors for *Echinococcus granulosus* infection: a case-control study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 62:329-334.

CAPUANO F, RINALDI L, MAURELLI MP, PERUGINI AG, VENEZIANO V, GARRIPA G, GENCHI C, MUSELLA V, CRINGOLLI G (2006). Cystic echinococcosis in water buffaloes: epidemiological survey and molecular evidence of ovine (G1) and buffalo (G3) strains. *Vet Parasitol.* 2006 Apr 30;137(3-4):262-8.

CARMENA D, CARDONA GA (2013). Canine echinococcosis: Global epidemiology and genotypic diversity (2013) *Acta Trop.* Dec; 128(3):441-60.

CHAPMAN A (1995). Isolation and characterisation of species-specific DNA probes from *Taenia solium* and *Taenia saginata* and their use in an egg detection assay. *Journal of Clinical microbiology*, 33, p: 1283-1288.

CHRISTOFI G., DEPLAZES P., CHRISTOFI N., TANNER I., ECONOMIDES P., ECKERT J (2002). Screening of dogs for *Echinococcus granulosus* coproantigen in a low endemic situation in Cyprus. *Vet Parasitol.* Apr 2;104(4):299-306.

Comité interministériel de lutte contre l'Hydatidose / Echinococcose. LUTTE CONTRE L'HYDATIDOSE/ECHINOCOCCOSE : Guide des activités de lutte, 2007. Disponible sur internet : URL:<http://www.sante.gov.ma>.

CRAIG P. S., MACPHERSON C.N.L., WATSON-JONES D.L and NELSON D.S (1988). Immunodetection of *Echinococcus* eggs from naturally infected dogs and from environmental contamination sites in settlements in Turkana, Kenya. *Trans . R.Soc.Trop.Med.Hyg.*, 82, 268-274.

CRAIG P.S., GASSER R.B., PARADA L., CABRERA P., PARIETTI S., BORGUES C., ACUTTIS A., AGALLA J., SNOWDEN K., PAOLILLO E (1995). Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody test with arecoline purgation in Uruguay. *Veterinary Parasitology*, 56, p: 293-301.

CRAIG P.S., DAZHONG S., BARTHOLOM B., VUITTON D.A., WANG W., BAMISH G., MACPHERSON C., HARRAGA S., WANG Y., SHI D (1997). – Epidemiology and transmission of cystic echinococcosis: *China. Arch. int. Hidatid.*, 32, 50-54.

CRAIG P.S. (2003) Echinococcus multilocularis. *Curr Opin Infect Dis. Oct*; 16(5):437-44.

CRAIG P.S., MCMANUS D.P., LIGHTOWLER M.W (2007). Prevention and control of cystic echinococcosis. *Lancet infection Disease*, 2007, 7, 385-394.

DAKKAK A (2010). Echinococcosis/hydatidosis: a severe threat in Mediterranean countries. *Vet Parasitol.* 2010 Nov 24;174(1-2):2-11

DAR F.K. & ALKARMI T (1997). Cystic echinococcosis in the Gulf Littoral States. *In* Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special reference to Morocco (F.L. Andersen, H. Ouhelli & M. Kachani, eds). *Brigham Young University, Print Services, Provo, Utah*, 281-291.

D.E.L.M. Guide de lutte contre l'hydatidose 2007. Disponible sur internet :
URL:<http://www.sante.gov.ma>.

DEPLAZES P., ECKERT J (1988). [The infection of dogs with *Taenia hydatigena*].
Schweiz Arch Tierheilkd. 1988 Jun;130(6):289-306.

DEPLAZES P., GOTTSTEIN B., ECKERT J., JENKINS D., EWALD D and JIMENEZ-PALACIOS S (1992). Detection of Echinococcus coproantigens by enzyme linked immunosorbent assay in dogs, dingoes and foxes. *Parasitology Research*, 78, p: 303-308.

DORE F, VARCASIA A, PIPIA AP, SANNA G, PINNA PARGAGLIA ML, CORDA A, ROMIG T, SCALA A (2014). Ultrasound as a monitoring tool for cystic echinococcosis in sheep. *Vet Parasitol.* Jun 16; 203(1-2):59-64.

ECHINOCOCCOSE: Aide mémoire N° 377 Mars 2013

ECKERT J. and THOMPSON R.C.A (1997). Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* and related species with emphasis on their infectivity to humans. *Acta Trop.*, 64, 19-34.

ECKERT J., GEMMEL M.A., MESLIN F.X., PAWLOWSKI Z.S (2001). (eds), *WHO/OIE Manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern*, OIE/WHO. Paris, p: 20-71.

ECKERT J., DEPLAZES P., CRAIG P.S., GEMMEL M.A., GOTTSTEIN B., HEATH D., JENKINS D.J., KAMIYA M and LIGHTOWLERS M. (2002). WHO/OIE. *Manuel on echinococcosis in humans and animals*

ECKERT J and DEPLAZES P. (2004). Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis a zoonis of increasing concern, *Clinical Microbiology Review*; p 107-135.

ECONOMIDES P. (1998). Experience gained and evaluation of the echinococcosis/hydatidosis eradication programme in Cyprus. *In: Proceedings of the International Conference on Veterinary Medicine and Human Health in the 21 ST Century. Kuwait, October 19-21.*

ECONOMIDES P., LARRIE U.E.J., and D. ORLANDO. (2001). Evolution of Programmes for control of *Echinococcus granulosus* (examples), p. 204-209. *In* J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, and Z. S. Pawlowski (ed.), WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. *World Organisation for Animal Health, Paris, France.*

ECONOMIDES P., CHRISTOFI G (2002). Experience gained and evaluation of the Echinococcosis/ hydatidosis eradication programmes in Cyprus 1971-1999. *In* : Craig P and Powlowski Z (eds) Cestode zoonoses: Echinococcosis and cysticercosis an Emergent and Global problem . *IOS Press, Amsterdam pp 367-379.*

EL SHAZLY A M., AWAD S E., NAGATY I M., MORSY T A (2007).. Echinococcosis in dogs in urban and rural areas in Dakahlia Governorate, Egypt. *J Egypt Soc Parasitol.* 37, 483-492.

EUZEBY J (1991). The epidemiology of hydatidosis with special reference to the Mediterranean area. *Parassitologia.* 1991 Apr;33(1):25-39

EUZEBY J (1966). Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine, *Tome 2, maladies dues aux plathelminthes. P : 531-639.*

EUZEBY J (1971) Les échinococcoses animales et leurs relations avec les échinococcoses de l'homme. Paris : Vigot Frères, 1971, 163p.

EUZEBY J (1998). Les parasites des viandes : épidémiologie, physiopathologie, incidences zoonosiques. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 402 p.

FEKI W, GHOZZI S, KHIARIR, GHORBEL J, ELARBI H, KHOUNI H, BEN RAIS N(2008). Parasitol Int. Multiple unusual locations of hydatid cysts including bladder, psoas muscle and liver Mar;57(1):83-6.

FERTIN M., MOUQUET F., LALLEMANT R., GAXOTTE V., DECOENE C., LARRUE B., DUTOIT E de GROOTE P., FAYAD G.(2006).*Diagnosis, imaging, and treatment of an unusual cardiac hydatid cyst. Cardiovasc Pathol. 2006 Nov-Dec; 15(6):356-8.*

FRASER A., ELAYOUBI F and CRAIG P. S (2002). Detection of cestode infections in definitive hosts: present status and future advances, *p. 157-175. In P. Craig and Z. Pawlowski (ed.), Cestode zoonoses: echinococcosis and cysticercosis, an emergent and global problem. IOS Press, Amsterdam, The Netherlands.*

GARIPPA G., GENCHI C., MUSELLA V., CRINGOLI G (2006). Veterinary Parasitology 137 262–268 Cystic echinococcosis in water buffaloes: Epidemiological survey and molecular evidence of ovine (G1) and buffalo (G3) strains

GASSER R.B., LIGHTOWLERS M.W., OBENDORF D.L., JENKINS D.J., RICKARD M.D.(1988). Evaluation of a serological test system for the diagnosis of natural Echinococcus

granulosus infection in dogs using *E. granulosus* protoscolex and oncosphere antigens. *Aust Vet J. Dec*; 65(12):369-73.

GASSER R.B., PARADA L., ACUNA A., BURGESS C., LAURENSEN M.K., GUILLAND F.M.D., REICHEL M.P and PAOLILLO E. (1994). Immunological assessment of exposure to *Echinococcus granulosus* in a rural dog population in Uruguay. *Acta Tropica*, 58, p: 179-185.

GEMMELL M.A. (1958). Arecoline hydrobromide as a Taeniafuge in dogs with special reference to its use in controlling hydatid diseases. *Australian Veterinary Journal*, 34, p: 207-212.

GEMMELL M., ROBERTS M., BEARD T., CAMPANO-DIAZ S., LAWSON J., NONNEMAKER J (2001a). Control of echinococcosis. In: ECKERT J., GEMMELL M., MESLIN F.X., PAWLOWSKI Z., (Eds.), WHOI/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris, France: World Organisation for Animal Health, pp 209-219.

GEMMELL M., ROBERTS M., BEARD T., LAWSON J (2001b). Control of echinococcosis. In: ECKERT, J., GEMMELL, M., MESLIN, F.X., PAWLOWSKI, Z., (Eds.), WHOI/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris, France: World Organisation for Animal Health, pp 143-146.

GEMMELL M. A., ROBERTS M. G., BEARD T. C and LAWSON J. R. (2001c). Quantitative epidemiology and transmission dynamics with special reference to *Echinococcus granulosus*, p. 143-156. In J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, and Z. S. Pawlowski (ed.), WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. *World Organisation for Animal Health, Paris, France*.

GUSBI AM (1987). *Echinococcosis* in Libya. I. Prevalence of *Echinococcus granulosus* in dogs with particular reference to the role of the dog in Libyan society. *Annals Of Tropical Medicine And Parasitology [Ann Trop Med Parasitol]* 1987 Feb; Vol. 81 (1), p: 29-34.

