



HAL
open science

**Diagnostic biologique de l'échinococcose alvéolaire :
intérêt de la PCR dans les localisations inhabituelles : à
propos de 2 infections osseuses diagnostiquées à
Strasbourg en 2003**

Sophie Georges Cron

► **To cite this version:**

Sophie Georges Cron. Diagnostic biologique de l'échinococcose alvéolaire : intérêt de la PCR dans les localisations inhabituelles : à propos de 2 infections osseuses diagnostiquées à Strasbourg en 2003. Sciences pharmaceutiques. 2004. dumas-01684768

HAL Id: dumas-01684768

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01684768>

Submitted on 15 Jan 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



1^{er} exemplaire

**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année 2004

N° 7040

**DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE L'ECHINOCOCCOSE ALVEOLAIRE :
INTERET DE LA PCR DANS LES LOCALISATIONS INHABITUELLES
A propos de 2 infections osseuses diagnostiquées à Strasbourg en 2003**

**MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE BIOLOGIE MEDICALE**

qui, conformément aux dispositions du décret n°90-810 du 10 septembre 1990, tient lieu de

**THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présenté et soutenu le 30 Novembre 2004 par

Sophie GEORGES (épouse CRON)
[Données à caractère personnel]

JURY

Président : Monsieur le Professeur Bernard PESSON
Directeur : Monsieur le Professeur Ermanno CANDOLFI
Membres : Madame le Docteur Odile VILLARD
Madame le Docteur Nathalie BOULANGER



**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année 2004

N°

**DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE L'ECHINOCOCCOSE ALVEOLAIRE :
INTERET DE LA PCR DANS LES LOCALISATIONS INHABITUELLES
A propos de 2 infections osseuses diagnostiquées à Strasbourg en 2003**

**MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE BIOLOGIE MEDICALE**

qui, conformément aux dispositions du décret n°90-810 du 10 septembre 1990, tient lieu de

**THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

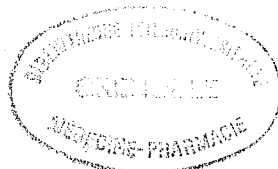
Présenté et soutenu le 30 Novembre 2004 par

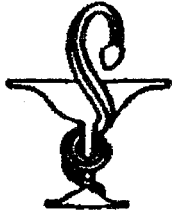
Sophie GEORGES (épouse CRON)

[Données à caractère personnel]

JURY

Président : Monsieur le Professeur Bernard PESSON
Directeur : Monsieur le Professeur Ermanno CANDOLFI
Membres : Madame le Docteur Odile VILLARD
Madame le Docteur Nathalie BOULANGER





Septembre 2004

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté: M. le Professeur P. DEMENGE
Vice-Doyenne : Mme A. VILLET

PROFESSEURS DE PHARMACIE

| | | |
|-----------------------|------------|--|
| BAKRI | Abdelaziz | Pharmacie Galénique |
| BENOIT-GUYOD | Jean-Louis | (Emérite) |
| CALOP | Jean | Pharmacie Clinique et Bio-Technique |
| DANEL | Vincent | Toxicologie |
| DECOUT | Jean-Luc | Chimie Bio-Inorganique |
| DEMENGE | Pierre | Physiologie / Pharmacologie |
| DROUET | Emmanuel | Immunologie / Microbiologie Biotechnologie |
| FAVIER | Alain | Biochimie |
| GOULON | Chantal | Physique Pharmacie |
| GRILLOT | Renée | Parasitologie |
| MARIOTTE | Anne-Marie | Pharmacognosie |
| PEYRIN | Eric | Chimie Analytique |
| RIBUOT | Christophe | Physiologie / Pharmacologie |
| ROUSSEL | Anne-Marie | Biochimie |
| SEIGLE-MURANDI | Françoise | Botanique et Cryptogamie |
| STEIMAN | Régine | Biologie Cellulaire |
| WOUESSIDJEW | Denis | Pharmacie Galénique |

PROFESSEUR ASSOCIE (PAST)

| | | |
|----------------|---------|--------------------|
| CHAMPON | Bernard | Pharmacie Clinique |
|----------------|---------|--------------------|

MAITRES DE CONFERENCES DE PHARMACIE

| | | |
|------------------------|-----------------|--|
| ALDEBERT | Delphine | Parasitologie |
| ALLENET | Benoît | Pharmacie Clinique |
| BARTOLI | Marie-Hélène | Pharmacie Clinique et Biotechn. |
| BOUMENDJEL | Ahcène | Pharmacognosie |
| BRUGERE | Jean-François | Parasitologie |
| BURMEISTER | Wilhelm | Virologie |
| CARON | Cécile | Biologie Moléculaire |
| CHARLON | Claude | Chimie Pharmacie |
| CHOISNARD | Luc | Pharmacotechnie et génie de la formulation |
| DELETRAZ | Martine | Droit Pharmaceutique Economie |
| DESIRE | Jérôme | Chimie Bioorganique |
| DIJOUX-FRANCA | Marie-Geneviève | Pharmacognosie |
| DURMORT-MEUNIER | Claire | Virologie Moléculaire Structurale |
| ESNAULT | Danielle | Chimie Analytique |
| FAURE | Patrice | Biochimie C |
| FAURE-JOYEUX | Marie | Physiologie-Pharmacologie |
| FOUCAUD-GAMEN | Jacqueline | Immunologie |
| GEZE | Annabelle | Pharmacotechnie Galénique |
| GERMI | Raphaële | Bactériologie et virologie clinique |
| GILLY | Catherine | Chimie Thérapeutique |
| GODIN-RIBUOT | Diane | Physiologie - Pharmacologie |
| GROSSET | Catherine | Chimie Analytique |
| GUIRAUD | Pascale | Biologie Cellulaire et Génétique |
| HININGER-FAVIER | Isabelle | Biochimie |
| KRIVOBOK | Serge | Botanique - Cryptogamie |
| MORAND | Jean-Marc | Chimie Thérapeutique |
| NICOLLE | Edwige | Chimie Organique |
| PINEL | Claudine | Parasitologie |
| RAVEL | Anne | Chimie Analytique |
| RICHARD | Jean-Michel | Chimie Toxicol.Ecotox. |
| RIONDEL | Jacqueline | Physiologie - Pharmacologie |
| SEVE | Michel | Ens. Physique / Rech. Biochimie |
| TAILLANDIER | Georges | Chimie Organique |
| VILLEMAIN | Danielle | Mathématiques |
| VILLET | Annick | Chimie Analytique |

PROFESSEUR AGREGE (PRAG)

| | | |
|------------------|----------|-----------------|
| ROUTABOUL | Christel | Chimie Générale |
|------------------|----------|-----------------|

Septembre 2004

UNIVERSITE LOUIS PASTEUR DE STRASBOURG I
FACULTE DE PHARMACIE

Doyen: M. Claude HASSELMANN

Directeurs adjoints: M. Bernard SPIESS, M. Bernard KUBALLA, M. Francis SCHUBER - Etudiant : M. A. ENGERER

Responsable des Services Administratifs: M. Richard BECK

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT-CHERCHEUR

Doyen honoraire: M. G. DIRHEIMER

Professeurs émérites: M. JC. STOCLET - M. Y. INGENBLEEK

PROFESSEURS

| | |
|-----------------------|--------------------------|
| M. R. ANTON | Pharmacognosie |
| M.A.BERETZ | Pharmacologie |
| M.G.FERARD | Biochimie |
| M. A. GAIRARD | Physiologie |
| M.D.GERARD | Physique et Biophysique |
| M. J-P. GIES | Signalisation cellulaire |
| M.M.GOELDNER | Chimie organique |
| M.C.HASSELMANN | Chimie analytique. |
| Mme C. HEITZ | Pharmacie clinique |
| M. M. HIBERT | Chimie organique |
| Mme B. KIEFFER | Biol. moi. du médicament |
| Mme M.-C. KILHOFFER | Biologie moléculaire |
| M. J-C. KOFFEL | Chimie thérapeutique |
| M. Y. LANDRY | Pharmacologie |
| M. P. LAUGEL | Chimie analytique. |
| M. A. LUGNIER | Toxicologie |
| M. Y. MELY | Physique et Biophysique |
| M. J.-Y. PABST | Droit Economie pharm. |
| Mme N. PAGES | Toxicologie |
| M. P. POINDRON | Virologie |
| M. B. PESSON | Parasitologie |
| Mme V. SCHINI-KERTH | Pharmacologie |
| M. B. SPIESS | Chimie Phys. et Minérale |
| Mme G. UBEAUD-SEQUIER | Pharmacocinétique |
| Mme D. WACHSMANN | Immunologie |
| M. P. WEHRLE | Pharmacie galénique |

MAITRES DE CONFERENCE

| | |
|-----------------------|-------------------------------|
| Melle K. ALARCON | Chimie bioorganique |
| M. P. ANDRE | Bactériologie |
| Mme BERGAENTZLE | Chimie physique |
| Mme H. BIETH | Chimie analytique |
| Mme F. BINDLER | Chimie analytique |
| Mme E. BOMBARDA | Physique et Biophysique |
| M. P. BOUCHER | Génomique |
| Melle N. BOULANGER | Parasitologie |
| M. A. BOURGUIGNAT | Biochimie |
| M. C. BOYMOND | Pharmacie galénique |
| M. T. CHATAIGNEAU | Pharmacologie |
| Mme G. COUPIN | Virologie et Bactériologie |
| Mme A.-M. DIEMUNSCH | Pharmacie galénique |
| M. S. DUMONT | Biologie cellulaire |
| M. A. EXINGER | Hydrologie |
| Melle N. GLASSER | Mathématique et Inform. |
| Mme C. HARF-MONTEIL | Parasitologie |
| Mme G. HAAN-ARCHIPOFF | Plantes médicinales |
| Mme D. HARTMANN | Immunologie et Biologie |
| Melle B. HEURTAULT | Pharmacie galénique |
| Melle E. KELLENBERGER | Bio-Informatique |
| M. B. KUBALLA | Pharmacognosie |
| M. A. LEIBENGUTH | Chimie thérapeutique |
| M. J-M. LESSINGER | Biochimie |
| Mme R. LEVY | Virologie et Bactériologie |
| Mme A. LOBSTEIN | Pharmacognosie |
| M. Y. LOMBARD | Virologie et Bactériologie |
| Mme C. MAECHLING | Chimie physique |
| M. E. MARCHIONI | Chimie physique et analytique |
| Melle N. NIEDERHOFFER | Pharmacologie |
| Mme F. PERNOT | Physiologie |
| Mme C. PIGAULT | Physique et Biophysique |
| Melle F. PONS | Toxicologie |
| Melle Y. RIVAL | Chimie organique |
| M. I. SALL | Biochimie |
| M. R. SCHLEIFFER | Physiologie |
| M. C. SCHNEIDER | Biochimie |
| M. J-F STAMBACH | Chimie thérapeutique |
| M. T. VANDAMME | Pharmacie galénique |
| M. B. VAN-OVERLOOP | Physiologie |
| Mme C. WEHRER | Chimie analytique |
| M. B. WENIGER | Pharmacognosie |
| Mme A. WUND | Physique et Biophysique |

SERMENT DE GALIEN



Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur PESSON Bernard,

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous avez fait de présider le jury de cette thèse et de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur CANDOLFI Ermanno,

Nous vous remercions d'avoir accepté de diriger notre thèse. Nous vous sommes tout particulièrement reconnaissant de nous avoir guidés et soutenus tout au long de notre parcours effectué au sein du laboratoire de Parasitologie. Nous avons été très sensibles à sa disponibilité, ses précieux conseils et son efficacité qui ont grandement contribué à l'élaboration de ce mémoire. Qu'il trouve ici le témoignage de notre sincère gratitude et de notre profond respect.

A Madame le Docteur VILLARD Odile,

Nous sommes très touchés par l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail et au soutien que vous nous avez apporté. Veuillez trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de nos sincères remerciements.

A Madame le Docteur BOULANGER Nathalie,

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger ce travail en participant à notre jury de thèse. Nous vous en remercions cordialement.

A Monsieur le Docteur HANSMANN Yves,

Nous vous adressons toute notre gratitude pour nous avoir apporté vos connaissances dans les domaines cliniques et radiologiques concernant nos observations.

A mes parents, Marc et Denise qui m'ont toujours soutenue et encouragée tout au long de ma vie. Je suis heureuse de les avoir. Merci pour tout.

A Lionel, qui m'accompagne de son amour, de son soutien et de sa patience tous les jours.

A ma sœur Cathy, mon modèle. Merci pour ton soutien et tes conseils judicieux qui m'ont guidée tout au long de mon chemin.

A Baptiste et Thibaut, mes clowns préférés

A toute ma famille qui m'est très chère et à mes amis

Au petit chalet dans la montagne qui m'a servi de refuge durant la préparation de tous mes concours. Je suis contente qu'il existe pour tous les moments de bonheur et de joie qu'il me permet de vivre entourée de toute ma famille.

ABREVIATIONS

| | |
|--------------------------|-------------------------------------|
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| ARN | Acide ribonucléique |
| ASP | Abdomen sans préparation |
| ATP | Adénosine triphosphate |
| BSA | Bovine Serum Albumine |
| CRP | Protéine C réactive |
| CTP | Cytosine triphosphate |
| dNTP | Désoxyribonucléotide triphosphate |
| DO | Densité optique |
| <i>E. granulosus</i> | <i>Echinococcus granulosus</i> |
| <i>E. multilocularis</i> | <i>Echinococcus multilocularis</i> |
| EDTA | Ethylene diamine tetraacetic acid |
| ELISA | Enzyme linked immunosorbant assay |
| HCF | Liquide de kyste hydatique |
| GTP | Guanosine triphosphate |
| HES | Hematoxyline éosine safran |
| Ig | Immunoglobuline |
| IRM | Imagerie par résonance magnétique |
| OMS | Organisation mondiale de la santé |
| PAS | Periodic acid Schiff |
| PBS | Phosphate buffer saline |
| PCR | Polymérase Chain Reaction |
| TBE | Tris borate EDTA |
| TDM | Tomodensitométrie |
| TTP | Thymidine triphosphate |
| Vertèbre D | Vertèbre Dorsale |
| Vertèbre L | Vertèbre Lombaire |
| VIH | Virus de l'immunodéficience humaine |

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCTION | 5 |
| GENERALITES SUR L'ECHINOCOCCOSE ALVEOLAIRE | 7 |
| 1. HISTORIQUE | 8 |
| 2. RAPPEL PARASITOLOGIQUE | 9 |
| 2.1. AGENT PATHOGENE, <i>Echinococcus multilocularis</i> | 9 |
| 2.1.1. Nomenclature | 9 |
| 2.1.2. Forme adulte | 9 |
| 2.1.3. Forme embryophore | 11 |
| 2.1.4. Forme larvaire | 12 |
| 2.2. CYCLE PARASITAIRE | 14 |
| 2.2.1. Hôtes définitifs | 14 |
| 2.2.2. Hôtes intermédiaires | 15 |
| 2.2.3. Cycles sauvages et domestiques | 15 |
| 3. EPIDEMIOLOGIE | 18 |
| 3.1. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DU PARASITE | 18 |
| 3.1.1. Mondiale | 18 |
| 3.1.2. En Europe | 18 |
| 3.1.3. Evolution actuelle : émergence d' <i>E. multilocularis</i> ? | 18 |
| 3.2. INCIDENCE ET PREVALENCE CHEZ L'HOMME | 19 |
| 3.2.1. Incidence de l'échinococcose alvéolaire humaine | 19 |
| 3.2.2. Prévalence | 20 |
| 3.3. MODES DE CONTAMINATION HUMAINE | 21 |
| 3.4. FACTEURS DE RISQUE D'INFECTION | 21 |
| 3.4.1. Age et sexe | 21 |
| 3.4.2. Professions | 21 |
| 3.4.3. Animaux domestiques | 21 |
| 3.4.4. Prédispositions individuelles | 22 |
| 3.4.5. Conclusion | 22 |
| 4. REPONSE IMMUNE DE L'HOTE | 23 |
| 4.1. REPONSE IMMUNE SPECIFIQUE DE L'HOTE | 23 |
| 4.1.1. Cellulaire | 23 |
| 4.1.2. Profil des cytokines | 23 |
| 4.1.3. Humorale | 24 |
| 4.2. MODULATION OU INHIBITION DE LA REPONSE IMMUNE | 25 |
| 4.3. CONSEQUENCES DELETERES POUR L'HOTE | 25 |
| 5. PHYSIOPATHOLOGIE | 26 |
| 5.1. TOPOGRAPHIE ET CARACTERISTIQUES DES LESIONS | 26 |
| 5.2. ASPECT MACROSCOPIQUE | 26 |
| 5.3. ASPECT MICROSCOPIQUE | 27 |

| | |
|--|-----------|
| 6. MANIFESTATIONS CLINIQUES | 28 |
| 6.1. CIRCONSTANCES DE DECOUVERTE | 28 |
| 6.2. FORMES CLINIQUES HABITUELLES | 28 |
| 6.3. COMPLICATIONS | 29 |
| 6.3.1. Atteintes des structures vasculaires ou biliaires | 29 |
| 6.3.2. Extension de l'envahissement parasitaire | 30 |
| 7. TRAITEMENT | 31 |
| 7.1. RECOMMANDATIONS DE L'OMS | 31 |
| 7.2. TRAITEMENT CHIRURGICAL | 31 |
| 7.2.1. Interventions chirurgicales à visée curative | 31 |
| 7.2.2. Interventions chirurgicales à visée palliative | 32 |
| 7.3. TRAITEMENT MEDICAMENTEUX | 32 |
| 7.3.1. Mode d'action des benzimidazolés | 32 |
| 7.3.2. Propriétés et protocoles d'utilisation des benzimidazolés | 33 |
| 7.3.3. Intérêts et limites des molécules | 33 |
| 7.4. TRANSPLANTATION HEPATIQUE | 34 |
| 8. PREVENTION | 35 |
| 8.1. ACTION SUR LE RESERVOIR SAUVAGE | 35 |
| 8.2. PRECAUTIONS INDIVIDUELLES | 35 |
| 8.3. MESURES REDUISANT LA MORBIDITE | 35 |
| | |
| OUTILS DE DIAGNOSTIC ACTUELS | 36 |
| 1. DETECTION D'<i>E. MULTILOCULARIS</i> CHEZ L'ANIMAL | 37 |
| 1.1. DETECTION CHEZ L'HOTE DEFINITIF | 37 |
| 1.1.1. Méthodes directes | 37 |
| 1.1.2. Détection d'anticorps sériques | 38 |
| 1.1.3. Détection d'antigènes fécaux | 38 |
| 1.1.4. Détection d'ADN parasitaire dans les fécès | 39 |
| 1.1.5. Approche diagnostique actuelle | 41 |
| 1.2. DETECTION CHEZ L'HOTE INTERMEDIAIRE | 41 |
| 2. DIAGNOSTIC DE L'ECHINOCOCCOSE ALVEOLAIRE HUMAINE | 42 |
| 2.1. EXAMENS BIOLOGIQUES NON SPECIFIQUES | 42 |
| 2.1.1. Hémogramme | 42 |
| 2.1.2. Dosage des immunoglobulines | 42 |
| 2.1.3. Vitesse de sédimentation et protéine C réactive | 42 |
| 2.1.4. Marqueurs hépatiques | 42 |
| 2.2. EXAMENS D'IMAGERIE | 43 |
| 2.2.1. Radiologie conventionnelle | 43 |
| 2.2.2. Echographie abdominale | 43 |
| 2.2.3. Tomodensitométrie abdominale (T.D.M) | 43 |
| 2.2.4. Imagerie par résonance magnétique (I.R.M) | 44 |
| 2.2.5. Techniques avec opacifications des voies biliaires, vasculaires | 44 |
| 2.2.6. Bilan d'extension | 44 |
| 2.2.7. Classification OMS des échinococcoses alvéolaires humaines | 45 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3. TESTS SEROLOGIQUES | 46 |
| 2.3.1. Source d'antigènes | 46 |
| 2.3.2. Immunofluorescence indirecte | 46 |
| 2.3.3. Immunoélectrophorèse, électrosynérèse | 47 |
| 2.3.4. Hémagglutination indirecte | 47 |
| 2.3.5. Méthodes immuno-enzymatiques (ELISA) | 47 |
| 2.3.6. Western Blot ou Immunoblot | 50 |
| 2.3.7. Démarche immunodiagnostique | 52 |
| 2.4. ANALYSE DE BIOPSIE OU DE PIECE OPERATOIRE | 54 |
| 2.4.1. Examen histologique | 54 |
| 2.4.2. Détection d'antigènes parasitaires par immunohistochimie | 55 |
| 2.4.3. Détection d'ADN parasitaire par PCR | 55 |
| 2.5. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL | 56 |
| | |
| MATERIELS ET METHODES | 57 |
| | |
| 1. DETECTION DES ANTICORPS SPECIFIQUES PAR ELISA | 58 |
| 1.1. ELISA « maison » utilisant un antigène brut d' <i>E. granulosus</i> (ELISA-HCF) | 58 |
| 1.2. ELISA Em2plus (Bordier Affinity Products, Crissier, Switzerland) | 60 |
| 2. DETECTION DES ANTICORPS SPECIFIQUES PAR WESTERN BLOT | 61 |
| 3. EXAMEN ANATOMO-PATHOLOGIQUE | 63 |
| 4. DETECTION D'ADN PAR PCR | 63 |
| 4.1. EXTRACTION D'ADN | 63 |
| 4.2. REACTIONS D'AMPLIFICATION PCR | 64 |
| 4.2.1. PCR <i>E. multilocularis</i> | 64 |
| 4.2.2. PCR <i>E. granulosus</i> | 65 |
| 4.3. REVELATION | 66 |
| | |
| RESULTATS | 67 |
| | |
| 1. PATIENT 1 | 68 |
| 2. PATIENT 2 | 76 |
| 3. RESULTATS DES TESTS SEROLOGIQUES | 82 |
| 3.1. Résultats des tests ELISA | 82 |
| 3.2. Résultats du Western Blot | 82 |
| 4. ANALYSE ANATOMO-PATHOLOGIQUE DES BIOPSIES | 83 |
| 5. RESULTATS DES ANALYSES MOLECULAIRES | 84 |
| 6. RECAPITULATIF DES RESULTATS | 85 |

| | |
|---|-----------|
| DISCUSSION | 86 |
| 1. ASPECT CLINIQUE | 87 |
| 1.1. ECHINOCOCCOSES OSSEUSES RAPPORTEES DANS LA LITTERATURE | 87 |
| 1.1.1. Hydatidose osseuse à <i>E. granulosus</i> | 87 |
| 1.1.2. Echinococcose alvéolaire osseuse | 88 |
| 1.1.3. Circonstances de découverte | 90 |
| 1.2. ORIGINALITE DE NOS OBSERVATIONS | 90 |
| 1.2.1. Critères épidémiologiques | 90 |
| 1.2.2. Circonstances de découverte | 90 |
| 1.2.3. Evolution clinique | 91 |
| 1.2.4. Topographie des lésions | 91 |
| 2. ASPECT RADIOLOGIQUE | 92 |
| 2.1. ASPECTS RADIOLOGIQUES NON SPECIFIQUES DES LESIONS OSSEUSES | |
| 2.1.1. Dans la littérature | 92 |
| 2.1.2. Concernant nos observations | 92 |
| 2.2. INTERÊT DU SCANNER ET DE L'IRM DANS LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI DE L'INFECTION OSSEUSE | 93 |
| 2.3. RECHERCHE DE LESIONS HEPATIQUES ASSOCIEES | 93 |
| 2.4. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL | 93 |
| 3. ASPECT ANATOMO-PATHOLOGIQUE | 94 |
| 3.1. PLACE ET INTERÊT DANS LE DIAGNOSTIC DE L'ECHINOCOCCOSE OSSEUSE | |
| 3.1.1. Rôle crucial | 94 |
| 3.1.2. Concernant nos observations | 95 |
| 3.2. LIMITES | 95 |
| 4. ASPECT IMMUNOLOGIQUE | 96 |
| 4.1. PLACE ET INTERÊT DU SERODIAGNOSTIC DANS L'ECHINOCOCCOSE OSSEUSE | 96 |
| 4.1.1. Intérêt diagnostique limité | 96 |
| 4.1.2. Concernant nos observations | 96 |
| 4.2. LIMITES DES TESTS SEROLOGIQUES | 97 |
| 4.2.1. Interprétation difficile | 97 |
| 4.2.2. Défaillance des tests dans nos observations | 97 |
| 4.2.3. Défaillance des tests rapportée dans la littérature | 98 |
| 5. ASPECT MOLECULAIRE | 99 |
| 5.1. INTERET DIAGNOSTIQUE DE LA PCR | 99 |
| 5.2. VARIATION GENETIQUE DU PARASITE | 99 |

| | |
|-------------------|------------|
| CONCLUSION | 101 |
|-------------------|------------|

| | |
|----------------------|------------|
| BIBLIOGRAPHIE | 103 |
|----------------------|------------|

INTRODUCTION

L'échinococcose alvéolaire humaine, dont l'agent pathogène est *Echinococcus multilocularis* au stade larvaire, est une zoonose rare mais potentiellement grave, voire mortelle qui sévit dans l'hémisphère Nord. La phase de latence clinique est très longue, la localisation préférentiellement hépatique et le traitement médico-chirurgical.

Au cours des dernières années, les progrès et la généralisation de l'imagerie, associés à la qualité des moyens sérologiques permettent de diagnostiquer plus précocement et de traiter un nombre plus important de patients ce qui a grandement contribué à l'augmentation de l'espérance de vie après diagnostic. Cependant le diagnostic peut s'avérer difficile, notamment en cas de localisations inhabituelles. L'interprétation des sérologies et des images radiologiques apparaît parfois délicate. Des techniques de biologie moléculaire peuvent actuellement aider à confirmer le diagnostic, si une biopsie ou ponction à l'aiguille fine est réalisable.

Notre travail rapporte deux observations originales d'échinococcose alvéolaire à localisation inhabituelle, dont la PCR a permis de confirmer le diagnostic. Les tableaux cliniques montrent une localisation osseuse sans localisation hépatique patente ce qui est extrêmement rare.

Dans la première partie de notre travail, nous rappelons les généralités sur l'échinococcose alvéolaire puis exposons dans la deuxième partie les différents moyens de diagnostic disponibles actuellement en précisant leurs intérêts et leurs limites.

Puis nous exposons les aspects cliniques et diagnostiques de nos observations en décrivant de façon détaillée les méthodes diagnostiques que nous avons utilisées ainsi que les résultats obtenus. Enfin, en dernière partie, nous discutons des résultats et nous confrontons nos observations avec les données de la littérature. Le but est d'évaluer la place et l'intérêt de la PCR pour affirmer le diagnostic d'échinococcose alvéolaire et faire le diagnostic différentiel avec *E. granulosus* dans les localisations extra-hépatiques.

GENERALITES SUR L'ECHINOCOCCOSE ALVEOLAIRE

1. HISTORIQUE

C'est en 1852 que **Buhl**, un médecin allemand, décrit pour la première fois une échinococcose alvéolaire hépatique qu'il assimile à un « cancer colloïde du foie ».

En 1855, **Virchow** met en évidence la nature parasitaire de la maladie et désigne l'ensemble des lésions sous le terme de « tumeur à échinocoque multiloculaire ulcérate ». Mais il ne la considère alors que comme une forme particulière du kyste hydatique, pathologie connue depuis l'Antiquité et dont l'agent étiologique, *Echinococcus granulosus*, a été individualisé en 1853 par Von Siebold.

En 1863, **Leuckart** découvre une nouvelle espèce de tænia qu'il nomme *Echinococcus multilocularis*.

Pendant près d'un siècle, deux concepts s'opposent :

- un concept uniciste, rapportant l'échinococcose alvéolaire à une forme adaptative de kyste hydatique. Ce concept est défendu par Deve (France) et Dew (Australie).
- un concept dualiste, reposant sur l'existence de deux espèces distinctes d'échinocoques, engendrant deux types de lésions parasitaires, hydatiques et alvéolaires. Cette théorie est notamment développée par l'équipe de Posselt à Innsbrück qui constate que la répartition géographique et les hôtes intermédiaires sont différents pour *E. granulosus* et *E. multilocularis*. Le kyste hydatique se rencontre universellement : sa distribution se superpose à l'exception de l'Amérique du Nord à celle des élevages de moutons. Par contre l'échinococcose alvéolaire paraît strictement limitée à quelques foyers : le foyer bavaro-tyrolien, le foyer suisse et les deux foyers russes (Volga et Sibérie).

En 1953, **Rausch et Schiller** identifient, en Alaska, un échinocoque morphologiquement distinct d'*E. granulosus*. Ce cestode parasite à l'état adulte des renards arctiques et des chiens de traîneaux, et à l'état larvaire, des rongeurs de terriers. En autopsiant des hôtes intermédiaires, les auteurs constatent que les lésions observées dans le foie sont semblables à celles provoquées par l'échinococcose alvéolaire connue en Europe et en Sibérie. Ils nomment ce cestode *E. multilocularis sibiricensis*.

En 1955, **Vogel** met en évidence dans l'intestin grêle de renards vivants dans les Alpes, le parasite de l'échinococcose alvéolaire bavaro-tyrolienne, et le nomme *E. multilocularis multilocularis* qui est en quelque sorte la variété européenne d'*E. multilocularis sibiricensis* (109). La théorie dualiste est confirmée lorsque Vogel reproduit expérimentalement le cycle du parasite chez le campagnol et le chien.

2. RAPPEL PARASITOLOGIQUE

2.1. AGENT PATHOGENE, *Echinococcus multilocularis*

2.1.1. Nomenclature

EMBRANCHEMENT : Plathelminthes (vers plats)

CLASSE : Cestodes

ORDRE : Cyclophyllidés

FAMILLE : Tænidés

GENRE : *Echinococcus*

ESPECE : *multilocularis*

Le genre *Echinococcus* compte trois autres espèces : *E. granulosus*, agent du kyste hydatique, *E. oligarthus* et *E. vogeli*. Ces deux dernières espèces ne se rencontrent qu'en Amérique centrale et du Sud. Quelques cas humains d'échinococcose polykystique provoquée par *E. vogeli* ont été décrits, alors qu'*E. oligarthus* ne semble toucher que l'animal.

2.1.2. Forme adulte

2.1.2.1. Morphologie (figures 1 et 2)

E. multilocularis est à l'état adulte un petit tænia de 1,2 à 3,7 mm de long, avec :

- un scolex avec quatre ventouses, une double couronne de crochets lui permettant de se fixer sur les villosités intestinales de son hôte et un élément glandulaire sécrétant des substances adhésives.
- un corps mobile, appelé strobile, composé de 3 à 5 segments plus longs que larges. Seuls les deux derniers segments arrivent à maturité. L'anneau sexué mûr contient une vingtaine de testicules, disposés en arrière du pore génital et un ovaire bilobé. Le dernier anneau, ou segment ovigère, renferme un utérus sacciforme et peut contenir plusieurs centaines d'œufs (81).

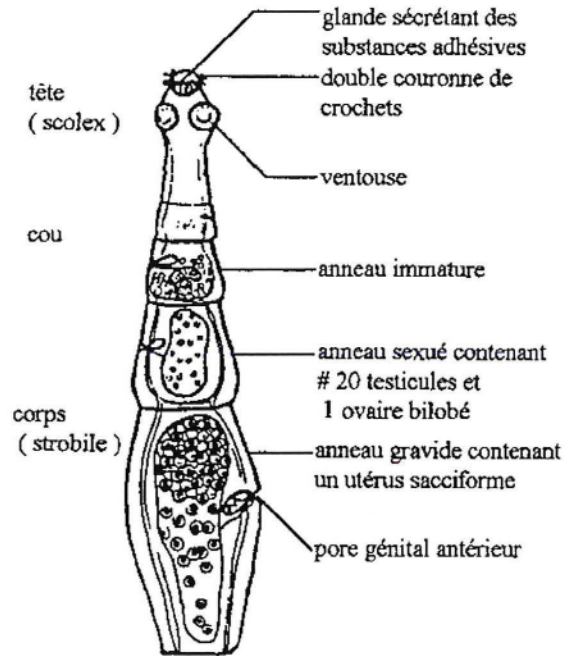


Figure 1 : Représentation schématique d'*Echinococcus multilocularis* adulte (104)

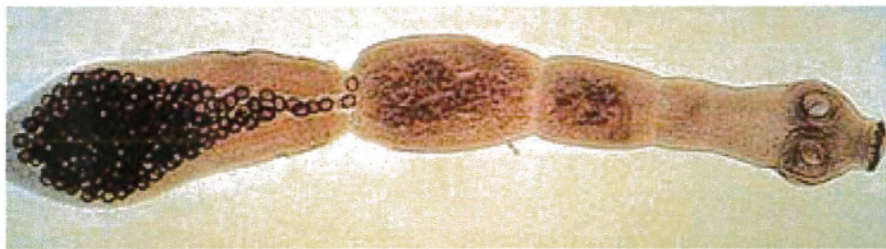


Figure 2 : *E. multilocularis* à l'état adulte à maturité avec son anneau prolifère rempli d'une centaine d'œufs (Laboratoire de Parasitologie, Strasbourg)

2.1.2.2. Habitat

Le parasite adulte vit implanté sur les villosités intestinales de l'hôte définitif pendant une durée moyenne de 3 mois. La parasitose guérit spontanément mais sur cette courte période, des milliers d'œufs sont produits. Un mois après l'infestation, le dernier segment arrivé à maturité, se détache et libère des œufs qui sont expulsés dans les matières fécales de l'hôte. L'infestation n'entraînera aucun symptôme ni aucune lésion, ni aucune immunité, l'animal pourra donc se réinfester.

