

UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2010

THESE N°: 88

Evaluation des techniques elisa et western-blot
dans le diagnostic de l'hydatidose sur des serums
marocains et tunisiens

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle. Nawel HABAIEB

Née le 08 Novembre 1984 à Tunis (Tunisie)

Pour l'Obtention du Doctorat en
Pharmacie

MOTS CLES: Hydatidose – Elisa – Western-Blot – Maroc – Tunisie – Sensibilité.

JURY

Mme. W. MELLOUKI

Professeur de Parasitologie

Mr. B.E. LMIMOUNI

Professeur Agrégé de Parasitologie

Mr. A. BELMEKKI

Professeur Agrégé d'Hématologie

Mme. Z. OUZZIF

Professeur Agrégé de Biochimie

Mr. R. MOUTAJ

Professeur Agrégé de Parasitologie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِمَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّا نَكُنَّا أَنتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)



**UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969	: Docteur Ahdemalek FARAJ
1969 – 1974	: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981	: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989	: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997	: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003	: Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen :	Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et Estudiantines	Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération	Professeur Ali BEN OMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie	Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général :	Monsieur El Hassan AHELLAT

PROFESSEURS :

Décembre 1967

1. Pr. TOUNSI Abdelkader Pathologie Chirurgicale

Février, Septembre, Décembre 1973

2. Pr. ARCHANE My Idriss* Pathologie Médicale
3. Pr. BENOMAR Mohammed Cardiologie
4. Pr. CHAOUI Abdellatif Gynécologie Obstétrique
5. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

6. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Février 1977

7. Pr. AGOUMI Abdelaziz Parasitologie
8. Pr. BENKIRANE ép. AGOUMI Najia Hématologie
9. Pr. EL BIED ép. IMANI Farida Radiologie

Février Mars et Novembre 1978

10. Pr. ARHARBI Mohamed Cardiologie
11. Pr. SLAOUI Ahdemalek Anesthésie Réanimation

Mars 1979

12. Pr. LAMDOUAR ép. BOUAZZAOUI Naima Pédiatrie

Mars, Avril et Septembre 1980

13. Pr. EL KHAMLIHI Abdeslam Neurochirurgie
14. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

- 15. Pr. BENOMAR Said*
- 16. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid
- 17. Pr. EL MANOUAR Mohamed
- 18. Pr. HAMMANI Ahmed*
- 19. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih
- 20. Pr. SBIHI Ahmed
- 21. Pr. TAOBANE Hamid*

Anatomie Pathologique
Cardiologie
Traumatologie-Orthopédie
Cardiologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

- 22. Pr. ABROUQ Ali*
- 23. Pr. BENOMAR M'hammed
- 24. Pr. BENSOUA Mohamed
- 25. Pr. BENOSMAN Abdellatif
- 26. Pr. CHBICHEB Abdelkrim
- 27. Pr. JIDAL Bouchaib*
- 28. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Biophysique
Chirurgie Maxillo-faciale
Physiologie

Novembre 1983

- 29. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
- 30. Pr. BALAFREJ Amina
- 31. Pr. BELLAKHDAR Fouad
- 32. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
- 33. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

- 34. Pr. BOUCETTA Mohamed*
- 35. Pr. EL OUEDDARI Brahim El Khalil
- 36. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
- 37. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
- 38. Pr. NAJI M'Barek *
- 39. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

- 40. Pr. BENJELLOUN Halima
- 41. Pr. BENSALD Younes
- 42. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
- 43. Pr. IHRAI Hssain *
- 44. Pr. IRAQI Ghali
- 45. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

- 46. Pr. AJANA Ali
- 47. Pr. AMMAR Fanid
- 48. Pr. CHAHED OUAZZANI ép.TAOBANE Houria
- 49. Pr. EL FASSY Fihri Mohamed Taoufiq
- 50. Pr. EL HAITEM Naïma
- 51. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
- 52. Pr. EL YAACOUBI Moradh
- 53. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
- 54. Pr. LACHKAR Hassan

Radiologie
Pathologie Chirurgicale
Gastro-Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Cardiologie
Chimie-Toxicologie Expertise
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne

55. Pr. OHAYON Victor*
56. Pr. YAHYAOUI Mohamed

Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

57. Pr. BENHMAMOUCHE Mohamed Najib
58. Pr. DAFIRI Rachida
59. Pr. FAIK Mohamed
60. Pr. FIKRI BEN BRAHIM Nouredine
61. Pr. HERMAS Mohamed
62. Pr. TOULOUNE Farida*

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Urologie
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

63. Pr. ABIR ép. KHALIL Saadia
64. Pr. ACHOUR Ahmed*
65. Pr. ADNANOUI Mohamed
66. Pr. AOUNI Mohamed
67. Pr. AZENDOUR BENACEUR*
68. Pr. BENAMEUR Mohamed*
69. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali
70. Pr. CHAD Bouziane
71. Pr. CHKOFF Rachid
72. Pr. FARCHADO Fouzia ép. BENABDELLAH
73. Pr. HACHIM Mohammed*
74. Pr. HACHIMI Mohamed
75. Pr. KHARBACH Aïcha
76. Pr. MANSOURI Fatima
77. Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda
78. Pr. SEDRATI Omar*
79. Pr. TAZI Saoud Anas
80. Pr. TERHZZAZ Abdellah*

Cardiologie
Chirurgicale
Médecine Interne
Médecine Interne
Oto-Rhino-Laryngologie
Radiologie
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale
Pédiatrique
Médecine-Interne
Urologie
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Neurologie
Dermatologie
Anesthésie Réanimation
Ophtalmologie

Février Avril Juillet et Décembre 1991

81. Pr. AL HAMANY Zaïtounia
82. Pr. ATMANI Mohamed*
83. Pr. AZZOUZI Abderrahim
84. Pr. BAYAHIA ép. HASSAM Rabéa
85. Pr. BELKOUCHI Abdelkader
86. Pr. BENABDELLAH Chahrazad
87. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdelatif
88. Pr. BENSOUDA Yahia
89. Pr. BERRAHO Amina
90. Pr. BEZZAD Rachid
91. Pr. CHABRAOUI Layachi
92. Pr. CHANA El Houssaine*
93. Pr. CHERRAH Yahia
94. Pr. CHOKAIRI Omar
95. Pr. FAJRI Ahmed*
96. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
97. Pr. KHATTAB Mohamed
98. Pr. NEJMI Maati
99. Pr. OUAALINE Mohammed*
100. Pr. SOULAYMANI ép. BENCHEIKH Rachida

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Hématologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Ophtalmologie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Pharmacologie

101. Pr. TAOUFIK Jamal

Décembre 1992

- 102. Pr. AHALLAT Mohamed
- 103. Pr. BENOUDA Amina
- 104. Pr. BENSOUA Adil
- 105. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
- 106. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
- 107. Pr. CHAKIR Nouredine
- 108. Pr. CHRAIBI Chafiq
- 109. Pr. DAOUDI Rajae
- 110. Pr. DEHAYNI Mohamed*
- 111. Pr. EL HADDOURY Mohamed
- 112. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
- 113. Pr. FELLAT Rokaya
- 114. Pr. GHAFIR Driss*
- 115. Pr. JIDDANE Mohamed
- 116. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
- 117. Pr. TAGHY Ahmed
- 118. Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

- 119. Pr. AGNAOU Lahcen
- 120. Pr. AL BAROUDI Saad
- 121. Pr. ARJI Moha*
- 122. Pr. BENCHERIFA Fatiha
- 123. Pr. BENJAAFAR Nouredine
- 124. Pr. BENJELLOUN Samir
- 125. Pr. BENRAIS Nozha
- 126. Pr. BOUNASSE Mohammed*
- 127. Pr. CAOUI Malika
- 128. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
- 129. Pr. EL AMRANI ép. AHALLAT Sabah
- 130. Pr. EL AOUD Rajae
- 131. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
- 132. Pr. EL HASSANI My Rachid
- 133. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
- 134. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
- 135. Pr. ERROUGANI Abdelkader
- 136. Pr. ESSAKALI Malika
- 137. Pr. ETTAYEBI Fouad
- 138. Pr. HADRI Larbi*
- 139. Pr. HDA Ali*
- 140. Pr. HASSAM Badredine
- 141. Pr. IFRINE Lahssan
- 142. Pr. JELTHI Ahmed
- 143. Pr. MAHFOUD Mustapha
- 144. Pr. MOUDENE Ahmed*
- 145. Pr. MOSSEDDAQ Rachid*
- 146. Pr. OULBACHA Said
- 147. Pr. RHRAB Brahim
- 148. Pr. SENOUCI ép. BELKHADIR Karima
- 149. Pr. SLAOUI Anas

Chimie thérapeutique

- Chirurgie Générale
- Microbiologie
- Anesthésie Réanimation
- Radiologie
- Gastro-Entérologie
- Radiologie
- Gynécologie Obstétrique
- Ophtalmologie
- Gynécologie Obstétrique
- Anesthésie Réanimation
- Neurochirurgie
- Cardiologie
- Médecine Interne
- Anatomie
- Gynécologie Obstétrique
- Chirurgie Générale
- Microbiologie

- Ophtalmologie
- Chirurgie Générale
- Anesthésie Réanimation
- Ophtalmologie
- Radiothérapie
- Chirurgie Générale
- Biophysique
- Pédiatrie
- Biophysique
- Endocrinologie et Maladies Métabolique
- Gynécologie Obstétrique
- Immunologie
- Traumatologie Orthopédie
- Radiologie
- Médecine Interne
- Chirurgie Cardio- Vasculaire
- Chirurgie Générale
- Immunologie
- Chirurgie Pédiatrique
- Médecine Interne
- Médecine Interne
- Dermatologie
- Chirurgie Générale
- Anatomie Pathologique
- Traumatologie Orthopédie
- Traumatologie Orthopédie
- Neurologie
- Chirurgie Générale
- Gynécologie Obstétrique
- Dermatologie
- Chirurgie Cardio-vasculaire

Mars 1994

- 150. Pr. ABBAR Mohamed*
- 151. Pr. ABDELHAK M'barek
- 152. Pr. BELAIDI Halima
- 153. Pr. BARHMI Rida Slimane
- 154. Pr. BENTAHILA Abdelali
- 155. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
- 156. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
- 157. Pr. CHAMI Ilham
- 158. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
- 159. Pr. EL ABBADI Najia
- 160. Pr. HANINE Ahmed*
- 161. Pr. JALIL Abdelouahed
- 162. Pr. LAKHDAR Amina
- 163. Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie - Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie -Obstétrique
Traumatologie -Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

- 164. Pr. ABOUQUAL Redouane
- 165. Pr. AMRAOUI Mohamed
- 166. Pr. BAIDADA Abdelaziz
- 167. Pr. BARGACH Samir
- 168. Pr. BELLAHNECH Zakaria
- 169. Pr. BEDDOUCHE Amokrane*
- 170. Pr. BENAZZOUZ Mustapha
- 171. Pr. CHAARI Jilali*
- 172. Pr. DIMOU M'barek*
- 173. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
- 174. Pr. EL MESNAOUI Abbes
- 175. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
- 176. Pr. FERHATI Driss
- 177. Pr. HASSOUNI Fadil
- 178. Pr. HDA Abdelhamid*
- 179. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
- 180. Pr. IBRAHIMY Wafaa
- 182. Pr. BENOMAR ALI
- 183. Pr. BOUGTAB Abdesslam
- 184. Pr. ER RIHANI Hassan
- 185. Pr. EZZAITOUNI Fatima
- 186. Pr. KABBAJ Najat
- 187. Pr. LAZRAK Khalid (M)
- 188. Pr. OUTIFA Mohamed*

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Urologie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Gynécologie Obstétrique
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
Cardiologie
Urologie
Ophtalmologie
Neurologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Radiologie
Traumatologie Orthopédie
Gynécologie Obstétrique

Décembre 1996

- 189. Pr. AMIL Touriya*
- 190. Pr. BELKACEM Rachid
- 191. Pr. BELMAHI Amin
- 192. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
- 193. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
- 194. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*
- 195. Pr. GAMRA Lamiae
- 196. Pr. GAOUZI Ahmed
- 197. Pr. MAHFOUDI M'barek*
- 198. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Chirurgie réparatrice et plastique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Parasitologie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Générale

199. Pr. MOHAMMADI Mohamed
200. Pr. MOULINE Soumaya
201. Pr. OUADGHIRI Mohamed
202. Pr. OUZEDDOUN Naima
203. Pr. ZBIR EL Mehdi*

Médecine Interne
Pneumo-phtisiologie
Traumatologie – Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

204. Pr. ALAMI Mohamed Hassan
205. Pr. BEN AMAR Abdesselem
206. Pr. BEN SLIMANE Lounis
207. Pr. BIROUK Nazha
208. Pr. BOULAICH Mohamed
209. Pr. CHAOUIR Souad*
210. Pr. DERRAZ Said
211. Pr. ERREIMI Naima
212. Pr. FELLAT Nadia
213. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
214. Pr. HAIMEUR Charki*
215. Pr. KADDOURI Nouredine
216. Pr. KANOUNI NAWAL
217. Pr. KOUTANI Abdellatif
218. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
219. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
220. Pr. NAZZI M'barek*
221. Pr. OUAHABI Hamid*
222. Pr. SAFI Lahcen*
223. Pr. TAOUFIQ Jallal
224. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie – Obstétrique
Chirurgie Générale
Urologie
Neurologie
O.RL.
Radiologie
Neurochirurgie
Pédiatrie
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie – Pédiatrique
Physiologie
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Cardiologie
Neurologie
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

225. Pr. BENKIRANE Majid*
226. Pr. KHATOURI Ali*
227. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Novembre 1998

228. Pr. AFIFI RAJAA
229. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*
230. Pr. ALOUANE Mohammed*
231. Pr. LACHKAR Azouz
232. Pr. LAHLOU Abdou
233. Pr. MAFTAH Mohamed*
234. Pr. MAHASSINI Najat
235. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
236. Pr. MANSOURI Abdelaziz*
237. Pr. NASSIH Mohamed*
238. Pr. RIMANI Mouna
239. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Gastro - Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Oto- Rhino- Laryngologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurochirurgie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo Faciale
Anatomie Pathologique
Neurologie

Janvier 2000

240. Pr. ABID Ahmed*
241. Pr. AIT OUMAR Hassan
242. Pr. BENCHERIF My Zahid
243. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Pédiatrie

244. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
245. Pr. CHAOUI Zineb
246. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
247. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
248. Pr. EL FTOUH Mustapha
249. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
250. Pr. EL OTMANYAzzedine
251. Pr. GHANNAM Rachid
252. Pr. HAMMANI Lahcen
253. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
254. Pr. ISMAILI Hassane*
255. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
256. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
257. Pr. TACHINANTE Rajae
258. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumo-phtisiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

259. Pr. AIDI Saadia
260. Pr. AIT OURHROUIL Mohamed
261. Pr. AJANA Fatima Zohra
262. Pr. BENAMR Said
263. Pr. BENCHEKROUN Nabih
264. Pr. BOUSSELMANE Nabile*
265. Pr. BOUTALEB Najib*
266. Pr. CHERTI Mohammed
267. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
268. Pr. EL HASSANI Amine
269. Pr. EL IDGHIRI Hassan
270. Pr. EL KHADER Khalid
271. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
272. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
273. Pr. HSSAIDA Rachid*
274. Pr. MANSOURI Aziz
275. Pr. OUZZANI CHAHDI Bahia
276. Pr. RZIN Abdelkader*
277. Pr. SEFIANI Abdelaziz
278. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Neurologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Ophtalmologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Génétique
Réanimation Médicale

PROFESSEURS AGREGES :

Décembre 2001

279. Pr. ABABOU Adil
280. Pr. AOUAD Aicha
281. Pr. BALKHI Hicham*
282. Pr. BELMEKKI Mohammed
283. Pr. BENABDELJLIL Maria
284. Pr. BENAMAR Loubna
285. Pr. BENAMOR Jouda
286. Pr. BENELBARHDADI Imane
287. Pr. BENNANI Rajae
288. Pr. BENOUACHANE Thami
289. Pr. BENYOUSSEF Khalil
290. Pr. BERRADA Rachid
291. Pr. BEZZA Ahmed*
292. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi

Anesthésie-Réanimation
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Rhumatologie
Anatomie

293. Pr. BOUHOUCHE Rachida
 294. Pr. BOUMDIN El Hassane*
 295. Pr. CHAT Latifa
 296. Pr. CHELLAOUI Mounia
 297. Pr. DAALI Mustapha*
 298. Pr. DRISSI Sidi Mourad*
 299. Pr. EL HAJJOUI Ghziel Samira
 300. Pr. EL HJRI Ahmed
 301. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
 302. Pr. EL MADHI Tarik
 303. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
 304. Pr. EL OUNANI Mohamed
 305. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
 306. Pr. ETTAIR Said
 307. Pr. GAZZAZ Miloudi*
 308. Pr. GOURINDA Hassan
 309. Pr. HRORA Abdelmalek
 310. Pr. KABBAJ Saad
 311. Pr. KABIRI El Hassane*
 312. Pr. LAMRANI Moulay Omar
 313. Pr. LEKEHAL Brahim
 314. Pr. MAHASSIN Fattouma*
 315. Pr. MEDARHRI Jalil
 316. Pr. MIKDAME Mohammed*
 317. Pr. MOHSINE Raouf
 318. Pr. NABIL Samira
 319. Pr. NOUINI Yassine
 320. Pr. OUALIM Zouhir*
 321. Pr. SABBAH Farid
 322. Pr. SEFIANI Yasser
 323. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia
 324. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Cardiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Anesthésie-Réanimation
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Pédiatrie
 Neuro-Chirurgie
 Chirurgie-Pédiatrique
 Chirurgie Générale
 Anesthésie-Réanimation
 Chirurgie Thoracique
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Médecine Interne
 Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Urologie
 Néphrologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie
 Urologie

Décembre 2002

325. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 326. Pr. AMEUR Ahmed*
 327. Pr. AMRI Rachida
 328. Pr. AOURARH Aziz*
 329. Pr. BAMOU Youssef *
 330. Pr. BELGHITI Laila
 331. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 332. Pr. BENBOUAZZA Karima
 333. Pr. BENZEKRI Laila
 334. Pr. BENZOUBEIR Nadia*
 335. Pr. BERADY Samy*
 336. Pr. BERNOUSSI Zakiya
 337. Pr. BICHA Mohamed Zakarya
 338. Pr. CHOHO Abdelkrim *
 339. Pr. CHKIRATE Bouchra
 340. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 341. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
 342. Pr. EL BARNOUSSI Leila
 343. Pr. EL HAOURI Mohamed *
 344. Pr. EL MANSARI Omar*

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Gynécologie Obstétrique
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Rhumatologie
 Dermatologie
 Gastro – Entérologie
 Médecine Interne
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Urologie
 Gynécologie Obstétrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale

345. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
 346. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 347. Pr. HADDOUR Leila
 348. Pr. HAJJI Zakia
 349. Pr. IKEN Ali
 350. Pr. ISMAEL Farid
 351. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 352. Pr. KRIOULE Yamina
 353. Pr. LAGHMARI Mina
 354. Pr. MABROUK Hfid*
 355. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 356. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 357. Pr. MOUSTAINE My Rachid
 358. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 359. Pr. OUJILAL Abdelilah
 360. Pr. RACHID Khalid *
 361. Pr. RAISS Mohamed
 362. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 363. Pr. RHOU Hakima
 364. Pr. RKIOUAK Fouad*
 365. Pr. SIAH Samir *
 366. Pr. THIMOU Amal
 367. Pr. ZENTAR Aziz*
 368. Pr. ZRARA Ibtisam*