GUSBI A.M., AWAN M.A.Q., BEESLEY W.N. (1990). Echinococcosis in Libya. IV. Prevalence of hydatidosis (*Echinococcus granulosus*) in goats, cattle and camels. *Ann Trop Med Parasitol.* Oct; 84(5):477-82.

HAAG K. L., ARAUJO A. M., GOTTSTEIN B., SILAS-LUCAS M., THOMPSON R.C & ZAHA A. (1999). Breeding systems in *Echinococcus granulosus* (Cestoda); (Taeniidae): selfing or outcrossing? *Parasitology* 118, 63-71.

HAJIALILO E, HARANDI MF, SHARBATKHORI M, MIRHENDI H, ROSTAMI S (2012). Genetic characterization of *Echinococcus granulosus* in camels, cattle and sheep from the south-east of Iran indicates the presence of the G3 genotype. *J Helminthol* Sep;86(3):263-70

HAJIPIRLOO HM, BOZORGOMID A, ALINIA T, TAPPEH KH, MAHMODOU R. (2013). Human cystic echinococcosis in west azerbaijan, northwest iran: a retrospective hospital based survey from 2000 to 2009. *Iran J Parasitol.* Apr;8(2):323-6.

HAOUAS N, SAHRAOUI W, YOUSSEF A, THABET I, BEN SORBA N, JAIDANE M, MOSBAH AT (2006). [Hydatid cyst of the spermatic cord]. *Prog Urol.* Sep; 16(4):499-501.

HARANDI M.F., HOBBS R.P., ADAMS P.J., MOBEDI I., MORGAN-RYAN U.M., THOMPSON R.C (2002). Molecular and morphological characterization of *Echinococcus granulosus* of human and animal origin in Iran. *Parasitology.* Oct;125(Pt 4):367-73.

HARRIDY F.M., IBRAHIM B.B., ELSHAZLI A.M., AWAD S.E., SULTAN D.M., ELSHERBINI G.T., MORSY T.A. (2006). Hydatidosis granulosus in Egyptian slaughtered animals in the years 2000-2005. *J Egypt Soc Parasitol.* Dec; 36 (3):1087-100.

HOBBS RP, LYMBERY AJ, THOMPSON RC (1990). Rostellar hook morphology of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from natural and experimental Australian hosts, and its implications for strain recognition. *Parasitology.* Oct;101 Pt 2:273-81.

HOPE M. , BOWLES J., MACMANUS D.P.(1991). A reconsideration of the *Echinococcus granulosus* strain situation in Australin following RFLP analysis of cystic material. *International Journal for Parasitology*, 21,471-475.

HUTTNER M, NAKAO M, WASSERMANN T, SIEFER TL, BOOMKER JD, DINKEL A, SAKO Y, MACKENSTEDT U, ROMIG T, ITO A (2008). Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* (Cestoda: Taeniidae) from the African lion. Int J Parasitol. 2008 Jun; 38(7):861-8.

IBRAHEM M.M., CRAIG P.S. (1998). Prevalence of cystic echinococcosis in camels (*Camelus dromedarius*) in Libya. J Helminthol. 1998 Mar; 72(1):27-31.

IDRISSI AZZOUZI A (2008-2009). « Les Maladies Tropicales Négligées » au Maroc. Contribution à l'élaboration d'une approche intégrée de lutte.
INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE PUBLIQUE (I.N.S.P) (2002). *Relevé épidémiologique annuelle vol. XIII.*

ITO A, WANDRA T, SATO MO, MAMUTI W, XIAO N, SAKO Y, NAKAO M, YAMASAKI H, NAKAYA K, OKAMOTO M, CRAIG PS (2006).Towards the international collaboration for detection, surveillance and control of taeniasis/ cysticercosis and echinococcosis in Asia and the Pacific. Southeast Asian J Trop Med Public Health. ;37 Suppl 3:82-90.

JENKINS D.J, FRASER A, BRADSHAW H, CRAIG P.S (2000).Detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in Australian canids with natural or experimental infection. J Parasitol. 2000 Feb;86(1):140-5.

JENKINS DJ, MCKINLAY A, DUOLONG HE, BRADSHAW H, CRAIG PS (2006). Detection of *Echinococcus granulosus* coproantigens in faeces from naturally infected rural domestic dogs in south eastern Australia. Aust Vet J. Jan-Feb;84(1-2):12-6

JIMENEZ S., PEREZ A., GIL H., SCHANTZ P., RAMALLE E., JUSTE R. (2002). Progress in control of cystic echinococcosis in La Rioja, Spain: decline in infection

prevalences in human and animal hosts and economic costs and benefits. *Acta Trop.* 2002 Sep;83(3):213-21.

KAMENETZKY L, GUTIERREZ A.M, CANOVA S.G, HAAG K.L, GUARNERA E.A, PARRA A, GARCIA G.E, ROSENZVIT M.C.(2002). Several strains of *Echinococcus granulosus* infect livestock and humans in Argentina. *Infect Genet Evol. Dec;* 2(2):129-36.

KARADEDE A, ALYAN O, SUCU M, KARAHAN Z (2008).Coronary narrowing secondary to compression by pericardial hydatid cyst. *Int J Cardiol.* 2008 Jan 11;123(2):204-7.

KARAOGLANOGLU N, KURKCUOGLU IC, GORGUNER M, EROGLU A, TURKYILMAZ A (2001). Giant hydatid lung cysts. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2001 Jun;19(6):914-7.

KAYOUECHE FATIMA-ZOHRA (2009) En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat ES Sciences. Thème : Epidémiologie de l'hydatidose et de la fasciolose chez l'animal et l'homme dans l'Est algérien.

KEDRA A.H., ZWIDERSKI Z., TKACH V.V., DUBINSKY P., PAWLOWSKI Z., STEFANIAK J., PAWLOWSKI J (1999). Genetic analysis of *Echinococcus granulosus* from humans and pigs in Poland, Slovakia and Ukraine. *Acta Parasitol.* 44(4):248-254.

KHADEM VATAN S, YOUSEFI E, RRAFIEI A, RAHDAR M, SAKI J (2013). Molecular characterization of livestock and human isolates of *Echinococcus granulosus* from south-west Iran. *J Helminthol.* Jun;87(2):240-4

KOHIL K. (2008) Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister. Intitulé : Contribution à l'étude épidémiologique et moléculaire de l'échinococcose à *Echinococcus granulosus*

KOLTZ F, NICOLAS X, DEBONNE JM et al (2000).Kyste hydatique du foie EMC, Elsevier, hépatologie. 2000; 7-023-A-10

KUMARATILAKE L.M., THOMPSON R.C.(1984a). Biochemical characterisation of Australian strains of *Echinococcus granulosus* by isoelectric focusing of soluble proteins. *Int J Parasitol. Dec;*14(6):581-6.

KUMARATILAKE L.M., THOMPSON R.C.(1984b). Morphological characterisation of Australian strains of *Echinococcus granulosus*. *Int J Parasitol.* Oct;14(5):467-77.

LAAMRANI EL IDRISI A., MHJOUR J., AYOUIL M and BARKIA A (1997). Retrospective Survey of Surgical Cases of Cystic Echinococcosis in Morocco (1980-1992). Compendium on Cystic Echinococcosis in Africa and in Middle Eastern countries with special reference to Morocco. *Brigham Young University Print Services, Provo, USA, pp. 139-144.*

LAHMAR S., KILANI M., TORGESON P.R. & NASRI K. (1999). Evaluation of commercial test kit (Genzyme Virotech, Germany) for detection of *Echinococcus granulosus* coproantigen in stray dogs in Tunisia. *Arch. int. Hidatid.*, 33, 268.

LAHMAR S, KILANI M, TORGESON PR (2001). Frequency distribution of *Echinococcus granulosus* and other helminths in stray dogs in Tunisia. *Ann Trop Med Parasitol* .
95 : 69-76.

LAHMAR S, DEBBEK H, ZHANG LH, McMANUS DP, SOUISSI A, CHELLY S, TORGESON PR (2004). Transmission dynamics of the *Echinococcus granulosus* sheep-dog strain (G1 genotype) in camels in Tunisia. *Vet Parasitol.* May 7;121(1-2):151-6.

LAHMAR S., SARCIRON M.E., CHEHIDA F.B., HAMMOU A., GHARBI H .A., GHERARDI A., LAHMAR J., GHANNAY A., PETAVY A.F.(2006). Cystic hydatid disease in sheep: treatment with percutaneous aspiration and injection with dipeptide methyl ester. *Vet Res Commun.* May; 30 (4):379-91.

LAHMAR S., CHEHIDA F.B., PETAVY A.F., HAMMOU A., LAHMAR J., GHANNAY A., GHARBI H .A., SARCIRON M.E (2007). Ultrasonographic screening for cystic echinococcosis in sheep in Tunisia. *Vet Parasitol.* Jan 19;143(1):42-9.

LAHMAR S, REBAI W, BOUFANA BS, CRAIG PS, KSANTINI R, DAGHFOUS A, CHEBBI F, FTERICHE F, BEDIQUI H, JOUINI M, DHIBI M, MAKNI A, AYADI MS, AMMOUS A, KACEM MJ, BEN SAFTA Z (2009). Cystic echinococcosis in Tunisia: analysis of hydatid cysts that have been surgically removed from patients. *Ann Trop Med Parasitol.* Oct;103(7):593-604.

LARBAOUI D., ALLOULA R., OSIISKAYA L.V., YUOSIISKII I. and BENELMOUFFOK M (1980). Hydatidosis in Algiers . *Meditiskaya Parasitologie Bolezni,* 49, 21-28.