2.1.3. Forme embryophore

2.1.3.1. Morphologie (figures 3 et 4)

Ce sont des œufs de forme ovoïde, de 30-40 µm de diamètre, constitués d'un embryon hexacanthé entouré de plusieurs membranes. Une membrane interne épaisse, d'aspect strié confère une haute résistance à l'œuf. L'enveloppe externe disparaît rapidement après la libération de l'œuf. Aucun critère morphologique ne permet de les distinguer des oeufs des autres Tœnidés (104).

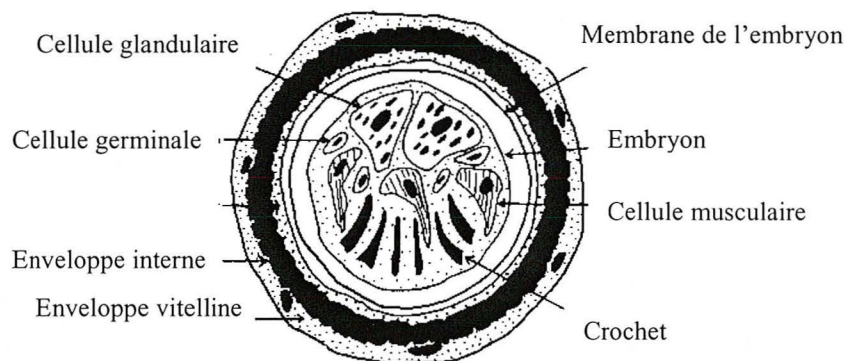


Figure 3 : Représentation schématique d'un œuf d'*E. multilocularis* (104)



Figure 4 : Embryophore de Tœnidés (Laboratoire de Parasitologie, Strasbourg)

2.1.3.2. Habitat et propriétés

Les embryophores sont rejetés dans le milieu extérieur avec les excréments des carnivores. Ils sont très résistants au froid mais craignent la chaleur et la dessiccation.

- Ils peuvent rester infestants longtemps dans un milieu extérieur humide et froid. Ils peuvent ainsi survivre plus de deux ans entre -30°C et +30°C.
- Ils sont détruits en moins de 3 heures à 45°C et une minute à 100°C. La congélation à -80°C les détruit en 2 à 4 jours. Les agents chimiques, comme les engrais, ou les désinfectants n'ont qu'une efficacité relative et ne tuent pas les embryophores (107).

2.1.4. Forme larvaire

2.1.4.1. Morphologie (Figures 5 et 6)

La forme larvaire se présente sous la forme vésiculaire ayant tendance à l'envahissement tissulaire par émission de prolongements racémeux.

La larve est composée de 3 éléments :

- une enveloppe externe double :
 - o une membrane externe, appelée cuticule, mince, discontinue permettant la protrusion de la membrane interne vers le tissu parasité
 - o une membrane interne prolifère ou germinative qui assure les fonctions d'accroissement, de germination, d'élaboration de la paroi externe et de sécrétion de liquide gélatineux
- un contenu liquidien, gélatineux, protéolytique qui franchit facilement la paroi externe et participe aux phénomènes de nécrose tissulaire

La larve est dite fertile lorsqu'elle donne naissance à des vésicules filles à protoscolex. Ces vésicules filles sont issues des excroissances de la membrane germinative et se développent suivant un processus invasif, disséminé, donnant un aspect multialvéolaire pseudotumoral. Chaque vésicule fille contient plusieurs protoscolex, ébauches de têtes d'échinocoque, qui finiront leur développement jusqu'au stade adulte chez l'hôte définitif.

Des cellules germinatives peuvent se détacher, être transportées par le sang ou la lymphe vers différents organes, à distance du premier foyer et donner naissance à de nouvelles vésicules filles.

Chez l'homme, les larves sont habituellement stériles.

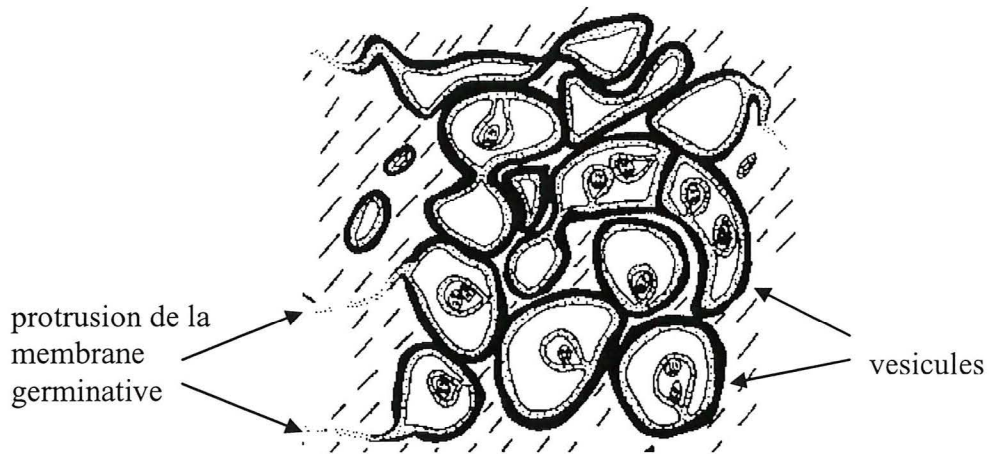


Figure 5 : Représentation schématique de la forme larvaire d'*E. multilocularis* (104)

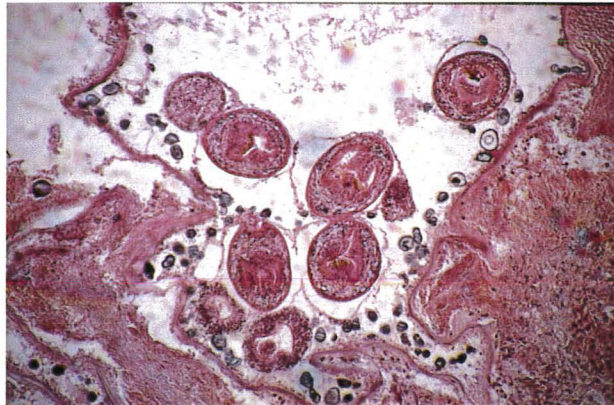


Figure 6 : Aspect microscopique de l'échinococcose alvéolaire dans le foie d'un rongeur réceptif (Laboratoire de Parasitologie, Strasbourg)

2.1.4.2. Habitat

La forme larvaire se développe le plus souvent dans le parenchyme hépatique d'hôtes intermédiaires qui appartiennent à différentes familles de rongeurs. Ceux-ci s'infestent en ingérant des végétaux souillés par les œufs. Les œufs éclosent dans l'intestin des rongeurs. Ils libèrent les larves qui migrent vers le foie et deviennent fertiles en 2 à 4 mois. Cela dépend de la réceptivité de l'hôte intermédiaire. Un hôte définitif ingérant l'organe infesté de l'hôte intermédiaire permet ainsi le développement dans son tube digestif de vers adultes, suite à la libération des scolex contenus dans les vésicules.

2.2. CYCLE PARASITAIRE

2.2.1. Hôtes définitifs

Les hôtes définitifs sont des carnivores sauvages ou domestiques appartenant à la famille des Canidés et plus accessoirement des Félidés. Ils se contaminent en dévorant les petits rongeurs infestés et hébergent dans leur tube digestif la forme adulte du parasite.

Le renard joue un rôle majeur dans le cycle sauvage : renard roux en Europe, renard polaire en Alaska et Sibérie... En Europe, la prévalence du parasite chez le renard roux varie de 1 à 60 % en région d'endémie. Le nombre de parasites par animal est généralement faible mais non limité (17, 27).

D'autres carnivores sont également réceptifs comme le chien, le chat, le coyote dans l'Ouest américain mais aussi le loup et le chien de traîneau en Alaska (tableau I).

Bien que la réceptivité des animaux domestiques (chiens et chats) au parasite soit moindre que pour les renards, la production de vers adultes est possible chez ces animaux. Le chien domestique peut ainsi constituer un lien entre le cycle sauvage et l'homme (66). Le chat par contre même s'il est réceptif, semble jouer dans la transmission à l'homme un rôle plus aléatoire (85). Une étude suisse a rapporté des taux d'infestation de 0,3% chez 660 chiens et de 0,4% chez 263 chats domestiques (15). Mais des taux plus élevés ont également été trouvés, à savoir de 7 % chez 86 chiens et de 3 % chez 33 chats (44).

Tableau I : Principaux hôtes définitifs du cycle d'*Echinococcus multilocularis* (116)

| Famille | Espèce | Dénomination commune |
|---------|---------------------------------|----------------------|
| Canidés | <i>Vulpes vulpes</i> | renard roux |
| | <i>Vulpes corsac</i> | renard corsac |
| | <i>Vulpes ferrilata</i> | renard tibétain |
| | <i>Alopex lagopus</i> | renard arctique |
| | <i>Urocyon cinereoargenteus</i> | renard gris |
| | <i>Canis latrans</i> | coyote |
| | <i>Canis lupus</i> | loup |
| | <i>Canis familiaris</i> | chien |
| Félidés | <i>Felis catus</i> | chat domestique |
| | <i>Felis sylvestris</i> | chat sauvage |

2.2.2. Hôtes intermédiaires

Les hôtes intermédiaires hébergent la forme larvaire responsable de la maladie. Ils se contaminent en consommant des végétaux ou de l'eau souillés par des déjections des hôtes définitifs parasités. Une quarantaine d'espèces de rongeurs a été trouvée infestée (116).

En France, les campagnols terrestres (*Arvicola terrestris*) constituent le réservoir majeur de parasite. Ils sont des hôtes bien réceptifs et leur taux d'infestation est généralement inférieur à 6%, même le plus souvent inférieur à 1% en zone d'endémie (27). Il n'existe que dans certaines régions ce qui conditionne la répartition géographique de la maladie humaine.

D'autres espèces de rongeurs ont été trouvées parasitées par *E. multilocularis* en France :

- campagnol terrestre, *Arvicola terrestris*
- campagnol des champs, *Microtus arvalis*
- campagnol roussâtre, *Clethrionomys glareolus*
- campagnol souterrain, *Pitymys subterraneus*
- souris domestique, *Mus musculus*
- rat musqué, *Ondatra zibethicus*

L'homme intervient comme hôte intermédiaire accidentel et constitue une impasse parasitaire. L'homme, chez qui le parasite reste stérile, ne joue aucun rôle dans la propagation du parasite.

Plusieurs espèces animales ont été décrites en Europe et au Japon comme hôtes aberrants d'*E. multilocularis* : cochon, cheval, sanglier, chien et singe (17).

2.2.3. Cycles sauvages et domestiques

2.2.3.1. Cycle sauvage

La parasitose est entretenue par un cycle sauvage fonctionnant selon une dynamique prédateur-proie, habituellement entre renard et rongeurs.

- L'hôte définitif (renard) abrite le parasite adulte dans son intestin grêle. Un mois après l'infestation, les œufs sont libérés dans le milieu extérieur avec les déjections du renard.

- L'hôte intermédiaire (rongeur) se contamine en ingérant des baies sauvages et des végétaux souillés par les excréments de renard parasités et développent une échinococcose hépatique. Dans le tube digestif, les sucs détruisent la paroi de l'œuf, qui libère des embryons hexacanthés passant de l'intestin au foie par voie sanguine. Au niveau du foie, chaque embryon devenu larve se développe, devient vésiculaire et commence à produire vers l'extérieur des excroissances de la couche germinale qui envahissent le tissu avoisinant. Il se crée de nombreuses alvéoles qui vont se remplir de milliers de protoscolex. Chez le rongeur, les larves deviennent ainsi fertiles en 2 à 4 mois. L'infestation persiste jusqu'à la mort de l'animal. Les larves tuent leur hôte en quatre à six mois, voire un an et ne survivent dans le cadavre que pendant un temps très court.
- Lorsque les rongeurs sont dévorés par les renards, les larves hépatiques libèrent les protoscolex qui deviennent des vers adultes dans l'intestin et permettent au cycle de se perpétuer.

2.2.3.2. Cycle péri-urbain

Un cycle rural est assuré par le chien qui dévore des rongeurs sauvages dans les zones rurales proches des forêts.

2.2.3.3. Cycle urbain

Dans le cycle urbain, aux abords immédiats des habitations, le chien est l'hôte définitif et la souris domestique, l'hôte intermédiaire. Le chat peut aussi être un hôte définitif mais, c'est un hôte très peu réceptif. Il est peu probable que le cycle domestique puisse s'entretenir sur le couple chat-souris, les deux hôtes étant peu favorables à *E. multilocularis*.

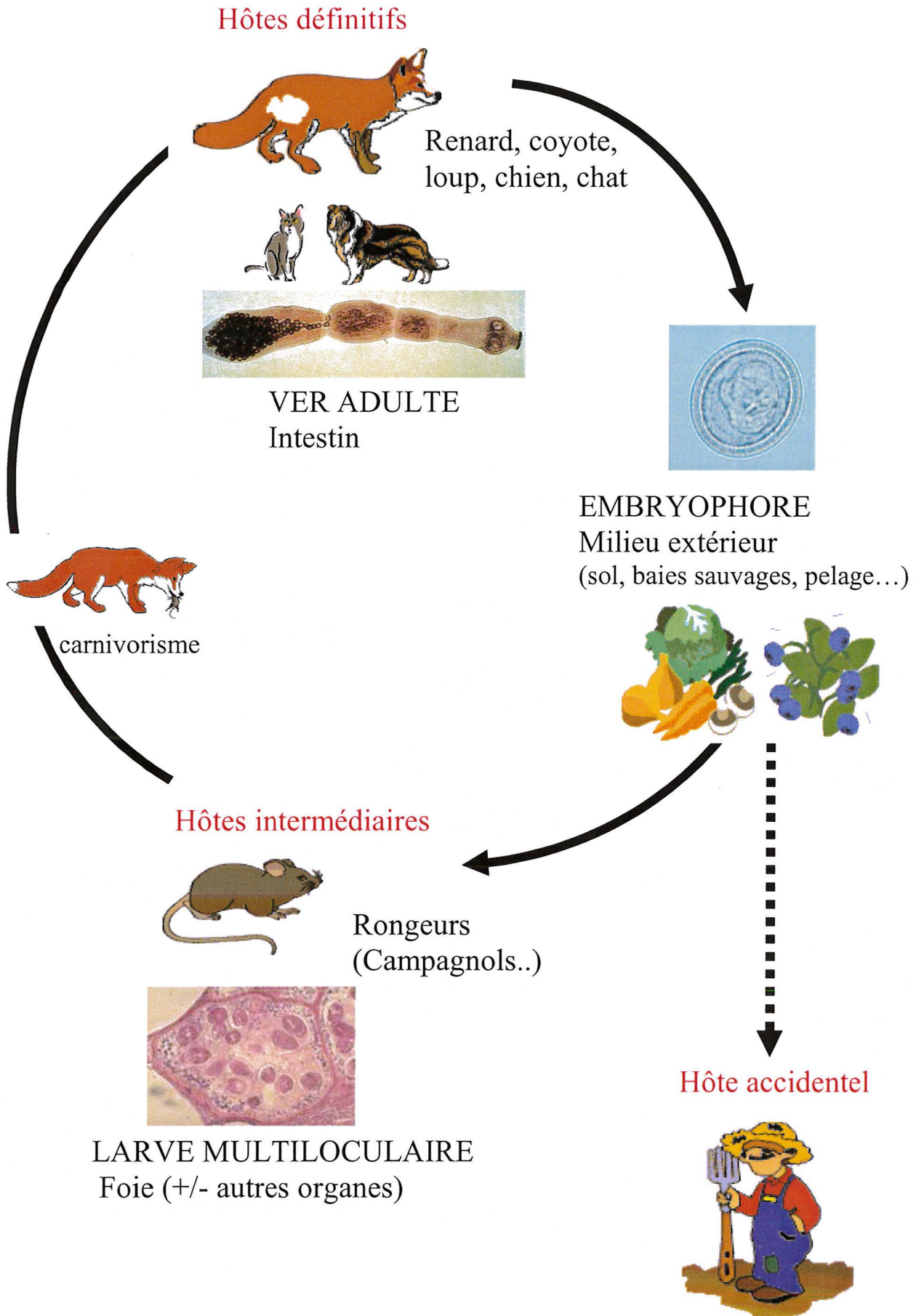


Figure 7 : Cycle parasitaire d' *E. multilocularis*

3. EPIDEMIOLOGIE

3.1. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DU PARASITE

3.1.1. Mondiale

L'échinococcose alvéolaire sévit dans les régions tempérées et froides de l'hémisphère Nord, principalement dans les zones arctiques de l'Alaska et de la Sibérie, dans la plus grande partie de la Russie, en Chine (Centre et Nord) et en Asie centrale (93).

Les foyers les plus anciennement connus se situent :

- l'un, de part et d'autre du Déroit de Behring, correspondant à l'endémie d'Alaska et de Sibérie
- l'autre, en Europe centrale, correspondant au foyer bavaro-tyrolien

Les limites méridionales sont le Japon, la Mongolie, l'Iran, la Turquie et la Grèce.

La parasitose sévit dans les régions froides, que ce soit du fait de la latitude (zones arctiques) ou du fait de l'altitude (dans les régions plus méridionales). Il est vraisemblable que la résistance de la coque de l'embryophore aux agents physiques (froid et humidité) est largement responsable de cette répartition.

3.1.2. En Europe

En Europe, la répartition du parasite semble être restreinte à quelques zones rurales endémiques comprises entre le Sud de l'Allemagne, l'Est de la France, le Nord de la Suisse et le Nord-Ouest de l'Autriche.

En France, les régions concernées sont limitées à un grand quart Nord-Est du pays (Franche-Comté, Haute-Savoie, Lorraine) et à l'Auvergne.

3.1.3. Evolution actuelle : émergence d'*E. multilocularis* ?

3.1.3.1. Modifications écologiques de la population vulpine

Dans plusieurs pays européens, la population vulpine a considérablement augmenté depuis les années 1990 suite à des campagnes de vaccination contre la rage. Le taux d'infestation des renards varie beaucoup d'une région à l'autre. Dans l'Est de la France, le Sud-Ouest de l'Allemagne et dans le Nord de la Suisse, ce taux est supérieur à 50% alors qu'ailleurs, il est inférieur à 5%. Dans certaines zones comme le Bâde-Württemberg

en Allemagne et la Franche-Comté en France, le nombre de renard et leur taux d'infestation a très fortement augmenté ces dix dernières années (27).

De façon récente, des populations importantes de renards se sont installées de façon stable en zone urbaine exposant les populations des villes jusque là peu concernées par ce risque parasitaire (19). Ainsi la dynamique actuelle de la population vulpine risque de modifier l'épidémiologie dans le futur.

3.1.3.2. Dynamique de la population de rongeurs

Chez les rongeurs, la prévalence du parasite est peu investiguée. En général, elle reste faible, inférieure à 1 % mais des études en France et en Suisse ont observé de forte prévalence du parasite chez le rongeur dans certaines zones endémiques: par exemple supérieure à 39% chez *A. terrestris* (45). Des variations saisonnières de la densité des populations de rongeur et de leur taux d'infestation ont été mises en évidence (33, 45). Or la dynamique des populations de rongeurs peut être un facteur clé dans la dynamique de transmission du parasite puisqu'elle influence la prévalence du parasite chez le renard.

3.1.3.3. Extension actuelle de la distribution géographique

On assiste à un élargissement de la zone d'endémie européenne de l'échinococcose alvéolaire au cours de la dernière décennie : l'infection des renards atteint maintenant l'est de la Belgique et des Pays-Bas, presque toutes les régions d'Allemagne du centre et du Nord, la République tchèque, la Pologne et la Slovaquie (25, 93). Cependant l'infection humaine demeure encore rare et des facteurs inconnus pour l'instant en limitent la propagation.

3.2. INCIDENCE ET PREVALENCE CHEZ L'HOMME

3.2.1. Incidence de l'échinococcose alvéolaire humaine

L'incidence est très variable avec des grandes différences selon les zones d'endémie et d'hyperendémie : 0.03 – 1.2/100 000 habitants (26).

En Europe, la majorité des cas recensés à ce jour est survenue chez des personnes vivant dans une des zones d'endémie de l'Europe de l'Ouest. Le nombre total de patients atteints reste faible. Entre 1982 et 2000, le registre européen de l'Echinococcose alvéolaire a recensé, 559 cas humains d'échinococcose alvéolaire en Europe dont 235 cas en France, 132 en Allemagne, 118 en Suisse et 54 en Autriche (63).

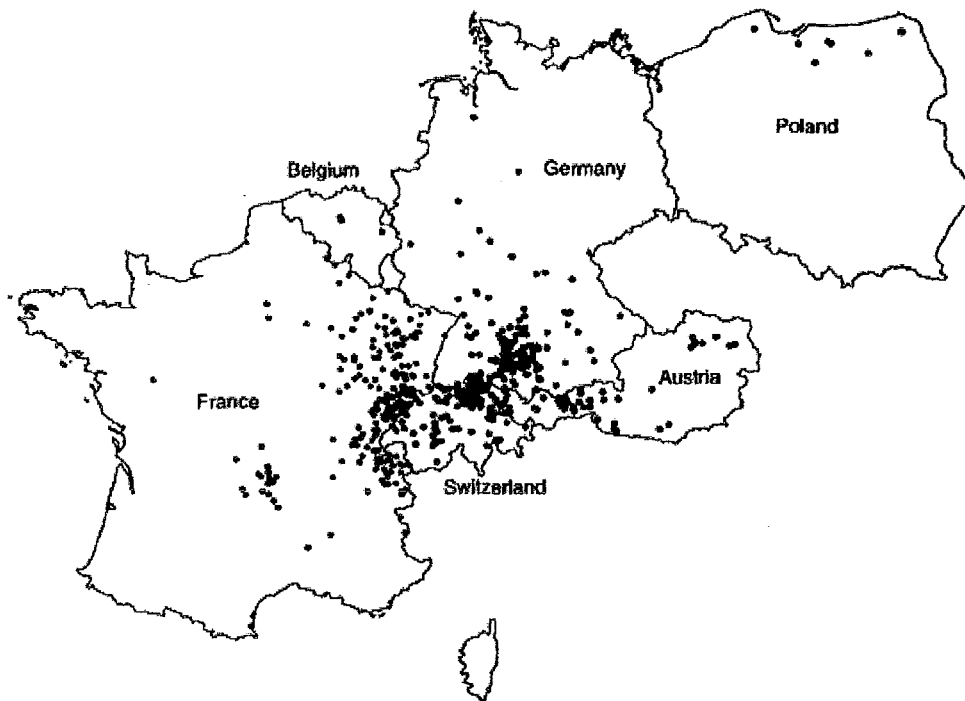


Figure 8 : Répartition géographique en Europe des cas d'échinococcose alvéolaire humaine observés entre 1982 et 2000, d'après le réseau européen d'épidémiologie-surveillance de l'échinococcose alvéolaire (63).

3.2.2. Prévalence

En France, on compte de 10 à 15 nouveaux cas par an dans les régions de l'Est et en Auvergne. La maladie évoluant lentement, il s'agit de diagnostics toujours tardifs et il est impossible de dater la période exacte de contamination. Au cours des 10 dernières, des cas en Aveyron et dans les Ardennes ont été observés (6).

La maladie humaine existe dans les zones où la maladie animale est très active mais les statistiques mondiales sont difficiles à rassembler. La répartition de l'infection d'animaux sauvages apparaît aujourd'hui comme beaucoup plus large que celle de la maladie humaine, sans que l'on sache encore si cette discordance est due à un défaut de diagnostic, à l'absence d'un maillon du cycle, ou à l'existence de variétés biologiques de parasites qui seraient incapables de parasiter l'homme. Beaucoup d'incertitudes demeurent sur les facteurs qui conduisent du contact avec les œufs du parasite jusqu'à la maladie (facteurs comportementaux, alimentaires, immunologiques...).

3.3. MODES DE CONTAMINATION HUMAINE

L'homme se contamine accidentellement en ingérant les œufs du parasite.

Il peut s'infester :

- soit de manière indirecte :
 - o par ingestion de baies, fruits et végétaux sauvages (myrtilles, fraises des bois, champignons, pissenlits, légumes de potagers non clos...) souillés par les selles d'un hôte définitif, soit un renard, soit un animal domestique (chien, chat) parasité
- soit de manière directe :
 - o par manipulation de fourrures ou dépeçage des renards sans précaution
 - o par contact avec le chien, relais entre le cycle sauvage et domestique

Les animaux parasités ont pu répandre sur leurs poils des œufs présents dans la salive après léchage anal.

3.4. FACTEURS DE RISQUE D'INFECTION

3.4.1. Age et sexe

L'âge et le sexe ne semblent pas être des facteurs prédisposant à la maladie parasitaire. En Europe, la moyenne d'âge au moment du diagnostic s'établit autour de 50 ans (63). La période de latence étant d'une dizaine d'années, les enfants sont rarement atteints. La plupart des enquêtes épidémiologiques montrent une incidence semblable chez les hommes et les femmes.

3.4.2. Professions

Aucune profession n'est épargnée. On retrouve une forte proportion d'agriculteurs alors que la proportion de forestiers, garde-chasse,...est moindre. Cela conforte l'hypothèse d'une maladie des lisières de forêts à laquelle la population rurale semble prédisposée. Les personnes résidant ou ayant une activité à proximité de forêts sont principalement concernées par la maladie (63).

3.4.3. Animaux domestiques

Les cycles sauvages, péri-urbains et urbains sont liés avec possibilités d'inter-pénétrations multiples, les acteurs des différents cycles pouvant se rencontrer en divers endroits. Il est difficile d'évaluer l'importance relative des cycles sauvages et domestiques

dans la transmission du parasite à l'homme. Néanmoins, on peut supposer que le chien peut jouer un rôle primordial dans la transmission à l'homme, du fait de ses contacts étroits, plutôt que les renards qui ne concernent que des populations très précises (chasseurs, vétérinaires,..). Les possesseurs de chiens ou chats domestiques représentent 70 % des cas (63).

3.4.4. Prédipositions individuelles

Compte tenu des modes de contamination aussi courants, la rencontre avec le parasite n'est pas un évènement rare mais seuls les sujets prédisposés permettraient le développement du parasite. Ceci expliquerait la rareté des cas familiaux alors que les mêmes risques sont partagés par les membres de la famille (chien de compagnie, alimentation...). De plus, certains sujets seraient capables de se débarrasser spontanément du parasite. Des formes abortives décrites en Franche Comté (4) et en Alaska (88) associent des calcifications hépatiques séquellaires et une sérologie positive à *E. multilocularis*.

Ainsi, la contamination n'impliquerait pas forcément le développement de la maladie chez l'homme. Des facteurs individuels immunologiques, génétiques interviendraient. Certains sujets résisteraient efficacement contre l'infestation, d'autres développeraient la maladie de façon plus ou moins rapide (115). Des études préliminaires ont montré que la fréquence de certains phénotypes HLA était augmentée chez les patients atteints d'échinococcose alvéolaire, impliquant la possibilité d'une prédisposition immunogénétique (28). Une étude européenne récente sur 151 patients a montré que l'haplotype HLA-B8 DR3 DQ2 était plus fréquemment rencontré chez les patients atteints de forme sévère de l'échinococcose alvéolaire. Les travaux de Godot et coll. suggèrent que le système HLA de l'hôte puisse jouer un rôle dans l'évolution de l'infection humaine à *E. multilocularis* en relation avec l'induction préférentielle d'une réponse Th2 chez les patients avec une croissance active du parasite (34, 35).

3.4.5. Conclusion

Les facteurs de risque de développer l'infection sont difficiles à déterminer et les résultats épidémiologiques montrent parfois des résultats contradictoires. La réponse tient probablement dans une réceptivité différente des sujets. Tous les facteurs responsables de la susceptibilité des patients à la prolifération d'*E. multilocularis* et ceux responsables de la résistance ne sont pas connus actuellement. Les études se poursuivent pour en élucider les mécanismes.

4. REPONSE IMMUNE DE L'HOTE

4.1. REPONSE IMMUNE SPECIFIQUE DE L'HOTE

4.1.1. Cellulaire

L'échinococcose alvéolaire est associée à une forte réponse immune cellulaire de l'hôte comme le montre la formation d'un important granulome autour des lésions parasitaires.

4.1.1.1. Résistance associée à une forte réponse lymphoproliférative

L'association potentielle entre la réponse lymphoproliférative et les mécanismes potentiels de résistance ou de sensibilité à l'infection a été investiguée *in vitro* chez des patients présentant des évolutions différentes de leur infection à *E. multilocularis*. L'évolution chronique de l'infection est associée à une faible prolifération *in vitro* des lymphocytes périphériques après stimulation par l'antigène brut parasitaire. Par contre, la réponse lymphoproliférative *in vitro* est forte chez les patients traités par exérèse complète ou présentant des lésions abortives (8, 42).

4.1.1.2. Sensibilité augmentée par l'immunosuppression

Des études expérimentales avec des souris SCID ont montré qu'une défaillance de l'immunité cellulaire augmentait la sensibilité à *E. multilocularis*. Chez l'homme, le rôle crucial de l'immunité cellulaire dans les mécanismes de défense est suggéré par une maladie plus sévère, d'évolution plus rapide chez les sujets infectés par le VIH (94) et par une récurrence de l'infection sous traitement immunosuppresseur après transplantation (2).

4.1.2. Profil des cytokines

4.1.2.1. Profil Th1 protecteur

Des études sur des souris infectées expérimentalement avec *E. multilocularis* ont montré une sécrétion initiale de cytokines Th1, incluant IL-2 et IFN- γ , associée à une prolifération lente du parasite (30). Un effet protecteur de l'IL-12 et de l'IFN- α contre le développement du parasite a été rapporté sur un modèle murin expérimental (29, 37). IL-12 est un élément majeur inducteur d'une immunité cellulaire de type Th1 qui serait capable de tuer le parasite à un stade précoce de son développement. Une meilleure connaissance des

mécanismes immunologiques chez l'homme pourrait conduire vers le développement de nouvelles thérapeutiques et notamment l'immunomodulation par l'IFN- α .

Les études suggèrent que la réponse initiale Th1 permettrait le recrutement de cellules principalement macrophagiques autour du parasite et serait impliquée dans la formation du granulome. En regardant directement au site d'interaction hôte-parasite, Vuitton et coll. ont montré que le granulome peri-parasitaire, composé principalement de macrophages et de lymphocytes T, comprenait une quantité plus importante de CD8+ chez les patients avec des lésions actives chroniques et une large proportion de CD4+ chez les patients avec des lésions abortives ou progressant lentement (113).

Toutes les phases effectrices de la réponse immune à l'infection par *E. multilocularis* reste à élucider. Cependant, il semblerait que l'activation des macrophages avec production de NO et dérivés oxygénés soit cruciale.

4.1.2.2. Profil Th2 associé à la progression des lésions chez l'homme

Les études des profils de cytokines chez les patients infectés ont montré que le développement du parasite est associé à la sécrétion de cytokines Th2 incluant IL-10 et IL-5 (34). Il a été montré que l'IL-10 est produite au niveau systémique mais aussi au sein de la lésion parasitaire (36). Or les propriétés anti-inflammatoires de cette cytokine sont bien connues : inhibition de l'activation et des fonctions cytotoxiques des macrophages. Par contre le rôle potentiel d'IL-5 spécifiquement sécrété chez les patients infectés est inconnu (111).