Janvier 2004

369. Pr. ABDELLAH El Hassan
 370. Pr. AMRANI Mariam
 371. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 372. Pr. BENKIRANE Ahmed*
 373. Pr. BENRAMDANE Larbi*
 374. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 375. Pr. BOULAADAS Malik
 376. Pr. BOURAZZA Ahmed*
 377. Pr. CHERRADI Nadia
 378. Pr. EL FENNI Jamal*
 379. Pr. EL HANCHI Zaki
 380. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 381. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 382. Pr. HACHI Hafid
 383. Pr. JABOUIRIK Fatima
 384. Pr. KARMANE Abdelouahed
 385. Pr. KHABOUZE Samira
 386. Pr. KHARMAZ Mohamed
 387. Pr. LEZREK Mohammed*
 388. Pr. MOUGHIL Said
 389. Pr. NAOUMI Asmae*
 390. Pr. SAADI Nozha
 391. Pr. SASSENOU Ismail*
 392. Pr. TARIB Abdelilah*
 393. Pr. TIJAMI Fouad
 394. Pr. ZARZUR Jamila

Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Traumatologie Orthopédie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumo-phtisiologie
 Néphrologie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Chimie Analytique
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Traumatologie Orthopédie
 Urologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Gastro-Entérologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Janvier 2005

395. Pr. ABBASSI Abdelah
396. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
397. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
398. Pr. ALLALI fadoua
399. Pr. AMAR Yamama
400. Pr. AMAZOUZI Abdellah
401. Pr. AZIZ Nouredine*
402. Pr. BAHIRI Rachid
403. Pr. BARAKAT Amina
404. Pr. BENHALIMA Hanane
405. Pr. BENHARBIT Mohamed
406. Pr. BENYASS Aatif
407. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
408. Pr. BOUKALATA Salwa
409. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
410. Pr. DOUDOUH Abderrahim*
411. Pr. EL HAMZA OUI Sakina
412. Pr. HAJJI Leila
413. Pr. HESSISSEN Leila
414. Pr. JIDAL Mohamed*
415. Pr. KARIM Abdelouahed
416. Pr. KENDOUCI Mohamed*
417. Pr. LAAROUSSI Mohamed
418. Pr. LYACOUBI Mohammed
419. Pr. NIAMANE Radouane*
420. Pr. RAGALA Abdelhak
421. Pr. REGRAGUI Asmaa
422. Pr. SBIHI Souad
423. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam
424. Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Néphrologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Ophtalmologie
Cardiologie
Ophtalmologie
Radiologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Radiologie
Ophtalmologie
Cardiologie
Chirurgie Cardio Vasculaire
Parasitologie
Rgumatologie
Gynécologie Obstétrique
Anatomie Pathologique
Histo Embryologie Cytogénétique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique

Avril 2006

425. Pr. ACHEMLAL Lahsen*
426. Pr. AFIFI Yasser
427. Pr. AKJOUJ Said*
428. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
429. Pr. BELMEKKI Abdelkader*
430. Pr. BENCHEIKH Razika
431. Pr. BIYI Abdelhamid*
432. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
433. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
434. Pr. CHEIKHAOUI Younes
435. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
436. Pr. DOGHMI Nawal
437. Pr. ESSAMRI Wafaa
438. Pr. FELLAT Ibteissam
439. Pr. FAROUDY Mamoun
440. Pr. GHADOUANE Mohammed*
441. Pr. HARMOUCHE Hicham
442. Pr. HNAFI Sidi Mohamed*
443. Pr. IDRIS LAHLOU Amine
444. Pr. JROUNDI Laila
445. Pr. KARMOUNI Tariq

Rhumatologie
Dermatologie
Radiologie
Dermatologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie – Pédiatrique
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie

- 446. Pr. KILI Amina
- 447. Pr. KISRA Hassan
- 448. Pr. KISRA Mounir
- 449. Pr. KHARCHAFI Aziz*
- 450. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
- 451. Pr. MANSOURI Hamid*
- 452. Pr. NAZIH Naoual
- 453. Pr; OUANASS Abderrazzak
- 454. Pr. SAFI Soumaya*
- 455. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
- 456. Pr. SEFIANI Sana
- 457. Pr. SOUALHI Mouna
- 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Médecine Interne
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo-Phtisiologie
 Pneumo-Phtisiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES
PROFESSEURS

- 1. Pr. ALAMI OUHABI Naima
- 2. Pr. ALAOUI KATIM
- 3. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
- 4. Pr. ANSAR M'hammed
- 5. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
- 6. Pr. BOURJOUANE Mohamed
- 7. Pr. DRAOUI Mustapha
- 8. Pr. EL GUESSABI Lahcen
- 9. Pr. ETTAIB Abdelkader
- 10. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
- 11. Pr. HMAMOUCHE Mohamed
- 12. Pr. REDHA Ahlam
- 13. Pr. TELLAL Saida*
- 14. Pr. TOUATI Driss
- 15. Pr. ZELLOU Amina

Biochimie
 Pharmacologie
 Histologie – Embryologie
 Chimie Organique et Pharmacie Chimique
 Applications Pharmaceutiques
 Microbiologie
 Chimie Analytique
 Pharmacognosie
 Zootechnie
 Pharmacologie
 Chimie Organique
 Biochimie
 Biochimie
 Pharmacognosie
 Chimie Organique

* *Enseignants Militaires*

Dédicaces

A mon très cher papa « Zouhair HABAIEB »

Aucune dédicace ne saurait exprimer avec fidélité la profondeur de mon amour, la reconnaissance que j'ai pour vous et l'estime que je vous porte.

Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

Que ce modeste travail soit le témoignage de ma reconnaissance et mon respect que je te dois toute ma vie.

Je te dédie cette thèse et je prie le grand seigneur de t'accorder longue vie pleine de santé et de bonheur.

A ma très chère maman« Houda BOUATTOR »

A la source duquel j'ai toujours puisé courage, confiance et persévérance. Vous avez été pour moi le meilleur exemple pour ma vie privée et professionnelle. Vous m'avez toujours encouragé et cru en moi.

Je te dédie ce travail en témoignage de la grande affection que je vous porte.

Que dieu te préserve et t'accorde longue vie.

A mon frère « Karim »

*Je prie le grand puissant de te procurer une vie pleine de joie,
de bonheur et de réussite et de nous garder toujours unis.*

A ma petite sœur « Imen »

*Rien que ta présence m'apporte énormément. Je te dédie ce
travail en témoignage de mon profond amour.*

A la mémoire de mon grand-père maternel :

*Vous avez toujours gardez ma photo dans votre port-feuille et
moi je vous garde toujours dans mon cœur.*

A ma chère grand-mère maternelle :

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon estime et mon
amour pour vous. Merci pour tes prières, ton amour, que dieu
te protège.*

A la mémoire de mes grands-parents paternels :

J'aurais tant aimé que vous soyez à mes côtés en ces moments mais d'où vous êtes, je suis certaine que vous êtes fier de moi.

A mes très chers amis Bassem, Chouaieb, Fatma,

Hajer, Marwa :

Pour les beaux moments passés ensemble, pour les souvenirs partagés... Je vous souhaite tout ce qu'il y a de mieux dans la vie et j'espère que notre amitié restera intacte et durera pour toujours.

A mes copines au Maroc : Ikhlass, Kenza, Nada,

Rim, Sophia :

On a partagé une agréable vie estudiantine. En souvenir de ces moments passés ensemble, je vous exprime par ce travail toute mon affection et j'espère que notre amitié durera encore et toujours malgré la distance qui nous sépare.

A tata Saida et tonton Mohamed :

Pour votre chaleureux accueil chez vous, vos gestes de sympathie et votre gentillesse. Je vous remercie pour tous l'aide que vous m'avez accordés.

A tata Najet et tonton Rachid :

Pour votre accueil, votre aide et votre présence à mes côtés.

A mes oncles et leurs épouses, à mes tantes et leurs époux

A mes cousins et cousines

A Hichem KAMMOUN..

Remerciements

A notre Maître et Présidente de thèse Madame

EL MELLOUKI Wafa

*Professeur de Parasitologie à la Faculté de Médecine et de
Pharmacie de Rabat*

*Qui m'a fait l'honneur de bien vouloir présider mon jury de
thèse et de juger ce travail dans lequel elle trouvera, je
l'espère, le reflet fidèle de son enseignement.*

*Je vous exprime ma vive reconnaissance et je vous prie
d'accepter le témoignage de ma haute considération.*

A notre Maître et Rapporteur de thèse Monsieur

LMIMOUNI Badre Eddine

Professeur agrégé de Parasitologie à la Faculté de Médecine

et de Pharmacie de Rabat

*Je tiens à vous exprimer ma reconnaissance pour l'honneur
que vous m'avez fait en me confiant ce travail.*

*Votre rigueur scientifique et vos remarquables qualités
humaines et professionnelles méritent toute admiration et tout
respect. C'était un plaisir de travailler avec vous.*

Je vous remercie et j'espère être à la hauteur.

A notre Maître et Juge de thèse Monsieur

BELMEKKI Abdelkader

Professeur agrégé d'Hématologie à la Faculté de Médecine

et de Pharmacie de Rabat

*Je vous remercie d'avoir bien voulu répondre à notre souhait
en acceptant de siéger parmi les membres de jury.*

*En jugeant notre modeste travail, vous nous accordez un très
grand honneur.*

*Veillez accepter l'expression de nos considérations les plus
distinguées.*

A notre Maître et Juge de thèse Monsieur

MOUTAJ Redouane

*Professeur agrégé de Parasitologie à la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de Rabat*

*Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail et de
consacrer du temps à sa lecture.*

*Veillez trouver ici, cher Maître, l'expression de nos vifs
remerciements et de notre respect.*

A notre Maître et Juge de thèse Madame

OUZZIF Zohra

*Professeur agrégée de Biochimie à la Faculté de Médecine et
de Pharmacie de Rabat*

*Je vous remercie vivement de nous honorer de votre présence
au sein du jury de notre thèse et je saisis l'occasion pour vous
exprimer ma profonde reconnaissance et ma grande
considération.*

A Monsieur AOUN Karim

Chef de service de Parasitologie à l'Institut Pasteur de Tunis

*Pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire et permit de
réaliser ce travail chez moi en Tunisie.*

*Nous sommes très reconnaissants de l'aide que vous nous avez
apporté au cours de la préparation de cette thèse.*

*Veillez trouver dans ce travail la preuve de ma gratitude et
mon profond respect.*

A Madame GALAI Yosr

***Professeur d'immunologie à la Faculté de Pharmacie de
Monastir***

*Je vous remercie de bien vouloir diriger ma thèse de fin
d'étude et de m'avoir apporté tout l'aide et les conditions
favorables pour le bon déroulement de ce travail.*

A Madame BENABID Mariem

Docteur en Parasitologie

Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de m'assister tout au long de mon travail pratique. Votre gentillesse, votre aide et surtout votre disponibilité ont énormément contribué à la réalisation de ce travail.

Enfin

Je remercie tous les membres du laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis et les membres du laboratoire de parasitologie et de mycologie de l'hôpital militaire de Rabat.

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

III. MATERIELS ET METHODES

III.1 Populations et lieux de l'étude

III.2 Techniques utilisées

III.2.1 Technique immunoenzymatique ELISA

III.2.2 Technique de Western-Blot

III.3 Analyse statistique

IV. RESULTATS

IV.1 Résultats de la technique immunoenzymatique ELISA

IV.2 Résultats du Western-Blot

IV.3 Comparaison des profils Western-Blot

V. DISCUSSION

V.1 Définition de l'hydatidose

V.2 Epidémiologie

V.2.1 Morphologie de l'agent pathogène

V.2.2 Cycle du parasite

V.2.3 Mode de contamination humaine

V.2.4 Prévalence

V.3 Aspects cliniques de l'hydatidose

V.3.1 Kyste hydatique du foie

V.3.2 Kyste hydatique du poumon

V.3.3 Autres localisations de kyste hydatique

V.4 Diagnostic sérologique

V.5 Discussion des résultats

VI. CONCLUSION

RESUMES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

ABREVIATIONS

µg : microgramme

µl : microlitre

µm : micromètre

Ac : anticorps

Ag : antigène

APS : persulfate d'ammonium

DAB: diamino-benzidine

DO: densité optique

E. : *echinococcus*

Ech: échantillon

ELISA : enzyme linked immunoSorbent Assay

IEP: immunoélectrophorèse

IFI: immunofluorescence indirecte

HAI: hémagglutination indirecte

kDa: kilo Dalton

KH: kyste hydatique

KHH: kyste hydatique hépatique

KH M: kyste hydatique Marocain

KH T: kyste hydatique tunisien

KHP : kyste hydatique pulmonaire

M: molarité

ml: millilitre

N: normalité

nm: nanomètre

OPD : ortho-phenyl-diamine

PBS : phosphate buffer saline

PBS-LE : phosphate buffer saline - lait écrémé

PM : poids moléculaire

SDS : sodium dodecyl sulfate

T: témoin

TEMED : tétraméthylène diamine

WB : western-blot

I. INTRODUCTION :

L'hydatidose, échinococcose hydatique, maladie hydatique, ou encore cancer parasitaire, est une zoonose commune à l'homme et aux mammifères herbivores. Cette maladie parasitaire est due à la présence et au développement chez l'homme de la forme larvaire d'*Echinococcus granulosus* ; la forme adulte étant hébergée par le chien.

L'hydatidose est un problème de santé publique dans les zones d'endémie représentées par tous les pays d'élevage du mouton et en particulier, les pays du pourtour méditerranéen, notamment le Maroc et la Tunisie.

Cette parasitose accidentelle chez l'homme, par infestation orale, peut se localiser au niveau de tous les organes avec une prédilection pour le foie et secondairement le poumon. Elle peut rester longtemps latente, atteignant des volumes importants pour se manifester par la suite par des complications.

Sa dissémination par voie locale ou générale lui a fait mériter le terme de cancer blanc. Son diagnostic a largement bénéficié des progrès de l'imagerie et en premier lieu, l'échographie qui reste d'ailleurs un très bon moyen de dépistage.

Les examens sérologiques aident au diagnostic mais surtout, ils permettent le suivi de la parasitose après traitement. Ce dernier associe des traitements médicaux, des moyens radiologiques mais surtout des moyens chirurgicaux dont les résultats restent limités par la récurrence.

A défaut d'une vaccination, c'est dire l'importance de la prévention de cette parasitose dont le coût de la prise en charge thérapeutique reste tout de même élevé.

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE :

Notre travail a trois principaux objectifs :

- La comparaison des résultats par technique ELISA (Maroc) et ELISA (Tunisie) sur des sérums humains.
- Evaluation d'une technique Western-Blot sur des sérums tunisiens et marocains.
- Et comparaison des profils WB ; d'une part kystes hydatiques provenant du Maroc et ceux provenant de la Tunisie et d'autre part kyste hydatique du foie et kyste hydatique du poumon.

III. MATERIELS ET METHODES :

III.1 populations et lieux de l'étude :

Notre étude a porté sur 3 populations :

- La première population est constituée de 8 sérums marocains dont 6 avec KH hépatiques, 1 pulmonaire et 1 association ventricule/rein.
- La deuxième population est constituée de 9 sérums tunisiens dont 4 sérums prélevés chez des patients présentant un KH hépatique et les 5 autres sont prélevés chez des patients atteints de KH pulmonaire.
- La troisième population est formée de 42 sérums prélevés chez des patients sains ne présentant aucune symptomatologie d'hydatidose ; Ce sont les témoins négatifs.

L'étude s'est déroulée au laboratoire de parasitologie de l'HMIM V de Rabat et au laboratoire de parasitologie de l'Institut Pasteur de Tunis en Tunisie.

III.2 Techniques utilisées

III.2.1 Technique immunoenzymatique (ELISA)

Principe de la technique :

La technique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est une technique **immuno-enzymatique** de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps sur un substrat.

Ce test permet de détecter ou doser des anticorps. Il se réalise en 4 étapes:

❖ La première étape appelée "**coating**" de l'antigène:

Elle consiste à incuber dans des puits, la solution d'antigène spécifique de l'anticorps recherché. La fixation de l'antigène sur le fond des puits se fait électrostatiquement. Les plaques sont incubées à 4°C pendant une nuit. Les puits sont ensuite lavés pour éliminer les antigènes en excès avec du tampon de lavage.

❖ La deuxième étape consiste à **fixer l'anticorps à doser**:

On incube à 37°C dans les puits, la solution d'anticorps à doser pendant environ 30 minutes à 2 heures. Les anticorps se fixent spécifiquement sur l'antigène. Les puits sont ensuite lavés pour éliminer les anticorps à doser en excès avec du tampon de lavage.

❖ La troisième étape consiste à **fixer l'anticorps de détection**:

On incube à 37°C dans les puits, la solution d'anticorps de détection pendant environ 30 minutes à 2 heures. Les anticorps de détection se fixent spécifiquement sur les anticorps à doser. Les puits sont ensuite lavés pour éliminer les anticorps de détection en excès avec du tampon de lavage. Notons que les anticorps de détection sont couplés à une enzyme qui en présence de son

substrat le transforme en produit de réaction détectable et mesurable grâce à l'apparition d'une coloration.

❖ La quatrième étape consiste à **révéler les anticorps fixés**:

On incube à température ambiante et à l'obscurité pendant 10 minutes, une solution révélatrice contenant le substrat pour l'enzyme. L'apparition d'une coloration dans le substrat indique la présence de l'anticorps à doser. L'intensité de celle-ci est proportionnelle à la quantité d'enzyme présent et donc à la concentration d'anticorps recherché.