LARRIEU E, COSTA MT, CANTONI G, LABANCHI JL, BIGATTI R, PEREZ A, ARAYA D, MANCINI S, HERRERO E, TALMON G, ROMEO S, THAKUR A. (2000) Control program of hydatid disease in the province of Río Negro Argentina. 1980-1997. *Bol Chil Parasitol.* 2000 Jul-Dec;55(3-4):49-53

LARRIEU E., COSTA M.T., CANTONI G., R., CAVAGION L. LABANCHI J.L., BIGATTI R., ARAYA D., HERRERO E., ALVAREZ E., MANCINI S and CABRERA P. (2001). Ovine *Echinococcus granulosus* transmission dynamics in the province of Rio Negro, Argentina, 1980-1999. *Vet. Parasitol.* 98:263-272.

LARRIEU E. J., COSTA M.T., DEL CARPIO M., MOGUILLANSKY S., BIANCHI G, and YADON Z.E. (2002). A case-control study of the risk factors for cystic echinococcosis among children of Rio Negro province, Argentina. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 96:43-52.

LAUSIER P. (1987). Echinococcose à *Echinococcus granulosus* en France : rappels épidémiologiques. Enquête dans un foyer des Hautes-Alpes. Th : Med. Vet. : Lyon : 1987 ; 047. 131p.

LAVIKAINEN A, LEHTINEN MJ, LAAKSONEN S, AGREN E, OKSANEN A, MERI S. (2006) *Molecular characterization of Echinococcus isolates of cervid origin from Finland and Sweden ; Parasitology.* Nov;133(Pt 5):565-70.

LIU F. (1993). Prevalence of *Echinococcus granulosus* in dogs in the Xinjiang Uygur Autonomas Region, PRC. In Compendium on cystic echinococcosis _ with special reference to the Xinjiang Uygur Autonomas Region, The People's Republic of China, F.L. Andersen , J. Chai, and F. Liu (eds) . *Brigham Young University Print Services, Provo, Utah, USA*, p. 168-176.

LLANES EG, STIBAL A, MUHLETHALER K, VAJTAI I, HAUSLER R, CAVERSACCIO M (2008). Echinococcosis presenting as an otogenic brain abscess: an unusual lesion of the middle ear cleft and temporal lobe *Auris Nasus Larynx*. Mar;35(1):115-20.

LOPERA L., MORO P.L., CHAVEZ A., MONTES G., GONZALES A., GILMAN R.H. (2003). Field evaluation of a coproantigen enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of canine echinococcosis in a rural Andean village in Peru. *Vet Parasitol. Nov 3;117(1-2):37-42.*

LUTTE CONTRE L'HYDATIDOSE/ECHINOCOCCOSE : Guide des activités de lutte 2007

LYMBERG A.J., THOMPSON R.C., HOBBS R.P., (1990). Genetic diversity and genetic differentiation in *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from domestic and sylvatic hosts on the mainland of Australia. *Parasitology. 101 Pt2, 283-289.*

MACMANUS DP and RISHI A.K. (1989). Genetic heterogeneity within *Echinococcus granulosus* : isolates from different hosts and geographic areas characterized with DNA probes. *Parasitology, 99, 17-29.*

MACMANUS DP (1990). Characterisation of taeniid cestodes by DNA analysis .*Rev. Sci.Sci.Tech. Off. Int. Epiz. 9, 489-510.*

MACMANUS DP, ZHANG L, CASTRODALE LJ, Le TH, PEARSON M, BLAIR D (2002) Short report: molecular genetic characterization of an unusually severe case of hydatid

disease in Alaska caused by the cervid strain of *Echinococcus granulosus*. *Am J Trop Med Hyg.* 2002 Sep;67(3):296-8.

MACMANUS DP & THOMPSON R.C (2003). Molecular epidemiology of cystic echinococcosis. *Parasitology* 127 Suppl, S37-51.

MCMANUS D.P. (2006). Molecular discrimination of taeniid cestodes. *Parasitol Int*; 55 Suppl:S31-7.

MCMANUS DP (2013). Current status of the genetics and molecular taxonomy of *Echinococcus* species. *Parasitology.* Nov;140(13):1617-23.

MACPHERSON C.N.L & CRAIG P.S (1991). Echinococcosis_ a plague on pastoralists. In *Parasitics Helminths and zoonosis in Africa*, C.N.L MACPHERSON and P.S CRAIG (eds). Unwin Hyman, London, p. 25-53.

MACPHERSON C.N.L. (1995). The socio-economic consequences, of animal diseases on individuals, communities and nations. In *socio-economic aspects of animal diseases in Southern Africa*, KRECEK R.C., CORNELIUS S.T., MCCRINDLE C.M.E (eds). *Workshop Report, Pretoria*, p. 37-59.

MACPHERSON C.N.L. & WACHIRA T.W.M. (1997). – Cystic echinococcosis in Africa south of the Sahara. In *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special reference to Morocco* (F.L. Andersen, H. Ouhelli & M. Kachani, eds). *Brigham Young University, Print Services, Provo, Utah*, 245-277.

MACPHERSON C. N. L. (2001). Epidemiology of *Echinococcus granulosus* in transhumant situations, p. 156-163. In J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, and Z. S. Pawlowski (ed.), *WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern.* *World Organisation for Animal Health, Paris, France.*

MAILLARD S, BENCHIKH-ELFEGOUN MC, KNAPP J, (2007) Taxonomic position and geographical distribution of the common sheep G1 and camel G6 strains of *Echinococcus granulosus* in three African countries. *Parasitol Res* 100(3):495–503 [Epub 2006 Oct 3]

MAILLARD S (2009). Thèse pour l'obtention de grade de Docteur de l'Université : Franche-Comté. Spécialité : Sciences de la Vie et de la Santé. Intitulé: Les apports de différentes séquences d'ADN polymorphes à l'étude de l'épidémiologie moléculaire et de la taxonomie du parasite *Echinococcus granulosus* sensu lato .

MAILLARD S, GOTTSTEIN B, HAAG KL, MA S, COLOVIC I, BENCHIKH-ELFEGOUN MC, KNAPP J, PIARROUX R (2009). The EmsB tandemly repeated multilocus microsatellite: a new tool to investigate genetic diversity of ***Echinococcus granulosus*** sensu lato. *J Clin Microbiol*. Nov;47(11):3608-16.

MAJAROWSKI MM, CARABIN H, KILANI M, BENSALAH A (2005). Echinococcosis in Tunisia : a coast analysis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* ; 99 : 268-78.

MALEKY F., MORADKHAN M. (2000). Echinococcosis in the stray dogs of Teheran Iran. *Ann Trop Med Parasitol*, Juin: 329-31.

Manuel terrestre de l'OIE 2005 Chapitre 2.2.3. — Echinococcose/Hydatidose

MATHIS A., DEPLAZES P and ECKERT J. (1996). An improved test system for PCR-based specific detection of *Echinococcus multilocularis* eggs. *Journal of Helminthology* 70, p: 210-222.

Médecine Tropicale • 2004 • 69 • 3 www.revue-medecinetropicale.com/311-311

MOGOYE BK, MENEZES CN, WONG ML, STACEY S, VON DELFT D, WAHLERS K, WASSERMANN M, ROMIG T, KERN P, G ROBUSCH MP, FREAN J (2013). First insights into species and genotypes of *Echinococcus* in South Africa. *Vet Parasitol.* 2013 Sep 23;196(3-4):427-32.

MORO P, SCHANTZ PM, (2006). Cystic echinococcosis in the Americas. *Parasitol Int* 55, 181-186.

M'RAD S, FILISATTI D, OUDNI M, MEKKI M, BELGUTH M, NOURI A, SAYADI T, LAHMAR S, CANDOLFI E, AZAIEZ R, MEZHOUD H, BABBA H (2005). Molecular evidence of ovine (G1) and camel (G6) strains of *Echinococcus granulosus* in Tunisia and putative role of cattle in human contamination. *Vet Parasitol.* May 15;129(3-4):267-72.

MWANBETE KD, PONCE-GORDO F, CUESTA -BANDERA C (2004). Genetic identification and host range of the Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Acta. Trop.* 91: 87-93.

NAKAO M, MCMANUS DP, SCHANTZ PM, CRAIG PS, ITO A (2007). A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology* May;134(Pt 5):713-22.

NJOROGE E.M, MBITHI P.M., GATHUMA J.M., WACHIRA T.M., GATHURA P.B., MAGAMBO J.K., ZEYLE E (2002). A study of cystic echinococcosis in slaughter animals in three selected areas of northern Turkana, Kenya
Vet Parasitol. Feb 27; 104(1):85-91.

OKU Y., MALGOR R., BENAVIDEZ U., CARMONA C., KAMIYA H. (2004). Program control against hydatidosis and the decreased prevalence in Uruguay *Int Cong Sseries*1267, 98-104.

OMER RA, DINKEL A, ROMIG T, MACKENSTEDT U, ELNAHAS AA, ARADAIB IE, AHMED ME, ELMALIK KH, ADAM A (2010). A molecular survey of cystic echinococcosis in Sudan. *Vet Parasitol.* **2010** May 11;169(3-4):340-6.

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (OMS). La lutte contre les zoonoses négligées. Réseau international des autorités de sécurité sanitaire des aliments. Note d'information INFOSAN N° 1/2006 – Zoonoses , 5p.

ORLONDO D.F. (2002). Hydatidosis control strategies in Uruguay. In : Perspectives and possibilities of control and eradication of hydatidosis . PAHO/HPC/HCV/028/02. *Pan American Health Organisation, Washington . DC; 171-178.*

OTERO-ABAD B., TORGERSON P.R (2013). A systematic review of the epidemiology of echinococcosis in domestic and wild animals. *PLoS Negl Trop Dis.* 7(6), e2249.