4.1.3. Humorale

La plupart des patients développant une échinococcose alvéolaire répondent à l'infection par la synthèse souvent importante d'anticorps spécifiques. Ceux-ci sont utiles pour le diagnostic mais ils n'ont pas montré d'effet protecteur direct contre le développement du parasite (111).

Une des conséquences de la stimulation de la réponse Th2 préférentielle est une augmentation de la sécrétion d'IgE et IgG4 par les lymphocytes B. Une augmentation du taux sérique des IgE totaux et spécifiques ainsi que des IgE spécifiques fixés aux basophiles circulants a été observée chez les patients infectés par *E. multilocularis* mais des manifestations cliniques relatives à une réaction d'hypersensibilité immédiate ont rarement été rapportées (112, 114).

4.2. MODULATION OU INHIBITION DE LA REPOSE IMMUNE

Plusieurs mécanismes d'échappement du parasite aux défenses de l'hôte ont été proposés. Ils impliquent soit un contact cellule à cellule soit la production de facteurs capables de moduler ou d'inhiber la réponse immune. Chez les animaux avec une infection déjà avancée, une suppression de l'immunité est observée avec inhibition complète de la sécrétion de cytokines par les lymphocytes après stimulation spécifique ou non spécifique *in vitro*.

La couche lamellaire peut jouer un rôle important de protection contre la réponse immune de l'hôte. Plus qu'une barrière physique qui protège le parasite de l'action du NO et empêche la reconnaissance par les cellules T, elle peut moduler la réponse immune par un certain nombre de fonctions potentielles qui lui sont attribuées : modulation de l'activation des Lymphocytes T et de la production de cytokines à l'interface hôte-parasite (40).

Plusieurs antigènes parasitaires immunomodulateurs ont été décrits et sont pour la plupart des carbohydrates (117).

4.3. CONSEQUENCES DELETERES POUR L'HOTE

Une combinaison des profils de cytokines Th1/Th2 apparaît nécessaire pour la survie du parasite et la protection de l'hôte. Cependant la réponse immune est responsable de complications de l'infection à *E. multilocularis*. En effet, une activation partielle des cellules cytotoxiques et des cellules réparatrices sécrétant du collagène est responsable d'une nécrose centrale et d'un processus de fibrose autour du granulome. Le développement de la fibrose est corrélé à la résistance au parasite et médié par la réponse Th1. La fibrose peut être interprétée comme un succès dans la destruction du parasite, mais aussi des divers éléments normaux du parenchyme hépatique par les cellules de la réponse immune de l'hôte. La diffusion de la fibrose à l'ensemble du foie suggère la diffusion de facteurs solubles comme les cytokines IFN- γ , TNF- α intervenant dans la synthèse du collagène. Des enzymes produites par l'hôte et le parasite interviennent aussi lors du dépôt (transglutaminase) et de l'oxydation (lysyl oxydase) des collagènes. Ces derniers médiateurs pourraient être responsables de l'excès et de l'irréversibilité de la fibrose hépatique (6, 47).

5. PHYSIOPATHOLOGIE

5.1. TOPOGRAPHIE ET CARACTERISTIQUES DES LESIONS

L'échinococcose alvéolaire se distingue de l'hydatidose par la topographie et l'aspect de ses lésions. Elle concerne initialement le foie dans presque tous les cas, mais peut donner d'autres foyers à distance. Le plus souvent, les deux lobes sont atteints, mais parfois aussi, un seul lobe.

Le foyer parasitaire se présente sous la forme d'un processus infiltratif et destructeur, envahissant aussi bien les canaux biliaires que les vaisseaux (artères, veines sus-hépatiques, système porte et veine cave supérieure), simulant une néoplasie. Le foie est envahi progressivement par une hydatide souvent réduite à sa cuticule. La prolifération se fait par protrusion de bourgeons cellulaires qui se creusent et s'élargissent pour aboutir à une structure kystique. Contrairement aux rongeurs réceptifs, l'homme ne permet pas un développement floride du parasite. L'aspect stérile de la forme larvaire a longtemps été discuté, mais il existe pourtant de rares protoscolex.

L'extension des lésions parasitaires peut se faire :

- **par contiguïté** : envahissement des organes et des structures adjacentes (poumons, plèvre, péritoine, diaphragme)
- **par voie vasculaire** : la migration de fragments de membrane proligère est responsable de localisations à distance, pseudo-métastatiques, le plus souvent pulmonaires et cérébrales, mais pouvant concerner n'importe quel autre viscère. Des localisations exceptionnelles ont été rapportées : osseuses, rénales, cardiaques, lacrymales.

5.2. ASPECT MACROSCOPIQUE

Une hypertrophie hépatique, correspondant à la lésion ou à un phénomène compensateur, est souvent constatée.

Les lésions macroscopiques apparaissent essentiellement sous deux formes (5) :

- **une forme confluite, massive** :
 - La surface hépatique possède un aspect de placard, plus ou moins lisse, de coloration blanc-jaunâtre aux contours irréguliers.
- **une forme multinodulaire** :
 - La surface hépatique est déformée par la présence de multiples nodules blanchâtres, de consistance indurée.

A la coupe, le parenchyme hépatique est creusé d'innombrables cavités irrégulières de taille variable de quelques millimètres à quelques centimètres et dont les bords peuvent être calcifiés. Cet aspect a été décrit comme du « bois vermoulu » ou du « pain bis ».

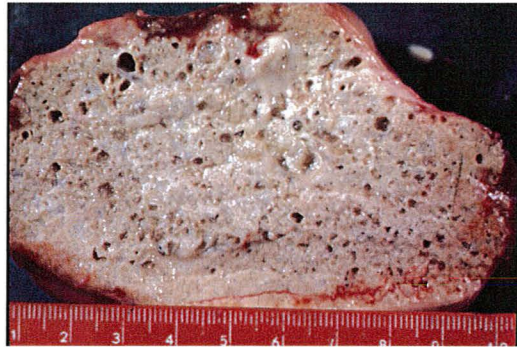


Figure 9 : Aspect macroscopique de l'échinococcose alvéolaire chez l'homme : section de foie montrant un aspect en « pain bis » (laboratoire de Parasitologie, Strasbourg)

5.3. ASPECT MICROSCOPIQUE

On distingue deux zones d'aspect différent (5) :

- **le centre du foyer parasitaire, correspondant aux lésions anciennes :**
 - Cette zone est constituée de vésicules stériles (dépourvues de scolex), de taille variable (jusqu'à 1 cm de diamètre) possédant une cuticule colorée par l'acide périodique de Schiff (P.A.S), épaisse et plissée, pouvant obstruer toute la lumière. La membrane prolifère n'est pas visible.
 - Ces vésicules sont situées au sein d'un matériel nécrotique, acidophile, renfermant parfois des calcifications et entouré d'un tissu conjonctivo-fibreux dense.

- **la zone périphérique, correspondant à des lésions plus récentes :**
 - Cette zone est constituée à la fois d'éléments parasitaires et de lésions réactionnelles du parenchyme envahi.
 - Les éléments parasitaires sont des vésicules de petite taille (quelques mm de diamètre), possédant une cuticule P.A.S positive, mince de structure lamellaire concentrique et contenant pour certaines des protoscolex. La cuticule est parfois bordée d'une membrane prolifère, reconnaissable à ses noyaux assez espacés les uns des autres.

- Ces structures parasitaires sont à l'origine d'une réaction inflammatoire granulomateuse, dont la constitution du centre vers la périphérie est la suivante :
 - o Un centre renfermant une nécrose et des structures parasitaires
 - o Une cuticule
 - o Une couronne de macrophages et de cellules épithélioïdes, à disposition palissadique, associées à des cellules géantes plurinuclées.
 - o Une couronne de leucocytes polymorphes, correspondant à des lymphocytes, plasmocytes et polynucléaires neutrophiles
 - o Une fibrose très cellulaire parsemée de cellules inflammatoires, englobant les granulomes ainsi que les structures vasculaires et biliaires.

6. MANIFESTATIONS CLINIQUES

6.1. CIRCONSTANCES DE DECOUVERTE

Le temps de latence clinique est habituellement long, en moyenne de 5 à 15 ans après la contamination. L'évolution se fait à bas bruit pendant de nombreuses années et la révélation de l'affection par des symptômes cliniques traduit habituellement soit une lésion volumineuse, soit une complication liée à l'extension ou à la compression des structures vasculaires ou biliaires (6).

6.2. FORMES CLINIQUES HABITUELLES

La localisation primaire de l'échinococcose alvéolaire est presque exclusivement hépatique. La localisation primaire extra-hépatique est extrêmement rare.

Dans la majorité des cas, il s'agit d'une découverte fortuite. C'est la réalisation d'une échographie, notamment abdo-pelvienne, prescrite pour un motif quelconque ou pour des douleurs abdominales persistantes, qui permet souvent de mettre en évidence des lésions hépatiques et de commencer un bilan étiologique. Les principales manifestations retrouvées sont des douleurs abdominales non spécifiques, mal définies, localisées surtout à l'épigastre ou à l'hypocondre droit, évoluant souvent depuis plusieurs années sur un mode chronique mais aussi des troubles digestifs mineurs.

Deux principaux symptômes sont révélateurs de l'échinococcose alvéolaire mais ne sont présents que dans moins de 30% des cas au moment du diagnostic (6):

- L'**hépatomégalie** est parfois très importante, dure, irrégulière, parfois douloureuse évoquant des néoplasies hépatiques primaires ou secondaires. Mais le contraste entre une hépatomégalie volumineuse et un état général conservé, doit en zone d'endémie faire évoquer le diagnostic d'échinococcose alvéolaire.
- L'**ictère** peut être isolé ou accompagné d'un prurit lié à la cholestase. Il est lié à l'envahissement de la convergence biliaire par le processus parasitaire ou d'épisodes angiocholiques liés soit à la mise en communication de la lésion avec la lumière des voies biliaires soit à la présence de calculs pigmentaires développés en amont d'une sténose parasitaire.

Dans une série franc-comtoise de 117 cas pour la période 1983-1993, l'hépatomégalie isolée était le mode de révélation de l'échinococcose alvéolaire dans 14% des cas, l'ictère dans 25% des cas et les douleurs abdominales dans 26% des cas (7).

6.3. COMPLICATIONS

L'évolution naturelle de l'échinococcose alvéolaire conduit à la survenue de complications. En l'absence de traitement, le décès du patient survient dans 70% des cas dans les 5 ans et dans 90% des cas dans les 10 ans suivant le diagnostic (82). Il reste encore des cas où les complications révèlent la maladie.

6.3.1. Atteintes des structures vasculaires ou biliaires

- Des complications infectieuses surviennent dans l'évolution de la maladie. En comprimant ou en s'infiltrant dans les canaux biliaires, l'envahissement parasitaire provoque des cavités de nécrose, sources d'infection biliaire, d'abcès hépatique ou d'angiocholites à répétition avec coliques biliaires, frissons, fièvre et parfois choc septique.
- La complication la plus grave est l'hémorragie digestive en relation avec une hypertension portale d'origine multiple : thrombose portale parasitaire, cirrhose biliaire secondaire, syndrome de Budd-Chiari.

6.3.2. Extension de l'envahissement parasitaire

Le processus parasitaire peut se propager aux organes de voisinage :

- vers le diaphragme, et atteindre par contiguïté le poumon (entraînant des troubles respiratoires facilitant les surinfections bronchopulmonaires et fistules biliobronchiques) et le médiastin.
- vers le péritoine et les autres viscères abdominaux, en particulier la rate
- vers la peau, à l'origine de fistules cutanées

L'affection peut se développer dans d'autres organes que le foie après dissémination sanguine. Dans 10% des cas, on observe ainsi des localisations parasitaires secondaires (55). Des localisations identifiées sont essentiellement pulmonaires et cérébrales. Les différentes séries publiées révèlent des taux de fréquence très variables de ces localisations.

De façon beaucoup plus exceptionnelle, d'autres localisations secondaires ont été rapportées :

- cardiaques à localisation dans la veine cave inférieure et l'oreillette droite (76)
- génito-urinaires à localisation testiculaire droite avec atteinte de l'uretère droit (101)
- osseuses de façon exceptionnelle. Les localisations osseuses seront discutées en détail ultérieurement.

7. TRAITEMENT

L'échinococcose alvéolaire est une parasitose grave, dont le pronostic est redoutable en l'absence de traitement. Le développement de la maladie se rapproche de celui des tumeurs malignes par son caractère invasif et infiltrant.

7.1. RECOMMANDATIONS DE L'ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE (82)

Des recommandations de l'OMS pour le traitement reposent sur les principes suivants:

- La première option, dans tous les cas opérables, est l'exérèse chirurgicale radicale de la lésion parasitaire du foie et d'autres organes atteints.
- Une chimiothérapie de durée limitée (minimum 2 ans) est indiquée après exérèse radicale. En revanche, une chimiothérapie pré-chirurgicale n'est pas indiquée.
- Une chimiothérapie de longue durée est obligatoire après exérèse incomplète des lésions, chez les patients non opérables et chez les patients ayant subi une transplantation hépatique.

7.2. TRAITEMENT CHIRURGICAL

7.2.1. Interventions chirurgicales à visée curative

La chirurgie conserve encore, dans l'échinococcose alvéolaire, une place de choix. Une exérèse radicale peut permettre d'éliminer les lésions parasitaires. L'hépatectomie partielle n'est possible que quand les lésions sont suffisamment limitées. C'est dire tout l'intérêt d'un diagnostic aussi précoce que possible.

Mais, du fait du caractère invasif de la maladie, le traitement chirurgical a rapidement montré ses limites. Les lésions inopérables, étendues ou non limitées au foie et au diaphragme doivent être prises en charge par des traitements alternatifs. De plus, l'exérèse est rarement complète, les lésions ne pouvant pas toujours être clairement définies en imagerie. Le tissu parasité restant peut alors être à l'origine d'un nouveau développement parasitaire dans l'organe opéré et d'une dissémination à d'autres organes.

7.2.2. Interventions chirurgicales à visée palliative

Dans les lésions étendues et multiples, l'hépatectomie a un but palliatif en réduisant au maximum la masse parasitaire. Un traitement médicamenteux post-opératoire est nécessaire au vu des risques de propagation des éléments parasitaires.

D'autres interventions luttant contre les complications permettent d'améliorer l'espérance et la qualité de vie des sujets infectés :

- drainages percutanés ou intra-abdominaux d'abcès hépatique
- dérivation des voies biliaires (drainage percutané ou pose de stents) en cas d'ictère rétentionnel
- anastomose porto-cave en cas d'hémorragie digestive par hypertension portale

La sclérose des varices oesophagiennes ou la mise en place de prothèses biliaires par voie endoscopique ou transhépatique sont des alternatives à la chirurgie, afin de diminuer au maximum le nombre d'intervention, en vue d'une éventuelle transplantation hépatique.

7.3. TRAITEMENT MEDICAMENTEUX

In vitro et *in vivo*, la classe des benzimidazolés a prouvé une efficacité parasitostatique dans le traitement des helminthiases intestinales. Ces molécules sont utilisées dans le traitement de l'échinococcose alvéolaire depuis 1977. Des études cliniques ont montré que le traitement à long-terme augmentait le taux de survie après 10 ans, passant de 6-25% dans des séries historiques de sujets non traités à 80 % chez des sujets infectés traités (82). Mais les traitements médicamenteux ont encore des progrès à accomplir en terme de guérison.

7.3.1. Mode d'action des benzimidazolés

Ces molécules ont la propriété de se lier à la tubuline et d'empêcher la formation de microtubules. La désorganisation des microtubules des cellules tégumentaires des larves des cestodes entraîne de graves perturbations de la perméabilité de ces structures. L'absorption de glucose, les réserves en oxygène, et la formation d'ATP sont diminuées.

7.3.2. Propriétés et protocoles d'utilisation des benzimidazolés

Tableau II : Caractéristiques des deux benzimidazolés préférentiellement utilisés dans le traitement de l'échinococcose alvéolaire

| | Mebendazole VERMOX® | Albendazole ESKAZOLE®, ZENTEL® |
|---------------------|--|--|
| Forme galénique | Comprimé de 100 mg, 500 mg Suspension buvable | Comprimé de 200 mg, 400 mg Suspension buvable |
| Pharmacocinétique | - Absorption intestinale médiocre - Métabolisme hépatique - Excrétion biliaire | - Bonne absorption intestinale - Faible biodisponibilité (fort effet de 1 ^{er} passage hépatique) - Métabolite actif : albendazole sulfoxyde - ½ vie plasmatique : 8-9 h - Excrétion urinaire |
| Contre-indications | Femme enceinte | Femme enceinte Enfant de moins de 6 ans (déconseillé) Cirrhose hépatique (déconseillé) |
| Effets indésirables | Leucopénie, anémie modérée, alopecie transitoire, troubles gastro-intestinaux, vertiges, céphalées et augmentation des transaminases | |
| Surveillance | Clinique et biologique (Numération sanguine et dosage des transaminases) | |
| Posologie | 40 à 50 mg/kg/j en 3 prises, au milieu des repas Cure de 28 j, avec arrêt de 7 j entre les cures ou prise continue | 10-15 mg/kg/j en 2 prises au milieu des repas Cure de 28 j, avec arrêt de 14 j (ou 7 j) entre les cures ou prise continue |

7.3.3. Intérêts et limites des molécules

▪ Mébendazole

Son action parasitostatique permet une stabilisation du processus parasitaire sur de longues périodes dans 70% des cas (89). Après un traitement prolongé et continu, une guérison complète a pu même être obtenue (1). La tolérance est relativement bonne et la réussite du traitement est fonction de :

- la durée du traitement qui doit être supérieure à 2 ans
- la concentration sérique suffisante (>250 nmol/l)

▪ **Albendazole**

L'Albendazole est actuellement le Benzimidazolé le plus utilisé dans l'échinococcose alvéolaire. Il a l'avantage d'une meilleure efficacité que le Mébendazole mais présente une toxicité plus importante. Son action est également parasitostatique. L'inoculation de matériel provenant de malades traités à des rongeurs très sensibles aboutit à l'infection des animaux (70). Rappelons que dans le traitement de l'échinococcose alvéolaire humaine, seul l'Escazole® a l'autorisation de mise sur le marché obtenue en 1999, avec délivrance hospitalière. En cas de localisations extra-hépatiques, la posologie peut être augmentée (20 mg/kg/j), associée à un arrêt de 7 j entre les cures. Souvent l'administration par cures est abandonnée au profit d'un traitement continu, montrant une efficacité au moins égale et une bonne tolérance. La durée de traitement n'est pas déterminée actuellement. Le traitement peut être à vie chez la plupart des patients ne présentant pas une élimination complète des lésions parasitaires.

▪ **Flubendazole**

Ce dérivé fluoré du Mébendazole n'est plus utilisé dans le traitement de l'échinococcose alvéolaire depuis 1985 par défaut d'efficacité (68).

▪ **Praziquantel**

Cette molécule est l'agent le plus agressif sur les protoscolex *in vitro* mais son efficacité sur les larves des cestodes serait moins importante. Il présente surtout un intérêt comme vermifuge pour les hôtes définitifs.

7.4. TRANSPLANTATION HEPATIQUE

La transplantation hépatique représente un espoir pour les patients ne pouvant bénéficier d'exérèse radicale. Elle est indiquée en cas de dysfonctionnement hépatique sévère (3) :

- cirrhose biliaire secondaire avec ascite ou hypertension portale
- angiocholite sévère mal contrôlée

Les indications sont cependant très limitées et les difficultés sont multiples. Un traitement médicamenteux anti-parasitaire au long cours est nécessaire, en raison du traitement immunosuppresseur pouvant induire une prolifération du tissu parasité résiduel ou des localisations secondaires non décelées (2).

8. PREVENTION

La prévention demeure indispensable dans la lutte contre une parasitose dont le pronostic reste grave, et le traitement lourd et incertain. Elle rassemble les différents moyens à mettre en œuvre afin d'éviter la contamination humaine et de dépister précocement l'infection.

8.1. ACTION SUR LE RESERVOIR SAUVAGE

Agir sur les populations de renards et de rongeurs sauvages est difficile. Un programme d'éradication du parasite à grande échelle est difficilement réalisable. En Allemagne, l'addition de praziquantel aux appâts destinés à la vaccination des renards contre la rage a été mise à l'essai avec des résultats encourageants (102).

8.2. PRECAUTIONS INDIVIDUELLES

Des règles élémentaires d'hygiène doivent être suivies par les populations vivant dans les zones d'endémie. Ces mesures visent à restreindre les situations à risque :

- porter des gants pour manipuler les renards et autres animaux infectés, vivants ainsi que leurs excréments
- éviter de consommer les légumes crus provenant de jardins non clos accessibles à des renards ou des baies sauvages provenant d'un endroit potentiellement souillé par des renards infectés. Il faut absolument les cuire avant de les manger.
- se laver les mains après tout travail impliquant un contact avec de la terre potentiellement contaminée (travaux agricoles, jardinage..) ou après avoir toiletté ou caressé un chien ou un chat ayant séjourné dans une région à risque
- vermifuger toutes les 4 semaines avec un médicament actif sur le parasite, tel le praziquantel, les chiens et les chats vivant dans une région potentiellement à risque

8.3. MESURES REDUISANT LA MORBIDITE

Dans plusieurs régions, un dépistage systématique est réalisé dans les populations à risque ou dans les populations rurales des zones fortement endémiques pour arriver à diagnostiquer rapidement les infections et à les traiter. Des campagnes de dépistage, à l'aide de tests sérologiques, éventuellement complétés par des échographies abdominales ont été réalisées en France (Doubs), Suisse, Japon, Chine et Alaska. Les travaux publiés suggèrent que le prix de ces mesures est intéressant par rapport à celui du traitement des malades (4). En Europe, un système de déclaration obligatoire des cas et de surveillance permet de suivre l'évolution de l'infection (25).

OUTILS DE DIAGNOSTIC ACTUELS

De nouvelles techniques diagnostiques, applicables à l'infection chez l'homme comme chez l'animal ont été mises au point, durant ces dernières années.

1. DETECTION D'*E. MULTIOCCULARIS* CHEZ L'ANIMAL

Dans les études épidémiologiques, le diagnostic d'infection peut être réalisé chez l'hôte définitif et l'hôte intermédiaire. Le parasite ayant des localisations différentes, à savoir intestinale chez l'hôte définitif et tissulaire chez l'hôte intermédiaire, les approches diagnostiques sont par conséquent différentes.

1.1. DETECTION CHEZ L'HOTE DEFINITIF

La détermination de la prévalence du parasite chez les hôtes définitifs est essentielle pour estimer le risque potentiel pour l'homme et pour étudier les mécanismes de transmission.

Dans le passé, la recherche directe du parasite à l'autopsie était la seule méthode de détecter *E. multioocularis* chez l'hôte définitif. Elle reste actuellement la méthode de référence. Cependant, durant les dernières années, d'autres approches ont été développées: les techniques sérologiques, la recherche d'antigènes fécaux et la technique de la PCR sur les matières fécales.

1.1.1. Méthodes directes

Le diagnostic parasitologique repose sur la détection du parasite dans le contenu intestinal après autopsie.

La technique de référence reconnue par l'OMS est la méthode de sédimentation et de comptage des parasites sur une portion du tube digestif. Cette technique a été initialement utilisée par Rausch en 1990 et récemment modifiée par Hofer (53). Une technique un peu moins laborieuse par grattage de la muqueuse intestinale durant l'autopsie, est plus largement utilisée dans les études à grande échelle (24). Toutefois, la sensibilité rapportée de cet examen est de 87%, par rapport à la méthode de référence (53) et de 76% par rapport à la détection d'antigènes fécaux (21).

Les méthodes directes sont longues, laborieuses et nécessitent des précautions particulières du fait du risque d'infection pour le manipulateur. Les échantillons doivent être décontaminés au préalable par congélation à -80°C pendant 5 jours.

1.1.2. Détection d'anticorps sériques

Les tests sérologiques ne sont pas adaptés au diagnostic de l'infection à *E. multilocularis* chez l'hôte définitif, du fait de l'absence de corrélation entre la prévalence des anticorps circulants et la présence de vers intestinaux (14).

1.1.3. Détection d'antigènes fécaux

Plusieurs groupes ont décrit des méthodes ELISA pour détecter les antigènes fécaux éliminés par *E. multilocularis* chez les carnivores. Un kit est actuellement commercialisé : Chekit® Echinotest (Dr Bommeli AG, Liebefeld-Bern, Switzerland) détectant à la fois les antigènes *E. multilocularis* et *E. granulosus* (17). Des études ont montré la corrélation entre la détection d'antigènes fécaux et la présence de l'infection intestinale par *E. multilocularis* chez le renard (15). Malgré une tendance à des valeurs élevées d'absorbance chez les animaux fortement infestés, cette méthode ne permet cependant pas de quantifier la charge parasitaire des animaux.

1.1.3.1. Cinétique des antigènes

Les antigènes fécaux sont détectables durant la période latente et patente de l'infection chez l'hôte définitif et disparaissent 2 à 5 jours après l'élimination du parasite. Détectés 6-17 jours post-infection chez les renards, les chiens et 11 jours chez les chats, ils restent stables pendant au moins 5 jours dans des fécès stockés à température ambiante et peuvent être fixés puis stockés pendant des semaines (15). La détection des antigènes fécaux est ainsi possible sur fécès fraîchement émis ou collectés dans l'environnement.

1.1.3.2. Sensibilité et spécificité

Une sensibilité de 84 % a été rapportée pour une méthode ELISA réalisée chez 55 renards infectés (15). En comparaison, un examen coprologique chez les mêmes animaux a montré une sensibilité de 44 %. Une spécificité relative aux autres parasitoses a été déterminée à 99 % dans une population de 658 chiens et 262 chats. Cependant des réactions croisées ont été observées dans 16% des cas, sur une population de 32 chiens infectés par *E. granulosus* (15).

1.1.4. Détection d'ADN parasitaire dans les fécès

L'examen microscopique des fécès est limité par son manque de sensibilité et de spécificité entre les différentes espèces de Tænidés, leurs œufs étant morphologiques identiques. Des méthodes de PCR ont été développées afin d'identifier spécifiquement les œufs d'*E. multilocularis* mais aussi des fragments tissulaires parasites éliminés dans les fécès avec une spécificité d'espèce et une haute sensibilité. Aucun kit commercialisé n'est disponible actuellement. Différentes méthodes d'extraction d'ADN ainsi que différentes réactions de PCR ont été utilisées.

1.1.4.1. Extraction d'ADN

Des méthodes d'extraction d'ADN à partir des fécès sont :

- soit basées sur des étapes de lyse alcaline (10, 21)
- soit sur le chauffage à 100°C dans 0,5% de Sodium Dodecyl Sulfate et la digestion par la protéinase K (106).

Du à la présence de substances inhibitrices dans les fécès, seule une petite quantité d'échantillon peut être analysée (0,5 - 4 g) et une purification intensive de l'ADN est indispensable (extraction phénol/chloroforme et utilisation de matrices absorbantes). Des effets inhibiteurs très forts peuvent exister malgré les purifications (21).

L'introduction d'une étape de purification supplémentaire de l'ADN a permis d'augmenter la sensibilité jusqu'à 82% (77).

Une autre approche consiste à introduire une étape initiale de concentration des œufs d'helminthes par la technique de flottaison utilisant une solution de chlorure de Zinc. Mathis a développé une PCR basée sur l'extraction de l'ADN à partir d'œufs. Cette approche présente un protocole d'extraction simplifié (74).

1.1.4.2. Réaction de PCR et gènes cible

Deux gènes différents ont été utilisés comme cible dans la détection d'ADN *E. multilocularis* dans les fécès d'hôte définitif :

- le gène U1 snRNA

Le protocole initial de PCR de Bretagne (10) a été transformé en PCR nichée par Monnier (77). Celle-ci présente une sensibilité de 82% et une spécificité de 96%.

- le gène mitochondrial 12S rRNA

La PCR nichée utilisant ce gène cible présente une sensibilité de 89% et une spécificité de 100% (21). La sensibilité est cependant dépendant de la charge parasitaire : elle n'est plus que de 70% lorsque la charge parasitaire est inférieure à 10.

Tableau III : Caractéristiques des principaux tests de détection du parasite *E. multilocularis* chez l'hôte définitif

| Test | Caractéristiques | Sensibilité | Spécificité | Réf. |
|--|--|---------------------|-------------|-------|
| Technique de sédimentation et de comptage | Méthode de référence - quantification précise - application à l'autopsie - test laborieux, non applicable en routine : long et nécessitant des précautions particulières | 100% | 100% | (53) |
| Technique de grattage de l'intestin | Test parasitologique de routine à l'autopsie - semi-quantitatif - application à l'autopsie - spécificité multiple pour les helminthes intestinaux | 78% ^a | 100% | (53) |
| | | 76% ^b | | (21) |
| Détection d'antigènes fécaux par ELISA | Test de routine pour le dépistage de masse - diagnostic in vivo et post- mortem - utilisable sur des fécès collectés dans l'environnement | 84% ^a | 99% | (15) |
| | | 87% ^a | 70% | (95) |
| | | 60-80% ^a | 80-95% | (16) |
| Microscopie combinée à la PCR (gène cible : U1snRNA) | Test de confirmation pour l'identification d'œufs d'<i>E. multilocularis</i> ou dans les cas positifs en ELISA - diagnostic in vivo et post-mortem - spécificité multiple pour les œufs d'helminthes (microscopie) - détection uniquement d'œufs d' <i>E. multilocularis</i> par PCR | 94% ^a | 100% | (74) |
| PCR (gène cible : U1snRNA) | Méthode alternative à l'autopsie - détection d'œufs et de tissus parasitaires dans les fécès - diagnostic in vivo et post-mortem - utilisable sur des fécès collectés dans l'environnement | 82% ^a | 96% | (77) |
| | | 89% ^c | 100% | (21) |
| PCR (gène cible : 12S rRNA) | | Non évaluée | 100% | (106) |

^a sensibilité calculée en comparaison de la méthode de référence

^b sensibilité calculée en comparaison de la détection des antigènes fécaux

^c sensibilité calculée en comparaison de la technique de grattage de l'intestin

1.1.5. Approche diagnostique actuelle

La détection d'antigènes fécaux par ELISA est une méthode simple, peu coûteuse avec une grande sensibilité et spécificité. Elle remplace l'autopsie dans les études épidémiologiques de grande échelle chez l'hôte définitif (87). Dans les populations animales avec une faible prévalence d'*E. multilocularis* comme les chiens et les chats, la méthode ELISA a une très forte valeur prédictive négative mais une faible valeur prédictive positive. Par conséquent les résultats positifs en ELISA devront être confirmés par PCR.

La PCR peut être réalisée sur des fécès présentant une méthode ELISA positive ou dans lesquels des œufs de Taenidés ont été observés après concentration. Cette stratégie a été utilisée avec succès chez le renard, le chien et le chat (15, 44, 106).

Ces deux techniques permettent le diagnostic aussi bien chez l'animal vivant qu'en post-mortem. De plus, elles peuvent aussi être utilisées pour analyser les fécès collectés dans l'environnement mais aussi pour rechercher une contamination du sol, des herbages ou de l'eau par les œufs d'*E. multilocularis*. Cela facilite de nouvelles approches pour investiguer la dynamique de transmission du parasite.

1.2. DETECTION CHEZ L'HOTE INTERMEDIAIRE

La prévalence du parasite chez les hôtes intermédiaires a été investiguée dans des études récentes afin d'étudier la transmission temporelle et spatiale du parasite (100) ou de déterminer les effets d'un traitement à long terme des renards (51). Le diagnostic d'infection à *E. multilocularis* chez les hôtes intermédiaires autopsiés est basé sur un examen macroscopique et histologique (coloration à l'hématoxyline et au P.A.S) qui montre des structures caractéristiques comme les protoscolex. Cependant des lésions hépatiques, très petites, atypiques ou calcifiées ne sont pas détectées par ces méthodes. La méthode de choix pour identifier de telles lésions est la PCR (14).

2. DIAGNOSTIC DE L'ECHINOCOCCOSE ALVEOLAIRE HUMAINE

Chez l'homme, le diagnostic est généralement basé sur les données épidémiologiques, cliniques ainsi que sur les résultats d'imagerie et des tests sérologiques.