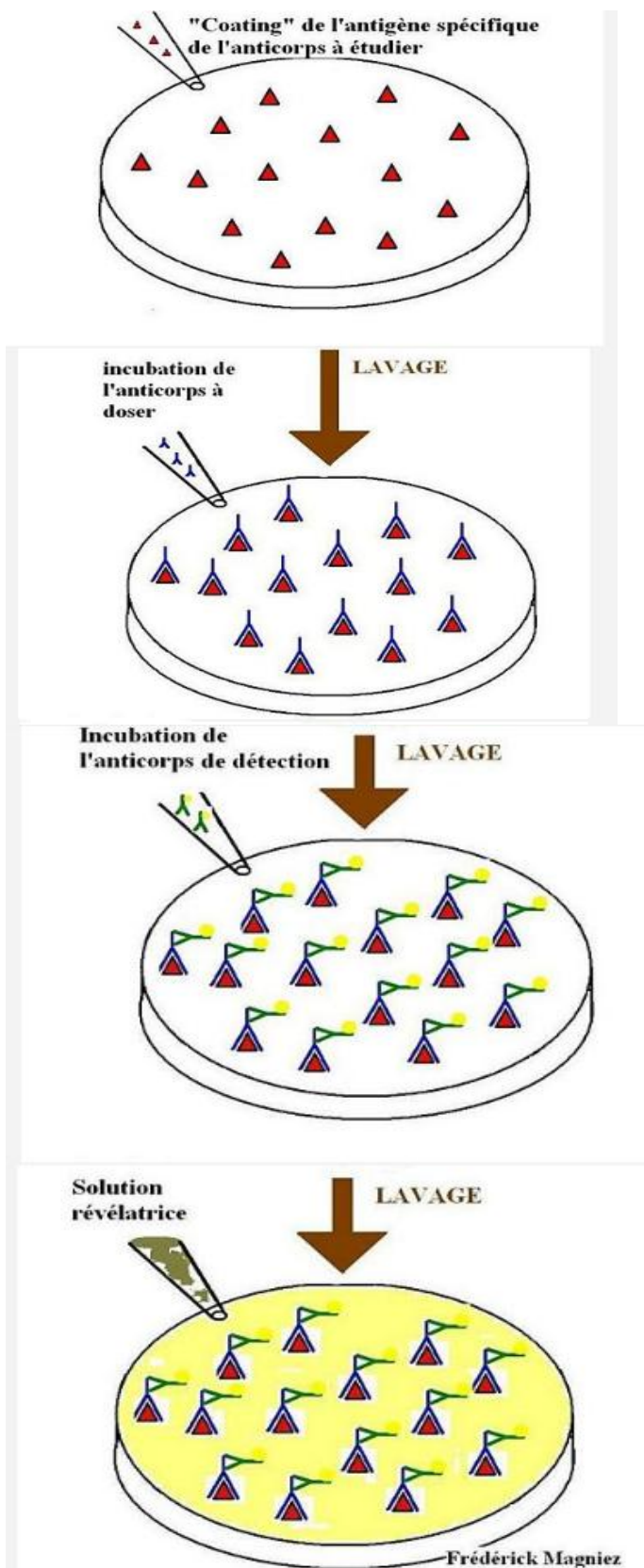


Figure1. Les étapes du test « ELISA » [46]



Figure 2. Plaque à fond plat NUNK-Maxisorb (ELISA)
[Photo de l'institut Pasteur Tunis]



Figure 3. Photo des 50 sérums qui ont été évalués

Mode opératoire :

➤ Sensibilisation :

- Dilution de l'antigène dans le tampon carbonate/ bicarbonate (0,1M).
- Les puits sont sensibilisés à raison de 100µl/ puits (plaque de microtitration à fond plat NUNC-Maxi sorb).
- Incubation une heure à 37°C puis une nuit à +4°C.
- 2 lavages (250µl/ puits) de 1minute chacun.

➤ Saturation :

- Les puits sont saturés par du PBS-lait écrémé (5%) à raison de 200µl/ puit.
- Incubation 1 heure à 37°C.
- Un lavage (250µl/ puit) de 1 minute.

➤ Addition des sérums :

Dilution des sérums au 1/160 :

- Dilution 1/40 : au niveau de la plaque de microtitration à fond rond.

5µl de sérum + 195µl de PBS-lait écrémé

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	41
B		2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	42
C		3	7	11	15	19	23	27	31	35	39	43
D		4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44
E		45	49	T3	T7	T11						
F		46	50	T4	T8	T12						
G		47	T1	T5	T9	T13						
H		48	T2	T6	T10							

- Dilution 1/4 : au niveau de la plaque Maxi-sorb.

25µl de la dilution (1/40) + 75µl de PBS-lait écrémé

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	41
B												
C		2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	42
D												
E		3	7	11	15	19	23	27	31	35	39	43
F												
G		4	8	12	16	20	24	28	32	36	40	44
H												

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		45	49	T3	T7	T11						
B												
C		46	50	T4	T8	T12						
D												
E		47	T1	T5	T9	T13						
F												
G		48	T2	T6	T10							
H												

- Incubation 1 heure à 37°C.
- 3 lavages (250µl/ puit) de 1 minute chacun.

➤ Addition du conjugué :

- Dilution du conjugué 2/18000 dans du PBS-lait écrémé, donc on prend 2,2 µl du conjugué dans 20ml de PBS-LE.
- Répartition sur la plaque à raison de 100µl/ puits.
- Incubation 1heure à 37°C.
- 6 lavages (250µl/ puits) de 1 minute chacun.

➤ Révélation :

- Préparer 25µl de H₂O₂ et 25mg d'OPD dans 25ml de tampon citrate et l'ajouter à raison de 100µl/ puits.
- Incubation à l'obscurité à température ambiante.

➤ Arrêt de la réaction :

Ajout de 50µl de H₂SO₄ (2N) dans chaque puits.

➤ Lecture :

Spectrophotomètre DO = 492 et 620 nm

➤ Résultats :

Pour chaque sérum de notre étude, un quotient a été calculé ; il est égale à la densité optique du sérum/ densité optique de la moyenne des négatifs + 2 écarts-type.

$$\frac{DO}{DO_{\text{moy neg}} + 2DS}$$

Ainsi, un sérum est considéré positif quand le quotient est supérieur ou égal à 1 ($DO \geq DO_{\text{moy}} + 2DS$), et il est considéré négatif quand le quotient est inférieur à 1 ($DO < DO_{\text{moy}} + 2DS$)

III.2.2 Technique de Western-blot

Objectif, principe et caractéristiques : C'est une technique immuno-enzymatique qui permet d'analyser des mélanges antigéniques hydriques grâce à sa capacité de détecter des anticorps hautement spécifiques dirigés contre l'Ag5 et l'AgB [13, 25]. C'est une technique qualitative qui consiste à séparer les antigènes utilisés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide en fonction de leurs poids moléculaires. Les protéines séparées sont ensuite transférées sous l'action d'un champ électrique sur une membrane de nitrocellulose. Après des incubations avec les sérums des malades à tester puis avec une anti-IgG humaine conjuguée marquée, on révèle la présence de complexes immuns par une réaction enzymatique colorée.

Mode opératoire :

➤ Migration :

Cette étape représente l'électrophorèse du liquide hydatique sur gel de polyacrylamide, elle permet la séparation des protéines en fonction de leur taille et non de leur charge. On prépare les deux gels de séparation et de concentration comme dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Préparation du gel de séparation et de concentration

	Gel de séparation	Gel de concentration
H2O2	3,4 ml	5,7 ml
Acrylamide/bisacrylamide	4 ml	1,7 ml
Tris 1,5 (sol de séparation)	2,5 ml	-
Tris 0,5 (sol de concentration)	-	2,5 ml
SDS 10%	100 µl	100 µl
APS 10%	50 µl	50 µl
TEMED	5 µl	10 µl

Le gel de polyacrylamide est obtenu par polymérisation de l'acrylamide dont la concentration détermine un degré de réticulation donnant un gel plus au moins serré en présence duquel les protéines soumises à un champ électrique vont se déplacer à une vitesse proportionnelle à leur taille. Deux catalyseurs de polymérisation sont utilisés : le persulfate d'ammonium (APS) et le tétraméthylène diamine (TEMED).

En ajoutant le SDS (sodium dodecyl sulfate), les protéines vont être chargées négativement, elles vont être attirées par l'anode selon la même force mais le déplacement sera plus ralenti pour les grosses molécules. La préparation antigénique est dénaturée dans un tampon d'échantillon non réducteur (Tris-HCl 0,5 M, Ph 6,8) contenant du SDS (**annexe**), traitée 4mn à 95°C puis déposée sur

un mini gel (Biorad) à différents volumes/ puits. La migration s'effectue dans un premier temps sous un voltage de 80V jusqu'à atteindre le gel de séparation puis à 130V jusqu'à la fin dans un tampon de migration contenant 0,1% de SDS (**annexe**). Pour avoir une estimation du poids moléculaire (PM), une gamme de protéines de PM connu est utilisée (le Rainbow RPN 756-Amersham®).



Figure 4. Dispositif de polymérisation du gel de polyacrylamide (BIO-RAD)

[Photo de l'institut Pasteur Tunis]

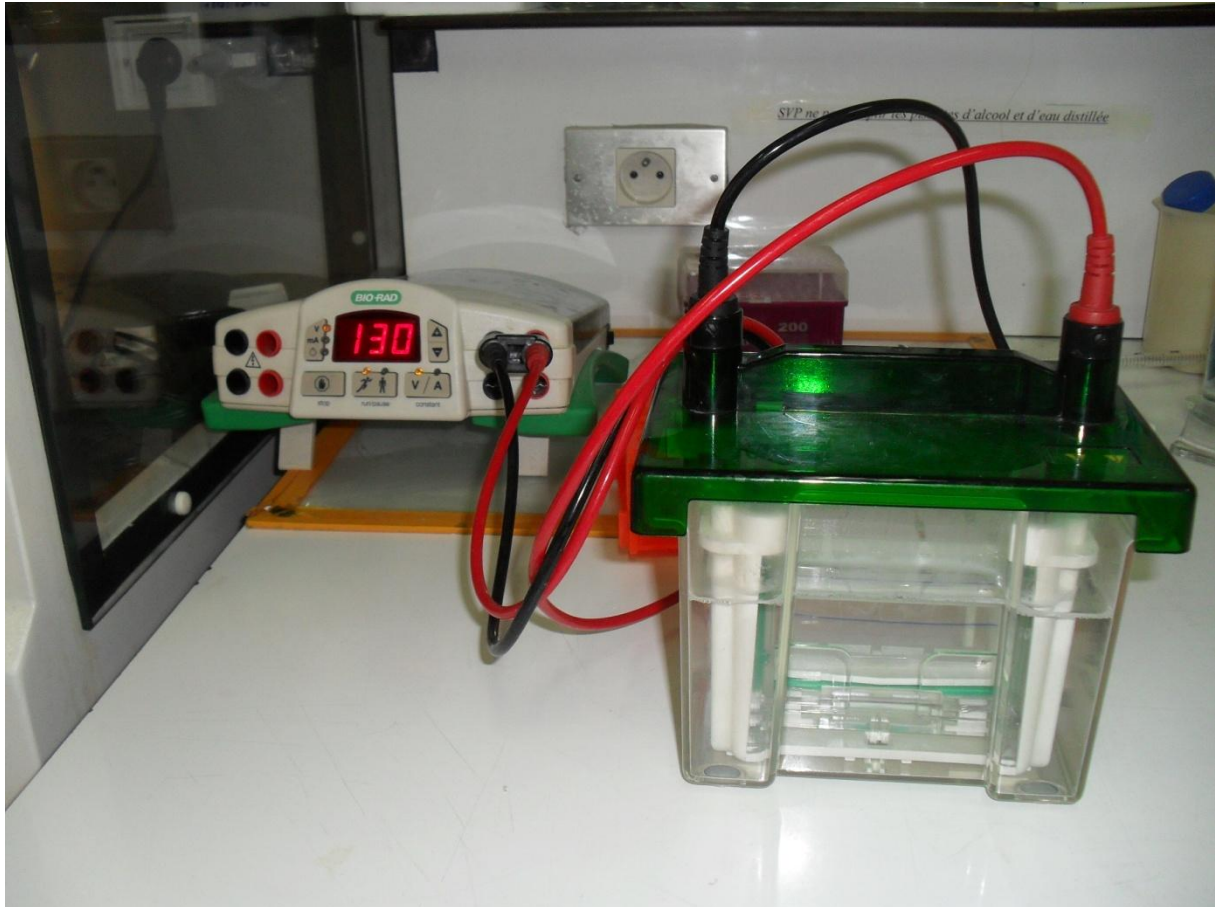


Figure 5. Dispositif de migration de l'antigène
[Photo de l'institut Pasteur Tunis]

➤ Transfert de protéines :

Les protéines sont transférées sur une membrane de nitrocellulose (Hybond-C extra, Amersham®) en présence de tampon du transfert (**annexe**). Ce transfert s'effectue dans un appareil de blot (Biorad) sous un ampérage fixé à 350 mA. Le gel couvert de membrane, est pris entre des papiers Whatman trempés dans le même tampon et placés du côté de la cathode. Après 70mn, la membrane est récupérée, colorée au rouge ponceau (**annexe**) pendant 10mn puis découpée en petites bandelettes, lavée avec de l'eau distillée ; la bande correspondante au marqueur de PM est conservée.

➤ Saturation :

On met les bandelettes découpées dans du PBS 0,01M contenant 1% de Tween et 5% de lait écrémé (**annexe**) à +4°C pendant 24h.

➤ Incubation des sérums :

Le lendemain, ces bandelettes sont lavées au PBS 0,01M contenant 0,1% de Tween 20 puis incubées pendant 2h sous agitation à température ambiante avec les sérums humains dilués dans du PBS. La dilution des sérums (marocains et tunisiens) et de 1/1000.



Figure 6. Incubation des sérums
[Photo de l'institut Pasteur Tunis]

➤ Incubation des conjuguées :

Les bandelettes sont lavées au PBS-T pendant 15min puis 2 fois pendant 10 mn puis elles sont incubées avec un anticorps secondaire anti-IgG humain couplé à la peroxydase pendant 1heure à température ambiante. La dilution du conjugué est de 1/2500 dans du TBS-LE 5%.

➤ Révélation :

Après un lavage similaire au précédent, la révélation immunoenzymatique est assurée en ajoutant la diamino-benzidine (DAB) 0,05% préparée dans le tampon Tris-Hcl 0,05 M pH 7,6 en présence d'eau oxygénée à 0,1%, la réaction est arrêtée par un rinçage à l'eau distillée.

➤ Lecture :

La distance de migration des différents polypeptides est mesurée à l'aide d'une règle, cette distance est utilisée par la suite pour construire une courbe étalon : log du PM en fonction de la distance de migration de la protéine correspondante. A partir de cette courbe, on détermine les PM des autres polypeptides. Dans notre cas, on s'est appuyé sur un logiciel 'Quantity data' pour avoir les différents PM.

III.3 Analyse statistique

L'analyse statistique a utilisé le logiciel SPSS 10. Le seuil de signification choisi est de 0,05. Les sensibilités, spécificités, valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) sont calculées selon les formules usuelles avec leurs intervalles de confiance à 95%. La sensibilité de chaque technique a été calculée en rapportant le nombre de patients dépistés par la méthode considérée au nombre total de patients diagnostiqués (toutes méthodes confondues). La comparaison

des différences entre les techniques est étudiée par le test de l'écart réduit S appliqué aux séries appariées. Enfin, la concordance Kappa entre les différents tests évalués a été calculée.

IV. RESULTATS :

IV.1. Résultats de la technique immunoenzymatique

La technique d'ELISA pratiquée au Maroc est celle d'ELISA Novagnost avec un cut-off de 0,38.

Tableau 2 : Résultats de l'ELISA Tunisie et ELISA Maroc sur 50 sérums marocains

n° échantillon	DO Tunisie	DO Maroc
1	0,284	0.41
2	0,096	0.05
3	1,182	0.80
4	0,079	0.01
5	0,215	0.40
6	1,160	0.90
7	0,063	0.02
8	1,301	0.96
9	0,085	0.03
10	0,140	0.04
11	1,329	1.20
12	0,068	0.02
13	1,369	1.10
14	0,065	0.02
15	0,131	0.03
16	0,162	0.05
17	0,175	0.04
18	0,116	0.05
19	0,095	0.02
20	0,069	0.02
21	0,103	0.01
22	0,056	0.03
23	0,064	0.01
24	0,065	0.02
25	0,074	0.01

n° échantillon	DO Tunisie	DO Maroc
26	0,105	0.07
27	0,048	0.08
28	0,053	0.06
29	0,059	0.01
30	0,100	0.02
31	0,116	0.07
32	0,097	0.10
33	0,104	0.06
34	0,114	0.05
35	0,081	0.09
36	1,317	1.12
37	0,087	0.08
38	0,102	0.04
39	0,102	0.02
40	0,035	0.03
41	0,029	0.02
42	0,099	0.05
43	0,102	0.15
44	0,097	0.04
45	0,090	0.10
46	0,129	0.02
47	0,124	0.02
48	0,066	0.07
49	0,088	0.04
50	0,087	0.01

N° témoin	DO
T1	0,133
T 2	0,048
T 3	0,284
T 4	0,148
T 5	0,277
T 6	0,174
T 7	0,206
T 8	0,153
T 9	0,137
T 10	0,133
T 11	0,103
T 12	0,227
T 13	0,194

✓ Calcul de la moyenne des DO témoins :

$$\frac{\sum_1^{13} DO}{13} = 0,017$$

✓ Calcul de l'écart type :

$$DS = 0,067$$

✓ Calcul de p :

$$p = 2DS + \text{moy DO témoins}$$

$$p = 0,304$$

Tableau 3: résultats ELISA évalués sur 50 sérums marocains

Nombre de sérum testé	ELISA positifs Tunisie	ELISA négatifs Tunisie	Sensibilité
Positifs Maroc (n=8)	6*	2	75%
Négatifs Maroc (n=42)	0	42	100%

*les positifs et les négatifs sont évalués par rapport à p ; les positifs (p>0,304) et les négatifs (p<0,304).

IV.2. Résultats du western-blot

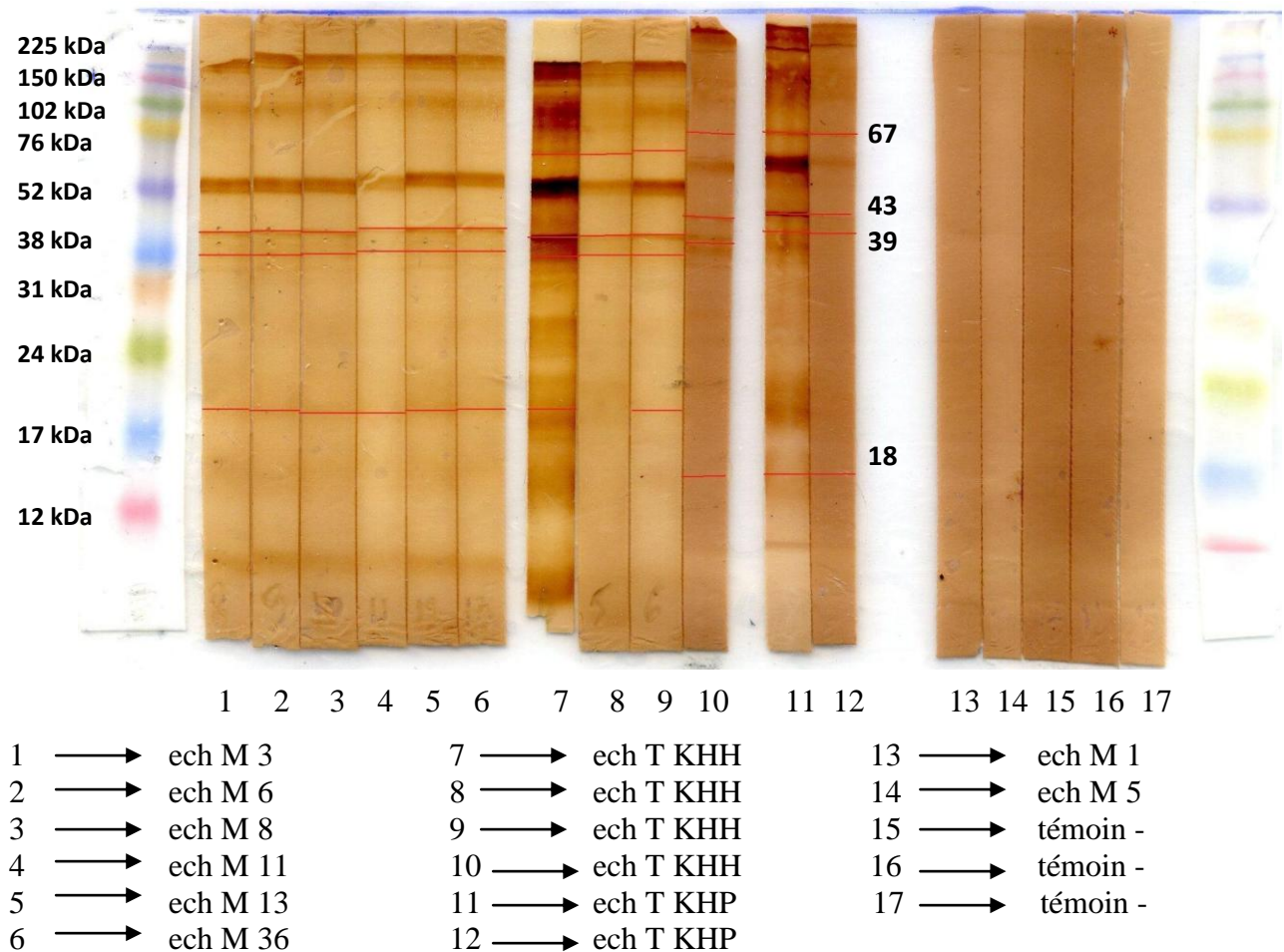


Figure 7. Profil de séparation électrophorétique du liquide hydatique sur gel de polyacrylamide à 10%.