OUHELLI H., KADIRI A., EL HASNAOUI M. & KACHANI M. (1997). Prevalence of *Echinococcus granulosus* in dogs on Morocco and potential role of dogs in transmission of cystic echinococcosis, In : Andersen F.L Ouhelli H., Kachani M. (Eds). Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle eastern countries with special reference to Morocco. *Brigham Young University Print Services, Provo, USA, pp. 139-144.*

OUHELLI H., KADIRI A., EL HASMAOUI M., KACHANI M (1997). Prevalence of *Echinococcus granulosus* in dogs on Morocco and potential role of dogs in transmission of cystic echinococcosis, In: ANDERSON F.L., OUHELLI H., KACHANI M., (Eds.), Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern countries with special reference to Morocco. Brigham Young University: Provo, UT, pp 139-144

PAMPIGLIONE S. [Epidemiologic investigations on hydatidosis in Algeria: role of communal slaughter-houses in the contamination of dogs] *Nuovi Ann Ig Microbiol.* 1965 Sep-Oct;16(5):345-50.

POWLOWSKI S ., J. ECKERT, D. A. VUITTON, R. W. AMMANN, P. KERN, P. S. CRAIG, F. K. DAR, F. DE ROSA, C. FILICE, B. GOTTSTEIN, F. GRIMM, C. N. L. MACPHERSON, N. SATO, T. TODOROV, J. UCHINO, W. VON SINNER, and H. WEN. (2001). Echinococcosis in human s, clinical aspects, diagnosis and treatment, In : ECKERT J, GEMMEL M.A, MESLIN F.X, POWLOWSKI S, (eds), WHO/OIE Manual on Echinococcosis in humans and animals : a public health problem of global concern, OIE/WHO, Paris, 2001, p : 20-71.

POWLOWSKI ZS, STEFANIAK J (2003). [Cystic echinococcosis (CE) in the Poznan region in the years 1990-2000]. *Przegl Epidemiol.*;57(4):579-86.

PETAVY A.F., DEBLOCK S., WALBAUM S, (1990), Epidémiologie et prévention des échinococcoses en France. *Rev. Prat. (Paris)* 40, (3) p: 191-197.

PICCOLI L, BAZZOCCHI C, BRUNETTI E, MIHAILESCU P, BANDI C, MASTALIER B, CORDOS I, BEURAN M, POPA LG, MERONI V, GENCO F, CRETU C (2013). Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in south-eastern Romania: evidence of G1-G3 and G6-G10 complexes in humans. *Clin Microbiol Infect.* 2013 Jun;19(6):578-82.

REYES MM, TARAMONA CP, SAIRE-MENDOZA M, GAVIDIA CM, BARRON E, BOUFANA B, CRAIG PS, TELLO L, GARCIA HH, SANTIVANEZ SJ (2012). Human and canine echinococcosis infection in informal, unlicensed abattoirs in Lima, Peru. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(4):e1462.

ROGAN M. T and CRAIG P. S. (2002). Immunological approaches for transmission and epidemiological studies in cestode zoonoses—the role of serology in human infection, p. 135-145. In P. Craig and Z. Pawlowski (ed.), *Cestode zoonoses: echinococcosis and cysticercosis, an emergent and global problem.* IOS Press, Amsterdam, The Netherlands.

ROMIG T. (1990). Beobachtungen zur zystischen Echinokokkose des Menschen im Turkana-Gebiet, Kenia. Doctoral thesis, *Universität Hohenheim, Hohenheim, Germany.*

ROMIG T, DINKEL A, MACKENSTEDT U (2006). The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitol. Int.* 55: 187-191.

ROSENZVIT MC, ZHANG LH, KAMENETZKY L, CANOVA SG, GUARNERA EA, MCMANUS DP (1999). *Parasitology*. Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. 1999 May;118 (Pt 5):523-30.

SAARMA U, JÕGISALU I, MOKS E, VARCASIA A, LAVIKAINEN A., OKSANEN A., SIMSEK S., ANDRESIUK V., DENEGRI G., GONZÁLEZ L. M., FERRER E., GÁRATE T., RINALDI L and MARAVILLA P (2009). A novel phylogeny for the genus *Echinococcus*, based on nuclear data, challenges relationships based on mitochondrial evidence. *Parasitology*. 2009 Mar;136(3):317-28.

SAEED I., KAPEL C., SAIDA L.A., WILLINGHAM L. & NANSEN P. (2000). Epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Arbil province, northern Iraq, 1990-1998. *J. Helminthol.*, 74, 83-88.

SCHANTZ P. M., CHAI J., CRAIG P.S., ECKERT J., JENKINS D.J., MACPHERSON C. N. L, and A. THAKUR. (1995). Epidemiology and control of hydatid disease, p. 233-331. In R. C. A. Thompson and A. J. Lymbery (ed.), *Echinococcus* and hydatid disease. CAB International, Wallingford, United Kingdom.

SCHANTZ P.M. (1997). Sources and uses of surveillance data for cystic echinococcosis. Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle eastern countries with special reference to Morocco, Anderson F.L., Ouhelli H and Kachani M (eds). *Brgham Young University Print Services, Provo, Utah*, p:72-84.

SCOTT JC, STEFANIAK J, PAWLOWSKI ZS, McMANUS DP (1997). Molecular genetic analysis of human cystic hydatid cases from Poland: identification of a new genotypic group (G9) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*. 1997 Jan;114 (Pt 1):37-43.

SEIMENIS A., MORELLI D., MANTOVANI A (2006). Zoonoses in the Mediterranean region. *Ann Ist Super Sanita.* 42, 437-445.

SENEVIT G (1951). [Epidemiology of echinococcosis in North Africa.] *Afr Francaise Chir. Oct-Dec;4:421-6.*

SHAHNAZI M, HEJAZI H, SALEHI M, ANDALIB AR (2011). Molecular characterization of human and animal *Echinococcus granulosus* isolates in Isfahan, Iran. *Acta Trop.* 2011 Jan;117(1):47-50.

SHAMBESH M.K., McPHERSON C.N., BEESLEY W.N., GUSBI A., ELSONOSI T. (1992). Prevalence of human hydatid disease in northwestern Libya: a cross-sectional ultrasound study. *Ann Trop Med Parasitol.* Aug; 86(4):381-6.

SHAMBESH M. K. A. (1997). Human cystic echinococcosis in North Africa (excluding Morocco), p. 223-244. In F. L. Andersen, H. Ouhelli, and M. Kachani (ed.), *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and Middle Eastern Countries with special reference to Morocco.* Brigham Young University Print Services, Provo, Utah.

SHARBATKHORI M, MIRHENDI H, HARANDI MF, REZAEIAN M, MOHEBALI M, ESHRAGHIAN M, RAHIMI H, KIA EB (2010). *Echinococcus granulosus* genotypes in livestock of Iran indicating high frequency of G1 genotype in camels. *Exp Parasitol.* Apr;124(4):373-9.

SHARIFIYAZDI H, ORYAN A, AHMADNIA S, VALINEZHAD A (2011). Genotypic characterization of Iranian camel (*Camelus dromedarius*) isolates of *Echinococcus granulosus*. *J Parasitol.* Apr;97(2):251-5.

SHARMA M, SEHGAL R, FOMDA BA, MALHOTRA A, MALLA N (2013). Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* cysts in north Indian patients: identification of G1, G3, G5 and G6 genotypes. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013 Jun 13;7(6):e2262.

SHAIKENOV B. S., and. TORGESON P.R. (2002). Distribution of *Echinococcus multilocularis* in Kazakhstan, p. 299-307. In P. Craig and Z. Pawlowski. (ed.), *Cestode*

zoonoses: echinococcosis and cysticercosis, an emergent and global problem. *IOS Press, Amsterdam. The Netherlands.*

SNABEL V, ALTINTAS N, D'AMELIO S, NAKAO M, ROMIG T, YOLASIGMAZ A, GUNES K, TURK M, BUSI M, HUTTNER M, SEVCOVA D, ITO A, ALTINTAS N, DUBINSKY P (2009). Cystic echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitol Res.* Jul;105(1):145-54.

SORIANO SV, PIERANGELI NB, PIANCIOLA L, MAZZEO M, LAZZARINI LE, SAIZ MS, KOSSMAN AV, BERGAGNA HF, CHARTIER K, BASUALDO JA (2010). Molecular characterization of *Echinococcus* isolates indicates goats as reservoir for *Echinococcus canadensis* G6 genotype in Neuquén, Patagonia Argentina. *Parasitol Int.* Dec;59(4):626-8

TAPPE D, KERN P, FROSCH M, KERN P. (2010). A hundred years of controversy about the taxonomic status of *Echinococcus* species. *Acta Trop.* 2010 Sep;115(3):167-74.

TASHANI OA, ZHANG LH, BOUFANA B, JEGIA, McMANUS DP (2002). Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Ann Trop Med Parasitol.* Jun; 96(4):369-81.

THOMPSON R.C.A. & McMANUS D.P. (2001). Aetiology: parasites and life-cycles, p. 1-19. In J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, and Z. S. Pawlowski (ed.), WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. *World Organisation for Animal Health, Paris, France.*

THOMPSON R.C.A. and MCMANUS, D.P. (2002) *Towards a taxonomic revision of the genus Echinococcus.* *Trends in Parasitology*, 18 (10). pp. 452-457.

THOMPSON RC (2008). The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Exp Parasitol.* 2008 Aug;119(4):439-46.

TORGERSON PR, PILKINGTON J, GULLAND FM, GEMMELL MA (1995). Further evidence for the long distance dispersal of taeniid eggs. *Int J Parasitol.* Feb;25(2):265-7.

TORGESON PR, BUDKE CM (2003). Echinococcosis--an international public health challenge. Res Vet Sci. 2003 Jun;74(3):191-202.

TORGESON P.R, SHAIKENOV B.S, BAITUSINOV K.K, ABDYBEKOVA A.M (2002). The emerging epidemic of echinococcosis in Kazakhstan. Trans R Soc Trop Med Hyg. Mar-Apr;96(2):124-8.

TORGESON PR (2013). The emergence of echinococcosis in central Asia. Parasitology. 2013 May 10:1-7.