2.1. EXAMENS BIOLOGIQUES NON SPECIFIQUES (5), (6)

2.1.1. Hémogramme

Une élévation modérée des éosinophiles sanguins (> 7%) n'est observée que dans 10% des cas d'échinococcose alvéolaire. Il peut exister une anémie modérée de type inflammatoire et une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles en cas de surinfection bactérienne

2.1.2. Dosage des immunoglobulines

Dans 80% des cas, il existe une hyper-gammaglobulinémie supérieure à 20, voire 30 g/l. Dans la plupart des cas, il s'agit d'une augmentation polyclonale des IgG, IgA et IgM. Par contre les IgE ne sont augmentés que dans la moitié des cas.

2.1.3. Vitesse de sédimentation et protéine C réactive

La vitesse de sédimentation est souvent très augmentée. Un taux élevé de protéine C réactive n'est observé que chez les patients souffrant d'une surinfection bactérienne.

2.1.4. Marqueurs hépatiques

La cholestase est présente dans la plupart des cas, qu'il existe ou non un ictère : les phosphatases alcalines sont augmentées jusqu'à 6 fois la normale et la gamma glutamyl transpeptidase, souvent 20 fois supérieure à la normale.

D'autres anomalies biologiques sont proportionnelles à l'état d'évolution de la maladie :

- les taux de bilirubine totale et conjuguée dépendent de l'intensité de l'ictère.
- les transaminases sériques restent normales. Elles sont modérément augmentées jusqu'à 2 à 3 fois, que s'il existe un processus nécrotique hépatique.

2.2. EXAMENS D'IMAGERIE (90, 82)

Les examens d'imagerie contribuent au dépistage, au diagnostic et servent à préciser les indications opératoires en établissant de manière précise la topographie des lésions. La radiographie, l'ultrasonographie, la tomodensitométrie et la résonance magnétique sont utilisées.

2.2.1. Radiologie conventionnelle

La radiographie de l'abdomen sans préparation n'est pas un examen effectué systématiquement. Sa réalisation pour tout autre motif peut cependant être à l'origine du diagnostic, au stade asymptotique. Des calcifications hépatiques dispersées en « mie de pain », punctiformes ou en flammèches, ou appartenant à des structures nodulaires peuvent être observées.

La radiographie pulmonaire peut mettre en évidence une surélévation de la coupole diaphragmatique droite, correspondant à une hépatomégalie, un épanchement pleural par dissémination de contiguïté.

2.2.2. Echographie abdominale

C'est actuellement l'examen le plus utile tant sur le plan dépistage que diagnostic. La sémiologie échographique est polymorphe et reflète la complexité des lésions. L'aspect des lésions est le plus souvent celui d'une masse hépatique à contours irréguliers, mal définis, en « carte de géographie ». Cette masse est hétérogène associant des zones hyperéchogènes dues à la fibrose ou aux calcifications, et des zones hypoéchogènes dues au processus de nécrose. On peut parfois visualiser des zones nécrotiques pseudokystiques et observer l'envahissement du hile ainsi que la dilatation des canaux biliaires intrahépatiques.

Sa simplicité, son faible coût, sa bonne sensibilité en font une méthode utilisée dans les dépistages systématiques en zone d'endémie, dans le diagnostic et la surveillance mais également pour localiser les lésions et leurs extensions aux voies biliaires, aux structures vasculaires et extra-hépatiques proches. Elle ne permet cependant pas une délimitation précise des lésions.

2.2.3. Tomodensitométrie abdominale (T.D.M)

Le scanner est essentiel pour explorer plus précisément les lésions et suivre l'évolution de la maladie. Il permet de déterminer le nombre, la taille et les limites du ou des

lésions, ainsi que l'extension aux structures voisines. De plus, cet examen peut mettre en évidence des micro-calcifications hépatiques non décelées à l'échographie.

L'aspect typique est celui d'une masse hépatique, souvent unique, globalement hypodense par rapport au parenchyme normal avant injection de produit de contraste, de contenu hétérogène, ne se rehaussant pas du tout ou que très faiblement, après injection, ce qui témoigne de l'absence de vascularisation de la masse lésionnelle.

2.2.4. Imagerie par résonance magnétique (I.R.M)

L'imagerie par résonance magnétique est surtout utile pour analyser les contenus des foyers parasitaires. Elle apparaît comme un examen complémentaire du scanner. Les multiples vésicules parasitaires, infracentimétriques peuvent être visualisées : l'image en « rayon de miel » est caractéristique de l'affection et peut permettre d'identifier les formes débutantes. Cet examen permet aussi d'apprécier les envahissements vasculaires et l'extension de contiguïté. Par contre, les calcifications peuvent passer inaperçues par cette technique.

2.2.5. Techniques avec opacifications des voies biliaires, vasculaires

La cholangiographie rétrograde par voie endoscopique ou percutanée, est pratiquée en pré- ou per-opératoire. Elle étudie les voies biliaires, apprécie une sténose, une compression ou une dilatation et cherche un retentissement sur le reste de la structure hépato-biliaire.

L'artériographie est rarement pratiquée sauf avant une intervention chirurgicale pour renseigner sur la relation entre les foyers parasitaires avec la vascularisation porto-cave et sus-hépatique.

2.2.6. Bilan d'extension

Le bilan d'extension extrahépatique de contiguïté est réalisé essentiellement au scanner et à l'IRM. L'exploration de l'extension vasculaire fait appel à l'échographie couplée au Doppler pulsé et couleur qui permet de mettre en évidence une sténose de la veine porte ou de la veine cave supérieure et des veines sus-hépatiques.

Enfin, le bilan radiologique comporte la recherche de localisations secondaires en particulier pulmonaires et cérébrales. L'étude d'autres sites secondaires potentiels est guidée par les manifestations cliniques.

2.2.7. Classification OMS des échinococcoses alvéolaires humaines

Un système de classification des échinococcoses alvéolaires humaines, désigné par le système PNM a été recommandé par l'OMS (Tableau IV) .

Tableau IV: Système PNM de classification des échinococcoses alvéolaires humaines, recommandé par l'OMS (82)

| | |
|--|---|
| P = localisation primaire du parasite | |
| PX | Lésion primaire indéterminée |
| P0 | Non détectable dans le foie |
| P1 | Lésions périphériques sans envahissement proximal vasculaire et/ou biliaire |
| P2 | Lésions centrales avec envahissement proximal vasculaire et/ou biliaire d'un lobe |
| P3 | Lésions centrales avec envahissement proximal vasculaire et biliaire des deux lobes et/ou avec envahissement des deux veines hépatiques |
| P4 | Toute lésion hépatique avec extension à l'arbre vasculaire et biliaire |
| N= envahissement des organes voisins | |
| (diaphragme, poumon, plèvre, péricarde, cœur, paroi gastrique et duodénale, péritoine, rétropéritoine, pancréas, rein, nodules régionaux lymphoïdes, ligaments hépatiques) | |
| NX | Non évaluable |
| N1 | Pas d'envahissement régional |
| N2 | Envahissement régional des organes ou tissus contigus |
| M= métastases | |
| (poumon, nodules lymphoïdes, rate, système nerveux central, os, peau, muscle, péritoine et rétropéritoine) | |
| MX | Non évaluable |
| M0 | Pas de métastase |
| M1 | Métastase |

2.3. TESTS SEROLOGIQUES

Les tests sérologiques sont utilisés comme tests en diagnostic ou en confirmation des résultats de l'imagerie. Seuls ou associés à l'échographie, ces tests peuvent aussi être utilisés dans le dépistage dans des populations en zone d'endémie. Plusieurs techniques, qualitatives et quantitatives, sont disponibles, mais leur sensibilité et leur spécificité sont conditionnées par la qualité de l'antigène.

2.3.1. Source d'antigènes

La recherche d'anticorps circulants anti- *E. multilocularis* peut être effectuée par des techniques utilisant des antigènes bruts d'*E. multilocularis* mais aussi d' *E. granulosus*, étant donné d'importantes parentés antigéniques entre les deux espèces.

- Le liquide hydatique (HCF) ponctionné de kystes fertiles d'animaux infectés est utilisé en routine pour préparer les antigènes hétérologues.
- Les antigènes homologues sont facilement obtenus à partir de souches parasitaires entretenues au laboratoire, ou conservées dans des banques parasitaires dans l'azote liquide ou même en culture. Les antigènes bruts d'*E. multilocularis* s'opposent aux antigènes spécifiques. Un certain nombre d'antigènes candidats ont été produits : fraction antigénique hautement purifiée, antigène recombinant, peptide synthétique.

2.3.2. Immunofluorescence indirecte

Cette technique utilise des antigènes figurés, provenant de coupes de foie d'animaux parasités par *E. granulosus* ou *E. multilocularis*. Les fragments de foie sont soit récupérés des abattoirs, soit prélevés sur des animaux expérimentalement infectés. Une autre alternative consiste à réaliser des coupes de cœurs de souris après congélation et inclusion en son centre d'un culot de centrifugation de liquide hydatique. La formation du complexe antigène-anticorps est révélée par ajout d'une anti-globuline humaine marquée à la fluorescéine puis lecture au microscope à ultra-violets.

Le test est quantitatif, de bonne sensibilité mais de spécificité médiocre. Il ne permet pas de différencier une échinococcose alvéolaire d'une hydatidose. Il peut être utilisé comme test diagnostique de première intention. Des études ont rapporté que l'emploi d'antigène homologue n'améliorait pas la sensibilité de l'immunofluorescence dans le diagnostic d'échinococcose alvéolaire (71).

2.3.3. Immunoélectrophorèse, électrosynérèse

Ces techniques utilisent des antigènes solubles bruts hétérologues (*E. granulosus*). La présence de complexe antigène-anticorps se traduit par l'existence d'arcs de précipitations. De nombreux arcs sont communs aux deux espèces d'*Echinococcus*, en raison de leurs fractions antigéniques communes. L'arc 5, d'abord considéré comme strictement spécifique d'*E. granulosus*, a été retrouvé avec d'autres helminthiases : il est présent dans 42-58% des cas d'échinococcose alvéolaire (86).

La technique d'immunoélectrophorèse est qualitative, longue (4 jours), et nécessite de grande quantité de sérums ainsi que d'antigènes. L'électrosynérèse conduit à des résultats sensiblement identiques à ceux de l'immunoélectrophorèse mais elle présente l'avantage d'être plus rapide (3-5 heures).

2.3.4. Hémagglutination indirecte

Des antigènes solubles bruts mais aussi des antigènes spécifiques peuvent être utilisés. Plusieurs kits utilisant des antigènes bruts *E. granulosus* sont commercialisés. La formation du complexe antigène-anticorps est mise en évidence par l'hémagglutination des globules rouges de moutons sensibilisés par l'antigène.

C'est une technique quantitative et rapide. La sensibilité et la spécificité dépendent des antigènes utilisés.

2.3.5. Méthodes immuno-enzymatiques (ELISA)

La qualité de l'immunodiagnostic s'est considérablement accrue avec l'emploi de réactions immuno-enzymatiques. Des efforts majeurs ont été réalisés afin d'améliorer la sensibilité et la spécificité de ces tests.

2.3.5.1. Antigènes bruts d'*E. multilocularis* ou *E. granulosus*

Des méthodes ELISA utilisant des antigènes bruts d'*E. granulosus* (ELISA-HCF) ou d'*E. multilocularis* peuvent être utilisées en première intention dans le diagnostic de l'échinococcose alvéolaire, de part leur grande sensibilité respective de 97% et 96% (86). Leur spécificité est cependant médiocre. Ces tests ne permettent pas le diagnostic différentiel des échinococcoses et peuvent présenter des réactions croisées avec d'autres parasitoses : cysticercose, fasciolose, schistosomiase, onchocercose, anguillulose et ascaridiose (86). Leur intérêt réside dans la possibilité d'une utilisation comme test de dépistage global de l'échinococcose.

2.3.5.2. Principaux antigènes d'*E. multilocularis* fractionnés ou recombinants

De nombreux travaux ont été effectués afin d'identifier des antigènes spécifiques d'*E. multilocularis*. Plusieurs antigènes candidats ont été caractérisés indépendamment en Suisse (Em2, II/3-10), en Allemagne (Em10, Em13) et au Japon (Em18). Des protéines recombinantes ont notamment pu être produites et leur application au diagnostic d'échinococcose alvéolaire a été évaluée.

➤ **Em2 et II/3-10**

L'antigène Em2 est un antigène natif spécifique d'espèce, isolé du cestode *E. multilocularis* par Gottstein en 1985 (39). Un anticorps monoclonal MabG11 dirigé contre Em2 a été produit par Deplazes en 1991 (18). Cet antigène immunodominant associé la couche lamellaire d'*E. multilocularis* est une protéine glycosylée de type mycine (56). La sensibilité du test ELISA utilisant Em2 (Em2-ELISA) est de 89% et la spécificité de 94% (41).

L'antigène désigné II/3-10 est un antigène spécifique localisé dans le protoscolex, obtenu par génie génétique (78). Le test ELISA utilisant l'antigène II/3-10 (II/3-10-ELISA) présente une sensibilité de 86% et une spécificité de 93%.

Les deux antigènes Em2 et II/3-10 ont été combinés et utilisés avec succès dans un test ELISA commercialisé actuellement (Em2Plus-ELISA, Bordier Affinity Products, Crissier, Switzerland) qui présente une sensibilité de 97% pour le diagnostic d'échinococcose alvéolaire. Cependant, Em2plus-ELISA présente des réactions croisées avec le kyste hydatique dans 25,8% des cas, ce qui est beaucoup plus fréquent qu'avec Em2 seul (5,6 % des cas) et II/3-10 seul (6,5 % des cas). Les réactions croisées avec d'autres parasitoses sont limitées avec Em2plus (41). Il est utilisé dans le diagnostic de l'échinococcose alvéolaire et dans le dépistage de masse.

➤ **Em10**

L'antigène II/3-10 a également été cloné par une autre équipe et nommé Em10 (31). La technique ELISA utilisant l'antigène Em10 (Em10-ELISA) présente une sensibilité de 93% et une spécificité de 97% (52). Quelques réactions croisées peuvent être observées, notamment lors de neurocysticercose.

➤ **Em13**

Frosch et coll. ont décrit un deuxième antigène recombinant spécifique d'*E. multilocularis*, appelé Em13 (32). Le test ELISA utilisant Em13 (Em13-ELISA) présente une sensibilité de 82% et une spécificité de 100%. La région codante correspondante a également été détectée dans *E. granulosus* (EG13), cependant la protéine n'est pas exprimée dans le kyste hydatique.

➤ **Em18**

L'antigène Em18 a été obtenu à partir d'extrait de protoscolex d'*E. multilocularis* purifié (59). Em18 est un produit de dégradation de Em10 par action de la cystéine protéinase. Des réactions croisées avec l'hydatidose ont été observées avec les tests ELISA utilisant Em18 (61). L'antigène Em18 a été cloné et un test ELISA utilisant l'antigène Em18 recombinant a été développé. La sensibilité rapportée de ce test est de 87% avec une spécificité de 97% (96). Ce test permet non seulement de différencier l'échinococcose alvéolaire de l'hydatidose mais il semble également distinguer les formes actives et inactives d'échinococcose alvéolaire. La détection des anticorps dirigés contre Em18 peut ainsi s'avérer utile dans le suivi après traitement chirurgical et/ou médicamenteux.

➤ **Phosphatase alcaline**

Un antigène purifié, caractérisé par ses épitopes communs avec la fraction Em2, a été décrit par Sarciron (98). C'est une phosphatase alcaline d'*E. multilocularis*, appelée EmAP. Le test ELISA utilisant EmAP (EmAP-ELISA) possède des caractéristiques remarquables avec une spécificité et une sensibilité avoisinant les 100% (97). Cet antigène a le potentiel pour une utilisation en diagnostic de routine de l'échinococcose alvéolaire mais aussi dans la surveillance sérologique des patients traités (69).

2.3.5.3. Sous-classe d'IgG

Les tests sérologiques de routine dans le diagnostic de l'échinococcose sont basés sur la détection des IgG totaux. Des travaux ont étudié l'intérêt de détecter des sous-classes d'IgG. IgG1 et IgG4 semblent jouer un rôle important dans le diagnostic d'échinococcose alvéolaire et d'hydatidose (119). Des travaux ont suggéré un intérêt de la détection des IgG4 dans le suivi sérologique de l'échinococcose alvéolaire en montrant que la réapparition des IgG4 était révélatrice de récurrence de la maladie (118). Grimm et coll. ont rapporté une meilleure spécificité de la détection des IgG4 par HCF-ELISA dans le diagnostic d'échinococcose : 100% versus 51% pour la détection d'IgG totales. Cependant sa sensibilité est médiocre 67% (46). Ce test n'est donc pas adapté pour le dépistage mais il peut être utilisé comme test de confirmation d'échinococcoses avec une haute valeur prédictive positive.

2.3.6. Western Blot

2.3.6.1. Antigène Em18

Un Western Blot utilisant l'antigène Em18 (Em18-Western Blot) a montré son utilité dans le diagnostic d'échinococcose alvéolaire avec une haute sensibilité et spécificité d'espèce. Sa spécificité apparaît comparable à celle d'Em2plus-ELISA (60).

Em18-Western Blot a été utilisé avec succès pour évaluer l'efficacité d'un traitement médicamenteux (73). En effet, ce test semble capable de distinguer les formes actives et inactives d'échinococcose alvéolaire d'où un intérêt dans la surveillance des patients après traitement (58).

2.3.6.2. Antigène natif

Un Western Blot utilisant des larves entières d'*E. multilocularis* comme antigène a été développé et commercialisé (*Echinococcus* WB IgG, LDBIO Diagnostics, Lyon, France) Ce test qualitatif permet de détecter la présence d'IgG anti-*Echinococcus*.

Il est utilisé comme test de confirmation dans le diagnostic d'échinococcose alvéolaire et d'hydatidose. Sa sensibilité est de 97% pour le genre *Echinococcus*, 98% pour l'espèce *E. granulosus* et 96,7% pour *E. multilocularis* avec une spécificité relative à d'autres pathologies parasitaires de 93%. De plus, ce test permet, dans 76% des cas, de faire la distinction entre échinococcose alvéolaire et hydatidose (72).

Tableau V: Sensibilité et spécificité des principaux tests utilisés en immunodiagnostic dans l'échinococcose alvéolaire humaine

| Antigène | Méthode | Sensibilité en % (nombre de cas d'échinococcose alvéolaire testés) | Spécificité relative à hydatidose en % (nombre de cas testés) | Spécificité Relative à d'autres parasitoses en % (nombre de cas testés) | Réf. |
|---|---------------|---|--|--|------|
| Liquide de kyste hydatique | IgG ELISA | 97 (140) | - | 51 (144 ^a) | (41) |
| Liquide de kyste hydatique | IgG4 ELISA | 67 (54) | 62 (56) | 100 (80 ^b) | (46) |
| Antigène brut <i>E. multilocularis</i> | ELISA | 96 (140) | 38 (124) | 97 (144 ^a) | (41) |
| Em2 | ELISA | 89 (140) | 94 (124) | 100 (144 ^a) | (41) |
| EmII/3-10 | ELISA | 86 (140) | 93 (124) | 98 (144 ^a) | (41) |
| Em2plus (mélange d'Em2 et d'EmII/3-10) | ELISA | 97 (140) | 74 (124) | 98 (144 ^a) | (41) |
| Em10 recombinant | ELISA | 93 (742) | 97 (64) | 90 (31 ^c) | (52) |
| Em13 recombinant | ELISA | 82 (28) | 100 (55) | 100 (15 ^d) | (32) |
| Em18/16 | ELISA | 91 (79) | 67 (48) | 100 (35 ^e) | (57) |
| Em18 | ELISA | 91 (44) | 89 (70) | 100 (29 ^f) | (61) |
| Em18 recombinant | ELISA | 87 (31) | 97 (33) | 100 (10 ^f) | (96) |
| Em Phosphatase alcaline purifié | ELISA | 100 (37) | 100 (44) | 100 (34 ^g) | (97) |
| Em18 | Western Blot | 97 (66) | 95 (173) | 100 (71 ^h) | (60) |
| Em18 recombinant | Western Blot | 90 (31) | 97 (33) | 100 (10 ^f) | (96) |
| Glycoprotéines (LDBIO Diagnostics) | Western Blot | 97 (61) | 98 (50) | 93 (109 ⁱ) | (72) |

^a Fascioloses (20), schistosomiasis (17) cysticercoses (20), *Tænia* sp. (17), nématodes (70)

^b Protozoaires (24), trématodes (16), nématodes (32), cysticercoses (8)

^c Cysticercoses (17), filarioses (3), fascioloses (2), amibiases (2), schistosomiasis (4), paragonimoses (3)

^d Helminthioses

^e Cysticercoses (28), sparganoses (2), paragonimoses (5)

^f Cysticercoses

^g Amibiases (5), paludismes (3), schistosomiasis (11), trichinelloses (8), toxocaroses (7)

^h Cysticercoses (23), schistosomiasis (10), paragonimoses (10), clonorchiasis (10), sparganoses (10), fascioloses (4), filarioses (4)

ⁱ Cysticercoses (20), *tænia* (1), schistosomiasis (26), fascioloses (10), filarioses (8), trichinelloses (8), anguilluloses (2), toxocaroses (10), amibiases (10), leishmanioses (4), toxoplasmoses (4), paludisme (6)

2.3.7. Démarche immunodiagnostique

2.3.7.1. Tests de première intention

Deux types de tests peuvent être utilisés :

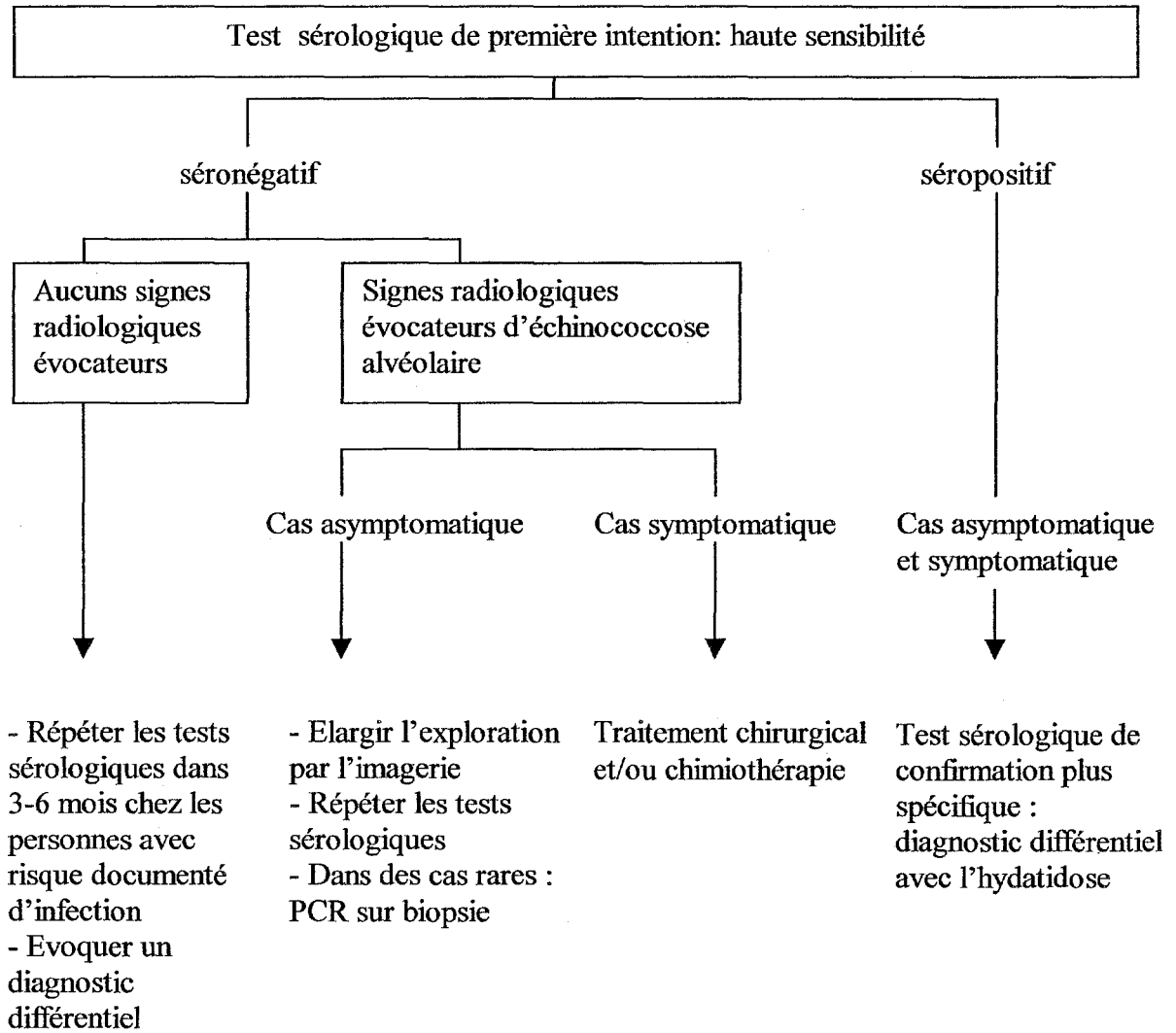
- Les tests utilisant des antigènes bruts d'*E. multilocularis* (ELISA) ou *E. granulosus* (ELISA, Immunofluorescence, hémagglutination...) :
Leur sensibilité est élevée, pouvant même dépasser celle des tests avec antigènes spécifiques, mais leur spécificité est moindre. Des réactions croisées existent avec d'autres parasitoses et notamment avec les cysticercoses.
- Les tests utilisant des antigènes spécifiques purifiés ou recombinants, qui présentent une grande sensibilité (Em2plus-ELISA, Em18-ELISA, Em10-ELISA, EmAP-ELISA) : ce sont les techniques de choix utilisées en première intention. Leur sensibilité est approximativement entre 90-100% et leur spécificité relative aux autres parasitoses est élevée. Des réactions croisées peuvent exister avec l'hydatidose mise à part semblerait-il dans EmAP-ELISA. Le seul test commercialisé Em2plus-ELISA présente une forte spécificité vis à vis d'autres parasitoses (90%) et un peu moindre vis à vis de l'hydatidose (74%).

2.3.7.2. Tests secondaires de confirmation

Des tests avec une haute spécificité sont utilisés secondairement pour confirmer le diagnostic d'échinococcose alvéolaire et exclure les réactions croisées. Des techniques Western Blot sont utilisées dans cette indication : Em18-Western blot ainsi que le kit commercialisé (LDBIO).

L'immunodiagnostic d'échinococcose alvéolaire est généralement hautement sensible et spécifique, en particulier, si plusieurs tests sont utilisés. Mais l'interprétation peut s'avérer délicate dans certains cas. Des formes abortives peuvent s'accompagner d'une sérologie positive et à l'inverse, la sérologie est négative dans 5% des cas d'échinococcose alvéolaire.

Figure 10 : Approche immunodiagnostique de l'échinococcose alvéolaire humaine, selon l'OMS (82)



2.3.7.3. Surveillance sérologique après traitement

Pour évaluer l'efficacité d'un traitement chirurgical et/ou médicamenteux ainsi que la viabilité du parasite, les tests sérologiques ont une valeur limitée.

Quelques antigènes, comme Em18, II/3-10, Em10 ou EmAP semblent distinguer les lésions actives et inactives. ELISA-Em2plus et Em18-Western blot ont été utilisés avec succès pour évaluer l'efficacité d'un traitement médicamenteux (73). Le test EmAP-ELISA présenterait l'avantage de détecter des récurrences en post-opératoires bien avant l'apparition de signes cliniques ou radiologiques. Cet antigène serait dépendant de la viabilité du parasite, contrairement à l'antigène Em2 qui persiste dans l'organisme tant que la disparition du parasite n'est pas complète (97).

Des tests cellulaires spécifiques comme l'évaluation *in vitro* de la réponse lymphoproliférative à la stimulation par un antigène d'*E. multilocularis* peuvent être utilisés dans des études scientifiques. La réponse est forte chez les patients guéris ou ayant subi une excision chirurgicale complète et faible chez ceux qui n'ont subi aucune opération ou une excision chirurgicale incomplète (42).

2.4. ANALYSE DE BIOPSIE OU DE PIECE OPERATOIRE

L'examen d'une biopsie ou de pièce opératoire, en cas d'intervention chirurgicale, permet de poser un diagnostic de certitude en montrant un aspect anatomo-pathologique caractéristique ou en y détectant spécifiquement le parasite par immunohistochimie ou par PCR. La biopsie n'est pratiquée que rarement. Le plus souvent, elle est réalisée à la recherche d'une autre pathologie et le diagnostic d'échinococcose alvéolaire sera une découverte histologique.

2.4.1. Examen histologique

C'est un examen clé du diagnostic. Les colorations à l'Hématoxyline et au P.A.S permettent de mettre en évidence les lésions parasitaires précédemment décrites, et notamment la cuticule P.A.S positive caractéristique. Rappelons qu'en l'absence de lésion caractéristique, l'aspect anatomo-pathologique n'est pas spécifique et peut alors correspondre à une réaction fibro-inflammatoire.

Les prélèvements peuvent être obtenus à partir d'un acte chirurgical ou plus rarement par biopsie à l'aiguille fine, qui contrairement au kyste hydatique est dépourvue de risque de choc anaphylactique. Cependant une dissémination du tissu parasitaire est possible, ce qui pourrait entraîner la formation de localisations secondaires et nécessiter un traitement médicamenteux post-opératoire (120).

2.4.2. Détection d'antigènes parasitaires par immunohistochimie

Dans la majorité des cas, l'examen histologique est suffisant pour mettre en évidence le parasite dans les biopsies. Mais dans certains cas, l'antigène spécifique Em2 peut être détecté par immunohistochimie à l'aide de l'anticorps monoclonal MabG11 (18). Cet antigène persiste dans les lésions calcifiées au sein des fragments de couche lamellaire même après la mort du parasite.

2.4.3. Détection d'ADN parasitaire par PCR

En 1988, Yap et coll. utilisent une méthode Southern Blot pour détecter l'ADN d'*E. multilocularis* dans des biopsies de patients (121). Cette technique utilisant des fragments d'ADN du parasite biotinylisé, obtenus à partir d'ADN total digéré, est trop complexe pour une utilisation en routine. En 1990, Vogel et coll. décrivent une sonde pAL1, dérivée de l'ADN génomique d'*E. multilocularis* et l'utilisent en Southern Blot pour faire le diagnostic d'espèce (110). La séquence de cette sonde va servir à construire les amorces BG1/BG2 utilisés en PCR (43).

Plusieurs réactions PCR utilisant, comme gène cible, U1 snRNA ou le gène mitochondrial 12S rRNA ont été développées et utilisées pour la détection d'ADN d'*E. multilocularis*, principalement dans les fèces d'hôte définitif, comme cela a été décrit précédemment. La PCR peut aussi être utilisée pour identifier le parasite dans les biopsies chez l'homme. Cette technique est reconnue comme un test de confirmation dans le diagnostic d'échinococcose alvéolaire mais son utilisation reste encore limitée à des cas particuliers.

Une technique de RT-PCR, utilisant des amorces dérivées du gène Em10, a été développée par Kern et coll. (64). Elle permet non seulement de détecter le parasite mais aussi de déterminer sa viabilité d'où un intérêt pour évaluer l'efficacité d'un traitement.

Dans le tableau VI figure la séquence des primers des différentes réactions PCR utilisées dans le diagnostic chez l'hôte définitif ou intermédiaire.