Dix sept sérums ont été testés par la technique western-blot ; 8 sérums marocains (6 positifs et 2 douteux obtenus par l'ELISA) : 6 hépatiques, 1 pulmonaire et 1 association ventricule/rein ; et 9 sérums tunisiens dont 5 prélevés chez des patients atteints d'hydatidose hépatique et 4 prélevés chez des patients atteints d'hydatidose pulmonaire.

La sensibilité globale des différentes bandes est rapportée par le tableau 4. Les bandes 39 kDa et 43kDa représentent 71% chez les différents malades testés, et donc elles sont les plus sensibles, suivies de 18kDa avec une sensibilité de 65%.

Tableau 4: Sensibilité globale des différentes bandes reconnues par les sérums de patients atteints de kyste hydatique.

Bande ech (kDa)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Bde pos*	Sensibilité
10	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	8	47%
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	3	18%
15	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	6	35%
18	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	11	65%
21	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	4	36%
22	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	3	18%
25	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	9	53%
28	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	9	53%
35	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	9	53%
39	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	71%
41	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	7	41%
43	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	12	71%
45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	3	18%
50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	3	18%
53	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	9	53%
56	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	9	53%
67	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	6	35%
77	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	5	29%
96	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	6	35%

* les bandes qui se sont révélés positifs par western-blot

De 1 à 6 : sérums marocains

De 7 à 12 : sérums tunisiens

1 → ech M 3

2 → ech M 6

3 → ech M 8

4 → ech M 11

5 → ech M 13

6 → ech M 36

7 → ech T KHH

8 → ech T KHH

9 → ech T KHH

10 → ech T KHH

11 → ech T KHP

12 → ech T KHP

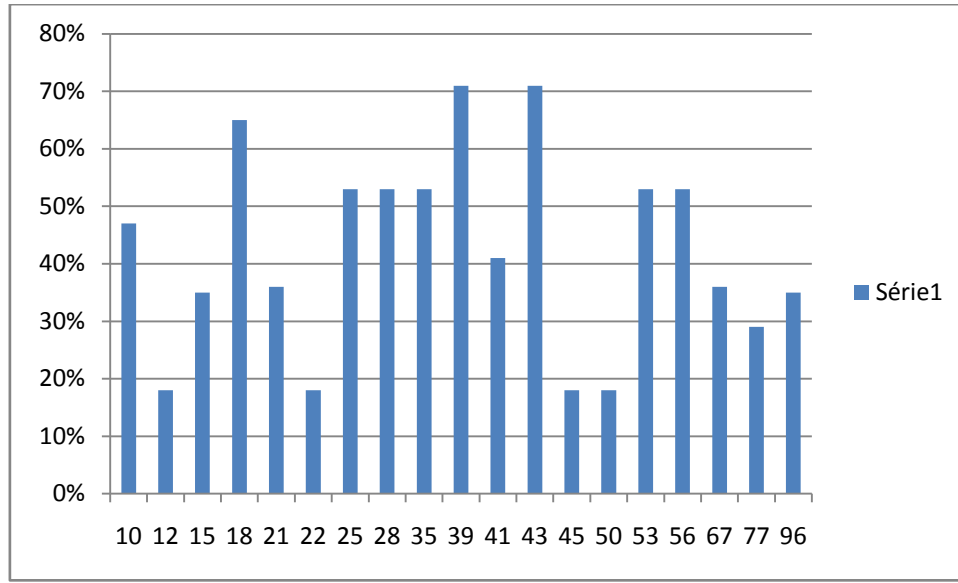


Figure 8. Sensibilité des différentes bandes protéiques chez des patients atteints de kyste hydatique.

IV. 3. Comparaison des profils :

Selon le pays [Tableau 5]: Les bandes 39 kDa et 43 kDa sont les plus sensibles chez les deux populations. Cependant, on note l'apparition de bandes chez la population tunisienne qui sont absentes chez la population marocaine. Ces bandes sont : 12, 21, 22, 45, 50, 67 et 77 kDa, en particulier pour la bande 67kDa qui peut être significativement élevé avec 67% chez la population tunisienne.

Tableau 5: sensibilité des bandes protéiques selon la population étudiée

	Nombre de patients		Sensibilité	
	Population marocaine (n=8)	Population tunisienne (n=9)	Population marocaine	Population tunisienne
10	6	2	75%	22%
12	0	3	-	33%
15	5	1	62%	11%
18	6	5	75%	56%
21	0	4	-	44%
22	0	3	-	33%
25	5	4	62%	44%
28	5	4	62%	44%
35	5	4	62%	44%
39	6	6	75%	67%
41	6	1	75%	11%
43	6	6	75%	67%
45	0	3	-	33%
50	0	3	-	33%
53	6	3	75%	33%
56	6	3	75%	33%
67	0	6	-	67%
77	0	5	-	56%
96	3	3	36%	33%

Selon la localisation du kyste [Tableau 6] : La comparaison des profils sérologiques selon la localisation du KH s'est fait sur les 9 sérums tunisiens (5 avec KHH et 4 avec KHP). On constate que les bandes : 10, 15, 22, 41, 53, 56, et 96 kDa sont absentes chez les patients atteints de kyste hydatique pulmonaire alors qu'ils sont présents chez les patients atteints de kyste hydatique hépatique avec des sensibilités respectives de 40%, 20%, 60%, 20% et 60% pour les trois derniers échantillons.

Tableau 6: sensibilité des bandes protéique selon la localisation du kyste sur une population tunisienne

	Nombre de patients		Sensibilité	
	Kyste hépatique (n=5)	Kyste pulmonaire (n=4)	Kyste hépatique	Kyste pulmonaire
10	2	0	40%	-
12	1	2	20%	50%
15	1	0	20%	-
18	3	2	60%	50%
21	3	1	60%	25%
22	3	0	60%	-
25	3	1	60%	25%
28	3	1	60%	25%
35	4	0	80%	-
39	4	2	80%	50%
41	1	0	20%	-
43	4	2	80%	50%
45	1	2	20%	50%
50	1	2	20%	50%
53	3	0	60%	-
56	3	0	60%	-
67	4	2	80%	50%
77	3	2	60%	50%
96	3	0	60%	-

V. DISCUSSION

V.1 Définition de l'hydatidose :

- Origine de l'appellation ^[48]

* ***hydatido*** : Du grec *hudatis* [hydatid(o)-], petite tumeur contenant du liquide aqueux, ou relatif à la larve du ténia échinocoque qui se développe dans le foie de plusieurs mammifères et de l'Homme ;

* **ose** : Du grec *-ôsis* [-ose], suffixe désignant des maladies non inflammatoires ou/et des états chroniques.

- Définition médicale ^[34]

Maladie parasitaire provoquée par l'infestation par la larve d'un ténia du chien, *Echinococcus granulosus*. SYN : kyste hydatique, échinococcose uniloculaire.

V.2 Epidémiologie

V.2.1 Morphologie de l'agent pathogène ^[1]

Adulte : Le ténia *Echinococcus granulosus* est un cestode de l'embranchement des Plathelminthes. Il mesure 5 à 8 mm de long, vit fixé entre les villosités de l'intestin grêle, sa longévité est de 6 mois à 2 ans. Un même hôte peut en héberger une centaine à plusieurs milliers. La partie céphalique ou scolex est d'aspect piriforme.

La tête est pourvue de 4 ventouses arrondies et d'un rostre saillant armé d'une double couronne de crochets. Occasionnellement, une troisième rangée est munie de minuscules crochets. Les ventouses et les crochets assurent l'adhésion du parasite à la paroi intestinale de l'hôte.

Le corps du ténia, qui fait suite à un cou court, est formé de trois anneaux constituant une chaîne appelée strobile. Les deux premiers sont immatures. Le dernier anneau, formé en 6 à 11 semaines, est un utérus gravide contenant jusqu'à 1500 œufs mûrs. Il se détache complètement à maturité pour être saisi par le péristaltisme intestinal. Il est remplacé en 8 à 15 jours, au maximum 5 semaines.

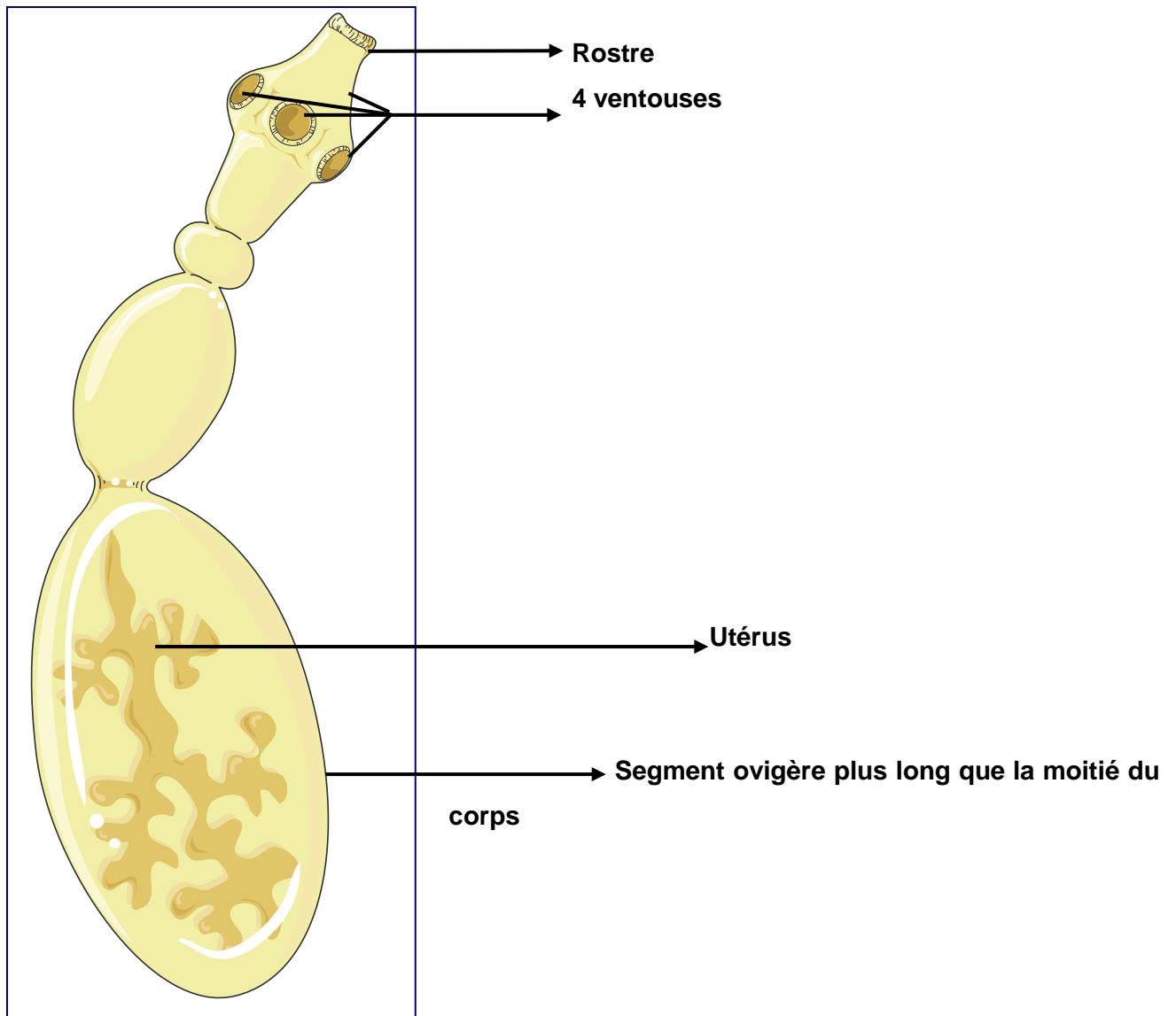


Figure 9. Aspect microscopique de l'adulte ^[49]

Œuf : L'œuf est ovoïde (35µm), non operculé, protégé par une coque épaisse et striée. Il contient un embryon hexacante à six crochets ou oncosphère. La maturation de l'œuf se réalise dans le milieu extérieur. Sa survie sur le sol dépend des conditions d'humidité et de température. Elle est de 1 mois à +20°C, 15 mois à +7°C, 4 mois à -10°C ; l'œuf est détruit en 3 jours si l'hygrométrie est faible (inférieur à 70%), en quelques heures par la dessiccation et en quelques

instants au-delà de 60°C. Les agents chimiques, engrais ou désinfectants n'altèrent pas sa vitalité et ne peuvent donc être utilisés pour désinfecter les légumes contaminés.

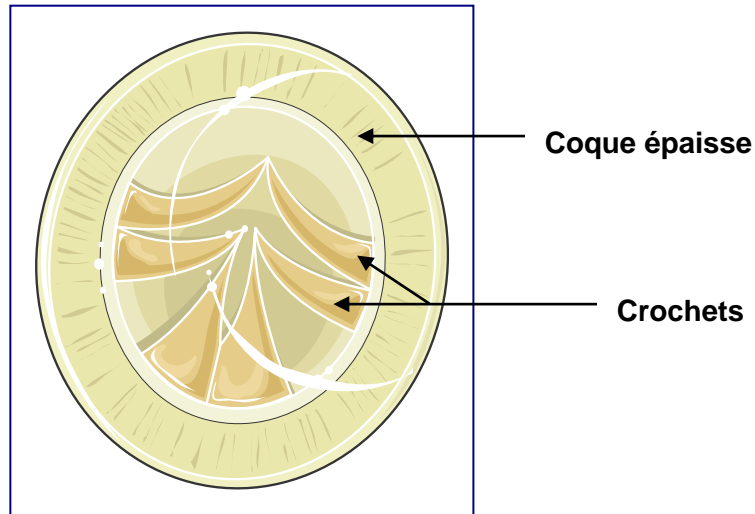


Figure 10. L'œuf contenant un embryon hexacanthe ^[49]

Forme larvaire : hydatide : La forme larvaire se développe préférentiellement dans le foie et elle est identique chez l'homme et l'animal.

- C'est une sphère creuse remplie de liquide, entourée d'une réaction fibreuse du tissu de l'hôte.
- Hydatide + adventice = kyste hydatique.
- L'hydatide se forme à partir d'un embryon et va par vésiculation, constituer dans le foie ou le poumon une masse kystique parfois énorme.
- Au terme de son évolution le kyste hydatique va se trouver constitué par, de l'extérieur vers l'intérieur :

Adventice : Membrane prékystique n'appartenant pas à l'hydatide, elle n'est pas une structure parasitaire, elle est constituée par le parenchyme de l'organe hôte refoulé par la croissance de l'hydatide.

Membrane anhyste : Constitue la paroi externe de l'hydatide. C'est une membrane blanche constituée de couches concentriques d'une substance proche de la chitine, elle ne contient pas de cellules. Elle est douée d'une certaine élasticité, elle assure l'intégrité du kyste et se comporte comme une membrane de dialyse en s'opposant à la pénétration des bactéries.

Membrane proligère : C'est la membrane germinative, elle tapisse intérieurement la membrane anhyste. Fine, fragile, molle et blanche, elle est constituée par une couche cellulaire (cellule embryonnaire). C'est la membrane fertile de l'hydatide.

Vésicules proligères : Elles prennent naissance sur la membrane proligère et contiennent des protoscolex qui sont soit libres dans l'hydatide ou groupés dans la vésicule proligère. Les protoscolex (100 à 200µm) peuvent donner chacun, un taenia adulte s'ils sont ingérés par un chien. Ils peuvent également se vésiculer et redonner naissance à une structure identique à l'hydatide mère avec cuticule et membrane germinative. Cette vésiculation peut se produire :

↳ Dans l'hydatide primitive en état de souffrance après fissuration ou rupture, c'est la vésiculation endogène qui va donner des vésicules filles.

↳ Parfois à l'extérieur de l'hydatide par suite d'hernies dans la cuticule, c'est la vésiculation exogène (rare chez l'homme mais plus courante chez l'animal).

▪ Les protoscolex libérés par fissuration ou rupture peuvent essaimer à partir de l'hydatide mère et vésiculiser à distance donnant ainsi l'échinococcose secondaire.

- Vésicules proligères et protoscolex libres constituant le sable hydatique, baignent dans un liquide clair «eau de roche», c'est le liquide hydatique, constitué également de produits de l'hôte. Il a une grande valeur antigénique.