UMHANG G, RICHOMME C, BOUCHER JM, HORMAZ V, BOUE F(2013). Prevalence survey and first molecular characterization of Echinococcus granulosus in France. Parasitol Res. 2013 Apr;112(4):1809-12.

VARCASIA A, CANU S, KOGKOS A, PIPAI AP, SCALA A, GARIPPA G, SEIMENIS A (2007). Preliminary data on diffusion and molecular characterization of cystic echinococcosis in small ruminants in Peloponnesus, Greece. Parasitol. Res. 101: 1135-1139.

VERSACI A, SCUDERI G, ROSATO A, ANGIO LG, OLIVA G, SFUNCIA G, SALADINO E, MACRI A (2005). Rare localizations of echinococcosis: personal experience. ANZ J Surg. 2005 Nov;75(11):986-91.

VICIDOMINI S, CANCRINI G, GABRIELLI S, NASPETTI R, BARTOLONI A (2007). Muscular cystic hydatidosis: case report. BMC Infect Dis. 2007 Mar 30;7:23.

WANG Y.H., ROGAN M.T., VUITTON D.A., WEN H. (2001). Cystic echinococcosis in semi nomadic pastoral community in north west China. *Trans Rec Soc Trop Med Hyg* 95(2) :153-8.

WEN H., CHAI J.J., WANG J.C., WANG S.H., WANG X.Y., FENG X.H., and H. X. ZHOU. (2002). Hydatid control within a continental system in P.R. China, p. 355-366. In P. Craig and Z. Pawlowski (ed.), Cestode zoonoses: echinococcosis and cysticercosis, an emergent and global problem. IOS Press, Amsterdam, The Netherlands

WHO (1981). FAO/UNEP/ WHO, Guidelines for surveillance, prevention and control of Echinococcosis/ Hydatidosis, ECKERT J, GEMMEL M.A and SOULSBY E.J.L (eds). World Health Organisation, Geneva Switzerland.

WHO (2001). Office International des Epizooties. Manuel on echinococcosis in Humans and Animals : A Public Health Problem of Global Concern, Eckert J., Gemmell M.A., Meslin F.X., Powlowski Z. S ., eds . *OIE (World Organisation for Animal Health), Paris, France, 1-265.*

WHO (2010). First report on neglected tropical diseases. (Ref: ISBN 978 92 4 156409
XU GR, ZHANG LJ, ZENG G. [Epidemic analysis of echinococcosis in Ganzi Tibetan Autonomous Prefecture of Sichuan Province from 2006 to 2011]. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi.* 2013 Jun;31(3):224-8.

XIAO N, QIU J, NAKAO M, LI T, YANG W, CHEN X, SCHANTZ PM, CRAIG PS, ITO A (2005). *Echinococcus shiquicus* n. sp., a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. *Int J Parasitol.* 2005 May;35(6):693-701.

XIAO N, NAKAO M, QIU J, BUDKE CM, GIRAUDOUX P, CRAIG PS, ITO A (2006). *Am J Trop Med Hyg.* Dual infection of animal hosts with different *Echinococcus* species in the eastern Qinghai-Tibet plateau region of China. Aug;75(2):292-4.

YANG YR, LIU XZ, VUITTON DA, BARTHOLOMOT B, WANG YH, ITO A, CRAIG PS, MACMANUS DP (2006) **Simultaneous alveolar and cystic echinococcosis of the liver.** *Trans R Soc Trop Med Hyg.* Jun;100(6):597-600.

ZEJJARI H, CHERRAD T, KASMAOUI H, CHAKOURI M, LOUASTE J, RACHID K. Avril 2014 ; cas clinique; Kyste hydatique primitif de la cuisse : une tumeur inhabituelle des parties molles

ZHANG Y, BART JM, GIRAUDOUX P, CRAIG P, VUITTON D, WEN H (2006) **Morphological and molecular characteristics of *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus* mixed infection in a dog from Xinjiang, China.** *Vet Parasitol.* 2006 Jun 30; 139(1-3):244-8.

ID:

Pais **Niveau** **Numéro**

enquete sur l' infrastructure des abattoirs *hydatidose*

1. Date d'aujourd'hui:

(Jour) (Mois) (Annee)

2. Nom de la personne enquêtée :  _____

3. Profession de la personne enquêtée:

- Vétérinaire
- Technicien
- Autre (spécifier):  _____

I. IDENTIFICATION DE L'ABATTOIR:

4. Nom de l'abattoir :  _____

5. Province:  _____

6. Ville:  _____

7. Affiliation de l'abattoir

- Ministère
- Municipalité
- Privé

8. Localité:

- Urbaine
- Suburbaine
- Rurale

II. CAPACITE DE L'ABATTOIR:

9. Capacité annuelle exprimée en nombre d'animaux abattus:

Année	Nombre d'animaux abattus par espèce						
	Bovine	Ovine*	Caprine*	Ovine + Caprine*	Cameline	Equine	Porcine
2005							

* Prière de ne remplir la colonne "Ovine + Caprine" que si les 2 espèces sont confondues (comptées ensembles).

Je ne sais pas

10. Quantité annuelle de viande produite exprimée en tonnes (tonnage) :

Année	Poids des animaux abattus par espèce.						
	Bovine	Ovine*	Caprine*	Ovine + Caprine*	Cameline	Equine	Porcine
2010							

* Prière de ne remplir la colonne "Ovine + Caprine" que si les 2 espèces sont confondues (comptées ensembles).

Je ne sais pas

III. RESSOURCES HUMAINES:

11. Prière de reporter le nombre d'employés de l'abattoir, dans les 3 catégories suivantes:

	Vétérinaires	Techniciens	Bouchers
Nombre de:			

Je ne sais pas

VI. DEVENIR DES ABATS SAISIS ET AUTRES DETRITUS:

19. Les chiens ont-ils accès aux viscères ?

- Toujours Quelquefois Jamais Je ne sais pas

20. Les viscères saisis sont-ils gardés hors de portée des chiens jusqu'à leur destruction?

- Toujours Quelquefois Jamais Je ne sais pas

21. Les viscères saisis sont ils gardés hors de portée des gens qui pourraient les utiliser pour nourrir leur chiens?

- Toujours Quelquefois Jamais Je ne sais pas

22. Mode de destruction ou devenir des viscères saisis :

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> Donnés aux chiens | <input type="checkbox"/> Incinérés |
| <input type="checkbox"/> Jetés à l'air libre, à l'extérieur des abattoirs | <input type="checkbox"/> Mis dans une fosse septique couverte. |
| <input type="checkbox"/> Partiellement brulés | <input type="checkbox"/> Immédiatement et complètement brulés. |
| <input type="checkbox"/> Bouillis pendant moins de 15 minutes | <input type="checkbox"/> Bouillis pendant au moins 15 minutes. |
| <input type="checkbox"/> Emportés par les bouchers. | <input type="checkbox"/> Autre spécifier:  _____ |

Merci beaucoup pour votre aide!



Failure to observe cross-fertilization between the *Echinococcus granulosus* G1 and G6 strains after an experimental mixed infection of the definitive host

S. Maillard^{a,b,*}, M.C. Benchikh-Elfegoun^c, K. Kohil^c, B. Gottstein^b, R. Piarroux^{a,d}

^a UMR6249 CNRS/UFV Chrono-Environnement, Department of Parasitology and Mycology, University of Franche-Comté, Besançon, France

^b Institute of Parasitology, University of Bern, Bern, Switzerland

^c Laboratory of Parasitology, University of Mentouri, Constantine, Algeria

^d Department of Parasitology and Mycology, Hôpital la Timane, Marseille, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 March 2010

Received in revised form 7 September 2010

Accepted 15 September 2010

Keywords:

Echinococcus

Dog

Breeding

Taxonomy

Genetics

Microsatellite

EmsB

ABSTRACT

The classification within *Echinococcus granulosus* is currently under debate. To assess the reproductive potential between the G1 and G6 strains, an experimental double infection was carried out in a dog. First, two fertile hydatid cysts were collected in Algeria from a cow and a dromedary. They were identified as being G1 and G6 with the markers *cox1* and *nud1*. Subsequently, a dog was inoculated with protoscoleces from these two cysts. Sixty days after infection, 85 adult worms were recovered from the intestine of the dog. Then, the two cysts and each of these individual parasites were characterized with the multilocus microsatellite *EmsB* and compared. For all worms, the scolex and the gravid proglottids, separately analyzed, provided an identical profile: the G1 profile was observed in 70 adults, and the G6 profile in the 15 others. No single worm exhibited a hybrid G1/G6 profile. This result suggests the absence of cross-fertilizing between the two taxa under the given experimental conditions, and so, the presence of a strong cross-reproductive barrier. This observation corroborates with the recent reclassification of G1 and G6 within two distinct species.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Mitochondrial DNA-based studies have shown that the group *Echinococcus granulosus* is composed of heterogeneous variants. Firstly considered as strains (G1–G10), these variants have been progressively reclassified, individually or by group, and new species have been defined (Lavikainen et al., 2006; Romig et al., 2006; Nakao et al., 2007; Huttner et al., 2008; Thompson, 2008; Saarma et al., 2009; Tappe et al., 2010). So, *E. granulosus sensu stricto* currently regroups G1, G2 and G3. *Echinococcus equinus* cor-

responds to G4 and *Echinococcus ortleppi* to G5. The five other strains could be also considered a well-supported group but recent studies suggest the distinction of two subgroups within: the first formed by G6, G7 and G9 (*Echinococcus intermedius*) and the second by G8 and G10 (*Echinococcus canadensis*).