Tableau VI: Séquences des primers des réactions PCR utilisées chez l'hôte définitif ou intermédiaire (16)

| Séquence des amorces (5'→3') | Gène-cible | Hôte | Protocole | Réf. |
|---|------------|-----------|---------------|-------|
| BG1 : TCATTCTGGTCACTCATTGTTCCACC BG2 : GCAGTCTATTCTCCTCTCAACTGCC | - | HI | PCR | (43) |
| PF9 : CAAAGACGGCAATCCAA PF18 : CTACATCGACTCAAACCTGTT | Em10 | HI | RT-PCR | (64) |
| GTGAGGCGATGTGTGGTGATGGAGA GAAGGCAAGTGGTCAGGGGCAGTAG | U1 snRNA | HD | PCR | (10) |
| EM-H15 : CCATATTACAACAATATTCCTATC EM-H17 : GTGAGTGATTCTTGTTAGGGGAAG | 12S rRNA | HI | PCR | (100) |
| Amorces extérieures P60.for : TTAAGATATATGTGGTACAGGATTAGATACCC P375.rev : AACCGAGGGTGACGGGCGGTGTGTACC Amorces intérieures Pnest.for : ACAATACCATATTACAACAATATTCCTATC Pnest.rev : ATATTTTGTAAGGTTGTTCTA | 12S rRNA | HD, HI | PCR nichée | (21) |
| Amorces extérieures Em-1 : AAGATATATGTGGTACAGGATTAGATACCC Em-2 : GGTGACGGGCGGTGTTGTA Amorces intérieures Em-3 : ATATTACAACAATATTCCTATC Em-4 : ATATTTTGTAAGGTTGTTCTA | 12S rRNA | HD | PCR nichée | (106) |

HD, hôte définitif ; HI, hôte intermédiaire

2.5. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

Le diagnostic différentiel est toujours le cancer primitif du foie. Les maladies suivantes peuvent également donner une image clinique similaire : tumeur hépatique secondaire, hydatidose à *E. granulosus*, cirrhose du foie, abcès hépatique (*Entamoeba histolytica*), cholecystite avec lithiase, tumeur du pancréas et tuberculose hépatique.

MATERIELS ET METHODES

Pour le diagnostic biologique des deux cas étudiés, une démarche basée sur différents tests sérologiques a été utilisée : deux tests de dépistage (ELISA-HCF et ELISA Em2plus) et un test de confirmation (Western Blot commercialisé par LDBIO). Deux réactions PCR détectant *E. multilocularis* et *E. granulosus* ont été réalisées sur des biopsies et divers échantillons biologiques.

1. DETECTION DES ANTICORPS SPECIFIQUES PAR ELISA

1.1. ELISA « maison » utilisant un antigène brut d'*E. granulosus* (ELISA-HCF)

- Préparation des antigènes solubles de kyste hydatique

Les antigènes sont préparés à partir de liquides de kystes hydatiques ovins fournis par le laboratoire de parasitologie de Monastir (Tunisie). Après avoir éliminé les membranes visibles à l'œil nu, puis concentré les scolex par sédimentation, le liquide a été centrifugé à 1000 tours par minute pendant 5 minutes. Le surnageant a ensuite été mis en dialyse contre de l'eau distillée à +4°C pendant 2 jours en renouvelant l'eau 2 fois par jour. Un liquide opalescent a ainsi été obtenu en raison de la précipitation des protéines. Ce liquide constituant l'antigène brut a été lyophilisé et la concentration en protéine a été déterminée par la méthode de Bradford. Pour son emploi, le lyophilisat est dilué à la concentration appropriée dans du tampon carbonate-bicarbonate (Sigma, Isle d'Abeau, France), à savoir : 5 µg de protéines par ml.

- Sensibilisation des plaques

Des plaques de 96 puits ont été sensibilisées en déposant 150 µl de solution antigénique par puits. Après incubation d'une nuit à +4°C, les plaques sont lavées avec du tampon PBS (Sigma) avec 0,05% de Tween 20 (Sigma). Afin de saturer les sites non spécifiques, 200 µl de tampon « Bovine Serum Albumine » (BSA) (Merck) à 1% ont été déposés par puits puis incubés 1h à 37°C et lavés avec du tampon PBS-Tween. Afin de stabiliser les antigènes fixés, 300 µl de tampon sucrose à 5% ont été incubés 30 minutes à 37°C. Les puits ont ensuite été vidés et séchés. Les plaques ainsi préparées peuvent être stockées 3 mois à -20°C. Chaque nouveau lot de plaque a été testé avec les sérums témoins en parallèle avec celles en cours d'utilisation.

▪ Principe de la technique

Une technique immuno-enzymatique indirecte de type sandwich (ELISA) utilisant les plaques sensibilisées avec les antigènes solubles de kyste hydatique a été utilisée. La présence d'IgG spécifiques dans le sérum est détectée par la formation de complexes antigènes-anticorps révélée par un anticorps anti-IgG humaine marqué par une peroxydase. L'ajout d'un substrat chromogène entraîne une réaction colorée dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans le sérum.

▪ Mode opératoire

Les contrôles positifs et négatifs ont été préparés en poolant des sérums de patients qui présentent une DO respective d'environ 0,20 et 0,80. Les contrôles ont été inclus dans chaque série et testés en triple. Les contrôles et sérums ont été dilués au préalable au 1/200^{ème} dans du tampon PBS (BioMérieux). 100 µl de tampon PBS ont été déposés dans un puits afin de réaliser le blanc puis 100 µl de chaque contrôle et de chaque sérum dans les puits suivants. La plaque a été incubée pendant 60 minutes à 37°C puis lavée 3 fois avec une solution de lavage : tampon PBS-Tween 20. Le conjugué utilisé est un anticorps anti-immunoglobuline G marqué par une peroxydase fourni par Sigma. Il a été dilué au 1/80000^{ème} (lot 112K4815) puis 100 µl ont été déposés dans chaque puits. La dilution du conjugué est à ajuster à chaque lot. Après une incubation de 60 minutes à 37°C, la plaque a été lavée 3 fois avec la solution de lavage puis 100 µl de substrat chromogène tetramethylbenzidine (MBI Fermentas, Souffelweyersheim, France) ont été ajoutés. Après 20 minutes d'incubation à 37°C à l'abri de la lumière, la réaction enzymatique a été stoppée en ajoutant 50 µl de solution d'arrêt : H₂SO₄ à 0,2 M (Merck). Les absorbances ont été mesurées à 450 nm utilisant un lecteur de plaque automatisé (Elx808, Bio-Tek Instruments) et le logiciel KC4 (Bio-Tek Instruments).

▪ Interprétation des résultats

La densité optique du blanc a été soustraite à toutes les autres valeurs mesurées. Un index a été calculé pour chaque sérum testé en divisant la densité optique du sérum par la moyenne de densité optique du contrôle négatif multipliée par 2.

- Si l'index est inférieur à 1 : la sérologie a été considérée comme négative.
- Si l'index est supérieur ou égal à 1,5 : la sérologie a été considérée comme positive.
- Si l'index est compris entre 1 et 1.49 : les valeurs sont dans la zone grise.

1.2. ELISA Em2plus (Bordier Affinity Products, Crissier, Switzerland)

▪ Principe

Le coffret ELISA Em2plus est constitué de microplaques de 96 puits en plastique sensibilisés avec des antigènes spécifiques d'*E. multilocularis* : la fraction antigénique purifiée Em2 et l'antigène recombinant II/3-10. La présence d'IgG spécifique anti- *E. multilocularis* dans le sérum est détectée par la formation de complexes antigènes-anticorps révélée par un anticorps anti-immunoglobuline G humaine marqué par la phosphatase alcaline. L'ajout d'un substrat chromogène entraîne une réaction colorée dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans le sérum. Les puits sensibilisés sont fournis en barrette sécable permettant l'analyse de petite série d'échantillon.

▪ Mode opératoire

Les puits ont été remplis de diluant PBS-Tween, incubés pendant 15 minutes à température ambiante puis vidés. Les sérums à tester ont été préalablement dilués au 1/201^{ème} et les contrôles (négatif, faiblement positif et positif), qui sont inclus dans chaque série, ont été dilués au 1/20^{ème}. 100µl de diluant ont été déposés dans un puits afin de réaliser le blanc puis 100 µl de chaque contrôle et de chaque sérum dans les puits suivants. La plaque a été incubée pendant 30 minutes à 37°C puis lavée 4 fois avec une solution de lavage fournie par le fabricant. Le conjugué a été dilué au 1/51^{ème} puis 100 µl ont été déposés dans chaque puits. Après une incubation de 30 minutes à 37°C, la plaque a été lavée 4 fois avec la solution de lavage puis 100 µl de substrat chromogène reconstitué ont été ajoutés. Après 30 minutes d'incubation à 37°C à l'abri de la lumière, la réaction enzymatique a été stoppée avec la solution d'arrêt fournie. Les absorbances ont été mesurées à 405 nm utilisant un lecteur de plaque automatisé (Elx808, Bio-Tek Instruments) et le logiciel KC4 (Bio-Tek Instruments).

▪ Interprétation des résultats

La densité optique du blanc a été soustraite à toutes les autres valeurs mesurées et un index a été calculé pour chaque sérum testé. La densité optique de chaque sérum a été divisée par la densité optique du contrôle faiblement positif.

- Si l'index est inférieur à 0.80 : la sérologie a été considérée comme négative.
- Si l'index est supérieur ou égal à 1 : la sérologie a été considérée comme positive.
- Si l'index est compris entre 0.08 et 0.99 : les valeurs sont dans la zone grise.

2. DETECTION DES ANTICORPS SPECIFIQUES PAR WESTERN BLOT

▪ Principe

Le kit *Echinococcus* Western Blot IgG (LDBIO Diagnostics, Lyon, France) comprend des bandelettes prédécoupées de nitrocellulose prêtes à l'emploi. Les bandelettes ont été sensibilisées par électro-transfert d'antigènes larvaires d' *E. multilocularis* séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

▪ Mode opératoire

Un contrôle positif et un contrôle négatif ont été inclus dans chaque série de test. Le contrôle positif, fourni avec le kit, a été préparé à partir d'un pool de sérums humains positif en sérologie *E. multilocularis*. Après réhydratation des bandelettes dans le diluant pendant 5 minutes, 50 µl d'échantillons et de contrôle ont été déposés par puits. Après 90 minutes d'incubation à température ambiante, sur un agitateur oscillant, le contenu des puits a été aspiré à l'aide d'une pompe aspirante et 2 à 3 ml de tampon de lavage ont été ajoutés. Le lavage des puits a été répété 3 fois en respectant à chaque fois une incubation de 3 à 5 minutes avec le tampon de lavage. 1,2 ml de conjugué anti-IgG humaines marqué à la phosphatase alcaline, prêt à l'emploi, ont ensuite été déposés dans les puits. Après une incubation de 60 minutes à température ambiante sur un agitateur oscillant, les puits sont lavés 4 fois comme décrit précédemment puis 1,2 ml de substrat NBT/BCIP ont été ajoutés dans chaque puits. Après une incubation entre 20 à 60 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière, la réaction est arrêtée par aspiration du substrat avec la pompe et ajout de 2 ml d'eau distillée. L'arrêt est décidé lorsque les bandes sont bien contrastées par rapport à la couleur de fond de la bandelette. Après un dernier lavage à l'eau distillée, les bandelettes sont séchées à l'air.

▪ Interprétation des résultats

L'utilisation du contrôle positif permet non seulement de valider techniquement la manipulation mais fournit également une bandelette témoin qui indique très précisément la position des bandes spécifiques à chacune des échinococcoses. La zone de lecture se situe entre 7 et 26-28 kDa. La bande 26-28 kDa est appelée ainsi car elle peut se présenter sous différents aspects : simple bande fine (à 26 ou 28 kDa), double bande (26 et 28 kDa) ou large bande couvrant la zone de 26 à 28 kDa.

- La présence des bandes 7 et/ou 26-28 kDa permet de faire le diagnostic du genre *Echinococcus*.

- Les bandes intermédiaires, situées entre 7 et 26-28 kDa sont utilisées pour le diagnostic d'espèce, *granulosus* ou *multilocularis* :

- Bandes fines en 16, 17, 18, 20 kDa uniquement retrouvées avec *E. multilocularis*
- Bande très large entre 16 et 18 kDa (ombre diffuse) retrouvée uniquement avec *E. granulosus*
- Bandes communes aux deux espèces : 7, 12, 15, 24, 26-28 kDa

Différents profils peuvent être retrouvés :

Les profils P1, P2, P3 permettent le diagnostic d'espèce

P1 = *E. granulosus* : uniquement bande 7 kDa

P2 = *E. granulosus* : bande 7 kDa + bande large et diffuse 16-18kDa (avec très souvent également 1 bande 26-28 kDa)

P3 = *E. multilocularis* : bande 26-28 kDa + les bandes fines 16 et/ou 18 kDa (avec très souvent également les autres bandes 7, 12, 15, 17, 20 kDa)

Les profils P4 et P5 ne permettent pas de différencier les 2 espèces *E. granulosus* et *E. multilocularis*.

P4 : uniquement bande 26-28 kDa isolée sans bandes intermédiaires

P5 : association bandes 7 + 26-28 kDa sans bandes intermédiaires

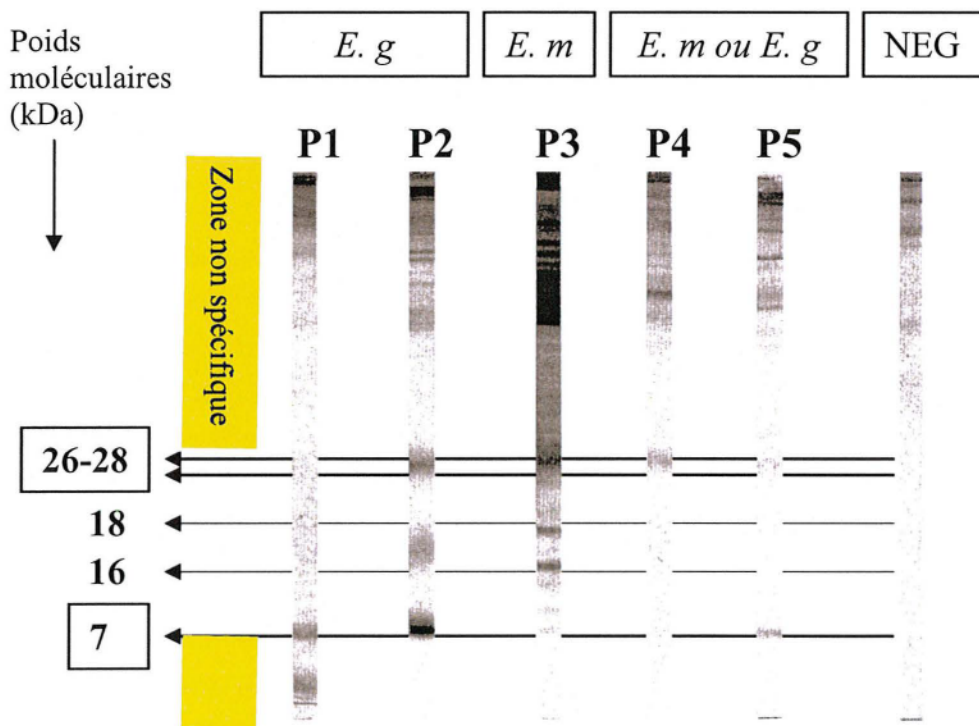


Figure 11: Exemples de profils obtenus avec *Echinococcus* Western Blot IgG (LDBIO, Diagnostics)

3. EXAMEN ANATOMO-PATHOLOGIQUE

Les biopsies ont été traitées au laboratoire d'anatomie pathologique de l'hôpital de Hautepierre, Strasbourg. Les prélèvements osseux ont été fixés au formol 24 heures, décalcifiés dans une solution diluée d'acide nitrique pendant 4 heures puis rincés à l'eau courante. Les biopsies ont ensuite été traitées dans un appareil à inclusion (Tissue-Tek® Vacuum Infiltration Processor, Sakura) et incluses dans la paraffine. Enfin des coupes réalisées au microtome sont étalées sur des lames. La coloration des lames à l'hématoxyline-éosine (réactif Surgipath hematoxyline) permet d'identifier facilement les différentes structures des organes. Une coloration au P.A.S (réactif de Schiff, Merck) a également été réalisée.

4. DETECTION D'ADN PAR PCR

4.1. EXTRACTION D'ADN

- **Prétraitement**

Après centrifugation des échantillons à 20 000 x g pendant 3 minutes, les culots sont remis en suspension dans 190 µl du tampon Tris-EDTA (10 :1).

- **Principe de l'extraction**

L'ADN est ensuite extrait avec le kit commercial QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN S.A., Courtabouef, France). L'extraction a été réalisée sur des colonnes contenant une membrane à gel de silice. L'ADN est d'abord adsorbé sur la membrane de la colonne qui est ensuite lavée pour éliminer les résidus de contaminants. L'ADN est récupéré par élution. La composition des différents réactifs n'est pas communiquée par le fabricant.

- **Mode opératoire de l'extraction**

Dans un tube eppendorf® 1,5ml, 200µl d'échantillon ont été incubés à 56°C pendant 10 minutes en présence de 20µl de protéinase K, qui dégrade les protéines, et de 200µl de tampon AL, qui lyse les cellules. Puis 200µl d'éthanol pur (96-100%) ont été ajoutés, afin de précipiter l'ADN. Ce mélange a été déposé sur une colonne placée sur un tube collecteur de 2 ml. Après centrifugation à 6000 x g pendant 1 minute, le filtrat a été jeté. La colonne, sur laquelle l'ADN est fixé, a été ensuite lavée successivement avec deux tampons AW1 et AW2

par ajout de 500 µl de tampon dans la colonne, centrifugation à 6000 x g pendant 1 minute et élimination du filtrat. Enfin, l'ADN a été élué avec 200µl de tampon AE.

4.2. REACTIONS D'AMPLIFICATION PCR

4.2.1. PCR *E. multilocularis*

Le mode opératoire a été adapté de Stieger et coll. (100).

▪ Amorces

La détection du parasite est basée sur l'amplification du gène de l'ARN ribosomal 12S de *E. multilocularis*. La séquence des amorces est :

- EM-H15 : 5'-CCATATTACAACAATATTCCTATC-3'

- EM-H17 : 5'-GTGAGTGATTCTTGTTAGGGGAAG-3'

La taille du fragment amplifié est de 200 paires de bases.

▪ Réaction d'amplification

La réaction d'amplification a été réalisée dans un volume de 50 µl en utilisant la HotStar[®] Taq polymérase (QIAGEN S.A., Courtaboeuf, France). Cette enzyme est inactive à température ambiante et nécessite une étape d'incubation de 15 minutes à 95°C pour être activée.

Le milieu réactionnel de l'amplification était composé de :

- 10 µl d'échantillon
- 5 µl de tampon d'amplification 10X (1,5 mM MgCl₂ en concentration finale)
- 1 µl de chaque amorce (1 µM en concentration finale)
- 0,25 µl de HotStar[®] Taq DNA polymérase (1,25 U final)
- 5 µl de chaque dNTP (dATP, dTTP, dCTP, dGTP chacun avec 200 µM en concentration finale)

Les échantillons ont été placés pendant 15 minutes à 94°C afin d'activer l'enzyme et de dénaturer l'ADN. L'amplification a été réalisée sur le thermocycleur Gen Amp[®] PCR System 2400 (Perkin-Elmer, Courtaboeuf, France). Elle comprend 40 cycles comprenant les 3 étapes : la dénaturation (30 secondes à 94°C), l'hybridation (30 secondes à 55°C), l'élongation (30 secondes à 72°C) et se termine par d'une élongation finale à 72°C pendant 5 minutes.

▪ Contrôles

Un témoin négatif (ne contenant pas d'ADN) et un témoin positif ont été testés en parallèle pour chaque réaction de PCR effectuée. Le témoin positif est obtenu à partir d'un échantillon biologique provenant d'un cas d'échinococcose alvéolaire humain avéré.

Un contrôle interne a été développé. Il permet de vérifier l'absence d'inhibiteurs de PCR.

Chaque échantillon a été testé dans un essai séparé pour la recherche d'inhibiteurs : le plasmide a été ajouté au deuxième tube testé. Le plasmide qui contient la séquence cible de taille modifiée et amplifiable par les amorces EM-H15 et EM-H17 a été ajouté au milieu réactionnel afin de détecter la présence d'inhibiteurs de PCR dans les échantillons. L'absence d'amplification du plasmide, correspondant normalement à un fragment amplifié de 371 paires de bases, indiquait la présence d'inhibiteurs et ne permet pas de conclure.

4.2.2. PCR *E. granulosus*

Le mode opératoire a été adapté de Stefanic et coll. (99)

▪ Amorces

La détection du parasite est basée sur l'amplification du gène mitochondrial de l'ARN ribosomal 12S. La séquence des amorces est :

- Eg1f : 5'- CATTAATGTATTTTGTAAGTTG-3'

- Eg1r : 5'- CACATCATCTTACAATAACACC-3'

La taille du fragment amplifié est de 255 paires de bases.

▪ Réaction d'amplification

La réaction d'amplification a été réalisée dans un volume de 50 µl en utilisant la HotStar® Taq polymérase (QIAGEN S.A., Courtaboeuf, France).

Le milieu réactionnel de l'amplification était composé de :

- 10 µl d'échantillon
- 5 µl de tampon d'amplification 10X + 2 µl de MgCl₂ de 25mM (2,5 mM MgCl₂ en concentration finale)
- 0,5 µl de chaque amorce (1 µM en concentration finale)
- 0,25 µl de HotStar® Taq DNA polymérase (1,25 U final)
- 5 µl de chaque dNTP (dATP, dTTP, dCTP, dGTP chacun avec 0,2 mM en concentration finale)

Les échantillons ont été placés pendant 15 minutes à 94°C afin d'activer l'enzyme et de dénaturer l'ADN. L'amplification a été réalisée sur le thermocycleur Gen Amp® PCR System 2400 (Perkin-Elmer, Courtaboeuf, France). Elle comprend 40 cycles comprenant les 3 étapes : la dénaturation (30 secondes à 94°C), l'hybridation (30 secondes à 53°C), l'élongation (30 secondes à 72°C) et se termine par d'une élongation finale à 72°C pendant 5 minutes.

▪ Contrôles

Un témoin négatif (ne contenant pas d'ADN) et un témoin positif ont été testés en parallèle pour chaque réaction de PCR effectuée. Le témoin positif est obtenu à partir d'un liquide de kyste hydatique humain.

4.3. REVELATION

Les amplicons ont été révélés par une électrophorèse en gel d'agarose 2%. 15 µl de produit amplifié ont été mélangé à 5 µl de bleu de charge. La migration s'est effectuée pendant 45 minutes à 130 volts, en tampon Tris Borate EDTA. L'ADN a été révélé par fluorescence aux ultra-violets après passage du gel dans un bain au bromure d'éthidium à une concentration de 2 µg/ml pendant 20 minutes.

Les poids moléculaires des fragments amplifiés ont été déterminés à l'aide d'un marqueur de poids moléculaire (échelle de 100 paires de base).

RESULTATS

Les deux cas, que nous investiguons, concernent des patients atteints d'échinococcose alvéolaire à localisation inhabituelle osseuse sans localisation hépatique patente. Le diagnostic a été porté dans le service des maladies infectieuses des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg en 2003, et ceci, en collaboration avec l'Institut de Parasitologie de Strasbourg.

Habitant en milieu rural, les deux patients sont également originaires d'un même canton en Moselle. Il nous paraît intéressant de confronter les deux observations tant elles présentent des différences en terme de manifestations cliniques, d'évolution de l'infection et des aspects diagnostiques.

1. PATIENT 1

Monsieur GA..., né en 1954, demeurant à Benestroff en Moselle a été hospitalisé dans le service de maladies infectieuses du C.H.U de Strasbourg le 9 Novembre 2002, devant l'aggravation des douleurs dorso-lombaires et persistance d'une fistule cutanée du flanc gauche. Le patient est ambulancier de métier. Il vit en milieu rural dans un petit village en lisière de forêt et n'a jamais voyagé en dehors de l'Europe.

▪ Antécédents

L'histoire de la maladie remonte en 1982 par des lombalgies, puis en 1985, un épisode de coliques néphrétiques avec réalisation d'une échographie abdominale et d'un scanner a mis en évidence une collection rétro-péritonéale du pôle inférieur du rein gauche, qui sera drainé chirurgicalement.

En 1986, une fistule cutanée sur cicatrice opératoire apparaît spontanément au niveau du flanc gauche, nécessitant une reprise chirurgicale. Devant l'aspect anatomo-pathologique montrant une réaction folliculo-caséuse, un traitement antituberculeux par Isoniazide - Rifampicine est débuté pour 6 mois, malgré une recherche de Bacilles de Koch négative.

En 1987, l'évolution est défavorable avec récurrence de la fistule et persistance d'une collection rétro-péritonéale évaluée à 5 cm de diamètre.

En 1988, le patient est hospitalisé en rhumatologie pour douleur vertébrale dorsale intense. La radiographie dorso-lombaire et le scanner abdominal montre de grosses géodes dans le corps vertébral de D12 avec un pincement des disques adjacents. Devant la suspicion d'un mal de Pott, un traitement antituberculeux par Isoniazide -Rifampicine -Ethambutol

pendant 1 an et demi est instauré. Le scanner montre également la présence de petites collections para-rénales gauches s'accompagnant d'une réaction fibreuse séquellaire et d'une atrophie rénale focale. Il existe un volumineux paquet ganglionnaire caséo-nécrotique en situation coelio-mésentérique et retro-pancréatique.

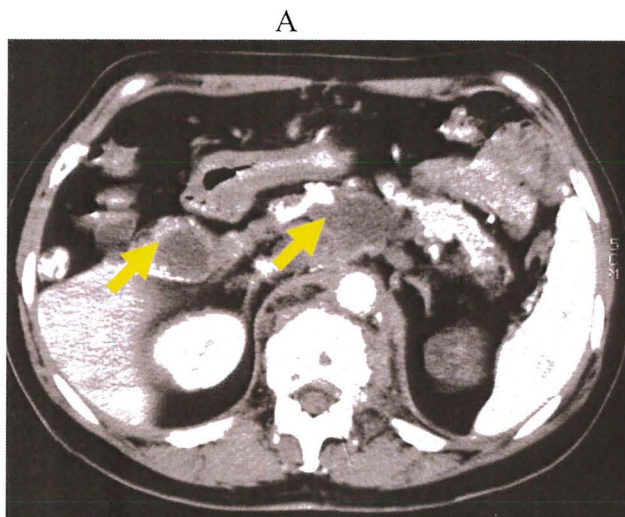
En 1998, le diagnostic de tuberculose disséminée est suspecté. Le scanner montre plusieurs collections au niveau abdominal en retro-pancréatique, en sous-hépatique et au niveau du psoas droit (Figure 12A). Un petit rein gauche non fonctionnel est observé avec remaniement de la graisse péri-rénale. Il existe également de très importants remaniements au niveau péri-aortique et autour des piliers des diaphragmes se poursuivant vers les espaces para-vertébraux du côté gauche (Figure 12B). Une atteinte vertébrale importante est mise en évidence avec remaniement osseux avec géodes au niveau des corps vertébraux D11, D12, L1 et L2 (Figure 13).

Comme autres antécédents, on note :

- une hypertension artérielle découverte en 2000 et traitée par Hypérium[®] (1 cp/j), Triatec[®] (1,25 mg x 2/j) et Lasilix[®] (40 mg x 2/j).
- un adénome hypophysaire non sécrétant opéré en Avril 2000, réopéré une deuxième fois en février 2001 avec radiothérapie et compliquée d'une insuffisance anté-hypophysaire séquellaire post-opératoire portant sur l'axe corticotrope et thyroïdienne. Un traitement de substitution est instauré avec Hydrocortisone[®] (10 mg x 3 /j) et Lévothyrox[®] (75 µg /j).
- une cécité séquellaire de l'œil droit considérée comme un effet secondaire du traitement anti-tuberculeux.
- un syndrome dépressif traité par Zolofit[®] (1 cp/j)

Figure 12 : Coupe transversale de T.D.M. abdominale avec injection de produit de contraste (Août 1998) montrant :

en A/ la présence de plusieurs collections au niveau abdominale en rétro-pancréatique et en sous-hépatique



en B/ un petit rein gauche non fonctionnel avec remaniement de la graisse péri-rénale postérieure gauche. Il existe également de très importants remaniements au niveau péri-aortique et autour des piliers des diaphragmes se poursuivant vers les espaces paravertébraux notamment du côté gauche.

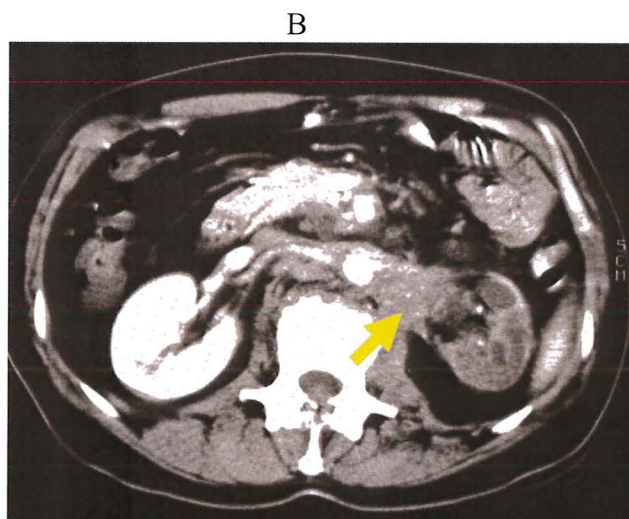


Figure 13: Coupe transversale de T.D.M. centrée sur D11 en fenêtre osseuse (Août 1998) révélant un remaniement osseux avec géodes et de multiples zones d'ostéolyse du corps vertébral



▪ A l'admission

L'examen clinique montre :

- des douleurs dorso-lombaires intenses malgré un traitement aux morphiniques
- une volumineuse collection para-vertébrale gauche avec fistulisation cutanée
- un état général altéré, somnolent, sans fièvre, avec des épisodes d'incontinence fécale et de fuites urinaires.

L'examen neurologique révèle des réflexes ostéo-tendineux vifs, diffus au niveau des membres supérieurs et inférieurs, avec un déficit sensitif abdominal gauche ancien.

La palpation de l'abdomen est douloureux mais ne montre pas d'hépatomégalie. Les auscultations pulmonaires et cardiaques sont sans particularité ainsi que le reste de l'examen clinique.

Les périodes d'incontinence vont disparaître, par contre s'installent des paresthésies à bascule au niveau des membres inférieurs ainsi qu'une faiblesse des membres inférieurs.

Les examens biologiques révèlent :

- une hyperleucocytose avec polynucléose neutrophile sans hyperéosinophilie
- un syndrome inflammatoire avec une CRP à 101 mg/l et une vitesse de sédimentation élevée : 26 mm à la première heure et 54 mm à la deuxième heure.
- une insuffisance rénale mixte fonctionnelle et organique avec une créatinine à 186 $\mu\text{mol/l}$ et urée à 9,7 mmol/l
- un bilan hépatique normal
- une hypoglycémie à 0,3 g/l

Les examens radiologiques :

- La radiographie dorso-lombaire montre un aspect typique de spondylodiscite déjà évoluée avec des lésions destructrices en D10-D11. Un remaniement destructif avec tassement et une cyphose angulaire débutante à hauteur de D10-D11 sont observés : cinq vertèbres sont concernées ainsi que les disques intervertébraux correspondants, de D10 à L2 (Figure 14).

- L'échographie abdominale ne montre pas d'anomalie du parenchyme hépatique en dehors de calcifications séquellaires. Cet examen met en évidence :
 - un aspect de destruction rénale gauche (amincissement du parenchyme rénal avec dilatation des groupes caliciels supérieurs et moyens) avec présence de multiples formations de tonalité hypoéchogène.
 - une formation mal limitée de tonalité hypoéchogène hétérogène siégeant au niveau des parties molles de la région du flanc gauche.
 - un épanchement pleural bilatéral.

- Le scanner abdo-pelvien confirme l'étendue des lésions en montrant la présence de volumineuse collection intra-abdominale et para-vertébrale avec envahissement rénal, avec présence de microcalcifications au niveau du hile hépatique et en sous-hépatique (Figure 15).

- Une IRM médullaire est réalisée devant la suspicion de compression médullaire et met en évidence :
 - un volumineux abcès paravertébral gauche à hauteur de L1-L2
 - une atteinte vertébrale multiple au niveau de la charnière dorso-lombaire de D10 à L2, avec notamment destruction de la vertèbre D11 et infiltration épидurale avec un rétrécissement de la moelle à la hauteur de D10-D11.

La présence d'abcès pariétal paravertébral contre indique une intervention chirurgicale.