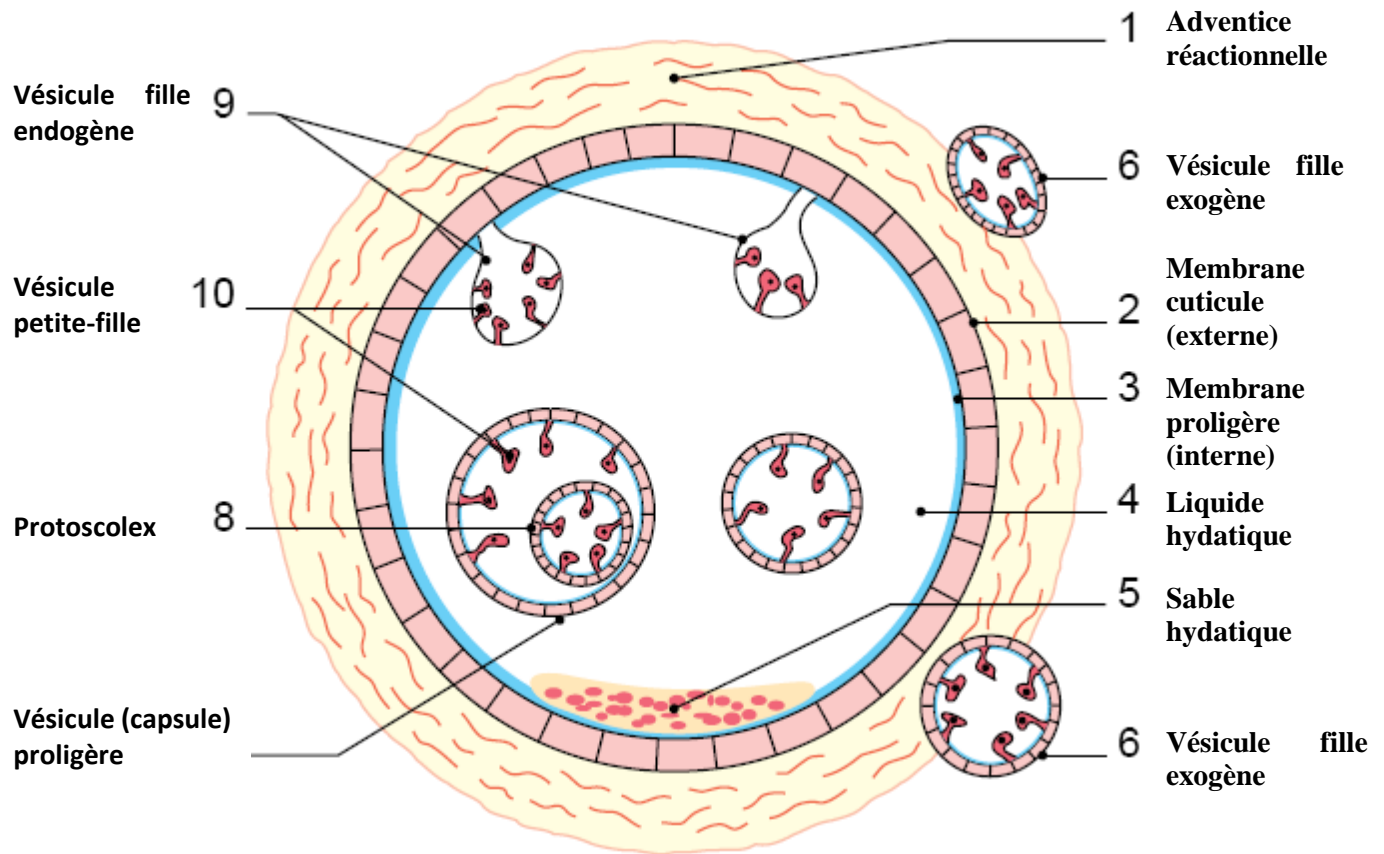


Figure 11. Structure du kyste hydatique ^[45]

V.2.2 Cycle du parasite

Le cycle est hétéroxène. L'échinococcose est une zoonose qui requiert deux hôtes pour son achèvement. *L'hôte définitif* est le chien, plus rarement un autre

canidé comme le loup, le chacal, l'hyène. *L'hôte intermédiaire* est un herbivore et avant tout le mouton qui broute au ras du sol. Viennent ensuite les bovins, les porcins, mais également le cheval et les chèvres. Les chameaux, le renne, l'élan et le yak sont propres à certaines régions. L'homme s'insère accidentellement dans le cycle évolutif du ver ; c'est une impasse épidémiologique.

Les œufs sont éliminés dans le milieu extérieur avec les selles du chien. Ils sont ingérés par l'hôte intermédiaire herbivore.

L'oncosphère éclot de sa coque protectrice dans l'estomac ou le duodénum sous l'effet des sucs digestifs. Les sécrétions provenant des glandes de pénétration favorisent son entrée dans la paroi digestive, cisailée par les six crochets équipés d'une musculature propre.

L'oncosphère ne peut diffuser par voie artérielle car la robustesse de la paroi vasculaire empêche son passage. Il pénètre facilement par le système veineux porte puis traverse le foie où il s'arrête le plus souvent.

Dépassant le foie par les veines sus-hépatiques, il passe par le cœur droit et parvient aux poumons. Plus rarement, la localisation peut se faire en n'importe quel point de l'organisme via la circulation générale. Un passage lymphatique de l'oncosphère doit exister et expliquerait la localisation pulmonaire ou inhabituelle de certains kystes, sans lésion hépatique concomitante.

Une fois fixé dans un viscère, soit l'embryon est rapidement détruit par la réaction inflammatoire et les cellules phagocytaires, soit il se transforme en hydatide par phénomène de vésiculation. Le cycle est fermé lorsque le chien dévore les viscères (foie, poumons) d'un herbivore parasité. Les scolex ingérés par milliers se dévagent et se transforment chacun en vers adultes dans son tube digestif.

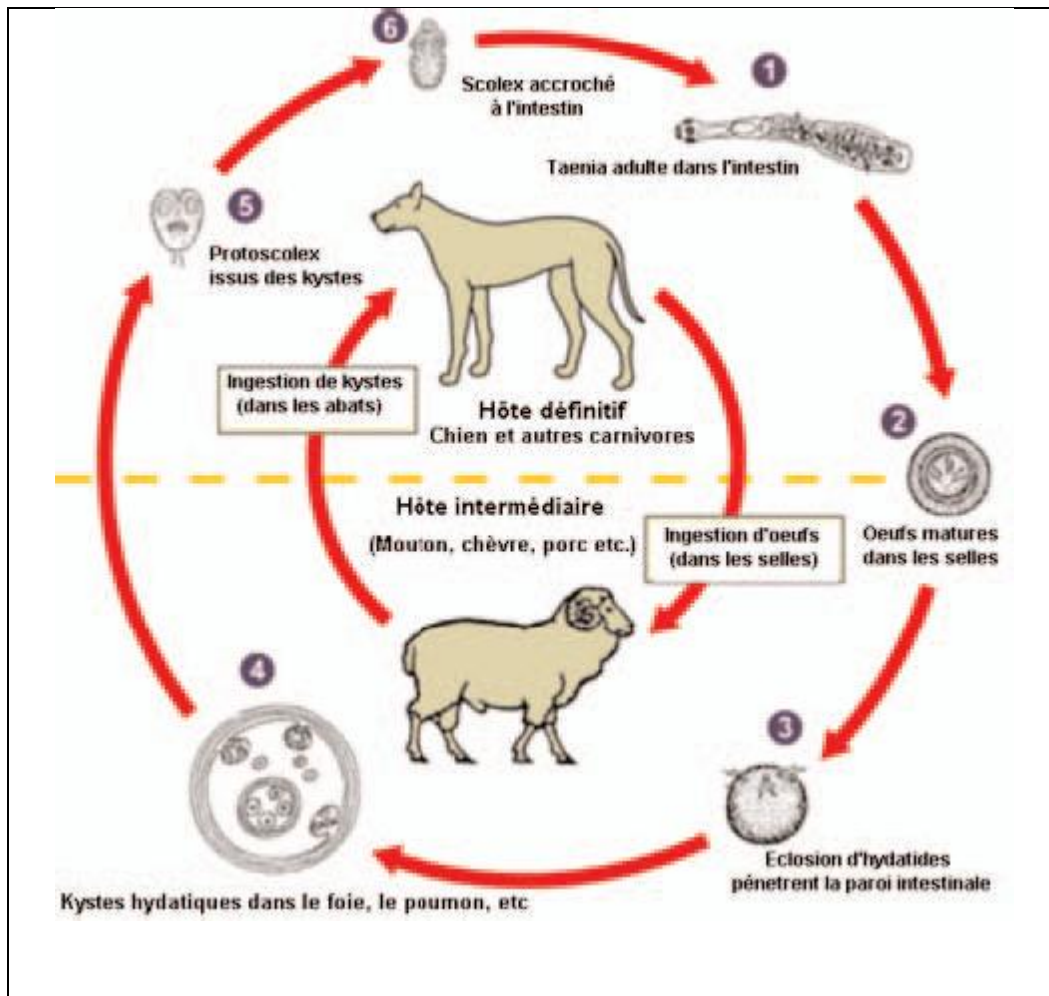


Figure 12. Cycle évolutif du taenia *Echinococcus granulosus*^[47]

V.2.3 Mode de contamination humaine

L'infection humaine résulte du commensalisme et de la cohabitation avec les chiens atteints de tæniasis à *E. granulosus*.

L'homme contracte la maladie par ingestion des œufs selon deux modalités, et avant tout par **voie directe**, car le chien qui se lèche l'anus, souille d'œufs sa langue et son pelage en faisant sa toilette et contamine l'homme en lui léchant le visage ou en se faisant caresser.

La **contamination indirecte** s'effectue par l'eau de boisson, les fruits ramassés à terre et les légumes crus souillés par les œufs. Les œufs sont dispersés passivement par le vent, la pluie, les ruisseaux, les mouches coprophages, les arthropodes mais aussi, par les chaussures de l'homme ou les pattes des animaux. Parfois, des coutumes favorisent la transmission. Ainsi au Kenya, les excréments sont utilisés comme emplâtre pour les plaies et comme lubrifiant pour les colliers des femmes. Au Moyen-Orient, ils sont utilisés pour ramollir le cuir des chaussures. Enfin, la transmission interhumaine est impossible et l'ingestion de viscères crus contenant les métacestodes d'*E. granulosus* n'est pas infectante pour l'homme.

La phase humaine du cycle parasitaire d'*E. granulosus* commence par l'ingestion des œufs du ver ; ces œufs sont entourés d'une coquille appelée embryophore. L'embryon libéré de son embryophore traverse la paroi intestinale et pénètre dans le système porte. Transporté par le sang, l'embryon se dirige d'abord vers le foie où il se fixe le plus souvent. Il peut aussi traverser le foie et s'arrête alors généralement dans les poumons et beaucoup plus rarement dans d'autres organes.

V.2.4 Prévalence ^[3]

Le taux de prévalence donne la proportion réelle de sujets infectés. Elle est estimée suite à des enquêtes de dépistage de masse utilisant des outils radiologique et/ou sérologiques. Le dépistage radiologique se fait par l'échographie abdominale pour les kystes hépatiques et par la radiographie du thorax pour ceux pulmonaires. La sérologie recherche des anticorps spécifiques principalement par la technique ELISA.

En Tunisie, le taux de prévalence varie de 1,5% à 4% selon les outils utilisés et les régions étudiées. Plusieurs facteurs sont responsables de cette hyperendémicité, parmi ces facteurs on cite : l'intensité d'élevage, les difficultés de ramassage des carcasses, une population canine nombreuse, l'abattage non contrôlé, une éducation sanitaire insuffisante, la non disponibilité d'incinérateurs dans tous les abattoirs, le climat tempéré de la Tunisie et au Maroc qui permet aux embryophores d'*E. granulosus* de rester longtemps infectants.

A l'échelle mondiale ^[1]

L'échinococcose ou l'hydatidose est une pathologie prédominante dans des pays d'élevage en voie de développement, l'hydatidose peut atteindre jusqu'à 5% de la population des zones de forte endémie [**Figure 13**].

En Amérique Latine, on rencontre la maladie surtout en Argentine, au Brésil, au Pérou, en Uruguay et au Chili.

Aux Etats-Unis, entre 50 et 150 cas d'hydatidose sont annuellement importés par la population immigrée d'Asie centrale et du Moyen-Orient.

En Chine, 26 000 cas d'hydatidose ont été opérés ces 40 dernières années dans six provinces.

En Europe, les pays du pourtour méditerranéen sont atteints avec plus ou moins d'intensité (Grèce, Italie, Espagne, Portugal).

En Océanie, l'échinococcose intéresse l'Australie.

En Afrique du nord, le foyer d'hydatidose le plus anciennement connu du continent, l'hydatidose frappe surtout le Maroc, l'Algérie et la Tunisie.

En Afrique de l'Est, le district du Turkana situé au nord-ouest du Kenya, apparaît comme le foyer où la prévalence de l'hydatidose humaine est la plus élevée au monde.

En Afrique de l'Ouest et Australe, l'hydatidose humaine est rare alors que la maladie est présente dans le bétail.

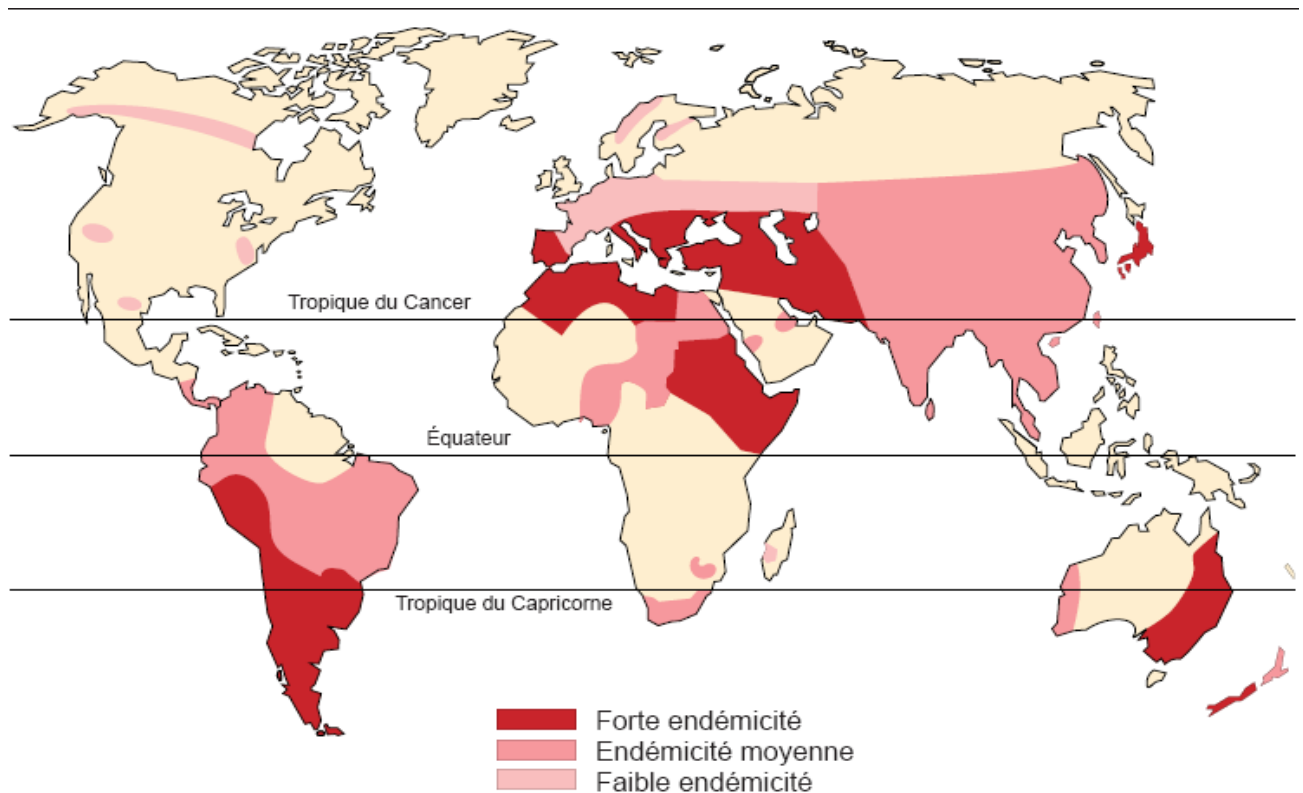


Figure 13. Répartition géographique des hydatidoses humaines et animales [13]

A l'échelle nationale :

L'hydatidose est une maladie endémique au Maroc où l'élevage se pratique encore sous le mode pastoral. Elle sévit dans la presque totalité des régions rurales du pays [28]

L'enquête rétrospective sur l'hydatidose au Maroc couvrant la période 1980-1992 : a enregistré 13.973 cas opérés, soit : 1047 cas /an (4,8/100.000) [28]

Suite à la mise en place d'un registre de collecte des données au niveau des tous les services de chirurgie des CHU et des hôpitaux provinciaux on a noté ^[21]

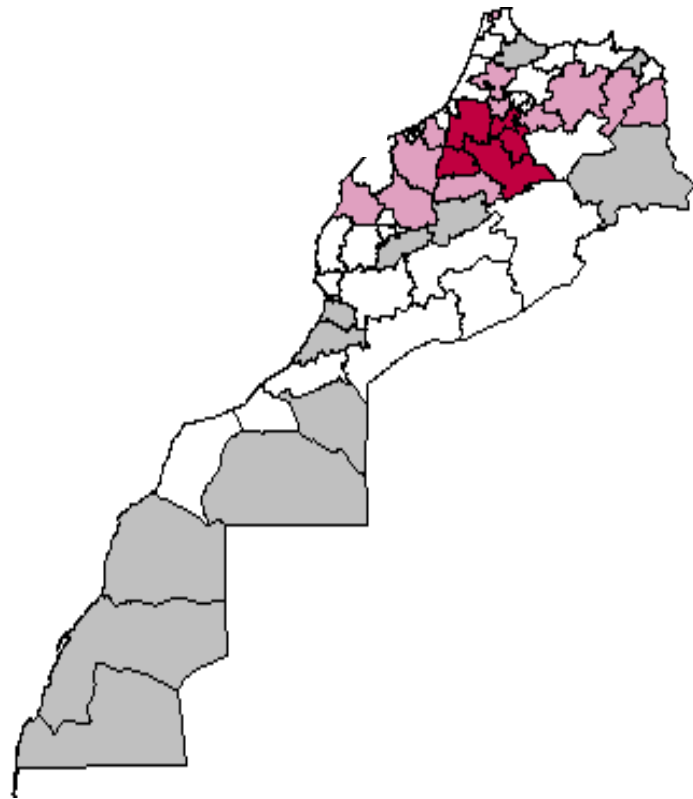
↳ En 2003 : 1659 cas opérés de kyste hydatique représentant une incidence moyenne de (5,5 /100.000).

↳ En 2004 : 1704 cas opérés de kyste hydatique représentant une incidence moyenne de (5,7 /100.000).


↳ En 2005 : 1495 cas opérés de kyste hydatique représentant une incidence moyenne de (5,0 /100.000).


Distribution des cas opérés : [Figure 14]

L'examen des données relatives à la répartition par province de résidence des cas opérés obtenus au cours de l'année 2005 montre que l'incidence annuelle par province oscille entre un maximum de 24,1 pour 100.000 habitants dans la province d'Ifrane et un minimum de 0,3 à Mohammedia.



 $\geq 10 / 100\ 000$ hab.

 6 – 9,99

 2 – 5,99

 < 2

Figure 14. Répartition géographique de l'incidence pour 100 000 habitants des cas chirurgicaux de l'hydatidose, Maroc, année 2005 ^[21]

Répartition des cas des kystes hydatiques opérés par âge et par sexe :

L'analyse de la figure 15 tiré d'une étude de la Direction de l'Epidémiologie et de Lutte Contre les Maladies en 2005 montre que : [21]

- La tranche **d'âge** 15 à 49 ans a enregistré à elle seule 1118 cas, soit 74,7% du total, suivi de la tranche d'âge de 50 ans et plus qui représente 22,7% et ensuite des tranches d'âge de 7 à 14 ans et de 1 à 6 ans.

La répartition des cas d'hydatidose par **sexe** montre une prédominance féminine avec 62,4 % contre 37,6% de sexe masculin. Ces résultats sont presque similaires à ceux de l'enquête de 1980/1992, soit 57,4% et 42,6%. En effet dans les régions rurales les femmes sont plus exposées à la maladie en raison de la nature de leurs activités et de leur contact presque permanent avec le chien, réservoir de la maladie.

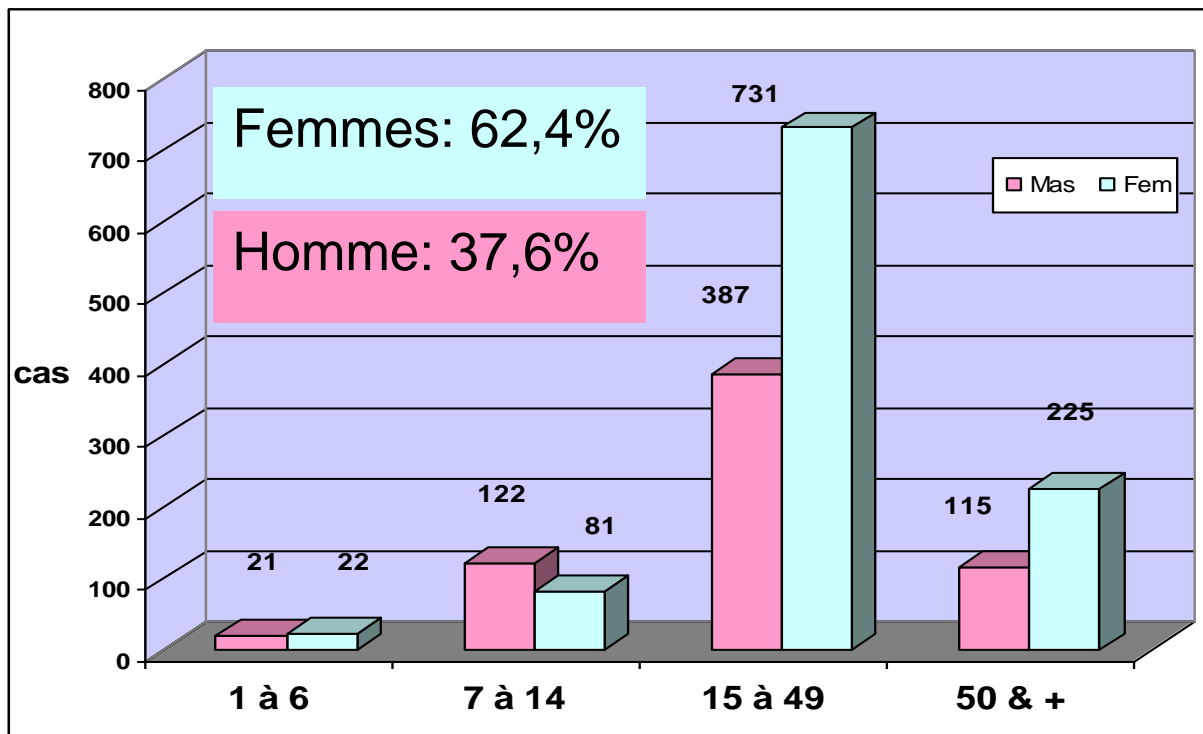


Figure 15. Répartition des cas de kyste hydatique par âge et par sexe, Maroc, 2005 [21]

Répartition des organes touchés : Dans cette même étude l'examen de la fréquence selon la localisation, montre que le foie est l'organe le plus touché par la maladie, avec 74% des cas opérés, suivi des poumons avec 19%. Ces deux organes représentent à eux seuls 93%. Ces résultats rejoignent à peu près les données de l'enquête rétrospective de 1980/1992.

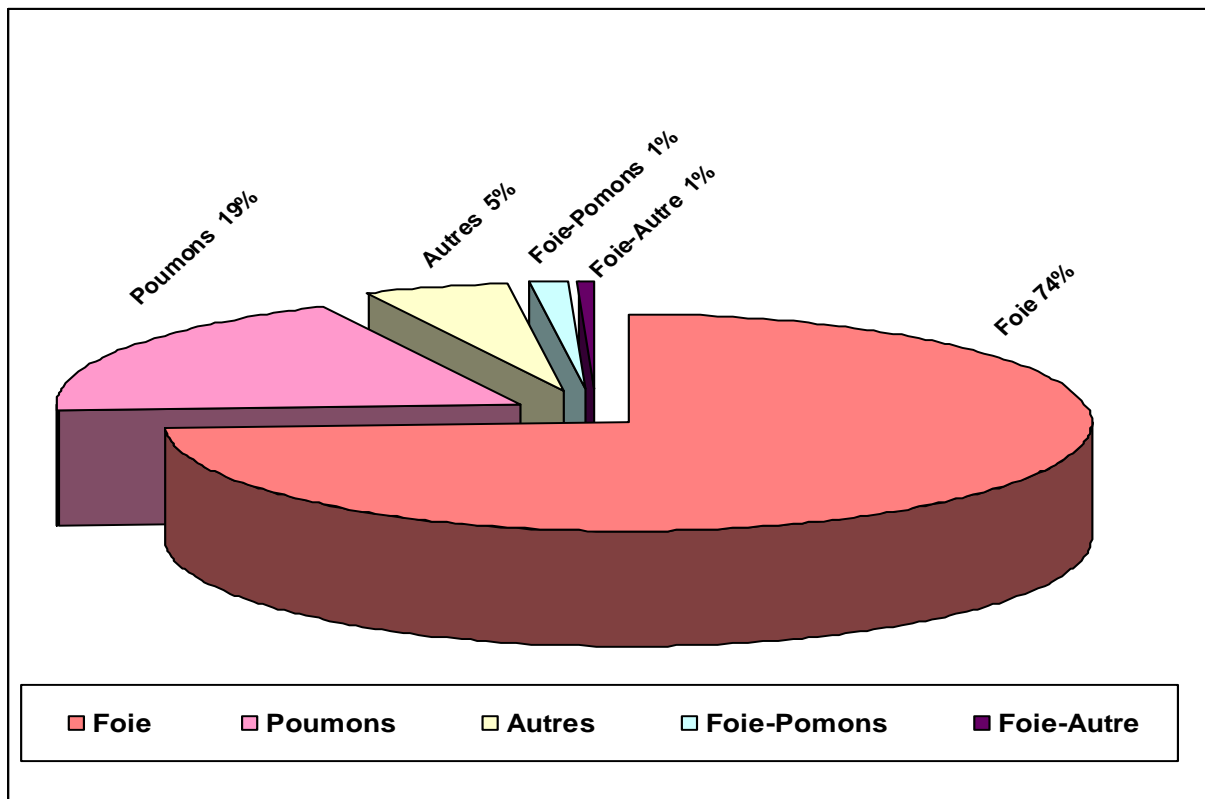


Figure 16. Répartition par localisation des kystes hydatiques opérés, Maroc, 2005 [21]

En Tunisie :

En Tunisie, l'hydatidose représente par sa fréquence, un véritable fléau. Elle constitue une menace grave pour la santé des individus et entraîne des pertes économiques considérables estimées à 15 millions de dollars [6].

Les données sur la fréquence de la maladie humaine repose essentiellement sur le nombre d'interventions chirurgicales pour kyste hydatique qui à lui seul ne reflète que partiellement la réalité épidémiologique de l'infestation.

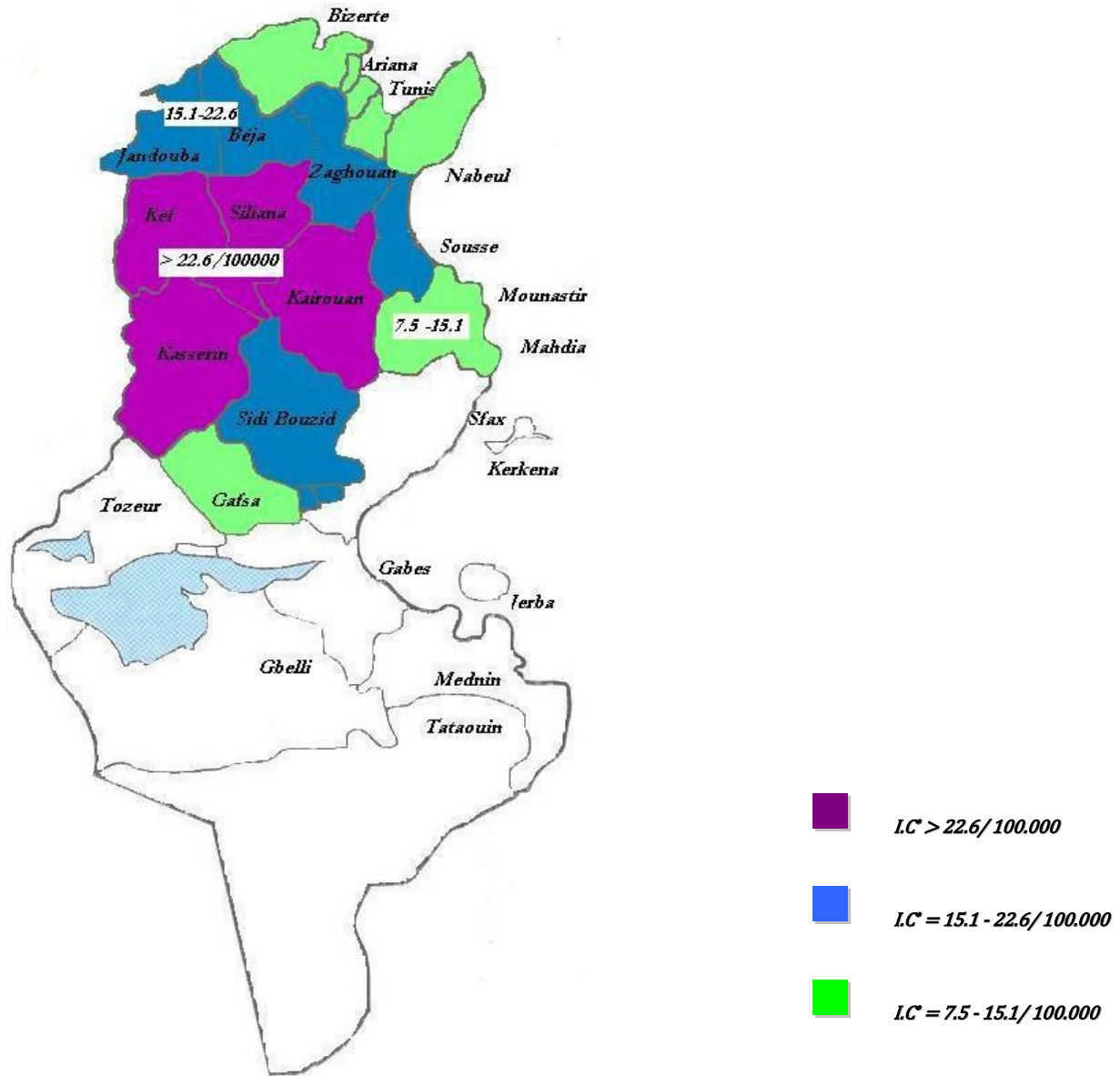


Figure 17. Répartition géographique de l'incidence pour 100 000 habitants des cas chirurgicaux de l'hydatidose, Tunisie, année 1987 ^[6]

Deux types d'indicateurs peuvent estimer le niveau d'infestation chez l'homme: le taux de prévalence et le taux d'incidence. La mesure du taux de prévalence se base sur la réalisation d'enquêtes épidémiologiques de masse pouvant utiliser la sérologie, principalement la technique ELISA, l'échographie abdominale pour les kystes abdominaux et la radiographie du thorax pour les kystes pulmonaires. Nombreuses estimations de prévalences régionales et nationales, utilisant ces outils, ont été publiées par des auteurs tunisiens [Tableau 7].

Tableau 7 : Estimations de quelques prévalences régionales publiées par des auteurs tunisiens.

AUTEURS	ANNÉE	RÉGIONS	OUTILS	PRÉVALENCE
B.SAID	1985	▪ Menzel Bourguiba	Echo	2.33 %
			Séro	2.33 %
		▪ Nord-ouest / Cap bon ▪ Gouvernorat de Kasserine	Séro	0.68 %
			Echo Séro	2.58 % 2.79 %
GHARBI	1984-1986	▪ Menzel Bourguiba ▪ Gouvernorat de Kasserine ▪ Gabes ▪ Metlaoui	Echo+Séro	1.75 % à 4.3 %
BCHIR	1987	▪ Sbikha	Echo	3.5 %
			Séro	2.9 %
AYOUB-BELKHIRIA	1997	▪ Medjez El Beb	Séro	2.26 %

Echo : échographie ; Séro : sérologie

V.3 Aspects cliniques de l'hydatidose

Le kyste hydatique évolue très lentement et n'est pratiquement découvert qu'après 10 à 20 ans de contamination. Il siège dans la majorité des cas au niveau du foie, assez fréquemment au niveau des poumons et plus rarement dans d'autres localisations. La symptomatologie du kyste hydatique dépend étroitement de l'organe parasité.

V.3.1 Kyste hydatique du foie

Les manifestations pathologiques du kyste hydatique du foie sont surtout caractérisées par leur polymorphisme, et il est par conséquent difficile de décrire un tableau clinique propre à cette parasitose.

On distingue deux formes ;

- ✓ Les formes biliaires : parmi ces symptomatologies on cite les troubles dyspeptiques : nausées, vomissements, gêne ou parfois de véritable douleurs abdominales survenant par crise, douleurs de l'hypochondre droit, ascendantes et gênant la respiration, hypercoloration des urines, subictère conjonctival, plus rarement un ictère franc généralisé transitoire. La température est alors élevée et elle peut persister plusieurs jours.
- ✓ Les formes tumorales : elles sont moins fréquentes que les formes biliaires. Elles diffèrent selon le siège de la tumeur parasitaire dans le foie (kyste central, kyste à développement antérieur, kyste à développement postérieur, kyste à développement supérieur, kyste à développement inférieur).

Le kyste hydatique peut donner des complications qui se manifestent par la compression des organes voisins, une cachexie hydatique qui est devenu très exceptionnel grâce aux moyens modernes qui permettent d'identifier et de traiter

l'hydatidose à un stade relativement précoce, fissuration et rupture du kyste, et la suppuration.

V.3.2 Kyste hydatique du poumon

L'hydatidose pulmonaire est généralement primitive, l'embryon hexacanthé traverse le parenchyme hépatique sans s'y arrêter et va se développer au niveau du parenchyme pulmonaire, plus souvent à droite qu'à gauche. Cependant il est des cas très rare où la rupture dans la veine cave d'un kyste hydatique du foie peut être à l'origine d'une hydatidose pulmonaire secondaire.

Au niveau du poumon, le kyste hydatique évolue en l'absence d'une intervention curative, vers la fissuration et la rupture dans les bronches et plus rarement dans les plèvres.

Cliniquement, on distingue 2 phases : une phase de début et une phase secondaire à la rupture.

- Phase de début : correspond au développement du kyste encore non compliqué, elle est habituellement latente. Cette phase n'est pas complètement muette, elle se manifeste par des douleurs thoraciques d'intensité variable, accompagnées d'une toux tenace et d'hémoptysies. L'état général n'est pas altéré, il n'y a pas de fièvre, mais on note l'existence de manifestations allergiques évoluant par poussées, à type d'éruptions urticariennes, d'œdème de Quincke ou de dyspnée asthmatiformes.

- Rupture du kyste dans les bronches : spontanée ou provoquée par un traumatisme même minime. Le sujet ressent de violentes douleurs angoissantes au niveau du thorax. L'expression clinique de la rupture du kyste est la vomique hydatique ; le patient secoué par une toux incessante rejette par la bouche et les narines une importante quantité de liquide au goût salé et de débris parasitaires

comparés à des « **peaux de raisins sucées** ». L'évolution ultérieure du kyste est marquée par la suppuration et les hémoptysies.

V.3.3 Autres localisations de kyste hydatique

L'hydatidose peut atteindre plusieurs autres organes ; os, rate, cerveau, muscles, cœur, rein. Ces localisations exceptionnelles ne représentent que 1% des cas.

V.4 Diagnostic sérologique ^[31, 55]

❖ L'immunofluorescence indirecte (IFI) :

Elle consiste à faire réagir les sérums étudiés préalablement portés à différentes dilution avec des antigènes figurés déposés sur une lame.

Dans le cas du kyste hydatique, l'antigène figuré provient de membranes hydatiques et de protoscolex. Après incubation des sérums et lavage, les éventuels anticorps spécifiques sont révélés par des anti-immunoglobulines conjuguées à une substance fluorescente. Le test est lu au microscope à lumière ultraviolette. Une réaction positive se traduit par une fluorescence jaune-verte prédominant habituellement à la périphérique des parasites. Au contraire, ces parasites apparaissent rouges en cas de résultat négatif. Une gamme de dilution permet d'avoir le titre qui correspond à l'inverse de la dernière dilution donnant une réaction positive.

Le seuil de positivité de la réaction est de l'ordre de 1/20, la sensibilité dans le diagnostic de l'hydatidose est de 60 à 80%.

❖ L'hémagglutination indirecte (HAI) :

L'hémagglutination indirect est une des techniques les plus utilisées. Le principe de cette méthode consiste à fixer l'antigène hydatique sur des hématies de moutons en présence de glutaraldéhyde. La réaction est réalisée en ajoutant une suspension d'hématies sensibilisées à des dilutions de sérums croissantes.

Le test est effectué dans des plaques de microtitration à fond en U, après une brève agitation suivie d'une sédimentation de 2 à 8 heures, la réaction est lue à l'œil nu : une réaction positive correspond à un voile d'hématies agglutinées au fond de la cupule. Une réaction négative consiste en un bouton de sédimentation au fond de la cupule. Un témoin (sérum de malade/ hématies non sensibilisées) doit toujours être effectué parallèlement pour vérifier l'absence d'agglutination non spécifique. Le titre de 1/320 s'avère significatif dans 90% des localisations hépatiques et dans 63% des localisations pulmonaires.

❖ L'immunoélectrophorèse IEP :

Elle se réalise en 2 temps :

- ✓ Dans un premiers temps, les antigènes hydatiques déposés sur une gélose sont séparés par électrophorèse. Chaque fraction antigénique occupera une place sur la gélose en fonction de son poids et de sa charge électrique.
- ✓ Dans un deuxième temps, le sérum du malade est déposé dans une gouttière face aux antigènes fractionnés. Les anticorps présents vont diffuser de façon passive vers les fractions antigéniques correspondantes. Les complexes antigènes-anticorps forment des arcs précipitants qui sont révélés par un colorant.

Il existe un minimum de 19 arcs, la présence de l'arc 5 correspondant à une fraction antigénique majeure d'*Echinococcus granulosus* permet de poser le diagnostic d'hydatidose.

Il faut toutefois signaler que l'arc 5 a été également retrouvé chez des sujets parasités par *Echinococcus multilocularis* et chez les malades atteints de cysticercose.

L'interprétation des immuno-électrophorégrammes nécessite donc la connaissance de l'origine géographique des malades avec une particulière

attention pour les zones où sévissent à la fois hydatidose et échinococcose alvéolaire.

L'avantage de cette technique est sa spécificité. Son inconvénient majeur est la nécessité d'une grande quantité de sérums (au moins 1ml).

❖ L'électrosynérèse :

Elle utilise un courant d'endosmose qui, au cours d'une électrophorèse, provoque la migration des gammaglobulines en direction de la cathode et le déplacement en sens inverse de l'antigène.

Par une disposition appropriée, on fait converger antigène et anticorps, les zones de précipitation se développent ainsi rapidement.

Le diagnostic repose sur la présence de l'arc spécifique de l'hydatidose dans le sérum testé. Elle sera affirmée par la révélation d'une identité d'arc avec un sérum témoin monospécifique.

Cette technique présente de nombreux avantages ; bonne spécificité, peu consommatrice d'antigènes par rapport aux autres techniques de précipitation, reproductibilité satisfaisante et diagnostic se fait en moins de 4 heures. Son inconvénient est sa faible sensibilité, aux alentours de 60%.

❖ L'ELISA :

C'est une méthode immunoenzymatique. L'antigène du parasite est fixé sur un support solide. Si l'anticorps est présent dans le sérum à tester, il se forme un complexe immun par addition d'une anti globuline humaine couplée à une enzyme. La lecture se fait par mesure de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre. La réaction sera d'autant plus spécifique que l'antigène utilisé aura été parfaitement purifié (fragment 5).

❖ Le Western Blot :

C'est une technique récente et très spécifique. Le Western blot est une technique immuno-enzymatique qui grâce à sa capacité d'analyse fine des mélanges antigéniques hydatiques représente une méthode de choix pour le diagnostic immunologique de l'hydatidose par la possibilité de détecter des anticorps hautement spécifiques dirigés contre l'Ag 5 et l'Ag B.

C'est une technique qualitative qui consiste à séparer les antigènes utilisés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide en fonction de leurs PM. Les protéines séparées sont ensuite transférées sous l'action d'un champ électrique sur une membrane de nitrocellulose. Après incubation avec les sérums des malades à tester puis avec une anti-IgG humaine conjuguée marquée, révèle la présence de complexes immuns par une réaction enzymatique colorée.

Il a été rapporté que ce test est d'une excellente spécificité pouvant approcher les 100% et qu'il est plus sensible que les autres tests sérologiques. En plus, le WB s'est révélé très performant pour éliminer des fausses réactions croisées fréquemment rencontrées notamment en IFI ou en ELISA, d'où son utilisation comme test de confirmation en cas de positivité ou de doutes des autres tests.

Certains auteurs proposent cette technique comme test de référence pour l'immunodiagnostic et la discrimination des 2 échinococcoses : hydatique et alvéolaire. Ce test serait aussi souhaitable dans les zones où *E.granulosus* et la cysticercose sont endémiques.

Par ailleurs la forte sensibilité de cette technique qui reste longtemps positive après une intervention chirurgicale la rend peu adaptée au suivi port thérapeutique.

❖ Les dosages d'IgE totales et spécifiques :

La détermination quantitative des Immunoglobulines E totales et l'appréciation quantitative des Immunoglobulines E anti-fraction 5 spécifiques, sont réalisées grâce à des techniques radio-immunologiques. Des taux élevés d'Ig E spécifiques, traduisent souvent une diffusion hydatique par fissuration ou rupture des kystes ou la présence de localisations multiples. Le dosage des Ig E totales est très important lors du suivi post chirurgical.

Au total, les tests de dépistage reposent sur l'IFI, l'agglutination et le test ELISA. Les tests de confirmation utilisent l'immunoélectrophorèse, l'électrosynérèse et le Western Blot.

V. DISCUSSION :

L'hydatidose demeure un problème majeur de santé publique en Tunisie et au Maroc à cause de son coût élevé dépassant annuellement les 15 millions de \$, son incidence élevée estimée à environ 1200 interventions chirurgicales/an et son importante morbidité liée à ses graves complications et à la lourdeur de sa prise en charge thérapeutique ^[17].

En effet, le bassin méditerranéen constitue, après celui du Turkana au Kenya, le foyer d'hydatidose humaine et animale le plus étendu et le plus important. L'incidence humaine moyenne est estimée, dans les trois pays du Maghreb, à 10 cas annuels pour 100 000 habitants ^[20,38].

Le diagnostic de la majorité des échinococcoses humaines se base en pratique courante sur l'imagerie, principalement par l'échographie, la radiographie et la tomодensitométrie ^[15, 16, 35].

L'immunodiagnostic, simple et peu coûteux, reste malgré les bonnes performances des techniques radiologiques, le seul outil permettant une

confirmation indiscutable de l'origine parasitaire de la maladie par la mise en évidence des anticorps spécifiques. La sérologie se distingue aussi comme l'outil de choix pour le suivi post chirurgical et le dépistage précoce des assez fréquentes récurrences hydatiques [11, 53, 54]. Cependant, quelque soit la technique utilisée, elle reste confrontée à des insuffisances de sensibilité et de spécificité [22, 50]. C'est ainsi que les techniques réputées sensibles tels que l'ELISA et l'HAI manquent de spécificité alors que celles considérées spécifique comme l'IEP et l'ES sont peu sensibles [7, 52]. Ceci a conduit à une multiplication des tests, un manque de standardisation et une diversité des antigènes utilisés et des méthodologies suivies [14, 24].

Les techniques de western-blot dans le diagnostic des maladies infectieuses et parasitaires sont connues pour allier sensibilité grâce à la révélation enzymatique et spécificité grâce à la sélection de bandes antigéniques hautement caractéristiques du pathogène en question [7, 50]. Elles présenteraient aussi l'avantage en séparant les antigènes et les anticorps correspondants, d'associer éventuellement les profils immunitaires à des localisations ou des stades évolutifs particuliers [33, 40, 51].

L'objectif de ce travail est d'une part la mise au point et l'évaluation d'une technique ELISA sur des sérums marocains afin de déterminer sa sensibilité, et d'autre part l'évaluation d'une technique de WB et la comparaison des profils obtenus selon la population étudiée et la localisation du kyste.

La qualité des antigènes utilisés conditionne, quelque soit la technique sérologique, les performances obtenus [5, 30, 41, 43]. Au cours de l'hydatidose, la larve d'*E. granulosus* exprime de très nombreux antigènes pouvant correspondre à différents stades : membrane proligère, protoscolex et liquide

hydatique [8, 19, 54], la majorité d'entre eux étant communs à tous ces composants. Le LH par son abondance et la facilité de son recueil reste le plus utilisé [22, 36].

La composition antigénique du LH dépend du variant génétique (origine géographique et génotype), de la fertilité du kyste favorisant la production et donc une forte concentration en antigènes même si le LH de kystes non fertiles contient des antigènes, et aussi de l'hôte chez lequel le KH se développe tel que révélé par des différences de profils protéiques de LH de mouton, cheval et chameau [44].

Les LH des KH humains et ovins renferment des concentrations élevées en antigènes 5 et B [22, 36]. Partant de ces données, nous avons choisi de sensibiliser nos puits d'ELISA et nos bandelettes de WB avec une préparation antigénique provenant de LH ponctionné de kyste de foies de mouton.

L'évaluation des 50 sérums provenant de population marocaine par la technique ELISA a révélé 6 sérums positifs, 2 douteux et 42 négatifs avec une sensibilité de 75% [tableau 3]. Donc l'ELISA, grâce d'une part à son excellente sensibilité, est indispensable pour un bon dépistage des nombreuses formes asymptomatiques d'hydatidose, et d'autre part à sa capacité d'analyser un grand nombre de sérums en même temps, est la technique la plus adaptée aux enquêtes épidémiologiques très utiles à l'exploration des modalités de transmission de la parasitose et ainsi à son meilleur contrôle [5, 7, 9].

Les 6 sérums positifs et les 2 douteux ont été testés par la technique WB avec 9 autres sérums tunisiens (5 concernant une hydatidose hépatique et 4 concernant une hydatidose pulmonaire). Ce test a révélé 12 patients positifs, les 2 douteux sont négatifs. Ceci montre la valeur ajoutée de western-blot qui permet de résoudre certaines difficultés d'interprétation rencontrées par les

techniques classiques. En effet, il permet de confirmer les malades des non malades et il est plus spécifique sur les cas douteux.

L'incubation des 17 sérums de patients opérés pour KH avec nos bandelettes sensibilisées à révélé 18 bandes de réaction Ag-Ac. Toutes particularités cliniques confondues [**tableau 4**], les deux bandes 39 et 43 kDa se sont révélés les plus sensibles avec 71% pour les deux, suivi de la bande 18 kDa avec une sensibilité de 65%. Ces résultats rejoignent ceux de la littérature. En effet, les 2 bandes les plus représentatives, 39 et 42 kDa correspondraient à des sous unités de l'Ag 5 et sont considérées comme spécifique et reconnaissable par les anticorps de la classe Ig G. De plus, dans la série de Doiz and al. (2001), ces deux bandes ont révélés plus de 80% de sensibilité [11,50].

La bande 67 kDa décrite comme majoritaire de l'Ag 5 en SDS PAGE a une sensibilité de 85,5 % [5, 25, 26] n'a été reconnues que par 36% de nos sérums. Ceci n'est pas surprenant au vu de la variabilité des antigènes utilisés aussi bien de part leurs sources anatomiques que de leur substratum génétique, et des méthodologies suivies : concentration SDS, condition réductrice ou non, concentration des gels, temps de migration pouvant induire des modifications de la conformation et de la migration des antigènes et donc des différences dans leur reconnaissance par les anticorps [4, 50].

L'Ag 5 est considéré depuis des années comme l'antigène le plus spécifique d'*E.granulosus* [16, 52, 54]. Cependant, la reconnaissance de l'Ag 5 par les sérums des malades atteints d'échinococcose alvéolaire et de cysticerose affecterait cette bonne spécificité [24, 40, 41]. En effet les réactions croisées sont relativement fréquentes évaluées selon les séries à environ 40% pour l'échinococcose alvéolaire et à 10 à 15% pour la cysticerose [18, 41, 44]. Des réactions croisées plus rares sont aussi rapportées avec d'autres cestodes, des trématodes et même des

sujets non parasités ^[13, 51]. Dans tous les cas, comparativement aux techniques classiques de diagnostic sérologique de l'hydatidose tel que ELISA, l'HAI, l'IFI, le WB est créditée, particulièrement pour sa bande majeur 67 kDa de l'Ag 5, de la meilleur spécificité ^[25, 26]. Il faut préciser aussi que les réactions croisées sus citées peuvent représenter un frein à l'utilisation de la sérologie hydatique dans certaines régions principalement d'Europe centrale, d'Asie et d'Amérique du sud ^[16].

A coté de l'Ag 5, une 2^{ème} protéine antigénique majeure d'*E.granulosus*, localisée d'après les études immuno-histochimiques essentiellement dans les cellules parenchymateuses des protoscolex et de la membrane germinative, a été identifiée et appelée Ag B ^[2, 25, 44]. Il s'agit d'un polymère, insensible à la réduction ^[2], composé de plusieurs sous-unités révélées en WB principalement par les bandes de 8, 12, 16, 24 et 32 kDa ^[4, 11, 25, 27]. Toutes ces sous unités dérivent d'un monomère de 8 kDa, exprimant plusieurs épitopes à la base de l'immunogénicité de l'Ag B, lui-même formé par une famille de protéines codées par au moins cinq gènes majeurs différents et polymorphes ; EgAgB1, EgAgB2, EgAgB3, EgAgB4, EgAgB5 ^[8]. Sa variabilité serait probablement en rapport avec l'origine géographique des souches parasitaires et la nature des hôtes intermédiaires impliqués ^[29].

La bande de 8 kDa est rapportée par certains auteurs comme hautement spécifique de l'hydatidose en plus de sa bonne sensibilité ^[10, 18, 40, 44]. Dans notre série, parmi les bandes de faibles PM, la meilleure sensibilité est obtenue avec celle de 18 kDa (65%) suivie de 25, 28 et 35 kDa qui ont tous les trois une sensibilité de 53 %. Les autres bandes sont reconnues par moins de 50% des patients. Cependant, si on considère la présence de l'une des sous unités de l'Ag B comme témoin d'une séropositivité, la sensibilité de notre test grimperait

à 71%. Ce pourcentage est identique à celui retrouvé par Poretti ^[41], il se situe dans l'intervalle de sensibilités 60 - 90% cité par la littérature. La variabilité des résultats rapportés avec l'Ag B s'expliquerait principalement par l'important polymorphisme génétique de cet antigène ^[18, 29]. La nature et la qualité des antigènes utilisés influenceraient comme pour l'Ag 5 les performances obtenus ^[23, 41]. Il est aussi à préciser concernant l'Ag B que ses bandes de 16 et de 18 kDa seraient les plus efficaces pour distinguer entre échinococcose alvéolaire et hydatidose ^[23].

La sensibilité de la sérologie hydatique en général et du WB en particulier est étroitement liée à l'état anatomique du KH et à son intégrité ^[27, 51]. En effet, un kyste intact ne libérant qu'une faible quantité d'Ag stimule peu d'immunité d'où une faible synthèse d'anticorps alors qu'un kyste fissuré s'accompagne d'une libération massive et continue d'antigènes qui stimulent intensément l'immunité induisant une production importante d'immunoglobulines ^[12, 27, 39, 51]. Il faut cependant, préciser que si les quantités d'antigènes relarguées sont particulièrement élevées, elles peuvent fixer et masquer les anticorps spécifiques en formant des complexes immuns ^[54]. La sensibilité de la sérologie augmente donc avec l'âge de la larve hydatique suite à l'intensification de la stimulation immune secondaire à la croissance et à la fissuration du kyste ; elle diminue ultérieurement au stade de calcification, à cause du tarissement de la stimulation antigénique ^[42].

La comparaison des profils sérologiques entre sérums marocains et sérums tunisiens [**Tableau 5**] montre des bandes qui se trouve uniquement chez les patients tunisiens (12, 21, 22, 45, 50, 67 et 77 kDa), il peut s'agir de variabilité de bande entre les 2 pays, il faut donc les étudier sur des échantillons plus large.

La comparaison des sensibilités observées selon les localisations kystiques [Tableau 6] confirme les données de la littérature rapportant une meilleure sensibilité au cours de l'hydatidose hépatique ^[51]. En effet, les bandes majeures de l'Ag 5, 56 et 67 kDa, ont été d'avantage reconnues par les porteurs de kystes hépatiques (60 et 80%) que par ceux porteurs de kystes pulmonaires. Il est établi que les kystes du foie soumis à une grande résistance et compression du parenchyme hépatique favorisant la fissuration et le relargage des antigènes sont plus immunogènes que les kystes pulmonaires se développant dans un organe creux avec des adventices fines, des cuticules et des membranes germinatives qui restent longtemps intactes ^[12, 27, 33, 39].

Il est aussi intéressant de noter que les bandes 12, 39, 45 et 50 sont observées plus fréquemment au cours de l'hydatidose pulmonaire (50%) que l'hydatidose hépatique (20%).

L'excellente sensibilité de notre WB couplée à l'absence de réactions croisées (vérifiée avec nos sérums témoins) fait de ce test un bon outil de diagnostic de l'hydatidose pouvant améliorer la prise en charge de cette maladie particulièrement dans les cas où les autres techniques, moins sensibles, sont prises à défaut ainsi que dans les formes peu évidentes à la radiologie ^[39]. Le WB est néanmoins, d'intérêt limité dans la détermination de la prévalence des infestations asymptomatiques dans les zones endémiques. En effet, il n'a détecté que 53% uniquement des kystes asymptomatiques dépistés à l'échographie ^[35] ; il est de toutes les façons peu pratique techniquement et assez coûteux pour être utilisé lors d'enquête de masse plus adaptées au test ELISA ^[16, 32].

CONCLUSION

Le western-blot est considéré de nos jours comme l'une des techniques les plus performantes du diagnostic sérologique des maladies infectieuses. Il permet, grâce à sa capacité d'analyse qualitative fine de la réponse immune humorale, de mettre en évidence des bandes spécifiques de la réaction Ag-Ac. Il est particulièrement utile au cours de l'hydatidose où les insuffisances des tests classiques sont avérées.

La mise au point d'un test WB local utilisant comme antigène du liquide hydatique hépatique de mouton a permis de révéler 19 bandes antigéniques allant de 10 à 96 kDa. L'évaluation de la sensibilité de notre technique avec 17 sérums de patients opérés pour kyste hydatique a montré des résultats très encourageants.

RESUMES

Titre : Evaluation des techniques ELISA et Western Blot dans le diagnostic de l'hydatidose sur des sérums marocains et tunisiens

Mots clés : Hydatidose, ELISA, Western Blot, Maroc, Tunisie, Sensibilité

Auteur : Nawel HABAIEB

Directeur de thèse : Pr B.LMIMOUNI

Introduction : L'hydatidose est une parasitose cosmopolite due à un cestode *Echinococcus granulosus*. Cette parasitose est accidentelle chez l'homme, elle se localise au niveau de tous les organes avec une prédilection pour le foie et secondairement le poumon. Vu son caractère généralement asymptomatique, le diagnostic de l'hydatidose repose essentiellement sur la sérologie. L'ELISA et le Western-blot sont deux techniques immunoenzymatiques pour la détection des anticorps Ig G spécifiques. Elles sont basées sur l'utilisation d'antigènes recombinants.

Objectifs : l'objectif de notre étude est de comparer les performances de la technique Western-blot à ceux de l'ELISA, et d'autre part, de comparer les profils sérologiques selon le pays (Tunisie et Maroc) et selon la localisation du kyste.

Matériels et méthodes : notre série comporte 17 sérums ; 8 sérums marocains et 9 sérums tunisiens. Chaque sérum a fait l'objet d'un test par la technique ELISA et par la technique Western-blot. Nous avons ensuite évalué les performances de chacune de ces techniques.

Résultats : Sur les 17 sérums incubés, 12 bandelettes se sont révélées positives par Western-blot avec une sensibilité de 70,6%. Ce qui confirme la très bonne sensibilité de cette technique. Les bandes 39 kDa et 43 kDa correspondant à l'Ag 5 ont été les plus reconnues (71% pour les deux). Quant à l'Ag B, la bande 18 kDa a été la plus reconnue avec une sensibilité de 65%.

Conclusion : la technique Western-blot fait allier **sensibilité** grâce à la révélation enzymatique et **spécificité** grâce à la sélection de bandes antigéniques hautement caractéristiques du parasite en question. De plus elle permet de confirmer les cas douteux. Mais elle reste assez coûteuse et peu adaptée à des enquêtes de masse contrairement à l'ELISA qui permet d'analyser un grand nombre de sérums en même temps.

ملخص

العنوان : تقييم تقنية إيزا و واستن بلوط في تشخيص مرض العداري على أمصال مغربية وتونسية

كلمات البحث : العداري ، إيزا ، واستن بلوط ، المغرب، تونس، الحساسية

المؤلف : نوال الحبيب

المشرف : الأستاذ ب الميموني

مقدمة : الداء العداري هو مرض طفيلي واسع الانتشار على مستوى العالم، ناتج عن وجود الدودة الشريطية أكنوكسيس كرانيلوسيس. هذه الطفيليات تصيب الإنسان بطريقة عرضية، وهو يقع في كل جهاز مع ميل للكبد والرئة في مرحلة ثانية. وبالنظر إلى الأعراض عموما، تشخيص المرض العداري يعتمد أساسا على الأمصال. تقنية إيزا و واستن بلوط هما اثنتين من التقنيات للكشف عن الأجسام المضادة المحددة. فهما تقومان على استخدام المضادات المؤتلف.

الأهداف : الهدف من دراستنا هو مقارنة أداء تقنية واستن بلوط مع تقنية إيزا ، وثانيا ، مقارنة الملامح المصلية حسب البلد (تونس والمغرب) وموقع كيسة.

المواد والأساليب: تشمل سلسلتنا على 17 مصل: 8 أمصال مغربية و 9 أمصال تونسية. يتم اختبار كل مصل على تقنية إيزا و واستن بلوط . ثم قمنا بتقييم أداء كل تقنية.

النتائج : على الأمصال 17 المحتضنة، 12 شرائط كانت ايجابية من واستن بلوط مع وجود حساسية 6،70٪. وهذا يؤكد حساسية عالية لهذه التقنية. العصابات 39 كيلو دالتون و 43 كيلو دالتون الموافق إلى المضاد 5 هما الأكثر اعترافا (71 ٪ لكليهما). وفيما يتعلق بالمضاد 5، كانت العصابة 18 كيلو دالتون معظم المعترف بها مع وجود حساسية من 65 ٪.

الخلاصة : تقنية واستن بلوط يجمع بين الحساسية من خلال الكشف الأنزيمي والخصوصية من خلال اختيار العصابات المستضدية الخاصة بالطفيلي المعين. وعلاوة على ذلك فإنه يسمح بتأكيد الحالات المشكوك فيها. لكنه لا يزال مكلفا للغاية وغير مناسب لإجراء الدراسات الاستقصائية على النقيض من إيزا الذي يمكن من تحليل عدد كبير من الأمصال في نفس الوقت.

ABSTRACT:

Title: Evaluation of ELISA and Western blot in the diagnosis of hydatidosis on Moroccan and Tunisian's sera.

Keywords: hydatidosis, ELISA, Western Blot, Morocco, Tunisia, Sensitivity

Author: Nawel Habaieb

Supervisor: Prof. B. LMIMOUNI

Introduction: Hydatid disease is a parasitic disease caused by a cosmopolitan cestode *Echinococcus granulosus*. This parasitosis is accidental in humans; it is localized in all organs with a predilection for the liver and the lung secondarily. Given its generally asymptomatic, the diagnosis of hydatid disease relies mainly on serology. The ELISA and Western blot immunoassays are two techniques for the detection of specific IgG antibodies. They are based on the use of recombinant antigens.

Objectives: The objective of our study is to compare the performance of the Western blot technique to those of ELISA, and secondly, to compare the serological profiles by country (Tunisia and Morocco) and location of cyst.

Materials and methods: Our series includes 17 sera; 8 Moroccan's sera and 9 Tunisian's sera. Each serum is tested by ELISA and Western blot technique. Then, we evaluated the performance of each technique.

Results: Of the 17 sera incubated 12 strips were positive by Western blot with a sensitivity of 70.6%. This confirms the high sensitivity of this technique. Bands 39 kDa and 43 kDa corresponding to Ag 5 has been increasingly recognized (71% for both). As for the Ag B, bande 18 kDa was the most recognized with a sensitivity of 65%.

Conclusion: The Western blot technique combines sensitivity with enzymatic revelation and specificity with selection of highly antigenic bands characteristics of the parasite in question. Furthermore it allows confirming doubtful cases. But it is still quite expensive and not suitable for mass surveys in contrast to the ELISA which can analyze a large number of sera at the same time.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **Agoumi A.** Précis de parasitologie médicale, *Collection MEDIKA ; édition Horizons internationales ; 2003.*
- [2] **Al Yaman FM & Knobloch J.** Isolation and partial characterization of species-specific and cross-reactive antigens of *Echinococcus* cyst fluid. *Molecular and Biochemical Parasitology.* **1989.** 37: 101-107.
- [3] **Aoun K, Bouratbine A.** Epidemiological data concerning hydatidosis in Tunisia. *Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 37, Supplement 1, June 2007, Pages S40-S42.*
- [4] **Ayadi A, dutoit E, Sendid B, and al.** Specific diagnostic antigens of *Echinococcus granulosus* detected by western Blot, *Parasite* **1995.** 2:119-123.
- [5] **Babba H, Messadi A, Zribi M and al.** Diagnosis of human hydatidosis comparison between surgery and six serological techniques. *Ann. Tropical Medicine and Hygiene.* **1994.** 50:64-68.
- [6] **Bchir A, Jaiem A, Jemmali M and al.** Possible existence of an urban cycle of *Echinococcus granulosus* in central Tunisia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, Volume 81, Issue 4, 1987, Page 650.*
- [7] **Biava MF, Dao A, Fortier B.** Laboratory diagnosis of cystic hydatid disease. *World J Surgery.* **2001.** 25:10-14.
- [8] **Carmena D, Benito A, Eraso E.** antigens for the immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* infection: An update, *Acta Tropica.* **2006.**98: 74–86.
- [9] **Coltori E, Garnera E, Larrieu E and al.** Seroepidemiology of human hydatidosis: use of reied blood samples on filter paper. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* **1988.** 82: 107-110.

- [10] **Craig PS.** Current research in *Echinococcosis*. *Parasitol. Today*. **1994**. 10.
- [11] **Doiz O, Benito R, Sbihi Y, and al.** Western blot applied to the diagnosis and post-treatment monitoring of human hydatidosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **2001**; 41: 139–142.
- [12] **Force L, Torres JM, Carillo A and al.** Evaluation of eight serological tests in the diagnosis of human *Echinococcosis* and follow-up. *Clinical Infection Disease*. **1992**. 15: 473-480.
- [13] **Gadea, Ayala G, Diago MT, and al.** Immunological Diagnosis of Human Hydatid Cyst Relapse: Utility of the Enzyme-Linked Immunoelctrotransfer Blot and discriminant Analysis. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, july **2000**, p 549-552.
- [14] **Gangneux FR, Tourte-Shaefer C.** Valeur comparée de deux techniques de western-blot pour le diagnostic de confirmation de l'hydatidose. *Bull. Soc. Pathol. Exo*. **1999**. 92:13-17.
- [15] **Garbi HA, Hammou A, Ben Chehida F and al.** Apport de la radiologie dans la maladie hydatique: l'essentiel et le nouveau en 1999. *Comptes rendus de la réunion de la FIP à Tunis*. **1999**.
- [16] **Houin R, Elisser DD, Liance M.** cestodoses larvaires. *Enc. Medico chirurgicale*. **1994**. 8-511A.
- [17] **Hsairi M, Chahed M, Bchir A.** Epidémiologie de l'échinococcose en Tunisie. *Tun Méd. Spécial 18ème Congrès chirurgical*. **1997**. 5-9.
- [18] **Kanwar J, Kanshik SP, Sawhney IMS and al.** Specific antibodies in serum of patients with hydatidosis recognized by immunobinding. *Journal of clinical Microbiology*. **1992**. 36: 46-51.
- [19] **Kittelberger R, Reichel D, Jenner J, and al.** Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) for the detection of serum antibodies in

sheep infected with *Echinococcus granulosus*. *Veterinary Parasitology*. **2002**; 110 (1-2):57-76.

[20] **Larouze B, Jemmali M, Yang R and al.** Epidémiologie et prévention de l'hydatidose en Afrique. *Journées hôp. Cl. Bernard*. **1981**. Lib. Arnette. Paris.

[21] **Le service des maladies parasitaires.** Rapport annuel : année **1995**. *Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies. Ministère de la santé. Maroc.*

[22] **Leggatt GRH.** Serological evaluation of the 12 kDa subunit of antigen B in *Echinococcus granulosus* cyst fluid by immunoblot analysis. *Transactions Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **1992**.86:198-192.

[23] **Liance M, Janin V, Bresson-Hadni S, and al.** Immunodiagnosis of *Echinococcus* infections: confirmatory testing and species differentiation by a new commercial Western Blot. *Journal of Clinical Microbiology*. **2000 Oct**; 38(10):3718-21.

[24] **Ligthowlers MW & Gottstein B.** Echinococcosis/ hydatidosis: antigens, immunological and molecular diagnosis. In: Thompson RCA, Lymbery AJ, ed. *Echinococcus and hydatid disease. Wallingford: CAB international*. **1995**. 355-410.

[25] **ligthowlers MW, Liu D, Haralambous A and al.** Subunit composition and specificity of the major cyst fluid antigens of *Echinococcus granulosus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 37:171-183.**1989**.

[26] **Lorenzo C, Salinas G, Brugnini A and al.** *Echinococcus granulosus* antigen 5 is closely related to proteases on the trypsin family. *Biochemical Journal*. **2003**. 369: 191-198.

- [27] **Maddison SE, Slemenda SB, Schantez PM and al.** A specific diagnostic antigen of *Echinococcus granulosus* with an apparent molecular weight of 8 kDa. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* **1989.** 40:377-383.
- [28] **Mahjour J, Laamrani EI, Ayoujil M and al.** Enquête rétrospective sur l'hydatidose au Maroc période 1980-1992. *Bulletin épidémiologique. Direction de l'épidémiologie et de lutte contre les maladies. Ministère de la santé publique ; premier trimestre 1995.*
- [29] **Mamuti W, Sako Y, Nakao M and al.** Recent advances in characterization of Echinococcus antigen B. *Parasitol Int.* **2006.** Suppl (55): S57-62.
- [30] **Mamuti W, Sako Y, Nakao M and al.** Usefulness of hydatid cyst fluid of *Echinococcus granulosus* developed in Mire with secondary infection for serodiagnosis of cystic echinococcosis in humans. *Clinical and diagnostic. Laboratory immunology.* **2002.** 9:573-576.
- [31] **Matossian R.M.** The immunological diagnosis of human hydatid disease. *Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene, vol.71, no.2,1977.*
- [32] **Moosa RA, Hafez A.** Serodiagnosis and sero-epidemiology of human unilocular hydatidosis in Jordan. *Parasitol. Res.* **1994.** 80: 644-71.
- [33] **Mora R, Feldman C.** Pulmonary echinococcosis. *Eur. Respir. J.* **2003.** 21 :169-177.
- [34] **Morin Y.** Larousse médical. *Edition 2005,* 327.
- [35] **Moro PL, Verastegui G, Falcon N and al.** Screening for cystic echinococcosis in an endemic region of Peru using portable ultrasonography and the enzyme-linked immune electrotransfer blot (ETIB) assay. *Parasitol Research.* **2005.** 94(4): 246.

- [36] **Musian P, Piantelli M, Lauriola L and al.** *Echinococcus granulosus*: specific quantification of two most immunoreactive antigens in hydatid fluids. *Journal of Clinical Pathology*. **1978**. 31: 475-478.
- [37] **Nasrieh M, Sami K, Hafez A and al.** *Echinococcus granulosus* in Jordan assessment of various antigenic preparations for use in the serodiagnosis of surgically confirmed cases using enzyme immunoassays and the indirect haemagglutination test. *Diagnostic microbiology and infectious Disease*. **2004**. 48: 117-123.
- [38] **Nozais J.P.** L'Hydatidose dans le bassin mediterraneen. Historique, repartition actuelle. *Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 19, Issue 10, October 1989, Pages 439-443*.
- [39] **Olut A, Erguveu S, Emr S and al.** Diagnostic value of a dot immunobinding assay for human pulmonary hydatosis. *Korean J. Parasitol*. **2005**. 43: 15-18. 60.
- [40] **Ortona E, Rigano R, margutti P and al.** Native and recombinant antigens in the immunodiagnostic of human cystic echinococcosis. *Parasite immunol*. **2000**. 22 :553.
- [41] **Poretti O, Felleisen E, Grim F and al.** Differential immunodiagnosis between cystic hydatid disease and other cross-reactive pathologies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.***1999**. 60, pp.193-198.
- [42] **Sato HH, Granert Kanya MR, Stern D and al.** Comparison of serodiagnostic tests and ultra sonography for cystic hydatidosis in an epidemiological study for rural Uruguay. *Journal of Parasitology*. **1996**. 82: 852-854.

[43] **Sbihi Y.** Serologic recognition of hydatid cyst antigens using different purification methods. *Diagnostic Microbiology and Infectious disease.* **1996.** 24:205-211.

[44] **Shambesh MR, Craig PS, Echuish EF.** Immunoblot evaluation of the 100 and 130 kDa antigens in camel hydatid cyst fluid for the serodiagnosis of human echinococcosis in Libya. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* **1995.** 89:276-279.

[45] **Site internet** <http://anapath-paris7.aphp.fr/imagerie/pages/diapo181.htm>

[46] **Site internet** <http://biotechnologie.over-blog.com/article-18589062.html>

[47] **Site internet**

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Echinococcus_Life_Cycle

[48] **Site internet** <http://georges.dolisi.free.fr/Terminologie/H/hydatido.htm>

[49] **Site internet** <http://servier.fr/smart/download/Parasitologie.ppt>

[50] **Siracusano.A, Ioppolo.S, Notargiacomo.S, and al.,** Detection of antibodies against *Echinococcus granulosus* major antigens and their subunits by immunoblotting, *Transaction of the royal society of tropical medicine and hygiene.* **1991.** 85,239-243

[51] **Verastegui M, Moro P, Guevara A, and al.** Enzyme-Linked Immuno-electrotransfer Blot Test for Diagnosis of Human Hydatid Disease. *Journal of clinical microbiology,* June **1992,** P.1557-1561.

[52] **Wattre P.** Diagnostic immunologique de l'hydatidose, 139 observations. *Edition Masson, Paris.* **1980.** 9:305-9.

[53] **Zarzora MP, Domingo AO, Gutierrez P and al.** Evaluation of six serological tests in diagnosis and postoperative control of pulmonary hydatid disease patients. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* **1999.** 35, pp 25-262.

[54] Zhang W, Li J, Donald P and al. Concepts in immunology and diagnosis of Hydatid Disease. *Clinical Microbiology Reviews*. **2003**. 16:18-36.

[55] Zougaghi, Moutaj, Tligui, and al. Diagnostic biologique de l'hydatidose. *Espérance médicale*, juillet **2009**, tome 16, n°160, p322-326.

ANNEXES

Matériels et équipements requis pour la technique ELISA :

- Réfrigérateur
- Etuve à 37°C
- Balance
- Balance de précision
- Agitateur magnétique
- PH mètre
- Vortex
- Spectrophotomètres avec filtres appropriés (492nm et 620nm)
- Micropipette (20µl, 200µl, 1000µl) avec embouts appropriés
- Multicanaux (50µl-200µl) et (0µl-50µl)
- Eprouvette de 1litre pour les lavages
- Becher
- Plaque de microtitration à fond plat (NUNK-Maxisorb)
- Plaque à fond rond pour les dilutions
- Papier filtre
- Papier aluminium
- Picette
- Marqueur water résistant

Les réactifs de l'ELISA :

Pour chaque tampon, il faut préparer des solutions mères à partir desquelles les solutions de travail sont préparées

1. Tampon de coating : carbonate/bicarbonate (0,1 M) :

➤ Solution mère :

- Na_2CO_3 (1 M) ($M = 105,99$)
- NaHCO_3 (1 M) ($M = 84$) \implies Ph=9,6

➤ Solution de travail :

Dilution de la solution mère pour l'obtention de la solution 0,1M.

Pour ajuster le PH, il faut ajouter l'acide (NaHCO_3) à la base (Na_2CO_3).

2. Tampon de dilution (sérums et conjugué) :

➤ solution mère :

- solution NaCl (1,5 M)
- solution K_2K_2 (1 M) :
 - K_2HPO_4 (1 M)
 - KH_2PO_4 (1 M)

Pour ajuster le PH, il faut rajouter l'acide (K_2HPO_4) à la base (KH_2PO_4)

- PBS : phosphate buffer saline :
 - 100 ml NaCl (1,5 M)
 - 10 ml de K_2K_2 (1 M)
 - 890 ml d'eau distillé
 - Pour le $\text{PBS}_{\text{tween}}$ ajouter 20 ml de Tween 20

➤ solution de travail :

- PBS : phosphate buffer saline :
 - 100 ml NaCl (1,5 M)
 - 10 ml de K_2CO_3 (1 M)
 - 890 ml d'eau distillée
- PBS-lait écrémé (5%)

3. Solution de lavage :

Rajouter 1 ml de Tween 20 par litre de PBS.

4. Tampon citrate pour le substrat OPD (ortho-phenyl-diamine) :

- Citrate de sodium (0,1 M)
- Acide citrique (0,1 M)

Pour ajuster le PH, il faut rajouter l'acide (acide citrique) à la base (citrate de sodium).

5. Conjugué :

Il s'agit d'une anti-globuline humaine conjugué à une enzyme la peroxydase.

6. Substrat de l'enzyme :

Dilution de l'OPD à 0,1 mg/ ml de tampon citrate, pour la révélation y rajouter 10 μ l de H_2O_2 / 10ml.

7. Solution d'arrêt :

Solution H_2SO_4 (2N)

Les réactifs du Western-blot :

1. Solution stock d'acrylamide (30%) :

- 29,2 g acrylamide dans 100 ml
- 0,8 g bisacrylamide

→ Filtration (0,45 μ m)

→ Stockage à +4°C (30 jours maximum)

NB : solution photosensible

2. Solution tris HCL 1,5M (PH = 8,8) :

Tris 1 M \longrightarrow 121,14 g

1,5 M \longrightarrow 18,15 g dans 100 ml

→ Ajuster le PH avec du HCl

→ Stocker à +4°C

3. Solution tris 0,5 M (PH = 6,8) :

Tris 6 g dans 100 ml

→ Ajuster le PH avec du HCl

→ Stocker à +4°C

4. Solution SDS 10% :

10 g SDS dans 100 ml

→ Stocker à température ambiante

5. APS 10% : (ammonium persulfate catalyseur de polymérisation)

1 g d'APS dans 10ml

→ Filtration (0,2 μ m)

→ Alliquoter 250 μ l/ eppendorf

→ Stockage à -20°C

6. Tampon de migration (PH = 8,3) 10N :

- 30,3g Tris

- 144g glycine
- 10g SDS

→ Ajuster à 1 litre

→ Stockage à température ambiante

→ Pour la migration prendre 100 ml et ajuster à 1 l

7. Tampon de transfert 1N :

- 80 ml tampon de migration
- Ajuster à 800 ml
- 200 ml méthanol

→ Stockage à +4°C

8. Tampon d'échantillon :

- 355 ml H₂O désionisé
- 1,25 ml Tris HCl 0,5 M
- 2,5 ml glycérol
- 2 ml SDS 10%
- Etincelle de bleu de bromophénol

→ Stockage à température ambiante

9. TBS : (10x)

- 20 ml tris HCl 1M
- 8g chlorure de sodium

→ Ajuster à 1 litre

10. Tampon de saturation :

- 100 ml TBS, ajuster à 1000 ml et ajouter 10 ml Tween 20
- Prélever 200 ml de TBS-Tween20
- Ajouter 10g lait écrémé.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- 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 ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أحسب باللحم العظم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيما لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلي أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحصى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

شهاد " "والله على ما أقول

تقييم تقنية إليزا وواستن بلوط في تشخيص
مرض العدارى على أمصال مغربية وتونسية

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

الآنسة: نوال الحبيب
المزداة في: 08 نوفمبر 1984 بتونس

لذيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: العدارى – إليزا – واستن بلوط – المغرب – تونس – الحساسية.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيسة

مشرف

السيدة: وفاء الملوكي

أستاذة في علم الطفيليات

السيد: بدر الدين الميموني

أستاذ مبرز في علم الطفيليات

السيد: عبد القادر بلمكي

أستاذ مبرز في علم الدم

السيدة: الزهرة أوزيف

أستاذ مبرزة في الكيمياء الإحيائية

السيد: رضوان موتاج

أستاذ مبرز في علم الطفيليات

أعضاء

}