Concerning particularly the common G1 and camel G6 strains, two previous studies showed in Algeria the presence of a G1/G6 sympatric area (Bart et al., 2004; Maillard et al., 2007). However, despite an important panel of cysts collected in various hosts from this area, no case of cross-fertilization was identified. This result corroborated the separation of these two strains in distinct species. Nevertheless, the assessment of their real divergence needs to evaluate their reproductive isolation in characterizing their putative offspring in the dog, the definitive host of the

* Corresponding author at: Institute of Parasitology, University of Bern, Länggass-Strasse 122, CH-3012 Bern, Switzerland. Tel.: +33 491380000. E-mail address: maillard_steph@yahoo.com (S. Maillard).

parasite. To date, even if multiple infections with different *Echinococcus* variants have been sometimes observed (Xiao et al., 2006; Yang et al., 2006), it stays very rare and consequently, the possibility of studying the occurrence or absence of cross-fertilization, too (Haag et al., 1999). In addition, such a study requires a genetic marker that can both efficiently identify G1 and G6 but also, detect the G1/G6 cross-fertilizing events.

Recently, Bart et al. developed EmsB, a tandemly repeated multilocus microsatellite (Bart et al., 2006). When compared to other markers, EmsB showed a higher level of intraspecific variability and a very higher sensitivity. In addition, because of its localization within the nuclear genome, cross-fertilization events can be involved in modifying EmsB. In a previous study, from isolates identified as G1, G3, G5, G6 and G7, EmsB provided a high degree of genetic discrimination and furthermore, presented a hybrid genotypic profile suggesting genetic exchanges between G1 and G5 (Maillard et al., 2009). Therefore, EmsB could be also able both to discriminate G1 and G6 and to detect their putative genetic exchanges.

In the present work, we performed an experimental infection of a dog with an apparently equal amount of protoscoleces belonging to G1 or G6. Then, with the microsatellite EmsB, we analyzed each of the 85 adults that we could collect in the intestine of the dog, with a particular interest for their reproduction units (parasite intrauterine eggs).

2. Materials and methods

2.1. Collection and characterization of the cysts

Two hydatid cysts were collected in Algerian slaughterhouses by a veterinary team from the University of Mentouri, Constantine (Algeria): one from a cow and one from a dromedary. The genomic DNA was extracted from each cyst (50 mg of germinal layer pooled with 200 μ l of protoscoleces) using the High Pure PCR Preparation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Then, for each cyst, this genomic DNA was used for the amplification of the mitochondrial markers *cox1* and *nad1*. PCR amplification, sequencing and subsequent ethanol purification was performed as previously described in Maillard et al. (2007). To ensure the genotypes of the two cysts, the sequences were compared to genotypes referred in Bowles et al. (1992) and Bowles and McManus (1993). Then, the two cysts were also characterized with the microsatellite EmsB. PCR amplification and fragment analysis were performed as previously described in Maillard et al. (2009). For each sample, we obtained a specific profile. These profiles were directly related to the size of each locus and the number of repetitions of the locus in the genome (Bart et al., 2006).

Once the genotypes G1 and G6 were confirmed, the viability of their protoscoleces was evaluated by 1% aqueous eosin coloration and observation under a microscope. The cyst contents were then used for the experimental infection.

2.2. Double infection of a dog

A male, one-year-old dog, without pedigree, was selected among a group of dogs captured in Constantine during a regulation campaign of stray dog population. To rule out any putative helminthic infection, the animal was isolated and received an anthelmintic treatment: mebendazole (Vermox N.D.), 20 mg/kg PV, per os, twice a day during five days. Prior to use in the experiment, a coproscopic examination was realized using a flotation technique with a 33%-zinc sulfate solution. One week after being treated, it was simultaneously given with a syringe 50 mL suspension of G1 protoscoleces and 50 mL suspension of G6 protoscoleces, which had been previously collected from the two cysts. For both genotypes, viability of protoscoleces was >80%. Protoscoleces were not counted individually, but a visual estimation of their concentration was done to use an apparently equal parasite number. During the prepatent incubation period, the dog daily received standard ratios of food, and drinking water *ad libitum*. After sixty days, the dog was euthanized with an intravenous injection of pentobarbital, identically to the other dogs captured during the control campaign. The dog was then necropsied *post mortem* and the proximal section of the small intestine was ligatured and isolated. The tissues were frozen at -80°C for a period of one week to avoid the digestion of the worms and inactivate the eggs. Eighty-five adults were collected, one by one, all along the mucous membrane of the intestine, separated individually and conserved at -20°C . The treatment and euthanasia of the dog were performed by the same veterinary team as used for the collection of the G1 and G6 cysts. All the animal experimentation was approved according to the ethical guidelines of the University of Mentouri. Similarly to the cysts, the adult worms were then sent (frozen) to the Laboratory of Parasitology of Besançon for further investigation.

2.3. EmsB analyses of the adults

Each of the 85 adult worms was dissected under a microscope such as to isolate the scolex and the posterior strobile. The genomic DNA of each part was extracted using the High Pure PCR Preparation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). To characterize the offspring of these adult worms, each DNA sample was analyzed only for the microsatellite EmsB, following the same procedure as for the cysts. Consequently, for all adults, we obtained two profiles (one for the scolex and one for the strobile) that were compared between themselves, and with those of the other adults as well as with those from the cysts. This comparison was done with the software ABI GeneMapper v3.7.

Due to their selection in highly conserved DNA regions (Bart et al., 2006), the EmsB primers do not target preferentially one strain more than another. In addition, EmsB is characterized by a strong sensibility (Bart et al., 2006). Therefore, as well as the EmsB profiles may indicate mixed offspring (Maillard et al., 2009), it may also indicate all putative mixture between the homo- or heterozygotic eggs and the homozygotic proglottid parenchyma.

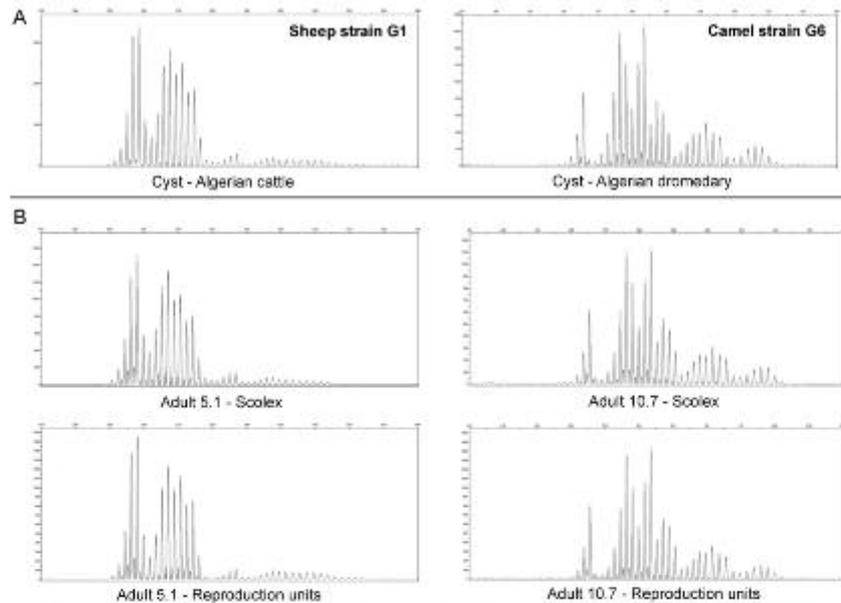


Fig. 1. Complex profiles obtained with the tandemly repeated multilocus microsatellite EmsB. The two first profiles were provided from two hydatid cysts, collected from an Algerian cow and an Algerian dromedary and subsequently used for the experimental dual infection of a dog (A). According the mitochondrial *cox1* and *nad1* sequences, these cysts were respectively of the sheep strain G1 and of the camel strain G6. The four other profiles were provided by 2 of the 85 adults collected from the intestine of the infected dog (B). For each of them, the scolex and the reproduction units were separated and analyzed individually.

3. Results

3.1. Genetic characterization of the cysts

The genotyping using mitochondrial markers *cox1* and *nad1* exhibited a G1 sequence corresponding to the sheep strain for the cyst from the cow and a G6 sequence corresponding to the camel strain for the cyst from the dromedary. With the multilocus microsatellite EmsB, the G1 and G6 cysts showed two distinct profiles (Fig. 1).

3.2. EmsB analyses of the adults

For all of the 85 adults, the gravid strobile (corresponding to the reproductive “offspring” upon the intrauterine eggs) of this dual infection provided the same profile than the scolex matching to the respective strobile. For 70 of them, this profile corresponded to that of the G1 cyst, while for the 15 others, this profile was identical that of the G6 cyst (Fig. 1). No EmsB profile presented a mixed G1/G6 pattern. Therefore, no case of cross-fertilization between the G1 and G6 strains could be detected.

4. Discussion

The objective of the present work was to carry out an experimental intestinal double-infection in the definitive

host that may allow a putative cross-fertilization between the common sheep G1 strain and the camel G6 strain of *E. granulosus*, and to subsequently characterize the “offspring” in terms of a potential cross-hybridization. For all of the 85 adults isolated and studied, the multilocus microsatellite EmsB exhibited G1 or G6 profiles but no mixed G1/G6 profile was identified. The absence of a visible genetic exchange between G1 and G6 adults, while they were concomitantly infecting the intestine of the same definitive host, suggested a strong reproductive isolation and thus, could corroborate the recent reclassification of the G1 and G6 strains in two distinct species.

Nevertheless, even if this study was designed to provide the best conditions for cross-fertilization events, a double infection does not guarantee sufficient contacts between the adults to ensure the occurrence of such events, even in the case of a weak reproductive barrier. Therefore, further studies could be envisaged, as for example, to infect several dogs with different quantities of protoscoleces or with different ratios between G1/G6.

The common sheep G1 and camel G6 strains do not have the same epidemiological profile or the same impact on public health (WHO-IWGE, 2002). Thus, in eradication or control programs, an action targeting G1 could be inappropriate to target G6 and vice versa. Thus, their separation in two distinct species is pertinent, at different levels.