Les examens du bilan étiologique :

Plusieurs prélèvements biologiques ont été effectués afin de rechercher en première intention une étiologie bactérienne ou tumorale :

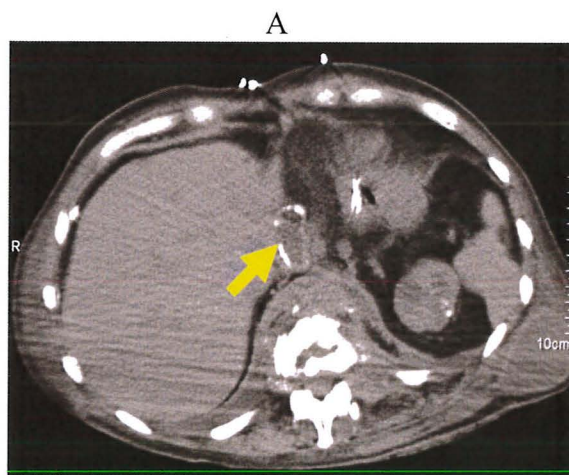
- un prélèvement du liquide de fistule avec recherche bactériologique négative
- une ponction pleurale avec recherche bactériologique négative et absence de cellules néoplasiques
- un examen bactériologique des urines négatif
- une ponction de la collection pariétale lombaire gauche avec recherche de Bacille de Koch négative mais présence de *Staphylococcus aureus* justifiant un traitement par Targocid®
- une biopsie à l'aiguille fine du corps vertébral de L1 avec analyse bactériologique négative et analyse histologique objectivant une nécrose suppurée sans malignité.

Figure 14 : Radiographie de la colonne dorso-lombaire de profil (Novembre 2002) montrant un remaniement destructif avec tassement et une cyphose angulaire débutante à hauteur de D10-D11: cinq vertèbres sont concernées ainsi que les disques intervertébraux correspondants, de D10 à L2.

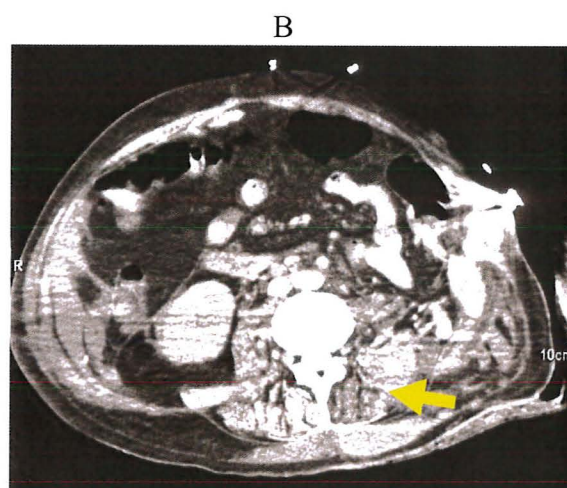


Figure 15 : Coupe transversale de T.D.M. abdominale (Novembre 2002) montrant

A / une calcification au niveau du hile hépatique



B/ une infiltration kystique du psoas partiellement calcifié avec épanchement pariétal paravertébral



Des tests sérologiques ont également été effectués :

- la sérologie aspergillaire et candidosique qui se sont révélées négatives
- une sérologie à la recherche d'*Echinococcus* qui a été positive.

Le diagnostic d'échinococcose alvéolaire a été confirmé par PCR réalisée sur le pus de la fistule. Ces résultats seront détaillés ultérieurement.

Un traitement par Albendazole (Zentel® 400 mg x 2 par jour) est instauré.

▪ **Evolution dans le service des maladies infectieuses**

L'échographie cardiaque a révélé une cardiomyopathie dilatée hypokinétique sévère avec fraction d'éjection à 25%. L'insuffisance cardiaque d'origine indéterminée est traitée par Dobutamine®.

- Des épisodes d'insuffisance rénale aiguë fonctionnelle sur rein unique fonctionnel évoluent de façon favorable après réhydratation.
- Une décompensation de l'insuffisance surrénalienne a été corrigée par l'augmentation des doses d'hydrocortisone.
- Le patient présente une aggravation nette de l'état général avec une évolution des collections intra-abdominales, une persistance d'une fistule cutanée, et des épanchements pleuraux bilatéraux récidivants.
- Des épisodes d'altération de la conscience avec confusion, agitation, somnolence ont motivé le transfert en Réanimation médicale le 25 Novembre 2002.

▪ **Transfert dans le service de Réanimation médicale**

- L'état du patient a nécessité une intubation trachéale devant la persistance des troubles aigus de la conscience avec agitation et dyspnée. Aucun scanner cérébral ou IRM cérébrale n'ont permis de comprendre les épisodes de troubles de la conscience.
- Un traitement antituberculeux a été réintroduit en quadrithérapie devant un nouveau doute diagnostique de tuberculose
- Plusieurs épisodes de pneumopathies nosocomiales, parfois associés à des chocs septiques, ont été traités par antibiothérapie.
- Une hémorragie digestive est survenue sur un ulcère gastrique traité par Mopral®.
- Les lésions osseuses restent stables mais très algiques nécessitant de hautes doses d'analgésiques de type morphinique associées à une sédation importante avec Kétamine® et Diprivan®.

L'angiographie par résonance magnétique a mis en évidence une sténose de l'artère rénale droite et des artères mésentériques supérieures et inférieures.

- La sténose de l'artère rénale à l'origine d'une hypertension artérielle sévère, a été stentée, dilatée et justifie un traitement par anticoagulant.
- La sténose des artères mésentériques à l'origine d'une ischémie mésentérique n'était pas dilatable.

A partir du 23 Avril 2003, le patient devient non réactif malgré l'arrêt de toute sédation et analgésie. L'**électroencéphalogramme** présente un tracé aréactif. Une hémorragie cérébro-méningée est mise en évidence au **scanner cérébral**. Le patient décède le 6 Mai 2003.

▪ Résumé

- Dans cette observation, le délai entre le début de la symptomatologie non spécifique et le diagnostic d'échinococcose alvéolaire est de 19 ans.
- L'atteinte hépatique n'est pas décelée au moment du diagnostic initial mais révélée plus tard sur le scanner abdominal à titre de calcifications séquellaires. Les lésions hépatiques sont stables.
- Les diagnostics suivants ont été successivement évoqués :
 - Tuberculose rénale
 - Mal de Pott
 - Tuberculose disséminée
- L'échinococcose alvéolaire se complique d'une ostéite de la charnière dorsolombaire, touchant les corps vertébraux de D10 à L2.
- La survenue d'hémorragie cérébrale reste d'étiologie indéterminée mais l'origine parasitaire ne peut être exclue.
- Le décès fut brutal à l'âge de 50 ans. En l'absence d'autopsie, l'hypothèse éventuelle d'une échinococcose alvéolaire cérébrale ne peut être vérifiée.

2. PATIENT 2

Madame GI..., né en 1944, demeurant à Kerprich aux Bois en Moselle, a été hospitalisée dans le service de maladies infectieuses du C.H.U de Strasbourg le 31 juillet 2003 pour bilan et prise en charge d'une spondylodiscite, puis alternativement avec le service de Neurochirurgie durant les mois d'Août, de Septembre et d'Octobre 2003.

▪ **Antécédents**

L'histoire de la maladie remonte en Mai 2003 par une dorso-lombalgie diffuse évoluant depuis plusieurs mois. Un premier bilan radiologique est effectué avec radiographie et scanner du rachis lombaire mettant en évidence des lésions de disarthrose ainsi qu'un discret pincement discal D10-D11.

Le 5 Juillet 2003, la patiente est hospitalisée du fait de la majoration progressive des douleurs. Les radiographies du rachis visualisent une image lytique au niveau de D10 associée à un tassement vertébral de D11 qui n'existait pas dans le bilan radiologique précédent (Figure 16). Le scanner du rachis confirme une fracture avec éclatement de D11 associé à un tassement localisé en D10 avec lyse de la partie antérieure (Figure 17). La patiente est mise au repos strict au lit et un corset est mis en place.

Devant le risque de compression médullaire, la patiente est transférée en Neurochirurgie le 11 Juillet 2003. L'IRM réalisée confirme l'existence d'une spondylodiscite de topographie D10-D11 avec tassement de D11 et discrète compression de la moelle épinière. Une ponction osseuse sous scanner est réalisée le 16 Juillet. L'examen anatomopathologique confirme l'existence d'un processus inflammatoire aigu mais sans orientation étiologique. La cytologie ne montre pas de cellules néoplasiques et la recherche de germe notamment de bacilles de Koch est négative.

Comme autres antécédents, on note :

- une hypertension artérielle connue depuis 1998
- une bronchite chronique post-tabagique
- une appendicectomie
- une fracture de l'avant-bras gauche

Figure 16 : Radiographie du rachis dorso-lombaire (Juillet 2003) montrant une image lytique au niveau de D10 avec tassement de D11

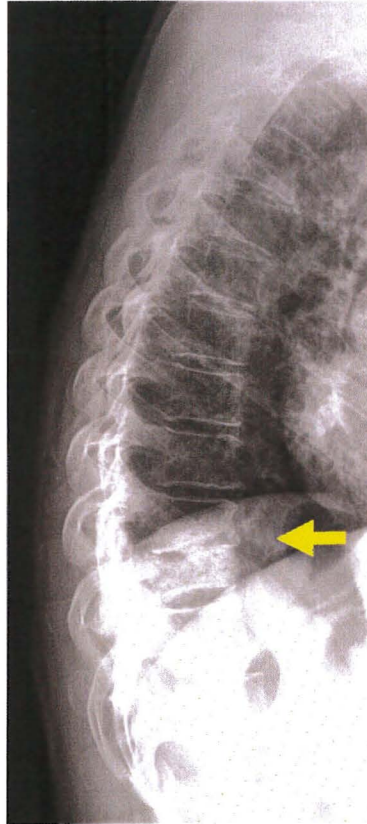
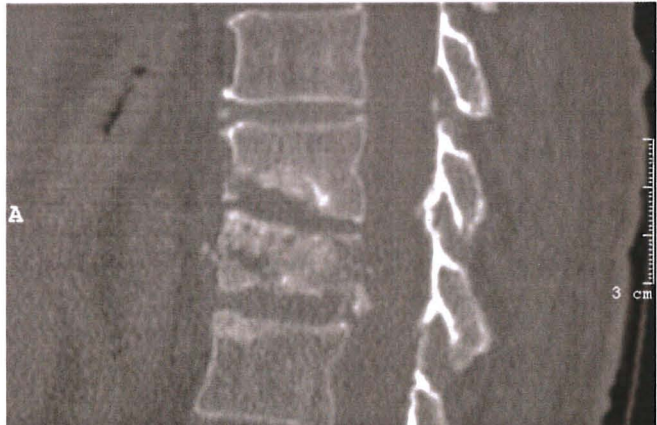


Figure 17 : Scanner du rachis lombaire de D9 à D12 (Juillet 2003) : une image reconstruite dans un plan sagittale met en évidence une fracture-éclatement de D11 avec tassement et lyse de la partie antérieure de D10.



▪ **A l'admission**

L'examen clinique montre des lombalgies intenses malgré un traitement par Temgésic®. L'examen neurologique montre des réflexes ostéo-tendineux et symétriques avec absence de déficit sensitif ou de syndrome pyramidal au niveau des membres inférieurs. L'abdomen est souple et indolore sans hépatomégalie palpable. A l'auscultation cardiaque, les bruits du cœur sont réguliers et aucun souffle n'est audible. L'auscultation pulmonaire est sans particularité ainsi que le reste de l'examen clinique.

Les examens biologiques révèlent :

- un syndrome inflammatoire modéré avec une CRP à 21 mg/l et une vitesse de sédimentation à 76 mm.
- un bilan hématologique normal
- un ionogramme, un bilan rénal, phosphocalcique, hépatique et pancréatique normaux

Sur le plan infectieux, des hémocultures et des sérologies de la Brucellose, de la fièvre Q et de la maladie des griffes du chat ont été réalisées et ont donné des résultats négatifs.

Les examens radiologiques :

- L'échographie cardiaque par voie transthoracique et transoesophagienne révèle une fonction cardiaque normale et ne visualisent pas d'argument en faveur d'une endocardite évolutive.
- La radiographie du thorax ne montre pas de foyer parenchymateux.
- L'échographie abdominale est sans particularité en dehors d'un foie d'allure stéatosique.

Le bilan étiologique :

Une nouvelle biopsie vertébrale sous scanner est réalisée le 07 Août 2003. La recherche de germes est négative et l'examen anatomo-pathologique des biopsies osseuses est non contributif.

▪ **Evolution et traitement**

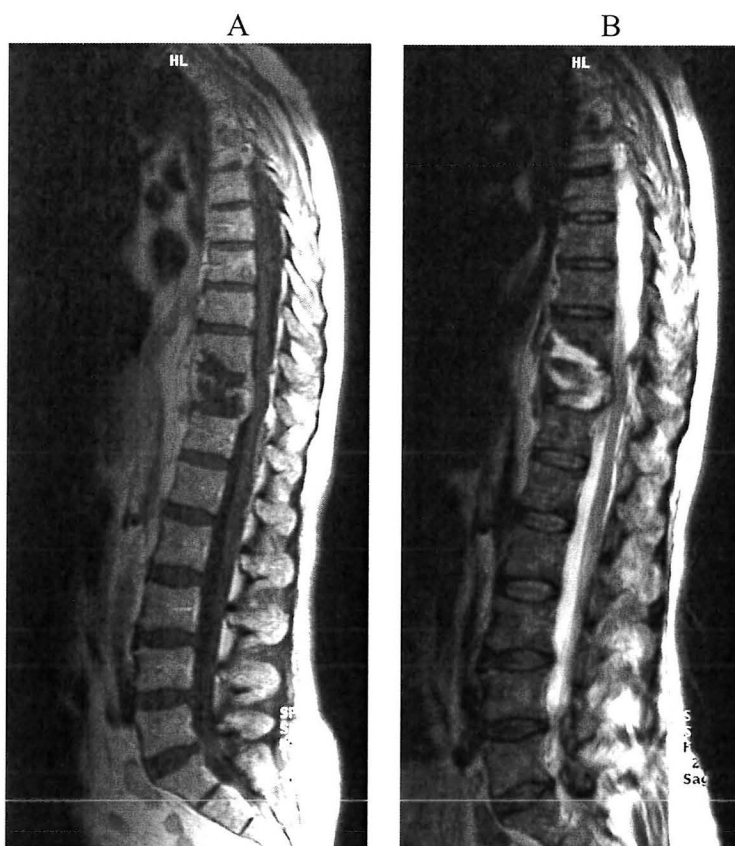
Devant la majoration progressive des douleurs et du syndrome inflammatoire avec une CRP à 74 mg/l, un **traitement antibiotique** est instauré : Claforan[®] I.V (3 g x 3/j) et Fosfomycine[®] I.V (4 g x 3/j).

Du fait de l'apparition clinique d'une hypereflectivité ostéotendineuse au niveau des membres inférieurs, une IRM du rachis est réalisée ce qui a permis de mettre en évidence une majoration des lésions avec extension épidurale postérieure et signes plus importants de compression médullaire (Figure 18).

Figure 18 : Coupe sagittale d'I.R.M dorso-lombaire (Juillet 2003) montrant une spondylodiscite de topographie D10-D11 avec tassement de D11 et compression de la moelle épinière.

A/ séquence pondérée en T1 montrant un hyposignal des plateaux vertébraux et du disque intervertébral

B/ séquence pondérée en T2 montrant une hypersignal des vertèbres et du disque infectés



Hospitalisée en Neurochirurgie le 14 Août 2003, la patiente a bénéficié d'une **laminectomie par voie postérieure pour décompression médullaire**. L'examen anatomopathologique des biopsies osseuses réalisées en per-opératoire suggère le diagnostic d'une échinococcose alvéolaire du fait de la présence de segment de membranes P.A.S positive évocatrices. Les résultats sérologiques sont en faveur d'un diagnostic d'échinococcose. **Un traitement anti-parasitaire** par Albendazole (Zentel[®] 400 mg x 2 /jour) et Praziquantel (600 mg x 4 en une prise par semaine) est débuté.

L'évolution est marquée par la persistance de douleurs intenses malgré un traitement par Morphine par voie I.V. Une nouvelle IRM du rachis est réalisée le 8 Septembre 2003 pour contrôle post-opératoire et met en évidence d'importants signes d'aggravation des lésions disco-vertébrales avec lyse quasi-complète de D11 et présence d'une volumineuse formation de tonalité tissulaire siégeant au niveau de l'espace épidual responsable d'une nette compression extrinsèque de la face antérieure de la moelle épinière (Figure 19). Par rapport à l'IRM antérieure, la cyphose s'est considérablement accentuée.

Figure 19 : Coupe sagittale d'I.R.M dorso-lombaire en séquence pondérée en T1 (Septembre 2003)

mettant en évidence une disparition quasi-complète du corps vertébral de D11 et présence d'une volumineuse formation de tonalité tissulaire, inflammatoire, siégeant au niveau de l'espace épidual antérieur à hauteur de D10-D11 responsable d'une nette compression extrinsèque sur la face antérieure de la moelle.



Une *nouvelle intervention chirurgicale pour décompression médullaire* est réalisée le 12 Septembre 2003, *associée à une ostéosynthèse de D7 à L2*. De nouvelles biopsies osseuses ont été réalisées en per-opératoire et la recherche d'*E. multilocularis* par PCR sur ces fragments osseux est positive permettant la confirmation formelle du diagnostic d'échinococcose alvéolaire.

L'évolution est favorable avec amélioration de la symptomatologie douloureuse et reprise progressive de la marche. Le Praziquantel est arrêté après 3 mois d'association avec l'Albendazole qui est maintenu.

▪ **Bilan d'extension**

- L'IRM hépatique ne visualise pas de localisation hépatique d'échinococcose.
- Un EMG est réalisé en raison de la persistance de lombalgies résiduelles irradiant dans les membres inférieurs qui met en évidence une polyneuropathie chronique sensitivo-motrice à prédominance myélinique. Cet examen permet d'éliminer une atteinte radiculaire ou médullaire, des myotomes L5 et S1.
- Une scintigraphie osseuse au Technicium servant d'examen de référence pour évaluer par la suite l'évolution des lésions osseuses est réalisée. Une hyperfixation assez nette et régulière de toute la partie inférieure du rachis dorsal est mise en évidence.

▪ **Nouvelle hospitalisation en Février 2004**

La patiente est ré-hospitalisée en Février 2004 pour dorsalgies très intenses, invalidantes rendant la position assise ou debout très difficile. L'examen clinique ne montre pas de déficit neurologique. La scintigraphie osseuse révèle une récurrence de spondylodiscite en D10 et le scanner dorsal montre des lésions ostéolytiques de D11 avec rupture du mur postérieur et refoulement médullaire. Au vu de ces aspects radiologiques, de l'instabilité de l'ostéosynthèse et de l'absence de reconstitution vertébrale, une nouvelle intervention chirurgicale est décidée.

▪ **Résumé**

- Il s'agit d'une échinococcose alvéolaire à localisation rachidienne, chez une femme de 60 ans, se révélant d'emblée à un stade évolutif avancé.
- La spondylodiscite destructrice concerne les vertèbres D10-D11 avec effraction dans le canal médullaire.
- Une absence de lésion hépatique est décelée aux examens complémentaires.
- Le diagnostic est évoqué par l'examen anatomo-pathologique d'une biopsie per-opératoire.
- L'évolution torpide est marquée par des récurrences de compression médullaire.
- La patiente bénéficie d'un traitement par Albendazole depuis Août 2003 qui est maintenu à vie. Il est encore trop tôt pour déterminer la réelle efficacité de ce traitement chez cette patiente.

3. RESULTATS DES TESTS SEROLOGIQUES

3.1. Résultats des tests ELISA

Pour le patient 1, les deux tests sérologiques ELISA (ELISA-HCF et ELISA Em2plus) ont détecté des taux élevés d'anticorps dans le sérum avec des index respectifs de 2,89 et 1,93. Du fait de la spécificité du test ELISA Em2plus, le diagnostic d'échinococcose alvéolaire est suggéré avec une réaction croisée détectée en ELISA-HCF.

Pour le patient 2, la sérologie en ELISA-HCF a été trouvée positive (index 2,84) alors que le résultat en ELISA Em2plus était négatif (index 0,09). Ces résultats suggèrent une infection à *E. granulosus*.

3.2. Résultats du Western Blot

La technique complémentaire Western Blot détecte des IgG spécifiques dirigés contre *Echinococcus* dans le sérum des deux patients avec la présence des bandes 7 et 26-28 kDa (Figure 20). Pour le patient 1, les résultats du Western Blot ont révélé des bandes en 7, 12, 26-28 kDa et une bande fine en 18 kDa ce qui est considéré comme un profil d'*E. multilocularis*. Les résultats pour le patient 2 ont montré des bandes en 7, 26-28 kDa et une bande diffuse entre 16 et 18 kDa ce qui est considéré comme spécifique d'*E. granulosus*. Ainsi pour les deux patients, les résultats du Western Blot confirment les résultats des tests ELISA.

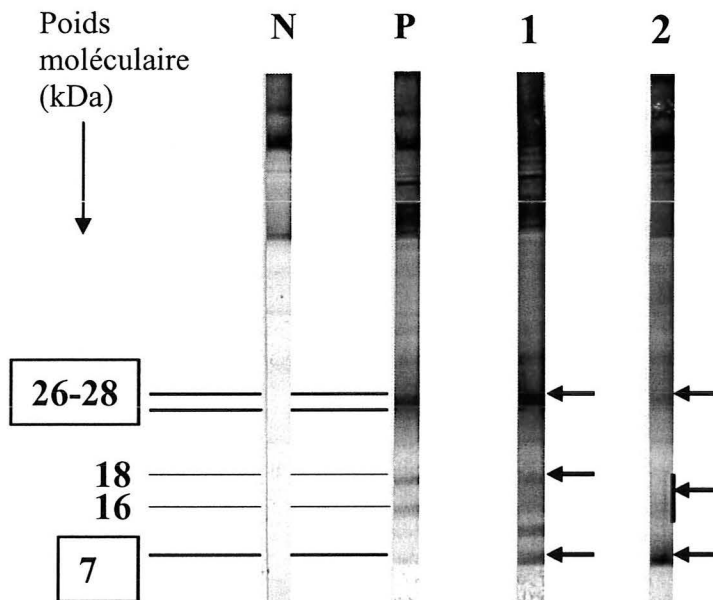


Figure 20 : Profils obtenus au Western Blot pour les patients 1 et 2. Les bandes significatives sont indiquées par des flèches. Le poids moléculaire (en kDa) est indiqué sur la gauche. N, contrôle négatif ; P, contrôle positif; 1, patient 1 (profil *E. multilocularis*); 2, patient 2 (profil *E. granulosus*).

4. ANALYSE ANATOMO-PATHOLOGIQUE DES BIOPSIES

Pour le patient 2, deux biopsies disco-vertébrales sous scanner ont été initialement réalisées. Elles avaient permis d'éliminer une origine tumorale mais n'avaient pas permis d'isoler de germes et notamment de bacilles de Koch fortement suspectés. En raison du risque de compression médullaire, une laminectomie avait été réalisée. L'examen anatomopathologique de biopsie-exérèse per-opératoire a permis d'orienter le diagnostic en évoquant une échinococcose osseuse. La biopsie de la 11^{ème} vertèbre dorsale était constituée de nombreux fragments osseux mesurant 2 cm de diamètre.

Histologiquement ces prélèvements intéressent des fragments de cartilage ainsi que des territoires de tissu osseux spongieux dont les espaces ostéo-médullaires renferment de très nombreux foyers d'inflammation macrophagique granulomateuse disposés autour de foyers de nécrose renfermant pour certains des fragments de membrane hyaline et éosinophile (Figure 21). Ces membranes sont fortement colorées par le P.A.S (Figure 22). Aucun scolex ou crochet n'a été mis en évidence. L'aspect histologique évoque une échinococcose présumée alvéolaire compte-tenu de la multifocalité des granulomes.

Figure 21 : Biopsie de la 11^{ème} vertèbre dorsale du patient 2, coloration P.A.S, grossissement x 400

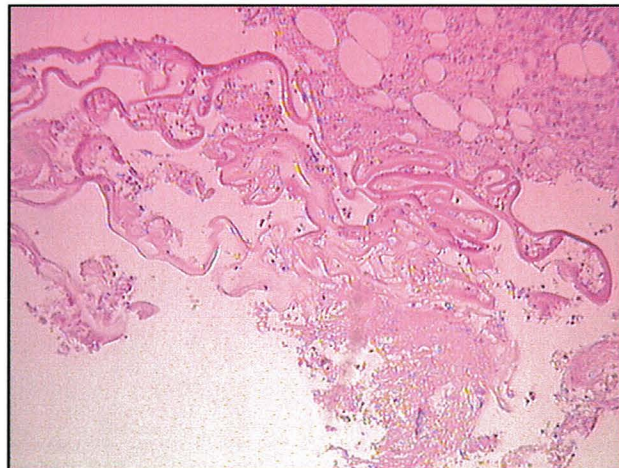
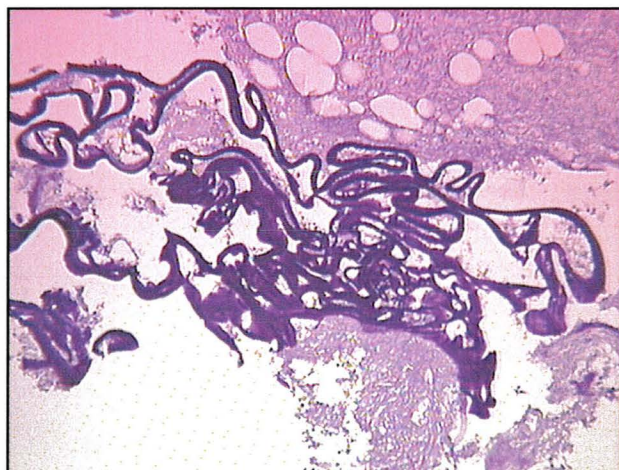


Figure 22 : Biopsie de la 11^{ème} vertèbre dorsale du patient 2, coloration Hématoxyline, grossissement x 400



5. RESULTATS DES ANALYSES MOLECULAIRES

Pour le patient 1, les réactions PCR ont été effectuées sur plusieurs prélèvements biologiques : liquide céphalorachidien (LCR), lavage broncho-alvéolaire (LBA) et liquide de fistule cutanée. La PCR *E. multilocularis* réalisée sur le liquide de fistule a donné un résultat positif alors que la PCR *E. granulosus* était négative. Le diagnostic sérologique d'infection à *E. multilocularis* a ainsi été confirmé par l'identification spécifique d'*E. multilocularis* par PCR. Par ailleurs, nous noterons que la PCR *E. multilocularis* et la PCR *E. granulosus* étaient négatives pour les autres prélèvements du patient 1.

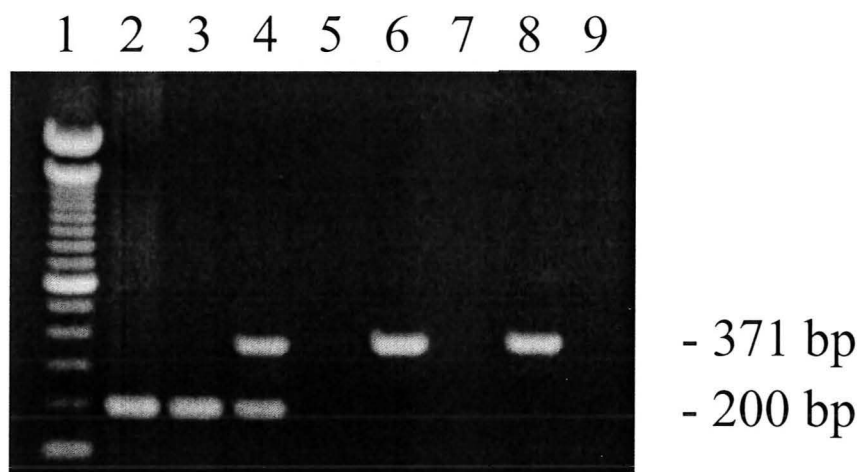


Figure 23 : PCR *E. multilocularis* sur les échantillons biologiques du patient 1 : liquide de fistule (lignes 3, 4), LCR (lignes 5, 6) et LBA (lignes 7, 8). Contrôle positif : ligne 2 ; contrôle négatif : ligne 9. PCR *E. multilocularis* positive (200 bp) : lignes 2, 3, 4. Contrôle interne pour détecter la présence d'inhibiteur (371 bp) : lignes 4, 6, 8. Marqueur de poids moléculaire : ligne 1.

Pour le patient 2, l'analyse par PCR a été réalisée sur plusieurs prélèvements de biopsies osseuses. La biopsie-exérèse per-opératoire de la 11^{ème} vertèbre dorsale a donné un résultat positif en PCR *E. multilocularis* et négatif en PCR *E. granulosus*.

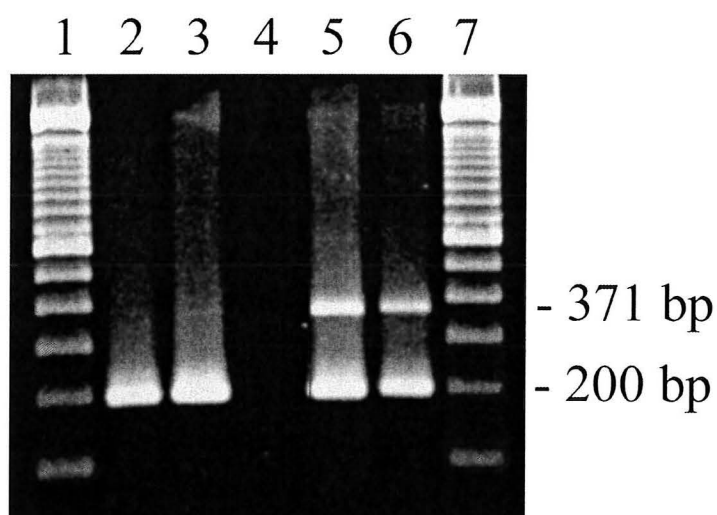


Figure 24 : PCR *E. multilocularis* sur une biopsie osseuse du patient 2 : ligne 3. Contrôle positif : ligne 2, 6 ; contrôle négatif : ligne 4. PCR *E. multilocularis* positive (200 bp) : lignes 2, 3. Contrôle interne pour détecter la présence d'inhibiteur (371 bp) : lignes 5, 6. Marqueur de poids moléculaire : ligne 1, 7.

6. RECAPITULATIF DES RESULTATS

Tableau VII: Données cliniques, sérologiques, histologiques et moléculaires des 2 cas d'échinococcose alvéolaire osseuse.

| | Cas 1 | Cas 2 |
|--|---|---|
| ASPECT CLINIQUE - lésions hépatiques - sites des lésions extrahépatiques | Microcalcifications Vertèbres D10-L2 et collection intra-abdominale, para-vertébrale | Aucune Vertèbres D10-D11 |
| TESTS SEROLOGIQUES - ELISA HCF - ELISA Em2plus - Western Blot LDBIO | Positive Positive Profil <i>E. multilocularis</i> | Positive Négative Profil <i>E. granulosus</i> |
| HISTOPATHOLOGIE (biopsie de vertèbre) | Non effectué | Présence d'une cuticule PAS positive suggérant <i>E. multilocularis</i> |
| ANALYSE MOLECULAIRE - PCR <i>E. multilocularis</i> - PCR <i>E. granulosus</i> | Positive (liquide de fistule) Négative (LBA, LCR) Négative (liquide de fistule, LBA, LCR) | Positive (biopsie de vertèbre) Négative (biopsie de vertèbre) |

HCF, liquide de kyste hydatique ; PAS, Acide périodique de Schiff ; LBA, lavage broncho-alvéolaire ; LCR, liquide céphalorachidien

DISCUSSION

Le but de notre travail était d'évaluer les performances des tests biologiques dans le diagnostic d'échinococcose alvéolaire à localisation inhabituelle. La localisation osseuse étant extrêmement rare, il nous a paru intéressant de rapporter les difficultés diagnostiques rencontrées avec deux cas, diagnostiqués à Strasbourg en 2003 et de les confronter avec les observations rapportées dans la littérature.

1. ASPECT CLINIQUE

1.1. ECHINOCOCCOSES OSSEUSES RAPPORTEES DANS LA LITTERATURE

Les lésions osseuses d'échinococcose sont rares. La faible prévalence s'explique d'une part par le circuit emprunté par le parasite qui doit franchir successivement les filtres sélectifs hépatiques et pulmonaires avant d'atteindre l'os. D'autre part, les capillaires osseux de plus gros calibre ne constituent pas un barrage aussi efficace que les capillaires du tissu mou.

1.1.1. Hydatidose osseuse à *E. granulosus*

La localisation osseuse représente 0,5 à 2,5% des localisations des hydatidoses. Elle est rarement associée aux localisations viscérales qui ne sont retrouvées que dans 4% des cas d'hydatidose osseuse (11).