References

- Bart, J.M., Bardonnet, K., et al., 2004. *Echinococcus granulosus* strain typing in North Africa: comparison of eight nuclear and mitochondrial DNA fragments. *Parasitology* 128 (Pt 2), 229–234.
- Bart, J.M., Knapp, J., et al., 2005. EmsB, a tandem repeated multi-loci microsatellite, new tool to investigate the genetic diversity of *Echinococcus multilocularis*. *Infect. Genet. Evol.* 6 (5), 390–400.
- Bowles, J., Blair, D., et al., 1992. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol. Biochem. Parasitol.* 54 (2), 105–113.
- Bowles, J., McManus, D.P., 1993. NADH dehydrogenase 1 gene sequences compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. *Int. J. Parasitol.* 23 (7), 969–972.
- Haag, K.L., Araujo, A.M., et al., 1999. Breeding systems in *Echinococcus granulosus* (Cestoda; Taeniidae): selfing or outcrossing? *Parasitology* 118 (Pt 1), 63–71.
- Huttner, M., Nakao, M., et al., 2008. Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* (Cestoda: Taeniidae) from the African lion. *Int. J. Parasitol.* 38 (7), 801–808.
- Lavikainen, A., Lehtinen, M.J., et al., 2005. Molecular characterization of *Echinococcus* isolates of cervid origin from Finland and Sweden. *Parasitology* 133 (Pt 5), 565–570.
- Maillard, S., Benchikh-Elfegoun, M.C., et al., 2007. Taxonomic position and geographical distribution of the common sheep G1 and camel G8 strains of *Echinococcus granulosus* in three African countries. *Parasitol. Res.* 100 (3), 493–503.
- Maillard, S., Gottstein, B., et al., 2009. The EmsB tandemly repeated multilocus microsatellite: a new tool to investigate genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu lato*. *J. Clin. Microbiol.* 47 (11), 3008–3016.
- Nakao, M., McManus, D.P., et al., 2007. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology* 134 (Pt 5), 713–722.
- Romig, T., Dinkel, A., et al., 2006. The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitol. Int. (Suppl. 5)*, S187–S191.
- Sarma, U., Jogisalu, I., et al., 2009. A novel phylogeny for the genus *Echinococcus*, based on nuclear data, challenges relationships based on mitochondrial evidence. *Parasitology* 136 (3), 317–328.
- Tappe, D., Kern, P., et al., 2010. A hundred years of controversy about the taxonomic status of *Echinococcus* species. *Acta Trop.* 115 (3), 107–114.
- Thompson, R.C., 2008. The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Exp. Parasitol.* 119 (4), 439–446.
- WHO/IWCE, 2002. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern. WHO Organisation for Animal Health, Paris, France.
- Xiao, N., Nakao, M., et al., 2006. Dual infection of animal hosts with different *Echinococcus* species in the eastern Qinghai-Tibet plateau region of China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75 (2), 292–294.
- Yang, Y.R., Liu, X.Z., et al., 2006. Simultaneous alveolar and cystic echinococcosis of the liver. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 100 (6), 597–600.

LISTE DES PHOTOS

Photo 1. <i>Echinococcus granulosus</i> adulte observé au microscope optique	
Photo 2. Kyste hydatique ouvert avec vésicules filles remplies d'un liquide clair contenant les protoscolex	
Photo 3. Représentation de deux kystes hépatiques chez un homme âgé de 44 ans (original)	
Photo 4. Observation au microscope optique des protoscolex G: 10×10 (original)	
Photo 5. Dépôt des échantillons dans les tubes contenant le tampon de lyse plus les billes pour l'extraction de l'ADN (original)	
Photo 6. Barrettes des échantillons et les deux amorces Nad I et Cox I (original)	
Photo 7. Représentation de la bande bleue en migration (original)	
Photo 8. Migration des bandes des échantillons (original)	
Photo 9. Représentation du révélateur (original)	
Photo 10. Gel des échantillons après migration (original)	
Photo 11. Automat et système informatique de collection et d'analyse des données (original)	
Photo 12. Présence de protoscolex dans le contenu kystique (original)	
Photo 13. Chien destiné à être infesté avec deux kystes hydatiques (original)	

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Les étapes de développement de l'adulte <i>Echinococcus granulosus</i> dans l'intestin grêle du chien	
Figure 2. Œufs de <i>Tænia spp</i>	
Figure 3. Structure de la larve hydatide	
Figure 4. Schéma de la formation des vésicules filles	
Figure 5. Cycle évolutif d' <i>Echinococcus granulosus</i>	
Figure 6. Cycle évolutif basique d' <i>Echinococcus granulosus</i>	
Figure 7. Distribution de l'échinococcose kystique dans le monde	
Figure 8. Différentes étapes de séquençage des souches d' <i>Echinococcus granulosus</i> (original)	
Figure 9. Situation géographique des régions d'étude	

Figure 10. Electrophorèse post-extraction (paire d'amorces Cox1)	
Figure 11. Electrophorèse post-extraction (paire d'amorces Nad1)	
Figure 12. Profils génotypiques G1, G5 et G1/G5 (profil hybride)	
Figure 13. Représentation du tracé de l'EmsB	
Figure 14. Profil de l'analyse de fragment	
Figure 15. Tracés partiels des séquences COI, amplifiés à partir des souches : ovine (G1) et cameline (G6).	
Figure 16. Profils complexes obtenu avec le microsatellite multilocus EmsB	
Figure 17. Répartition des abattoirs de notre étude	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Différentes souches d' <i>Echinococcus granulosus</i> sensu lato	
Tableau 2. Caractéristiques des échantillons d' <i>Echinococcus granulosus</i>	
Tableau 3. Caractéristiques des amorces utilisées	
Tableau 4. Résultats de la caractérisation des échantillons	
Tableau 5. Affiliation et répartition des abattoirs selon la taille et la localisation géographique	
Tableau 6. Statut d'isolation des 81 abattoirs (selon la taille)	
Tableau 7. Inspection des viandes selon la taille et la fréquence de l'inspection	
Tableau 8. Proportions des différentes catégories d'abattoirs (n = 81) par rapport au niveau de l'accès aux abats par les chiens.	

Epidemiological and molecular study of *Echinococcus granulosus* in Algeria

Molecular typing of strains *E. granulosus* is essential to define a well adapted strategy to fight against cystic echinococcosis (KE) because, strains differ in various pathogenic factors for humans, duration of the prepatent period in HD, antigenic power amplification by the PCR and sequencing of mitochondrial genes of the cytochrom oxydase and NADH dehydrogenase 1 cox 1 NDI 42 were collected to characterize 42 isolates of *E granulosus* the isolates collected in 28 livestock 4 sheep, 3caprins, 17 camels, cattle and 4 in various slaughters houses and 14 collected in the human surgery services of hospitals located in the South Algeria.

The results showed the presence of two distinct genotypes G1 (ovine strains) : 85,71% of ovine strain circulating among sheep and cattle, goats and more than the half of the camels strains are transmissible to humans, whereas genotype G6 (camel strain): 14.28%, moving from camels and found sometimes in other ruminants. The presence of the genotype 1 in camels, suggested as camels whose cysts are the most oftenly fertile could represent in the Southern regions, an indirect source of transmission to humans of this zoonotic strains. The implementation of program against K E due to the shortness of the prepatent period of this species in the definitive host compared to common ovine. Classification within *Echinococcus granulosus* is currently under discussion. To assess the reproductive potential between G1 and G6 strains, a double infestation experiment was carried out in a dog. Hydatid cysts have been first collected from a cow and a camel. They have been identified as G1 and G6 with Cox I and mitochondrial markers Nad I. Thereafter dog was inoculated with these two protoscolex from cysts. Sixty days after the infestation, 85 adult worms were recovered in the small intestine of the dog. Then, each of the cysts were characterized with nuclear marker locus multi EmsB and compared. The ail to the scolex and gravid proglottids, analyzed separately, gave an identical profile : G1 profile was observed in 70 adults, and the G6 profile in the remaining 15. No worm has presented a hybrid G1/G6 profile. This finding suggests the lack of cross-fertilization between the two strains, and thus, the presence of a strong reproductive barrier. This observation corroborates the recent reclassification of G1 and G6 becoming two distinct species. A recent study was conducted to assess the degree to which the seized offal are destroyed, and if current resources are sufficient to break the cycle of transmission of *Echinococcus granulosus*. The slaughter houses were selected according to their large size, medium and small and their urban, semi urban and rural locations. The results of the survey show that 19.8% of slaughterhouses are

not isolated by a fence and about 30% have not an intact closing, fourth slaughterhouses are accessible to dogs. Whereas, medium and large slaughterhouses are better protected against the access of dogs. Stray dogs are present in surroundings in more than 80% of slaughterhouses, regardless of their size and location, and that the inspection is carried out in the majority of the slaughter houses, meat offal are not saved in more than 30% of slaughterhouses. The survey revealed that infected viscera are left at the disposed of 25,92% of dogs in slaughterhouses whatever their location, and people have free access to infected offal in 16% of slaughterhouses. Incineration is practiced in 61% of large slaughterhouses vs 32.1% and only 6.7% in medium and small abattoirs respectively. the existence of such factors (lack of closure in many slaughterhouses, presence of stray dogs in the neighborhood, feeding dogs with infected offal, lack of incinerators, the absence of burying viscera of infected cysts hydatid ...) contribute significantly to the persistence of transmission and spread of echinococcosis in intermediate hosts and definitive hosts. All these factors must be taken into account when applying the control program against cystic echinococcosis.