▪ Physiopathologie

L'atteinte osseuse présente quelques particularités par rapport aux localisations viscérales. Le développement du parasite dans l'os ne provoque pas la formation de membrane perikystique qui est le résultat de la réaction du tissu hôte à l'agression du parasite. L'os, par sa résistance et sa texture, empêche le développement normal du kyste sphéroïdal. La progression des lésions s'effectue par bourgeonnement multidiverticulaire et vésiculation exogène, aboutissant à une infiltration microvésiculaire. Les lésions peuvent déborder l'os et envahir les tissus mous adjacents, où elles retrouvent leur caractère kystique, sous forme de collections vésiculaires dites abcès ossifluents (49).

▪ Topographie

Les atteintes rachidiennes sont les plus fréquentes et les plus graves. Sur une étude de 637 cas d'échinococcose osseuse, les atteintes rachidiennes représentant 44% des localisations osseuses. L'atteinte intervient dans 80% des cas au niveau du rachis dorsal, dans 18% des cas à l'étage lombaire, plus rarement sacré et cervical. Plusieurs vertèbres contiguës

peuvent être touchées. L'atteinte des parties molles est très fréquente dans les localisations vertébrales. Les os longs (fémur dans 15% des cas, tibia dans 7% des cas, humérus dans 6% des cas) et le bassin (16%) sont relativement moins touchés. D'autres localisations osseuses ont été observées : côtes et omoplates (8%), calcaneum et phalanges (4%), crâne (3%) et sternum (0,8%) (11).

1.1.2. Echinococcose alvéolaire osseuse

Les localisations osseuses de l'échinococcose alvéolaire sont exceptionnelles. A notre connaissance, seulement 20 cas ont été rapportés à ce jour.

▪ Physiopathologie

Les lésions osseuses sont souvent dues à une extension par contiguïté à partir du foyer hépatique, avec atteinte vertébrale sternale ou costale. Les lésions osseuses à distance sont plus rares, pouvant intéresser les os longs ou les os du tarse.

▪ Topographie

Parmi les 20 cas d'échinococcose alvéolaire osseuse rapportés à ce jour, on trouve :

12 cas présentant une localisation rachidienne :

- 1 à l'étage cervical (23)
- 4 à l'étage dorsal (67), n=2 (13), (65)
- 3 à l'étage dorso-lombaire (54), (75), (105)
- 4 à l'étage lombaire (23), n=3 (75)

2 cas de localisations aux os longs ont été rapportés :

- 1 touchant le péroné et le tibia (75)
- 1 touchant le fémur (22)

6 cas de localisations osseuses exceptionnelles :

- 1 touchant la clavicule (50)
- 2 touchant l'os iliaque (50), (75)
- 3 touchant le sternum et les côtes n=2 (75), (54)

La localisation hépatique est toujours associée contrairement à l'hydatidose osseuse qui est le plus souvent primaire.

Les atteintes vertébrales rapportées se présentent sous forme de spondylodiscite ou spondylite non spécifique et sont fréquemment accompagnées d'abcès des tissus mous adjacents. Dans le tableau VIII figure le récapitulatif des données épidémiologiques, cliniques et biologiques des échinococcoses alvéolaires vertébrales.

Tableau VIII : Récapitulatif des cas d'échinococcose alvéolaire vertébrale rapportés dans la littérature

| Réf | Année ^a | Sexe | Age ^c | Lésions osseuses et des tissus mous voisins | Lésions hépatiques | Autres lésions associées | Tests sérologiques | Examen anatomo-pathologiques | | Traitement | Evolution |
|-------|--------------------|------|------------------|---|--------------------|--|--------------------|------------------------------|--|--|--|
| | | | | | | | | hépatique | autres | | |
| 65 | 1930 | F | 69 | Rachis dorsal. Côtes 8-10 | + | retropéritoiné | ND | - | Biopsie de vertèbre | ND | ND |
| 54 | 1982 | M | 39 | Vertèbres D7 à D10, D12 et L1. Côtes 8 et 9 gauches | + | Pancréas, poumon, médiastin, SNC, rétropéritoiné | ND | + | Laminectomie | Exérèse des lésions hépatiques et pancréatiques, Laminectomie D12 à L1 | Décès 29 ans après le diagnostic |
| 13 | 1987 | M | 73 | Vertèbre D8 | + | - | + | - | Laminectomie | Laminectomie +Flubendazole | Paraplégie, décès 13 mois après le diagnostic |
| 13 | 1987 | F | 56 | Vertèbres D7 et D8 | + | Plèvres, médiastin postérieur | + | - | Laminectomie | Laminectomie +Flubendazole puis Mébendazole puis Albendazole | Compressions médullaires, décès 10 ans après le diagnostic |
| 23 | 1990 | ND | ND | Rachis cervical | + | ND | + | + | ND | ND | ND |
| 23 | 1990 | ND | ND | Rachis lombaire | + | ND | + | + | ND | ND | ND |
| 67 | 1992 | F | 56 | Vertèbres D10 et D12, pied gauche | + | Pancréas et aorte | + | + | - | Chirurgie +Mébendazole | ND |
| 75 | 1997 | F | 70 | Vertèbres L2, psoas gauche | + | - | ND | | Biopsie ou ponction à l'aiguille | ND | ND |
| 75 | 1997 | M | 44 | Vertèbres D12 et L1, psoas droit | + | - | ND | | Biopsie ou ponction à l'aiguille | ND | ND |
| 75 | 1997 | M | 41 | Vertèbres L2, psoas bilatéral | + | - | ND | | Biopsie ou ponction à l'aiguille | ND | ND |
| 75 | 1997 | F | 29 | Vertèbres L4 à S1, talon droit | + | - | ND | | Biopsie ou ponction à l'aiguille | ND | ND |
| 105 | 2000 | F | 57 | Vertèbres D12, L1 et L2 | + | Abdominales, rétropéritonéales | + | - | Ponction d'une lésion intra-abdominale | Albendazole | Lésions stables (1 an de recul) |
| cas 1 | 2004 | M | 49 | Vertèbres D10 à L2, psoas droit | calcification | Abdominales | + | - | - | Albendazole | Décès 8 mois après le diagnostic |
| cas 2 | 2004 | F | 59 | Vertèbres D10 -D 11 | - | - | + | - | Laminectomie | Laminectomie, +Albendazole | Compression médullaire, ostéosynthèse |

^a, année de publication; ^b âge lors du diagnostic; ND non documenté

1.1.3. Circonstances de découverte

Les signes cliniques révélateurs de l'échinococcose osseuse ne sont pas spécifiques et dépendent de la localisation. Les modes de révélation les plus fréquents sont globalement la douleur et la tuméfaction correspondant à l'abcès ossifluent et traduisant l'envahissement des parties molles. Cet abcès peut se compliquer de fistulisation ou de surinfection.

L'atteinte osseuse peut également se manifester à l'occasion de complications telles que :

- la fracture pathologique, spontanée ou secondaire à un traumatisme minime, touchant un os long ou se traduisant par un tassement vertébral
- les troubles neurologiques, qui sont fréquents dans les localisations rachidiennes, révélateurs de compression médullaire.

1.2. ORIGINALITE DE NOS OBSERVATIONS

1.2.1. Critères épidémiologiques

Il faut noter qu'un cas extrêmement rare d'échinococcose alvéolaire avec localisation également vertébrale a été rapporté récemment en 2000 en France et qu'il s'agissait d'une personne habitant également les Vosges tout comme nos observations personnelles (105).

Les deux cas que nous rapportons ont été diagnostiqués en 2003 et concernent un homme de 50 ans et une femme de 60 ans vivant en milieu rural dans le même secteur des Vosges, à seulement 30 kilomètres de distance. La période de contamination est inconnue pour ces deux patients, comme dans la majorité des cas de la littérature.

1.2.2. Circonstances de découverte

Le diagnostic d'échinococcose alvéolaire est posé dans nos observations à un stade déjà avancé de la maladie. Mais il faut noter qu'aucune manifestation digestive hépatobiliaire n'est présente dans les deux cas.

Pour le patient 1, des lombalgies sont à l'origine d'un bilan étiologique révélant une collection rétro-péritonéale. Des traitements anti-tuberculeux durant plusieurs années ont été mis en place, sans évidence microbiologique. Le manque d'amélioration avec l'antibiothérapie a finalement conduit à réaliser de nouvelles recherches étiologiques. Le diagnostic d'échinococcose alvéolaire sera posé après 19 ans d'erreur diagnostique, au stade de complication avec ostéite vertébrale. Durant ces années, l'échinococcose alvéolaire a

évolué jusqu'à aboutir rapidement au décès du patient. Ce cas illustre le pronostic péjoratif d'un retard de diagnostic.

Pour le patient 2, l'échinococcose alvéolaire est révélée d'emblée à un stade évolutif avancé de la maladie avec tassement et fracture vertébrale.

1.2.3. Evolution clinique

La durée de l'évolution entre les premières manifestations cliniques et les complications diffère entre les deux observations rapportées.

Pour le patient 1, l'évolution clinique est longue avec une atteinte initialement peu symptomatique qui évolue sur plusieurs années avec une extension progressive des lésions au niveau des tissus mous et au niveau vertébral. La présence de plusieurs collections intra-abdominales avec lésion rénale oriente initialement le diagnostic vers une origine tuberculeuse. L'ostéite rachidienne survient plusieurs années après les premiers symptômes. Cette lésion osseuse est rattachée à un « Mal de Pott ». On peut se demander si la démarche diagnostique aurait été la même si l'ostéite avait été d'emblée associée aux lésions rétro-péritonéales.

Le patient 2 présente un tableau évolutif atypique avec une aggravation extrêmement rapide des lésions. Une importante lyse osseuse est observée en quelques mois seulement, sans lésion viscérale associée. Le patient ne présente aucun facteur favorisant pouvant expliquer la rapidité d'évolution.

1.2.4. Topographie des lésions

La présence de lésions extrahépatiques osseuses dans les deux cas est un fait rare dans l'échinococcose alvéolaire. La localisation est rachidienne, intéressant l'étage dorso-lombaire chez le patient 1 et l'étage dorsal chez le patient 2. Plusieurs abcès ossifluents sont associés chez le patient 1.

L'absence de lésions hépatiques, comme dans le cas 2, est exceptionnelle (91).

2. ASPECT RADIOLOGIQUE

2.1. ASPECTS RADIOLOGIQUES NON SPECIFIQUES DES LESIONS OSSEUSES

2.1.1. Dans la littérature

L'atteinte osseuse n'a pas de signes radiologiques spécifiques. En radiographie standard, les lésions peuvent prendre un aspect d'ostéolyse en plage, à limites floues ou un aspect lacunaire.

Dans les localisations rachidiennes, l'atteinte débute dans le corps vertébral ou au segment postérieur pour s'étendre à l'ensemble de la vertèbre. La morphologie de la vertèbre atteinte est longtemps conservée. Le tassement vertébral ainsi que l'extension au disque intervertébral sont des signes tardifs. L'extension aux vertèbres adjacentes par voie sous-ligamentaire excède rarement 4 à 5 vertèbres. L'extension aux parties molles dans la région dorsale se traduit par une opacité paravertébrale souvent unique. En région lombo-sacrée, une collection peut exister dans le psoas ou dans la région pré-sacrée.

2.1.2. Concernant nos observations

Nos observations respectent l'aspect de lésions ostéolytiques décrites dans les localisations vertébrales de l'échinococcose alvéolaire mais correspondent à des lésions déjà étendues.

Le bilan radiologique du patient 1 met en évidence des remaniements osseux avec géodes et de multiples zones d'ostéolyse du corps vertébral au niveau de la charnière dorso-lombaire, avec tassement. Cinq vertèbres sont concernées de D10 à L2 ainsi que les disques intervertébraux correspondants. L'atteinte vertébrale est multiple avec destruction de D11 et une infiltration épidurale avec rétrécissement de la moelle à la hauteur de D10-D11. Une collection ossifluente para-vertébrale et au niveau du psoas est visualisée.

Les examens d'imagerie montrent pour le patient 2, un aspect typique de spondylodiscite de topographie D10-D11 avec tassement vertébral de D11 et une discrète compression de la moelle épinière.

2.2. INTERÊT DU SCANNER ET DE L'IRM DANS LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI DE L'INFECTION OSSEUSE

Le scanner est important car il précise les lésions osseuses mises en évidence en radiographie standard et apprécie l'extension aux tissus mous. L'IRM est complémentaire du scanner. Cet examen est l'examen de choix dans les localisations rachidiennes où elle permet de préciser l'extension en hauteur des lésions le long de l'axe rachidien et d'étudier les extensions intra-canalaires et aux tissus mous.

2.3. RECHERCHE DE LESIONS HEPATIQUES ASSOCIEES

L'échographie mais aussi le scanner et l'IRM permettent de rechercher les localisations viscérales éventuellement associées mais permettent également de mettre en évidence les collections ossifluentes. Le cas 2 rapporté est inhabituel car aucune lésion hépatique n'est cliniquement ni radiologiquement décelée. Les lésions extrahépatiques sans lésions hépatiques sont rares (91) dans l'échinococcose alvéolaire contrairement à l'hydatidose où les formes primaires extrahépatiques sont documentées (103).

Dans le cas 1, une lésion hépatique n'est évoquée qu'assez tardivement. Le scanner abdominal met en évidence des microcalcifications d'aspect séquellaire, plusieurs années après les premiers symptômes de la maladie. Une possible régression spontanée d'une localisation initiale hépatique de *E. multilocularis* peut être envisagée.

2.4. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

Le diagnostic des échinococcoses osseuses est souvent retardé du fait de signes cliniques non spécifiques et d'aspects polymorphes en imagerie. Le diagnostic différentiel de lésions ostéolytiques du rachis comprend les tumeurs et les maladies infectieuses comme la tuberculose et les abcès bactériens :

- *Tumeur osseuse bénigne* (ostéome osteoïde, kyste anévrysmal, hémangiome)
- *Tumeur osseuse maligne primitive* (sarcome osseux, ostéochondrosarcome, plasmocytome osseux) *ou secondaire* (métastases ostéolytiques des cancers primitifs)

○ *Spondylodiscites et spondylites tuberculeuses*

D'autres localisations tuberculeuses, notamment pulmonaires sont associées dans 15 à 40% des cas. Les abcès paravertébraux sont presque constants et volumineux. La preuve bactériologique avec recherche des bacilles de Koch est difficile à mettre en évidence. L'examen anatomo-pathologique révèle la présence de granulomes épithélioïdes et géantocellulaires avec nécrose caséuse. La ponction-biopsie dis-covertébrale guidée apporte le diagnostic dans 75% des cas. Une recherche par PCR réalisée sur biopsie a été développée (84).

○ *Spondylodiscites non tuberculeuses bactériennes ou fongiques*

Elles résultent pour la plupart d'une dissémination par voie hématogène à partir de foyers infectieux primitifs qui sont à rechercher systématiquement. Il s'agit dans 70% des cas de cocci Gram + (*Staphylococcus*, *Streptococcus*) et dans 30% des cas de bacilles Gram -, essentiellement *Escherichia coli*. La détermination du germe par hémoculture est faite dans 25-50% des cas. La ponction-biopsie permet le diagnostic dans 60% des cas (108).

La ponction guidée par l'échographie ou le scanner peut être réalisée à titre diagnostique puisqu'elle permet à la fois une analyse bactériologique et une étude anatomo-pathologique. En fait, le diagnostic repose le plus souvent sur l'examen anatomo-pathologique d'une pièce d'exérèse chirurgicale ou d'une biopsie percutanée.

3. ASPECT ANATOMO-PATHOLOGIQUE

3.1. PLACE ET INTERÊT DANS LE DIAGNOSTIC DE L'ÉCHINOCOCCOSE OSSEUSE

3.1.1. Rôle crucial

Dans la majorité des cas d'échinococcose osseuse rapportés dans la littérature, le diagnostic a été posé par l'examen anatomo-pathologique, sur des biopsies à l'aiguille fine ou sur des biopsies per-opératoires.

L'identification peut être faite après visualisation de scolex ou de crochets qui sont pathognomonique de l'échinococcose. Cependant, ceux-ci sont très rarement observés dans l'échinococcose alvéolaire car le centre du kyste est généralement nécrotique et stérile,

contenant des fragments de membrane lamellaire colorée au P.A.S. Mais pour compléter le bilan étiologique, des techniques immunocytochimiques ou moléculaires peuvent être utilisées sur les prélèvements biopsiques pour affirmer le diagnostic d'espèce.

3.1.2. Concernant nos observations

Dans le cas 2, l'examen anatomo-pathologique d'une biopsie per-opératoire, lors d'une laminectomie, a identifié des membranes lamellaires fortement colorées au PAS suggérant une échinococcose. Le diagnostic initial d'atteinte tuberculeuse a ainsi été rectifié grâce à l'examen anatomo-pathologique.

Ce cas illustre notamment la place majeure que peut prendre l'histopathologie dans le diagnostic des formes atypiques, quand l'échinococcose alvéolaire est plus rarement suspectée. Dans des formes extra-hépatiques sans lésions hépatiques, cet examen peut permettre ainsi d'évoquer le diagnostic. Un autre auteur a rapporté le cas d'une localisation extrahépatique atypique d'échinococcose alvéolaire sans lésion hépatique diagnostiquée par l'examen anatomo-pathologique à l'aide d'une réaction immunocytochimique (utilisant l'anticorps monoclonal MabG11 dirigé contre Em2) ainsi que par une réaction PCR effectuée sur des prélèvements biopsiques du pancréas (20).

3.2. LIMITES

Dans le cas 2, c'est à partir de la troisième biopsie que le diagnostic d'échinococcose alvéolaire est évoqué devant la présence de cuticule P.A.S positive à l'examen anatomo-pathologique. Les deux premières ponctions-biopsies osseuses réalisées sous scanner n'ont pas révélé de telle membrane caractéristique et ce n'est que le résultat de la 3^{ème} biopsie osseuse per-opératoire réalisée lors d'une laminectomie qui a été concluant. Cela témoigne de la limite de cet examen qui réside dans la qualité du prélèvement analysé, à savoir la difficulté d'obtenir un échantillon de tissu ayant en son sein des lésions parasitaires pathognomoniques. Il arrive qu'il ne révèle que des lésions aspécifiques de granulomes inflammatoires.

4. ASPECT IMMUNOLOGIQUE

4.1. PLACE ET INTERÊT DU SERODIAGNOSTIC DANS L'ÉCHINOCOCCOSE OSSEUSE

4.1.1. Intérêt diagnostique limité

Dans les échinococcoses alvéolaires osseuses rapportées dans la littérature, les tests sérologiques ont été réalisés soit à la suite d'un bilan radiologique évocateur soit seulement après le diagnostic suggéré par l'étude anatomo-pathologique. Ainsi le sérodiagnostic peut être utile à condition d'évoquer et de rechercher cette parasitose.

Comme l'illustre nos deux cas atypiques, le diagnostic d'échinococcose osseuse reste souvent difficile à évoquer devant les aspects en imagerie non spécifiques. Du fait de sa très faible prévalence, cette parasitose est rarement recherchée et ainsi les tests sérologiques sont rarement effectués systématiquement. Le diagnostic est d'autant plus difficile à évoquer quand les lésions hépatiques classiques sont absentes, comme c'est le cas dans nos observations.

4.1.2. Concernant nos observations

Les tests sérologiques n'ont pas été pratiqués d'emblée devant les lésions osseuses. Pour le patient 1, les tests sérologiques ont été pratiqués 6 ans après les premières manifestations osseuses dans le cadre d'un bilan étiologique extensif après remise en cause du diagnostic d'affection tuberculeuse.

Pour le patient 2, les tests sérologiques n'ont été réalisés qu'après l'étude anatomo-pathologique évoquant l'échinococcose, limitant ainsi leur intérêt diagnostique.

En présence d'un tableau d'ostéolyse, en région d'endémie de l'échinococcose alvéolaire, il conviendrait d'évoquer cette parasitose au même titre que les tumeurs ou les affections tuberculeuses. Ainsi, les tests sérologiques spécifiques pourraient faire partie du bilan étiologique, au même titre que la recherche de cellules malignes et de bacilles de Koch. Cela éviterait un retard de diagnostic de l'échinococcose osseuse.

4.2. LIMITES DES TESTS SEROLOGIQUES

4.2.1. Interprétation difficile

Parmi les cas d'échinococcose alvéolaire osseuse publiés dans la littérature, peu de résultats de tests sérologiques sont mentionnés. Les tests sérologiques utilisés sont pour la plupart des techniques d'hémagglutination, d'immunoélectrophorèse ou des tests ELISA utilisant un antigène brut d'*E. granulosus*. Ces méthodes manquent de spécificité et ne permettent pas la distinction entre l'échinococcose alvéolaire et l'hydatidose. De plus, ces tests ne sont pas standardisés et leurs performances peuvent varier entre laboratoires ce qui rend l'interprétation difficile.

Ces dernières années, des tests sérologiques plus spécifiques d'*E. multilocularis*, en particulier ELISA Em2plus et Western Blot *Echinococcus* LDBIO ont montré leur intérêt diagnostique dans les échinococcoses alvéolaires. Mais leur valeur diagnostique n'a été évaluée que dans le diagnostic des formes « classiques » hépatiques. Ainsi, la performance diagnostique de ces tests sérologiques reste à être évaluée dans les formes extrahépatiques d'échinococcose alvéolaire.

4.2.2. Défaillance des tests dans nos observations

L'ELISA utilisant un antigène brut d'*E. granulosus* ainsi que le Western Blot *Echinococcus* LDBIO détecte des anticorps anti-*Echinococcus* dans les deux observations d'échinococcose alvéolaire. La sérologie en ELISA Em2plus est négative pour le patient 2 alors que la biopsie osseuse montre des membranes P.A.S positives caractéristiques d'échinococcose alvéolaire. Des résultats négatifs en ELISA Em2plus ont été rapportés dans la littérature dans 5-10% des cas d'échinococcose alvéolaire (41). Certes cette technique présente une sensibilité très élevée (97%) dans les formes hépatiques mais cette sensibilité peut être considérablement diminuée dans les formes extrahépatiques. Dans ces cas séronégatifs, l'analyse ADN apparaît comme un test complémentaire utile. Dans les travaux de Myjak et coll., une analyse ADN réalisée sur une biopsie a permis de faire le diagnostic d'un cas séronégatif, tout comme notre observation (79).

L'interprétation du Western Blot amène à une erreur dans le diagnostic d'espèce pour le patient 2. Les résultats révèlent un profil de bandes en faveur d'*E. granulosus*. La présence de bandes très faiblement révélées peut rendre les critères de différenciation difficile à appliquer : bande diffuse en 16-18 versus bande fine en 18. La figure du Western blot démontre la difficulté dans certains cas d'interpréter les résultats. Pour le patient 2, le profil

de bandes pourrait être affecté par un titre d'anticorps très faible, non détecté en ELISA Em2plus.

La réponse sérologique aux antigènes *Echinococcus* est variable dépendant de l'hôte et de la localisation du parasite, parmi d'autres facteurs. Les tests sérologiques ont échoué dans le diagnostic d'échinococcose alvéolaire pour le patient 2. Or ce patient présente des lésions osseuses sans aucune lésion hépatique contrairement au patient 1 qui présente de petites calcifications hépatiques, ce qui pourrait expliquer les résultats de l'ELISA Em2plus différents pour ces 2 patients. Dans l'hydatidose osseuse primitive, l'immunodiagnostic ne présenterait pas un grand intérêt diagnostique, comme le montre les tests sérologiques souvent négatifs (62).

4.2.3. Défaillance des tests rapportée dans la littérature

Les tests sérologiques ont été récemment améliorés et sont connus pour être plus sûrs dans l'échinococcose alvéolaire que dans l'hydatidose (122). Cependant des défaillances de la sérologie dans certains cas d'échinococcoses alvéolaires ont été décrites dans la littérature.

Persat et coll. rapportent le cas d'une échinococcose alvéolaire hépatique présentant des résultats négatifs en ELISA Em2plus et en immunoelectrophorèse alors que l'immunofluorescence et l'ELISA utilisant comme des antigènes bruts d'*E. granulosus* ont montré des résultats positifs (83). Le diagnostic d'infection à *E. multilocularis* a été affirmé par PCR réalisée sur biopsie hépatique. Ce cas illustre ainsi un diagnostic rendu difficile par la réponse sérologique atypique avec une faible réponse anti-*E. multilocularis* et une importante réaction croisée avec *E. granulosus*. Il a été suggéré que ce profil sérologique inhabituel pourrait être relié à une anomalie immunologique de l'hôte.

Un auteur a rapporté le cas inhabituel d'échinococcose alvéolaire hépatique chez un jeune enfant sidéen où aucune réponse humorale ni cellulaire n'a été détectée.

Un résultat négatif a été trouvé en ELISA Em2plus et en ELISA HCF. La preuve diagnostique a été obtenue par l'anatomo-pathologie. L'immunodiagnostic ne détecte aucune réponse à la réaction lymphoproliférative *in vitro*.

5. ASPECT MOLECULAIRE

5.1. INTERET DIAGNOSTIQUE DE LA PCR

Pour le patient 1, un diagnostic d'hydatidose était posé par les tests sérologiques mais l'identification précise du parasite par PCR a permis de rectifier le diagnostic d'hydatidose en échinococcose alvéolaire. Dans le cas 2, la PCR a permis de confirmer avec certitude le diagnostic d'échinococcose alvéolaire évoqué par l'analyse anatomo-pathologique et les tests sérologiques.

Nos deux cas illustrent le fait que les tests sérologiques ou l'analyse anatomo-pathologique puissent s'avérer insuffisants pour différencier avec certitude l'hydatidose de l'échinococcose alvéolaire dans les formes atypiques extra-hépatiques. Or la présence des deux espèces *E. multilocularis* et *E. granulosus* dans certains pays rend nécessaire la distinction du parasite aussi précise que possible. Il est probable que les cas d'échinococcose alvéolaire osseuse soient sous-estimés, et pour certains, comptabilisés dans les cas d'hydatidose osseuse, en raison de la difficulté à évoquer ce diagnostic et à identifier avec précision l'agent pathogène.

L'analyse moléculaire est actuellement considérée comme un outil diagnostique complémentaire utile et notamment dans les formes atypiques d'échinococcose. Quelques publications ont rapporté l'utilisation de la PCR dans le diagnostic d'échinococcose chez l'homme. Plusieurs auteurs ont mis en évidence l'intérêt de la caractérisation moléculaire dans le diagnostic de l'échinococcose alvéolaire et notamment dans les cas où les tests sérologiques échouent (64, 79, 83) et dans les localisations inhabituelles (20). Bruschi et coll. ont rapporté le premier cas d'hydatidose vertébrale dont le diagnostic a été confirmé par une réaction PCR réalisée sur un liquide de ponction (12).

5.2. VARIATION GENETIQUE DU PARASITE

Au sein de l'espèce *E. multilocularis*, il semble y avoir quelques différences biologiques entre les isolats américains et ceux d'Eurasie, mais les différences génétiques semblent mineures (48). Quelques différences dans la région codante 18 srRNA ont été mises en évidence entre ces deux souches (92). Mais peu de données existent dans la littérature sur les variations génétiques au sein de l'espèce. Des techniques de microsatellites ont été développées afin d'analyser le polymorphisme d'*E. multilocularis* dans le gène U1 snRNA (9). La publication récente de la séquence complète de l'ADN mitochondrial de *E. multilocularis* va servir à de futures études moléculaires de polymorphisme (80).



Certains auteurs ont rapporté des variations de virulence (70) et d'expression antigénique (38) entre différents isolats au sein de l'espèce. Il serait ainsi intéressant de typer nos deux isolats et de les inclure dans une étude de polymorphisme.

MEMOIRE SOUTENU PAR : Sophie GEORGES (épouse CRON)

TITRE : DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE L'ECHINOCOCCOSE ALVEOLAIRE : INTERET DE LA PCR DANS LES LOCALISATIONS INHABITUELLES. A propos de deux infections osseuses diagnostiquées à Strasbourg en 2003.

CONCLUSION

L'échinococcose alvéolaire est une anthroponose rare mais potentiellement mortelle, causée par la larve d'un cestode, *Echinococcus multilocularis*. Le diagnostic est basé sur les données épidémiologiques, radiologiques et sérologiques. Les lésions sont dans la majorité des cas hépatiques voire pulmonaires. Dans certains cas, le diagnostic peut s'avérer difficile et l'interprétation sérologique délicate. Ces dernières années, de nouveaux outils diagnostiques sérologiques et moléculaires se sont développés afin d'améliorer la qualité du diagnostic d'échinococcose alvéolaire. En détectant spécifiquement le parasite, la PCR peut être d'un apport diagnostique majeur. Plusieurs amorces ont été développées et utilisées dans des études épidémiologiques pour détecter de l'ADN d'*E. multilocularis* dans les fèces d'animaux. Très peu de publications rapportent l'utilisation de la PCR comme outil diagnostique chez l'homme.

Le but de notre mémoire était de discuter de la place et de l'intérêt de la PCR dans le diagnostic d'échinococcose alvéolaire avec localisation atypique, en s'appuyant sur deux cas extrêmement rares de lésions osseuses vertébrales diagnostiqués en 2003 à Strasbourg. Très peu de cas de localisations osseuses ont été décrits à ce jour. De plus, l'absence de lésions hépatiques patentes rapportée dans nos observations est un fait extrêmement rare.

Pour le diagnostic biologique, nous avons utilisé une démarche basée sur différents tests sérologiques : ELISA utilisant comme antigène du liquide de kyste hydatique, ELISA Em2plus et LDBIO *Echinococcus* Western Blot. Deux réactions PCR détectant *E. multilocularis* et *E. granulosus* ont été réalisées sur des biopsies et divers échantillons biologiques.

Le premier cas présente un tableau clinique marqué par des abcès intra-abdominaux et une ostéolyse de D10 à L2. Après 19 ans d'erreur diagnostique de tuberculose, le diagnostic est rectifié par une sérologie positive en ELISA Em2plus et un Western Blot présentant un profil de bande en faveur d'*E. multilocularis*. Le diagnostic sera confirmé par PCR réalisée sur un liquide de fistule cutanée. Le patient décèdera d'une encéphalopathie dont l'origine échinococcique ne peut être exclue. Le deuxième cas présente une lyse osseuse avec tassement-fracture vertébrale en D10-D11 d'évolution très rapide et nécessitant en quelques

mois deux décompressions médullaires ainsi qu'une ostéosynthèse. Le diagnostic est évoqué par l'étude anatomo-pathologique d'une biopsie per-opératoire. La PCR confirmera l'infection à *E. multilocularis*. Il est intéressant de noter que les tests sérologiques ont échoués dans le diagnostic avec des résultats négatifs en ELISA Em2plus et un profil de bandes en faveur d'*E. granulosus* au Western Blot.

Ces observations illustrent les difficultés du diagnostic d'échinococcose alvéolaire osseuse, en particulier du diagnostic différentiel avec l'atteinte tuberculeuse et l'hydatidose osseuse. Or le diagnostic précoce d'échinococcose alvéolaire peut améliorer significativement la qualité de la prise en charge et le pronostic de la maladie. L'auteur s'attache ainsi à montrer les limites de la sérologie et surtout le rôle crucial de l'anatomo-pathologie et de la PCR dans le diagnostic des formes extra-hépatiques là où *E. multilocularis* est rarement évoqué.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER.