Keywords: molecular typing, PCR, EmsB, *Echinococcus granulosus*, slaughterhouses

دراسة وبائية و جزيئية لـ *Echinococcus granulosus* في الجزائر

ملخص

التصنيف الجزيئي لسلاسل *E. granulosus* أمر ضروري لوضع استراتيجية ناجعة لمحاربة مرض الأكياس المائية (E.K) لأن سلاسل *E. granulosus* تختلف فيما بينها حسب عدة عوامل : إحداث المرض عند الإنسان ، مدة ما قبل ظهور الأعراض عند ضعاف المناعة، قدرة الاستعداد... ثم إحداث التضخيم بـ PCR و تسلسل جينات الميتوكوندريا عند *E. granulosus* cytochrome oxydase 1 (Cox1) et déshydrogénase 1 (Nad1) لتصنيف 42 عزلات لـ *E. granulosus* : 28 جمعت عند الماشية (4 غنم ، 3 ماعز ، 17 إبل و 4 أبقار) في مختلف المسالخ ، كما تم جمع 14 عند البشر خلال عمليات جراحية في مستشفيات جنوب الجزائر ، أظهرت النتائج وجود اثنين من المورثات المختلفة، المحال G1 (سلالة أغنام) % 85,71 تنتقل بين الأغنام ، الأبقار ، الماعز و أكثر من نصف الجمال و تنتقل بين البشر .
و genotype G6 (سلالة الإبل) % 14,28 ، تتحرك بين الإبل و قليلا ما تم حصرها عند الحيوانات المجتررة الأخرى .

وجود G1 عند الإبل، يوحي بأن الجمال التي لديها الأكياس المائية الأكثر خصوبة ، تشكل مصدر غير مباشر للعدوى عند الإنسان في المناطق الجنوبية للبلاد .
علاوة على ذلك ، فإن تأكيد وجود G6 يشكل مصدر تطبيق جيد لبرامج محاربة (E.K) بسبب قصر مدة ضيافة هذه السلالة عند الجسم المضيف النهائي مقارنة بالأنواع الشائعة عند الأغنام .
التصنيف داخل *E. granulosus* هو حاليا قيد المناقشة لتقييم إمكانيات الإنجاب بين سلالتي G1 و G6، ثم إحداث عدوتان تجريبيتان عند الكلاب .
ثم جمع كيسيين مائيين استخرجا من عند البقر و الجمال ، حددت على أنها G1 و G6 من خلال علامات الميتوكوندري Cox1 و Nad I .
ثم بعد ذلك قمنا بتلقيح كلب بهذه الفيروس المنزوعة من هذين الكيسين . بعد ستين (60) يوم من الإصابة تم نزع 85 دودة بالغة من الأمعاء الدقيقة عند هذا الكلب .

من ثم ، تم تمييز كل من هذين الكيسين بعلامات نووي multilocus EmsB من أجل المقارنة بينهما ؛ لكل الديدان الفيروس و القطاعات الحاملة للبيض تم تحليلها بشكل منفصل تحصلنا على لمحة متطابقة :
لوحظ للمحة G1 عند 70 % من البالغين و للمحة G6 عند الباقي (15) . لم يلاحظ وجود أي دودة هجينة G1/G6 هذه النتيجة تشير إلى عدم وجود أي تلقيح بين السلالتين ، و بالتالي وجود حاجز قوي للإنجاب .
هذه الملاحظات تعزز نظرية إعادة التصنيف الجديدة لـ G1 و G6 على أساس أنهما نوعين مختلفين و قد أجريت دراسة أخيرة من أجل تقييم درجة حماية المسالخ من الكلاب ، كيف يتم تدمير المخلفات التي يتم مصادرتها، و معرفة مدى نجاعة الاساليب الحالية من أجل كسر حلقة إنتقال *E. granulosus* .
تم اختيار المسالخ قيد الدراسة وفقا لحجمها (كبيرة، متوسطة، صغيرة) و موقعها (منطقة حضرية ، شبه حضرية و زراعية)

تظهر نتائج المسح أن 19,8 % من المسالخ غير محمية و معزولة بسور و حوالي 30% منها لا تملك سور عازل .
ربع هذه المسالخ هي في متناول الكلاب لكن المسالخ الكبيرة و المتوسطة هي عادة محمية بشكل أفضل ضد دخول الكلاب الشاردة.

توجد الكلاب الضالة عادة في محيط المسالخ في أكثر من 80% منها بغض النظر عن حجمها و موقعها .
رغم أن التفتيش موجود في غالبية المسالخ ، لوحظ أنه لا يتم تسجيل مخلفات اللحوم في أكثر من 30% من المسالخ .
و كشف التحقيق أن الأحشاء المصابة في متناول الكلاب عند 25,92% من المسالخ بغض النظر عن موقعها ، كما لوحظ أن للأشخاص حرية الحصول على هذه الأعضاء المصابة في 16 % من المسالخ .
يتم حرق هذه الأعضاء في 61% من المسالخ الكبيرة ، مقابل 32,1 و 6,7% من المسالخ المتوسطة الحجم و الصغيرة على التوالي .

وجود مثل هذه العوامل : غياب السياج في غالبية المسالخ ، وجود الكلاب الضالة في الجوار ، تغذية الكلاب بالمخلفات المصابة ، غياب حرق هذه المخلفات في المحارق و غياب عدم دفن الأحشاء المصابة بالكيس المائي ، يساهم بشكل كبير في استمرار انتقال و انتشار العدوى بهذا المرض عند الجسم المضيف و النهائي .
كل هذه العوامل يجب أن تأخذ بعين الاعتبار عند تطبيق برنامج لمكافحة هذا المرض .

كلمات المفتاح:

التصنيف الجزيئي ، PCR ، EmsB ، *E. granulosus* ، مسالخ .

Etude épidémiologique et moléculaire d'*Echinococcus granulosus* en Algérie

Résumé

Le typage moléculaire des souches d'*E. granulosus* est essentiel pour définir une stratégie de lutte contre l'échinococcose kystique (E.K.) bien adaptée car les souches se différencient par divers facteurs : pouvoir pathogène pour l'homme, durée de la période pré-patente chez H.D., pouvoir antigénique...L'amplification par PCR et le séquençage des gènes mitochondriaux de la cytochrome oxydase 1 (Cox1) et déshydrogénase 1 (Nad1) ont été utilisés pour caractériser 42 isolats d'*E. granulosus* : 28 collectés sur le bétail (4 ovins, 3 caprins, 17 camelins et 4 bovins) dans divers abattoirs et 14 recueillis sur des humains dans les services de chirurgies des hôpitaux dans le sud de l'Algérie. Les résultats ont démontré la présence de 2 génotypes distincts : le génotype G1 (souche ovine) : 85,71%, circulant entre les ovins, bovins, caprins et plus de la moitié des camelins, transmissible aux humains, et le génotype G6 (souche cameline) : 14,28%, évoluant chez les camelins et trouvé parfois chez les autres ruminants. La présence du génotype G1 chez les camelins, suggère que les camelins dont les kystes sont le plus souvent fertiles, pourraient représenter, dans les régions du sud, une source de transmission indirecte aux humains de cette souche zoonotique. Par ailleurs, la confirmation de la présence du génotype G6 a une grande implication pour la mise en œuvre de programme de lutte contre l'E.K en raison de la durée plus courte de la période prépatente de cette espèce chez l'hôte définitif comparée à l'espèce commune ovine.

La classification au sein de *Echinococcus granulosus* est actuellement en cours de discussion. Pour évaluer le potentiel de reproduction entre les souches G1 et G6, une double infestation expérimentale a été effectuée chez un chien. Deux kystes hydatiques ont été d'abord prélevés à partir d'un bovin et un dromadaire. Ils ont été identifiés comme étant G1 et G6 avec les marqueurs mitochondriaux *cox I* et *Nad I*. Par la suite, un chien a été inoculé avec des protoscolex provenant de ces deux kystes. Soixante jours après l'infestation, 85 vers adultes ont été récupérés dans l'intestin grêle du chien. Puis, chacun des deux kystes ont été caractérisés avec le marqueur nucléaire multilocus *EmsB* et comparés. Pour tous les vers, le scolex et les proglottis gravides, analysés séparément, ont donné un profil identique: le profil G1 a été observé chez 70 adultes, et le profil G6 dans les 15 autres. Aucun ver n'a présenté un profil hybride G1/G6. Ce résultat suggère l'absence de fécondation croisée entre les deux souches, et ainsi, la présence d'une forte barrière reproductive. Cette observation corrobore les récents reclassements des G1 et G6 devenant deux espèces distinctes.

Une dernière étude a été réalisée pour évaluer à quel degré les abattoirs sont protégés des chiens, comment les abats saisis sont détruits, et si les moyens actuels sont suffisants pour rompre le cycle de transmission de *Echinococcus granulosus*. Les abattoirs ont été choisis selon leur taille : grands, moyens et petits, et leur localisation : zone urbaine, semi-urbaine ou rurale. Les résultats de l'enquête montrent que 19,8% des abattoirs ne sont pas isolés par une clôture et environ 30% n'ont pas de clôture intacte. Un quart des abattoirs sont accessibles aux chiens mais les grands et moyens abattoirs sont mieux protégés contre l'accès des chiens. Les chiens errants sont présents dans les alentours dans plus de 80% des abattoirs, indépendamment de leur taille et de leur localisation. Bien que l'inspection soit effectuée dans la majorité des abattoirs, les abats ne sont pas enregistrés dans plus de 30% des abattoirs. L'enquête a révélé que les viscères infectés sont laissés à la disposition des chiens dans 25,92% des abattoirs quelque soit leur localisation, et les personnes ont libre accès aux abats infectés saisis dans 16% des abattoirs. L'incinération est pratiquée dans 61% des grands abattoirs vs 32,1% et 6,7% seulement des moyens et petits abattoirs respectivement. L'existence de tels facteurs (absence de clôture dans de nombreux abattoirs, présence de chiens errants dans le voisinage, l'alimentation des chiens avec des abats infectés, le manque d'incinérateurs, l'absence d'enfouissement des viscères infesté de kystes hydatiques...) contribuent largement à la persistance de la transmission et la propagation de l'échinococcose chez les hôtes intermédiaires et hôtes définitifs. Tous ces facteurs doivent être pris en considération lors de l'application du programme de contrôle contre l'échinococcose kystique.

Mots clés : typage moléculaire, PCR, *EmsB*, *Echinococcus granulosus*, abattoirs