Grenoble, le

LE DOYEN
P. DEMENGE



LE PRESIDENT DU MEMOIRE
PROFESSEUR B. PESSON

A handwritten signature consisting of several overlapping loops and lines.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Ammann, R. W., A. Fleiner-Hoffmann, F. Grimm, and J. Eckert.** 1998. Long-term mebendazole therapy may be parasitocidal in alveolar echinococcosis. *J Hepatol* **29**:994-8.
2. **Bresson-Hadni, S., S. Koch, I. Beurton, D. A. Vuitton, B. Bartholomot, S. Hrusovsky, B. Heyd, D. Lenys, A. Minello, M. C. Becker, C. Vanlemmens, G. A. Manton, and J. P. Miguet.** 1999. Primary disease recurrence after liver transplantation for alveolar echinococcosis: long-term evaluation in 15 patients. *Hepatology* **30**:857-64.
3. **Bresson-Hadni, S., S. Koch, J. P. Miguet, M. Gillet, G. A. Manton, B. Heyd, and D. A. Vuitton.** 2003. Indications and results of liver transplantation for Echinococcus alveolar infection: an overview. *Langenbecks Arch Surg* **388**:231-8.
4. **Bresson-Hadni, S., J. J. Laplante, D. Lenys, P. Rohmer, B. Gottstein, P. Jacquier, P. Mercet, J. P. Meyer, J. P. Miguet, and D. A. Vuitton.** 1994. Seroepidemiologic screening of Echinococcus multilocularis infection in a European area endemic for alveolar echinococcosis. *Am J Trop Med Hyg* **51**:837-46.
5. **Bresson-Hadni, S., D. Vuitton, J. P. Miguet, P. Rohmer, G. Manton, and M. Gillet.** 1994. Echinococose alvéolaire hépatique, *Encycl Méd Chir. Traité d'Hépatologie.*, vol. 7-023-A-20, Paris.
6. **Bresson-Hadni, S., and D. A. Vuitton.** 2001. Echinococcoses. *Rev Prat* **51**:2091-8.
7. **Bresson-Hadni, S., D. A. Vuitton, B. Bartholomot, B. Heyd, D. Godart, J. P. Meyer, S. Hrusovsky, M. C. Becker, G. Manton, D. Lenys, and J. P. Miguet.** 2000. A twenty-year history of alveolar echinococcosis: analysis of a series of 117 patients from eastern France. *Eur J Gastroenterol Hepatol* **12**:327-36.
8. **Bresson-Hadni, S., D. A. Vuitton, D. Lenys, M. Liance, E. Racadot, and J. P. Miguet.** 1989. Cellular immune response in Echinococcus multilocularis infection in humans. I. Lymphocyte reactivity to Echinococcus antigens in patients with alveolar echinococcosis. *Clin Exp Immunol* **78**:61-6.
9. **Bretagne, S., B. Assouline, D. Vidaud, R. Houin, and M. Vidaud.** 1996. Echinococcus multilocularis: microsatellite polymorphism in U1 snRNA genes. *Exp Parasitol* **82**:324-8.
10. **Bretagne, S., J. P. Guillou, M. Morand, and R. Houin.** 1993. Detection of Echinococcus multilocularis DNA in fox faeces using DNA amplification. *Parasitology* **106** (Pt 2):193-9.
11. **Briant, J. F., P. Richez, E. Belliol, D. Barea, A. Raillat, P. Salamand, G. E. Gueguen, C. Arteaga, and G. Clavel.** 1998. Osteoarticular involvement in parasitic diseases: bone echinococcosis. *J Radiol* **79**:1351-7.
12. **Bruschi, F., E. Ortona, S. Ioppolo, A. Siracusano, and M. Bonadio.** 1999. Immunochemical and molecular characterization of vertebral hydatid fluid. *Scand J Infect Dis* **31**:322-3.
13. **Claudon, M., S. Bracard, F. Plenat, D. Regent, P. Bernadac, and L. Picard.** 1987. Spinal involvement in alveolar echinococcosis: assessment of two cases. *Radiology* **162**:571-2.
14. **Craig, P. S., M. T. Rogan, and M. Campos-Ponce.** 2003. Echinococcosis: disease, detection and transmission. *Parasitology* **127** Suppl:S5-20.
15. **Deplazes, P., P. Alther, I. Tanner, R. C. Thompson, and J. Eckert.** 1999. Echinococcus multilocularis coproantigen detection by enzyme-linked immunosorbent assay in fox, dog, and cat populations. *J Parasitol* **85**:115-21.

16. **Deplazes, P., A. Dinkel, and A. Mathis.** 2003. Molecular tools for studies on the transmission biology of *Echinococcus multilocularis*. *Parasitology* **127 Suppl**:S53-61.
17. **Deplazes, P., and J. Eckert.** 2001. Veterinary aspects of alveolar echinococcosis--a zoonosis of public health significance. *Vet Parasitol* **98**:65-87.
18. **Deplazes, P., and B. Gottstein.** 1991. A monoclonal antibody against *Echinococcus multilocularis* Em2 antigen. *Parasitology* **103 Pt 1**:41-9.
19. **Deplazes, P., D. Hegglin, S. Gloor, and T. Romig.** 2004. Wilderness in the city: the urbanization of *Echinococcus multilocularis*. *Trends Parasitol* **20**:77-84.
20. **Diebold-Berger, S., H. Khan, B. Gottstein, E. Puget, J. L. Frossard, and S. Remadi.** 1997. Cytologic diagnosis of isolated pancreatic alveolar hydatid disease with immunologic and PCR analyses. A case report. *Acta Cytol* **41**:1381-6.
21. **Dinkel, A., M. von Nickisch-Rosenegk, B. Bilger, M. Merli, R. Lucius, and T. Romig.** 1998. Detection of *Echinococcus multilocularis* in the definitive host: coprodiagnosis by PCR as an alternative to necropsy. *J Clin Microbiol* **36**:1871-6.
22. **Dorn, R., W. Kusswetter, and P. Wunsch.** 1984. Alveolar echinococcosis of the femur. *Acta Orthop Scand* **55**:371-4.
23. **Duewell, S., B. Marincek, G. K. von Schulthess, and R. Ammann.** 1990. MRT and CT in alveolar echinococcosis of the liver. *Rofo* **152**:441-5.
24. **Eckert, J.** 2003. Predictive values and quality control of techniques for the diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in definitive hosts. *Acta Trop* **85**:157-63.
25. **Eckert, J., and P. Deplazes.** 1999. Alveolar echinococcosis in humans: the current situation in Central Europe and the need for countermeasures. *Parasitol Today* **15**:315-9.
26. **Eckert, J., and P. Deplazes.** 2004. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev* **17**:107-35.
27. **Eckert, J., P. M. Schantz, R. B. Gasser, P. R. Torgerson, A. S. Bessonov, S. O. Movsessian, A. Thakur, F. Grimm, and M. A. Nikogossian.** 2001. Geographic distribution and prevalence, p. 100-142. *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.
28. **Eiermann, T. H., F. Bettens, P. Tiberghien, K. Schmitz, I. Beurton, S. Bresson-Hadni, R. W. Ammann, S. F. Goldmann, D. A. Vuitton, B. Gottstein, and P. Kern.** 1998. HLA and alveolar echinococcosis. *Tissue Antigens* **52**:124-9.
29. **Emery, I., C. Leclerc, K. Sengphommachanh, D. A. Vuitton, and M. Liance.** 1998. In vivo treatment with recombinant IL-12 protects C57BL/6J mice against secondary alveolar echinococcosis. *Parasite Immunol* **20**:81-91.
30. **Emery, I., M. Liance, and C. Leclerc.** 1997. Secondary *Echinococcus multilocularis* infection in A/J mice: delayed metacystode development is associated with Th1 cytokine production. *Parasite Immunol* **19**:493-503.
31. **Frosch, P. M., M. Frosch, T. Pfister, V. Schaad, and D. Bitter-Suermann.** 1991. Cloning and characterisation of an immunodominant major surface antigen of *Echinococcus multilocularis*. *Mol Biochem Parasitol* **48**:121-30.
32. **Frosch, P. M., C. Geier, F. J. Kaup, A. Muller, and M. Frosch.** 1993. Molecular cloning of an echinococcal microtrichal antigen immunoreactive in *Echinococcus multilocularis* disease. *Mol Biochem Parasitol* **58**:301-10.
33. **Giraudoux, P., P. S. Craig, P. Delattre, G. Bao, B. Bartholomot, S. Harraga, J. P. Quere, F. Raoul, Y. Wang, D. Shi, and D. A. Vuitton.** 2003. Interactions between landscape changes and host communities can regulate *Echinococcus multilocularis* transmission. *Parasitology* **127 Suppl**:S121-31.

34. **Godot, V., S. Harraga, I. Beurton, M. Deschaseaux, E. Sarciron, B. Gottstein, and D. A. Vuitton.** 2000. Resistance/susceptibility to *Echinococcus multilocularis* infection and cytokine profile in humans. I. Comparison of patients with progressive and abortive lesions. *Clin Exp Immunol* **121**:484-90.
35. **Godot, V., S. Harraga, I. Beurton, P. Tiberghien, E. Sarciron, B. Gottstein, and D. A. Vuitton.** 2000. Resistance/susceptibility to *Echinococcus multilocularis* infection and cytokine profile in humans. II. Influence of the HLA B8, DR3, DQ2 haplotype. *Clin Exp Immunol* **121**:491-8.
36. **Godot, V., S. Harraga, M. Deschaseaux, S. Bresson-Hadni, B. Gottstein, D. Emilie, and D. A. Vuitton.** 1997. Increased basal production of interleukin-10 by peripheral blood mononuclear cells in human alveolar echinococcosis. *Eur Cytokine Netw* **8**:401-8.
37. **Godot, V., S. Harraga, G. Podoprigora, M. Liance, K. Bardonnnet, and D. A. Vuitton.** 2003. IFN alpha-2a protects mice against a helminth infection of the liver and modulates immune responses. *Gastroenterology* **124**:1441-50.
38. **Gottstein, B.** 1991. *Echinococcus multilocularis*: antigenic variance between different parasite isolates. *Parasitol Res* **77**:359-61.
39. **Gottstein, B.** 1985. Purification and characterization of a specific antigen from *Echinococcus multilocularis*. *Parasite Immunol* **7**:201-12.
40. **Gottstein, B., and R. Felleisen.** 1995. Protective immune mechanisms against the metacestode of *Echinococcus multilocularis*. *Parasitol Today* **11**:320-326.
41. **Gottstein, B., P. Jacquier, S. Bresson-Hadni, and J. Eckert.** 1993. Improved primary immunodiagnosis of alveolar echinococcosis in humans by an enzyme-linked immunosorbent assay using the Em2plus antigen. *J Clin Microbiol* **31**:373-6.
42. **Gottstein, B., B. Mesarina, I. Tanner, R. W. Ammann, J. F. Wilson, J. Eckert, and A. Lanier.** 1991. Specific cellular and humoral immune responses in patients with different long-term courses of alveolar echinococcosis (infection with *Echinococcus multilocularis*). *Am J Trop Med Hyg* **45**:734-42.
43. **Gottstein, B., and M. R. Mowatt.** 1991. Sequencing and characterization of an *Echinococcus multilocularis* DNA probe and its use in the polymerase chain reaction. *Mol Biochem Parasitol* **44**:183-93.
44. **Gottstein, B., F. Saucy, P. Deplazes, J. Reichen, G. Demierre, A. Busato, C. Zuercher, and P. Pugin.** 2001. Is high prevalence of *Echinococcus multilocularis* in wild and domestic animals associated with disease incidence in humans? *Emerg Infect Dis* **7**:408-12.
45. **Gottstein, B., F. Saucy, C. Wyss, M. Siegenthaler, P. Jacquier, M. Schmitt, M. Brossard, and G. Demierre.** 1996. Investigations on a Swiss area highly endemic for *Echinococcus multilocularis*. *Appl Parasitol* **37**:129-36.
46. **Grimm, F., F. E. Maly, J. Lu, and R. Llano.** 1998. Analysis of specific immunoglobulin G subclass antibodies for serological diagnosis of echinococcosis by a standard enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol* **5**:613-6.
47. **Guerret, S., D. A. Vuitton, M. Liance, C. Pater, and J. P. Carbillet.** 1998. *Echinococcus multilocularis*: relationship between susceptibility/resistance and liver fibrogenesis in experimental mice. *Parasitol Res* **84**:657-67.
48. **Haag, K. L., A. Zaha, A. M. Araujo, and B. Gottstein.** 1997. Reduced genetic variability within coding and non-coding regions of the *Echinococcus multilocularis* genome. *Parasitology* **115** (Pt 5):521-9.
49. **Hammani, L., R. Dafiri, and F. Imani.** 2002. Ostéopathies et ostéoarthropathies parasitaires, *Encycl Méd Chir, Appareil locomoteur*, vol. 31-225-A-10, Paris.
50. **Hayasaka, K., T. Aburano, and Y. Tanaka.** 1995. MR imaging in alveolar echinococcosis of bone. *Radiat Med* **13**:179-82.

51. **Hegglin, D., P. I. Ward, and P. Deplazes.** 2003. Anthelmintic baiting of foxes against urban contamination with *Echinococcus multilocularis*. *Emerg Infect Dis* **9**:1266-72.
52. **Helbig, M., P. Frosch, P. Kern, and M. Frosch.** 1993. Serological differentiation between cystic and alveolar echinococcosis by use of recombinant larval antigens. *J Clin Microbiol* **31**:3211-5.
53. **Hofer, S., S. Gloor, U. Muller, A. Mathis, D. Hegglin, and P. Deplazes.** 2000. High prevalence of *Echinococcus multilocularis* in urban red foxes (*Vulpes vulpes*) and voles (*Arvicola terrestris*) in the city of Zurich, Switzerland. *Parasitology* **120** (Pt 2):135-42.
54. **Honma, K., N. Sasano, N. Andoh, and K. Iwai.** 1982. Hepatic alveolar echinococcosis invading pancreas, vertebrae, and spinal cord. *Hum Pathol* **13**:944-6.
55. **Houin, R., and M. Liance.** 2000. Alveolar echinococcosis: a dreadful orphan disease. *Presse Med* **29**:1417-24.
56. **Hulsmeier, A. J., P. M. Gehrig, R. Geyer, R. Sack, B. Gottstein, P. Deplazes, and P. Kohler.** 2002. A major *Echinococcus multilocularis* antigen is a mucin-type glycoprotein. *J Biol Chem* **277**:5742-8.
57. **Ito, A., L. Ma, M. Itoh, S. Y. Cho, Y. Kong, S. Y. Kang, T. Horii, X. L. Pang, M. Okamoto, T. Yamashita, M. W. Lightowers, X. G. Wang, and Y. H. Liu.** 1997. Immunodiagnosis of alveolar echinococcosis by enzyme-linked immunosorbent assay using a partially purified Em18/16 enriched fraction. *Clin Diagn Lab Immunol* **4**:57-9.
58. **Ito, A., Y. Sako, H. Yamasaki, W. Mamuti, K. Nakaya, M. Nakao, and Y. Ishikawa.** 2003. Development of Em18-immunoblot and Em18-ELISA for specific diagnosis of alveolar echinococcosis. *Acta Trop* **85**:173-82.
59. **Ito, A., P. M. Schantz, and J. F. Wilson.** 1995. Em18, a new serodiagnostic marker for differentiation of active and inactive cases of alveolar hydatid disease. *Am J Trop Med Hyg* **52**:41-4.
60. **Ito, A., N. Xiao, M. Liance, M. O. Sato, Y. Sako, W. Mamuti, Y. Ishikawa, M. Nakao, H. Yamasaki, K. Nakaya, K. Bardonnnet, S. Bresson-Hadni, and D. A. Vuitton.** 2002. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with affinity-purified Em18 and an ELISA with recombinant Em18 for differential diagnosis of alveolar echinococcosis: results of a blind test. *J Clin Microbiol* **40**:4161-5.
61. **Jiang, L., H. Wen, and A. Ito.** 2001. Immunodiagnostic differentiation of alveolar and cystic echinococcosis using ELISA test with 18-kDa antigen extracted from *Echinococcus protoscoleces*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **95**:285-8.
62. **Karadereler, S., M. Orakdogan, K. Kilic, and C. Ozdogan.** 2002. Primary spinal extradural hydatid cyst in a child: case report and review of the literature. *Eur Spine J* **11**:500-3.
63. **Kern, P., K. Bardonnnet, E. Renner, H. Auer, Z. Pawlowski, R. W. Ammann, and D. A. Vuitton.** 2003. European echinococcosis registry: human alveolar echinococcosis, Europe, 1982-2000. *Emerg Infect Dis* **9**:343-9.
64. **Kern, P., P. Frosch, M. Helbig, J. G. Wechsler, S. Usadel, K. Beckh, R. Kunz, R. Lucius, and M. Frosch.** 1995. Diagnosis of *Echinococcus multilocularis* infection by reverse-transcription polymerase chain reaction. *Gastroenterology* **109**:596-600.
65. **Klages, F.** 1930. Der alveoläre Echinokokkus in Genf: insbesondere sein Auftreten in Knochen. *Virchows Arch* **278**:125-148.
66. **Kreidl, P., F. Allerberger, G. Judmaier, H. Auer, H. Aspöck, and A. J. Hall.** 1998. Domestic pets as risk factors for alveolar hydatid disease in Austria. *Am J Epidemiol* **147**:978-81.

67. **Kunze, V., G. Layer, R. Bruning, and M. Nagele.** 1992. "Metastasizing" Echinococcus alveolar of the liver. *Radiologe* 32:444-7.
68. **Lassegue, A., J. M. Estavoyer, H. Minazzi, T. Barale, M. Gillet, D. Vuitton, and J. P. Miguet.** 1984. Treatment of human alveolar echinococcosis with flubendazole. Clinical, morphological and immunological study. *Gastroenterol Clin Biol* 8:314-20.
69. **Lawton, P., A. Hemphill, P. Deplazes, B. Gottstein, and M. E. Sarciron.** 1997. Echinococcus multilocularis metacestodes: immunological and immunocytochemical analysis of the relationships between alkaline phosphatase and the Em2 antigen. *Exp Parasitol* 87:142-9.
70. **Liance, M., S. Bresson-Hadni, D. Vuitton, S. Bretagne, and R. Houin.** 1990. Comparison of the viability and developmental characteristics of Echinococcus multilocularis isolates from human patients in France. *Int J Parasitol* 20:83-6.
71. **Liance, M., R. Houin, and L. Pontegnie.** 1983. Comparative values of homologous and heterologous antigens in the diagnosis of hydatidosis and alveolar echinococcosis using immunofluorescence. *Bull Soc Pathol Exot Filiales* 76:417-24.
72. **Liance, M., V. Janin, S. Bresson-Hadni, D. A. Vuitton, R. Houin, and R. Piarroux.** 2000. Immunodiagnosis of Echinococcus infections: confirmatory testing and species differentiation by a new commercial Western Blot. *J Clin Microbiol* 38:3718-21.
73. **Ma, L., A. Ito, Y. H. Liu, X. G. Wang, Y. Q. Yao, D. G. Yu, and Y. T. Chen.** 1997. Alveolar echinococcosis: Em2plus-ELISA and Em18-western blots for follow-up after treatment with albendazole. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 91:476-8.
74. **Mathis, A., P. Deplazes, and J. Eckert.** 1996. An improved test system for PCR-based specific detection of Echinococcus multilocularis eggs. *J Helminthol* 70:219-22.
75. **Merkle, E. M., E. Kramme, J. Vogel, S. Kramer, M. Schulte, S. Usadel, P. Kern, and H. J. Brambs.** 1997. Bone and soft tissue manifestations of alveolar echinococcosis. *Skeletal Radiol* 26:289-92.
76. **Miralles, A., L. Bracamonte, A. Pavie, V. Bors, G. Rabago, I. Gandjbakhch, and C. Cabrol.** 1994. Cardiac echinococcosis. Surgical treatment and results. *J Thorac Cardiovasc Surg* 107:184-90.
77. **Monnier, P., F. Cliquet, M. Aubert, and S. Bretagne.** 1996. Improvement of a polymerase chain reaction assay for the detection of Echinococcus multilocularis DNA in faecal samples of foxes. *Vet Parasitol* 67:185-95.
78. **Muller, N., B. Gottstein, M. Vogel, K. Flury, and T. Seebeck.** 1989. Application of a recombinant Echinococcus multilocularis antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay for immunodiagnosis of human alveolar echinococcosis. *Mol Biochem Parasitol* 36:151-9.
79. **Myjak, P., W. Nahorski, H. Pietkiewicz, M. von Nickisch-Roseneck, J. Stolarczyk, E. Kacprzak, I. Felczak-Korzybska, B. Szostakowska, and R. Lucius.** 2003. Molecular confirmation of human alveolar echinococcosis in Poland. *Clin Infect Dis* 37:e121-5.
80. **Nakao, M., Y. Sako, and A. Ito.** 2003. Isolation of polymorphic microsatellite loci from the tapeworm Echinococcus multilocularis. *Infect Genet Evol* 3:159-63.
81. **Nozais, J. P., A. Datry, and M. Danis.** 1996. *Traité de parasitologie médicale*, Paris.
82. **Pawlowski, Z. 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 humans: clinical aspects, diagnosis and treatment, p. 205-219. *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.
83. **Persat, F., C. Pariset, B. Gottstein, J. Ninet, and S. Picot.** 2004. Alveolar echinococcosis in a patient without hepatic disturbance and with unusual humoral immune response. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.
 84. **Pertuiset, E.** 1998. Tuberculose vertébrale de l'adulte, *Encycl Méd Chir. Appareil locomoteur*, vol. 15-852-A-10, Paris.
 85. **Petavy, A. F., F. Tenora, S. Deblock, and V. Sergent.** 2000. Echinococcus multilocularis in domestic cats in France. A potential risk factor for alveolar hydatid disease contamination in humans. *Vet Parasitol* **87**:151-6.
 86. **Poretti, D., E. Felleisen, F. Grimm, M. Pfister, F. Teuscher, C. Zuercher, J. Reichen, and B. Gottstein.** 1999. Differential immunodiagnosis between cystic hydatid disease and other cross-reactive pathologies. *Am J Trop Med Hyg* **60**:193-8.
 87. **Raoul, F., P. Deplazes, N. Nonaka, R. Piarroux, D. A. Vuitton, and P. Giraudoux.** 2001. Assessment of the epidemiological status of Echinococcus multilocularis in foxes in France using ELISA coprotests on fox faeces collected in the field. *Int J Parasitol* **31**:1579-88.
 88. **Rausch, R. L., J. F. Wilson, P. M. Schantz, and B. J. McMahon.** 1987. Spontaneous death of Echinococcus multilocularis: cases diagnosed serologically (by Em2 ELISA) and clinical significance. *Am J Trop Med Hyg* **36**:576-85.
 89. **Reuter, S., B. Jensen, K. Buttenschoen, W. Kratzer, and P. Kern.** 2000. Benzimidazoles in the treatment of alveolar echinococcosis: a comparative study and review of the literature. *J Antimicrob Chemother* **46**:451-6.
 90. **Reuter, S., K. Nussle, O. Kolokythas, U. Haug, A. Rieber, P. Kern, and W. Kratzer.** 2001. Alveolar liver echinococcosis: a comparative study of three imaging techniques. *Infection* **29**:119-25.
 91. **Reuter, S., H. M. Seitz, P. Kern, and T. Junghanss.** 2000. Extrahepatic alveolar echinococcosis without liver involvement: a rare manifestation. *Infection* **28**:187-92.
 92. **Rinder, H., R. L. Rausch, K. Takahashi, H. Kopp, A. Thomschke, and T. Loscher.** 1997. Limited range of genetic variation in Echinococcus multilocularis. *J Parasitol* **83**:1045-50.
 93. **Romig, T.** 2003. Epidemiology of echinococcosis. *Langenbecks Arch Surg* **388**:209-17.
 94. **Sailer, M., B. Soelder, F. Allerberger, D. Zaknun, H. Feichtinger, and B. Gottstein.** 1997. Alveolar echinococcosis of the liver in a six-year-old girl with acquired immunodeficiency syndrome. *J Pediatr* **130**:320-3.
 95. **Sakai, H., N. Nonaka, K. Yagi, Y. Oku, and M. Kamiya.** 1998. Coproantigen detection in a survey of Echinococcus multilocularis infection among red foxes, *Vulpes vulpes schrencki*, in Hokkaido, Japan. *J Vet Med Sci* **60**:639-41.
 96. **Sako, Y., M. Nakao, K. Nakaya, H. Yamasaki, B. Gottstein, M. W. Lightowers, P. M. Schantz, and A. Ito.** 2002. Alveolar echinococcosis: characterization of diagnostic antigen Em18 and serological evaluation of recombinant Em18. *J Clin Microbiol* **40**:2760-5.
 97. **Sarciron, E. M., S. Bresson-Hadni, M. Mercier, P. Lawton, C. Durantou, D. Lenys, A. F. Petavy, and D. A. Vuitton.** 1997. Antibodies against Echinococcus multilocularis alkaline phosphatase as markers for the specific diagnosis and the serological monitoring of alveolar echinococcosis. *Parasite Immunol* **19**:61-8.
 98. **Sarciron, M. E., W. Hamoud, G. Azzar, and A. F. Petavy.** 1991. Alkaline phosphatase from Echinococcus multilocularis: purification and characterization. *Comp Biochem Physiol B* **100**:253-8.

99. **Stefanic, S., B. S. Shaikenov, P. Deplazes, A. Dinkel, P. R. Torgerson, and A. Mathis.** 2004. Polymerase chain reaction for detection of patent infections of *Echinococcus granulosus* ("sheep strain") in naturally infected dogs. *Parasitol Res* **92**:347-51.
100. **Stieger, C., D. Heggin, G. Schwarzenbach, A. Mathis, and P. Deplazes.** 2002. Spatial and temporal aspects of urban transmission of *Echinococcus multilocularis*. *Parasitology* **124**:631-40.
101. **Strohmaier, W. L., K. H. Bichler, D. M. Wilbert, and H. M. Seitz.** 1990. Alveolar echinococcosis with involvement of the ureter and testis. *J Urol* **144**:733-4.
102. **Tackmann, K., U. Loschner, H. Mix, C. Staubach, H. H. Thulke, M. Ziller, and F. J. Conraths.** 2001. A field study to control *Echinococcus multilocularis*-infections of the red fox (*Vulpes vulpes*) in an endemic focus. *Epidemiol Infect* **127**:577-87.
103. **Taratuto, A. L., and S. M. Venturiello.** 1997. Echinococcosis. *Brain Pathol* **7**:673-9.
104. **Thompson, R. C. A., and D. P. McManus.** 2001. Etiology : parasites and life-cycles, p. 1-15. *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.
105. **Toussaint, F., P. Père, L. Le Chaffotec, I. Chary-Valckenaere, and J. Pourel.** 2000. Echinococose alvéolaire à localisation vertébrale. *La Lettre du Rhumatologue* **260**:36-38.
106. **van der Giessen, J. W., Y. B. Rombout, J. H. Franchimont, L. P. Limper, and W. L. Homan.** 1999. Detection of *Echinococcus multilocularis* in foxes in The Netherlands. *Vet Parasitol* **82**:49-57.
107. **Veit, P., B. Bilger, V. Schad, J. Schafer, W. Frank, and R. Lucius.** 1995. Influence of environmental factors on the infectivity of *Echinococcus multilocularis* eggs. *Parasitology* **110** (Pt 1):79-86.
108. **Vergne, P., and R. Treves.** 1998. Infectious spondylodiscitis. Etiology, diagnosis, progression and treatment. *Rev Prat* **48**:2065-71.
109. **Vogel, H.** 1955. The life cycle of the European alveolar echinococcus and its classification. *Dtsch Med Wochenschr* **80**:931-2.
110. **Vogel, M., N. Muller, B. Gottstein, K. Flury, J. Eckert, and T. Seebeck.** 1990. *Echinococcus multilocularis*: characterization of a DNA probe. *Acta Trop* **48**:109-16.
111. **Vuitton, D. A.** 2003. The ambiguous role of immunity in echinococcosis: protection of the host or of the parasite? *Acta Trop* **85**:119-32.
112. **Vuitton, D. A.** 2004. Echinococcosis and allergy. *Clin Rev Allergy Immunol* **26**:93-104.
113. **Vuitton, D. A., S. Bresson-Hadni, L. Laroche, D. Kaiserlian, S. Guerret-Stocker, J. L. Bresson, and M. Gillet.** 1989. Cellular immune response in *Echinococcus multilocularis* infection in humans. II. Natural killer cell activity and cell subpopulations in the blood and in the periparasitic granuloma of patients with alveolar echinococcosis. *Clin Exp Immunol* **78**:67-74.
114. **Vuitton, D. A., S. Bresson-Hadni, D. Lenys, F. Flausse, M. Liance, P. Wattre, J. P. Miguet, and A. Capron.** 1988. IgE-dependent humoral immune response in *Echinococcus multilocularis* infection: circulating and basophil-bound specific IgE against *Echinococcus* antigens in patients with alveolar echinococcosis. *Clin Exp Immunol* **71**:247-52.
115. **Vuitton, D. A., S. Bresson-Hadni, M. Liance, J. P. Meyer, P. Giraudoux, and D. Lenys.** 1990. Human alveolar echinococcosis. Epidemiologic hazard or immunologic incident? *Gastroenterol Clin Biol* **14**:124-30.

116. **Vuitton, D. A., H. Zhou, S. Bresson-Hadni, Q. Wang, M. Piarroux, F. Raoul, and P. Giraudoux.** 2003. Epidemiology of alveolar echinococcosis with particular reference to China and Europe. *Parasitology* **127 Suppl**:S87-107.
117. **Walker, M., A. Baz, S. Dematteis, M. Stettler, B. Gottstein, J. Schaller, and A. Hemphill.** 2004. Isolation and characterization of a secretory component of *Echinococcus multilocularis* metacestodes potentially involved in modulating the host-parasite interface. *Infect Immun* **72**:527-36.
118. **Wen, H., S. Bresson-Hadni, D. A. Vuitton, D. Lenys, B. M. Yang, Z. X. Ding, and P. S. Craig.** 1995. Analysis of immunoglobulin G subclass in the serum antibody responses of alveolar echinococcosis patients after surgical treatment and chemotherapy as an aid to assessing the outcome. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **89**:692-7.
119. **Wen, H., and P. S. Craig.** 1994. Immunoglobulin G subclass responses in human cystic and alveolar echinococcosis. *Am J Trop Med Hyg* **51**:741-8.
120. **Yamashita, K., K. Furuya, T. Namieno, N. Sato, T. Shimamura, Y. Une, and J. Uchino.** 1997. Intra-peritoneal dissemination probably caused by needle biopsy of alveolar echinococcosis of the liver: experimental study. *World J Surg* **21**:856-9.
121. **Yap, K. W., R. C. Thompson, and I. D. Pawlowski.** 1988. The development of nonradioactive total genomic probes for strain and egg differentiation in taeniid cestodes. *Am J Trop Med Hyg* **39**:472-7.
122. **Zhang, W., J. Li, and D. P. McManus.** 2003. Concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin Microbiol Rev* **16**:18-36.

MEMOIRE SOUTENU PAR : Sophie GEORGES (épouse CRON)

TITRE : DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE L'ECHINOCOCCOSE ALVEOLAIRE : INTERET DE LA PCR DANS LES LOCALISATIONS INHABITUELLES. A propos de deux infections osseuses diagnostiquées à Strasbourg en 2003.

RESUME

L'échinococcose alvéolaire est une anthroponose rare à localisation préférentiellement hépatique, dont le diagnostic est généralement basé sur les données épidémiologiques, cliniques, radiologiques et sérologiques. Dans certains cas atypiques, le diagnostic peut s'avérer difficile. Ces dernières années, de nouveaux outils diagnostiques sérologiques et moléculaires se sont développés afin d'améliorer la qualité du diagnostic.

Notre travail a évalué la place et l'intérêt de la PCR dans le diagnostic d'échinococcose alvéolaire avec localisation atypique, en s'appuyant sur deux cas de lésions vertébrales diagnostiqués en 2003 à Strasbourg. La localisation osseuse ainsi que l'absence de lésions hépatiques patentes rapportées dans nos observations sont extrêmement rares.

Ces observations illustrent les difficultés du diagnostic d'échinococcose alvéolaire osseuse, en particulier du diagnostic différentiel avec l'atteinte tuberculeuse et l'hydatidose osseuse. Des réactions PCR détectant *E. multilocularis* et *E. granulosus* réalisées sur un liquide de fistule cutanée (cas #1) et sur des biopsies (cas #2) ont permis de confirmer le diagnostic d'échinococcose alvéolaire évoqué par la sérologie (cas #1) ou par l'examen anatomo-pathologique (cas #2). Il est intéressant de noter que les tests sérologiques ont échoué dans le diagnostic d'espèce pour le cas #2 avec des résultats négatifs en ELISA Em2plus et un profil de bandes en faveur d'*E. granulosus* au Western Blot *Echinococcus* LDBIO.

L'auteur s'attache ainsi à montrer les limites de la sérologie et surtout le rôle crucial de l'anatomo-pathologie et de la PCR dans le diagnostic des formes extra-hépatiques là où *E. multilocularis* est rarement évoqué.

Mots clés : Echinococcose alvéolaire, localisations osseuses, sérologies, PCR

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Ermanno Candolfi

Date et lieu de soutenance : 30 Novembre 2004 à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg