



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



ANNEE : 2019

THESE N° 02/2018 CSVS

Centre d'études doctorales des Sciences de la vie et de la santé  
FILIERE DE BIOLOGIE MEDICALE

THESE DE DOCTORAT

**EPIDEMIOLOGIE ET NOUVELLE  
PRISE EN CHARGE DU KYSTE HYDATIQUE  
DANS LA REGION MEKNES TAFILALET**

Présentée et soutenue le 11 Février 2019

**Par :**

**Dr. TAHIRI Sara**

**JURY**

**Pr. Aziz ZENTAR**

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V, Rabat

**Pr. Badre Eddine LMIMOUNI**

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V, Rabat

**Pr. Khalid KHALLAAYOUNE**

Institut Agronomique et Vétérinaire, Rabat

**Pr. Karim SBAI IDRISSI**

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V, Rabat

**Pr. Mourad BOUCHRIK**

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V, Rabat

**Pr. Majdouline OBTEL**

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V, Rabat

**Président**

**Directeur**

**Rapporteur**

**Rapporteur**

**Rapporteur**

**Examineur**

*À  
FEU SA MAJESTÉ LE ROI  
HASSAN II*



*Que Dieu ait son âme en sa Sainte Miséricorde.*

*À*  
*SA MAJESTÉ LE ROI*  
*MOHAMED VI*  
*Chef Suprême et Chef d'Etat-Major Général*  
*des Forces Armées Royales*  
*Roi du MAROC et garant de son intégrité territoriale*



*Qu'Allah le glorifie et préserve Son Royaume.*

*À  
SON ALTESSE ROYALE  
LE PRINCE HÉRITIÈRE  
MOULAY EL HASSAN*



*Que Dieu le garde.*

*À*  
*SON ALTESSE ROYALE*  
*LE PRINCE MOULAY RACHID*



*Que Dieu le protège.*

*À*  
*TOUTE LA FAMILLE ROYALE*

*A*

*Monsieur le Général de Corps d'Armée*

*Abdelfattah LOUARAK*

*Inspecteur Général des FAR et Commandant de la Zone Sud*

*En témoignage de notre grand respect*

*Notre profonde considération et sincère admiration*

*A*

*Monsieur le Médecin Général de Brigade*

*Abdelhamid HDA*

*Professeur de Cardiologie*

*Inspecteur du Service de Santé des Forces Armées Royales.*

*En témoignage de notre grand respect,*

*Et notre profonde considération*

*A*

*Monsieur le Général de brigade*

*Mustapha Mestour*

*Inspecteur des Forces Auxiliaires Zone Nord*

*En témoignage de notre sincère gratitude et notre profond respect*

*A*

*Mr Doyen de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat,*

*Le professeur Adnaoui Mohamed,*

*En témoignant notre haute considération*

*et notre sincère respect et reconnaissance*

*A*

*Mr Jamal Taoufik Professeur de Chimie Thérapeutique,*

*Directeur du Centre d'études Doctorales Des sciences*

*de la Vie et de la Santé et Vice Doyen à la Pharmacie,*

*Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat*

*En témoignant notre haute considération*

*et notre sincère respect et reconnaissance*

## *Dédicaces et Remerciements*

*A mon doux et tendre père,*

*Tu nous as quittés trop tôt, le 14 février, fête de l'amour que tu incarnais formidablement. L'amour que je te porte dans mon cœur n'a d'égal que le chagrin immense qu'a laissé ton départ. Tu m'as toujours poussé à me surpasser et là je me demande ce que ça te fait mon ange de voler plus haut que les nuages...J'ai eu la chance d'avoir le papa exceptionnel que tu es, le réconfort de ton regard et la tendresse de ton sourire me manquent terriblement.*

*A ma maman,*

*Aucun mot n'est capable de décrire ce que je voudrais t'exprimer. Dans tes prières j'ai toujours trouvé une source de réconfort et de bien être. je te dédie cette thèse avec tout mon amour et toute mon affection et à la mémoire de mon papa.*

*A mon compagnon de vie et époux Dr Youssef LYAZIDI*

*Plus qu'un mari, encore plus que le père de mon fils, nous avons grandi ensemble et traversé tant d'épreuves côtes à côtes. Tu fais désormais partie de ma mémoire cellulaire et c'est loin de me déplaire, j'ai trouvé en toi la moitié que je cherchais qui me complète et me comble. Je te dédie cette thèse en te remerciant pour ton soutien réfléchi, pour ta sagesse dont j'ai tant besoin pour notre complémentarité parfaite dont je me délecte à chaque instant.*

*A mon fils JAD,*

*Je t'ai vu naître et avec toi mes angoisses qui se sont vite dissipées en te voyant grandir un petit bout d'homme sûr de lui rempli de joie de vivre et de bonheur. Tu m'offres à chaque instant les réponses à mes questions existentielles et donnes un sens délicieux à ma vie. Sois heureux c'est mon vœux le plus cher.*

*A ma sœur ainée Kamar, mon beau-frère Dr Hamid Esserkassi  
et leurs deux enfants Camélia et Ilyass,*

*Une grande sœur mais aussi un guide spirituel, toujours là pour prodiguer les bons conseils au bon moment, au-delà des liens du sang on sera unies pour la vie.*

*Avec son caractère fiable et rassurant à toute épreuve, beau-frère et confrère j'ai toujours pu compter sur toi Hamid. Camélia et Ilyass plus qu'une nièce et un neveu je vous ai toujours considéré comme mes propres enfants*

*A vous tous je dédie cette thèse avec toute mon affection.*

*A ma sœur Farah, son mari Jean Philippe Rigal et leur fille Clara,*

*Malgré les distances on s'est toujours retrouvé comme si on s'était quittées la veille, c'est dire de la qualité de nos échanges on n'a jamais fait dans la quantité mais dans la qualité et c'est tant mieux. Je vous dédie cette thèse à vous tous.*

*A Fatima Tahiri, son mari et son fils Mouad,*

*Toujours affectueuse et tendre à mes côtés tu m'as consolé de mes premiers pleurs, ton fils est né dans mes bras, tu es et seras pour toujours une sœur pour moi. Je te dédie cette thèse témoignage de mon affection éternelle.*

*A mon amie Najla,*

*Comment dédier cette thèse à personne, comme tu aimes te faire appeler. Que ce soit dans les bons moments comme dans les pires et je dirais même surtout les pires, car tu n'es pas une grande fêtarde, tu étais toujours là pour m'épauler. De « comment changer une couche » à « comment rédiger un article » en passant par les bonnes adresses et surtout l'épaule sur laquelle j'ai toujours pu me reposer je ne te remercierais jamais assez. Et autant te l'écrire sur une thèse car tu ne l'entendras jamais de ma bouche.*

*A la mémoire de ma belle-mère Fatima Abouelkheif,*

*Sans t'avoir connu, je reconnais de toi les belles valeurs que tu as semé en ton fils dont tu peux être fier, nous aimons le même homme et je te fais le serment d'en prendre soin jusqu'à la fin de mes jours. Je dédie cette thèse à ta mémoire avec tout le respect et l'affection que je te porte à travers lui.*

*A ma gege,*

*J'ai fait une belle rencontre en 2004, je ne pensais pas que celle-ci allait changer ma vie et ma vision des choses mais tu es une personne solaire et j'ai tant appris à ton contact des valeurs simples mais essentielles que tu transmets sans prétention et c'est pour ça que je t'adore, je te dédie cette thèse et te remercie pour tout ce que tu représentes pour moi.*

*A bon papa et nénéne,*

*Mais encore à ma famille de cœur je vous aime d'amour, on se sent enveloppés d'un voile de tendresse et d'affection bienveillante auprès de vous, je vous dédie cette thèse en témoignage de ma profonde gratitude*

*A mes amis et confrères,*

*Loubna Tahri, Mounia Elhadj, Hind Temsamani, Ahmed Belkouch, Sara Naciri, Mounia Boufares, Fatima Zohra Fouadi, Amal Satte, Belkkih Bouchra, Siham Oumakhir, Rachida Saouab, Wafae Arache, Linda Alami Iraki, Jamal Kheyi*

*Et*

*A Tous Ceux Qui Ont Croisé mon chemin et que j'ai la chance de rencontrer, je vous dédie ce travail avec mes sincères remerciements*

*A l'équipe du service de parasitologie de l'HMIMV,*

*Vous m'avez toujours accueilli à bras ouverts et comblé mes lacunes, merci pour votre soutien .Mourad, Hafida, Maryem, Leila, Souad, Najla, Zineb, Imane, Boucht, Elhajja et j'en passe. Vous êtes une équipe formidable.*

*Au Pr Enrico Brunetti, Franscesca Tamarozzi,  
Mara Maraconti, Marguerita Stella,*

*Une belle rencontre professionnelle et humaine, répondant toujours présents pour tendre la main, j'ai énormément appris grâce à vous. Je vous dédie cette thèse en vous remerciant pour vos efforts*

*AL'équipe du service de medecine C et chirurgie B  
de centre hospitalier universitaire Avicenne de Rabat*

*avec une mention particulière au Pr Benazzouz, Pr Afifi, Pr Settaf qui n'ont jamais été avares d'enseignements à nous transmettre.*

*A l'équipe du Service des maladies parasitaires, DELM  
du ministère de la santé publique, pour leur collaboration fructueuse.*

**A Monsieur le Professeur Aziz ZENTAR, Président de Thèse**

Qui m'a fait le grand honneur d'accepter de juger ce travail. Veuillez trouver dans ce travail, cher maître l'expression de ma reconnaissance et mon grand respect.

**A Monsieur Le Professeur Badre Eddine LMIMOUNI, Directeur de Thèse**

Tous vos conseils, vos remarques, votre disponibilité, votre grande générosité et votre soutien sans faille ont rendu ce travail possible. Veuillez trouver ici le témoignage de mon respect et de ma profonde estime

**A Monsieur Le Professeur Khalid KHALLAAYOUNE, juge de thèse**

Ce n'est pas un hasard que vous siégez dans le jury de ce travail, merci de bien vouloir le juger, j'espère qu'il sera à la hauteur de vos attentes. Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance

**A Monsieur le Professeur Karim SBAI IDRISSE, juge de thèse**

Je vous remercie pour l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et mon grand respect

**A Monsieur Le Professeur Mourad BOUCHRIK, juge de thèse**

Je suis particulièrement honorée que vous acceptiez de juger ce travail, vous m'avez enseigné la discipline à plusieurs occasions tant sur le plan universitaire que pratique dans le service. L'occasion pour moi de découvrir l'enseignant dévoué et appliqué que vous êtes et vos qualités humaines. Aujourd'hui j'espère être à la hauteur des espoirs que vous avez mis en moi

**A Madame Le Professeur Majdouline OBTEL, juge de thèse**

Je suis particulièrement sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et mon grand respect.

# **LISTE DES ABREVIATIONS**

<b>ABZ</b>	: Albendazole
<b>ADNmt</b>	: ADN mitochondrial
<b>AG</b>	: Antigène
<b>ALAT</b>	: Alanine-Amino-Transferase
<b>ARNr</b>	: ARN ribosomal
<b>ARNt</b>	: ARN de transfert
<b>ASAT</b>	: Aspartate-Amino-Transferase
<b>Atp 6</b>	: sous unité 6 de l'adénosine triphosphatase
<b>Atp 8</b>	: sous unité 8 de l'adénosine triphosphatase
<b>BZD</b>	: Benzimidazole
<b>ECG</b>	: Electrocardiogramme
<b>EK</b>	: Echinococcose kystique
<b>COX 1 ou cox 1</b>	: sous unité 1 du cytochrome C oxydase
<b>DALY</b>	: Disability Adjusted Life Years / Années de vie ajustées par le handicap
<b>Ef1a</b>	: facteur d'élongation 1 a
<b>EG</b>	: <i>Echinococcus Granulosus</i>
<b>Eg95</b>	: vaccin recombinant contre <i>Echinococcus granulosus</i>
<b>ELISA</b>	: Linked ImmunoSorbent Assay
<b>HCG</b>	: Hormone chorio-gonadotrophique
<b>HD</b>	: Hôte Définitif
<b>HI</b>	: Hôte intermédiaire
<b>IEC</b>	: Information /éducation /communication
<b>Ig</b>	: Immunoglobuline
<b>ITS</b>	: internal transcribed spacer
<b>KDa</b>	: Kilodalton
<b>KH</b>	: Kyste hydatique
<b>KHF</b>	: Kyste hydatique du foie
<b>MBZ</b>	: Mebendazole
<b>MDH</b>	: Malate déshydrogénase

<b>NAD 1 ou nad 1</b>	: sous unité 1 de la Nicotinamide déshydrogénase
<b>NADH</b>	: Nicotinamide déshydrogénase
<b>NFS</b>	: Numération de la formule sanguine
<b>NR</b>	: régions non codantes
<b>OMS</b>	: Organisation mondiale de la santé
<b>PAIR</b>	: Ponction aspiration injection réaspiration
<b>Pb</b>	: paire de base
<b>PCR</b>	: polymerase chain reaction
<b>PCRM</b>	: polymerase chain reaction multiplex
<b>RAPD</b>	: random amplified polymorphic DNA
<b>RFLP</b>	: restriction fragment length polymorphism
<b>rrnL (16S)</b>	: sous unité 16 S de l'ARN ribosomal
<b>rrnS (12S)</b>	: sous unité 12 S de l'ARN ribosomal
<b>s.s</b>	: sensu stricto
<b>SSCP</b>	: single-stranded conformation polymorphis
<b>TP</b>	: Taux de prothrombine
<b>WHO-IWGE</b>	: Groupe de travail informel sur l'échinococcose de l'OMS

# **LISTE DES ILLUSTRATIONS**

## LISTE FIGURES

<b>Figure 1</b> : Représentation schématique de la forme adulte d'EG.....	36
<b>Figure 2</b> : Représentation schématique d'un œuf d'EG .....	37
<b>Figure 3</b> : Représentation schématique d'une larve d 'EG.....	38
<b>Figure 4</b> : Cycle évolutif d'EG .....	41
<b>Figure 5</b> : Représentation schématique de l'ADN mt d'Echinococcus granulosus G1.....	47
<b>Figure 6</b> : Répartition géographique du kyste hydatique dans le monde .....	58
<b>Figure 7</b> : Distribution de l'Hydatidose en Afrique du Nord.....	60
<b>Figure 8</b> : Répartition du nombre de cas d'hydatidoses et de leurs incidences par année .....	65
<b>Figure 9</b> : Répartition géographique du kyste hydatique au Maroc selon les données épidémiologiques de 2006.....	66
<b>Figure 10</b> : Répartition des cas de kystes hydatiques selon les tranches d'âge (en années) durant la période 2005-2008.....	69
<b>Figure 11</b> : Répartition de l'hydatidose en fonction de la localisation.....	72
<b>Figure 12</b> : Kyste hydatique du foie .....	74
<b>Figure 13</b> : Hydatidose pulmonaire .....	76
<b>Figure 14</b> : Les différentes étapes de la PAIR.....	83
<b>Figure 15</b> : Structure de dérivé Benzimidazolé.....	85
<b>Figure 16</b> : Structure du Mébendazole .....	85
<b>Figure 17</b> : Structure de l'Albendazole .....	85
<b>Figure 18</b> : Carte montrant la province d'Ifrane.....	94
<b>Figure 19</b> : Commune de Timahdit .....	95
<b>Figure 20</b> : Commune d'Aïn Leuh .....	95
<b>Figure 21</b> : Carte de la province d'El Hajeb.....	97
<b>Figure 22</b> : Commune de Sebt Jahjouh .....	97
<b>Figure 23</b> : Orientation des patients .....	101
<b>Figure 24</b> : Enregistrement des patients .....	101
<b>Figure 25</b> : Séance de sensibilisation .....	101
<b>Figure 26</b> : Examen échographique.....	102
<b>Figure 27</b> : Dépistage et formation des professionnels de santé locaux dans le diagnostic de l'hydatidose abdominale.....	102
<b>Figure 28</b> : Prélèvement sanguin .....	105
<b>Figure 29</b> : Dosage des sérums par spectrophotomètre SECOMANE®.....	105

<b>Figure 30</b> : Coffret de test de grossesse.....	105
<b>Figure 31</b> : Coffret utilisé dans la technique d'ELISA.....	108
<b>Figure 32</b> : Coffret utilisé dans la technique du Western Blot .....	110
<b>Figure 33</b> : Exemples d'immunoblots obtenus (échantillons négatifs et positifs) .....	113
<b>Figure 34</b> : Exemples complémentaires d'échantillons positifs en immunoblot et provenant de patients infectés par <i>E.multilocularis</i> et <i>E.granulosus</i> .....	113
<b>Figure 35</b> : kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Valence, CA, USA) .....	116
<b>Figure 36</b> : Electrophorèse sur gel d'Agarose à 2% dans une cuve horizontale Biorad .....	116
<b>Figure 37</b> : Séance d'IEC .....	126
<b>Figure 38</b> : Fiche de sensibilisation contre l'Hydatidose .....	127
<b>Figure 39</b> : Personnes examinées et cas d'EK observés au cours des campagnes de dépistage. * Un patient a déclaré une chirurgie antérieure pour EK pulmonaire. ....	133
<b>Figure 40</b> : Distribution et prévalence des lésions KH selon les groupes d'âges et de sexe. 134	
<b>Figure 41</b> : Nombre de kystes hépatiques EK à différents stades. ....	141
<b>Figure 42</b> : Pourcentage de stades de kystes EK chez des patients n'ayant jamais été traités auparavant pour EK dans les groupes de sexe. ....	141
<b>Figure 43</b> : Pourcentage de stades de kystes CE chez des patients n'ayant jamais été traités auparavant pour EK dans les groupes d'âge .....	141
<b>Figure 44</b> : Pourcentage de patients séropositifs non traités et traités précédemment avec une sérologie ELISA positive selon le stade du kyste .....	146
<b>Figure 45</b> : Electrophorèse sur gel d'agarose 2% des produits de la PCR multiplex obtenus. .....	149

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Génotypes et espèces au sein du genre <i>Echinococcus</i> avec leurs répartitions géographiques et leurs hôtes .....	43
<b>Tableau 2</b> : Répartition par région des cas d'Hydatidose opérés entre 1980 et 1992 dans les hôpitaux publics .....	67
<b>Tableau 3</b> : Résultats des trois enquêtes échographiques.....	68
<b>Tableau 4</b> : Répartition de l'Hydatidose au Maroc en fonction du sexe.....	70
<b>Tableau 5</b> : Classification des kystes hydatique du foie selon Gharbi.....	79
<b>Tableau 6</b> : Classification des kystes hydatique du foie selon l'OMS.....	80
<b>Tableau 7</b> : Correspondance entre classification de Gharbi et celle de l'OMS .....	80
<b>Tableau 8</b> : Analyse de l'index des échantillons.....	108
<b>Tableau 9</b> : Caractéristiques des amorces utilisées en PCR multiplex, et des fragments correspondants .....	117
<b>Tableau 10</b> : Algorithme d'allocation de traitement.....	121
<b>Tableau 11</b> : Procédures de traitement.....	122
<b>Tableau 12</b> : Répartition des caractéristiques démographiques de la population étudiée et de la population générale des provinces étudiées.....	131
<b>Tableau 13</b> : Population prélevée et prévalence d'EK abdominale dans les provinces et communes rurales étudiées. ....	134
<b>Tableau 14</b> : Analyse des facteurs de risque pour l'infection à EK. L'analyse multivariable est effectuée en tenant compte de l'âge comptable, du sexe et de la province pour chaque variable. * Limite significative.....	136
<b>Tableau 15</b> : Résultats du génotypage pour les 5 prélèvements où le matériel génétique a été amplifié .....	148

# **SOMMAIRE**

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>28</b>
<b>PREMIERE PARTIE : RAPPEL</b> .....	<b>33</b>
<b>I. PARASITOLOGIE DE L'ECHINOCOCCUS GRANULOSUS</b> .....	<b>34</b>
A. Taxonomie .....	34
B. Morphologie .....	34
1. Le parasite adulte .....	34
2. L'Œuf .....	35
3. Le stade larvaire ou hydatide.....	35
C. Cycle évolutif .....	39
1. L'Hôte définitif .....	39
2. L'Hôte intermédiaire .....	40
<b>II. ASPECTS GENETIQUES D'ECHINOCOCCUS GRANULOSUS</b> .....	<b>42</b>
A. Nouvelle taxonomie au sein du genre <i>Echinococcus</i> à la lumière de la biologie moléculaire.....	42
B. Souches et génotypes d' <i>Echinococcus granulosus</i> .....	44
C. Structure du génome mitochondrial d' <i>Echinococcus granulosus</i> .....	45
D. Critères pour l'identification d' <i>Echinococcus granulosus</i> .....	48
1. Critères morphologiques et biologiques.....	48
2. Critères moléculaires .....	48
3. Analyse des protéines .....	48
4. Analyse de l'ADN .....	49
<b>III. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'HYDATIDOSE</b> .....	<b>52</b>
<b>IV. EPIDEMIOLOGIE</b> .....	<b>53</b>
A. Épidémiologie analytique .....	53
1. Le réservoir du parasite .....	53
2. La dynamique de la transmission de L'EG .....	53

B. Facteurs liés aux hôtes du parasite .....	54
C. Facteurs liés à l'environnement.....	55
D. Facteurs liés au comportement humain.....	56
E. Facteurs de réceptivité.....	56
1. Age .....	56
2. Sexe .....	56
F. Souches d' <i>Echinococcus granulosus</i> .....	57
<b>V. REPARTITION GEOGRAPHIQUE .....</b>	<b>58</b>
A. L'Hydatidose dans le monde.....	58
1. L'Hydatidose en Afrique.....	59
2. L'Hydatidose en Europe.....	61
3. L'Hydatidose en Amérique .....	62
4. Australie ET Asie .....	62
B. L'Hydatidose au Maroc.....	63
1. Etudes rétrospectives sur l'hydatidose au Maroc .....	63
2. Enquêtes échographiques .....	68
3. Situation épidémiologique actuelle au Maroc .....	68
<b>VI. METHODES DIAGNOSTIQUES .....</b>	<b>73</b>
A. Diagnostic .....	73
1. Kyste hydatique du foie.....	73
2. Kyste hydatique du poumon.....	75
3. Autres localisations du kyste hydatique .....	77
B. Diagnostic échographique .....	78
<b>VII. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE.....</b>	<b>81</b>
A. Chirurgie .....	81
B. Traitement percutané .....	82

C. Traitement médical.....	84
1. Mécanisme d'action .....	84
2. Pharmacocinétique .....	84
3. Indications .....	86
4. Contre-indications .....	86
5. Effets indésirables .....	86
<b>VIII. MESURES DE PROPHILAXIE .....</b>	<b>88</b>
A. Mesures individuelles .....	88
B. Mesures collectives .....	88
<b>DEUXIEME PARTIE.....</b>	<b>90</b>
<b>CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>91</b>
<b>I. CARACTERISTIQUES GEOGRAPHIQUES ET DEMOGRAPHIQUES DES DEUX REGIONES DE L'ETUDE .....</b>	<b>92</b>
A. Présentation générale des deux provinces.....	92
1. La province d'Ifrane .....	92
2. La province d'El Hajeb .....	96
B. Particularités des deux régions vis-à-vis de l'hydatidose.....	98
<b>II. PROMOTEURS DE L'ETUDE.....</b>	<b>99</b>
<b>III. CRITERES D'INCLUSION.....</b>	<b>100</b>
<b>IV. METHODOLOGIE DE L'ETUDE.....</b>	<b>100</b>
<b>V. DEMARCHE DIAGNOSTIQUE ADOPTEE .....</b>	<b>102</b>
A. Diagnostic échographique.....	102
B. Diagnostic biologique .....	103
1. Numération de la formule sanguine .....	103
2. Bilan hépatique et rénal .....	103
3. Test de grossesse .....	104
4. Sérologie de l'hydatidose .....	106

5. Génotypage.....	114
<b>VI. CLASSIFICATION ET DEMARCHE THERAPEUTIQUE .....</b>	<b>118</b>
A. Critères d'inclusion aux traitements .....	118
B. Critères d'exclusion aux traitements .....	119
C. Critères de retrait des patients .....	119
D. Suivi et rapport d'effets indésirables et d'événements indésirables graves.....	123
1. Albendazole.....	123
2. Traitement percutané .....	123
3. Chirurgie.....	124
4. Rapports d'événements indésirables graves.....	124
<b>VII. ACTIVITES DE FORMATION ET D'ENSEIGNEMENTS .....</b>	<b>125</b>
<b>VIII. DEMARCHE PREVENTIVE ADOPTEE.....</b>	<b>126</b>
<b>IX. ANALYSE STATISTIQUE .....</b>	<b>128</b>
<b>X. CONFIDENTIALITE DES DONNEES DES PATIENTS ET INDEMNISATION .....</b>	<b>128</b>
<b>CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>129</b>
<b>I. ANALYSE EPIDEMIOLOGIQUE .....</b>	<b>130</b>
A. Résultats .....	130
1. Campagnes de dépistage .....	130
2. Caractéristiques démographiques de la population sélectionnée .....	130
3. Prévalence de l'EK.....	132
4. Analyse des facteurs de risque .....	135
B. Discussion .....	137
<b>II. ANALYSE DES RESULTATS ECHOGRAPHIQUES .....</b>	<b>140</b>
A. Résultats .....	140
1. Stades échographiques .....	140
2. Localisation des kystes.....	142

B. Discussion .....	142
<b>III. ANALYSE DES RESULTATS SEROLOGIQUES .....</b>	<b>145</b>
A. Résultats .....	145
B. Discussion .....	146
<b>IV. L'ANALYSE DES RESULTATS DU GENOTYPAGE .....</b>	<b>148</b>
A. Résultats .....	148
B. Discussion .....	149
<b>V. PRISE EN CHARGE DES PATIENTS .....</b>	<b>152</b>
A. Résultats .....	152
B. Discussion .....	152
<b>CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS .....</b>	<b>155</b>
<b>RÉSUMÉ.....</b>	<b>158</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>160</b>
<b>المخلص .....</b>	<b>162</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>164</b>
<b>ANNEXES : 1.....</b>	<b>191</b>
<b>ANNEXES : 2.....</b>	<b>200</b>
<b>STAGES ET FORMATIONS .....</b>	<b>201</b>
<b>DIPLOMES UNIVERSITAIRES .....</b>	<b>205</b>
<b>COMMUNICATIONS ORALES .....</b>	<b>208</b>
<b>POSTERS ET PARTICIPATIONS AUX MANIFESTATIONS SCIENTIFIQUES.....</b>	<b>210</b>
<b>COLLABORATION INTERNATIONALE.....</b>	<b>217</b>
<b>ARTICLES ET PUBLICATIONS.....</b>	<b>219</b>

# **INTRODUCTION**

L'échinococcose kystique (EK) est une zoonose parasitaire présente dans le monde entier, causée par le stade larvaire du ténia du chien *EG* sensu lato. Son cycle de vie se développe entre le chien (et d'autres canidés), qui est l'HD abritant les parasites adultes dans son intestin, et les moutons (et autres ruminants), qui est l'HI où la forme larvaire peut se développer.

L'Homme, qui est un HI accidentel dit "sans issue", ainsi qu'un HI naturel, est infecté par l'ingestion d'œufs libérés avec les fèces de chiens parasités. Ceux-ci peuvent rester viables pendant des mois dans l'environnement. Chez l'HI, les larves parasites se développent dans les organes et les tissus, principalement le foie et les poumons, formant des kystes remplis de liquide (KH) qui se dilatent par centrifugation. Le cycle se termine lorsque l'HD ingère des viscères infectés par des KH.

L'EK est une "maladie négligée", en partie à cause de sa distribution essentiellement rurale, caractéristique des sociétés pastorales de plus en plus marginalisées, où il existe un contact étroit avec le cycle chien-mouton, son évolution est chronique, mais rarement fatale. Néanmoins, son impact socio-économique est énorme, avec la perte chaque année d'environ 3 million d'années de vie ajustée sur l'incapacité (DALYs) dans le monde <sup>[1]</sup>. La dispersion de l'EK sur de vastes zones géographiques qui sont souvent difficiles à atteindre et n'ont pas une bonne communication et un niveau de qualité suffisant d'infrastructures de santé, limite à la fois la collecte de données épidémiologiques et la réalisation d'études qui pourraient rendre disponibles de meilleures pratiques en matière de diagnostic et de traitement, et améliorer l'accès des patients à des soins adéquats <sup>[1, 2]</sup>.

Le Maroc est un pays fortement endémique d'EK. La région de l'Atlas moyen a été jugée la zone où l'EK est la plus répandue par les enquêtes menées entre 2001 et 2004 par Azlaf et al <sup>[3]</sup>. Au total, 23 512 cas humains ont été enregistrés par le Ministère de la Santé du Maroc pendant les périodes 1980-1992 et 2003-2008 <sup>[4]</sup>.

Cependant, ces chiffres ne sont probablement pas représentatifs de la prévalence réelle de l'infection, car une partie des cas restent souvent silencieux pendant de nombreuses années et, même lorsqu'ils sont symptomatiques, ils ne consultent pas ou ne sont pas recensés dans les registres officiels. Des données plus précises peuvent provenir de campagnes de dépistage qui permettent de détecter aussi des cas asymptomatiques et d'évaluer la répartition des stades EK entre les groupes d'âge.

En 2000 et 2001, Macpherson et ses collègues ont procédé à un dépistage par ultrasons de 11 612 personnes dans les provinces d'Ifrane et de Khénifra dans la région de Meknès-Tafilalet, estimant une prévalence de 1,1% <sup>[5]</sup>. La plupart des cas d'EK diagnostiqués étaient asymptomatiques, même chez les patients présentant de grands kystes actifs, et les symptômes, lorsqu'ils étaient présents, n'étaient pas spécifiques.

Le diagnostic et la prise en charge clinique de l'EK sont complexes et nécessitent une approche pluridisciplinaire, souvent disponible uniquement dans les centres de référence. En 2003, le Groupe de travail informel de l'OMS sur l'échinococcose (WHO-IWGE) a mis en place une classification par consensus des stades des kystes EK, ce qui permet de classer sans équivoque tous les stades morphologiques des kystes <sup>[6]</sup>. Il regroupe également les stades du kyste en catégories cliniques pour guider la prise en charge rationnelle selon les stades d'EK aux différentes options thérapeutiques, y compris la chirurgie, le traitement médical, le traitement percutané et l'approche « Wait and Watch ». Cette approche permet non seulement de choisir le traitement le plus approprié en fonction des caractéristiques du kyste, des facteurs liés au patient et des ressources thérapeutiques disponibles, mais contribue également à rationaliser les dépenses pour la gestion de l'EK.

Actuellement, l'utilisation de cette approche par consensus et des classifications EK de toute nature est encore très rare et la prise en charge de la maladie est souvent inappropriée, exposant les patients et les systèmes de santé à des traitements, risques et coûts inutiles <sup>[7]</sup>. Au Maroc, le coût de la chirurgie pour l'EK abdominale a été estimé à 1500-3000 US \$ par patient <sup>[3, 4]</sup>. Les autres coûts comprennent la réduction ou la perte de revenu due à l'hospitalisation et les complications et, non moins important, l'impact sur la qualité de vie du patient en raison des risques, des complications et du long séjour hospitalier relatif à la chirurgie.

Néanmoins, le traitement de l'EK au Maroc est encore presque exclusivement chirurgical, alors que d'autres options telles que le traitement percutané ne sont mises en œuvre que dans une minorité de cas <sup>[4]</sup>. Selon les données du Ministère de la Santé du Maroc, en 2014, le traitement percutané a été utilisé dans 1,8%, et le traitement médical dans 0,9% des cas de CE.

En 2004, un comité interministériel pour le contrôle de l'EK a été créé au Maroc, impliquant le Ministère de l'Agriculture, le Ministère de la Santé et le Ministère de l'Intérieur. La mise en œuvre de mesures de contrôle intégrées s'est révélée extrêmement difficile en raison des problèmes de collaboration interministérielle au niveau de l'organisation et du financement et, jusqu'à présent, seule l'amélioration du système de rapport de cas humain a été mise en œuvre.

En 2012, un projet de 300 000 euros sur la gestion clinique de l'EK au Maroc a été initié par le ministère italien de la Santé.

Nous présentons ici les résultats notre étude descriptive de prévalence et des activités annexes menées dans les provinces endémiques d'Ifrane et El Hajeb, région de Meknès-Tafilalet, une des zones les plus endémiques au Maroc pour l'infection humaine et animale.

Elle a pour objectifs primaires :

- L'estimation de la prévalence de l'EK abdominale dans ces deux provinces endémiques cibles.
- L'évaluation de l'efficacité de la prise en charge clinique par stades échographiques de patients atteints d'EK abdominale selon le consensus d'experts de l'OMS / IWGE
- Caractériser pour la première fois au Maroc les souches d'E.G à l'origine de l'EK humaine, dans la région la plus endémique du royaume (Meknès-Tafilalt).

Elle a pour objectifs secondaires :

- L'évaluation des facteurs de risque associés à l'infection à l'EK.
- La formation des professionnels de santé locaux au diagnostic et à la prise en charge clinique de l'EK abdominale selon le consensus OMS-IWGE sur le diagnostic et la prise en charge de l'échinococcose humaine.
- La sensibilisation de la population locale sur la maladie, sa transmission, son traitement et sa prévention.

**PREMIERE PARTIE :  
RAPPEL**

## I. PARASITOLOGIE DE L'*ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*

*L'Echinococcus granulosus* est l'agent de l'Hydatidose ou KH, anthroponose cosmopolite due au développement de la forme larvaire du parasite. Ce dernier peut exister sous trois formes distinctes représentant les trois différentes étapes de son cycle biologique, ainsi, l'EG peut se présenter sous la forme adulte, qui vit fixée au niveau de l'intestin grêle de l'HD. Dans le milieu extérieur, Il revêt la forme d'œufs, qui permettent la contamination de l'HI. Et, enfin chez ce dernier hôte, il se présente sous une forme larvaire ou KH, responsable de l'Hydatidose maladie.

### A. Taxonomie

• L'EG est un cestode de la famille des Taeniidae. Sa classification taxonomique est la suivante :

- Classe : Plathelminthes
  - Sous-classe : Encostada
  - Ordre : *Cyclophyllidea*
  - Famille : *Taeniidae*
  - Sous-famille : *Echinococinae*
  - Genre : *Echinococcus*
  - Espèce : *granulosus*

### B. Morphologie

#### 1. Le parasite adulte

L'EG se localise à l'état adulte dans le premier tiers de l'intestin grêle de son HD, principalement le chien. Sa taille est alors de 4 à 6 mm et possède un scolex, un cou et un corps formé de 3 à 4 anneaux dont seul le dernier est ovigère mesurant habituellement plus de la moitié du ver entier.

Le scolex est muni d'un rostre armé de 30 à 42 crochets de taille variable et disposés en 2 couronnes. Les caractères morphologiques des crochets et leur disposition sont utilisés dans l'identification morphologique de l'espèce.

Le segment ovigère présente des formations sacciformes bien développées renfermant 400 à 800 œufs (ou onchosphères). Une fois dans le milieu extérieur ce segment se détache du strobile et se désintègre.

## **2. L'Œuf**

L'œuf est constitué d'un embryon hexacanthé, recouvert de plusieurs enveloppes dont la plus remarquable est l'embryophore, elle donne à l'œuf un aspect sombre et strié. L'embryon libéré dans l'intestin grêle de l'HI, traverse la paroi intestinale et il est transporté par le courant sanguin dans divers organes où se développe le stade larvaire.

## **3. Le stade larvaire ou hydatide**

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

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

Une membrane anhyste qui 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 dotée d'une certaine élasticité, elle assure l'intégrité du KH.

Une membrane proligère : c'est la membrane germinative qui tapisse intérieurement la membrane anhyste, fine, fragile, molle et blanche. Elle est constituée par une couche cellulaire embryonnaire. C'est la membrane fertile de l'hydatide<sup>[8]</sup>.

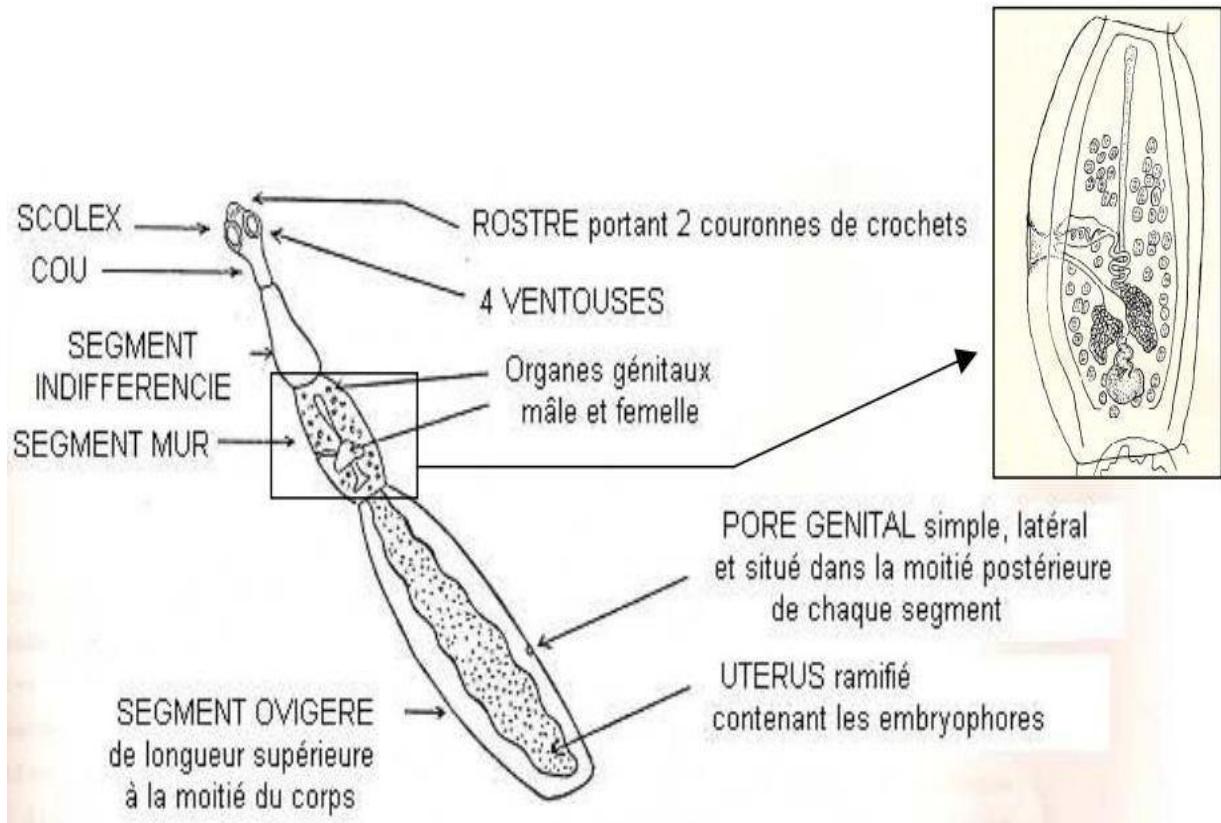


Figure 1 : Représentation schématique de la forme adulte d'EG <sup>[9]</sup>

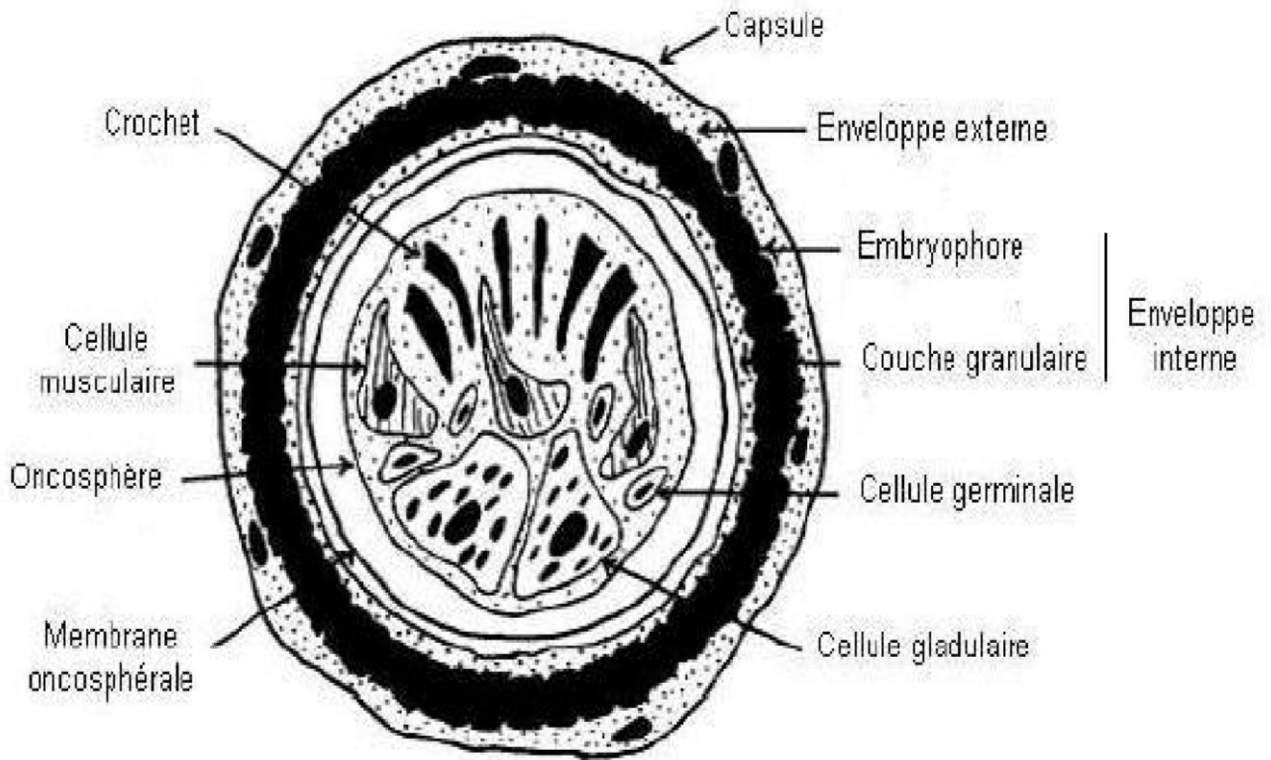


Figure 2 : Représentation schématique d'un œuf d'EG <sup>[10]</sup>

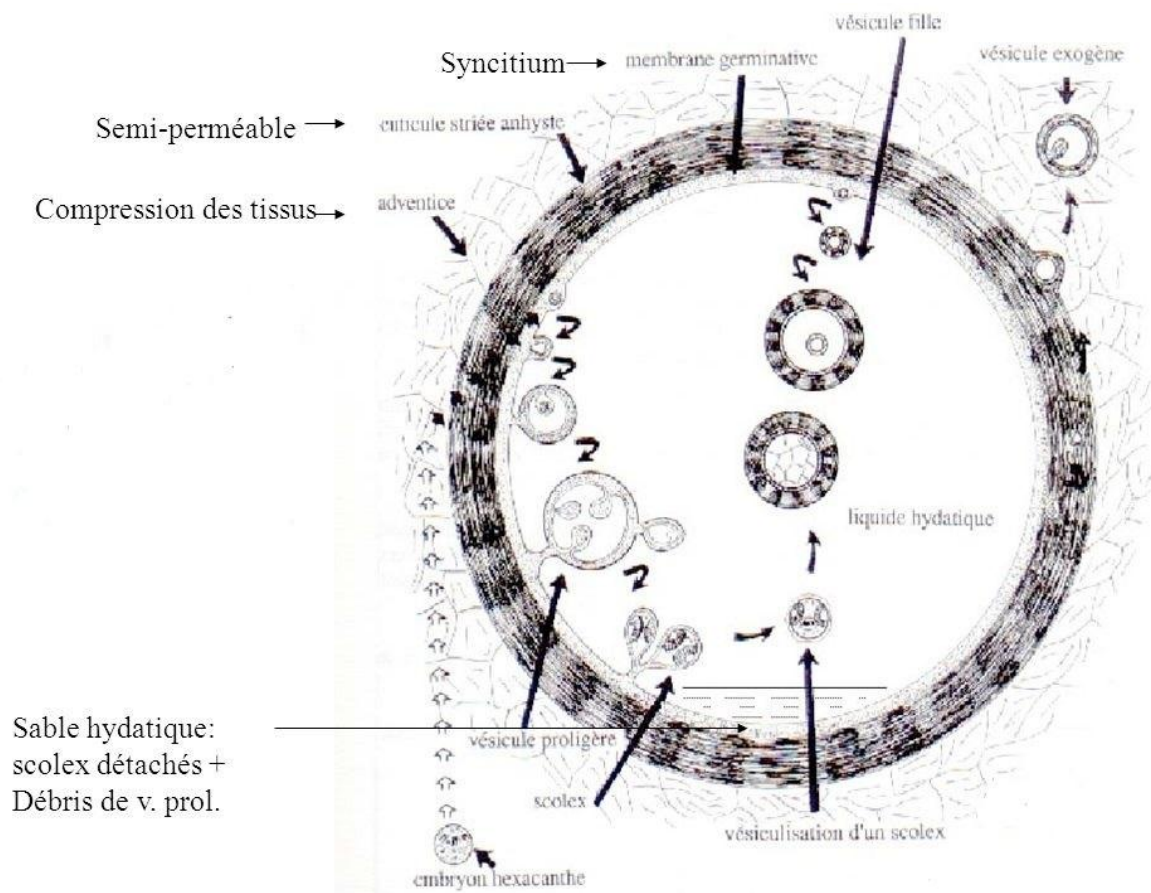


Figure 3 : Représentation schématique d'une larve d'EG <sup>[11]</sup>

## **C. Cycle évolutif**

Le cycle est de type hétéroxène, il implique un HD principal qui est le chien domestique mais aussi les canidés sauvages dans certaines régions du monde, et un HI représenté par les herbivores : ovins, caprins, bovins, équidés, suidés ou encore les camélidés avec une importance variable selon les régions.

L'homme peut jouer le rôle d'HI accidentel et héberger la forme larvaire, mais ne faisant pas partie du régime alimentaire des chiens son infection constitue une impasse parasitaire.

### **1. L'Hôte définitif**

Les canidés hébergent la forme adulte d'EG dans leur intestin grêle. La reproduction du ver se fait par autofécondation ou plus rarement par fécondation croisée entre deux vers différents <sup>[12]</sup>.

Le dernier anneau ovigère se détache et gagne le milieu extérieur avec les matières fécales du chien en forçant le sphincter anal. Certains anneaux se déchirent et répandent leurs œufs au niveau de la marge anale.

Le prurit anal associé provoque chez le chien un réflexe de léchage expliquant la présence de nombreux œufs au niveau des papilles linguales, de la cavité buccale puis par léchage sur le pelage.

Les œufs présentent une très grande résistance dans le milieu extérieur et peuvent rester infectants pendant plusieurs mois, voire une année à des températures comprises entre 4 et 15 °C <sup>[13]</sup>. Néanmoins ils n'en sont pas moins sensibles à la dessiccation.

## **2. L'Hôte intermédiaire**

Les œufs se répandent sur les sols et souillent l'herbe des pâturages. Ils sont ingérés par les herbivores qui constituent les HI. L'homme s'infecte en consommant de l'eau ou des crudités souillées par les déjections du chien, ou directement au contact du chien.

L'œuf ingéré est digéré dans le tube digestif de l'HI libérant son embryon qui traverse la paroi intestinale grâce à ses crochets. Une fois dans le système circulatoire porte, il arrive au foie où il s'arrête souvent pour former les hydatides. Il peut également gagner le poumon par le système cave et de là essaimer vers n'importe quel organe grâce à la circulation artérielle.

L'hydatide se développe lentement dans les tissus de l'HI. Les manifestations cliniques sont souvent latentes et peuvent n'apparaître que 30 ans après l'infection chez l'homme.

Le cycle de vie arrive à terme lorsque les kystes sont ingérés par l'HD carnivore. Il ingère alors jusqu'à plusieurs milliers de scolex pouvant redonner chacun un ver adulte dans son intestin grêle.

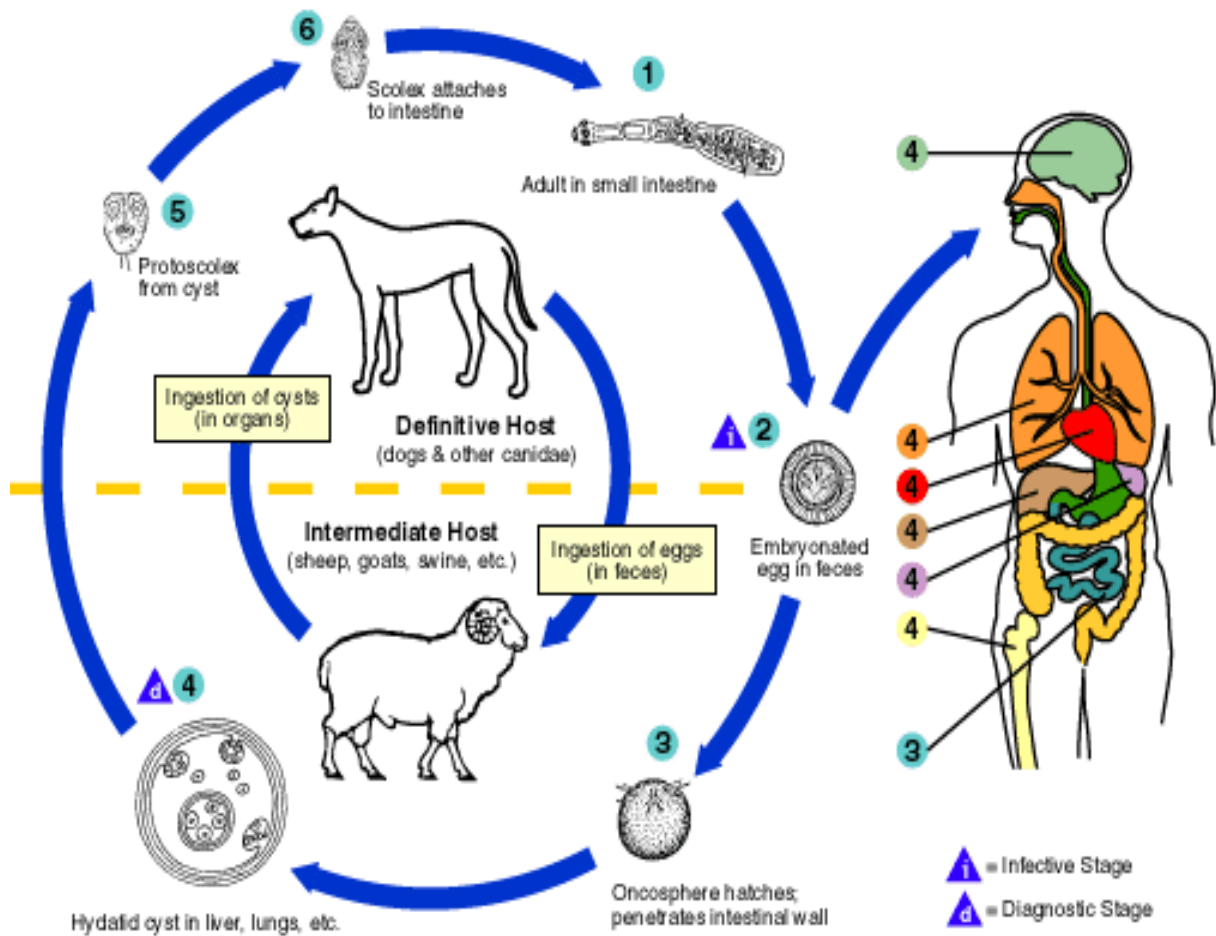


Figure 4 : Cycle évolutif d'EG <sup>[14]</sup>

## II. ASPECTS GENETIQUES D'ECHINOCOCCUS GRANULOSUS

### A. Nouvelle taxonomie au sein du genre *Echinococcus* à la lumière de la biologie moléculaire

La diversité génétique au sein des *Echinococcus* est reconnue depuis longtemps, aussi durant des années la taxonomie de ce genre a fait débat au sein de la communauté scientifique. Jusqu'à récemment seules 4 espèces étaient identifiées au sein du genre *Echinococcus* : *E. granulosus* ; *E. multilocularis* ; *E. oligarthrus* ; *E. vogeli*.

Les méthodes moléculaires ont permis la discrimination de différents génotypes (G1-10 et la «souche de lion»), dont certains sont maintenant considérés comme des espèces distinctes. En effet, l'avènement récent de ces techniques a montré que certaines souches d'EG revendiquaient le statut d'espèce à part entière, et a renforcé la nécessité de réviser la taxonomie du genre *Echinococcus* <sup>[14-16]</sup>.

Le séquençage complet du génome mitochondrial a confirmé la distinction en tant qu'espèces différentes de la souche équine et de la souche ovine d'EG en montrant qu'elles étaient aussi distantes les unes des autres que des espèces *multilocularis* ; *oligarthrus* et *vogeli* <sup>[17]</sup>.

Roming et al. <sup>[18]</sup> ont suggéré que les différents génotypes soient regroupés en 4 différentes espèces : *E. granulosus sensu stricto* (G1, G2 et G3, ou G1–G3 complex), *Echinococcus equinus* (G4), *Echinococcus ortleppi* (G5), and *Echinococcus canadensis* (G6 à G10, ou G6–G10 complex).

*Echinococcus shiquicus* a été récemment découvert en Chine (Qinghai-Tibet) <sup>[19,20]</sup> ; montant ainsi le nombre d'espèces d'*Echinococcus* à neuf ou dix si l'on considère les groupes constitués par les souches G6, G7/G9 et G8 comme des espèces différentes, et la souche du lion comme une espèce à part entière : *E. felidis* <sup>[21]</sup>.

**Tableau 1 : Génotypes et espèces au sein du genre Echinococcus avec leurs répartitions géographiques et leurs hôtes [3]**

Taxonomic designation	Strain/isolate genotype	Intermediate and aberrant hosts	Definitive hosts	Geographic distribution
<i>E. granulosus</i>	Sheep strain (G1)	Sheep, cattle, pigs, camels, goats, macropods, human	Dog, fox, dingo, jackal, hyena	Australia, Europe, United states of America, New Zealand, Africa, China,
<i>E. granulosus</i>	Sheep strain (G1)	Sheep, cattle, pigs, camels, goats, macropods, human	Dog, fox, dingo, jackal, hyena	Australia, Europe, United states of America, New Zealand, Africa, China, Middle east, south America, Russian Federation
<i>E. ganulosus</i>	Tasmanian sheep (G2)	Sheep, cattle, human	Dog, fox	Tasmania, Argentina, Romania
<i>E. ganulosus</i>	Buffalo strain? (G3)	Buffale, cattle? Human?	Dog, fox	Asia, Italy
<i>E. equinus</i>	Horse strain (G4)	Horses and other equines	Dog	Europe, Middle East, South Africa, New Zealand? USA?
<i>E. ortleppi</i>	Cattle strain (G5)	Cattle, humain	Dog	Europe, South Africa, India, Sri tanka, Russian Federation? South America, Mexico
<i>E. granulosus sp.</i>	Camel strain (G6)	Camels, goats, cattle, human	Dog	Middle East, Africa, China, Argentina, Europe, Russian,
<i>E. Canadensis?</i>	Pig strain (G7) Cervid strain (G8) Human/pig strain (G9) Scandinavian or (European) cervid strain (G10)	Pigs, humain Cervids, human Pigs?, human Domesticated reindeer (Rengifer tarandus)	Dog Dog? Dog? Wolf (Canis tupus)	Europe, Russian Federation, south America North America, Eurasia Europe (Poland) Europ (Finland)
<i>E. granulosus</i>	Lion strain	Zebra, wildebeest, warthog bushpig, buffalo, antelope, giraffe?	Lion	Africa
<i>E. shiquicus</i>		Logomorphe (pika/Ochotona curzoniae)	Tibetan fox	China
<i>E. multilocularis</i>	European isolate Alaskan isolate North American isolate	Rodents, domestic and wild pig, dog, monkey, human Rodents, human Rodents, human	Fox, dog, cat, wolf Fox, dog, cat Fox, dog, cat, coyote	Europe, China (?) Alaska North America Japan

## B. Souches et géotypes d'*Echinococcus granulosus*

Thompson et Lymbery <sup>[22]</sup> ont défini une souche d'*E.granulosus* comme un groupe d'individus, qui diffèrent statistiquement des autres groupes de l'espèce par la fréquence de leurs gènes et par au moins un caractère significatif du point de vue épidémiologique et en matière de contrôle de la maladie hydatique. Thompson et MacMagnus <sup>[16]</sup> ajoutent que cette variabilité intra-spécifique peut concerner des caractères qui affectent le cycle biologique, la spécificité à l'hôte, le développement, la dynamique de transmission, la pathogénicité, l'antigénicité et la sensibilité aux agents thérapeutiques.

Les différentes espèces d'*Echinococcus* et souches d'*EG*, ainsi que leur répartition par zone géographique et espèce sont rapportées dans le tableau 1.

*EG s.s* inclut le géotype G1 (souche du mouton), G2 (souche tasmanienne), G3 (souche du bison), et a été identifié comme le plus impliqué en pathologie humaine par rapport aux autres espèces et souches <sup>[3]</sup>.

L'homme est probablement non réceptif à la souche équine G4, tandis que peu de cas d'infection par la souche bovine G5 ont été rapportés. La souche des camélidés G6, les souches du porc G7 et G9 ainsi que les souches des cervidés G8 et G10 sont génétiquement liées et sont faiblement impliquées en matière d'EK humaine <sup>[23]</sup>.

Le géotype G1 est responsable de la grande majorité des EK humaines dans le monde (72,9%), avec la distribution la plus cosmopolite, et souvent associé à la présence du mouton comme HI <sup>[23]</sup>. Les géotypes étroitement apparentés G6 et G7 provoquent un nombre important d'infections humaines. La souche G6 est responsable de 12,2% des EK humaines <sup>[23]</sup>.

Elle est connue en Afrique et en Asie, où elle est principalement transmise par les chameaux, mais aussi en Amérique du Sud, où elle semble être principalement transmise par les chèvres. Le géotype G7 a été responsable de 9,6% des cas humains de CE essentiellement dans les pays d'Europe de l'Est, où le parasite est transmis par les porcs <sup>[23]</sup>. Des cas rares d'EK humaine ont été identifiés comme ayant été causés par les géotypes G5, G8 et G10. Aucun cas d'infection humaine par G4 n'a été décrit.

Il existe relativement peu d'informations concernant les différences en terme de manifestations cliniques, entre les différents agents de l'EK. Schneider et al. [24] ont effectué la comparaison la plus complète à ce jour, des caractéristiques cliniques des patients infectés par différents agents du KH. Ils ont comparé les données de 68 patients infectés par le génotype *E. granulosus* G1, trois patients infectés par *E. canadensis* G6 et 33 infectés par *E. canadensis* G7. Les résultats montrent que les KH du génotype G7 sont de taille inférieure à celle des KH G1. Guarnera et al. [25] ont comparé les localisations de kyste, la taille et d'autres caractéristiques de 25 patients infectés par *E. granulosus* G1, un patient infecté par *E. ortleppi* et 15 patients infectés par *E. canadensis* G6. Les résultats montrent que les kystes du génotype G6 peuvent avoir un taux de croissance plus élevé, mais aucune autre différence significative n'a été observée. En Iran bien que la majorité des cas d'EK humaine soient provoqués par le génotype G1, les observations faites sur des patients atteints d'EK cérébrale, suggèrent que le génotype G6 peut avoir une propension à infecter le cerveau [26]. De telles études seraient intéressantes dans des régions comme l'Argentine et le Soudan où les infections à G6 humaines sont relativement courants.

### **C. Structure du génome mitochondrial d'*Echinococcus granulosus***

Le génome mitochondrial (mt) a été séquencé pour une grande variété d'organisme y compris un nombre croissant de parasites [27]. La fonction génétique de l'ADN mt est bien conservée ; elle est impliquée dans cinq mécanismes au maximum : la respiration et la phosphorylation oxydative de façon constante, la traduction, la transcription, la maturation de l'ARN, et l'importation des protéines [28].

L'ADN mt montre un taux relativement rapide de mutation, et constitue de fait l'outil le plus adapté pour la discrimination d'organismes proches du point de vue phylogénique. En effet, les gènes mitochondriaux tendent à accumuler des mutations avec une fréquence plus élevée que celle que de l'ADN nucléaire, et permettent ainsi l'analyse des divergences récentes [29].

L'ADN mt est de petite taille (13588pb pour *E.G*), circulaire, hérité de la mère, considéré comme clonal ne montrant pas de recombinaison en général.

Le génome mitochondrial complet de la souche ovine G1 et *E. equinus* sont disponibles. Le génome mt d'*E. G* (G1) est présenté en figure 5.

Les 36 gènes mitochondriaux typiquement retrouvés chez les helminthes (12 gènes codant pour des protéines, 22 gènes codant l'ARNt et 2 gènes codant pour l'ARNr) ont été identifiés chez *E. G* [17]. Les gènes codant pour les protéines appartiennent à 4 catégories : le complexe Nicotinamide déshydrogénase (nad 1-6 et nad4L); le complexe cytochrome c oxydase (cox 1-3); cytochrome b (cob) et la sous unité 6 de l'adénosine triphosphatase (atp6). Contrairement à la majorité des autres métazoaires, il n'y a pas de gène atp8. Deux gènes codant pour l'ARN ribosomal sont présents : la sous unité 16 S (rrnL) et la sous unité 12 S (rrnS). Conformément aux fonctions de l'ADN mt, il existe 22 gènes codant pour les ARN de transferts (ARNt).

Par ailleurs, il existe deux régions relativement longues non codantes (NR1 et NR2) probablement impliquées dans la réplication du génome mitochondrial [30,31].

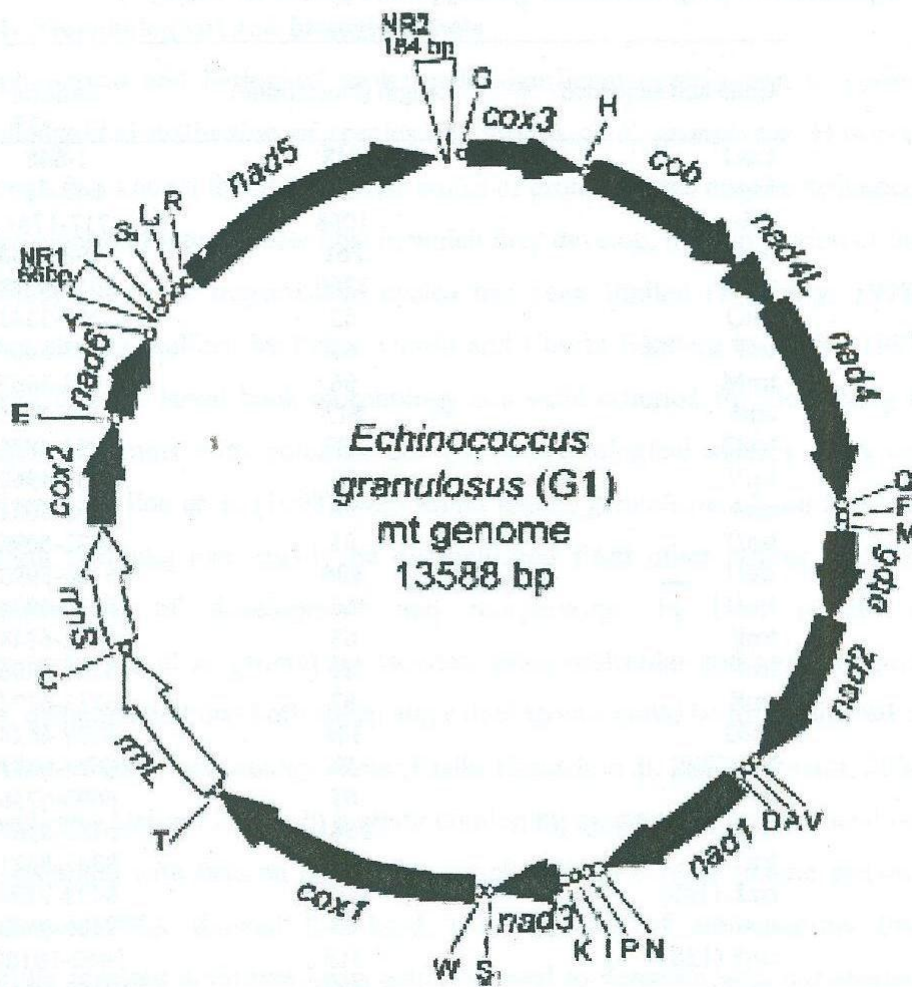


Figure 5 : Représentation schématique de l'ADN mt d'*Echinococcus granulosus* G1 [28].

## **D. Critères pour l'identification d'*Echinococcus granulosus***

### **1. Critères morphologiques et biologiques**

Les critères morphologiques et biologiques ont apporté une contribution considérable à la distinction des espèces et des souches d'*E.G.* Des études réalisées en Espagne ont montré que la morphologie des crochets du rostre au stade larvaire est un critère valide pour l'identification des souches d'*E.G.* [32]. Ces résultats ont été confirmés par Jiao et al. [33], qui ont montré que la souche des camélidés d'*E.G.*, isolée dans le nord du Xinjiang peut être facilement distinguée des autres souches, grâce à des caractéristiques morphologiques.

En Iran, l'utilisation de critères moléculaires et morphologiques pour la caractérisation d'*EG* a montré que la souche ovine et la souche des camélidés peuvent être différenciées sur le seul critère de la morphologie des crochets [34-36].

### **2. Critères moléculaires**

Les examens moléculaires ont révélé toute l'étendue de la diversité génétique des parasites et apporté une aide considérable à l'étude de leur épidémiologie et de leur phylogénie. Elles ont aussi permis de valider la proposition faite il y a de ça plusieurs années, de réviser la taxonomie des *Echinococcus* mais aussi d'autres groupes de parasites [35].

### **3. Analyse des protéines**

L'électrophorèse des enzymes du parasite a été utilisée pour examiner la diversité génétique ainsi que les différences moléculaires au sein d'*E.G.* à partir d'hôtes sauvages et domestiques dans le Mainland en Australie [37,38]. Par ailleurs différentes iso-enzymes ont été isolées à partir de kystes d'*E.G.* hébergés par le même hôte [39].

En 1996, Siles Lucas et al. [40] ont effectué une comparaison entre PCR-RAPD et étude des isoenzymes, pour montrer que les souches espagnoles d'*EG* pouvaient être distinguées sur des critères enzymatiques. Ces résultats ont été confirmés par Turcekova et al., [41] qui ont utilisé le séquençage du gène ND1, la PCR-RAPD et l'analyse des isoenzymes pour caractériser les protoscolex obtenus à partir de porcs, de bovins et de sujets humains issus de différentes régions de Slovaquie.

L'étude enzymatique a permis d'analyser les relations génétiques entre les échinocoques obtenus à partir de sujets humains, de bovins et d'ovins au Maroc <sup>[42,43]</sup> et en Tunisie <sup>[44]</sup> en utilisant les isoenzymes de seize et sept loci polymorphes respectivement dans les deux pays.

#### **4. Analyse de l'ADN**

Les méthodes utilisant l'ADN présentent un potentiel considérable avec une grande sensibilité et spécificité. La PCR requiert une préparation technique minutieuse et possède une immense valeur en matière de génotypage des parasites <sup>[45]</sup>.

Les variants au sein du genre *Echinococcus* ont été identifiés par différentes techniques :

##### **➤ Séquençage de l'ADNmt**

Les gènes du cytochrome c oxydase ou/et NADH sous unité 1 des espèces et souches d'*Echinococcus* ont été séquencés dans différentes régions <sup>[46,47]</sup>.

L'analyse de l'ADN mt a également intéressé des régions du gène de l'ARNr 12S <sup>[48]</sup>, la sous-unité ATPase 6 (Atp6) <sup>[19]</sup> et le génome mitochondrial complet <sup>[49]</sup>.

##### **➤ Séquençage de l'ADN nucléaire**

La première séquence d'ADN nucléaire étudiée (ITS1) a été utilisée en Pologne pour caractériser des isolats d'*EG* obtenus à partir d'hôtes humains et porcins <sup>[50]</sup>. Hwerden et al. <sup>[51]</sup> ont analysé la variabilité de cette région au sein des différentes espèces et souches d'*EG*. Bardonnet et al. <sup>[52,48]</sup>, Bart et al. <sup>[53,54]</sup>, Breyer et al. <sup>[55]</sup> ont séquencé les gènes ribosomiaux pour déterminer les souches d'*EGN* en Algérie, Mauritanie, Roumanie et en Bulgarie. Les recherches utilisant l'ADN nucléaire ont également intéressé des régions codant pour l'antigène B / 1, la sonde d'ADN BG1, Actine III et le facteur d'élongation 1 alpha (ef1a) <sup>[56]</sup>.

La PCR-RFLP a permis d'étudier l'hétérogénéité au sein de différentes espèces et génotypes d'*Echinococcus* <sup>[57]</sup>. Elle a également permis de caractériser la souche des cervidés G8 <sup>[58]</sup> ainsi que différentes souches en Argentine <sup>[59]</sup> et en Iran <sup>[34]</sup>.

Cette technique a permis de confirmer l'existence de deux souches distinctes (G1 et G6) au Kenya <sup>[60]</sup>. En Chine, la PCR-RFLP -nad1 combinée au séquençage de l'ADN mt a indiqué la présence de la souche ovine G1 et de la souche des camélidés G6 <sup>[61]</sup>. Ce procédé a été aussi utilisé pour l'identification des génotypes existants en Sardaigne <sup>[62]</sup> et dans la région de Tierra del fuego en Argentine <sup>[63]</sup>.

➤ **Polymorphisme de conformation des brins simples (SSCP)**

Le polymorphisme de conformation des simples brins ou SSCP (*single strand conformation polymorphism*) est une technique de biologie moléculaire visant à séparer différents allèles d'un même gène en misant sur la différence de migration dans un gel non dénaturant de leurs différentes conformations. Grasser et al. <sup>[64]</sup> ont utilisé cette technique sur deux régions mitochondriales à partir de sept génotypes différents. L'utilité du polymorphisme de conformation des brins simples, pour la mise en évidence de la variabilité de l'ADN mt du genre *Echinococcus* sans recours au séquençage a été ainsi démontrée. En chine et en Argentine <sup>[65]</sup>, le recours à la SSCP a permis de conclure que différents génotypes pouvaient être facilement identifiés en utilisant des fragments des gènes ND1 et CO1.

- Les séquences répétées d'ADN ont également été analysées pour évaluer la diversité génétique entre les souches d'*E.G* en Argentine <sup>[66,67]</sup>. Kamenetzky et al. <sup>[68]</sup> ont associé le séquençage du gène mt CO1, le southern blot de séquences répétées d'ADN et le polymorphisme de conformation des simples brins de la région 5' non codante du gène de la malate déshydrogénase (MDH) cytosolique pour déterminer l'étendue de la distribution des variants génétiques d'*EG*.

- La PCR-RAPD a été également utilisée pour discriminer les espèces et/ou les souches d'*Echinococcus* <sup>[41-69-73]</sup>.

- Bartholomei-Santos et al. <sup>[74]</sup> ont caractérisé des séquences microsatellites à partir d'*EG* collectés au Brésil et en Argentine.

- Gonzales et al. <sup>[75]</sup> ont permis de développer trois protocoles (Eg9-PCR, Eg16PCR et Eg9-PCR-RFLP) pour la discrimination des génotypes d'*EG*.

-Plus récemment, des techniques basées sur la seule utilisation de la PCR sans recours au séquençage, ont été conçues pour simplifier le génotypage ; Avec la réalisation de plusieurs PCR consécutives, une partie du complexe d'*EG* (G1, G5, G6 / G7) peut être

génomée [48] ; Avec quatre PCR en parallèle, la discrimination entre *E. multilocularis*, *E.G s.s.* (G1) et le groupe *E. ortleppi* (G5) / *E.canadensis* (G6 / G7) est possible [76]. Les approches par PCR en parallèle peuvent être combinées dans une installation de PCR multiplex. Cette dernière est à présent utilisée dans le monde entier dans de nombreux aspects des analyses d'ADN, en particulier dans le domaine du diagnostic moléculaire des maladies infectieuses bactériennes [77], virales [78] et fongiques [79]. Ghaliya Boubaker et al. [80] ont montré que la PCR multiplex est une technique fiable pour caractériser tout type d'échantillon du complexe *EG*. Ce procédé permet une détermination du genre, de l'appartenance au complexe *E.G* et de l'espèce/génotype.

### III. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'HYDATIDOSE

L'embryon hexacanthé libéré dans le tube digestif, traverse la paroi intestinale, grâce aux mouvements de son corps et de ses crochets et grâce aux sécrétions des glandes de pénétration qui assure la dégénérescence des tissus de l'hôte puis entame une migration à travers l'organisme<sup>[81]</sup> :

- S'il rencontre un vaisseau sanguin, il sera amené par la circulation sanguine au foie où il sera arrêté ;

- S'il rencontre un vaisseau lymphatique, il atteindra le poumon par le canal thoracique ;

- Si le filtre pulmonaire est traversé, les larves pourront s'emboliser dans tous les tissus ou organes rencontrés (reins, rate, cœur, os, cerveau...) ;

- Les facteurs qui déterminent la localisation finale des formes larvaires ne sont pas clairement connus, mais incluent vraisemblablement les caractéristiques anatomiques et physiologiques de l'hôte et de la souche de parasite : le rapport entre la taille de l'oncosphère et celle des vaisseaux sanguins ou lymphatiques serait l'un des paramètres principaux.

## **IV. EPIDEMIOLOGIE**

### **A. Épidémiologie analytique**

#### **1. Le réservoir du parasite**

Les sources de contamination directe et durable du milieu extérieur sont représentées par les canidés.

En effet, le chien constitue le principal réservoir de la maladie, vu sa capacité à entretenir le parasite <sup>[82]</sup>. Ce dernier se développe chez d'autres carnivores tels que le loup et le chacal <sup>[83,84]</sup>. Les oncosphères renfermées dans le segment ovigère mûr des parasites adultes au niveau de l'intestin grêle du chien se mêlent aux matières fécales et sont évacuées à l'extérieur.

Ces animaux défèquent un peu partout et contaminent l'environnement et la nourriture des herbivores et de l'homme. Les HI, en particuliers les ovins de plus d'un an, porteurs de KH représentent les sources indirectes de contamination.

#### **2. La dynamique de la transmission de L'EG**

Pour déterminer la dynamique de la transmission d'EG, on peut considérer trois sous populations du parasite :

- Le parasite adulte chez le chien ;
- La larve chez l'HI ;
- Et les oncosphères dans l'environnement.

En même temps, il faut évaluer l'influence des facteurs intrinsèques, extrinsèques et socio-économiques sur la stabilité de cette dynamique.

Il faut préciser aussi, que cette transmission est influencée par le potentiel biotique chez l'HD, l'immunité acquise par les HI, et les conditions climatiques dans lesquelles l'oncosphère est placée.

D'une façon générale, la circulation d'EG dans le milieu est conditionnée par l'interaction de plusieurs groupes de facteurs, notamment ceux liés à l'environnement extérieur (facteurs climatiques, géographiques...), aux hôtes du parasite (accès des HD aux métacestodes fertiles, accès des HI aux embryons) et aux comportements humains facilitant ou limitant la contamination des hôtes naturels.

## **B. Facteurs liés aux hôtes du parasite**

Chez l'HD, la charge parasitaire moyenne se situe entre 200 et 400 vers avec 8470 oncosphères par gramme de matières fécales. Cette charge permet de déterminer le nombre d'œufs libérés dans le milieu extérieur et donc le risque d'infection chez l'HI.

Sweatman et Williams <sup>[85]</sup> ont rapporté que le nombre de vers dans l'intestin du chien peut atteindre 12 767 vers. Chaque œuf peut donner naissance à un kyste chez l'HI. Cependant, il semble qu'une immunité acquise s'établit progressivement suite à l'exposition répétée des chiens à l'infection par EG. Ainsi, l'infection du chien par 88 000 protoscolex pourrait provoquer l'arrêt de production des oncosphères par le parasite avec la persistance de ce dernier au niveau de l'intestin grêle <sup>[86]</sup>.

Le potentiel biotique du parasite, peut varier considérablement d'une région à l'autre selon les conditions écologiques et climatiques <sup>[87]</sup>.

Un petit nombre d'animaux peut héberger un grand nombre d'EG, le pouvoir pathogène des vers est atteint entre 6 et 12 semaines et les larves se développent lentement avec un taux de fertilité de 50% atteint en 6 ans <sup>[88]</sup>. Chez ces animaux, l'infection est déterminée essentiellement par le comportement alimentaire ainsi que par la disponibilité et le pouvoir infectant des œufs. L'infection directe se fait par l'ingestion d'aliments souillés par les matières fécales de chiens parasités. Par ailleurs, l'infection indirecte est favorisée par la très grande résistance des œufs et leur vitalité conservée en milieu humide, ce qui évoque la possibilité d'une contamination par les eaux souillées.

L'HI peut développer une réponse immunitaire durant les premiers stades de l'infection parasitaire. Une immunité contre les réinfections par EG peut être acquise chez les moutons <sup>[89]</sup>.

La contamination de l'homme est conditionnée par les relations qui le lient à son environnement et au chien. En présence de l'HD d'EG, deux modes de contamination se présentent :

- Une transmission directe, par l'ingestion accidentelle des œufs au contact des chiens infectés.
- Et une contamination indirecte, par la manipulation et/ou l'ingestion de végétaux souillés par les œufs. Les personnes à haut risque sont celles qui s'occupent et/ou entrent en contact direct avec l'HD.

### **C. Facteurs liés à l'environnement**

L'environnement contribue à la dynamique de transmission en favorisant la maturation des œufs et leur dispersion mécanique. Les œufs sont fortement résistants aux facteurs de l'environnement. Ces derniers peuvent survivre plus de 200 jours à +7°C et 50 jours à +21°C.

Les oncosphères peuvent rester infectants pendant environ un an dans un environnement humide à des températures basses (+4°C à 15°C), mais restent sensibles à la dessiccation (tués en 4 jours à une humidité relative de 25% et en 1 jour à 0%)<sup>[90]</sup>.

Dans des conditions favorables, les proglottis détachés du ver, peuvent rester vivants pendant plusieurs jours après leur expulsion dans les matières fécales. Ils produisent des contractions rythmées qui peuvent disperser les œufs à une certaine distance de la masse fécale<sup>[91]</sup>.

Bien que la plupart des œufs de *Tania* restent habituellement à moins de 180 m du lieu de leur dépôt, certains peuvent rapidement être dispersés dans une surface de 30 000 hectares.

La dispersion des œufs est expliquée par l'intervention d'un certain nombre d'agents de transport. Le vent pourrait y contribuer, de même que les insectes, les souris et les oiseaux qui semblent être aussi des agents importants de cette transmission. Cette dispersion augmente le risque de contamination des HI et fait qu'un seul chien, fortement infecté, peut entraîner l'infection de plusieurs HI. Dans les zones d'endémie de l'EK, la prévalence d'infection des chiens par EG est élevée, ce qui augmente les taux de contamination du milieu extérieur par les oncosphères du parasite et augmente le risque de transmission à l'homme.

## **D. Facteurs liés au comportement humain**

La promiscuité de l'homme avec les chiens et les ovins et l'habitude universelle de donner des viscères aux chiens lors d'abattage à domicile, ont créé les conditions optimales pour la perpétuation des vers et la transmission à l'homme. Aussi, d'autres facteurs peuvent aider à la persistance de l'EK dans une région donnée :

- Le taux d'analphabétisme qui, en absence de sensibilisation, participe à l'expansion inconsciente de la maladie.
- Coutumes et traditions (fêtes familiales, fête religieuse du Sacrifice).
- L'hygiène défailante ou une fausse conception de l'hygiène.
- L'absence d'infrastructures convenables pour l'application des mesures d'hygiène au niveau des abattoirs et des foyers.
- L'abattage clandestin non soumis à l'inspection vétérinaire.

## **E. Facteurs de réceptivité**

### **1. Age**

Plusieurs études rapportent que les sujets les plus atteints sont de jeunes personnes. En effet, 70 à 75% des malades ont un âge inférieur à 30 ans. Ceci est peut-être lié au contact fréquent des enfants avec le chien <sup>[92,93]</sup>.

### **2. Sexe**

Plusieurs auteurs rapportent une prédominance de l'EK chez le sexe féminin. En effet, au Maroc entre 1980 et 1992, 75,4% des cas rapportés étaient de sexe féminin, contre 24,6% de sexe masculin <sup>[4]</sup>. Ceci s'explique probablement par le contact des femmes avec les chiens, surtout dans le milieu rural ainsi que par la manipulation quotidienne des légumes et la pratique des travaux agricoles. Cette prédominance de l'infection chez le sexe féminin a été rapportée aussi dans d'autres pays.

Dans de nombreux pays, la fréquence de la maladie est en relation avec les régions d'élevage du mouton. La population rurale est la plus exposée à l'infection par l'EK. Ceci, est une conséquence des facteurs de risque qui se trouvent réunis à la campagne. Au Maroc, 69,5% des cas d'EK déclarés sont d'origine rurale <sup>[4]</sup>.

### **F. Souches d'*Echinococcus granulosus***

Il n'est pas possible de déterminer avec précision l'inféctivité des différents génotypes d'EG. Les prévalences observées pour les différentes souches sont susceptibles d'être influencées par plusieurs facteurs tels que la distribution des génotypes chez les HI, ou la possibilité de contact humain avec l'HD <sup>[23]</sup>.

Tous les signes d'une inféctivité accrue (ou pathogénicité) d'EG s.s, par rapport à d'autres agents de l'EK, sont basés sur des observations épidémiologiques.

Tant en Europe qu'en Afrique du Nord, l'EK est fortement endémique dans les régions où EG s.s. est présent (Europe du Sud, Maghreb), tandis que dans les régions voisines où d'autres *Echinococcus spp* sont souvent retrouvés chez les animaux, les cas humains sont rares ou sont répartis de manière sporadique (Europe de l'Est, Égypte, Soudan) <sup>[23]</sup>.

A travers le monde, 88,44% des cas d'EK humaine sont dus à EG s.s. <sup>[23]</sup>. Seuls deux autres taxons, G6 et G7, sont responsables d'un nombre significatif de cas humains.

Dans les régions où ces génotypes sont prédominants chez les animaux, ils peuvent être responsables de la majorité des cas d'EK chez l'homme. *E. equinus* ne semble pas infectant pour l'homme et très peu de cas d'infection humaine ont été causés par *E. ortleppi* (G5) et les génotypes G8 et G10 de *E. canadensis*.

## V. REPARTITION GEOGRAPHIQUE

### A. L'Hydatidose dans le monde

L'EG est responsable de la zoonose ayant la plus grande répartition géographique mondiale <sup>[94]</sup>. L'EK est endémique dans de nombreux pays du bassin méditerranéen, particulièrement au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Lybie, en Italie, en Grèce et en Turquie. Elle l'est également en Amérique du sud <sup>[95]</sup>.

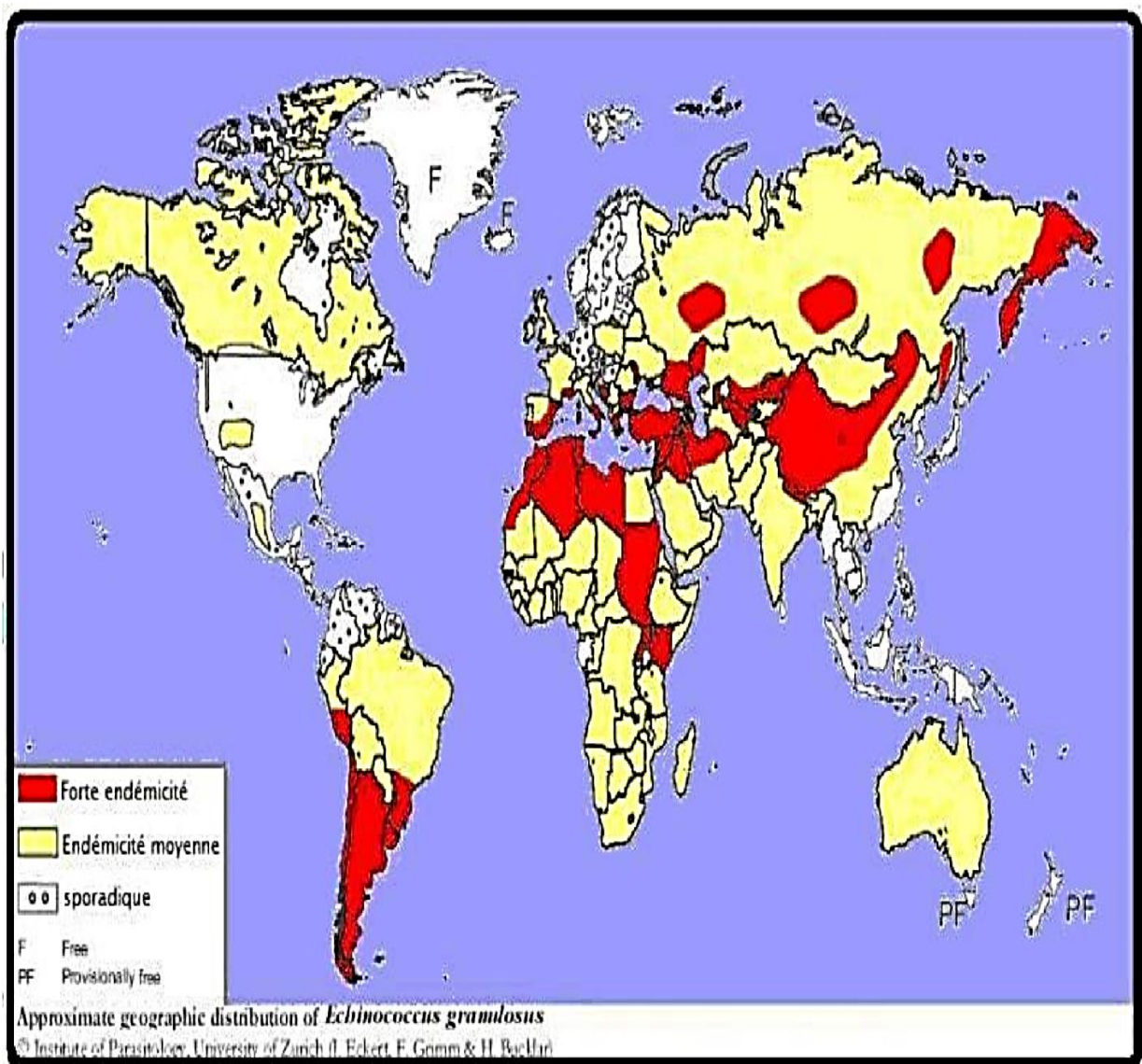


Figure 6 : Répartition géographique du kyste hydatique dans le monde <sup>[96]</sup>

## 1. L'Hydatidose en Afrique

En **Afrique du Nord**, La maladie est hautement endémique. Les HI prévalent sont représentés par les moutons et les chèvres, bien qu'en Afrique de Nord et de l'Est, le rôle du dromadaire semble considérable. Il existe une grande diversité d'EG. Les souches G1, G2, G3, G6 sont retrouvées en Afrique du nord alors que les génotypes G1, G5, G6, G4 sont présents en Afrique subsaharienne <sup>[23]</sup>.

En Tunisie, l'EK sévit de façon hautement endémique. La prévalence de l'infection est de l'ordre de 15/ 100 000 habitants, ce qui fait de ce pays l'un des plus endémiques du bassin méditerranéen. L'étude rétrospective la plus récente montre une incidence chirurgicale annuelle de 12,64 / 100000 habitants <sup>[97]</sup>. Le génotype G1 a été retrouvé chez tous les HI y compris les humains <sup>[98]</sup>. Un cas de coïnfection G1-G6 a été rapporté en 2016 par Oudni-M'rad M et al. <sup>[99]</sup>.

En Algérie, l'incidence chirurgicale basée sur des cas d'hôpitaux était de 3, 6-4,6 /100 000 habitants <sup>[100]</sup>. D'autres études ont montré les taux suivant pour 100 000 habitants : 2,09 en 1997, 1,78 en 1998, 2,27 en 1999 et 2,6 en 2 000 <sup>[101]</sup>. Barth et al. <sup>[102]</sup> ont identifié la souche G1 chez les ovins, les bovins et les humains. La souche cameline G6 a été également mise en évidence en 2007 par Maillard et al. <sup>[103]</sup>.

En Egypte, l'EK est également présente à l'état endémique avec une incidence de l'ordre de 4,29 – 9,01 / 100 000 habitants <sup>[101]</sup>. Le génotype G6 est prévalent parmi les cas humains, bien que le génotype G1 ait été également identifié <sup>[104]</sup>. Deux cas de patients porteurs du génotype G7 ont été rapportés <sup>[105]</sup>.

En Libye, une étude a estimé l'incidence chirurgicale dans la région orientale à 4,2 cas par 100 000 habitants <sup>[106]</sup>. Seul le complexe G1G3 a été isolé chez l'homme <sup>[107]</sup>.

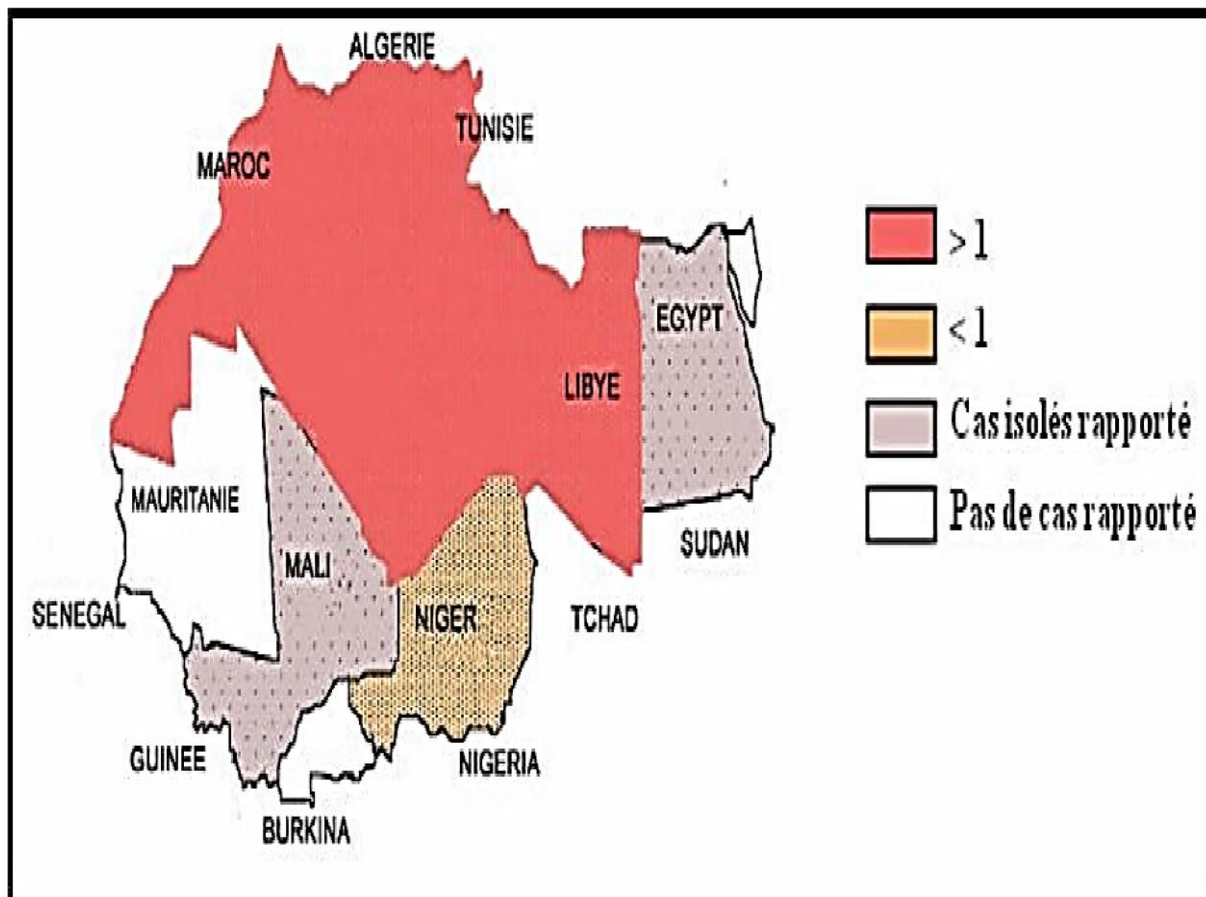


Figure 7 : Distribution de l'Hydatidose en Afrique du Nord <sup>[84]</sup>

En **Afrique de l'Est** sont localisées les zones de plus forte endémicité dont certaines parties du Soudan, de l'Ethiopie, du Kenya et de l'Ouganda <sup>[108,109]</sup>. Le foyer de Turkana (Nord Est du Kenya) présente la prévalence la plus élevée au monde avec 6,6%. Le génotype humain dominant est G1, bien que la souche caméline G6 soit aussi impliquée <sup>[110]</sup>. L'EK est également présente parmi les nomades vivant en Ouganda où une étude a montré une moyenne de 20 cas chirurgicaux par an <sup>[111]</sup>, en Tanzanie, Soudan et Ethiopie avec des prévalences variant de 1 à 3,2 % <sup>[112]</sup>.

En **Afrique de l'Ouest**, la maladie est peu rapportée avec pour principaux pays concernés le Niger, le Mali et la Mauritanie où l'incidence annuelle a été estimée à 1,2 pour 100 000 habitants pour la période 1996-1997 en se basant sur les cas diagnostiqués à l'hôpital national de Nouakchott <sup>[113]</sup>. La maladie qui était totalement inconnue jusqu'aux années 1990, a fait son apparition en 1992 où les premiers cas humains ont été recensés <sup>[114]</sup>.

## 2. L'Hydatidose en Europe

En **Europe**, Les régions les plus touchées sont celles du bassin méditerranéen et les zones pastorales d'élevage ovin en Grande-Bretagne <sup>[10]</sup>.

En Grèce, l'incidence des cas chirurgicaux humains a atteint 12,9 pour 100 000 habitants en 1984 <sup>[115]</sup>. La présence d'un seul complexe génotypique (G1) dans un spectre relativement important d'espèces hôtes intermédiaires indique la présence d'un cycle dominant de transmission de chiens et de moutons <sup>[116]</sup>.

En Turquie, le taux chirurgical est estimé à 0,87-6,6/100 000 habitants <sup>[117]</sup>. La souche d'EG dominante est de type G1 <sup>[118]</sup>.

En Italie, la prévalence de la maladie est considérée élevée en Sardaigne et en Sicile, modérée dans les régions centrales et faible dans les autres zones italiennes. Le taux d'incidence dans les provinces du centre, du sud et de l'insulaire Italie, entre 1983 et 1984 était de 2,5 cas pour 100 000 habitants <sup>[119]</sup>. Les souches identifiées sont de type G1, G2, G3 <sup>[120]</sup>.

En Espagne, l'incidence entre 1986 et 1990 était de 1,9 cas pour 100 000 habitants, avec une évolution baissière du nombre de nouveau cas au cours de cette période <sup>[121,122]</sup>. Chez l'homme, seule la souche ovine (G1) est retrouvée <sup>[123]</sup>.

En France, l'EK est endémique <sup>[124]</sup>, mais sa prévalence a montré une diminution marquée au sein des élevages et chez l'homme avec des valeurs inférieurs à 0,28 pour 100000 habitants <sup>[125]</sup>. Les génotypes identifiés sont G1, G2 et G3 <sup>[126]</sup>.

En Islande, le dernier cas humain de KH a été diagnostiqué en 1960 <sup>[94,127]</sup>. Au Groenland, le parasite semble inexistant <sup>[128]</sup>.

### 3. L'Hydatidose en Amérique

En **Amérique du Sud** l'EK est une zoonose fortement endémique avec un impact considérable sur la santé publique. Les prévalences les plus élevées sont observées dans certaines régions d'Argentine, de Bolivie, du Brésil, du Chili, du Pérou et de l'Uruguay <sup>[125,127,129]</sup>. Les Andes centrales du Pérou représentent une zone d'infection majeure avec une prévalence déterminée par dépistage échographique de 9,3% <sup>[130]</sup>. L'incidence chirurgicale pendant les années 1997-1998 a atteint 127 cas pour 100 000 habitants <sup>[131]</sup>. Au Brésil, la région de Rio Grande do Sul est la seule zone d'endémie avec une prévalence sérologique de 1 à 2 %. Elle serait néanmoins largement sous-estimée à en croire les résultats des études par ultrasonographie <sup>[132,133]</sup>. La souche ovine(G1) représente la majeure partie des cas humains et animaux en Amérique du sud. En outre, *E. canadensis* (G6) joue un rôle important dans l'EK humaine <sup>[134]</sup>.

En **Amérique du Nord**, les cas humains d'EK ont été rapportés chez les indigènes d'Alaska et du Canada <sup>[125]</sup>. Des cas importés ont également été diagnostiqués chez les étrangers <sup>[135]</sup>. L'infection reste limitée aux esquimaux et aux indiens pratiquants la chasse et le braconnage <sup>[136]</sup>. Ces groupes de populations nourrissent leurs chiens avec les abats de rennes et d'élan <sup>[137]</sup>. Deux souches d'EG ont été identifiées, la souche des cervidés et celle du mouton <sup>[125,129]</sup>.

### 4. Australie ET Asie

En Australie, la Tasmanie est l'un des états dans lesquels la maladie est à déclaration obligatoire. L'incidence annuelle moyenne du kyste hydatique chez l'homme fut de 9 cas pour 100 000 habitants entre 1946 et 1958. Le programme de contrôle a interrompu la transmission de la maladie à l'homme depuis 1977 <sup>[138]</sup>. La souche d'EG mise en cause a été identifiée comme de type G2 <sup>[139]</sup>.

En **Nouvelle Zélande**, avant les années 1960, la prévalence du parasite particulièrement chez l'animal était considérable. Une campagne d'éradication nationale a réduit massivement l'infection parasitaire des animaux d'élevage <sup>[140]</sup>.

En **Iran**, la prévalence sérologique a été estimée à 6,0% <sup>[141]</sup>. Le rôle de la souche cameline fut un temps discuté <sup>[142]</sup>. Les récentes études menées par Nikmanesh B. et al. <sup>[143]</sup> montrent les génotypes G1, G3 et G6 au niveau des isolats humains de KH. Les autres pays du golfe persique présentent plusieurs foyers d'endémie avec un cycle impliquant le chien domestique <sup>[144]</sup>.

En **Asie centrale**, l'EK est considérée comme une maladie émergente <sup>[145]</sup>. Au Kazakhstan, au Kyrgystan, en Uzbekistan et en Tadjikistan, la prévalence n'a cessé d'augmenter en raison de la baisse du niveau de vie des populations. Cette augmentation est d'autant plus importante chez les enfants de moins de 14 ans où elle est passée de 19,9% à 32,2 % entre 1993 et 2000 <sup>[146]</sup>. Dans ces régions, les larves d'*EG* et d'*E. multilocularis* coexistent chez les mêmes patients <sup>[146,147]</sup>.

En Chine, l'EK est un problème de santé publique important. La prévalence est de fait très élevée, estimée à 4,2 à 4,8 % <sup>[148]</sup>. Quatre génotypes appartenant à deux espèces (G1 et G3 de *E. G s.s.* et G6 et G7 de *E. canadensis*) ont été identifiés chez les humains et les animaux en Chine. La découverte récente du génotype G10 d'*E. canadensis* en Chine, montre que ce génotype a peut-être une répartition géographique plus large que prévue <sup>[149]</sup>.

## **B. L'Hydatidose au Maroc**

Au Maroc, il s'agit d'une maladie endémique, en raison de l'existence d'un élevage pastoral dominant. L'EK sévit dans presque toutes les régions d'élevage du pays, et 62,0% de la population touchée est d'origine rurale <sup>[4]</sup>. Les premiers travaux datent de 1923 mais ce n'est qu'à partir de 1949 que l'EK s'est imposée comme parasitose majeure en médecine humaine.

### **1. Etudes rétrospectives sur l'hydatidose au Maroc**

Ramzi <sup>[150]</sup> rapporte qu'entre 1978 et 1979, 1 614 cas ont été opérés à travers tout le territoire marocain pour une population d'environ 1 915 2000 habitants, soit une incidence de 8,42 cas pour 100 000 habitants. La province de Meknès présente le taux le plus élevé avec 21,96 pour 100 000 habitants.

Une autre étude rétrospective <sup>[151]</sup> a été faite sur onze années (1970 à 1980) et conduite dans onze centres chirurgicaux (Casablanca, Rabat, Agadir, Beni Mellal, El Jadida, Fès, Khémisset, Marrakech, Meknès-Azrou, Oujda et Safi) pour déterminer l'incidence

chirurgicale de l'EK dans chaque centre. Cette étude a montré que l'incidence chirurgicale moyenne des kystes hydatiques opérés était de 6 cas chirurgicaux / 100 000 habitants / ans. Cette incidence chirurgicale est sous-estimée et doit être multipliée par 2 ou 3 pour s'approcher de la réalité épidémiologique <sup>[151]</sup>.

Les résultats de l'étude rétrospective menée sur les cas chirurgicaux entre 1980 et 1992 ont montré que l'incidence chirurgicale varie de 3,6 à 5,5 cas par 100 000 habitants par an <sup>[152]</sup>. Cette étude a montré également une augmentation de l'incidence de 3,6 en 1980 à 5,3 cas / 100 000 habitants en 1992. Ceci s'explique probablement par la sécheresse qui a touché le Maroc en 1982. Cette dernière a été responsable d'une mortalité importante des ruminants dont les cadavres ont été abandonnés aux chiens errants. De plus, cette période a été marquée par l'affectation croissante de chirurgiens dans les provinces éloignées et par l'introduction de l'échographie comme moyen de diagnostic <sup>[153]</sup> et par conséquent l'augmentation du nombre de cas diagnostiqués. Une dernière étude rétrospective et descriptive réalisée sur une période allant de 1980 à 2008 <sup>[4]</sup> a permis de recenser 23 512 cas d'EK enregistrés dans toutes les provinces au cours de la période d'étude. La répartition annuelle des cas d'EK répertoriés montre une augmentation annuelle croissante du nombre des cas et de leur incidence chirurgicale (3,6 et 5,2 pour 100 000 habitants en 1980 et en 2008 respectivement).

Une présence de l'EK sur tout le territoire marocain est constatée, avec une répartition inégale d'une région à l'autre.

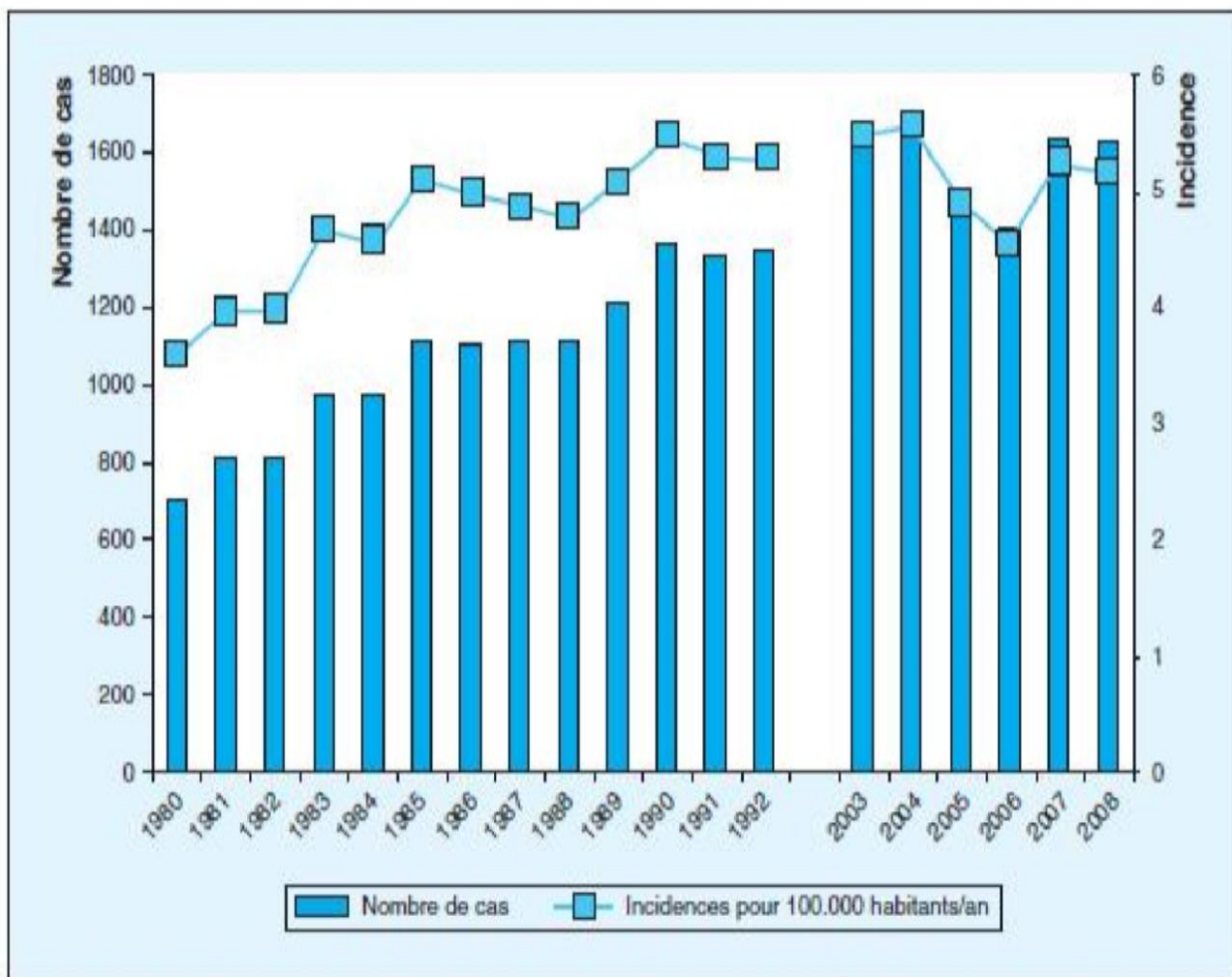


Figure 8 : Répartition du nombre de cas d'hydatidoses et de leurs incidences par année <sup>[4]</sup>

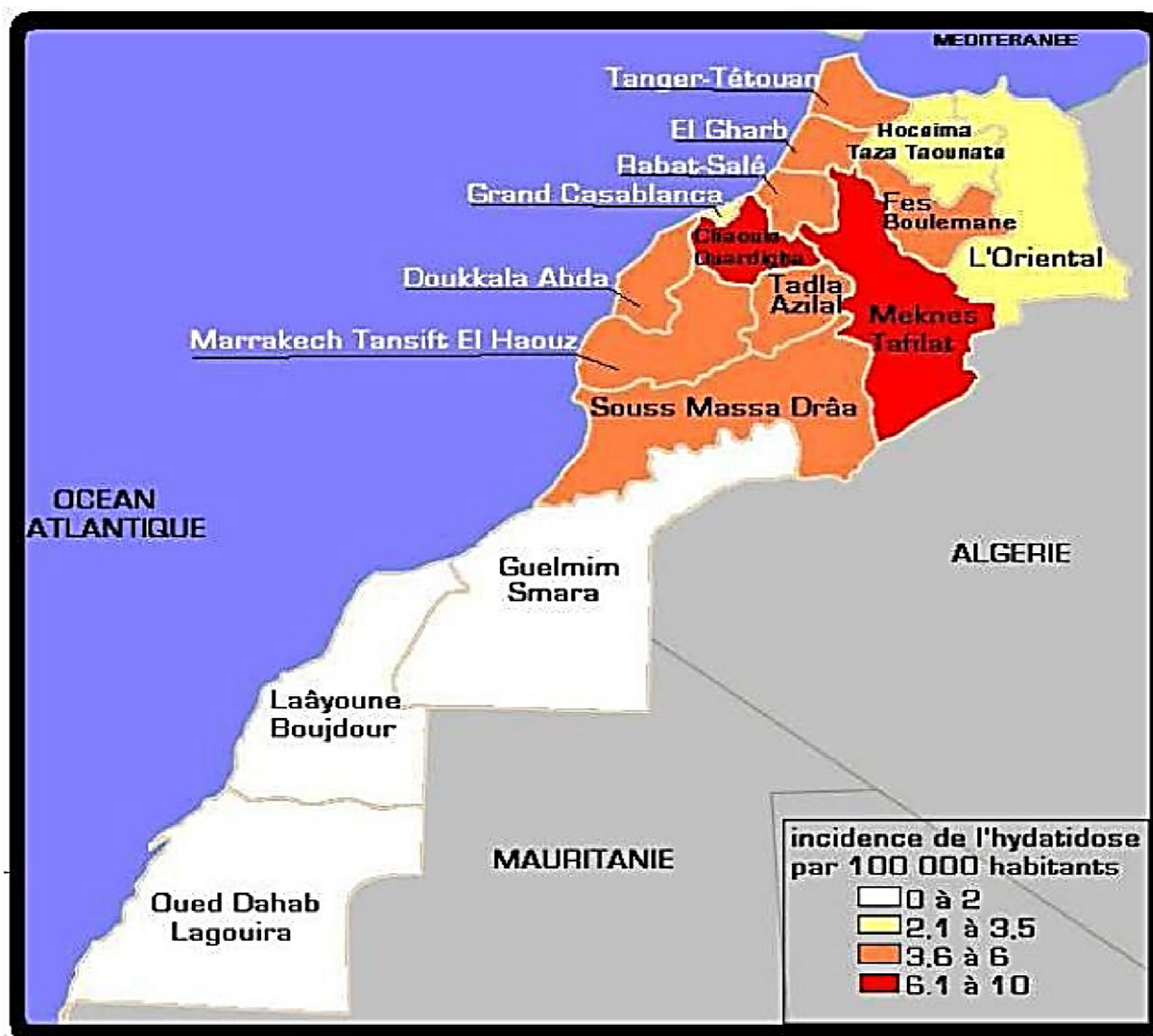


Figure 9 : Répartition géographique du kyste hydatique au Maroc selon les données épidémiologiques de 2006 <sup>[154]</sup>

**Tableau 2 : Répartition par région des cas d'Hydatidose opérés entre 1980 et 1992 dans les hôpitaux publics <sup>[154]</sup>**

Régions	Total	%	% cumul
Rabat-Salé-Zemmour-Zaers	1596	11,40	11,40
Meknès-Tafilalet	1593	11,40	22,80
Chaouia-Ouardigha	1233	8,82	31,62
Orientale	1110	7,94	39,56
Fès-Boulmane	1085	7,76	47,32
Grand Casablanca	982	7,02	54,34
Doukkala-Abda	892	6,38	60,72
Marrakech-Tensift-Al Haouz	846	6,05	66,77
Taza-Alhoceima-Taounate	843	6,03	72,80
Tanger-Tetouan	786	5,62	78,42
Tadla-Azilal	776	5,55	83,97
Gharb-Chrarda-Bni Hssen	743	5,31	89,28
Souss-Massa-Draa	740	5,29	94,57
Guelmim-Es smara	95	0,67	95,24
Laayoune-Boujdour-Sakia Lhamra	27	0,19	95,43
Oued Eddahab Lagouira	3	0,02	95,45
Non précisé	623	4,45	100,00
Ensemble	13 973(*)	100	

## 2. Enquêtes échographiques

Des enquêtes échographiques pour le dépistage du KH chez l'homme, ont été conduites dans les régions du Moyens Atlas (Khénifra, 2000 et Azrou, 2001) et une dans la région d'Ouarzazate (2003) <sup>[155]</sup>. Ces enquêtes avaient pour objectif la détermination de la prévalence de l'EK chez l'homme. Les résultats sont consignés dans le tableau 3.

**Tableau 3 : Résultats des trois enquêtes échographiques** <sup>[155]</sup>

Région	Nombre d'individus	Cas positifs	Prévalence (%)
Ouarzazate (2003)	9149	11	0,12
Moyen Atlas (2001-2002)	11612	126	1,10

## 3. Situation épidémiologique actuelle au Maroc

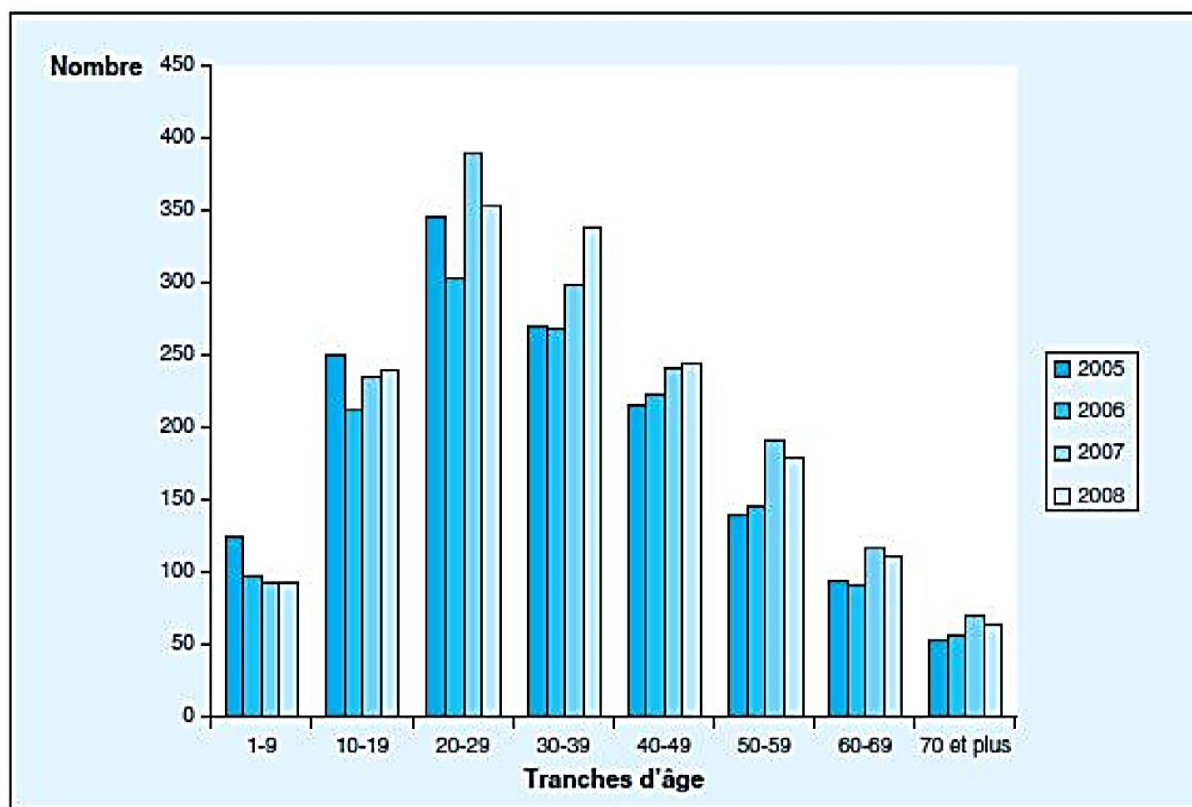
Dans les trois dernières décennies et malgré les efforts réalisés dans la lutte contre cette parasitose, l'incidence chirurgicale des cas de KH n'a pas diminué et la demeure un grand problème de santé publique au Maroc avec une importance variable selon les régions.

### a. Répartition des cas par province

Trois régions (Meknès-Tafilalet, Chaouia-Ouardigha et Doukala-Abda) enregistrent les incidences chirurgicales les plus élevées du royaume. En 2008, ces trois régions enregistrent à elles seules plus de 33 % du nombre des cas recensés, avec une incidence chirurgicale au cours de la même année qui varie entre un maximum de 11,9 pour 100 000 habitants à la région de Meknès-Tafilalet et un minimum de 2,2 pour 100 000 habitants dans la région de Guelmim-Essmara<sup>[4]</sup>.

### b. Répartition des cas selon l'âge des patients

Toutes les tranches d'âge sont touchées ; entre 1980 et 1992, 59,1 % des EK ont été diagnostiquées chez des patients de 15 à 49 ans, 5,7 % avant l'âge de 7 ans, 19 % entre 7 et 15 ans et 16,2 % chez des personnes de plus de 50 ans <sup>[4]</sup>. Entre 2005 et 2008, la tranche d'âge la plus touchée est celle de 20-29 ans (22,6 % des cas), suivie par la tranche d'âge de 30-39 ans (19,1 %) <sup>[4]</sup>.



**Figure 10 : Répartition des cas de kystes hydatiques selon les tranches d'âge (en années) durant la période 2005-2008 <sup>[4]</sup>**

### c. Répartition selon le sexe

Une prédominance de l'EK chez les malades issus du milieu rural est notée, avec une nette prédominance du sexe féminin (sex-ratio H/F = 0,66) <sup>[4]</sup>. Les femmes sont plus exposées à la maladie en raison de la nature de leur activité et de leur contact presque permanent avec le chien <sup>[4]</sup>.

**Tableau 4 : Répartition de l'Hydatidose au Maroc en fonction du sexe <sup>[4]</sup>**

Année(s)		1980-1992	2003	2004	2005	2006	2007	2008	Total
Masculin	Nombre	5957	544	645	562	498	607	573	9386
	%	42,6	32,8	37,8	38,0	35,0	37,0	35,0	39,9
Féminin	Nombre	8016	1115	1089	933	905	1034	1054	14146
	%	57,4	67,2	62,2	62,0	65,0	63,0	65,0	60,1

### d. Répartition selon l'organe touché

Le foie est l'organe le plus touché suivi par la localisation pulmonaire, les atteintes des autres organes sont plus rares. Durant la période 1980-1992, la radiographie a été le moyen de diagnostic le plus utilisé (40,0 %) <sup>[4]</sup>. Les résultats à partir de 2003 montrent que l'échographie est devenue le moyen le plus utilisé. En effet, en 2008, elle représente à elle seule 81,0 % des moyens de diagnostic <sup>[4]</sup>.

### **e. Souches d'*Echinococcus granulosus* au Maroc**

Le génotype dominant au Maroc au niveau du réservoir animal est de type G1<sup>[3]</sup>. En effet, une étude réalisée en 2007 sur 267 isolats du métacestode d'EG obtenus à partir de bovins, ovins et camélidés, a permis de montrer que les différents hôtes, dans les différentes régions d'étude hébergent un génotypes G1<sup>[3]</sup>. Ces données suggèrent selon toute vraisemblance, l'existence du même génotype dominant chez l'homme, et pourraient expliquer en partie la forte endémicité d'EK humaine au Maroc. En effet l'existence d'un tel réservoir animal, où domine la souche ovine hautement infectieuse pour l'homme, contribuerait à une prévalence élevée chez les humains.

Une autre étude réalisée en 2015<sup>[3]</sup>, a analysé 116 prélèvements de KH provenant de bovins, ovins et caprins. Les résultats ont prouvé l'existence de la souche G2 (1,7%) et G3 (2,6%), en plus de la souche G1 (91,4%) largement dominante.

L'association du génotype G1 avec le G2 ou avec le G3 a été observée dans 2,6% et 1,7% des cas respectivement.

Ces deux études indiquent l'existence du complexe *EG s.s* (G1, G3) dans le réservoir animal marocain.

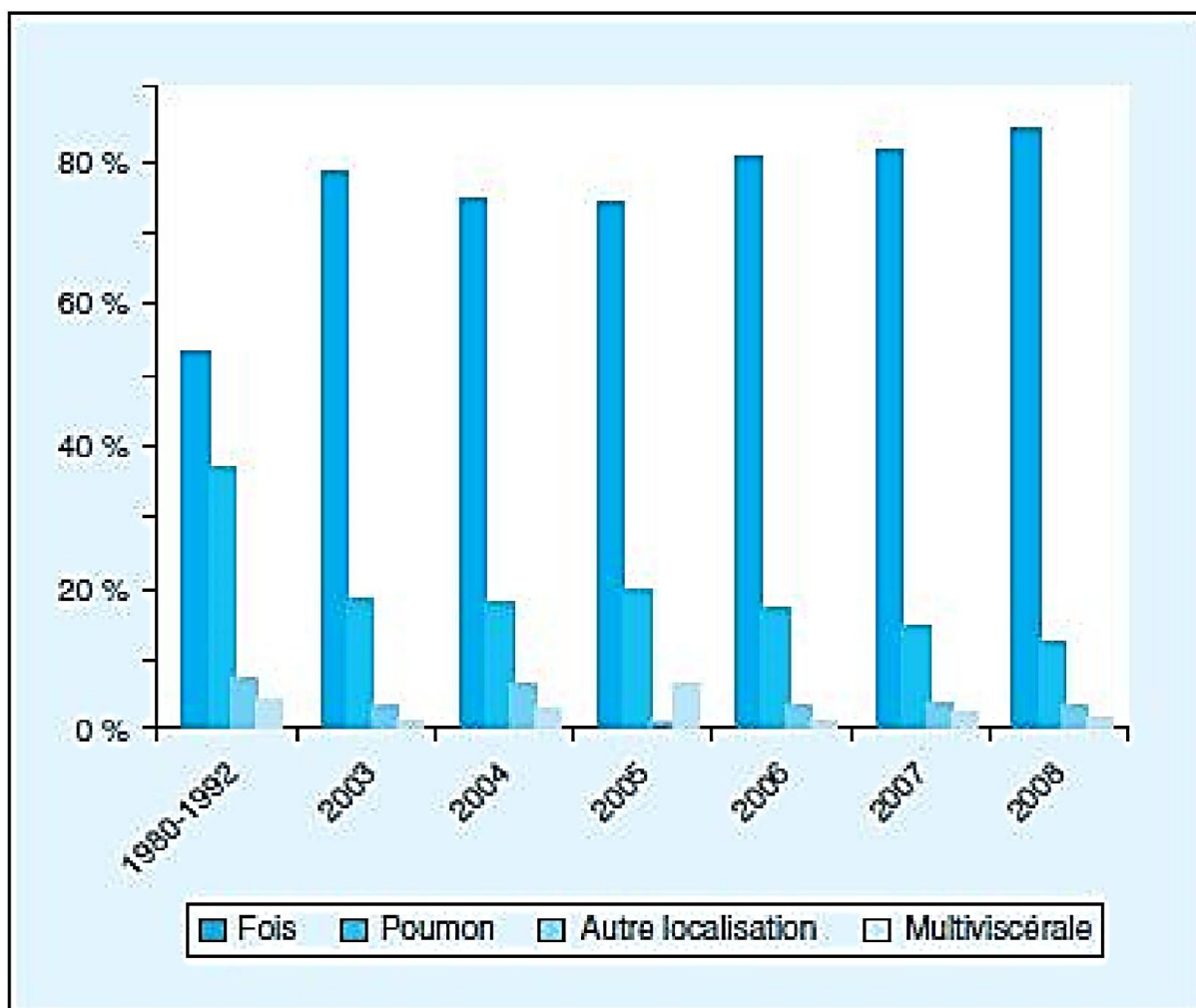


Figure 11 : Répartition de l'hydatidose en fonction de la localisation <sup>[4]</sup>

## VI. METHODES DIAGNOSTIQUES

### A. Diagnostic

#### 1. Kyste hydatique du foie

Au niveau du foie, l'embryon se vacuolise et présente une vésiculation centrale qui, en se développant, forme l'hydatide ou KH proprement dit. Aucun signe clinique n'est pathognomonique, et une infestation dès l'enfance peut n'avoir d'expression clinique qu'à l'âge adulte et la découverte du kyste hydatique est souvent fortuite au cours d'une échographie. Il peut s'agir aussi d'examen de dépistage dans une zone endémique ou lors des complications.

On en distingue :

- **Les formes habituelles simples et non compliquées** qui sont tumorales, et dont les signes cliniques apparaissent progressivement avec l'augmentation du volume du kyste. Les plaintes fonctionnelles peuvent se résumer à une dyspepsie, une douleur de l'hypocondre droit, souvent sous forme de pesanteur. Dans cette forme (65,0% des cas), l'hépatomégalie est l'expression clinique habituelle <sup>[156]</sup>.

- **Les formes compliquées** qui peuvent être révélatrices de la maladie. Elles peuvent être dues à :

➤ Une infection qui est la complication la plus fréquente et qui peut être peu symptomatique. Dans les formes mineures, elle est caractérisée par des douleurs épigastriques ou basi-thoraciques peu intenses avec parfois des accès fébriles. Un tableau de suppuration de l'hypocondre droit, voire un état de choc septique peuvent se voir dans les formes graves <sup>[157, 158]</sup>. Une fistulisation dans voies biliaires qui peut se manifester par une angiocholite aiguë dans 2/3 des cas. Mais la symptomatologie peut être atypique avec simplement de la fièvre ou un prurit.

➤ Une compression qui, dans la plupart des cas est modérée et bien tolérée. Cependant elle peut entraîner parfois des manifestations de gravité variée. Les kystes centraux à développement postérieur peuvent entraîner une compression de la veine cave inférieure. Les kystes à développement postéro-supérieur peuvent comprimer les veines sus-hépatiques et être à l'origine d'un syndrome de Budd-Chiari. Les kystes comprimant le hile du foie peuvent être à l'origine d'un ictère par rétention et des poussées d'angiocholite ainsi que d'une hypertension portale <sup>[157-159]</sup>.

- Une ouverture dans le thorax qui peut être à l'origine d'installation brutale et évoquer la sémiologie d'un épanchement pleural, par une douleur basi thoracique et une dyspnée. Une symptomatologie de broncho-pneumopathie suppurée non spécifique, une toux, des expectorations purulentes sont présentes dans 8,0 à 60,0 % des cas <sup>[157,160]</sup>.



**Figure 12 : Kyste hydatique du foie <sup>[161]</sup>**

## 2. Kyste hydatique du poumon

La localisation pulmonaire du KH vient au deuxième rang des localisations viscérales après la localisation hépatique.

Le KH est primitif dans la majorité des cas, que l'embryon hexacanthé force le barrage hépatique ou qu'il emprunte des shunts porto-cave ou le canal thoracique à partir des chylifères intestinaux pour gagner directement le poumon. Il est rarement secondaire à la rupture d'un KH du foie dans le poumon ou dans les vaisseaux pulmonaires à travers le diaphragme et il peut être exceptionnellement secondaire à l'ensemencement par voie endobronchique d'un KH fertile rompu.

Le KH est unique dans plus des deux tiers des cas, il siège de préférence dans le lobe inférieur droit.

Quoiqu'ils ne soient pas asymptomatiques, au moins 30,0% des kystes sont découverts fortuitement à l'examen radiologique.

Les signes cliniques ne sont pas spécifiques mais peuvent en l'occurrence attirer l'attention vers le poumon : douleurs thoraciques, toux sèches, et surtout hémoptysies répétées, et si le kyste est volumineux, l'examen peut révéler une matité, une diminution des murmures vésiculaires et des vibrations vocales.

En l'absence d'une intervention curative, le kyste hydatique peut évoluer soit vers la fissuration avec comme principal symptôme l'hémoptysie qui peut s'accompagner de dyspnée, d'une recrudescence de la toux qui ramène une expectoration banale ou déjà purulente.

L'altération de l'état général est un signe évocateur dans 10,0% des cas, soit vers la rupture du kyste. Celle-ci peut survenir suite à un traumatisme thoracique ou un violent effort de toux qui fait rejeter une importante quantité de liquide au goût salé et de débris parasitaires comparés à des « peaux de raisins sucées » par la bouche et les narines.

Dans le cas où la vomique est totale ceci peut entraîner une asphyxie parfois mortelle par inondation bronchique.

La rupture du kyste peut avoir lieu plus rarement dans les plèvres mais réalise un tableau dramatique, par inondation pleurale ou pneumothorax avec dyspnée intense, toux quinteuse, voir état de choc.

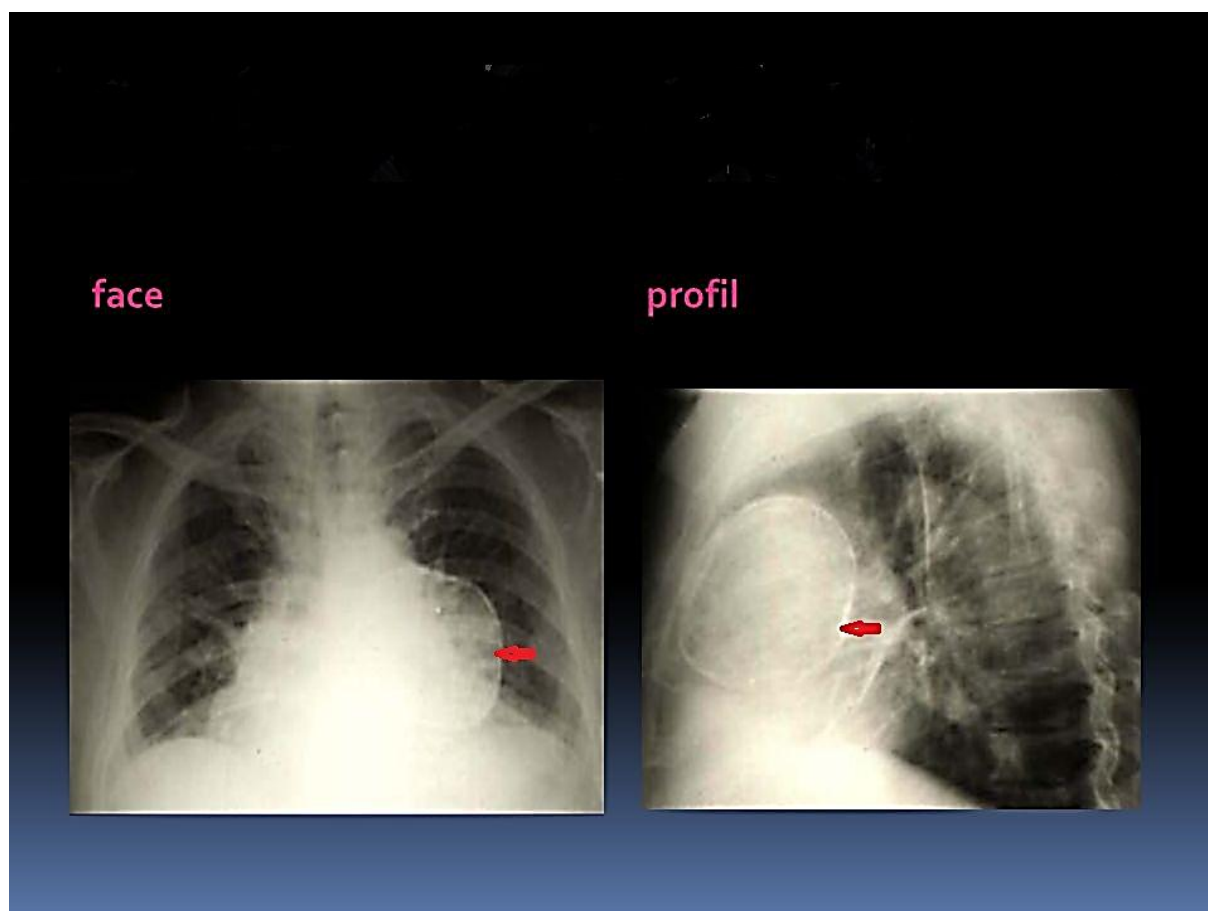


Figure 13 : Hydatidose pulmonaire <sup>[161]</sup>

### 3. Autres localisations du kyste hydatique

L'EK peut toucher plusieurs organes : cœur, os, cerveau, muscles, rein, rate.

➤ **L'Hydatidose cardiaque** représente 3,0% de l'ensemble des localisations hydatiques. Le kyste est de siège sous-péricardique ou sous-endocardique, surtout au niveau de la paroi ventriculaire gauche. Les risques sont la rupture dans les cavités cardiaques et la dissémination ou la rupture dans le péricarde entraînant une tamponnade. Des décès par choc anaphylactique ou par hypertension artérielle pulmonaire ont été décrits.

➤ **L'Hydatidose cérébrale** siège au niveau des hémisphères cérébraux rarement dans la fosse postérieure. Elle cause des épilepsies ou une hypertension intracrânienne qui surviennent pour de petites lésions.

➤ **La localisation osseuse** est rare mais grave, car il n'y a pas d'adventice dans les KH osseux. De ce fait, le parasite peut émettre des prolongements dans toutes les directions qui peuvent rompre la corticale et atteindre les parties molles en provoquant des fractures spontanées ou une tuméfaction osseuse <sup>[160]</sup>. Par ailleurs, le KH des vertèbres est responsable de l'atteinte du canal médullaire avec risque de compression médullaires et des racines nerveuses. Il peut être révélé par des douleurs, des déformations rachidiennes, des tuméfactions des parties molles, des fractures, des paraplégies. L'atteinte vertébrale est une localisation de mauvais pronostic, l'exérèse chirurgicale est souvent incomplète : c'est une maladie « maligne » <sup>[163]</sup>.

➤ **L'Hydatidose musculaire** est souvent isolée, mais le diagnostic est difficile et, la plupart des cas sont affirmés par l'analyse de la pièce d'exérèse <sup>[164,165]</sup>. Les muscles proximaux des membres inférieurs sont le plus fréquemment touchés.

D'autres localisations sont possibles mais plus rares : péritoine, rein, rate, parties molles sous-cutanées, thyroïde, pancréas, et plus exceptionnellement le diaphragme, le sein, la langue ou encore le thymus. Ces localisations inhabituelles ne représentent que 1,0% des cas.

## **B. Diagnostic échographique**

Les progrès de l'imagerie médicale ont beaucoup facilité le diagnostic du KH du foie ainsi que de ses complications.

C'est la méthode de choix pour le diagnostic d'EK hépatique. Elle permet le diagnostic dans 9 cas sur 10, en précisant le siège, le contenu des kystes, leur nombre et les rapports vasculaires et biliaires intra-hépatiques. La classification la plus utilisée est celle de Gharbi (Tableau 5) <sup>[166]</sup>.

L'échographie permet le diagnostic de manière quasi-pathognomonique dans les stades II et III.

Le type V est également évocateur mais en revanche les types I et IV peuvent poser de réels problèmes de diagnostic différentiel. L'échographie peut aussi apporter des signes en faveur d'une complication biliaire en montrant une dilatation des voies biliaires avec parfois des images hyperéchogènes correspondant à des vésicules ou des membranes hydatiques à l'intérieur des voies biliaires. L'interruption de la continuité diaphragmatique, au contact d'un kyste témoigne de son ouverture dans le thorax.

L'écho-doppler permet d'évaluer les rapports du kyste hydatique avec les axes vasculaires (veine porte, veines sus-hépatiques, veine cave inférieure) <sup>[156]</sup>.

Dans notre étude nous avons adopté la classification de l'OMS (tableau 6). La correspondance entre la classification de Gharbi et celle de l'OMS est réalisée dans le tableau 7.

**Tableau 5 : Classification des kystes hydatique du foie selon Gharbi <sup>[166]</sup>**

Type	Caractéristiques
<b>Type I</b>	Formation liquidienne pure, de forme arrondie, trans-sonore, anéchogène : kyste univésiculaire.
<b>Type II</b>	Même aspect, plus un dédoublement de la membrane.
<b>Type III</b>	Formation liquidienne cloisonnée avec de multiples échos en forme de cercle, correspondant aux parois de vésicules filles, aspect en nid d'abeille : kyste multi vésiculaire.
<b>Type IV</b>	Formation hétérogène, avec des plages anéchogène et échogène, aspect pseudo-tumoral.
<b>Type V</b>	Formation hyperéchogène à antérieur visible, fortement échogène avec ombre acoustique postérieure : kyste calcifié partiellement ou totalement.

**Tableau 6 : Classification des kystes hydatique du foie selon l'OMS [169]**

Type	Caractéristiques
CL	Univésiculaire, lésion (s) Kystique (CL) avec un contenu anéchogène uniforme, non délimité clairement par un bord hyperéchogène (= paroi du kyste non visible) Forme : normalement ronde mais peut être ovale Taille variable : mais généralement petite. CL (p): < 5.0 cm, CL (m): 5-10 cm, CL (g) > 10 cm.
CE1	Univésiculaire, kyste simple avec un contenu anéchogène uniforme. Kyste peut présenter un fin écho du au déplacement de la nichée de capsules qui est souvent appelée sable hydatique ('signe de flocon de neige') Paroi du kyste visible Forme : normalement ronde ou ovale Taille variable : Type CE1 (p): < 5.0 cm, Type CE1 (m) : 5-10 cm, CE1 (g) : > 10 cm
CE2	Multivésiculaires, kystes multicloisonnés, les cloisons du kyste produisent une structure 'wheel-like', et la présence de vésicules filles est indiquée par des structures d'aspect 'rosette' ou 'nid d'abeille'. Les vésicules filles peuvent occuper partiellement ou complètement la vésicule du kyste mère. Paroi du kyste visible normalement Forme : normalement ronde ou ovale Taille variable : Type CE2 (p): < 5.0 cm, Type CE2 (m) : 5-10 cm, CE2 (g) : > 10 cm
CE3	Kyste univésiculaire qui peut contenir des vésicules filles Contenu anéchogène avec détachement d'une membrane laminée de la paroi du kyste visible comme membrane flottante ou comme 'water-lily sign' qui est indicatif des membranes flottantes en dessus des débris du liquide kystique. Forme du kyste moins ronde à cause de la réduction de la pression intra kystique Taille variable : Type CE3 (p): < 5.0 cm, Type CE3 (m) : 5-10 cm, CE3 (g) : > 10 cm
CE4	Contenu dégénératif, hétérogène, hypoéchogène ou hyperéchogène. Pas de vésicules filles Peut montrer une 'pelote de laine' signe qui indique des membranes dégénératives Taille variable : Type CE4 (p): < 5.0 cm, Type CE4 (m) : 5-10 cm, CE4 (g) : > 10 cm
CE5	Kystes caractérisés par une paroi épaisse calcifiée qui est en forme d'arc, produisant un cône d'ombre. Degré de calcification varie de partielle à complète Taille variable : Type CE5 (p): < 5.0 cm, Type CE5 (m) : 5-10 cm, CE5 (g) : > 10 cm

**Tableau 7 : Correspondance entre classification de Gharbi et celle de l'OMS [167]**

Classification Gharbi	Classification OMS
-	CL
Type I	CE1
Type II	CE2
Type III	CE3
Type IV	CE4
Type V	CE5

## VII. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE

Le traitement de l'EK a connu de véritables progrès dominés par les nouveaux protocoles permettant alors une meilleure prise en charge de cette affection.

### A. Chirurgie

Le traitement du KH est connu depuis bien longtemps et a donné à la chirurgie la place d'honneur. Elle a le potentiel d'éliminer les KH et conduire à une guérison complète. Cette technique ne concerne que les patients en bonne condition physique et porteurs de kystes uniques, de taille suffisante, en surface de l'organe avec abord chirurgical facile.

Cependant, il existe toujours un risque de rupture du kyste au cours de la chirurgie <sup>[168]</sup>.

La chirurgie doit répondre à trois objectifs :

- La stérilisation et ablation du parasite, premier temps commun à toutes les techniques ;
- La suppression de la cavité résiduelle qui est partielle avec les méthodes conservatrices et complète avec les méthodes radicales ;
- Et l'identification, traitement des fistules biliaires et contrôle de la vacuité de la voie biliaire principale.

L'intervention chirurgicale est indiquée chez les sujets ayant :

- De grands kystes hépatiques avec de multiples kystes filles ;
- Des kystes hépatiques simples, situés en surface pouvant se rompre spontanément ou suite d'un traumatisme ;
- Des kystes infectés ;
- Des kystes communiquant avec l'arbre biliaire et/ ou exerçant une pression sur les organes vitaux adjacents ;
- Des kystes dans les poumons, le cerveau et les reins, les os et d'autres organes.

Elle est contre indiquée chez les sujets âgés, les femmes enceintes, les patients souffrants de maladies graves et chez les patients ayant une multikystose, des kystes d'accès difficile, des kystes partiellement ou totalement calcifiés et enfin de très petits kystes <sup>[169]</sup>.

Le traitement préopératoire avec BZD a été rapporté pour adoucir les kystes et réduire la pression intra kystique, permettant au chirurgien de retirer le kyste plus facilement. Cependant, ni la durée requise d'un tel traitement, ni son efficacité n'a été déterminée de manière adéquate.

Enfin, et, malgré les progrès des techniques chirurgicales, l'échinococcose secondaire peut se produire suite au déversement du liquide parasitaire lors de l'intervention. De plus, la récurrence peut être due à une élimination incomplète du kyste ou à des kystes non détectés auparavant <sup>[169]</sup>.

## **B. Traitement percutané**

[Ponction-Aspiration-Injection-Réaspiration]

La PAIR, nouvelle technique développée au milieu des années 80 <sup>[170]</sup>, s'effectue sous guidage échographique et comprend les étapes suivantes :

- **La Ponction** du kyste sous le guidage des ultrasons
- **L'Aspiration** d'une quantité importante du liquide des kystes
- **L'Injection** d'un produit scolicide (de préférence de 95% d'éthanol)
- **La Réaspiration** du contenu liquide de kystes après 15 min à 20 min.

La PAIR est indiquée chez les patients inopérables (ou chez qui la chirurgie est contre indiquée) et ceux qui refusent la chirurgie. Elle est utilisée dans le traitement de KH du foie, de la cavité abdominale, la rate, les reins et les os, mais ne doit pas être utilisée pour les kystes pulmonaires <sup>[171,172]</sup>.

Cette technique est contre indiquée dans le cas :

- D'un kyste hépatique inaccessible
- D'un kyste avec plusieurs divisions du septum (kystes en nid d'abeille) ;
- D'un kyste avec des motifs solides hyperéchogènes ou des kystes calcifiés ;
- D'un kyste communiquant avec des conduits biliaires ;
- D'un kyste pulmonaire.

Une chimiothérapie péri-interventionnelle avec BZD est fortement recommandée pendant quatre jours avant PAIR et au moins pendant un mois (ABZ) ou 3 mois (MBZ) après le geste percutané<sup>[171,172]</sup>.

La PAIR est une méthode moins invasive, moins traumatisante, moins coûteuse que la chirurgie classique et permet de traiter des malades jusque-là jugés inopérables<sup>[168]</sup>.

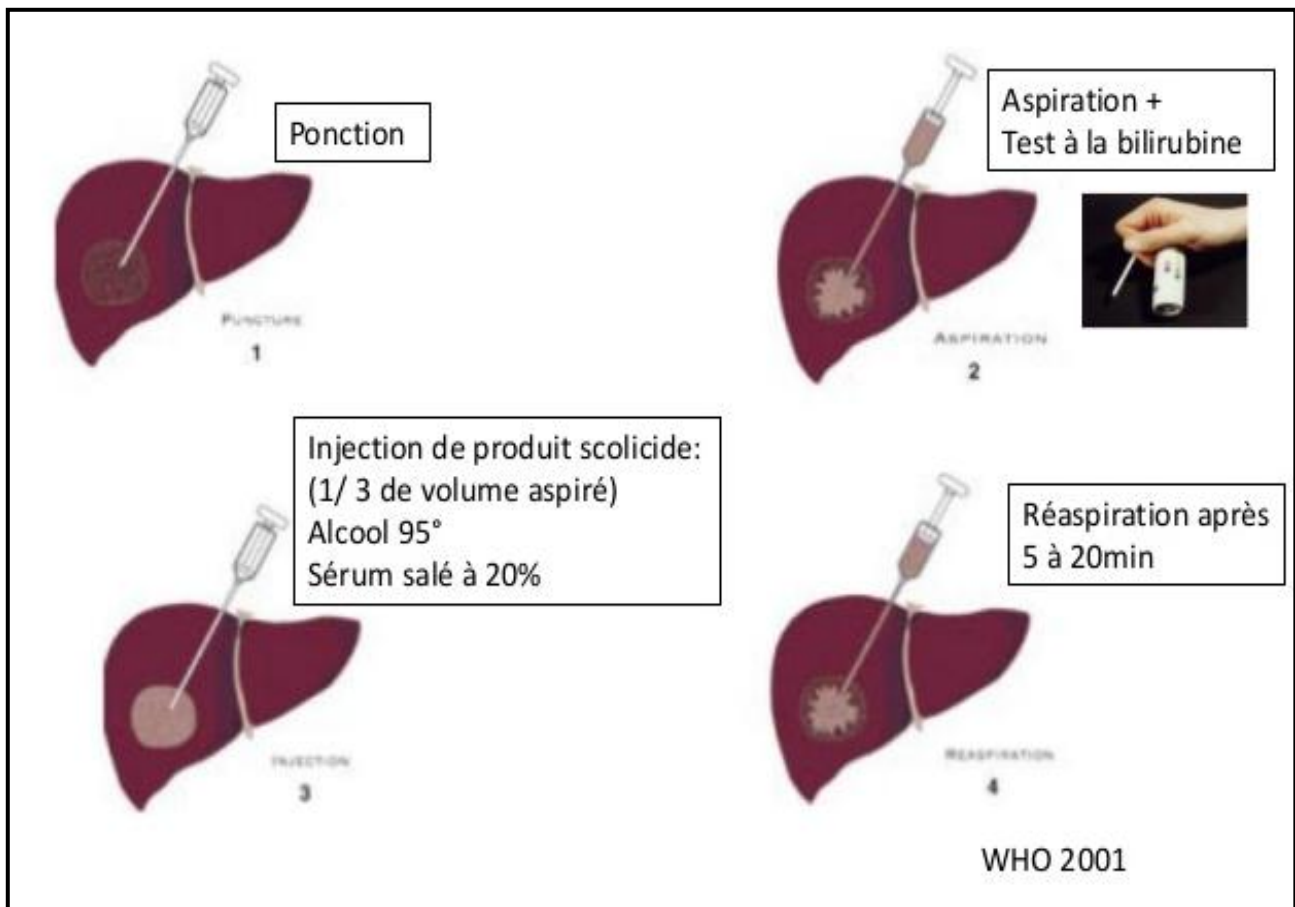


Figure 14 : Les différentes étapes de la PAIR<sup>[169]</sup>

## C. Traitement médical

Les dérivés Benzimidazolés sont des composés organiques de synthèse, de structure homogène formée d'un benzène et d'un imidazole en plus des substituants (Figure 15, 16,17).

### 1. Mécanisme d'action

Les dérivés BZD agissent en inhibant l'absorption de glucose des nématodes intestinaux mais aussi des cestodes et leurs larves intra-tissulaires ; ce qui entraîne une baisse du glycogène endogène, qui elle-même provoque une chute de l'ATP indispensable à la vie et à la reproduction du parasite. Il y a blocage des fonctions tubulaires (inhibition de la polymérisation) qui conduit à une désorganisation cellulaire et lyse.

### 2. Pharmacocinétique

La résorption digestive des dérivés BZD est faible et la majeure partie (80,0%) de la dose ingérée est éliminée avec les selles sous forme inchangée, tandis que l'élimination urinaire est très faible.

Deux BZD ont été largement évalués, et ont montré une efficacité certaine contre KH, avec une bonne tolérance générale :

- Le Mébendazole, **Vermox®** comprimés à 500 mg ;
- L'Albendazole, **Zentel®**, comprimés à 400 mg et suspension à 4% <sup>[172]</sup>.

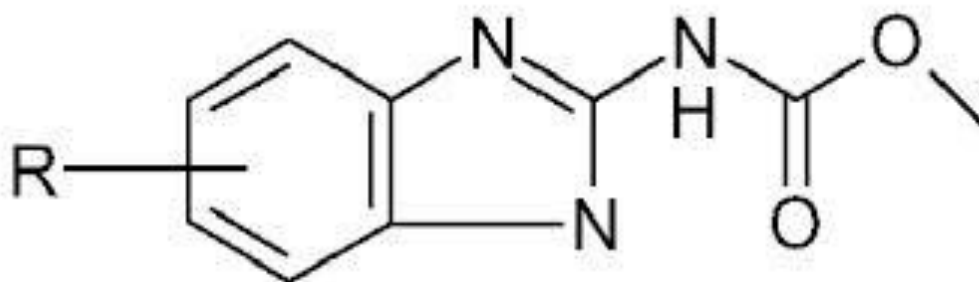


Figure 15 : Structure de dérivé Benzimidazole

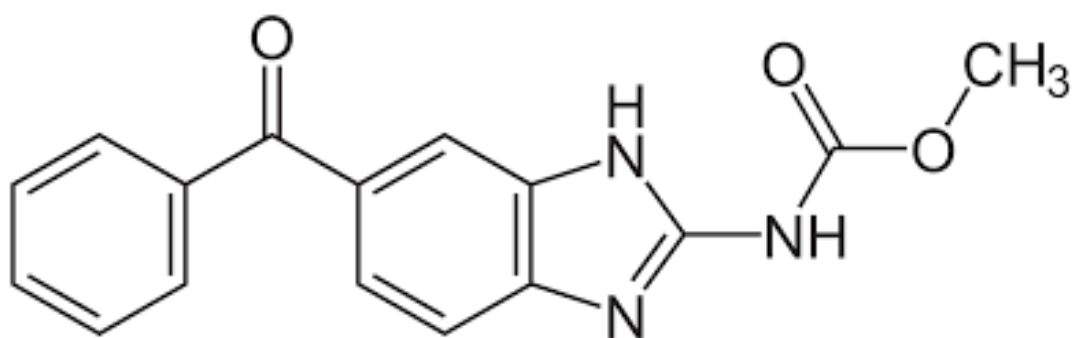


Figure 16 : Structure du Mébendazole

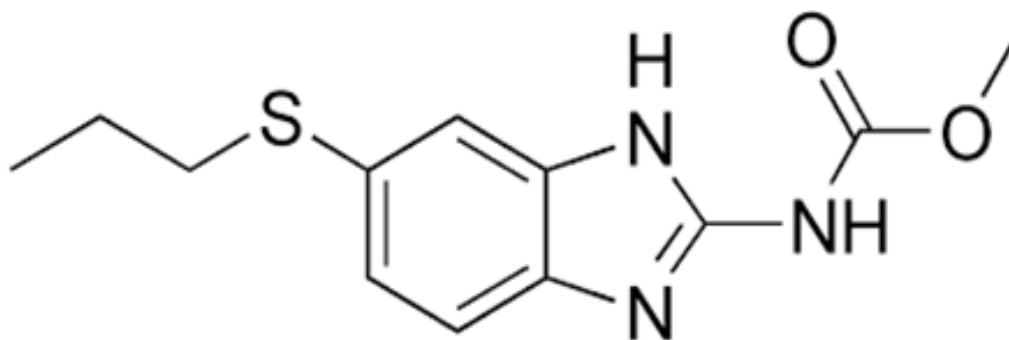


Figure 17 : Structure de l'Albendazole

### **3. Indications**

Le traitement médical aux dérivés BZD est indiqué :

- Chez les patients inopérables avec EK primitive du foie.
- Chez les patients avec de multiples kystes dans deux ou plusieurs organes.
- Dans la prévention de l'EK secondaire.

L'utilisation pré-chirurgicale de Benzimidazoles (ABZ ou MBZ) peut réduire le risque de récurrence du KH et /ou faciliter l'opération par la réduction de la pression intra-kystique.

Les dérivés BZD sont également recommandés pour la PAIR en péri-interventionnelle.

### **4. Contre-indications**

La chimiothérapie est contre-indiquée :

- Chez les patients atteints de maladies hépatiques chroniques graves et de dépression de la moelle osseuse ;
- En cas d'une grossesse précoce ;
- En cas de grands kystes avec un risque de rupture (notamment superficiellement situé, kystes infecté) ;
- En cas de kystes inactifs ou calcifiées.

### **5. Effets indésirables**

Les effets secondaires sont importants et parfois grave. Ils comprennent :

- La neutropénie,
- La protéinurie,
- L'hépatotoxicité modérée (augmentation transitoire des transaminases),
- Des troubles gastro-intestinaux,
- L'alopécie transitoire,

Les risques potentiels de BZD sont l'embryotoxicité et tératogénicité qui, cependant, n'ont été observées chez certains animaux de laboratoire que durant les premiers stades de la grossesse<sup>[173]</sup>.

Les doses recommandées pour le traitement du KH sont :

- **ABZ** : 10-15 mg / kg de poids corporel et par jour en deux doses fractionnées postprandiale.

Dans la pratique, les adultes reçoivent 800 mg / jour en deux doses uniques de 400 mg chacune par cures de 28 jours <sup>[174]</sup>.

La durée du traitement est habituellement fixée entre 3 et 6 mois par cure de 28 jours, entrecoupée d'une semaine libre pour des raisons de toxicité, bien que certains auteurs aient montré qu'un traitement continu n'augmentait pas le risque toxique et que l'efficacité pouvait même être supérieure.

- **MBZ** : la dose habituelle est de 40-50mg / kg de poids corporel par jour en trois doses fractionnées pendant au moins 3-6 mois.

Les niveaux sériques des médicaments peuvent largement varier chez les patients, et il n'y a pas de corrélation entre les doses orales et l'efficacité du médicament. La prise du médicament avec un repas gras améliorerait l'absorption intestinale des BZD <sup>[174, 175]</sup>.

## **VIII. MESURES DE PROPHILAXIE** <sup>[167]</sup>

### **A. Mesures individuelles**

Les mesures de prophylaxie individuelles sont du ressort de chaque individu pour assurer sa propre protection mais aussi celle de sa famille. Elles peuvent se résumer comme suit :

- Eviter le contact étroit avec des chiens errants ;
- Eviter d'être léché par un chien aux mains ou au visage ;
- Faire surveiller les chiens domestiques par des vétérinaires pour des traitements vermifuges ;
- Ne jamais oublier de bien se laver les mains après un contact avec un chien ;
- Apprendre surtout aux enfants à se laver systématiquement les mains après avoir joué avec des chiens ou touché des ustensiles ou autres objets souillés par des chiens ;
- Laver soigneusement avec eau javellisée les légumes destinés à être mangés crus (3 à 5 gouttes par litre d'eau) ;
- Détruire les viscères infestés de ténia échinocoque ;
- Empêcher les chiens de se nourrir des viscères infestés par le ténia échinocoque ;
- Ecarter les chiens des habitations et des potagers ;
- Eviter que les chiens ne lèchent les assiettes et les plats.

### **B. Mesures collectives**

Ces mesures visent avant tout à interrompre le cycle entre l'HD et les HI.

Il s'agit de tous les aspects liés à la lutte contre les chiens errants ainsi que le contrôle de l'abattage du bétail pour la consommation de viandes.

Les principales mesures sont :

- L'amélioration des conditions d'abattage réglementé (abattoirs et tueries en milieu rural) ;

- Renforcement du contrôle vétérinaire des viandes en milieu rural ;
- lutte contre l'abattage clandestin ;
- L'interdiction aux chiens d'accéder aux abattoirs ;
- La lutte contre les chiens errants ;
- L'élimination des organes infestés selon les techniques recommandées pour empêcher les chiens ou les animaux sauvages de les manger ;
- Soumission de tous les chiens domestiques à un traitement vermifuge, au praziquantel, tous les six mois et ne pas leur donner à manger de la viande crue ni leur laisser manger les déchets provenant d'animaux tués pour leur viande ;
- Renforcement de l'arsenal juridique, réglementant les lieux et conditions d'abattage et de contrôle sanitaire.

# **DEUXIEME PARTIE**

# **CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES**

Notre étude est une étude descriptive transversale de prévalence. C'est une enquête de dépistage de masse du KH abdominal, qui s'inscrit dans le cadre du projet de recherche qui s'intitule « Prise en charge clinique de l'Hydatidose au Maroc ».

L'étude s'est déroulée sur une période de 18 mois (du 1<sup>er</sup> Septembre 2013 au 28 Février 2015). Quatre missions ont été organisées au niveau des deux communes de Timahdit et d'Ain Leuh relevant de la province d'Ifrane et des deux communes de Bouderbala et de Sebt Jahjouh de la province d'El Hajeb, 2 par province, de 3 jours chacune (Jeudi, Vendredi et Samedi).

## **I. CARACTERISTIQUES GEOGRAPHIQUES ET DEMOGRAPHIQUES DES DEUX REGIONS DE L'ETUDE**

### **A. Présentation générale des deux provinces**

#### **1. La province d'Ifrane**

La province d'Ifrane fait partie du deuxième grand massif montagneux du pays, le Moyen Atlas, plus précisément la sous-région appelée Moyen Atlas central. Elle est limitée :

- Au Nord par les provinces de Sefrou et d'El Hajeb,
- Au Sud et à l'Ouest par la province de Khénifra et
- A l'Est par la province de Boulemane.

Administrativement, la province d'Ifrane est composée de :

- 2 cercles : Ifrane et Azrou
- 5 caïdats : Tizguite, Dayet Aoua, Ain Leuh, Timahdit et Irklawen
- 8 communes rurales : Tizguite, Dayet Aoua, Ain Leuh, Sidi El Mekhfi, Timahdit, Tigrigra, Ben Smim et Oued Ifrane
- 32 machyakhats (dont 8 urbaines)

La province est une subdivision à dominante rurale de la région de Meknès- Tafilalet. Elle couvre une superficie totale de 355 000 ha avec une population de 145 000 habitants dont 76 000 dans le milieu urbain et 69 000 dans le milieu rural (2006) <sup>[176]</sup>. Les communes rurales d'Ain Louh et Timahdit dans la province d'Ifrane sont situées à une altitude de 1300 et 1900m a.s.l. Et se trouvent respectivement à 23,7 km et 34 km de la ville la plus proche. Leur population est de 9669 et 10945 habitants, respectivement (données du Haut-Commissariat au Plan, Maroc, 2014).

Selon les données officielles du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche du Maroc, en 2014 la province d'Ifrane comptait 900.000 ovins principalement de la race Timahdit, avec une prévalence de l'infection CE de 12,2% l'élevage occupe une place prépondérante dans la province d'Ifrane. Trois communes rurales (Timahdit, Sidi El Mokhfi et Aïn Leuh) regroupent plus de la moitié des ovins <sup>[177]</sup>.



**Figure 18 : Carte montrant la province d'Ifrane**



**Figure 19 : Commune de Timahdit**



**Figure 20 : Commune d'Aïn Leuh**

## 2. La province d'El Hajeb

La province d'El Hajeb est située au cœur de la région Meknès-Tafilalet, et en partie dans ce qu'on appelle le bassin Fès- Meknès, lui-même faisant partie de couloir sud-rifain, cette province se caractérise par un climat semi continental de type méditerranéen, dont les hivers sont frais et pluvieux et les étés chauds et secs.

Elle est limitée :

- Au nord par les Préfectures Meknès Al Ismailia et El Menzeh
- Au Sud par la province d'Ifrane
- A l'Est par la Wilaya de Fès
- A l'Ouest par la province de Khémisset

Sur le plan administratif la province d'El Hajeb compte :

- 3 Cercles : EL Hajeb, Agourai et Ain Taoujdate
- 4 Pachaliks : El Hajeb, Agourai, Ain Taoujdate et Sebaa Aioune
- 5 Caïdats : Dir, Laqsir, Ait Boubidmane, Sebt Jahjough et Ait Yaazem
- 3 Arrondissements Urbains : Ain Sihand, Ain Khadem Akachmir et Ain Khadem Bouzoutina
- 16 Communes : 4 Urbaines et 12 Rurales.

La province compte près 222 000 habitants dont 97 000 en milieu urbain et 125 000 en milieu rural sur une superficie de 2 209 Km<sup>2</sup>. Les communes rurales de Bouderbala et Sebt Jehjough dans la province d'El Hajeb sont situées à une altitude inférieure, entre 760 et 1000m a.s.l. Ils sont situés à 16 km et 15 km respectivement de la ville la plus proche, avec une population de 7907 et 7485 habitants respectivement (données du Haut-Commissariat au Plan, Maroc, 2014).

Selon les données officielles du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche du Maroc, en 2014 la province d'El Hajeb comptait 330 000 ovins, avec une prévalence de CE infection de 3,5%.

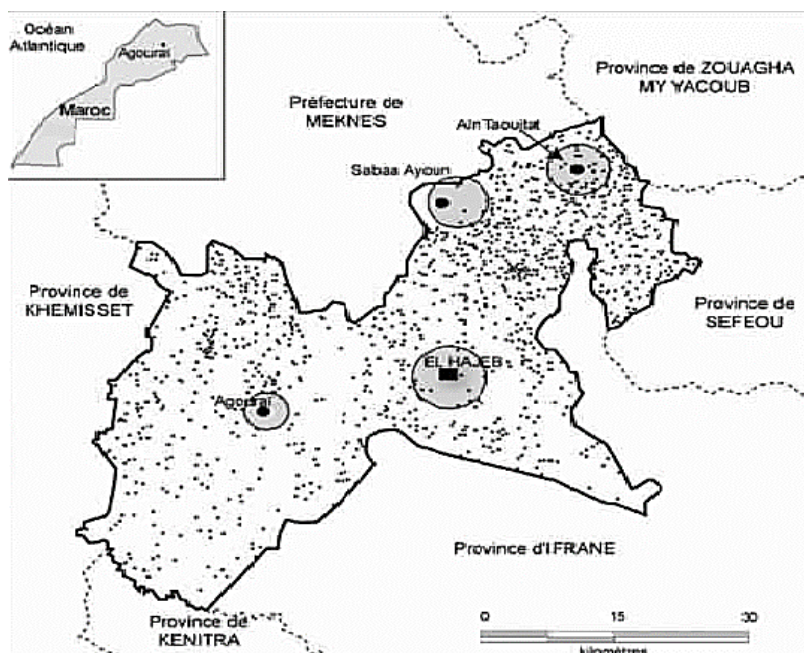


Figure 21 : Carte de la province d'El Hajeb



Figure 22 : Commune de Sebt Jahjouh

## **B. Particularités des deux régions vis-à-vis de l'hydatidose**

Différents éléments font des deux provinces un terrain particulier au bon déroulement du cycle de *E.G* d'où la forte prévalence observée.

- L'élevage : compte parmi les activités économiques essentielles qui pour l'agriculteur constituent une source de revenu importante. Il s'agit principalement d'un élevage extensif d'ovins, de bovins et de caprins qui doit son développement en premier lieu à l'existence de vastes parcours collectifs et forestiers ;
- Le commerce des animaux (vivants ou non) et de leurs productions sans prendre en considération les problèmes sanitaires ;
- Une importante population canine qui en présence des ovins et des habitants forment une équation parfaite pour la transmission du parasite ;
- Le manque de connaissances concernant l'EK chez les populations : l'éducation sanitaire des éleveurs pastoraux et des travailleurs de l'industrie agricole et animale est souvent négligée<sup>[152]</sup>.

## II. PROMOTEURS DE L'ETUDE

Le projet a été une collaboration de deux ans entre l'Université de Pavie, la Fondation de l'Hôpital San Matteo, le Centre collaborateur de l'OMS pour la gestion clinique de l'EK, Pavia, en Italie, et le Ministère de la Santé du Maroc, Service des maladies parasitaires, Rabat, Maroc. Le projet a été coordonné par l'OMS, le Département des maladies infectieuses négligées et le Bureau régional de l'OMS pour la Méditerranée orientale, au Caire, en Égypte, et a été financé par le Ministère italien de la Santé, Direction générale de la prévention de la santé. Les centres d'études marocains étaient représentés par le Service de Médecine C et le Service de Chirurgie B, Avicenne (Ibn Sina), à Rabat ; Service de parasitologie, Hôpital militaire Mohammed V et Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat ; Hôpital Prince Moulay Hassan, El Hajeb ; Et l'Hôpital 20 août, Ifrane. Le Bureau local de l'OMS au Maroc, Rabat, la Direction régionale de la santé de la région de Meknès-Tafilalet et les Délégations provinciales d'Ifrane et d'El Hajeb ont fourni un appui et une coordination locaux.

Les comités d'éthique de l'Université de Pavie (Italie) et du Centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès (Maroc) ont approuvé ces travaux le 29/10/2013 (Annexe1).

Les promoteurs de cette étude sont le Département de la Santé Publique et de l'Innovation, Ministère de la Santé, Italie, en partenariat avec :

- Le Département de Lutte contre les Maladies Tropicales Négligées, Organisation Mondiale de la Santé (WHO / HQ /HTM / NTD),

- L'Université de Pavie, IRCCS Fondation de l'Hôpital San Matteo, Italie, le Centre Collaborateur OMS pour la Prise en Charge Clinique de l'Échinococcose Kystique (CCOMS-UPSMHF),

- Le Service des Maladies Parasitaires, Ministère de la Santé, Maroc

- Le Service de Médecine C, Hôpital Avicenne (CH Ibn Sina), Rabat

- Le Service de Chirurgie B, Hôpital Avicenne (CH Ibn Sina), Rabat

- Le Service de Parasitologie, Hôpital Militaire d'Instruction Med V, Rabat

- L'Hôpital Prince Moulay Hassan, El Hajeb

- L'Hôpital 20 Août, Ifrane.

### **III. CRITERES D'INCLUSION**

Les patients qui participent à cette étude doivent :

- Avoir un test de grossesse négatif (ceci concerne les femmes en âge de procréer) ;
- Habiter dans les zones d'endémie ciblées par l'étude ;
- Signer le consentement éclairé (dans le cas des enfants le consentement doit être signé par un tuteur légal) (Annexe2).

### **IV. METHODOLOGIE DE L'ETUDE**

Tous les participants ont été invités à répondre à un questionnaire sur les facteurs de risque (Annexe 3).

Le questionnaire a été rédigé en français et traduit verbalement dans la langue locale amazigh par le personnel de l'enquête. Les questions portaient sur la reconnaissance des kystes d'EK lors de l'exposition d'une image d'un foie de mouton infecté, la source principale d'eau pour l'homme, les conditions d'élevage, d'abattage, d'élimination des abats, la propriété et la gestion des chiens en dehors du domicile, les habitudes alimentaires, le traitement par praziquantel, l'utilisation de la même source d'eau par les chiens et le bétail, et l'accès des chiens errants au domicile.

Chacun des participants, après avoir signé le consentement éclairé, a bénéficié d'un examen clinique suivi d'un examen échographique. Tous les malades avec des images échographiques suspectes ont fait l'objet d'un examen biologique et ont été référés par la suite au service de radiologie provincial pour bénéficier d'une radiographie thoracique à la recherche d'un éventuel kyste hydatique pulmonaire associé. Les patients dépistés porteurs de pathologies autres que le kyste hydatique abdominal ont été référés soit aux services compétents du centre hospitalier provincial (CHP) de la province concernée ou à ceux du centre hospitalier régional (CHR) de Meknès.



**Figure 23 : Orientation des patients**



**Figure 24 : Enregistrement des patients**



**Figure 25 : Séance de sensibilisation**

## V. DEMARCHE DIAGNOSTIQUE ADOPTEE

### A. Diagnostic échographique

Après avoir signé la fiche de consentement, le patient bénéficie d'un examen échographique avec des machines ultrasonographiques portables en utilisant des sondes convexes 3,5-5 MHz. Les images (statique et dynamique) documentant l'examen sont enregistrées et stockées sur un support électronique, identifié uniquement par le numéro d'identification du participant. La classification adoptée est celle de l'OMS (Annexe 4).



**Figure 26 : Examen échographique**



**Figure 27 : Dépistage et formation des professionnels de santé locaux dans le diagnostic de l'hydatidose abdominale**

## **B. Diagnostic biologique**

Tous les patients qui font l'objet de l'étude et dont l'examen échographique a montré des images suspectes ont fait l'objet d'un examen biologique qui comprend une sérologie hydatique, une NFS, un bilan hépatique et un test de grossesse pour les femmes en âge de procréer (Annexe 5).

### **1. Numération de la formule sanguine**

Hémogramme ou NFS est réalisé à partir d'un échantillon de sang prélevé par ponction veineuse et recueilli dans un tube contenant un anticoagulant sec de type EDTA. Pour cet examen nous avons utilisé le SYSMEX®.

### **2. Bilan hépatique et rénal**

**Le bilan hépatique** est un ensemble de dosages sanguins qui reflètent l'état du foie et son activité. Il est la combinaison de plusieurs paramètres mesurés sur un même échantillon de sang. Dans notre enquête nous avons dosé les transaminases <sup>[178]</sup>.

**-ALAT (Alanine-Amino-Transférase) ou GPT (Glutamyl-Pyruvate Transaminase):** L'ALAT est un marqueur sensible et spécifique d'une atteinte hépatocellulaire. Une élévation des ALAT fait conclure à une maladie hépatique sauf en cas de rhabdomyolyse sévère ou de myopathies systémiques. Toutefois le taux des ALAT peut être normal en cas de maladie hépatique <sup>[178]</sup>.

#### **Valeurs normales :**

- Homme : 8-35UI/l.
- Femme : 6-25UI/l.

**-ASAT (Aspartate-Amino-Transférase) ou GOT (Glutamyl Oxaloacétate Transférase) :** ASAT est une enzyme moins sensible et moins spécifique que les ALAT pour le foie. Le rapport ASAT/ALAT peut aider à déterminer une probabilité qu'une atteinte hépatique soit due à l'alcool mais, en cas d'élévation, une autre cause doit toujours être évoquée.

**Valeurs normales :**

- Homme : 8-30UI/l.
- Femme : 6-25UI/l.

**Le bilan rénal** représente l'ensemble des examens qui explorent la fonction d'épuration des reins. Dans notre enquête nous avons dosé :

**-La créatininémie** est le meilleur marqueur de la fonction rénale utilisé en pratique clinique.

Valeurs normales :

- Homme : 65 à 120  $\mu\text{mol/l}$  soit 7 à 13 mg/l.
- Femme : 50 à 100  $\mu\text{mol/l}$  soit 6 à 11 mg/l.

**-L'urée qui** est la principale forme d'élimination des déchets azotés issus du métabolisme des protidique chez l'Homme. L'urémie permet d'estimer en partie le fonctionnement des reins quoiqu'elle soit moins précise que la créatininémie.

Valeurs normales :

- Homme : 3 à 8,33 mmol/24 h soit 0,18 à 0,50 g/24 h
- Femme : 2.5 à 8,33 mmol/24 h soit 0,15 à 0,50g/24 h

Nous avons utilisé dans le dosage des transaminases, la créatinine et l'urée un spectrophotomètre semi automatiques (SECOMANE®).

### **3. Test de grossesse**

Nous avons réalisé des tests de grossesse (SD hCG, BIO LINE MT Promedt Consulting GmbH, Germany) aux femmes en âge de procréer.

Ce test consiste à détecter l'hormone chorio-gonadotrophique secrétée dès la nidation de l'ovule fécond par le placenta ; par des anticorps de détection qui provoquent une réaction colorée dont l'action est basée sur l'immunochromatographie.



Figure 28 : Prélèvement sanguin



Figure 29 : Dosage des sérums par spectrophotomètre SECOMANE®



Figure 30 : Coffret de test de grossesse

## 4. Sérologie de l'hydatidose

### A/Technique immunoenzymatique ELISA

#### a. Principe

La technique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est une technique immunoenzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps <sup>[179]</sup>.

Dans notre étude, nous avons utilisé RIDASCREEN® Echinococcus IgG (code K7621, R-Biofarm AG, Darmstadt, Allemagne) pour le diagnostic in vitro. Il permet de caractériser de manière qualitative les anticorps IgG contre l'*E.granulosus* et l'*E.multilocularis* dans le sérum humain.

#### b. Déroulement

-Prélèvement des échantillons : Le sang est prélevé de manière aseptique sur tube sec (50µl de sérum sont nécessaires pour l'analyse), Centrifugé à 3000 t/min pendant 15 minutes, aliquoté dans des tubes Eppendorff et congelé à -20°C avant son transfert au laboratoire de parasitologie à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat. -Mode opératoire :

- On commence par amener la plaque de microtitration et les réactifs à température ambiante (20-25°C),
- On dilue au 1/20 le tampon de lavage avec de l'eau distillée, et au 1/50 les échantillons de sérum avec le tampon des échantillons,
- Après avoir placé un nombre suffisant de cavités pour les contrôles positifs, négatifs et les échantillons dans le cadre, on pipete 100µl de contrôle positif, de contrôle négatif ou l'échantillon dans la plaque de microtitration et on incube à température ambiante pendant 15 min,
- Ensuite on vide la plaque et on procède à un lavage avec 300µl de tampon de lavage dilué. On répète cette opération 5 fois,

- Puis on verse 100µl de conjugué dans les cavités avant de les incuber à température ambiante pendant 15 min,

- On vide la plaque à nouveau et on procède à un lavage de la même façon que dans l'étape 4 avant d'ajouter 50µl du substrat et de chromogène dans les cavités et d'incuber une dernière fois à température ambiante pendant 15 min,

- Au final, on additionne 50 µl de réactif d'arrêt avant de mesurer la photométrie à 450nm,

Le test s'est déroulé correctement lorsque la valeur d'extinction moyenne du contrôle négatif à 450nm est inférieure à 0,3. Si les deux mesures individuelles différentes de plus de 25% de la valeur moyenne, le test doit être renouvelé. La valeur d'extinction du contrôle positif doit être à 450 nm supérieure à 0,8.

### c. Analyse

- La valeur moyenne d'extinction du contrôle négatif est calculée.

- 0,0150 sont ajoutés à la valeur moyenne d'extinction. Le cut-off du test est obtenu comme résultat.

- En divisant la valeur d'extinction de l'échantillon par le cut-off, on obtient l'index des échantillons.

- Exemple :

- Contrôle négatif 1 DO = 0,115.

- Contrôle négatif 2 DO = 0,125.

- Echantillon DO = 0,508.

$$\text{Cut-off} = \frac{0,115 + 0,125}{2} + 0,150 = 0,270.$$

$$\text{Index des échantillons} = \frac{0,508}{0,270} = 1,8.$$

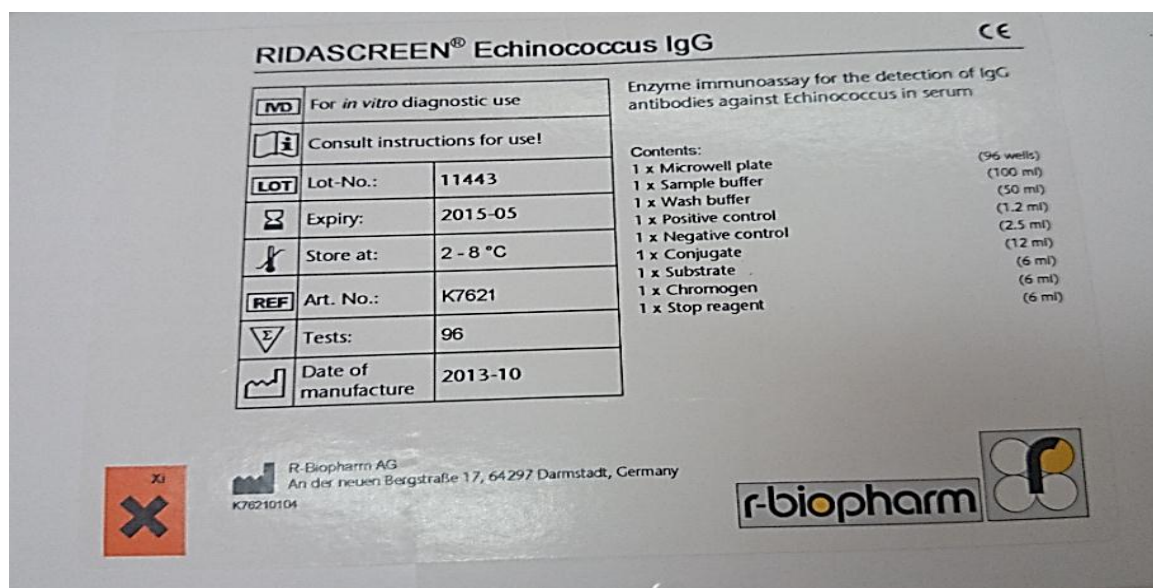


Figure 31 : Coffret utilisé dans la technique d'ELISA

Tableau 8 : Analyse de l'index des échantillons

Négatif	Limite	Positif
< 0,9	0,9 – 1,1	> 1,1

## B/ Technique western-blot

### a. Principe

WB est une technique immunoenzymatique qui permet d'analyser des mélanges antigéniques hydatiques grâce à sa capacité de détecter des anticorps hautement spécifiques dirigés contre l'Ag5 et l'AgB. 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. Ces derniers sont fixés par électro-transfert sur la surface de bandelettes de nitrocellulose. Les bandelettes sont incubées avec le sérum à tester. La réaction antigène-anticorps se manifeste par l'apparition d'une bande colorée, identifiée par rapport à des témoins positifs. Cette bande est révélée par une enzyme puis un substrat insoluble. Cette technique permet la détection spécifique d'anticorps dirigés contre les différentes protéines antigéniques [180,181].

Les bandelettes sont fournies prêtes à l'emploi, numérotées et prédécoupées

Pour notre étude, nous avons utilisé WB (Western Blot) : *Echinococcus* IgG (code ECHWB24G LDBIO Diagnostics, Lyon, France, distribué par Promalab, Casablanca, Maroc)

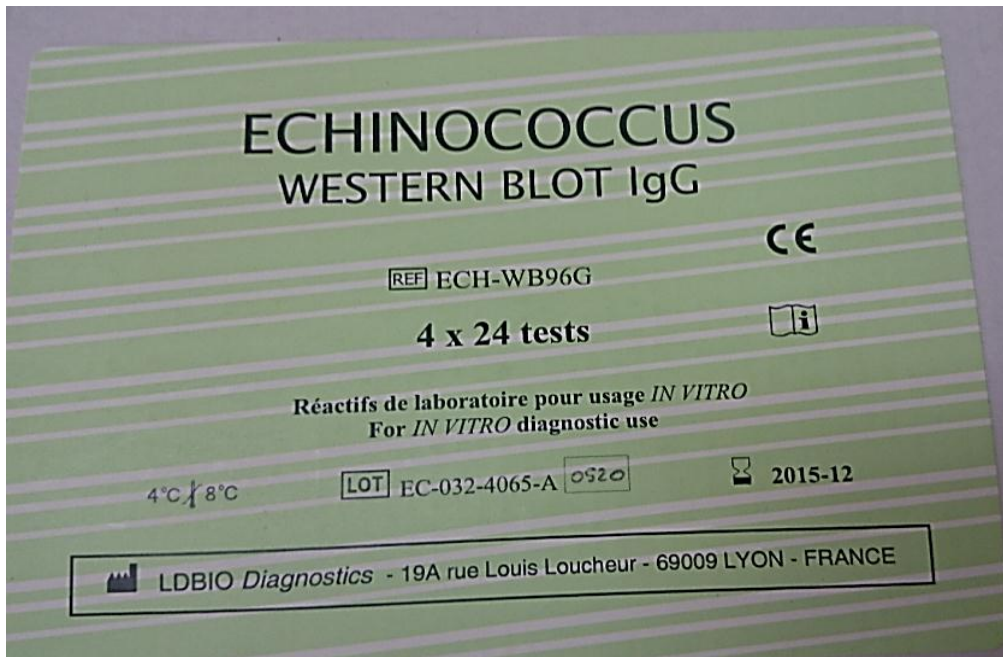
### **b. Déroulement**

Chaque sérum à tester est incubé séparément avec une bandelette. Les anticorps anti-*Echinococcus* éventuellement présents dans les prélèvements se fixent sélectivement sur les antigènes d'*Echinococcus* présents sur les bandelettes. Le lavage élimine les anticorps non fixés. Chaque bandelette est ensuite incubée avec le conjugué Phosphatase Alcaline-anti-IgG humaines qui se lie aux anticorps anti-*Echinococcus* éventuellement fixés. Le lavage élimine le conjugué non fixé. Lors de la dernière étape, les immuncomplexes réagissent avec le substrat : les antigènes reconnus par les anticorps anti-*Echinococcus* de classe IgG éventuellement présents dans les échantillons sont révélés sous forme de bandes transversales violettes. La réaction de coloration est arrêtée par un lavage à l'eau distillée. Les bandelettes sont séchées ; leur coloration est stable plusieurs années à l'abri de la lumière.

### **c. Lecture**

La présence d'une bande de 7 kDa isolée ou d'une bande de 7 kDa, associée à une bande large et diffuse de 16-18 kDa ou uniquement sur une bande de 26-28 kDa isolée ou l'association de bandes 7 et 26-28 kDa permet d'interpréter la réaction comme positive et de conclure à la présence d'anticorps IgG anti-*Echinococcus* dans l'échantillon testé<sup>[182]</sup>.

La recherche de bandes spécifiques dans la zone intermédiaire (7 à 28 kDa) permet de différencier avec certitude une échinococcose alvéolaire d'une EK dans plus de deux tiers des cas.



**Figure 32 : Coffret utilisé dans la technique du Western Blot**

**Interprétation I : Diagnostic du genre *Echinococcus*** : Rechercher la présence des bandes 7 et/ou 26-28 kDa pour chacun des échantillons testés à l'aide des outils d'étalonnage décrits ci-dessus (ces bandes sont caractéristiques et généralement très facilement repérables).

**Interprétation II : Diagnostic différentiel d'espèce *E.G* versus *E.multilocularis*** : Il est fait par la recherche des bandes spécifiques de l'une ou l'autre espèce **dans la zone intermédiaire entre 7 et 28 kDa.**

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

• <b>PROFIL P1 :</b> <b>Uniquement</b> bande 7 kDa isolée.	= <i>E.granulosus</i>
• <b>PROFIL P2 :</b> Bande 7 kDa + <b>bande large et diffuse 16-18</b> kDa. (NB : la bande 26-28 kDa est très souvent également présente.)	= <i>E.granulosus</i>
• <b>PROFIL P3 :</b> Bande <b>26-28</b> + les <b>bandes fines 16 et/ou 18</b> kDa. (NB : la plupart des autres bandes 7, 12, 15, 17, 20 kDa sont très souvent également présentes.)	= <i>E.multilocularis</i>

Les profils P1, P2 et P3 (retrouvés dans 70,0% des cas) permettent le diagnostic d'espèce Les 2 derniers profils P4 et P5 (retrouvés dans 30,0% des cas) ne permettent pas de différencier les 2 espèces *E.G* et *E.multilocularis*

<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>PROFIL P4 :</b> uniquement bande <b>26-28</b> kDa isolée. <u>ABSENCE</u> de bande intermédiaire</li><li>• <b>PROFIL P5 :</b> association bandes <b>7 + 26-28</b> kDa <u>ABSENCE</u> de bande intermédiaire</li></ul>	<p style="text-align: center;">= <i>E.multilocularis</i>  <u>ou</u> <i>E.granulosus</i></p>
---	---

**Remarque 1 :** La présence **isolée** de l'une ou plusieurs des bandes intermédiaires (12, 15, 16, 17, 18, 20, 24 kDa) ne peut pas être considérée comme spécifique. **Ces bandes ne sont jamais retrouvées isolées dans le cas d'une échinococcose mais toujours associées à la bande 7kDa et/ou 26-28 kDa.**

**Remarque 2 :** Des bandes au-dessus et plus rarement en dessous de la zone 7-28 kDa sont très souvent présentes. **Elles ne doivent pas être utilisées dans l'interprétation du test.**

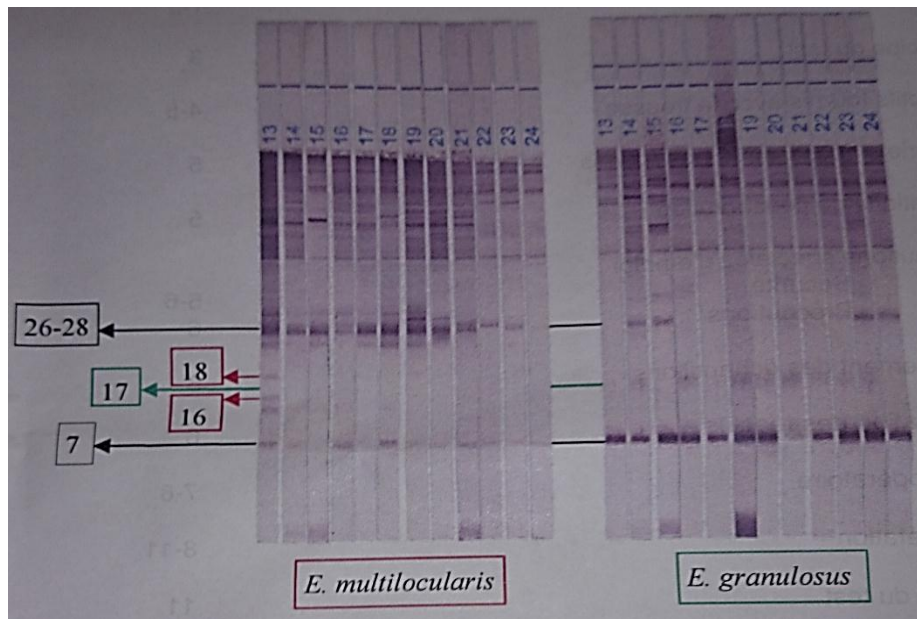


Figure 33 : Exemples d'immunoblots obtenus (échantillons négatifs et positifs)

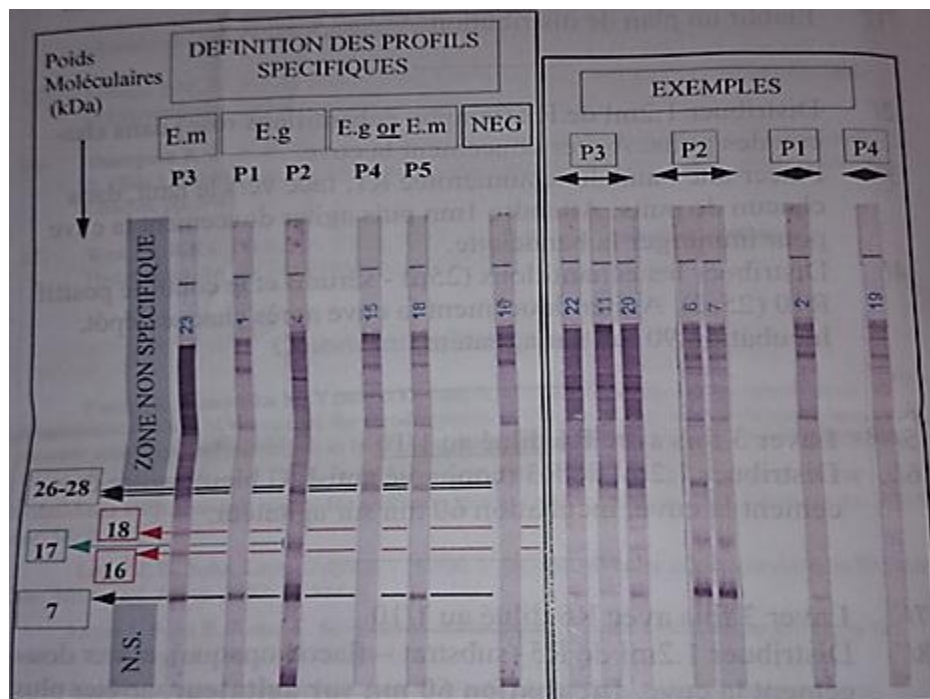


Figure 34 : Exemples complémentaires d'échantillons positifs en immunoblot et provenant de patients infectés par *E.multilocularis* et *E.granulosus*

## 5. Géotypage

### a) Obtention des échantillons

Après le diagnostic d'EK abdominale, les patients relevant d'un traitement chirurgical ou percutané (PAIR) ont fait l'objet d'un prélèvement du liquide hydatique lors de leur prise en charge à l'Hôpital Ibn Sina de Rabat au service de médecine C ou de chirurgie B. L'Albendazole a été prescrit pendant 1 mois après la chirurgie et pendant 6 mois après le traitement par voie percutanée.

Chaque échantillon a été examiné au microscope optique après coloration à l'éosine afin d'évaluer la viabilité du kyste (présence de protoscolex viables dans le liquide hydatique). Le liquide hydatique a été centrifugé à 500g pendant 30min, puis les échantillons furent conservés à -20°C jusqu'à leur utilisation pour l'analyse moléculaire.

### b) Analyse moléculaire

#### ➤ EXTRACTION DE L'ADN

Avant l'extraction de l'ADN, les échantillons ont été lavés deux fois pendant 15 min dans environ 200 µL de solution saline tamponnée au phosphate (PBS). Les liquides ont été centrifugés à 3500 g pendant 3 min et les récipients lavés deux fois pendant 15 min dans 100 microL de PBS. Finalement, tous les échantillons ont été centrifugés à 3500 g pendant 5 min et le PBS a été éliminé.

L'ADN génomique a ensuite été extrait de chaque échantillon avec le kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Valence, CA, USA), selon les instructions du fabricant (figure39).

#### ➤ REACTION EN CHAÎNE PAR POLYMERASE (PCR)

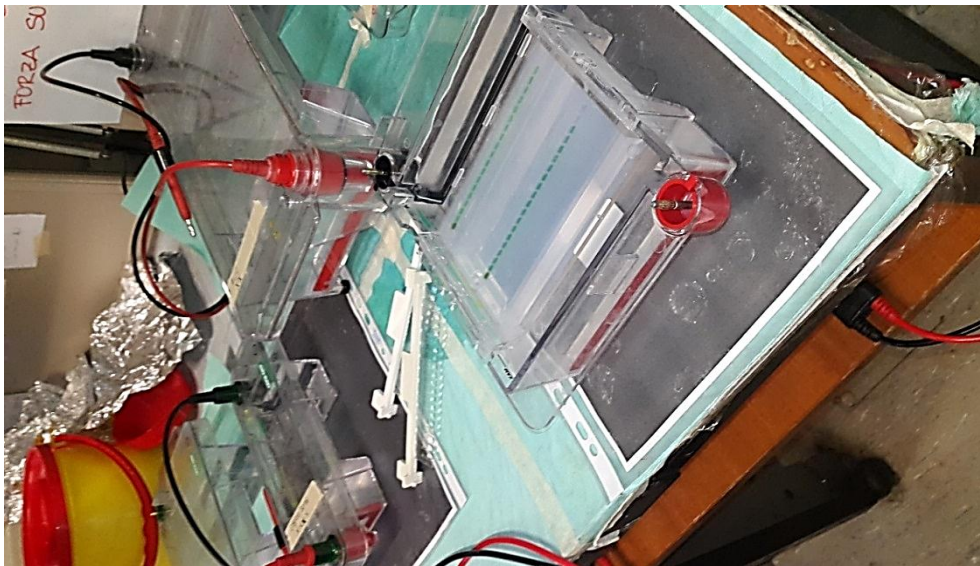
Des fragments de gènes mitochondriaux et nucléaires polymorphes identifiés et publiés par G. Boubakar et al, ont été amplifiés par l'utilisation d'amorces spécifiques présentée dans le tableau 9.

L'amplification a été effectuée dans un volume final de 20 µL contenant de l'ADN matrice (5ng), 100µM d'une solution prémélangée de dNTP, 0,05 unité/microL d'ADN polymérase Taq dans le tampon PCR IX (ADN GoTaq Polymérase, Promega, Madison, WI, USA) et 22 amorces spécifiques pour les 11 séquences cibles dans les concentrations indiquées dans le tableau 9.

Le profil thermique était le suivant : 3 min à 94 ° C, 25 cycles de 30 s à 94 ° C, 30 s à 56 ° C et 1 min à 72 ° C, puis 10 min à 72 ° C. L'étape finale consiste en une électrophorèse sur gel d'agarose à 2 % dans une cuve horizontale Biorad suivie d'une révélation des produits de la PCR par coloration au bromure d'éthidium et excitation sous lumière UV <sup>[183]</sup>.



**Figure 35 : kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Valence, CA, USA)**



**Figure 36 : Electrophorèse sur gel d'Agarose à 2% dans une cuve horizontale Biorad**

Tableau 9 : Caractéristiques des amorces utilisées en PCR multiplex, et des fragments correspondants <sup>[183]</sup>

Primer name	Conc. in mPCR	Product size (bp)	Specificity	Sequence 5'-3' <sup>a</sup>	Primer length (bp)	Gene marker	Acc No (NCBI)	Primer position
<i>Echi</i> Rpb2 F	1 µM	1232	All <i>E. species</i>	TTGACCAAGAATCAGAC	19	<i>rpb2</i>	FN566850.1	55–74
<i>Echi</i> Rpb2 R	1 µM	1232	All <i>E. species</i>	CGCAAATACTCCATGG	16	<i>rpb2</i>	FN566850.1	1287–1271
<i>E.g</i> complex F	0.15 µM	110	<i>E. granulosus</i> complex	TGGTCGTCTTAATCATTTG	19	<i>cox2</i>	AF297617.1	10686–10705
<i>E.g</i> complex R	0.15 µM	110	<i>E. granulosus</i> complex	CCACAACAATAGGCATAA	19	<i>cox2</i>	AF297617.1	10796–10777
<i>E.g</i> ss cal F	2 µM	1001	<i>E. granulosus</i> s.s. (G1/G/G3)	CAATTTACGGTAAAGCAT	18	<i>cal</i>	U834931.1	151–169
<i>E.g</i> ss cal R	2 µM	1001	<i>E. granulosus</i> s.s. (G1/G/G3)	CCTCATCTCCACTCTCT	17	<i>cal</i>	U834931.1	1152–1135
<i>E.g</i> ss Ef1a F	1 µM	706	<i>E. granulosus</i> s.s. (G1/G/G3)	TCCTAACATGCCTTGAT	19	<i>ef1a</i>	FN568380.1	594–613
<i>E.g</i> ss Ef1a R	1 µM	706	<i>E. granulosus</i> s.s. (G1/G/G3)	GTTACAGCCTTGATCAGC	18	<i>ef1a</i>	FN568380.1	1300–1282
<i>E.eq</i> cal F	2 µM	426	<i>E. equinus</i> (G4)	GCTTATTAGGATCCCA	17	<i>cal</i>	EU834936.1	566–583
<i>E.eq</i> cal R	2 µM	426	<i>E. equinus</i> (G4)	TCGTTTTGCCAGTG	15	<i>cal</i>	EU834936.1	992–977
<i>E.eq</i> cox1 F	0.2 µM	124	<i>E. equinus</i> (G4)	GTTGGgTgGATGTT	15	<i>cox1</i>	M84664.1	143–158
<i>E.eq</i> cox1 R	0.2 µM	124	<i>E. equinus</i> (G4)	CAAAACaGGATCACTCTT	18	<i>cox1</i>	M84664.1	277–259
<i>E.ortp</i> ATP6 F	0.05 µM	1041	<i>E. orteppi</i> (G5)	GTGTCGtgTgTTTAgTGAG	19	<i>atp-6</i>	AF235846.1	6057–6076
<i>E.ortp</i> ATP6 R	0.05 µM	1041	<i>E. orteppi</i> (G5)	GCACTgATAcGGtGTtAtT	20	<i>atp-6</i>	AF235846.1	7098–7078
<i>E.ortp</i> Cox1 F	0.2 µM	250	<i>E. orteppi</i> (G5)	GGTtTATGGTTGTTA	17	<i>cox1</i>	AF235846.1	9978–9995
<i>E.ortp</i> Cox1 R	0.2 µM	250	<i>E. orteppi</i> (G5)	ACACCaCCAAACGTG	15	<i>cox1</i>	AF235846.1	10228–10213
<i>E.cnd</i> G6/G7 pold F	1 µM	617	<i>E. canadensis</i> (G6/G7)	GGCCTTCATCTCCATAATA	20	<i>pold</i>	FN568364.1	325–345
<i>E.cnd</i> G6/G7 pold R	1 µM	617	<i>E. canadensis</i> (G6/G7)	ATGAAGAGTTTGAACTAAAG	21	<i>pold</i>	FN568364.1	942–921
<i>E.cnd</i> G6/G7 NDI F	0.3 µM	339	<i>E. canadensis</i> (G6/G7)	cTGCAGAGGTTGCC	15	<i>nad1</i>	AB208063.1	7635–7650
<i>E.cnd</i> G6/G7 NDI R	0.3 µM	339	<i>E. canadensis</i> (G6/G7)	cACAACaGCAtAAAGCG	17	<i>nad1</i>	AB235847.1	7974–7957
<i>E.cnd</i> G8/G10 Elp F	1.5 µM	283	<i>E. canadensis</i> (G8/G10)	CCTAGTCTCCCATGATA	18	<i>elp1</i>	U834894.1	450–468
<i>E.cnd</i> G8/G10 Elp R	1.5 µM	283	<i>E. canadensis</i> (G8/G10)	ACAGAAGGCATATCCA	16	<i>elp1</i>	U834894.1	733–717

<sup>a</sup>) Strict specific bases in each primer are written in bold. Tiny characters mark additional polymorphic sites (but not strict).  
doi:10.1371/journal.pntd.0002017.t001

## VI. CLASSIFICATION ET DEMARCHE THERAPEUTIQUE

-Les patients ont été classés comme positifs pour l'EK abdominale si :

- Ils avaient des lésions abdominales avec des caractéristiques pathognomoniques d'EK à l'échographie indépendamment de leurs résultats de sérologie ; Ou
- Ils avaient des lésions abdominales compatibles avec EK et une sérologie positive ; Ou
- ils avaient des lésions post-traitement EK antérieur.

Dans ce dernier cas, où une cavité résiduelle était présente avec des signes suspects de rechute sur échographie, une ponction diagnostique a été proposée et le liquide de kyste a été analysé au microscope et par PCR pour définir la nature de la lésion.

Plusieurs cas de figures peuvent se présenter :

**Hydatidose possible** = Critère clinique ou épidémiologique et des résultats d'imagerie ou sérologie positive.

**Hydatidose probable** = critère clinique+ critères épidémiologiques + critères radiologiques et sérologie positive.

**Hydatidose prouvée** = présence de protoscolex ou de leurs composants dans le liquide aspiré par ponction percutanée ou pendant la chirurgie.

Les lésions suspectes ont été étudiées avec une ponction diagnostique, une imagerie par résonance magnétique et une réévaluation échographique, selon le cas.

Tous les sujets diagnostiqués avec des arguments pertinents autres que l'EK ont été référés à l'hôpital provincial de référence ou à l'hôpital régional, selon le cas, pour un traitement gratuit selon l'accord avec le Ministère de la Santé du Maroc.

### A. Critères d'inclusion aux traitements

- Avoir au moins 1 kyste abdominal possible ou probable, évalué par le dépistage échographique ;
- Etre prêts à participer au traitement en signant le consentement éclairé (Annexe 6) ;
- Etre âgé de plus de 18 ans ;

- Avoir les taux d'enzymes ASAT et ALAT <5 fois la limite supérieure de la normale de référence ;

- Avoir des globules blancs > 4000/ $\mu$ l ;

- Avoir des valeurs d'hémoglobine > 6 mg / dl.

### **B. Critères d'exclusion aux traitements**

- Taux d'enzymes ASAT et ALAT  $\geq$  5 fois la limite supérieure de la normale de référence ;

- GB  $\leq$  4000/ $\mu$ l ;

- Hémoglobine  $\leq$  6 g / dl ;

- Grossesse et allaitement ;

- Intolérance connue à l'ABZ ;

- Pathologie psychiatrique (y compris addiction) qui, de l'avis des cliniciens pourrait affecter la capacité du participant à comprendre et à coopérer.

### **C. Critères de retrait des patients**

- Apparition d'un événement indésirable grave ou si la poursuite de la procédure pose un risque grave pour le participant ;

- Grossesse ;

- A la demande du patient.

-Après confirmation de l'EK abdominale, les patients ont été répartis en 4 groupes en fonction du traitement alloué : ABZ, Watch-and-Wait, PAIR ou chirurgie basé sur l'imagerie, taille, présence/absence de complications (Annexe7).

**-Traitement avec ABZ :**

La durée du traitement est de 30 jours, à raison de deux fois par jour pendant les repas, avec contrôle à la fin du traitement des enzymes hépatiques et de l'hémogramme

En fonction du protocole en vigueur, explication et prescription du mode de poursuite du traitement au patient.

Des tests de grossesse mensuels pour les femmes en âge de procréer.

**-Traitement percutané et chirurgical :**

Transfert à l'Hôpital Ibn Sina de Rabat pour prise en charge et ABZ pendant 1 mois après la chirurgie et pendant 6 mois après le traitement par voie percutanée (tableau 10).

Tableau 10 : Algorithme d'allocation de traitement

Stade*		Traitement
<b>KYSTES FOIE, REIN ET RATE</b>		
Kyste de petite taille < 5 cm		Albendazole
Hydatidose multiple		Albendazole
CE1 et CE3a	< ou = 10 cm	PAIR + Albendazole
	> 10 cm	Drainage + Albendazole
CE2 et CE3b		Chirurgie + Albendazole (ABZ) peropératoire
CE4 et CE5		Watch-and-Wait
Kyste compliqués	Infection	Drainage percutané ou chirurgie
	Fistule biliaire	Double drainage percutané et endoscopique ou chirurgie
	Rupture	Chirurgie
<b>KYSTES PERITOINE OU PELVIS</b>		
CE1 et CE3a	< 5 cm	ABZ
	< ou = 10 cm	Aspiration percutanée + Albendazole
	> 10 cm	Drainage de longue durée + Albendazole
<b>Autres stades et kystes compliqués</b>	Tous	Chirurgie + Albendazole peropératoire

\* Stade de kyste selon la classification du WHO-IWGE

Tableau 11 : Procédures de traitement

Traitement	Description	Durée
Albendazole	400 mg pour les adultes (>60 kg) ; 15 mg/kg/j pour enfants (<60 kg, maximum 800 mg/j)	Traitement continu
Traitement percutané + Albendazole	* PAIR : Ponction – Aspiration – Injection – Réaspiration ; agent scolicide : alcool 95 %  - Albendazole commencé 1 jour avant la procédure	* 1 jour pour le drainage  - 6 mois continu
Drainage + Albendazole	- Drainage percutané avec un drain en queue de cochon guidé par échographie. Le cathéter sera laissé place après l'aspiration.  - Albendazole commencé 1 jour avant la procédure	- Le patient sera hospitalisé pendant la durée entière du portage du cathéter. Le cathéter sera retiré quand le drainage ramène une quantité $\leq 10$ ml/j.  - 6 mois continu
Chirurgie + Albendazole peropératoire (pour la prévention de la dissémination secondaire)	- Chirurgie radicale (périkystectomie) ou conservative (résection dôme saillant)  - Albendazole commencé 1 jour avant la procédure	- Le patient sera hospitalisé et la procédure faite sous anesthésie générale. Le patient sortira après rétablissement complet.  - 1 mois en continu
Watch-and-Wait	Pas de traitement. Suivi échographique	

## **D. Suivi et rapport d'effets indésirables et d'événements indésirables graves**

La survenue d'effets indésirables est évaluée par un suivi mensuel et par déclaration des patients.

### **1. Albendazole**

C'est un médicament autorisé pour le traitement de l'EK. Il est généralement bien toléré. Les effets secondaires potentiels incluent une augmentation des taux d'enzymes hépatiques (15,0%), les céphalées (10,0%), troubles gastro-intestinaux (6,0%), la perte de cheveux (2,0%), et diminution du nombre de globules blancs (<1%). Ces effets sont bénins et réversibles à l'arrêt du traitement.

Le traitement sera arrêté :

- À la demande du patient ;
- En cas de nombre de globules blancs <3500/ $\mu$ l ou du foie ASAT et ALAT > 8x, la limite supérieure de la normale de l'essai de référence ;
- Chaque fois que nécessaire évaluée par le médecin de l'étude.

### **2. Traitement percutané**

Le traitement percutané <sup>[184]</sup> est indiqué pour certains cas d'EK abdominale, comme décrit dans le consensus d'experts pour le diagnostic et le traitement de l'EK et alvéolaire chez l'homme <sup>[185]</sup>.

Les complications possibles sont :

- un choc anaphylactique (rare, estimé à 0,03%, et géré par des procédures standards et mesures de réanimation présents dans la salle en présence d'un infirmier anesthésique) <sup>[184]</sup> ;
- le déversement du liquide kystique avec possible dissémination secondaire de l'EK (EK secondaire sera empêchée par l'administration de l'ABZ 400 mg 1 jour avant et 30 jours après l'intervention),

- l'hémorragie (gérée par la surveillance de l'hémoglobine et de l'hématocrite et de perfusion de globules rouges concentrés, si l'hémoglobine <8 g/dl ou au besoin selon l'avis du médecin),

- des surinfections bactériennes (rapportées dans 2-6% des cas et traitées avec une antibiothérapie systémique et un drainage si nécessaire)<sup>[186]</sup>,

- la fuite de bile dans la cavité du kyste grâce à une communication avec l'arbre biliaire (rapporté dans 2,0-42,0%)<sup>[187,188]</sup>,

- pneumothorax (suivi clinique et radiologique),

- perforation de la vésicule biliaire (suivi clinique et radiologique).

La mortalité du traitement percutané est de l'ordre de 0,1%<sup>[188]</sup>. Toutes les complications seront consignées dans le CRF et surveillées jusqu'à ce que l'événement ait été résolu.

### **3. Chirurgie**

Les effets indésirables des procédures chirurgicales pour EK englobent celles qui sont associées à toute intervention chirurgicale, et tous les effets indésirables mentionnés ci-dessus pour le traitement percutané. La mortalité opératoire varie de 0,5% à 4,0%<sup>[189]</sup>.

Toutes les complications seront gérées par l'équipe de la chirurgie et l'équipe d'anesthésiologie, et le cas traité et surveillé jusqu'à ce que l'événement ait été résolu.

### **4. Rapports d'événements indésirables graves**

Tous les événements indésirables graves sont rapportés dans le formulaire de rapport d'effets indésirables graves et suivis jusqu'à leur résolution par un investigateur.

Le chercheur principal et le clinicien principal sur le terrain sont informés immédiatement après la survenue de tous les événements indésirables graves. Les comités d'éthique sont également informés de la survenue de tous les événements indésirables graves aussi rapidement que possible.

## VII. ACTIVITES DE FORMATION ET D'ENSEIGNEMENTS

Avant l'enquête, une réunion d'une journée a été organisée, destinée au personnel médical des zones cibles impliquées dans l'étude. L'atelier comprenait une séance de formation théorique de 8 heures sur les techniques actuelles de diagnostic et de recommandations sur la prise en charge clinique de l'EK. Vingt-quatre médecins généralistes pratiquant dans les deux provinces cibles (12 par province) ont reçu > 16 heures de formation pratique sur l'échographie abdominale générale et une évaluation ciblée de l'EK à l'échographie au cours des campagnes de dépistage, par des échographistes experts effectuant le dépistage. Aucun des médecins n'avait jamais reçu de formation en EK et en échographie avant le projet. Les médecins d'El Hajeb spécialisés en gastro-entérologie et en chirurgie (un par spécialité) ont accepté de recevoir une formation pratique sur les techniques chirurgicales et percutanées de traitement de l'EK à l'hôpital Avicenne (Ibn Sina) de Rabat, lors du traitement des patients diagnostiqués, La formation chirurgicale portera sur plusieurs volets :

- Formation théorique,
  - En anatomie chirurgicale du foie, en particulier la segmentation hépatique,
  - Voies d'abord du foie (Ouverte et coelioscopique) et voies d'abord des pédicules glissoniens
  - Techniques d'hémostase temporaire du foie et notions de base sur l'ischémie, reperfusion et tolérance du foie à l'ischémie,
  - Rappel des techniques chirurgicales radicales et conservatrices et leurs indications respectives (Fonction du stade du kyste, du stade du périkyte, de fistule kysto-biliaire et état des voies biliaires)
- Formation pratique au bloc opératoire :
  - Technique de résection du dôme saillant pour KHF simple à périkyte souple et fin,
  - Technique de périkysectomie totale pour KHF compliqué,
  - Traitement de la fistule kysto-biliaire large,
  - Technique et indication de la voie laparoscopique.

## VIII. DEMARCHE PREVENTIVE ADOPTEE

Des cadres de la Division de la Communication du Ministère de la Santé ont assuré la conception ainsi que l'encadrement des séances d'éducation sanitaire et la sensibilisation sur la maladie et les moyens de prévention destinées aux personnes faisant l'objet de l'enquête. Ces séances de sensibilisation ont été données en langue locale.

Des affiches éducatives en arabe ont été mises à disposition dans les salles de dépistage échographique pour informer la population locale de la maladie, de sa transmission et de sa prévention. Les participants ont été organisés en groupes de 30 à 35 personnes et, avant le passage à l'examen échographique, ont assisté à une présentation de 15 minutes par le Médiateur de formation provincial sur l'information, l'éducation et la communication à l'aide de simples diapositives en arabe et expliquées dans la langue locale Amazigh.



Figure 37 : Séance d'IEC

المملكة المغربية  
اللجنة الوطنية لمجاربة مرض الأكياس المائية

وزارة الداخلية  
وزارة الصحة  
وزارة الفلاحة والتنمية  
الصيد البحري

**جميعا من أجل مجاربة مرض الأكياس المائية**  
**Ensemble contre L'Hydatidose / Echinococcosse**

عدم إعطاء الأعضاء المصابة  
بالأكياس المائية للكلاب

♦ التخلص من الأعضاء  
المصابة كالكبد والرتتين  
بالحرق أو الدفن

♦ اجتناب الأكل بعد  
لمس الكلاب

♦ دفن جثث الحيوانات الميتة  
في حفر عميقة حتى لا تصل  
الكلاب إليها

♦ غسل اليدين بالماء والصابون  
قبل الأكل

جمع الأزيال والنفايات المنزلية وعدم رميها  
بالأماكن العمومية للتقليل من مصادر عيش الكلاب

للمزيد من المعلومات المرجو الإتصال بـ: مديرية الأوبئة و مجاربة الأمراض : 037 67 13 29 - 037 67 12 71 / مديرية تربية المواشي : 037 77 17 85 - 075 37 95 13

MINISTÈRE DE L'ÉLEVAGE AL JADIDA KENNET

Figure 38 : Fiche de sensibilisation contre l'Hydatidose

## **IX. ANALYSE STATISTIQUE**

La première étape de l'analyse consiste en une analyse descriptive des différentes variables de l'étude dans l'ensemble de l'échantillon. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes  $\pm$  écart-types ou des pourcentages. Les données manquantes sont exclues de l'analyse.

Pour une prévalence d'EK attendue de 1,5%, avec un niveau de confiance de 95% et une précision de 0,5%, un échantillon de 5000 sujets a été calculé, soit 2500 par province. Les variables quantitatives ont été exprimées en moyenne et en écart type, et comparées par le test t de Student ou le test U de Mann-Whitney selon les conditions d'applications du test statistique. Les différences entre les groupes ont été évaluées en utilisant le test  $\chi^2$  ou test exact de Fisher, selon le cas. La corrélation entre les variables a été évaluée à l'aide d'un modèle de régression logistique multivariable. Au niveau du kyste, le risque d'être en stade actif ou inactif a été évalué par régression logistique, groupées au niveau du patient. Une valeur p  $<0,05$  a été considérée comme statistiquement significative. Tous les tests étaient bilatéraux. L'analyse des données a été effectuée avec le logiciel STATA (version 14.1, Stata Corporation, Collège Station, TX, USA).

## **X. CONFIDENTIALITE DES DONNEES DES PATIENTS ET INDEMNISATION**

Les renseignements obtenus ont été utilisés pour améliorer les soins prodigués aux patients souffrant d'EK. Toutes les données obtenues lors de l'étude ont été traitées confidentiellement dans l'étendue autorisée par la loi. Aucune information comportant l'identité des patients n'a été communiquée à une personne quelconque à l'exception des investigateurs chargés de l'étude. Les patients ont été identifiés par leurs initiales et un code. La liste d'identification est restée chez les investigateurs principaux. Les données et les résultats obtenus ont été utilisés dans un rapport final d'une manière anonyme de sorte à ce qu'aucune information ne permette d'identifier les sujets directement.

Les participants à l'étude n'ont reçu aucune indemnité.

## **CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION**

## I. ANALYSE EPIDEMIOLOGIQUE

### A. Résultats

#### 1. Campagnes de dépistage

Au total, quatre opérations de dépistage de masse espacées de 15 jours ont été réalisées selon le calendrier suivant :

- ✓ Timhdit : 4 au 6 avril 2014
- ✓ Bouderbala : 18 au 20 avril 2014
- ✓ Ain Louh : 2 au 4 mai 2014
- ✓ Sebt Jehjough : 16 au 18 mai 2014

Au cours de ces quatre campagnes, 5367 personnes, âgées de 3 à 94 ans, ont participé volontairement au dépistage et ont été évaluées par échographie abdominale, 2705 (50,4%) à Ifrane et 2662 (49,6%) à El Hajeb.

Cela représentait :

- 1,7% de l'ensemble de la population d'Ifrane en 2014 et 13,1% de celle des deux communes rurales étudiées dans cette province.

- Et 1,1% de l'ensemble de la population d'El Hajeb et 17,3% des deux communes rurales de cette province (données du Haut-Commissariat au Plan, Maroc, 2014).

Sur les 5367 personnes sélectionnées, les données étaient disponibles pour l'analyse de 5221 personnes (97,3%), avec les résultats de la figure 45, 2633 d'Ifrane et 2588 d'El Hajeb. La majorité (70,7%) des personnes examinées était des femmes.

#### 2. Caractéristiques démographiques de la population sélectionnée

5367 personnes, âgées de 3 à 94 ans, ont participé au dépistage, avec un âge moyen de 39,6ans +/- 18,6ans .Le sexe ratio H/F est de 0,52.

Les participants reconnaissent l'hydatidose et les lésions d'EK dans 76,0% des cas. L'activité principale de la région est l'agriculture, 68,0% parmi eux travaillent au contact du bétail et 48% sont propriétaires d'animaux de boucherie et presque la moitié possède des

chiens domestiques essentiellement dans le but de l'élevage et le gardiennage, seulement 57,0% de cette population est branchée sur le réseau d'eau potable.

La répartition démographique et sociale de la population résidante générale et de la population examinée est détaillée au tableau 12.

**Tableau 12 : Répartition des caractéristiques démographiques de la population étudiée et de la population générale des provinces étudiées.**

	<b>Population étudiée Ifrane N (%)</b>	<b>Population étudiée El Hajeb N (%)</b>	<b>% de la Population générale Ifrane</b>	<b>% de la Population générale El Hajeb</b>
<b>Sexe</b>				
<b>Homme</b>	840 (31,9)	691 (26,7)	48,9	49,8
<b>Femme</b>	1793 (68,1)	1897 (73,3)	51,1	50,2
<b>Age (ans)</b>				
<b>Moyenne (ET)</b>	40,4 (18)	39,7 (17,6)		
<b>3-20</b>	448 (17)	504 (19,5)	39,6	37,1
<b>21-40</b>	972 (36,9)	931 (35,8)	33,1	33,5
<b>41-60</b>	803 (30,5)	866 (33,5)	18,2	17,5
<b>61-80</b>	398 (15,1)	268 (10,4)	(>60 ans) 9,1%	(>60 ans) 7,8%
<b>81-94</b>	4 (0,2)	15 (0,6)		
<b>Manque données</b>	8 (0,3)	4 (0,2)		
<b>Profession</b>				
<b>Elevage/ Agriculture</b>	395 (15,0)	212 (8,2)		
<b>Etudiants</b>	348 (13,2)	343 (13,3)		
<b>ouvriers</b>	154 (5,9)	141 (5,4)		
<b>Femme au foyer</b>	1394 (52,9)	1326 (51,2)		
<b>Autres</b>	99 (3,8)	86 (3,3)		
<b>Sans emploi</b>	132 (5,0)	92 (3,6)		
<b>Manque données</b>	111 (4,2)	388 (15,0)		

### 3. Prévalence de l'EK

Le nombre de personnes examinées et de cas d'EK trouvés au cours des campagnes de dépistage sont résumés dans la figure 39.

Sur les 5221 personnes qui ont reçu une échographie abdominale, 102 sujets (1,9% IC95% [1,6 -2,4]) étaient positifs.

La prévalence dans la province d'Ifrane (2,6% ; IC 95%= [2,0-3,3]) était significativement plus élevée que celle d'El Hajeb (1,3% ; IC 95%= [0,9 -1,8]).  $P < 0,001$ .

À l'aide d'une analyse de régression logistique, nous avons calculé le risque de contracter une EK dans les deux communes étudiées d'Ifrane et d'Elhajeb. Celui-ci était significativement plus élevé dans les deux communes rurales étudiées de la province d'Ifr à Ain Louh et à Timahdit, par rapport à la commune rurale de Sebt Jahjough dans la province de El Hajeb ( $p = 0,005$  et  $0,001$ , respectivement). Alors qu'il n'y avait pas de risque accru significatif par rapport à cette zone dans la deuxième commune rurale étudiée de Bouderbala (Province de El Hajeb).

Sur les 102 sujets classés comme présentant une EK abdominale, 94 (92,2%) avaient un kyste EK dans les organes abdominaux, tandis que 8 (7,8%) n'avaient que des lésions résiduelles de Chirurgie antérieure pour EK abdominale.

Aucun des patients atteints d'EK abdominale n'avait une atteinte pulmonaire associée, ceci étant évalué par radiographie de poumons réalisée systématiquement pour tous les participants de l'étude.

Vingt-trois patients atteints de lésions EK suspectes ont été écartés. Les diagnostics retenus étaient les kystes biliaires ( $n = 15$ ), l'hémangiome ( $n = 1$ ), le carcinome hépatocellulaire ( $n = 1$ ), les autres maladies rénales ( $n = 4$ ) et l'absence de lésions lors de la réévaluation ( $n = 2$ ).

Sur les 94 patients atteints de kystes abdominaux EK, 68 (72,3%) ne savaient pas qu'ils étaient infectés, et ont donc été nouvellement diagnostiqués.

Les 26 autres (27,7%) patients étaient déjà au courant de leur diagnostic. Les patients infectés étaient symptomatiques dans 47,9% des cas ; Le symptôme le plus fréquemment rapporté était la douleur abdominale (91,7%).

Sur les 32 patients ayant déclarés avoir reçu un traitement antérieur pour EK, 27 (84,4%) ont été traités chirurgicalement et 5 (15,6%) ont reçu un traitement médical par ABZ. Personne n'a signalé de traitement percutané antérieur. Parmi ces patients traités, 11 (34,4%) présentaient des kystes actifs à l'échographie, mais malheureusement, il n'était pas possible d'évaluer s'il s'agissait de nouvelles infections ou de rechutes après traitement, faute de documentation médicale.

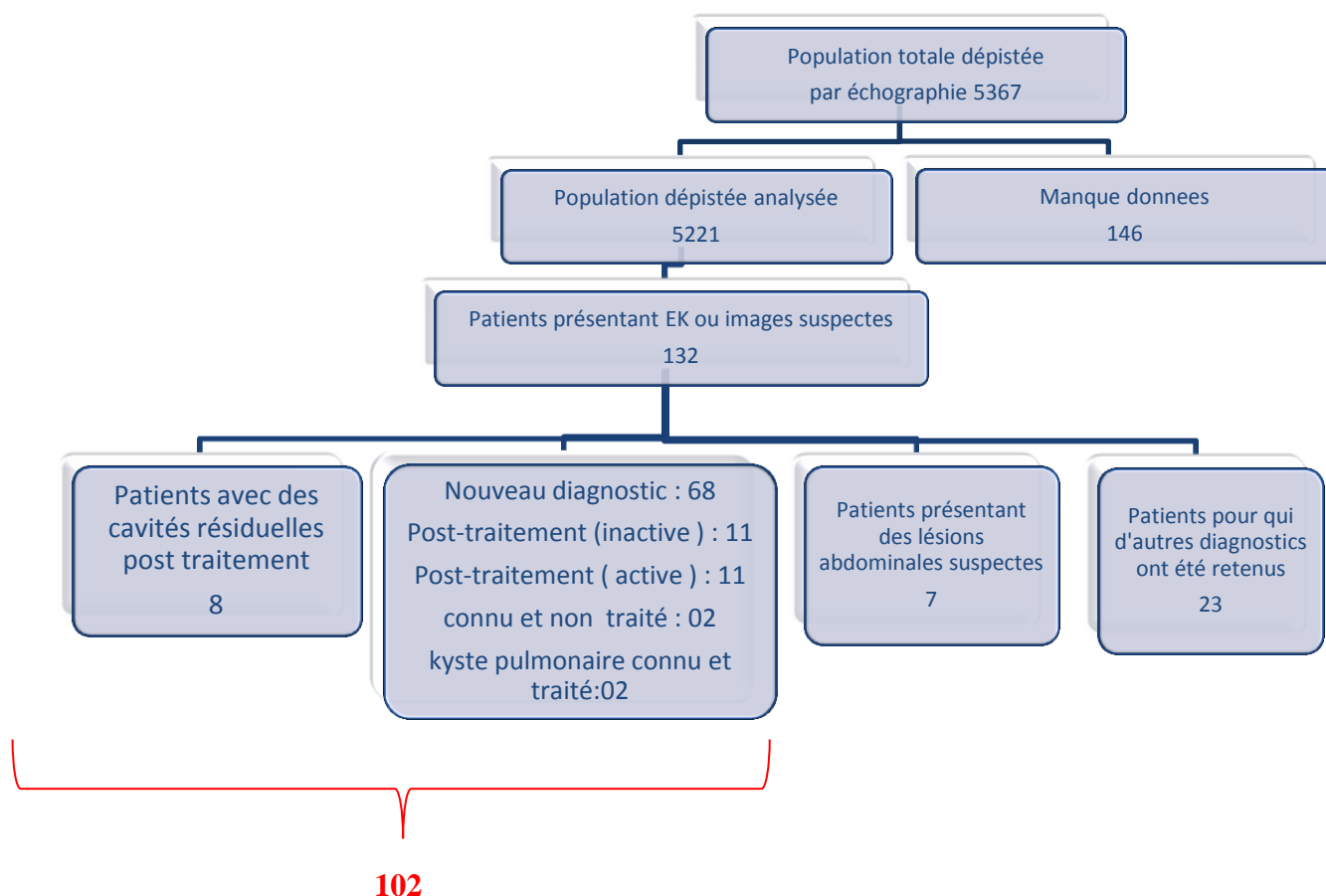
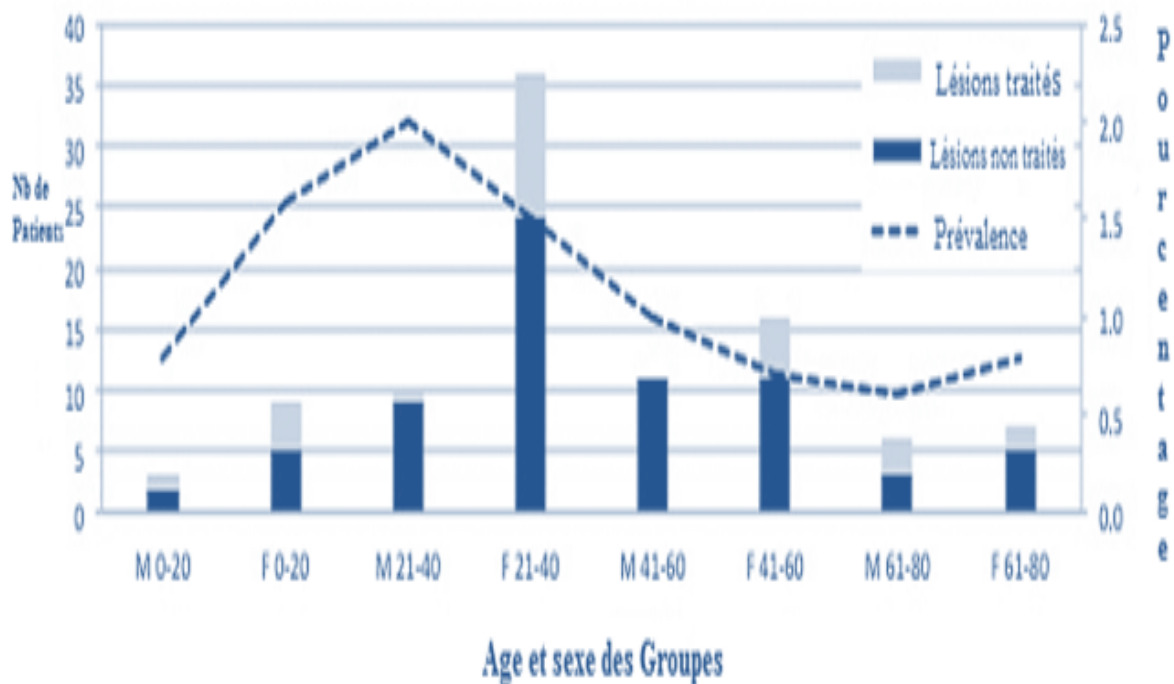


Figure 39 : Personnes examinées et cas d’EK observés au cours des campagnes de dépistage. \*

Un patient a déclaré une chirurgie antérieure pour EK pulmonaire.

**Tableau 13 : Population prélevée et prévalence d’EK abdominale dans les provinces et communes rurales étudiées.**

Province	Commune rurale	N dépistée	EK cas	Prevalence (95% IC)	Valeur p entre les provinces	OR (95% IC) comparée à Sebt Jahjough	Valeur p comparée à Sebt Jahjough
Ifrane	Timahdit	1336	38	2,8 (2,0-3,9)	<b>p&lt;0,001</b>	3,3 (1,6-6,7)	<b>p=0,001</b>
	Ain Louh	1297	31	2,4 (1,6-3,4)		2,8 (1,4-5,7)	<b>p=0,005</b>
	Total	2633	69	2,6 (2,0-3,3)			
El Hajeb	Bouderbala	1447	23	1,6 (1,0-2,4)		1,8 (0,9-3,9)	p=0,114
	Sebt Jahjough	1141	10	0,9 (0,4-1,6)		-	-
	Total	2588	33	1,3 (0,9-1,8)			
Total		5221	102	1,9 (1,6-2,4)			



**Figure 40 : Distribution et prévalence des lésions KH selon les groupes d’âges et de sexe**

#### 4. Analyse des facteurs de risque

L'association entre l'infection à EK et chaque facteur de risque a été étudiée à l'aide du test exact de Fisher et de l'analyse de régression logistique multivariable en tenant compte de l'âge et du sexe, qui n'étaient pas significativement différents entre les sujets EK positif et EK négatif ( $p = 0,734$  et  $p = 0,856$  ;  $p = 0,896$  et  $p = 0,166$  à Ifrane et El Hajeb, respectivement).

Comme le montre le tableau 14, la province de résidence a été constamment associée à une signification statistique élevée avec l'infection à EK.

La propriété de chien est également associée à la signification statistique de l'infection EK mais seulement dans la province d'Ifrane.

La proportion de personnes reconnaissant les lésions d'EK dans les images d'organes infectés par des animaux était très élevée (93,1% à Ifrane et 57,8% à El Hajeb). Bien que le questionnaire ait été proposé après la séance d'IEC, on ne peut donc pas exclure que les réponses ont été influencées par les informations récemment entendues, mais vraisemblablement la méconnaissance de la lésion parasitaire, l'absence d'abattoirs dans ces communes rurales exposent les habitants à des organes infectés souvent après leur abattage à domicile qui est le plus pratiqué dans ces communes.

**Tableau 14 : Analyse des facteurs de risque pour l'infection à EK. L'analyse multivariable est effectuée en tenant compte de l'âge comptable, du sexe et de la province pour chaque variable. \*****Limite significative**

	<b>Brut95%IC</b>		<b>Ajusté95</b>	<b>Valeur p</b>
	IFRANE	ELHAJEB	<b>% IC</b>	
Age ( <b>Par an</b> )	1,0 (0,9-1,1)	1,0 (0,9-1,1)		
Sexe ( <b>H/F</b> )	0,9 (0,5-1,5)	0,5 (0,2-1,3)		
Reconnaissance des lésions d'hydatidose ( <b>oui /non</b> )	0,9 (0,4-1,4)	1,1 (0,5-2,2)	0,9 (0,6-1,8)	p=0,970
Source principale d'eau <b>Puits, sources ouvertes</b>	1	1	1	
<b>robinet</b>	1,2 (0,7-2,3)	1,0 (0,2-4,2)	1,2 (0,7-2,2)	p=0,440
<b>Borne publique</b>	1,1 (0,6-1,9)	1,7 (0,8-3,5)	1,3 (0,8-2,1)	p=0,208
Le bétail a accès à la propriété ( <b>oui/non</b> )	1,2 (0,7-1,9)	1,8 (0,9-3,6)	1,4 (0,9-2,1)	p=0,098*
Abattage du bétail à domicile ( <b>oui/non</b> )	1,2 (0,5-2,9)	1,3 (0,6-2,9)	1,2 (0,7-2,3)	p=0,451
Moyen de se débarrasser des viscères <b>Usage pour nourrir les chiens</b>	1	1	1	
<b>enterré</b>	1,2 (0,5-2,8)	0,9 (0,1-4,2)	1,1 (0,5-2,2)	p=0,870
<b>Usage pour fertilisation</b>	2,4 (0,6-1,0)	2,0 (0,4-1,1)	2,3 (0,5-9,8)	P=0,273
<b>brulé</b>	1,1 (0,7-2,3)	0,9 (6,8-2,1)	1,0(0,8-2,0)	p=0,900
<b>Jeté dans la nature /les ordures</b>	1,9 (0,7-4,9)	0,5 (0,1-2,2)	1,1 (0,5-2,4)	p=0,833
Propriété de chien ( <b>oui/non</b> )	1,6 (1,0-2,7)	1,3 (0,6-2,6)	1,6 (1,1-2,4)	P=0,035
Rôle des chiens domestiques <b>Garde (oui/non)</b>	1,4 (0,2-11,0)	1,3 (0,2-10,0)	1,4 (0,3-5,8)	p=0,653
<b>Elevage (oui/non)</b>	1,2 (0,6-2,4)	0,6 (0,1-2,3)	0,9 (0,5-1,8)	p=0,999
<b>Compagnie (oui/non)</b>	0,8 (0,4-1,9)	1,6 (0,2-12,0)	0,9 (0,4-1,9)	p=0,781
<b>Chasse (oui/non)</b>	0,8 (0,6-2,9)	1,2 (0,7-3,9)	1(0,8-1,9)	P=0,910
Les chiens domestiques peuvent errer ( <b>oui/non</b> )	2,8 (0,9-9,0)	1,2 (0,4-3,2)	1,8 (0,9-3,7)	P=0,115
Les chiens domestiques ont accès à la propriété ( <b>oui /non</b> )	1,4 (0,7-2,5)	1,3 (0,4-3,8)	1,4 (0,8-2,4)	p=0,227
Les chiens domestiques sont nourris de viscères crus ( <b>oui/non</b> )	1,7 (0,7-3,9)	0,4 (0,2-1,1)	1,0 (0,6-1,9)	p=0,894
Les chiens domestiques sont traités au Praziquantel ( <b>oui/non</b> )	1,4 (0,8-2,8)	1,6 (0,8-2,8)	1,5 (0,8-2,7)	P=0,197
Des chiens inconnus ont accès au domicile (oui/non)	1,4 (0,8-2,4)	0,8 (0,4-1,9)	1,2 (0,8-1,9)	p=0,390
Les chiens et le bétail utilisent la même source d'eau ( <b>oui/non</b> )	0,9 (0,3-3,1)	1,2 (0,4-2,9)	1,1 (0,4-2,8)	p=0,988

## B. Discussion

Notre étude de dépistage communautaire, menée sous l'égide de l'OMS, avait entre autres, comme objectif l'estimation de la vraie prévalence et la détermination des caractéristiques de l'EK abdominale humaine, dans les deux provinces d'Ifrane et d'El Hajeb au sein de la région de Meknès-Tafilalet du Moyen Atlas, l'une des zones les plus endémiques au Maroc pour l'infection humaine et animale <sup>[4]</sup>.

Quatre campagnes de deux jours chacune ont été réalisées par des cliniciens expérimentés, et au total, 13,1% de la population des deux communes rurales de Timahdit et Ain Louh à Ifrane et 17,3% des deux communes rurales de Bouderbala et Sebt Jahjough À El Hajeb ont été examinés.

Nous avons trouvé une prévalence globale de 1,9% (IC95%= 1,6%-2,4%), un chiffre presque doublé par rapport à ce qui a été rapporté par Macpherson et al <sup>[5]</sup> qui avaient trouvé une prévalence de 1,1% (IC95%= (0,9% -1,3%)) au cours d'une enquête échographique réalisée en 2000-2001 dans les deux provinces d'Ifrane et de Khenifra. Bien qu'une comparaison directe des deux enquêtes ne soit possible, en raison des différentes zones cibles et de la répartition des groupes d'âge, ces résultats montrent une transmission continue de l'infection dans cette région du Maroc. Dans notre enquête, la prévalence de l'EK à Ifrane était deux fois plus élevée qu'à El Hajeb, sans différences entre les communes rurales au sein des provinces.

Bien que, les mesures couramment utilisées telles que l'incidence des cas opérés ne sont pas appropriées pour évaluer la dynamique d'une infection chronique et cliniquement complexe telle que l'EK. L'incidence chirurgicale de l'EK a augmenté de 3,6 pour 100 000 habitants en 1980 à 5,2 pour 100 000 habitants en 2008 et ce, malgré les efforts employés dans la lutte contre cette parasitose <sup>[4]</sup>. Cette incidence est comparable avec deux autres pays du Maghreb : 4,2 pour 100 000 habitants en Libye et entre 3,6 et 4,6 pour 100 000 habitants en Algérie <sup>[191]</sup>. Elle est inférieure à celle enregistrée en Tunisie (15 pour 100 000 habitants), qui est le pays le plus endémique du Maghreb à l'heure actuelle <sup>[192, 193]</sup>.

L'analyse de la prévalence de l'infection par tranche d'âge et par sexe a montré les valeurs les plus élevées chez les sujets âgés de 21 à 40 ans, résultats similaires à la série de Derfoufi et al ainsi, entre 2005 et 2008, 41,7% des cas ont été enregistrés chez des patients âgés de 20 à 39 ans. Les valeurs étaient comparables chez les hommes et les femmes du

même groupe d'âge, contrairement à la majorité des autres séries maghrébines et arabes qui elles rapportent une prédominance féminine, avec un sex ratio de 0,66 dans la série de Derfoufi et al <sup>[4]</sup>. Cette prédominance serait due au fait que dans le contexte socioculturel marocain, les femmes sont plus exposées en raison de leurs activités de ménage de tous les jours mais ceci ne se vérifie pas dans notre série.

Cependant, nous avons observé une diminution de la prévalence de l'infection chez la population âgée de plus de 40 ans. Cela ne peut être expliqué par une augmentation du taux de traitement avec l'âge, puisque la prévalence a été calculée incluant les sujets non traités et traités précédemment pour l'EK. Les explications possibles peuvent être liées à la structure de la population résidente. Les hypothèses possibles c'est que les personnes âgées de 40 à 60 ans peuvent être émigrés des zones rurales et /ou à la résolution spontanée de l'infection avec le temps, avec disparition des lésions.

Lorsque nous avons étudié les facteurs de risque en utilisant l'analyse multivariable, nous avons constaté que seule la province de résidence (Ifrane) et la propriété du chien étaient significativement associées à l'infection à EK, alors que l'âge et le sexe ne l'étaient pas.

Il est à noter aussi que la région d'Ifrane est une région où l'élevage est plus étendu et l'abattage est plus pratiqué.

Ces résultats sont différents des études antérieures, où la propriété du chien n'était pas associée à l'infection, alors que le sexe féminin et l'utilisation de sources d'eau non sécurisées l'étaient systématiquement <sup>[194-195]</sup>. Toutefois, dans la zone visée par l'enquête, la «possession de chien» ne peut être conçue de la même manière stricte que celle envisagée en Occident.

La population canine est estimée à environ 2 millions dans la région et qui, en gardant le bétail et les fermes, vit en contact étroit avec la population en milieu rural. Le nombre de chiens errants dans les villages et à la périphérie des villes est également un facteur majeur de cette transmission. <sup>[3]</sup> Une prévalence importante de l'infestation des chiens au Maroc par le *tænia E.G* a été rapportée, allant de 22 à 62,8% selon les régions <sup>[196]</sup>. Les herbivores domestiques, HI qui hébergent les larves d'*E.G*, sont essentiellement constitués de bovins, ovins, caprins et camelins. Ces espèces animales s'infestent essentiellement au niveau des parcours et des pâturages, par ingestion d'herbes contaminées par les matières fécales des chiens parasités. La prévalence globale au Maroc de l'infestation chez ces HI est de 10,6% chez les ovins, 1,9% chez les caprins, 23,0% chez les bovins et 12,0% chez les dromadaires <sup>[3]</sup>.

En effet, à partir de l'analyse des réponses au questionnaire, nous avons constaté que des pratiques à risque telles que l'abattage à domicile, l'élimination dangereuse des viscères du bétail dans les lieux publics comme par exemple les poubelles ou les champs ouverts accessibles aux chiens et l'alimentation des chiens de viscères crus ont été réalisées indépendamment de la possession ou non du bétail et de chiens.

Pris ensemble, nos résultats suggèrent que la contamination environnementale est le principal facteur responsable de la transmission de l'infection.

L'EK constitue un véritable problème de santé publique dans les pays du pourtour méditerranéen y compris le Maroc.

La prévalence, l'incidence et l'impact réel de cette endémie sont difficiles à estimer. Ceci est dû à la répartition inégale des zones de transmission dans les pays endémiques, à la forte proportion d'individus infectés et asymptomatiques et de patients symptomatiques mais vivant dans des zones pauvres en ressources logistiques et/ou économiques, mais aussi aux mouvements de migration intense des populations du pourtour méditerranéen.

Des données récentes du Centre collaborateur de l'OMS sur la gestion clinique de l'EK à Pavie en Italie ont montré que 38,2% des 203 patients suivis pour EK entre janvier 2012 et février 2014 étaient nés à l'étranger et que le Maroc était le pays de naissance de la majorité (27,2%) de ces patients <sup>[197]</sup>.

Une évaluation complète de la charge d'infection de la maladie et des facteurs de risque de transmission doit être la base des décisions des autorités de santé afin de mettre en œuvre les programmes de lutte adéquats et de rationaliser les recommandations en matière de diagnostic et de traitement.

Les dépistages échographiques sur les populations à risque utilisant des échographes portables et relativement peu coûteux permettent d'obtenir des informations plus complètes, plus précises et détaillées sur la vraie prévalence de l'infection et la répartition des stades de l'EK.

L'échographie, étant non invasive et facilement reproductible permet également de surveiller l'efficacité des différentes thérapeutiques et surtout un contrôle ultérieur plus simple <sup>[198]</sup>.

## II. ANALYSE DES RESULTATS ECHOGRAPHIQUES

### A. Résultats

#### 1. Stades échographiques

La répartition des stades échographiques des KH était comme suit :

- 94 patients (92,2%) avaient au moins 1 kyste abdominal pour un total de 131 kystes, soit une moyenne de 1,4 kyste/patient [1-8 kystes]

- 8 patients (7,8%) avaient des lésions résiduelles.

La distribution des kystes hépatiques d'EK par stade est représentée sur la figure 41.

Les stades CE3b (19,2%), CE1 (13,3%), CE2 (8,3%) et CE3a (3,3%) ont été les plus fréquemment inactifs (55,8% étaient CE4-CE5).

L'EK présente une évolution insidieuse et progressive et l'exposition varie en fonction du sexe et des activités liées à l'âge. Nous avons donc étudié la répartition des stades du kyste en fonction de ces variables, et comme il n'était pas possible de discriminer entre rechute et réinfection chez les patients précédemment traités, la répartition des stades par sexe et âge n'a été analysée ici que chez les 70 patients non traités précédemment (68 nouveaux cas diagnostiqués et 2 patients infectés et jamais traités). Nous avons constaté que la fréquence relative des kystes inactifs augmentait avec l'âge, tandis que celle des kystes actifs diminuait avec l'âge. Le risque d'avoir un kyste actif a considérablement diminué avec l'augmentation de l'âge ( $p= 0,003$ ,  $OR= 0,33$  ;  $IC_{95\%}= (0,16-0,69)$ ). Les résultats sont présentés sur les figures 42 et 43.

Sur les 29 patients qui avaient déjà été traités pour EK abdominale, 17 (58,6%) n'avaient que des cavités résiduelles / cicatrices ou des kystes CE4-CE5 inactifs à l'échographie, 7 (24,1%) seulement des cavités / cicatrices résiduelles, 10 (34,5%) Kystes inactifs, tandis que 12 (41,4%) avaient des kystes en phase active. Cependant, comme indiqué ci-dessus, il n'était pas possible de faire la différence entre une rechute et une réinfection.

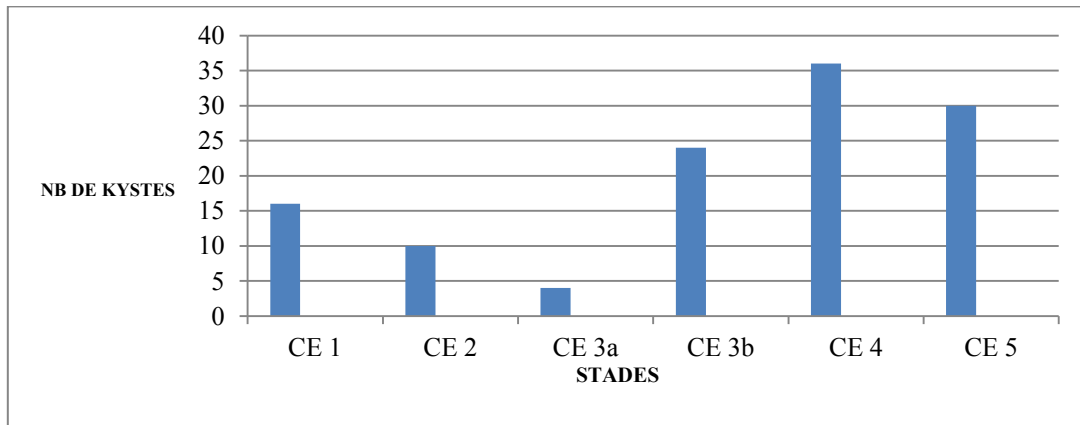


Figure 41 : Nombre de kystes hépatiques EK à différents stades.

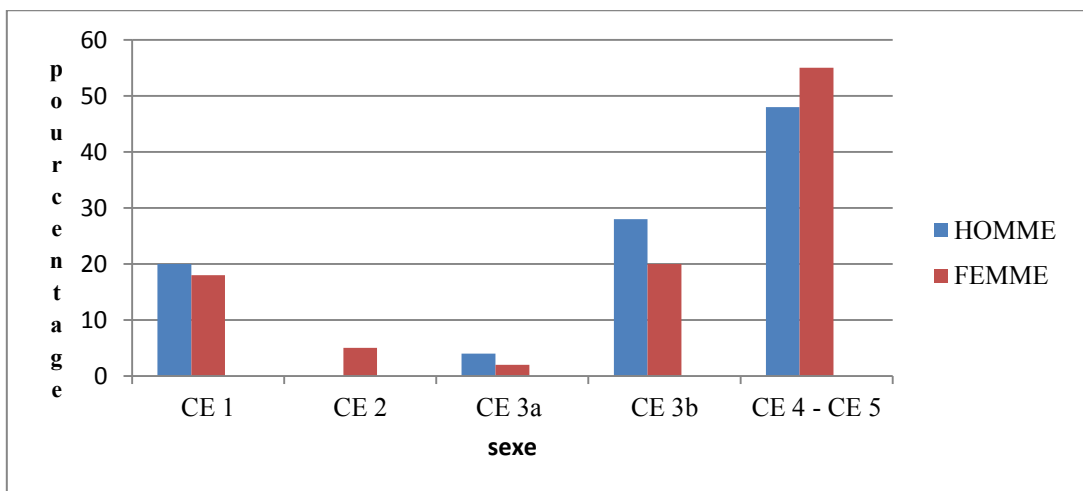


Figure 42 : Pourcentage de stades de kystes EK chez des patients n'ayant jamais été traités auparavant pour EK dans les groupes de sexe.

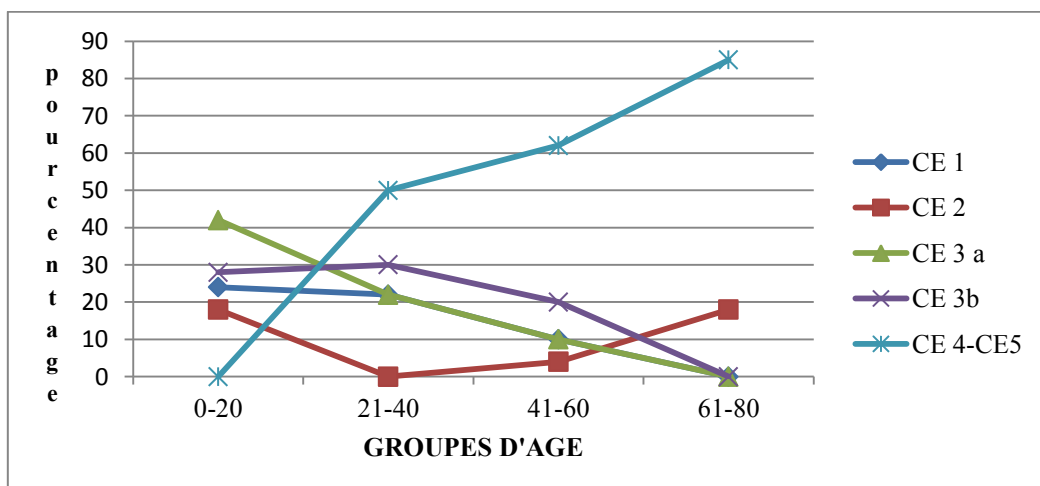


Figure 43 : Pourcentage de stades de kystes CE chez des patients n'ayant jamais été traités auparavant pour EK dans les groupes d'âge.

## 2. Localisation des kystes

Les 94 patients atteints de kystes abdominaux EK présentent un total de 131 kystes EK soit en moyenne 1,4 kystes EK par patient.

Parmi ces patients, 84 (89,4%) avaient des kystes EK seulement dans le foie ; 3 (3,2%) dans le foie et dans une autre localisation, notamment le péritoine chez 2 patients et la rate chez 1 patient ; Et 7 patients (7,4%) avaient des kystes EK seulement dans des localisations extra-hépatiques, notamment le péritoine chez 3 patients, la rate chez 3 patients et le rein chez 1 patient.

## B. Discussion

L'échographie abdominale est l'examen le plus performant pour le diagnostic de l'EK. Elle s'est imposée comme l'examen de référence en raison de sa disponibilité même dans les zones reculées, sa fiabilité et la possibilité de réaliser un examen morphologique d'irradiation [198]

Durant notre étude, toutes les lésions qui ont été visualisées à l'échographie sont imputables à l'EK, elles ont été constatées par un médecin et tous les cas ont été réévalués par un spécialiste de l'équipe des formateurs des échographistes du projet pour la définition de cas et la classification du kyste avant l'analyse des données.

Nous avons adopté la Classification WHO-IWGE<sup>[6]</sup>, qui comprend six stades de kystes, regroupés en actif (CE1 – CE2), transitoire (CE3a – CE3b) et inactif (CE4 – CE5) classes. Ainsi, les patients avec au moins un stade CE1, CE2, CE3a ou CE3b ont été classés opérationnellement comme ayant des kystes actifs ; les patients avec uniquement des kystes CE4 et CE5 ont été classés comme ayant des kystes inactifs.

En effet, selon le WHO IWGE la différence entre les stades transitoires est fondée sur des données cliniques et biologiques. Il inclue à la fois un stade viable (CE3b) et un stade à la viabilité incertaine (CE3a) avec une prise en charge thérapeutique différente selon les cas [199-200-185]

Dans l'EK, le foie et les poumons sont de loin les organes les plus touchés par la parasitose avec une fréquence plus élevée pour la localisation hépatique 65,0 à 70,0% versus poumon 25,0%. Bien que d'autres études aient identifié le poumon comme la plus fréquente localisation [158]. Cependant la localisation peut aussi intéresser, mais beaucoup moins

fréquemment, d'autres localisations telles que la rate, les reins, le cœur, l'os ou le système nerveux central<sup>[160,162,164]</sup>.

Le KH splénique (2,0 à 5,0 %) est associé le plus souvent à une hydatidose hépatique ou péritonéale dans 20,0 à 30,0 % des cas. Il est généralement unique, mais quelques cas d'hydatidose splénique multivésiculaire ont été rapportés<sup>[201]</sup>.

Résultat que nous avons-nous même rapporté dans cette série, car 89,4% des patients avaient des kystes uniquement hépatiques. Les autres localisations étaient représentées par le rein le péritoine et la rate.

Par ailleurs, il faut noter que, connaissant le parasite, son cycle biologique très complexe et sa grande capacité d'adaptation, sa localisation finale chez ses HI n'est pas uniquement la conséquence du hasard et d'une simple histoire de filtres anatomiques. Les potentialités moléculaires et enzymatiques de l'embryon interviennent, également, dans la détermination de sa destinée finale.

Pour donner un meilleur aperçu de la dynamique de transmission, nous avons évalué la distribution de stade de kyste chez les individus selon l'âge et vu la difficulté de différencier rechute et réinfection chez les patients précédemment traités, la répartition des stades d'EK selon l'âge n'a été analysée que chez les patients non traités précédemment. Nous avons constaté que la fréquence relative des kystes inactifs augmentait avec l'âge, tandis que celle des kystes actifs diminuait avec l'âge. Le risque d'avoir un kyste actif a considérablement diminué avec l'augmentation de l'âge. Nous avons observé que les kystes EK étaient prédominants dans un stade inactif, ce qui confirme les résultats d'études longitudinales et observationnelles antérieures montrant que les kystes évoluent spontanément vers l'inactivation avec du temps<sup>[202-203]</sup>.

Néanmoins, des stades de kystes actifs, y compris des kystes CE1 (c'est-à-dire des kystes probablement acquis récemment) étaient également observés dans les groupes d'âge adulte, ce qui indique une probable contamination continue de l'infection et ce même à l'âge adulte.

Ces résultats revêtent une importance particulière :

- Premièrement, la prédominance des kystes inactifs dans la population examinée et l'augmentation des kystes inactifs avec l'âge sont en faveur d'une approche par stades échographiques. En effet, la plupart des kystes évoluent souvent spontanément vers l'inactivation. En conséquence, la thérapie invasive n'est pas indiquée en absence de symptômes ou de complications, et les kystes spontanément inactivés (la majorité de ceux trouvés dans notre population) ne nécessitent donc pas une prise en charge thérapeutique.

- Deuxièmement, la preuve d'une possible acquisition continue de l'infection, même à l'âge adulte, implique l'importance des programmes de contrôle dans tous les groupes d'âge, comme déjà observé par Beard <sup>[204]</sup>. La mise en œuvre de programmes de contrôle dans les zones endémiques ne devrait donc pas être découragée par le délai d'apparition de leurs premiers résultats.

### III. ANALYSE DES RESULTATS SEROLOGIQUES

#### A. Résultats

Les sérums de patients atteints d'EK ont été testés par ELISA et WB et les résultats ont été analysés par groupe de stades de kyste comme détaillé dans la partie matériels et méthodes.

Le pourcentage de résultats positifs pour l'ELISA selon le stade du kyste chez les patients non traités et précédemment traités est illustré à la figure 44. Il est à noter qu'un seul patient recevait un traitement par ABZ au moment du prélèvement sanguin.

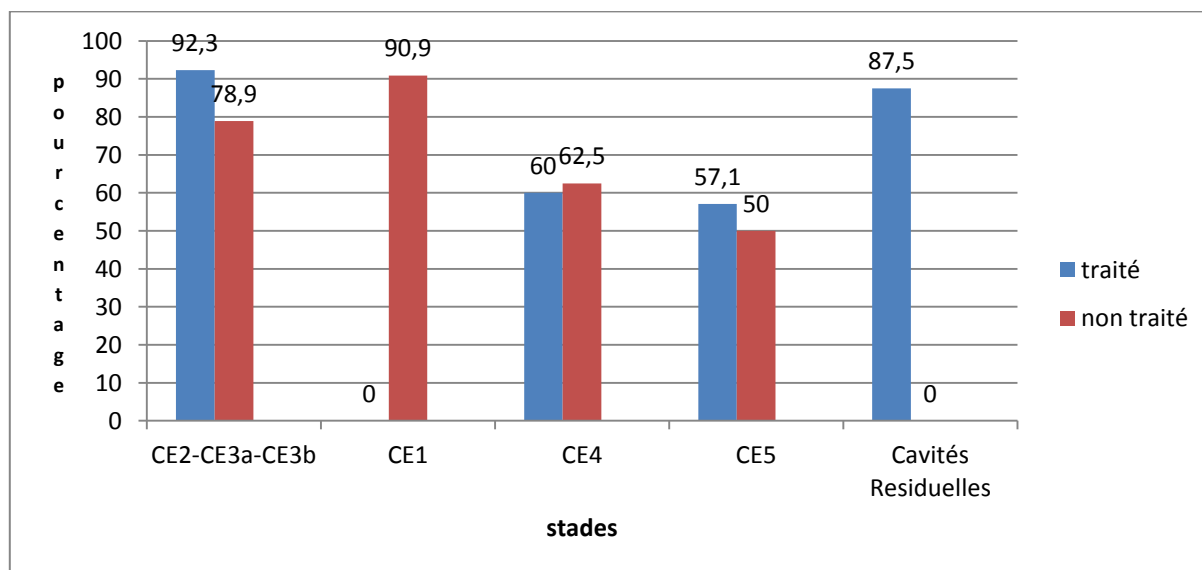
##### • Patients précédemment traités pour EK :

Sur les 32 patients précédemment traités pour l'EK, 78,2% avaient une sérologie positive à la fois sur ELISA et WB. Il est à noter que parmi ces patients traités précédemment, un seul des 8 patients ayant des cavités résiduelles/cicatrice d'une chirurgie antérieure pour EK était séronégatif et un patient séronégatif avait un kyste CE3b dans la rate.

##### • Patients non traités n=70 :

Sur les 70 patients non traités précédemment, 21 (30,0%) étaient séronégatifs à la fois sur ELISA et WB, 6 (8,6%) n'avaient qu'une sérologie ELISA positive, 41 (58,6%) étaient séropositifs avec les deux tests et pour 2 résultats non obtenus pour 2 patients.

• Une (4,3%) des personnes qui ont été exclues de l'EK avait des résultats ELISA et WB positifs.



**Figure 44 : Pourcentage de patients séropositifs non traités et traités précédemment avec une sérologie ELISA positive selon le stade du kyste**

## B. Discussion

Le diagnostic de l'EK repose principalement sur des méthodes radiologiques et immunologiques<sup>[205]</sup>. Toutefois, comme les antigènes ne peuvent pas être standardisés, des problèmes de sensibilité, de spécificité et de cohérence des tests sérologiques sont souvent rencontrés<sup>[206-207]</sup>. Il existe un consensus sur la faible spécificité des tests sérologiques couramment utilisés et sur la détection des anticorps anti-*E. granulosus* longtemps après la chirurgie ce qui provoque des difficultés d'interprétation. Le Western Blott (WB), plus spécifique, est utilisé comme test de confirmation dans de nombreux laboratoires pour un diagnostic fiable en plus de l'ELISA<sup>[206]</sup>. Dans une étude menée en Turquie, la sensibilité et la spécificité du kit WB d'E.G pour 25 cas d'EK ont été calculées respectivement à 92,0% et 100,0%<sup>[208]</sup>.

Dans notre étude, 78,2% des patients précédemment traités pour l'EK étaient positifs pour les techniques ELISA et WB et 58,6% non précédemment traités l'étaient également, Tandis que dans 8,6% des cas il y'avait une discordance entre les résultats des deux techniques. Étant donné que la spécificité de tous les tests est limitée par des réactions croisées dues à d'autres helminthoses, malignités, cirrhose du foie et présence d'anticorps anti-P-1, il existe un consensus selon lequel les tests de confirmation doivent être utilisés dans des cas douteux<sup>[185]</sup>. Multiplier les méthodes d'examen pour un même échantillon de sérum est recommandé pour un diagnostic plus fiable<sup>[209]</sup>. Le WB est un test spécifique généralement recommandé pour la confirmation après un test initial sensible tel qu'ELISA

dans le diagnostic immunologique de l'EK <sup>[210]</sup>.

Une étude a été menée en Turquie en 2005 par Akisu et al <sup>[211]</sup> sur la prévalence apparente de l'EK selon différentes procédures de diagnostic, comparant ainsi le WB et ELISA et l'échographie dans le cadre de dépistage de masse d'EK. Leurs résultats ont soutenu que WB est plutôt difficile et non réalisable en tant que test de dépistage de masse et ne peut être efficace pour la confirmation en particulier dans les cas asymptomatiques. Et que l'échographie reste l'examen de choix dans ce type d'enquêtes suivi d'une confirmation par ELISA pour les cas suspects.

Bien que les méthodes sérologiques soient généralement efficaces, les résultats de WB et ELISA dans notre étude ne l'ont pas entièrement confirmé. En effet, La séroprévalence (ELISA et WB positives) calculée de notre série se situe à 1,5% pour une prévalence évaluée à 1,9%. L'analyse des résultats sérologiques selon les stades de kystes démontre que l'activité kystique ne peut être évaluée par sérologie car plus de 50,0% des sujets présentant des kystes spontanément inactivés et qui restent statiquement inactifs dans plus de 97,0% des cas <sup>[212]</sup> et plus de 85,0% des sujets présentant des cavités résiduelles post chirurgicales- des cicatrices avaient une sérologie positive dans notre population.

Ces patients doivent être correctement diagnostiqués comme n'ayant pas une infection active, et doivent être surveillés uniquement au fil du temps, en évitant des traitements coûteux et risqués comme la chirurgie.

## IV. L'ANALYSE DES RESULTATS DU GENOTYPAGE

### A. Résultats

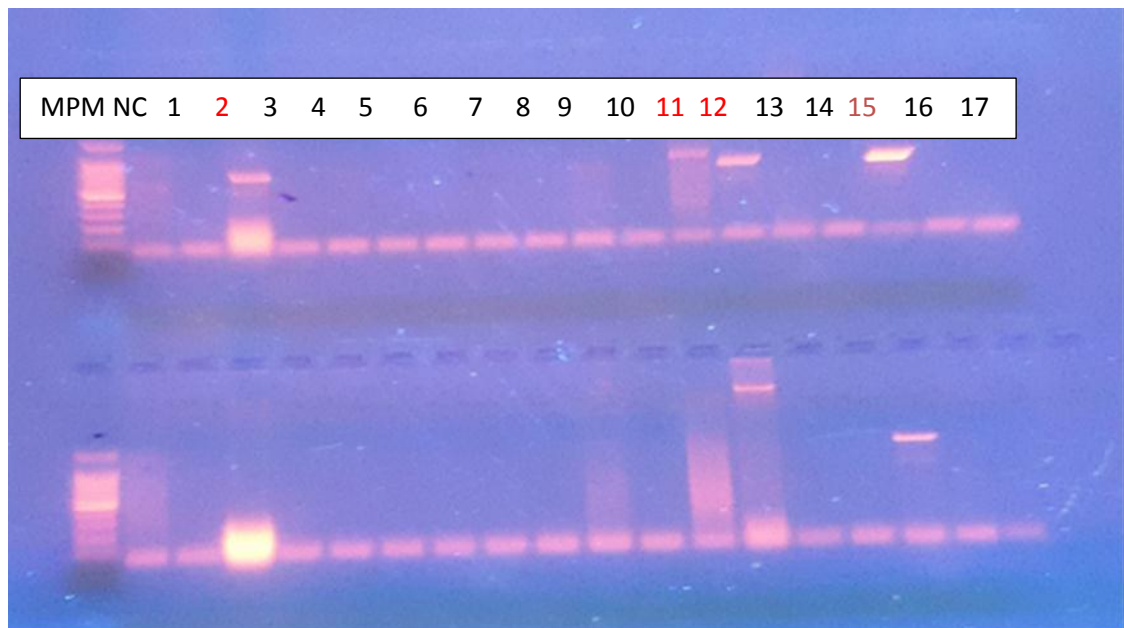
Le liquide du kyste a été obtenu à partir de 13 lésions et a été évalué par microscopie et PCR. Trois lésions suspectes ont été exclues de l'EK en raison de la microscopie négative et de la PCR ; L'un de ces patients présentait un kyste liquide suspect, accompagné d'un kyste CE5 et d'une sérologie positive ; par conséquent, la nature non parasitaire du kyste liquide ne pouvait pas être déterminée par le résultat sérologique. La négativité de la microscopie et de la PCR du liquide aspiré à partir de 4 lésions de patients ayant des antécédents de chirurgie et des images suspectes de rechute a permis d'exclure la rechute et de classer les lésions comme cavités résiduelles.

Sur les 6 autres liquides de kyste on trouvait des protoscolex sur microscopie. Parmi ceux-ci, 5 étaient également positifs par PCR et identifiés comme génotype G1 (*E. granulosus* s.s, souche de mouton).

L'électrophorèse sur gel d'agarose des produits de la PCR multiplex est présentée en figure 45.

**Tableau 15 : Résultats du génotypage pour les 5 prélèvements où le matériel génétique a été amplifié**

Génotype/ Espèce	<i>E.</i> <i>granulosus</i> <i>s.s</i> (G1-G3)	<i>E. equinus</i> (G4)	<i>E. ortleppi</i> (G5)	<i>E.</i> <i>canadensis</i> (G6/G7)	<i>E.</i> <i>canadensis</i> (G8/G10)
<b>Nombre</b>	5	0	0	0	0
<b>Pourcentage total</b>	100%	0%	0%	0%	0%



**Figure 45 : Electrophorèse sur gel d'agarose 2% des produits de la PCR multiplex obtenus.**

Aucune coïnfection par un autre génotype (*E. equinus* (G4), *E. ortleppi* (G5), *E. canadensis* (G6/G7), *E. canadensis* (G8/G10)) n'a été retrouvée.

Le rendement de notre technique d'analyse moléculaire a été de 30%, et ce avec 2 amplifications pour chaque échantillon.

- **Colonne 1 : marqueur de poids moléculaire (100 bp Promega)**
- **Colonne 2-18 : ADN extrait des kystes hydatiques**
- **Colonnes négatives : aucun matériel amplifié.**

## **B. Discussion**

Le génotypage d'*E.G* est nécessaire à tout programme de contrôle de l'EK<sup>[45]</sup>. Ainsi, parmi les différentes actions à entreprendre pour contrôler la transmission d'*E.G* et réduire son incidence, le génotypage des souches animales et humaines du parasite est un point majeur. Des différences cliniques notables ont été observées pour les différents agents de l'EK<sup>[213-214-215]</sup>.

De même l'infectivité est variable d'un génotype à l'autre. *EG s.s.* auquel se rattache la souche ovine G1, semble montrer une forte affinité pour les hôtes humains comme en témoigne sa haute prévalence mondiale <sup>[3]</sup>.

Le profil génotypique marocain d'*E.G* d'origine animale est représenté par le complexe *E.G s.s.* où domine largement le génotype G1 (91,4%) suivi par les génotypes G3 (2,6%) et G2 (1,7%) <sup>[4]</sup>. Les bovins et les ovins essentiellement, jouent le rôle de réservoir de ces souches hautement infectantes pour l'homme, ce qui pourrait contribuer à expliquer l'incidence élevée de l'EK humaine dans le pays.

La présente étude prouve pour la première fois au Maroc, l'existence du complexe *E.G s.s.* chez l'homme. Ceci tend à renforcer l'hypothèse selon laquelle les génotypes du réservoir animal ont le potentiel d'affecter la dynamique de transmission du parasite à l'homme, notamment en favorisant son infection.

Les résultats permettent également d'appuyer l'hypothèse selon laquelle, il existe une susceptibilité particulière des humains au complexe *E.G s.s.* expliquant sa prévalence élevée ; Ce complexe est retrouvé avec une fréquence de 88,44% <sup>[3]</sup> à travers le monde. Dans cette étude tous les patients génotypés avec succès hébergeaient le complexe G1-G3, ce qui semble indiquer une fréquence élevée de ce dernier chez l'homme au Maroc.

Les données épidémiologiques régionales sont en concordance avec les résultats de l'étude. En Algérie, les recherches menées sur les génotypes chez l'homme ont isolé le complexe G1-G3 dans 100% des échantillons analysés (soit 8 au total) <sup>[102,103]</sup>. En Tunisie les mêmes résultats ont été rapportés <sup>[98, 183,216]</sup>, néanmoins un cas de co-infection G1-G6 a été rapporté en 2016 <sup>[97]</sup>. L'existence du génotype G6 au Maroc n'est pas à exclure, d'autant plus qu'il représente la deuxième souche la plus impliquée en matière d'EK humaine dans le monde <sup>[3]</sup> et que ses hôtes intermédiaires de prédilection (camélidés, bovins, caprins) sont présents au Maroc.

Ce génotype a été décrit comme présentant un développement précoce chez le chien <sup>[217,218]</sup> en comparaison avec *E.G s.s.* Sa découverte au Maroc pourrait influencer les programmes de contrôle de la maladie (Augmentation de la fréquence des vermifugations chez les chiens à risque...). Le vaccin EG95 qui pourrait aider au contrôle de la transmission du KH utilise une protéine recombinante clonée à partir de matériel hydatique du génotype G1 originaire de Nouvelle-Zélande <sup>[219]</sup>. Des études récentes ont révélé que l'antigène vaccinal

protecteur (EG95), développé pour le génotype G1, est immunologiquement différent des antigènes du génotype G6 <sup>[220]</sup>. Des recherches supplémentaires seront nécessaires pour déterminer si le vaccin EG95 actuel serait efficace contre les génotypes G6 ou G7, ou s'il sera nécessaire, et possible, de développer des vaccins spécifiques au génotype. A fortiori, les différences biologiques entre les espèces et les génotypes doivent conduire à une modification des méthodes utilisées dans les programmes de lutte contre la maladie, en prenant en considération les profils génotypiques des agents du KH.

La technique de PCR multiplex développée par Boubaker et al. <sup>[183]</sup>, constitue une méthode fiable pour le génotypage d'échantillons de kyste hydatique (liquide ou endocyste), mais ne permet pas la discrimination séparée des génotypes G1, G2 et G3.

Les études menées par Azlaf et al. <sup>[3]</sup> et El Berbri et al <sup>[221]</sup> ont eu recours au séquençage des gènes mitochondriaux *cox1* et *nad1*, pour déterminer précisément ces génotypes. Dans cette étude les échantillons ont été identifiés comme appartenant au complexe G1-G3, suivant les suggestions de certains auteurs impliquant que les génotypes G1, G2 et G3 devraient être regroupés en un seul complexe (*E.G sensu stricto*), du fait de leur distribution mondiale, de l'absence de spécificité d'HI et de leur existence sympatrique <sup>[16,222]</sup>. Une identification séparée de ces génotypes chez l'homme seraient néanmoins susceptible, de rendre compte de façon plus précise des relations entre les souches humaines et animales du parasite, et leur influence sur sa transmission à l'homme.

Le faible rendement de la technique employée dans notre étude, contraste avec les données fournies par Boubaker et al. <sup>[183]</sup> concernant la sensibilité de cette méthode, et peut être expliqué par une mauvaise technique de prélèvement au moment de la chirurgie et/ou du traitement percutané, ou à une mauvaise conservation des échantillons au niveau du laboratoire.

La région de Meknès-Tafilalt, zone la plus endémique du royaume, a constitué un site privilégié pour notre étude. La connaissance du profil génotypique de l'EK dans les autres régions du pays, notamment à la recherche de la souche G6, constitue un point essentiel pour une analyse plus fine de l'épidémiologie moléculaire de l'EK au Maroc.

## V. PRISE EN CHARGE DES PATIENTS

### A. Résultats

La gestion clinique la plus appropriée a été proposée selon le stade du kyste et l'algorithme d'allocation de traitement, les options thérapeutiques ont été définies suivant les indications du Consensus d'experts de l'IWGE.

- Dans 42 cas nous avons opté pour l'abstention thérapeutique vue l'inactivité des kystes soit Wait and Watch (observer et attendre) avec une surveillance régulière sérologique et échographique.
- 24 patients ont reçu un traitement médical par ABZ.
- 23 patients ont bénéficié d'un traitement percutané au service de médecine C du CHU Avicenne.
- 13 cas ont été opérés au service de chirurgie B de la même formation hospitalière.

En fonction du traitement proposé et toujours en accord avec les recommandations du consensus d'experts de l'IWGE un bilan pré-thérapeutique a été prescrit ainsi avant le traitement médical les patients ont bénéficié d'une NFS et d'un bilan hépatique. Avant le traitement percutané, d'une NFS avec taux de plaquettes et d'un TP et d'un Bilan préopératoire incluant : NFS, ionogramme sanguin, urée et glycémie plasmatiques, bilan hépatique, taux de prothrombine, TCA, radiographie pulmonaire et ECG, avant la chirurgie.

### B. Discussion

L'indication retenue dans 41,1% des cas d'EK a été l'abstention thérapeutique ou «Wait and Watch», ceci s'explique par la fréquence relative des kystes inactifs. Quant au traitement médical, 22,7% des malades ont reçu un traitement à base d'ABZ.

L'indication du traitement percutané a été retenue dans 23,5% des cas soit presque le double de la chirurgie dont l'indication a été posée chez 12,7% des patients, alors qu'on rapporte qu'en 2008, au Maroc, 1598 patients ont été traités chirurgicalement et 25 cas, seulement, ont bénéficié d'un traitement percutané selon Derfoufi et al<sup>[4]</sup>.

En effet, le diagnostic et la prise en charge clinique de l'EK sont complexes et nécessitent une approche pluridisciplinaire, souvent disponible uniquement dans les centres de référence.

En 2003, le Groupe de travail informel de l'OMS sur l'échinococcose (WHO-IWGE) a mis en place une classification par consensus des stades des kystes EK, ce qui permet de classer sans équivoque tous les stades morphologiques des kystes <sup>[6]</sup>. Il regroupe également les stades du kyste en catégories cliniques pour guider la prise en charge rationnelle selon les stades de l'EK aux différentes options thérapeutiques, y compris la chirurgie, le traitement médical, le traitement percutané et l'abstention thérapeutique ou «Wait and Watch». Cette approche permet non seulement de choisir le traitement le plus approprié (ou l'abstention) en fonction des caractéristiques du kyste, des facteurs liés au patient et des ressources thérapeutiques disponibles, mais contribue également à rationaliser les dépenses pour la gestion de l'EK. Il se trouve que l'utilisation de cette approche par consensus et des classifications de l'EK de toute nature est encore très rare et la prise en charge de la maladie est souvent inappropriée, exposant les patients (et les systèmes de santé) à des traitements, risques et coûts inutiles <sup>[7]</sup>. Au Maroc, le coût de la chirurgie pour l'EK abdominale a été estimé à 1500-3000 US \$ par patient <sup>[3, 4]</sup>. Les coûts indirects comprennent la réduction ou la perte de revenu due à l'hospitalisation et les complications et, non moins important, l'impact sur la qualité de vie du patient en raison des risques, des complications et du long séjour hospitalier associé à la chirurgie. Néanmoins, le traitement de l'EK au Maroc est encore presque exclusivement chirurgical, alors que d'autres options telles que le traitement percutané ne sont mises en œuvre que dans une minorité de cas <sup>[4]</sup>. Selon les données du Ministère de la Santé du Maroc, en 2014, le traitement percutané a été utilisé dans 1,8%, et le traitement médical dans 0,9% des cas d'EK.

Nos résultats, en montrant la forte prévalence et la transmission continue de l'EK dans les deux provinces étudiées du Moyen Atlas du Maroc, appuient la mise en œuvre des activités de contrôle par les autorités sanitaires nationales, et encouragent également l'acceptation et l'utilisation d'algorithmes de diagnostic basés sur l'imagerie plutôt que la sérologie et une approche de gestion par stade pour l'EK. En effet, l'activité kystique ne peut être évaluée par sérologie car plus de 50,0% des sujets présentant des kystes spontanément inactivés <sup>[212]</sup> et plus de 85,0% des sujets présentant des cavités résiduelles post chirurgicales-des cicatrices avaient une sérologie positive dans notre population.

Ces patients doivent être correctement diagnostiqués comme n'ayant pas une EK active, et doivent être surveillés uniquement au fil du temps, en évitant des traitements coûteux et risqués comme la chirurgie.

La formation ciblée de médecins locaux sur les techniques d'échographie dans le diagnostic et le suivi de l'EK serait un outil précieux.

Notre expérience montre également que les campagnes de dépistage de masse sont utiles pour évaluer la prévalence de référence, la dynamique et les facteurs de risque d'EK dans les zones endémiques et peuvent offrir une occasion précieuse pour mettre en place une formation ciblée pour les travailleurs de la santé locaux et l'éducation sanitaire pour la population générale.

Une équipe multidisciplinaire hautement coordonnée est essentielle et une planification pré-enquête systématique est absolument nécessaire. Un test préliminaire du questionnaire sur les facteurs de risque et éventuellement l'inclusion d'un sociologue dans l'équipe sont également recommandés pour mieux adapter les outils épidémiologiques aux habitudes et à la structure des communautés cibles et améliorer la fréquentation de tous les âges et genres. Si notre étude répondait à tous les critères éthiques elle présentait par ailleurs quelques limites :

- Premièrement, la population d'échantillons comprenait un pourcentage plus faible de personnes jeunes (<20 ans) et un pourcentage plus élevé de personnes d'âge moyen (40-60 ans) que la population générale enregistrée dans les provinces étudiées, et aussi plus de femmes que de mâles ont été dépistées.

- Deuxièmement, l'échantillon présélectionné a été auto-sélectionné en raison du caractère volontaire de la participation, ce qui aurait pu influencer l'estimation dans les deux sens.

**CONCLUSION  
ET  
RECOMMANDATIONS**

L'échinococcose kystique est une zoonose parasitaire négligée avec un impact socio-économique considérable sur les communautés pastorales touchées.

L'EK est endémique dans toute la Méditerranée, y compris au Maroc. La région du Moyen Atlas est la zone où l'infection humaine et animale est la plus répandue de tout le pays.

L'incidence annuelle la plus élevée d'EK chez l'Homme est enregistrée dans les provinces d'Ifrane et El Hajeb. Cependant, les statistiques hospitalières risquent de sous-estimer sa prévalence réelle, car une proportion des cas n'est pas recensée sur les registres officiels et n'a pas accès aux soins médicaux.

En 2012, notre projet pilote sous la tutelle de l'OMS sur la prise en charge clinique de l'EK au Maroc a été lancé dans le but d'estimer la prévalence de l'EK abdominale humaine dans certaines communes rurales de ces provinces en utilisant le dépistage échographique et en encourageant l'utilisation d'une évaluation centrée sur l'EK selon le consensus d'experts OMS-IWGE par les médecins locaux.

Au total, 5367 personnes ont reçu des échographies abdominales pendant quatre campagnes en avril-mai 2014 au cours desquelles, 24 médecins généralistes locaux ont reçu plus que 24 heures de formation pratique et 143 séances d'éducation sanitaire ont été réalisées pour les populations locales.

-Nous avons trouvé **une prévalence globale de 1,9%**. La prévalence était significativement plus élevée dans les communes rurales étudiées d'Ifrane que d'El Hajeb (2,6% contre 1,3%).

-Dans cette étude tous les patients génotypés avec succès hébergeaient le **complexe G1-G3**, ce qui semble indiquer une fréquence élevée de ce dernier chez l'homme au Maroc ce qui correspond au profil génotypique d'origine animale dominant au Maroc

- **Les kystes EK étaient principalement en phase d'inactivité**, en particulier dans les groupes d'âge plus avancés. Cependant, des kystes actifs étaient présents aussi chez les adultes, ce qui indique une infestation continue. La province de résidence était le seul facteur de risque constamment associé à l'infection à EK.

- **L'activité kystique ne peut être évaluée par sérologie** car plus de 50,0% des sujets présentant des kystes spontanément inactivés et plus de 85,0% des sujets présentant des cavités résiduelles post chirurgicales ou des cicatrices avaient une sérologie positive dans notre série.

Les patients qui présentent des kystes en phase d'inactivité ou encore des cavités résiduelles doivent être correctement diagnostiqués comme n'ayant pas une infection active, et doivent être surveillés uniquement au fil du temps, en évitant des traitements coûteux et risqués comme la chirurgie. D'ailleurs, dans notre série 41,1%, ne nécessitait aucun traitement et l'attitude retenue selon le consensus d'experts OMS-IWGE était l'abstention thérapeutique. Et dans 22,7% des cas un traitement médical a été indiqué. Soit dans plus de 63,8% aucun traitement invasif n'a été jugé indispensable.

-Nos résultats montrent **une forte prévalence et une transmission environnementale continue** de l'EK dans les provinces étudiées du Moyen Atlas du Maroc, favorisant ainsi la nécessité de mettre en œuvre des activités de contrôle régional par les autorités sanitaires nationales, et encourageant le recours aux la validation des algorithmes universels de diagnostic et de traitement basés sur l'échographie pour l'EK.

La formation ciblée de médecins locaux sur les techniques d'échographie dans le diagnostic et le suivi de l'EK serait un outil précieux.

Notre expérience montre également que les **campagnes de dépistage** de masse sont utiles pour évaluer la prévalence de référence, la dynamique et les facteurs de risque d'EK dans les zones endémiques et offrent l'occasion de mettre en place une formation ciblée pour le personnel de santé local et **l'éducation sanitaire** pour la population générale. Une équipe multidisciplinaire coordonnée est essentielle et une planification pré-enquête systématique est nécessaire. Un test préliminaire du questionnaire sur les facteurs de risque et éventuellement l'inclusion d'un sociologue dans l'équipe sont également recommandés pour mieux adapter les outils épidémiologiques aux habitudes et à la structure des communautés cibles et améliorer la fréquentation de tous les âges et genres.

# RÉSUMÉ

**Titre : EPIDEMIOLOGIE ET NOUVELLE PRISE EN CHARGE DU KYSTE HYDATIQUE DANS LA REGION MEKNES TAFILALET**

**Auteur : Dr. Tahiri Sara**

**Mots clés : Echinococcose kystique, dépistage, Prévalence, Echographie, sérologie, Génotypage.**

**Structure de recherche : Centre de recherche en Biothecnologie médicale et d'innovation thérapeutique. Bio Nova**

L'échinococcose kystique est une zoonose parasitaire négligée avec un impact socio-économique considérable sur les communautés rurales touchées. L'EK est endémique dans toute la Méditerranée, y compris au Maroc. Le Moyen Atlas est la zone où l'infection humaine et animale est la plus répandue. L'incidence annuelle la plus élevée d'EK chez l'Homme est enregistrée dans les provinces d'Ifrane et El Hajeb. Cependant, les statistiques hospitalières sous-estiment la prévalence réelle de l'infection, car une proportion des cas n'est pas recensée sur les registres officiels et ne parvient pas aux soins médicaux.

**Méthodologie et Principales constatations :** En 2012, un projet sur la prise en charge clinique de l'EK au Maroc a été lancé pour estimer la prévalence de l'EK abdominale humaine dans certaines communes rurales de ces provinces en utilisant le dépistage échographique et en encourageant l'utilisation d'une évaluation centrée EK selon le consensus d'experts OMS-IWGE par les médecins locaux. Au total, 5367 personnes ont reçu des échographies abdominales pendant quatre campagnes en avril-mai 2014, 24 médecins généralistes locaux ont reçu > 24 heures de formation pratique et 143 séances d'éducation sanitaire ont été réalisées pour les populations locales. Nous avons trouvé une prévalence globale de 1,9%. La prévalence était significativement plus élevée dans les communes rurales étudiées d'Ifrane que d'El Hajeb (2,6% contre 1,3%). Les kystes EK étaient principalement en phase d'inactivité, en particulier dans les groupes d'âge avancés. Cependant, des kystes actifs étaient présents chez les adultes, ce qui indique une infestation continue. La province de résidence était le seul facteur de risque statistiquement associé à l'infection à EK.

**Conclusions / Intérêts :** Nos résultats montrent une forte prévalence et une transmission environnementale continue de l'EK dans les provinces étudiées du Moyen Atlas du Maroc, soutenant la nécessité d'entreprendre des activités de contrôle dans la région par les autorités sanitaires nationales, et encourageant la validation des algorithmes de diagnostic et de traitement basés sur l'imagerie pour l'EK aux niveaux national et local.



# **ABSTRACT**

**Title: EPIDEMIOLOGY AND NEW MANAGEMENT OF THE HYDATIC CYST IN THE REGION MEKNES TAFILALET**

**Author: Dr. Tahiri Sara**

**Keywords : Cystic Echinococcus, prevalence, screening, ultrasound, serology, genotyping.**

**Research structure: Research Center in medical Biothechnology and therapeutic innovation. Bio Nova**

Cystic echinococcosis (CE) is a neglected parasitic zoonosis with considerable socioeconomic impact on affected pastoral communities. CE is endemic throughout the Mediterranean, including Morocco, where the Mid Atlas is the most prevalent area for both human and animal infection. The highest hospital annual incidence of human CE is recorded in the provinces of Ifrane and El Hajeb. However, hospital-based statistics likely underestimate the real prevalence of infection, as a proportion of cases never reach medical attention or official records.

### **Methodology/Principal findings**

In 2012, a project on clinical management of CE in Morocco was launched with the aims of estimating the prevalence of human abdominal CE in selected rural communes of the above-mentioned provinces using ultrasound screening and training local physicians to implement ultrasound-based focused assessment and rational clinical management of CE according to the WHO-IWGE Expert Consensus. A total of 5367 people received abdominal ultrasound during four campaigns in April-May 2014. During the campaigns, 24 local general practitioners received >24 hours of hands-on training and 143 health education sessions were organized for local communities. We found an overall CE prevalence of 1.9%, with significantly higher values in the rural communes of Ifrane than El Hajeb did (2.6% vs 1.3%;  $p < 0.001$ ). CE cysts were predominantly in inactive stage, especially in older age groups. However, active cysts were present also in adults, indicating acquisition of infection at all ages. Province of residence was the only risk factor consistently associated with CE infection.

### **Conclusions/Significance**

Our results show a high prevalence and on-going, likely environmental transmission of CE in the investigated provinces of Morocco, supporting the implementation of control activities in the area by national health authorities and encouraging the acceptance and divulgation of diagnosis and treatment algorithms based on imaging for CE at both national and local level.

## الملخص

**العنوان:** علم الأوبئة والإدارة الجديدة لمرض الاكياس المائية في المنطقة مكناس تافيلالت

**المؤلف:** د. الطاهري سارة

**الكلمات الرئيسية:** داء الاكياس المائية، الفحص، الانتشار، الفحص بالصدى، تحليل الأمصال، التتميط الجيني.

**مركز البحث:** مركز البحوث في علم الامراض الطبية والابتكار العلاجي. بيو نوبا

إن مرض الاكياس المائية هو أحد الأمراض الحيوانية الطفيلية المهمة التي لها تأثير اجتماعي واقتصادي كبير على المجتمعات القروية المتضررة. يتواجد مرض الاكياس المائية في جميع أنحاء البحر الأبيض المتوسط، بما في ذلك المغرب. الأطلس المتوسط هو المنطقة التي تنتشر فيها العدوى البشرية والحيوانية بكثرة. لقد تم تسجيل أعلى نسبة سنوية لمرض الأكياس المائية لدى البشر في محافظتي إفران والحاجب، ومع ذلك، فإن الإحصاءات الاستشفائية تقلل من شأن الانتشار الحقيقي للعدوى، حيث لا يتم تسجيل نسبة من الحالات في السجلات الرسمية ونسبة أخرى لا تحظى بالرعاية الطبية. المنهجية والنتائج الرئيسية:

في 2012، تم إطلاق مشروع بشأن الإدارة السريرية لمرض الاكياس المائية في المغرب بهدف تقدير مدي انتشار مرض الاكياس المائية البشري في بعض البلديات القروية في هذه المقاطعات باستخدام الفحص بالموجات فوق الصوتية وتشجيع استخدام تقييم وفقا لإجماع خبراء لمنظمة الصحة العالمية من قبل الأطباء WHO-IWGE المحليين.

وفي المجموع ، تلقي 5367 شخصا الموجات فوق الصوتية في البطن خلال أربع حملات في نيسان/ابريل- وخلال الحملات، تلقي 24 من الاطباء المحليين أكثر من 24 ساعة من التدريب العملي أيار/مايو 2014 وأجريت 143 دوره تثقيفيه صحية للسكان المحليين.

وجدنا انتشارا إجماليا 1.9%. وكان معدل الانتشار اعلي بكثير في البلديات (2.6% مقابل 1.3%) القروية في أفران مقارنة مع الحاجب وكانت الأكياس أساسا في مرحله عدم النشاط، وخاصة في الفئات العمرية المتقدمة ومع ذلك، كانت الأكياس النشطة موجودة أيضا عند البالغين، مما يدل على الإصابة المستمر وكانت مقاطعه الإقامة هي العامل الوحيد المرتبط إحصائيا بالعدوى.

# **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- [1]. Craig P, Budke C, Schantz P, Li T, Qiu J, Yang Y, et al. Human Echinococcosis: A Neglected Disease? *Tropical Medicine and Health*. 2007 ; 35(4):283-92.
- [2]. Brunetti E, Garcia HH, Junghanss T, International Ce Workshop in Lima P. Cystic echinococcosis: chronic, complex, and still neglected. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011; 5 (7): e1146.
- [3]. Azlaf R, Dakkak A. Epidemiological study of the cystic echinococcosis in Morocco. *Vet Parasitol*. 2006; 137(1-2):83-93.
- [4]. Derfoufi O, Akawa E, Elmaataoui A, Miss E, Esselmani H, Lyagoubi M, et al. Epidemiological profile of cystic echinococcosis in Morocco from 1980 to 2008. *Ann Biol Clin*. 2012; 70(4):457-61.
- [5]. Macpherson CN, Kachani M, Lyagoubi M, Berrada M, Shepherd M, Fields PF, et al. Cystic echinococcosis in the Berber of the Mid Atlas mountains, Morocco: new insights into the natural history of the disease in humans. *Ann Trop Med Parasitol*. 2004; 98(5):481-90.
- [6]. WHO.IWGE. International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological settings. *Acta Trop*. 2003; 85(2):253-61.
- [7]. Tamarozzi F, Nicoletti GJ, Neumayr A, Brunetti E. Acceptance of standardized ultrasound classification, use of albendazole, and long-term follow-up in clinical management of cystic echinococcosis: a systematic review. *Curr Opin Infect Dis*. 2014; 27(5):425-31.
- [8]. SMYTH J.P., 1968. In vitro studies and host specificity in *Echinococcus*. *Bulletin OMS*, 1968, 39, 5.
- [9]. LAUSIER P., 1987. Echinococcose à *Echinococcus Granulosus* en France : rappels épidémiologiques. Enquête dans un foyer des Hautes-Alpes. Th : Med.Vet. : Lyon : 047. 131p.

- [10]. ECKERT J, GEMMELL MA, MESLIN F-X, PAWLOWSKI ZS., 2001. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris World Organisation for Animal Health
- [11]. EUZEBY J., 1971. Les échinococcoses animales et leurs relations avec les échinococcoses de l'homme. Paris : Vigot Frères, 163 p
- [12]. BRONSTEIN. J.A, KLOTZ. F., 2005. Larval tapeworm's infections. EMC Maladies Inféctieuses 2 59–83. BRONSTEIN. J.A, KLOTZ. F., 2005. Larval tapeworm's infections. EMC Maladies Inféctieuses 2 59–83
- [13]. KHUROO M.S., 2002. Hydatid disease: status and recent advances. Annals of Saudi Medicine, 22,(1-2), 56-64
- [14]. CDC <https://www.cdc.gov/dpdx/az.html>
- [15]. THOMPSON R.C.A. AND LYMBERY A.J., 1996. Genetic variability in parasites and host-parasite interactions. Parasitology, 112: S7-S22.
- [16]. THOMPSON R.C.A., 2002. Presidential address: rediscovering parasites using molecular tools- towards revising the taxonomy of Echinococcus, Giardia and Cryptosporidium. Int. J. Parasitol, 32: 493-496.
- [17]. LE T.H., PEARSON M.S., BLAIR D., DAI N., ZHANG L.H., MCMANUS D.P., 2002. Complete mitochondrial genomes confirm the distinctiveness of the horse-dog and sheep dog strains of Echinococcus Granulosus. Parasitology, 124: 97-112.
- [18]. ROMIG T., DINKEL A., MACKENSTEDT U., 2006. The present situation of Echinococcus in Europe. Parasitol, Int. 55: S187-S191.
- [19]. XIAO N., QIU J., NAKAO M., LI T., YANG W., CHEN X., SCHANTZ P.M., CRAIG P.S., ITO A., 2005. Echinococcus shiquicus n. sp., a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. Int. J. Parasitol., 35, 693701.

- [20]. XIAO N., QIU J., NAKAO M., LI T., YANG W., CHEN X., SCHANTZ P.M., CRAIG P.S., ITO A., 2006. *Echinococcus shiquicus*, a new species from the Qinghai-Tibet plateau region of China: Discovery and epidemiological implications. *Parasitol, int.*, 55: S233-S236.
- [21]. HÜTTNER M, NAKAO M, WASSERMANN T, SIEFERT L, BOOMKER JD, DINKEL A, SAKO Y, MACKENSTEDT U, ROMIG T, ITO A. 2007. Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* (Cestoda: Taeniidae) from the African lion. *Int J Parasitol.* 38(7):861-8.
- [22]. THOMPSON R.C.A. AND LYMBERY A.J., 1988. The nature, extent and significance of variation within the genus *Echinococcus*. *Adv. Parasitol*, 27:210-258.
- [23]. ALVAREZ ROJAS C.A., ROMIG T., LIGHTOWLERS M. W., 2014. *Echinococcus granulosus sensu lato* genotypes infecting humans--review of current knowledge. *Int J Parasitol.* 44(1):9-18.
- [24]. SCHNEIDER, R., GOLLACKNER, B., SCHINDL, M., TUCEK, G., AUER, H., 2010. *Echinococcus canadensis G7* (pig strain): an underestimated cause of cystic echinococcosis in Austria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 82, 871–874.
- [25]. GUARNERA, E.A., PARRA, A., KAMENETZKY, L., GARCIA, G.GUTIERREZ, A., 2004. Cystic echinococcosis in Argentina: evolution of metacestode and clinical expression in various *Echinococcus granulosus* strains. *Acta Trop.* 92, 153–159.
- [26]. SADJJADI, S.M., MIKAEILI, F., KARAMIAN, M., MARAGHI, S., SADJJADI, F.S., SHARIAT- TORBAGHAN, S., KIA, E.B., 2013. Evidence that the *Echinococcus granulosus G6* genotype has an affinity for the brain in humans. *Int. J. Parasitol.* 43, 875–877.
- [27]. FEAGIN J.E., 2000. Mitochondrial genome diversity in parasites. *Int. J. Parasitol*, 30: 371-390.
- [28]. BURGER G., GRAY M.W., LANG B.F., 2003. Mitochondrial genomes: anything goes, *TRENDS Gen*, 19: 709-716.

- [29]. PRICHARD R., 1997. Application of molecular biology in veterinary parasitology. *Vet. Parasitol*, 71: 155-175.
- [30]. MCMANUS D.P., LE T.H., BLAIR D., 2004. Genomics of parasitic flatworms. *Int. J. Parasitol*, 34: 143-158.
- [31]. LE T.H., BLAIR D., MCMANUS D.P., 2000. Mitochondrial genomes of human helminthes and their use as markers in population genetic and phylogeny. *Acta Trop*, 77: 243-256.
- [32]. PONCE GORDO F. AND CUESTA BANDERA C., 1997. Differentiation of Spanish Strains of *Echinococcus Granulosus* using Larval Rostellar Hook Morphometry. *Int. J. Parasitol*, 27: 41-49.
- [33]. JIAO W., CHAI J., OSMAN I., QU Q., 1998. Characteristics of development and morphology of *Echinococcus Granulosus* of camel origin in north Xinjiang. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi*, 16: 204-208.
- [34]. FASIHI HARANDI M., HOBBS R.P., CASARAVILLA C., MOBEDI I., MORGAN-RYAN U.M., THOMPSON R.C.A., 2002. Molecular and morphological characterization of *Echinococcus Granulosus* of human and animal origin in Iran. *Parasitology*, 125: 367-373.
- [35]. AHMADI N.A. 2004. Using morphometry of the larval rostellar hooks to distinguish Iranian strains of *Echinococcus Granulosus* in Iran. *J. Helminthol*. 79: 119-125.
- [36]. AHMADI N. AND DALIMI A. 2006. Characterization of *Echinococcus Granulosus* isolates from human, sheep and camel in Iran. *Inf. Genet. Evol*. 6:85-90
- [37]. LYMBERY A.J. AND THOMPSON R.C.A., 1998. Electrophoretic analysis of genetic variation in *Echinococcus Granulosus* from domestic hosts in Australia. *Int. J. Parasitol*, 18: 803-811.
- [38]. LYMBERY A.J., THOMPSON R.C.A., HOBBS R.P., 1990. Genetic diversity and genetic differentiation in *Echinococcus Granulosus* (Batsch, 1786) from domestic and sylvatic hosts on the mainland of Australia. *Parasitology*, 101:283-289.

- [39]. LYMBERY A.J. AND THOMPSON R.C.A., 1988. Genetic differences between cysts of *Echinococcus Granulosus* from the same host. *Int. J. Parasitol*, 19: 961-964.
- [40]. SILES LUCAS M., CESAR BENITO M., CUESTA BANDERA C., 1996. *Echinococcus Granulosus*: genomic and isoenzymatic study of Spanish strains isolated from different intermediate hosts. *Vet. Parasitol*, 63: 273-282.
- [41]. TUREKOVA L., SNABEL V., D'AMELIO S., BUSI M., DUBINSKY P., 2003. Morphological and genetic characterization of *Echinococcus Granulosus* in the Slovak Republic. *Acta Trop*, 85: 223-229.
- [42]. NAJIMI B., 1995. *Echinococcus granulosus* : morphologie et polymorphisme enzymatique de populations parasites de l'Homme et des animaux d'élevage. Thèse 3ème cycle (D.E.S.) en Biologie, option Parasitologie, Rabat, Maroc.
- [43]. DAKKAK A., JAZIRI H., NAJIMI B., BENAZZOU T., 1995B. Genetic homogeneity within *Echinococcus Granulosus* from sheep, cattle and humans. *Proc. XVIIth Congress of Hydatidology. Limassol (Cyprus), Nov. 6-10.*
- [44]. OUDNI M., M'RAD S., MEKKI M., BELGUTH M., CABARET J., PRATLONG F., SAYADI T., NOURI A., MEZHOUD H., BABBA H., AZAIEZ R., 2004. Genetic relationships between sheep, cattle and human *Echinococcus Granulosus* infection in Tunisia *vet. Parasitol*, 121: 95-103
- [45]. MCMANUS D.P. AND BOWLES J., 1996. Molecular Genetic approaches to Parasite Identification: their Value in Diagnostic Parasitology and Systematics. *Int. J. Parasitol*, 26: 687-704.
- [46]. THOMPSON R.C.A., 1999. Hydatidosis eradication within insular systems: Tasmania. *Arch. int. Hidatid.* 33, 34-38.
- [47]. BOWLES J. AND MCMANUS D.P., 1993A. NADH dehydrogenase 1 gene sequence compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. *Int. J. Parasitol*, 23: 969-972.

- [48]. DINKEL A., NJOROGE E.M., ZIMMERMANN A., WALZ M., ZEYHLE E., ELMAHDI I.E., MAKENSTEDT U., ROMIG T., 2004. A PCR system for detection of species and genotypes of the *Echinococcus Granulosus*- complex, with reference to the epidemiological situation in eastern Africa. *Int. J. Parasitol*, 34: 645-653.
- [49]. NAKAO M, MCMANUS DP, SCHANTZ PM, CRAIG PS, ITO A. 2007. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology*; 134: 713–722.
- [50]. SCOTT J.C., STEFANIAK J., PAWLOWSKI Z.S., MCMANUS D.P., 1997. Molecular genetic analysis of human cystic hydatid cases from Poland: identification of a new genotypic group (G9) of *Echinococcus Granulosus*. *Parasitology*, 114: 37-43.
- [51]. HERWERDEN L.V., GASSER R.B., BLAIR D., 2000. ITS-1 ribosomal DNA sequence variants are maintained in different species and strains of *Echinococcus*. *Int. J. Parasitol*, 3. 157-169.
- [52]. BARDONNET K, PIARROUX R, DIA L, SCHNEEGANS F, BEURDELEY A, GODOT V, VUITTON DA. 2002. Combined eco-epidemiological and molecular biology approaches to assess *Echinococcus Granulosus* transmission to humans in Mauritania: occurrence of the 'camel' strain and human cystic echinococcosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 96(4):383-6.
- [53]. BARTH J.M., BARDONNET K., ELFEGOUN M.C., DUMON H., DIA L., VUITTON D.A., PIARROUX R., 2004. *Echinococcus Granulosus* strain typing in North Africa: comparaison of eight nuclear and mitochondrial DNA fragments. *Parasitology*, 128: 229-234.
- [54]. BARTH J.M., MORARIU S., KNAPP J., ILIE M.S., PITULESCU M., ANGHEL A., COSOROABA I., PIARROUX R., 2006. Genetic typing of *Echinococcus Granulosus* in Romania. *Parasitol. Res*. 98: 130-137.

- [55]. BREYER I., GEORGIEVA D., KURDOVA R., GOTTSTEIN B., 2004. Echinococcus Granulosus strain typing in Bulgaria: the GI genotype is predominant in intermediate and definitive wild host. *Parasitol.Res.* 93:127130.
- [56]. MORO, P.L., NAKAO, M., ITO, A., SCHANTZ, P.M., CAVERO, C., CABRERA, L., 2009. Molecular identification of Echinococcus isolates from Peru. *Parasitol. Int.* 58, 184–186.
- [57]. BOWLES J. AND MCMANUS D.P., 1993B. Rapid discrimination of Echinococcus species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method. *Mol. Biochem. Parasitol*, 57: 231-240.
- [58]. BOWLES J., BLAIR D., MCMANUS D.P., 1994. Molecular genetic characterization of the cervid strain (northern form) of Echinococcus Granulosus. *Parasitology*, 109: 215-221.
- [59]. ROSENZVIT M.C., ZHANG L.H., KAMENETZKY L., CANOVA S.G., GUARNEA E.A., MCMANUS D.P., 1999. Genetic variation and epidemiology of Echinococcus Granulosus in Argentina. *Parasitology*, 118: 523-530
- [60]. WACHIRA T.M., BOWLES J., ZEYHLE E., MCMANUS D.P., 1993. Molecular examination of the sympatry distribution of sheep and camel strains of Echinococcus Granulosus in Kenya. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 48: 473-479.
- [61]. ZHANG L.H., CHAI J.J., JIAO W., OSMAN Y., MCMANUS D.P., 1998A. Mitochondrial genomic markers confirm the presence of the camel strain (G6 genotype) of Echinococcus Granulosus in north western china. *Parasitology*, 116: 29-33.
- [62]. VARCASIA A., CANU S., LIGHTOWLERS M.W., SCALA A., GARIPPA G., 2006. Molecular characterization of Echinococcus Granulosus strains in Sardinia. *Parasitol, Res.*, 98: 273-277.
- [63]. ZANINI F., GONZALO R., PEREZ H., APARICI I., SOTO X., GUERRERO J., CERRONE G., ELISSONDO C., 2006. Epidemiological surveillance of ovine hydatidosis in Tierra del Fuego, Patagonia Argentina, 1997-1999. *Vet. Parasitol*, 138: 377-381.

- [64]. GASSER R.B., ZHU X., MCMANUS D.P., 1998B. Display of sequence variation in PCR-amplified mitochondrial DNA regions of *Echinococcus* by single-strand conformation polymorphism. *Acta Trop.*, 71: 107-115.
- [65]. ZHANG L., GASSER R.B., ZHU X., MCMANUS D.P., 1999. Screening for different genotypes of *Echinococcus Granulosus* within China and Argentina by single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. *Trans R Soc Trop Md Hyg*, 93: 258-260.
- [66]. ROSENZVIT M.C., CANOVA S.G., KAMENETZKY L., LEDESMA B.A., GUARNERA E.A., 1997. *Echinococcus Granulosus*: Cloning and characterization of a Tandemly Repeated DNA Element. *Exp. Parasitol*, 87: 65-68.
- [67]. ROSENZVIT M.C., CANOVA S.G., KAMENETZKY L., GUARNEA E.A., 2001. *Echinococcus Granulosus*: intraspecific genetic variation assessed by a DNA repetitive element. *Parasitology*, 123: 381-388.
- [68]. KAMENETZKY L., GUTIERREZ A.M., CANOVA S.G., HAAG K.L., GUARNERA E.A., PARRA A., GARCIA G.E. AND ROSENZVIT M.C., 2002. Several strains of *Echinococcus Granulosus* infect livestock and human in Argentina. *Inf.Gen.Evol.* 2: 129-136.
- [69]. Scott J.C. and McManus D.P., 1994. THE RANDOM AMPLIFICATION OF POLYMORPHIC DNA CAN discriminate species and strains of *Echinococcus Granulosus*. *Trop. Med. Parasitol*, 45: 1-4.
- [70]. SILES LUCAS M. CUESTA BANDERA C., CESAR BENITO M., 1993. Random amplified polymorphic DNA technique for speciation studies of *Echinococcus Granulosus*. *Parasitol, Res.*, 79: 343-345.
- [71]. SILES LUCAS M., FELLEISEN R., CUESTA-BANDERA C., GOTTSTEIN B., ECKERT J., 1994. Comparative genetic analysis of Swiss and Spanish isolates of *Echinococcus Granulosus* by Southern hybridization and random amplified polymorphic DNA technique. *Appl. Parasitol*, 35: 107117.

- [72]. ORTONA E., MARGUTTI P., RIGARO R., SIRACUSANO A., 1996. Genetic variability in Italian sheep isolates of *Echinococcus Granulosus*. *Appl. Parasitol*, 37: 205-208.
- [73]. REDDY Y.A., RAO J.R., BUTCHAIHAH G., SHARMA B., 1998. Random amplified polymorphic DNA for the specific detection of bubaline *Echinococcus Granulosus* by hybridization assay. *Vet. Parasitol*, 79: 315-323.
- [74]. BARTHOLOMEI-SANTOS M.L., HEINZELMANN L.S., OLIVEIRAR.P. CHEMALE G., GUTIERREZ A.M., KAMENETZY L., HAAG K.L., ZAH A., 2003. Isolation and characterization of microsatellites from the tapeworm *Echinococcus Granulosus*. *Parasitology*, 126: 599-605.
- [75]. GONZALES L.M., MWAMBETE D.K., MONTERO E., ROSENZVIT M.C., MCMANUS D.P., GARATE T., CUESTA-BANDERA C., 2002. Further molecular discrimination of Spanish strains of *Echinococcus Granulosus*. *Exp. Parasitol*, 102: 46-56.
- [76]. SCHNEIDER R, GOLLACKNER B, EDEL B, SCHMID K, WRBA F ET AL., 2008. Development of a new PCR protocol for the detection of species and genotypes (strains) of *Echinococcus* in formalin fixed, paraffin-embedded tissues. *Int J Parasitol* 38: 1065–1071.
- [77]. BAELE M, VAN DEN BULCK K, DECOSTERE A, VANDAMME P, HAÏNNIEN ML ET AL., 2004. Multiplex PCR assay for differentiation of *Helicobacter felis*, *H. bizzozeronii*, and *H. salomonis*. *J Clin Microbiol* 42: 1115–1122.
- [78]. KITAMURA S, JUNG SJ, OH MJ, 2006. Differentiation of lymphocystis disease virus genotype by multiplex PCR. *J Microbiol* 44: 248–253.
- [79]. LOGOTHETI M, KOTSOVILI-TSELENI A, ARSENIS G, LEGAKIS NI, 2008. Multiplex PCR for the discrimination of *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. Niger* and *A. terreus*. *J Microbial Methods* 76: 209–211.

- [80]. BOUBAKER G, MACCHIAROLI N, PRADA L, CUCHER MA ROSENZVIT MC, I. ZIADINOV, P. DEPLAZES, U. SAARMA, H. BABBA, B. GOTTSTEIN, M. SPILLOTIS, 2013. A Multiplex PCR for the Simultaneous Detection and Genotyping of the Echinococcus Granulosus Complex. PLoS Negl Trop Dis 7(1)
- [81]. Heath D.D - The migration of oncospheres of *Taenia pisiformis*, *T. serialis* and *Echinococcus Granulosus* within the intermediate host. Int J Parasitol, 1971, 1, (2),145-52
- [82]. KACHANI M., OUHELLI H., KADIRI A. & EL HASNAOUI M., 1997. Prevalence of hydatid cysts in livestock in Morocco and potential role of these intermediate hosts in transmission of cystic echinococcosis. In Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special, reference to Morocco (F.L. Andersen, H. Ouhelli & M. Kachani, Eds). Brigham Young University, Print Services, Provo, Utah, 156-168.
- [83]. COUDERT J. ET EUZEBY J., 1966. Echinococcoses larvaires. G.M de France. Tome 7612, 2409-2426.
- [84]. ANDERSON FL, OUHELLI H, KACHANI M., 1997. Compendium on cystic Echinococcosis in Africa and in Middle Eastern countries with special reference to Morocco. Provo‘ Brigham Young University;
- [85]. SWEATMAN GK, WILLIAMS RJ. 1963. Comparative studies on the biology and morphology of *Echinococcus Granulosus* from domestic livestock, moose and reindeer. Parasitology. 53:339-90.
- [86]. FAO/UNEP/OMS, 1981. Guidelines for surveillance prevention and control of echinococcosis/ hydatidosis
- [87]. GEMMELL MA, ROBERTS MG, BEARD TC, CAMPANO DIAZ S, LAWSON JR, NONNEMAKER JM., 2001. Control of *Echinococcus Granulosus*. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS, editors. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris World Organisation for Animal Health. p. 195 – 203.

- [88]. GEMMELL MA, ROBERTS MG, BEARD TC, CAMPANO DIAZ S, LAWSON JR, NONNEMAKER JM., 2001. Formulating effective and cost-effective policies in the planning phase for permanent control of *Echinococcus granulosus*. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F-X, Pawlowski ZS, editors. WHO/OIE manual on echinococcus in humans and animals: a public health problem of global concern. Paris: World Organisation for Animal Health, p. 209–19.
- [89]. LAMBERTI R, CAVAGION L, GATTI A, CALVO C, GINO L, PUCHES VV, ALVAREZ AR, ALVAREZ E, CACHAU MG, MORETE M, LARRIEU E., 2014. Humoral response and evolution of *Echinococcus* infection in experimentally infected sheep. *Rev Bras Parasitol Vet.* 23(2):237-40.
- [90]. THOMPSON, MAC MANUS D.P. 2001. Aetiology: parasites and life cycles. In WHO/OIE Manual on *Echinococcus* in Human and Animals.
- [91]. LUBINSKY G., 1960. The variability of the number of rostellar hooks in two species of *Echinococcus* from North America. *Canadian journal of zoology*, 38:605-612.
- [92]. EUZEBY J., 1966. Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leur incidence sur la pathologie humaine. Tome III ; Maladies dues aux plathelminthes. Vigot frères éditeurs. Paris.
- [93]. SCHANTZ P.M., 1986. Hydatid disease (echinococcosis). In *Clinical medicine*, J.A. Spittell (éd.). Harper and Row, Philadelphia 3:1-12.
- [94]. SCHANTZ P.M., CHAI J., CRAIG P.S., ECKERT J., JENKINS D.J., MACPHERSON C.N.L. & THAKUR A., 1995. Epidemiology and control of hydatid disease. In *Echinococcus and hydatid disease* (R.C.A. Thompson & A.J. Lymbery, Eds). CAB International, Wallingford, Oxon, 233-331.
- [95]. WILSON M.E. 1991. *A World Guide to Infections. Diseases, Distribution, Diagnosis*. Oxford University Press, 769 pp.
- [96]. ECKERT J, GEMMELL MA, MESLIN FX. 2002. WHO/OIE Manual on *Echinococcosis* in Humans.

- [97]. CHAHED MK, BELLALI H, TOUINSI H, CHERIF R, BEN SAFTA Z, ESSOUSSI M, KILANI T. 2010. Distribution of surgical hydatidosis in Tunisia, results of 2001-2005 study and trends between 1977 and 2005. *Arch Inst Pasteur Tunis.* ; 87(1-2):43-52.
- [98]. M'RAD S, FILISETTI D, OUDNI M, MEKKI M, BELGUITH M, NOURI A, SAYADI T, LAHMAR S, CANDOLFI E, AZAIEZ R, MEZHOUD H, BABBA H. 2005. Molecular evidence of ovine (G1) and camel (G6) strains of *Echinococcus Granulosus* in Tunisia and putative role of cattle in human contamination. *Vet Parasitol.* May 15; 129(3-4):267-72.
- [99]. OUDNI-M'RAD M, M'RAD S, KSIA A, LAMIRI R, MEKKI M, NOURI A, MEZHOUD H, BABBA H. 2016. First molecular evidence of the simultaneous human infection with two species of *Echinococcus Granulosus sensu lato*: *Echinococcus Granulosus sensu stricto* and *Echinococcus canadensis*. *Parasitol Res.* 115(3):1065-9.
- [100]. SHAMBESH M.K., 1997. Human cystic echinococcosis in North Africa (excluding Morocco). In: Anderson F.L., Ouhelli H., Kachani M., (eds.), *Compendium on Cystic Echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special reference to Morocco*. Brigham Young University, Print Services, Provo, UT 84602, USA, pp. 223–244.
- [101]. SEIMENIS A., 2003. Overview of the epidemiological situation on echinococcosis in the Mediterranean region. *Acta. Trop.* 2 191-195.
- [102]. BARTH J.M., BARDONNET K., ELFEGOUN M.C., DUMON H., DIA L., VUITTON D.A., PIARROUX R., 2004. *Echinococcus Granulosus* strain typing in North Africa: comparison of eight nuclear and mitochondrial DNA fragments. *Parasitology* 128 229-234.
- [103]. MAILLARD S, BENCHIKH-ELFEGOUN MC, KNAPP J, BART JM, KOSKEI P, GOTTSTEIN B, PIARROUX R., 2007. Taxonomic position and geographical distribution of the common sheep G1 and camel G6 strains of *Echinococcus Granulosus* in three African countries. *Parasitol Res.* Feb; 100(3):495-503.

- [104]. ABD EL BAKI MH, EL MISSIRY AM, ABD EL AATY HE, MOHAMAD AA, AND AMINOU HA. 2009. Detection of G1 genotype of human cystic echinococcosis in Egypt. *J Egypt Soc Parasitol.* 39(3):711-21.
- [105]. ALAM-ELDIN YH, ABDEL AATY HE, AHMED MA. 2015. Molecular characterization of cystic echinococcosis: First record of G7 in Egypt and G1 in Yemen. *Acta Parasitol.* 60(4):662-5.
- [106]. TASHANI O.A., ZHANG L.H., BOUFANA B., JEGI A., MCMANUS D.P., 2002. Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus Granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 96 369-381.
- [107]. ABUSHHEWA MH, ABUSHHIWA MH, NOLAN MJ, JEX AR, CAMPBELL BE, JABBAR A, GASSER RB. 2010. Genetic classification of *Echinococcus Granulosus* cysts from humans, cattle and camels in Libya using mutation scanning-based analysis of mitochondrial loci. *Mol cell probes.* 24(6):346-51.
- [108]. CHAUVE M., HAMZA-CHERIF R., MARFOUA K., 1990. Parasitisme chez le dromadaire (*Camelus dromedarius*) en Algérie : enquête dans 4 wilayats areas (Adrar, Bechar, Laghouat, Ghardaia). *Maghreb Vét.*, 5, 35-36, 38.
- [109]. MACPHERSON C.N.L., WACHIRA T.W.M., 1997. Cystic echinococcosis in Africa south of the Sahara. In *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special, reference to Morocco* (F.L. Andersen, H. Ouhelli & M. Kachani, Eds). Brigham Young University, Print Services, Provo, Utah, 245-277.
- [110]. CASULLI A, ZEYHLE E, BRUNETTI E, POZIO E, MERONI V, GENCO F, FILICE C. 2010 Molecular evidence of the camel strain (G6 genotype) of *Echinococcus Granulosus* in humans from Turkana, Kenya. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 104(1):29-32.
- [111]. MAGAMBO J, NJOROGE E, ZEYHLE E. 2006. Epidemiology and control of echinococcosis in sub-Saharan Africa. *Parasitol Int.* 55 Suppl: S193-5.

- [112]. MACPHERSON C.N.L., SPOERRY A., ZEYHLE E., ROMIG T. AND GORFE M., 1989b. Pastoralists and hydatid disease: an ultrasound scanning prevalence survey in East Africa. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 84:243-7.
- [113]. BEURDELEY A., KANE B., SALEM A., CHOLLET J.-Y. 1997. Is hydatidosis a problem in Mauritania? *Arch. Int. Hidatid.* 32, 240.
- [114]. BARDONNET K, PIARROUX R, DIA L, SCHNEEGANS F, BEURDELEY A, GODOT V, VUITTON DA. 2002. Combined eco- epidemiological and molecular biology approaches to assess *Echinococcus Granulosus* transmission to humans in Mauritania: occurrence of the 'camel' strain and human cystic echinococcosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 96(4):383-6.
- [115]. SOTIRAKI S., HIMONAS C., KORKOLIAKOU P., 2003. Hydatidosis echinococcosis in Greece. *Acta Trop.* 85 197-201.
- [116]. CHALIGIANNIS I, MAILLARD S, BOUBAKER G, SPILOTIS M, SARATSIS A, GOTTSTEIN B, SOTIRAKI S. 2015. *Echinococcus Granulosus* infection dynamics in livestock of Greece. *Acta Trop.* 150:64-70.
- [117]. OZKOL M, KILIMCIOGLU AA, GIRGINKARDESLER N, BALCIOGLU IC, SAKRU N, KORKMAZ M, ET AL., 2005. A discrepancy between cystic echinococcosis confirmed by ultrasound and seropositivity in Turkish children. *Acta Trop;* 93:213–6.
- [118]. UTUK A.E., SIMSEK S., KOROGLU E. AND MCMANUS D.P., 2008. Molecular genetic characterization of different isolates of *Echinococcus Granulosus* in east and southeast regions of Turkey. *Acta Trop.* 2 192-194.
- [119]. PALLUZZI, S et al. 1989. Indagine epidemiologie nazionale sull' idatidosi *parasitologia*, 31:59-67.
- [120]. BUSI, M., SNABEL, V., VARCASIA, A., GARIPPA, G., PERRONE, V., DE LIBERATO, C., D'AMELIO, S., 2007. Genetic variation within and between G1 and G3 genotypes of *Echinococcus Granulosus* in Italy revealed by multilocus DNA sequencing. *Vet. Parasitol.* 150, 75–83.

- [121]. GALLARDO M.P. AND BERECIARTURA E.Q., 1991. Indicators Humanos en las evaluaciones de los programas de control en la hidatidosis. Archivos de la hidatidosis, 30, 99-105.
- [122]. PARDO J., MURO A., GALINDO I., CORDERO M., CARPIO A., SILES-LUCAS M., 2005. Hydatidosis in the province of Salamanca (Spain): should we let down our guard? *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 5 266-269.
- [123]. MWAMBETE, K.D., PONCE-GORDO, F., CUESTA-BANDERA, C., 2004. Genetic identification and host range of the Spanish strains of *Echinococcus Granulosus*. *Acta Trop.* 91, 87–93.
- [124]. OFFICE INTERNATIONAL DES ÉPIZOOTIES (OIE) ,2004. World animal health in 2004. Part 2. OIE, Paris, 422-754.
- [125]. BICHET H., DORCHIES P., 1998. Estimation of the prevalence of bovine hydatid cyst in south Pyrenees. *Parasite* 5 1 61-68.
- [126]. UMHANG G, RICHOMME C, BOUCHER JM, HORMAZ V, BOUE F, 2013. Prevalence survey and first molecular characterization of *Echinococcus Granulosus* in France. *Parasitol Res.* 112(4):1809-12.
- [127]. THAKUR A.S., 1999. Epidemiology of hydatid disease in South America. *Arch. Int. Hidatid.* 33, 55-61.
- [128]. OFFICE INTERNATIONAL DES ÉPIZOOTIES (OIE) ,1998. World animal health in 1998. Part 2. OIE, Paris, 422-754.
- [129]. SCHANTZ P.M., 1994. Epidemiology of cystic echinococcosis: global distribution and patterns of transmission. In Proc. Scientific Working Group on the advances in the prevention, control and treatment of hydatidosis (A. Ruiz, P. Schantz & P. Arámbulo, eds), 26-28 October, Pan American Health Organization, Montevideo, 83-109.
- [130]. MORO PL, MCDONALD J, GILMAN RH, SILVA B, VERASTEGUI M, MALQUI V, ET AL., 1997. Epidemiology of *Echinococcus Granulosus* infection in the central Peruvian Andes. *Bull World Health Organ*; 75:553– 61.

- [131]. MORO PL, SCHANTZ. PM., 2006. Cystic echinococcosis in the Americas Parasitology International 55, S181 – S186
- [132]. DE LA RUE M.L., SAIDA I., SILVEIRA F.T. ET MOREIRA W.S., 1994. Human hydatidosis in the population of endemic regions of the Rio Grande do Sul state, Brazil. Rev. Latino americana de microbiologia.36, 205-206.
- [133]. KLOETZEL K. ET PEREIRA J.A.A., 1992. A hidatidose humana no Rio Grande do Sul (Brasil) : estimativa de sua importancia para a saude publica do pais. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 34, 549-555.
- [134]. CUCHER MA, MACCHIAROLI N, BALDI G, CAMICIA F, PRADA L, MALDONADO L, AVILA HG, FOX A, GUTIERREZ A, NEGRO P, LOPEZ R, JENSEN O, ROSENZVIT M, KAMENETZKY L. 2016. Cystic echinococcosis in South America: systematic review of species and genotypes of Echinococcus Granulosus sensu lato in humans and natural domestic hosts. Trop Med Int Health. 21(2):166-75.
- [135]. OSLER W., 1982. On Echinococcus disease in America. American Journal of Medical Science, 84: 475-80.
- [136]. CAMERON T.W.M., 1960. The incidence and diagnosis of the hydatid cyst in Canada. WHO Geneva., 1980, 19.
- [137]. ACHAT P. N. ET SZYFRES B., 1989. Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'Homme et aux animaux domestiques. OIE, 2ème édition, 794812.
- [138]. THOMPSON R.C.A., 1999. Hydatidosis eradication within insular systems: Tasmania. Arch. Int. Hidatid. 33, 34-38.
- [139]. BOWLES, J., BLAIR, D., MCMANUS, D.P., 1992A. Genetic variants within the genus Echinococcus identified by mitochondrial DNA sequencing. Mol. Biochem. Parasitol. 54, 165–173.
- [140]. HEATH D.D., PHARO H. & VAN DER LOGT P., 1999. Hydatids close to eradication in New Zealand. Arch. Int. Hidatid. 33, 39-40.

- [141]. R SHAFIEI, S HOSSEINI TESHNIZI, K KALANTAR, M GHOLAMI, G MIRZAEI, F MIRZAEI, 2016. The Seroprevalence of Human Cystic Echinococcosis in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis Study. *J Parasitol Res.* 1425147.
- [142]. AHMADI N.A, 2005. "Hydatidosis in camels E (*Camelus dromedarius*) and their potential role in the epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Iran". *Journal of Helminthology*, 79: 119–125.
- [143]. NIKMANESH B, MIRHENDI H, GHALAVAND Z, ALEBOUYEH M, SHARBATKHORI M, KIA E, MOHEBALI M, EGHBALI M, ROKNI MB, 2014. Genotyping of *Echinococcus granulosus* Isolates from Human Clinical Samples Based on Sequencing of Mitochondrial Genes in Iran, Tehran. *Iran J Parasitol.* 9(1):20-7.
- [144]. DAR F.K., ALKARMI T., 1997. Cystic echinococcosis in the Gulf Littoral States. In *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special, reference to Morocco* (F.L. Andersen, H. Ouhelli & M. Kachani, Eds). Brigham Young University, Print Services, Provo, Utah, 281-291.
- [145]. TORGERSON, P.R., KARAEVA, R.R. ET AL., 2003. "Human cystic echinococcosis in Kyrgystan: an epidemiological study." *Acta Tropica* 85: 51-61.
- [146]. TORGERSON, P.R., OGULAJHAN, B., MUMINOV, A.E., KARAEVA R.R., KUTTUBAEV, O.T., AMINJANOV, M., SHAIKENOV, B., 2006. "Present situation of cystic echinococcosis in Central Asia". *Parasitologie Internacional*, 55: 207-212.
- [147]. YANG, Y. R., WILLIAMS, G.M., CRAIG, P.S., SUN, T., YANG, K., CHENG, S.L., VUITTON, D.A., GIRAUDOUX, P., LI, X., HU, S., LIU, X., PAN, X., MCMANUS, D.P, 2006. "Hospital and community surveys reveal the severe public health problem and socio-economic impact of human echinococcosis in Ningxia Hui Autonomous Region, China". *Tropical Medicine and International Health*, 11(6): 880- 888.

- [148]. LI T, CHEN X, ZHEN R, QIU J, QIU D, XIAO N, ITO A, WANG H, GIRAUDOUX P, SAKO Y, NAKAO M, CRAIG PS. 2010. Widespread co-endemicity of human cystic and alveolar echinococcosis on the eastern Tibetan Plateau, northwest Sichuan/southeast Qinghai, China. *Acta Trop.*113(3):248-56.
- [149]. YANG D, ZHANG T, ZENG Z, ZHAO W, ZHANG W, LIU A, 2015. The first report of human-derived G10 genotype of *Echinococcus canadensis* in China and possible sources and routes of transmission. *Parasitol Int.* 64(5):330-3.
- [150]. RAMZI K.,1982. contribution à l'étude épidémiologique et prophylactique de l'Hydatidose au Maroc.
- [151]. BARTAL M., BOUAYAD Z., NACIRI A., ATTAF A., EL MEZIANE A ET BAHLAOUI A., 1985. Approche épidémiologique de l'hydatidose humaine et animale au Maroc. *Médecine et Hygiène*, 43, 709-714.
- [152]. LAAMRANI EL IDRISSE A., MAHJOUR J., AYOUIJIL M. ET BERKIA A., 1997: Retrospective survey of surgical cases of cystic echinococcosis in Morocco (1980-1992). In Andersen, Ouhelli, Kachani, *Compendium of Cystic Echinococcosis in Africa and in the Middle East, with Special Reference to Morocco*. BYU Print services, Provo, Ut, 152-153.
- [153]. LYAGOUBI M., MOULINE S., EL MESNAOUI A., EL AZIZ A. ET CADI SOUSSI M. ,1997. Surgical procedures used in Morocco for removal of hydatid cysts. In: F.L. Anderson, H. Ouhelli and M. Kachani, Eds., *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern countries with special reference to Morocco*, Brigham Young University Print Services, Provo, UT, USA, pp. 186-193
- [154]. COMITE INTERMINISTERIEL DE LUTTE CONTRE L'HYDATIDOSE / ECHINOCOCCOSE, 2007. Guide des activités de lutte. Ministère de la santé.
- [155]. KACHANI M., MACPHERSON C.N.L., LYAGOUBI M., BERRADA M., BOUSLIKHANE M., KACHANI F., HASNAOUI M., 2003. Public health education/importance and experience from the field. Educational impact of community-based ultrasound screening surveys. *Acta Tro.* 85 263- 269.

- [156]. SAKHRI. J, BEN ALI. A - kyste hydatique du foie .J Chir, 2004,141, N°6 Masson, Paris, 2004, P 383
- [157]. KILANI T, EL HAMMAMI S, HORCHANI H et al - Hydatid disease of the liver with thoracic involvement. World J Surg 2000;25:40-45
- [158]. KLOTZ F, NICOLAS X, DEBONNE JM, GARCIA JF, et al. Kystes hydatiques du foie. Encycl Méd Chir (Editions scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris) Hépatologie, 7-023-A-10,2000, 16p
- [159]. FRANCO D, VONS C - Traitement chirurgical des kystes hydatiques du foie. Techniques chirurgicales. Appareil digestif. Encycl Med Chir. Elsevier Paris 1999;40-775.
- [160]. BAUER T, DAVID T, LORTAT-JACOB A - Echinococcose étendue du Fémur : à propos d'un cas, Med Mal Inf, 2004 ; 34 ; 177-9
- [161]. M.MAHI A.CHAFIKJ.EL FENNIM.BENAMEURE.KABIRIS.CHAOUIR THO-WS-23 Imagerie des kystes hydatiques pulmonairesJournal de Radiologie, Volume 88, Issue 10, October 2007, Page 1614
- [162]. BOUREE .P, BISARO. F - Hydatidose : aspects épidémiologique et diagnostique Antibiotiques, 2007 ; 9 : 237-45
- [163]. AUBRY P - Hydatidose ou Kyste hydatique. Médecine tropicale. 2013
- [164]. BOUREE P, THULLIEZ P, MILLAT B - Hydatidose musculaire du mollet, A propos d'un cas, Bull sac Path Exot, 1982 ; 75 ; 201-4.
- [165]. CARME B, NEVEZ G, LAMARCHE F et al - Une observation d'hydatidose musculaire instructive. Med Mal Inf ; 1997 ; 924-5
- [166]. GHARBI HA, HASSINE W, BRAUNER MW, DUPUCH K - Ultrasound examination of hydatid liver. Radiology. 1981;139:459-463

- [167]. MINISTERE DE LA SANTE – Lutte contre l'hydatidose / echinococcose. Guide des activités de lutte, 2007
- [168]. ECKERT J., DEPLAZES P - Biological, epidemiological, and clinical aspect of Echinococcus, a zoonosis of increasing concern. Clinical Microbiological Review, 2004, 17,1
- [169]. ECKERT J, GEMMELL .M.A, MESLIN F.-X. ET PAWŁOWSKI - Z.S.WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern, 2001
- [170]. BRUNETTI .E, TROIA G, GARLASCHELLI A.L, GULIZIA R, FILICE C - Twenty years of percutaneous treatments for cystic echinococcosis : a preliminary assessment of their use and safety. Parassitologia, 2004b, 46, 367-370.
- [171]. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) - Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis. WHO Informal Working Group on Echinococcosis. Bull. WHO, 1996. 74, 231-242.
- [172]. KHUROO M.S, DAR M.Y, YATTOO G.N, ZAGAR S.A et al - Percutaneous drainage versus albendazole therapy in hepatic hydatidosis: a prospective, randomized study. Gastroenterology, 1993. 104, 1452-1459
- [173]. YASHPAL S.CHHONKER, CONSTANT, EDI DARYL, AND J.MURRY: Method for simultaneous determination of diethylcarbamazine, albendazole and albendazole metabolites, human plasma: Application to a clinical pharmacokinetic study. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis; Volume 151, 20 March 2018, Pages 84-90in
- [174]. HORTON R.J - Albendazole in treatment of human cystic echinococcosis: 12 years of experience. Acta trop. 1997, 64, 79-93.
- [175]. AMMANN R.W ET ECKERT J – Cestodes : Echinococcus. Gastroenterol. Clin. N. Am., 1996. 25, 655-689
- [176]. CENTRE DE RECHERCHES ET D'ETUDES DEMOGRAPHIQUES ,2007

- [177]. ALLAOUI M - Projet Forêts Méditerranéennes et Développement Durable - Etudes de cas Maroc : forêts et développement durable dans les provinces de Chefchaouen et d'Ifrane Rapport de mission, août 2008
- [178]. <http://www.hcuge.ch/dmc/fr-strateg.htm>, buswell et stalder h - elevation des transaminases (aminopeptidases)
- [179]. MAGNIEZ F. La technique ELISA, biotechnologies, Avril 2008 P85
- [180]. ITO A, NAKAO M, KUTSUM H, LIGHTOWLERS M.N, et al - Serodiagnosis of alveolar hydatid disease by western blotting, Trans. Roy. Soc. Trop.Med. Hyg. 1993, 87, 170-172.
- [181]. BOUREE P, BOTTEREL F, RESENDE P - Sérologies parasitaires en pratique courante : Intérêt et limites, Revue Française des Laboratoires, octobre 2004, N° 366
- [182]. REBAÏ R, BEYROUTI I ET AYADI A - Apport de la technique Western blot dans le diagnostic de l'hydatidose. Parasitologie, 2006, Manuscrit n° 2952.
- [183]. BOUBAKER G, MACCHIAROLI N, PRADA L, CUCHER MA. , ROSENZVIT MC, I. ZIADINOV, P. DEPLAZES, U. SAARMA, H. BABBA, B. GOTTSTEIN, M. SPILLOTIS, 2013. A Multiplex PCR for the Simultaneous Detection and Genotyping of the Echinococcus granulosus Complex. PLoS Negl Trop Dis 7(1)
- [184]. FILICE, C., E. BRUNETTI, R. Bruno, and F. G. Crippa. 2000. Percutaneous drainage of echinococcal cysts (PAIR--puncture, aspiration, injection, reaspiration): results of a worldwide survey for assessment of its safety and efficacy. WHO- Informal Working Group on Echinococcosis-Pair Network. Gut 47: 156-157.
- [185]. BRUNETTI, E., P. KERN, AND D. A. VUITTON. 2010. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. Acta Trop 114: 1-16.

- [186]. NEUMAYR, A., G. TROIA, C. DE BERNARDIS, F. TAMAROZZI, S. GOBLIRSCH, L. PICCOLI, C. HATZ, C. FILICE, AND E. BRUNETTI. 2011. Justified concern or exaggerated fear: the risk of anaphylaxis in percutaneous treatment of cystic echinococcosis-a systematic literature review. *PLoS Negl Trop Dis* 5: e1154.
- [187]. GOLEMANOV, B., N. GRIGOROV, R. MITOVA, J. GENOV, D. VUCHEV, F. TAMAROZZI, AND E. BRUNETTI. 2011. Efficacy and safety of PAIR for cystic echinococcosis: experience on a large series of patients from Bulgaria. *Am J Trop Med Hyg* 84: 48-51.
- [188]. KILIC, M., O. YOLDAS, M. KOC, M. KESKEK, N. KARAKOSE, T. ERTAN, E. GOCMEN, M. TEZ. 2008. Can biliary-cyst communication be predicted before surgery for hepatic hydatid disease: does size matter? *Am J Surg* 196: 732-735.
- [189]. DEMIRCAN, O., M. BAYMUS, G. SEYDAOGLU, A. AKINOGLU, AND G. SAKMAN. 2006. Occult cystobiliary communication presenting as postoperative biliary leakage after hydatid liver surgery: are there significant preoperative clinical predictors?
- [190]. SMEGO, R. A., JR., S. BHATTI, A. A. KHALIQ, AND M. A. BEG. 2003. Percutaneous aspiration-injection-reaspiration drainage plus albendazole or mebendazole for hepatic cystic echinococcosis: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 37: 1073-1083.
- [191]. SADJJADI SM. Present situation of echinococcosis in the Middle East and Arabic North Africa. *Parasitol Int* 2006 ; 55 : 197-202
- [192]. AOUN K, Bouratbine A. Epidemiological data concerning hydatidosis in Tunisia. *Med Mal Infect* 2007; 37 (Suppl. 1): 40-2.
- [193]. DAKKAK A. Echinococcosis/hydatidosis: a severe threat in Mediterranean countries. *Vet Parasitol* 2010; 174: 2-11.
- [194]. CAMPOS-BUENO A, LOPEZ-ABENTE G, ANDRES-CERCADILLO AM. Risk factors for *Echinococcus granulosus* infection: a case-control study. *Am J Trop Med Hyg*. 2000; 62(3):329-34.

- [195]. LARRIEU EJ, COSTA MT, DEL CARPIO M, MOGUILLANSKY S, BIANCHI G, YADON ZE. A case-control study of the risk factors for cystic echinococcosis among the children of Rio Negro province, Argentina. *Ann Trop Med Parasitol.* 2002; 96(1):43-52.
- [196]. Ouhelli H, Kadiri A, El Hasnaoui M, Kachani M. Prevalence of *Echinococcus granulosus* in dogs in Morocco and potential role of dogs in transmission of cystic echinococcosis. *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and in Middle Eastern countries with special reference to Morocco, 1997.* Brigham Young University: Print Services Provo, 1997: 145-55.
- [197]. Tamarozzi F, Rossi P, Galati F, Mariconti M, Nicoletti GJ, Rinaldi F, et al. The Italian registry of cystic echinococcosis (RIEC): the first prospective registry with a European future. *Euro Surveill.* 2015; 20(18).
- [198]. FRIDER B, MOGUILANSKY J, SALVITTI JC, ODRIOZOLA M, CANTONI G, LARRIEU E. Epidemiological surveillance of human hydatidosis by means of ultrasonography: its contribution to the evaluation of control programs. *Acta Trop.* 2001; 79(3):219-23.
- [199]. JUNGHANSS T, DA SILVA AM, HORTON J, CHIODINI PL, Brunetti E. Clinical management of cystic echinococcosis: state of the art, problems, and perspectives. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 79: 301–11.
- [200]. HOSCH W, JUNGHANSS T, STOJKOVIC M, et al. Metabolic viability assessment of cystic echinococcosis using high-field <sup>1</sup>H MRS of cyst contents. *NMR Biomed* 2008; 21: 734–54
- [201]. URIARTE.C, POMARESN, MARTINM, CONDEA, ALONSON, BUENO. MG. Splenic hydatidosis. *Am J Trop Med Hyg* 1991; 44: 420-423
- [202]. GUARNERA EA, PARRA A, KAMENETZKY L, GARCIA G, GUTIERREZ A. Cystic echinococcosis in Argentina: evolution of metacestode and clinical expression in various *Echinococcus granulosus* strains. *Acta Trop.* 2004; 92(2):153-9.
- [203]. WEN H, CRAIG PS. Immunoglobulin G subclass responses in human cystic and alveolar echinococcosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1994; 51(6):741-8.

- [204]. BEARD TC. Evidence that a hydatid cyst is seldom "as old as the patient". *Lancet*. 1978;2(8079):30-32
- [205]. GARCIA, L.S., 2001. Tissue cestodes: larval forms. In: Garcia, L.S. (Ed.) *Diagnostic Medical Parasitology*. , 4th ed. ASM Press, VA, USA, pp. 386–412
- [206]. DOIZ O., BENITO R., SBIHI Y., OSUNA A., CLAVEL A. & GOMEZLUS R. Western blot applied to the diagnosis and post-treatment monitoring of human hydatidosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2001, 41, 139-142.
- [207]. KILIMCIOĞLU AA1, OZKOL M, BAYINDIR P, GIRGINKARDEŞLER N, OSTAN I, OK UZ The value of ultrasonography alone in screening surveys of cystic echinococcosis in children in Turkey *Parasitol Int*. 2006 Dec;55(4):273-5. Epub 2006 Aug 22.
- [208]. ASLAN M1, YÜKSEL P, POLAT E, CAKAN H, ERGIN S, ÖNER YA, ZENGİN K, ARIKAN S, SARIBAS S, TORUN MM, KOCAZEYBEK B The diagnostic value of Western blot method in patients with cystic echinococcosis. *New Microbiol*. 2011 Apr;34(2):173-7. Epub 2011 Apr 30
- [209]. ALTINTAS N. Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Tropica*, 2003, 85, 105-112
- [210]. LIANCE M., JANIN V., BRESSON-HADNI S., VUITTON D.A., HOUIN R. & PIARROUX R. Immunodiagnosis of Echinococcus infections: confirmatory testing and species differentiation by a new commercial Western Blot. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000, 38, 3718-3721.
- [211]. AKISU C., BAYRAM DELIBAS S., YUNCU G., AKSOY U., OZKOC S., BICMEN C., SEVINC S. & YALDIZ S. Evaluation of IHA, ELISA and Western Blot tests in diagnosis of pulmonary cystic hidatidosis. *Tuberkuloz ve Toraks*, 2005, 53, 156-160.
- [212]. PICCOLI L, TAMAROZZI F, CATTANEO F, MARICONTI M, FILICE C, BRUNO A, et al. Long-term sonographic and serological follow-up of inactive echinococcal cysts of the liver: hints for a "watch-and-wait" approach. *PLoS Negl Trop Dis*. 20

- [213]. CRAIG P.S., 1997. Immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* and a comparison of techniques for diagnosis of canine echinococcosis. In *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and Middle Eastern Countries with special reference to Morocco* (F.L. Andersen, H. Ouhelli & M. Kachani, eds). Brigham Young University, Print Services, Provo, 85-118.
- [214]. BEN AMOR N., GARGOURI M., GHARBI H. 1986. A. Traitement du kyste hydatique par ponction sous échographie. *Tunis Med* 64: 325-331.
- [215]. FILICE C., BRUNETTI E., CRIPPA F., BREUNO R., 1997. Use of Pair in human cystic echinococcosis. *Acta Tropica*. 64: 95
- [216]. LAHMAR, S., REBAI, W., BOUFANA, B.S., CRAIG, P.S., KSANTINI, R., DAGHFOUS, A., CHEBBI, F., FTERICHE, F., BEDIQUI, H., JOUINI, M., DHIBI, M., MAKNI, A., AYADI, M.S., AMMOUS, A., KACEM, M.J., BEN SAFTA, Z., 2009. Cystic echinococcosis in Tunisia: analysis of hydatid cysts that have been surgically removed from patients. *Ann. Trop. Med. Parasitol*. 103, 593–604.
- [217]. ECKERT, J., THOMPSON, R.C., MICHAEL, S.A., KUMARATILAKE, L.M., EL-SAWAH, H.M., 1989. *Echinococcus granulosus* of camel origin: development in dogs and parasite morphology. *Parasitol. Res*. 75, 536–544.
- [218]. ECKERT, J., THOMPSON, R.C., LYMBERY, A.J., PAWLOWSKI, Z.S., GOTTSTEIN, B., MORGAN, U.M., 1993. Further evidence for the occurrence of a distinct strain of *Echinococcus granulosus* in European pigs. *Parasitol. Res*. 79, 42–48.
- [219]. LIGHTOWLERS M.W, LAWRENCE S.B., GAUCI C.G., YOUNG J., RALTON M.J., MAAS D, HEATH D.D., 1996. Vaccination against hydatidosis using a defined recombinant antigen. *Int. J. Parasitol.*, 18, 457-462
- [220]. ALVAREZ ROJAS, C.A., GAUCI, C.G., LIGHTOWLERS, M.W., 2013. Antigenic differences between the EG95-related proteins from *Echinococcus granulosus* G1 and G6 genotypes: implications for vaccination. *Parasite Immunol*. 35, 99–102.

- [221]. EL BERBRI I 2015. Epidémiologie de l'échinococcose/ hydatidose kystique dans la province de sidi Kacem et évaluation d'actions de lutte conséquentes dans le cadre d'une approche intégrée associant leishmaniose viscérale et la rage Thèse de médecine Vétérinaire, IAV. Rabat
- [222]. JENKINS D, ROMIG T, THOMPSON RCA., 2005. Emergence/reemergence of Echinococcus spp. a global update. Int J Parasitol ; 35:1205 – 19.

# **ANNEXES : 1**

Annexe 1 : Approbation committé d'éthique



Université Sidi Mohammed Ben  
Abdellah  
Faculté de Médecine et de Pharmacie

Centre  
Hospitalier Universitaire  
Hassan II



## Comité d'Ethique

### Attestation d'approbation du Comité d'éthique du CHU Hassan II de Fès

Je soussigné, Pr Nabil Kanjaa, Président du comité d'éthique du CHU Hassan II de Fès, atteste que le projet intitulé « Prise en charge clinique de l'hydatidose au Maroc » soumis dans le cadre des projets de recherche soutenu par le CHU Hassan II de Fès, a reçu un avis favorable du comité d'éthique réuni le 29 octobre 2013.

Cette attestation est délivré pour valoir ce que de droit.

Fait à Fès le 29/11/2013

Pr. Nabil KANJAA  
Président du Comité d'Ethique

Pr. Nabil KANJAA  
Chef de service  
A. anesthésie - Réanimation  
CHU Hassan II - Fès

Faculté de Médecine et de Pharmacie – Km 2.2 Route de Sidi Harazem – Fès  
Tel : 035619319/20 - Fax: 035619321 –  
Mails : messouak@hotmail.com - kanjaanabil@yahoo.fr – cnejjari2000@yahoo.fr

Annexe2 :Consentement éclairé pour la participation à l'étude

**ANNEXE 1**

**Consentement éclairé**

**PARTICIPANT**  
Je ..... originaire de .....

Ou mon représentant légal (quand c'est le cas)  
Nom ..... Originaire de .....

Certifie que j'ai lu/mon représentant légal a lu le contenu de la fiche d'information des participants, et m'a été également expliqué de façon détaillée dans ma langue maternelle par le Dr .....

J'ai compris les informations qui m'ont été données oralement et par écrit et j'accepte de participer à l'étude: "**Prise en charge clinique de l'échinococcose kystique humaine au Maroc**"

Signature ..... Date .....

Annexe 3 :Fiche de recueil des données des participants à l'étude

**Coordonnées du participant**      Numéro d'identification..... Date / / .

Nom :..... Prénom : ..... Sexe : F  M  Age : ..... Lieu de naissance :  
.....

Résidence: Localité : ..... Commune : ..... Province : .....

Numéro de téléphone : ..... Profession :.....

**QUESTIONNAIRE SUR L'EPIDEMIOLOGIE**

**1) Connaissez-vous ces lésions dans le foie des animaux?**

(montrer l'image du kyste hydatique)      OUI       NON

**2) Avez-vous des animaux de boucherie (mouton, etc.) à la maison? OUI       NON**

2.1) Si OUI à Q2, les abattez vous à la maison ?      OUI       NON

2.2) Si OUI à Q2.1., comment vous vous débarrassez des abats ?

Enterrer       Brûler       Donner aux chiens       Autres  préciser SVP.....

**3) Avez-vous des chiens? OUI       NON**

3.1) Si OUI à Q3, Combien? ..... Pour quelle raison?

Animaux de compagnie       Garde       Elevage       Autres  à préciser SVP.....

3.2) Si OUI à Q3, Depuis combien d'années êtes-vous propriétaire de vos chiens? ..... ans

3.3) Si OUI à Q3, laissez-vous les chiens errer ?      OUI       NON

3.4) Si OUI à Q3, vos chiens sont-ils admis à la maison      OUI       NON

3.5) Si OUI à Q3, Qu'est-ce que vous donnez à manger aux chiens?

Aliments cuits       Viscères crus       Reste du repas familial       Autres  préciser SVP.....

3.6) Si OUI à Q3, Traitez-vous vos chiens au Praziquantel ? OUI       NON  Combien de fois?

**4) D'autres chiens inconnus, ont-ils accès à votre maison (jardin, champs)? OUI       NON       NSP**

**5) Quelle source d'eau utilisez-vous? Robinet       Borne public       Autres  à préciser SVP.....**

**6) Vos chiens et vos bétails partagent-ils la même source d'eau dans votre propriété? OUI       NON**

Annexe4 :Dépistage échographique et décision thérapeutique

**ULTRASONS DEPISTAGE ET FORMULAIRE DE DECISION THERAPEUTIQUE**

Numéro d'identification :..... Date \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Echographe :.....

Foie :.....

Vésicule biliaire :..... Voies biliaires :.....

Tronc porte :..... Pancréas :.....

Reins :..... Voie urinaire supérieure :.....

Rate :..... Aorte :.....

**Autres**.....

Nombre total de kystes .....

ID kyste	Organe* F; R; R; P; Pér)	Segment Ou R/L	Taille (cm)	Stade (OMS -IWGE)	Complications/ Remarques
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

\*F = foie; R = rein; S = rate; P = pancréas; Pér = péritoine

**Thérapie proposée** :.....

Annexe5 :Informations recueillies lors du diagnostic biologique

**LABORATOIRE**

**Numéro d'identification :.....**

Sang prélevé : OUI  NON  par : ..... Date : \_\_/\_\_/\_\_

Sérologie ELISA Pos.  Négat. :  OD \_\_\_\_\_ WB Pos.  Négat. :

AST..... ALT ..... WBC .....

RBC ..... Hct ..... Hb .....

Test de grossesse : Pos.  Négat. :

**QUESTIONNAIRE MEDICAL**

**Numéro d'identification .....**

Poids ..... Kg Enceinte OUI  NON  Allaitement OUI  NON

Antécédent de kyste hydatique : OUI  NON  année .....Organe affecté .....

Traitement antérieur reçu : OUI  NON  année du dernier traitement.....Type .....

Symptômes présents: aucun  douleurs abdominales  douleur thoracique  toux

Ictère  dyspnée  fièvre  neurologique

Rash / urticaire / Démangeaisons  Autres  préciser SVP.....

Antécédents médicaux connus OUI  ..... NON  .....

Médicaments reçus: OUI  ..... NON  .....

Allergies connues : OUI  ..... NON  .....

A l'Albendazole OUI  ..... NON  .....

Annexe 6 : Consentement éclairé pour le traitement

**Consentement éclairé pour le traitement**

**PARTICIPANT**

**Numéro d'identification : .....**

Je ..... originaire de .....

Certifie que le contenu de la fiche d'information des participants, en particulier la partie liée aux options thérapeutiques (Cocher la case correspondante) :

- Traitement par Albendazole pendant 6 mois
- Traitement percutané + albendazole pendant 6 mois
- Traitement percutané avec cathétérisme + albendazole pendant 6 mois
- Chirurgie + albendazole péri-opératoire pendant 1 mois
- Observation et attente

m'a été expliqué de façon détaillée par le Dr

.....

J'ai compris les informations, qui m'ont été données oralement et par écrit, et j'accepte de me conformer aux exigences de l'étude, telles que décrite dans la note d'information au patient, et par la présente, je déclare accepter de participer à l'étude: "**Prise en charge clinique de l'hydatidose au Maroc**".

Signature

Date \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Annexe 7 : Fiche d'éligibilité au traitement

**Fiche d'éligibilité au traitement**

**Données du participant**                      **Numéro d'identification.....**    **Date**    /    /    .

Nom : .....                      Prénom : .....                      Sexe : F                       M

Age : .....                      Lieu de naissance : .....

Résidence:    Localité : .....    Commune : .....    Province : .....

Numéro de téléphone .....

**Eligible au traitement:**                      OUI                       NON

**Raisons de non éligibilité au traitement**

- Age moins de 18 ans                       Refus de signer le Consentement Eclairé
- Taux d'enzymes AST et ALT  $\geq 5$  fois la limite supérieure de la normale de référence
- GB  $\leq 4000/\mu\text{l}$                        Hémoglobine  $\leq 6 \text{ mg / dl}$
- Grossesse et allaitement                       Intolérance connue à l'Albendazole
- Pathologie psychiatrique (y compris addiction) qui pourrait affecter la capacité du participant à comprendre et à coopérer.

## Equipes de notre étude

Investigateurs/contact détails		
LIEU ET PAYS	NOM ET QUALIFICATIONS	ROLE DANS L'ÉTUDE ET COORDONNÉES
University of Pavia, IRCCS San Matteo Hospital Foundation, Italy, WHO Collaborating Centre for Clinical Management for Cystic Echinococcosis (WHOCC-UPSMHF)	Carlo Filice, MD, Professor of infectious diseases	Co-investigateur Viale Taramelli, 27100 Pavia, Italy <a href="mailto:carfil@unipv.it">carfil@unipv.it</a> phone +39 (0)382 502 159
	Enrico Brunetti, MD	Investigateur Principal Viale Taramelli, 27100 Pavia, Italy <a href="mailto:enrico.brunetti@unipv.it">enrico.brunetti@unipv.it</a> Phone: +39 (0)382 502 159 Mobile: +39 349 3728972
	Francesca Tamarozzi, DVM MD, PhD	Co-investigateur Viale Taramelli, 27100 Pavia, Italy <a href="mailto:f_tamarozzi@yahoo.com">f_tamarozzi@yahoo.com</a> Mobile: +39 347 0501715
Ministère de la Santé du Maroc, Service des maladies parasitaires, DMT/DELM	Dr Abderrahmane LAAMRANI EL IDRISSI MD	Coordonnateur National <a href="mailto:laamrani55@gmail.com">laamrani55@gmail.com</a> Tel : + 212 661 484 045
Service de Médecine C, CHU Ibn Sina Rabat	Pr Abdellah ESSAID MD	Co-investigateur <a href="mailto:feydi2001@yahoo.fr">feydi2001@yahoo.fr</a> Tel : + 212 667 149 695
	Pr Rajaa AFIFI MD	Co-investigateur <a href="mailto:afifirajaa@yahoo.fr">afifirajaa@yahoo.fr</a> Tel : + 212 661 642 613
	Pr Mustapha BENAZZOUZ, MD	Co-investigateur <a href="mailto:benaz21@hotmail.com">benaz21@hotmail.com</a> Tel : + 212 660 506 877
Laboratoire de Parasitologie, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V et Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat	Pr Badre Eddine LMIMOUNI MD	Co-investigateur <a href="mailto:b.lmimouni@um5s.net.ma">b.lmimouni@um5s.net.ma</a> Tel : +212 661 208 238
	Dr Sara TAHIRI MD	Co-investigateur <a href="mailto:dr.sara.tahiri@gmail.com">dr.sara.tahiri@gmail.com</a> Tel. +212 661 305 044
Service de Chirurgie B, CHU Ibn Sina, Rabat	Pr Abdellatif SETTAF	Co-investigateur <a href="mailto:abdellatif_settaf@yahoo.fr">abdellatif_settaf@yahoo.fr</a> Tel : + 212 661 189 471
Région Meknès Tafilalet	Dr Hassan CHRIFI	Co-investigateur <a href="mailto:drchrifi@yahoo.fr">drchrifi@yahoo.fr</a> Tel : + 212 661 704 632
Province de Ifrane	Dr Houssain TOUHTOUH	Co-investigateur <a href="mailto:touhtouh.houssain@gmail.com">touhtouh.houssain@gmail.com</a> Tel : + 212 661 869 474
Province d'El Hajeb	Dr Mohammed DARY	Co-investigateur <a href="mailto:Daryy2000@yahoo.fr">Daryy2000@yahoo.fr</a> Tel : + 212 661 869 421
Ministère de la Santé du Maroc, Service des maladies dermatologiques, DMT/DELM	Dr Majdouline Obtel MD	Co-investigateur (Data manager) <a href="mailto:majdobtel7@yahoo.fr">majdobtel7@yahoo.fr</a> 0661 958 261
WHO Headquarters, Geneva, Switzerland, Department of Control of Neglected Tropical Diseases (WHO/HQ/HTM/NTD)	Simone Magnino, DVM, ECVPH	Focal point OMS, Siège 20, Avenue Appia CH1211 Geneva 27, Switzerland <a href="mailto:magninos@who.int">magninos@who.int</a> phone +41 22 791 27 43 fax +41 22 791 4807 mobile +41 79 321 93 55
WHO Regional Office for the Eastern Mediterranean (EMRO), Cairo, Egypt	Dr Riadh Ben-Ismaïl	Focal point OMS, Bureau Regional de la Méditerranée Orientale Phone +20 2 22765280, Mobile +201000022263, E-mail <a href="mailto:benismail@who.int">benismail@who.int</a>
Bureau de l'OMS au Maroc	Mr Ahmed Chahir	Focal point OMS, Bureau du Maroc 3, Rue Prince Sidi Mohamed, SOUISSI, Rabat B.P. 812 – Rabat – Mechouar, Maroc Extension: 66406, E-mail: <a href="mailto:chahirah@mor.emro.who.int">chahirah@mor.emro.who.int</a>

# **ANNEXES : 2**

# **STAGES ET FORMATIONS**

SERVICE PARASITOLOGIE MYCOLOGIE  
Pr **Badre Eddine LMIMOUNI**  
Pharmacien commandant, Chef de Service  
Téléphone: (00212) 5 37 71.67.18  
Poste : 5101  
Secrétariat : 5103  
E-Mail: b.lmimouni@am5s.net.ma

ROYAUME DU MAROC  
FORCES ARMÉES ROYALES  
HOPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION  
MOHAMMED V.

RABAT, le 20 juin 2011

ATTESTATION

Professeur Assistant  
Dr. **M. BOUCHRIK**  
Pharmacien Commandant  
Poste : 5102

Biologiste  
Dr. **H. NAOUI**  
Médecin Commandant  
Poste : 5102

Infirmier Major  
**T. EL AZOUZI**  
Lieutenant  
Poste : 5104

Je soussigné, **Badre Eddine LMIMOUNI**, Chef du service de Parasitologie Mycologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat, Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, atteste que le **Dr Sara TAHIRI** effectue un stage au service de parasitologie et mycologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V depuis le 03 Mai 2010 dans le cadre de sa préparation à l'inscription à l'Ecole Doctorale des sciences de la vie et de la santé au titre de l'année universitaire 2011/2012.

Attestation délivrée à l'intéressée pour servir et valoir ce que de droit.

Pharmacien Commandant  
**Badre Eddine LMIMOUNI**  
Chef de Service  
Service de Parasitologie Mycologie  
Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V  
Rabat



## Certificate of Attendance

This to certify that

**Dr. Sara Tahiri**

Attended as an auditor the course

***FASE Focused Assessment with Sonography for Echinococcosis***

Held in Pavia, Italy, 8-12 March 2016

Pavia, March 12<sup>th</sup> 2016

Course Director: Dr. Enrico Brunetti

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Enrico Brunetti", written over a faint, larger version of the same signature.

*Prof. Claudio Bandi*  
*tel: 02 50318094; e-mail: claudio.bandini@unimi.it*

Milano, 25 MARS 2016

TO WHOM IT MAY CONCERN

Below is a short description of the project that Dr Sara Tahiri, from Morocco, has carried out in my lab during her stay in Milan for CE.

**Title of the project**

Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in Morocco

**Aim of the project**

*Echinococcus granulosus* is the etiological agent of cystic echinococcosis (CE), which is a public health problem in several countries of the Mediterranean region. CE is endemic in Morocco, where it is one of the most important zoonoses, and represents a potentially serious public health and economic problem, with serious effects on social welfare in the country.

Genotyping of human CE is useful to confirm the diagnosis and to collect data on parasite transmission patterns and the susceptibility of humans to a particular genotype of *E. granulosus*. To better understand the spread of the different genotypes of *E. granulosus* in Morocco, we will perform a genotyping analysis on 18 hydatid cyst fluid (HCF) samples obtained after the screening activity in Morocco.

**Work planning**

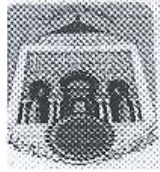
Cyst fluids samples were centrifuged at 3500 g for 10 min, and pellets were washed twice for 15 min in 100 µL of PBS. Finally, all samples were centrifuged at 3500 g for 5 min, and PBS was removed. Genomic DNA was extracted from each sample with the DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen, Valencia, CA, USA), according to the manufacturer's instructions.

A fragment of different *E. granulosus* targets were amplified by PCR using the protocol reported in Boubaker G. et al., PLoS Negl Trop Dis 2013.

Prof. Claudio Bandi

**DIPLOMES  
UNIVERSITAIRES**

**Professeur Badre Eddine LMIMOUNI**  
Chef du Département des Sciences  
Précliniques  
Téléphone: 05 37 71 67 18  
GSM : 06 61 20 82 38  
E.Mail. b.lmimouni@um5s.net.ma



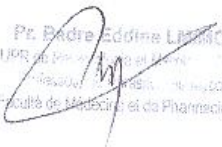
Royaume Du Maroc  
Université Mohamed v –Souissi-  
Faculté De Médecine et De Pharmacie De  
Rabat

Rabat le: 25/03/2014

### **ATTESTATION PROVISOIRE DE REUSSITE**

Je soussigné, Badre Eddine LMIMOUNI, Professeur de Parasitologie et Chef de L'UPR de Parasitologie et Mycologie Médicale à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, certifie que le docteur **Sara TAHIRI** a réussi avec succès le Diplôme Universitaire de Parasitologie et Mycologie Médicale.

Attestation délivrée à l'intéressée en attendant le diplôme définitive.

  
Pr. Badre Eddine LMIMOUNI  
UPR de Parasitologie et Mycologie Médicale  
Rabat  
Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat



Royaume du Maroc  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
Et de la Recherche Scientifique  
Université Mohammed V - Souissi  
Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat

المملكة المغربية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة محمد الخامس السويصي - الرباط  
كلية الطب والصيدلة  
الرباط

N° : 317 / 2005

رقم: 2005 / 317

## شهادة الدكتوراه في الطب

### Diplôme de Doctorat en Médecine

Vu le Dahir portant loi n° 1-75-102 du 13 Safar 1395 ( 25 Février 1975) relatif à l'organisation des Universités, notamment son article 21.  
Vu le décret n° 2-75-663 du 11 Chaoual 1395 (17 Octobre 1975) notamment son article 3 fixant la vocation des établissements universitaires ainsi que la liste des diplômes dont il assurent la préparation et la délivrance tel qu'il a été modifié et complété.  
Vu le décret n° 2-82-356 du 16 Rabia II 1403 (31 Janvier 1983), fixant le régime des études et des examens en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en médecine.  
Vu le procès-verbal du Jury siégeant à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat,

مقتضى الظهير الشريف رقم 102 - 75 - 1 بتاريخ 13 صفر 1395 (25 فبراير 1975) بملته قانون ينظم تنظيم الجامعات ولا سيما الفصل 21 منه. و بناء على المرسوم رقم 663 - 75 - 2 الصادر في 11 شوال 1395 (17 أكتوبر 1975) بتحديد اختصاص المؤسسات الجامعية وقائمة الشهادات التي تفكر في تحضيرها وتسلمها حسبها واقع التغيير و تنسيقه ولاسيما الفصل 3 منه. وبناء على المرسوم رقم 356 - 82 - 2 الصادر في 16 ربيع الثاني 1403 (31 يناير 1983) بتحديد نظم الدراسات والأبحاث المتعلقة بالمتخصصات الطبية والصيدلانية بالرباط و بناء على محضر لجنة الامتحانات المتعلقة بكلية الطب والصيدلة بالرباط

Le 06/12/2005

بتاريخ: 06 دجنبر 2005

Le Diplôme de doctorat en Médecine est délivré

فإن شهادة الدكتوراه في الطب منحت

à Mr. (Melle) SARA TAHIRI

للسيدة (ة) سارة الطاهري

Né (e) le 17/02/1981 à RABAT

المزدهاد (ة) بتاريخ: 17 فبراير 1981 بالرباط

Pour jouir des droits et prérogatives qu'il lui confère.

ليستمتع بالحقوق و الامتيازات التي تكونها له.

Rabat le 26 décembre 2005

الرباط في 26 ديسمبر 2005

عميد كلية الطب والصيدلة

رئيس جامعة محمد الخامس - السويصي

Le Doyen de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat

توقيع المرشح

Le Président de l' Université Mohammed V - Souissi

الإستاذة باحجية حجاج

مؤسس جامعة محمد الخامس السويصي-الرباط

عميدة كلية الطب والصيدلة

الدكتوروس الطيب المتكلم

بالرباط

للتب: لا تسلم من هذه الشهادة الا نسخة واحدة.

Il ne sera délivré qu'une seule copie de ce diplôme



**COMMUNICATIONS  
ORALES**



**Congrès SFP/ SFMM**  
Toulouse  
Centre P. Paul Riquet  
CHU Purpan

**29 au 31 mars 2017**

**PRÉVALENCE DU KYSTE HYDATIQUE DANS  
LA REGION DE MEKNES TAFILALET DU  
MAROC**

**Sara TAHIRI, B LMIMOUNI**  
Laboratoire de Parasitologie, Hôpital Militaire Mohammed V Rabat,  
Maroc  
Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V, Rabat,  
Maroc



جامعة محمد الخامس بالرباط  
Université Mohammed V de Rabat

**POSTERS ET  
PARTICIPATIONS  
AUX  
MANIFESTATIONS**



**SEROPREVALENCE DU KYSTE HYDATIQUE DANS LA REGION DE MEKNES TAFILALT**

**S.TAHIRI ; H.NAOUI ; M.BOUCHT ; M.MEKAOUI ; B. LMIMOUNI**

**SERVICE DE PARASITOLOGIE ; HMIMV RABAT**

**EQUIPE DE RECHERCHE EN PATHOLOGIE PARASITAIRE ET FONGIQUE**

**CEDOC « SVS » ; FACULTE DE MEDECINE ET PHARMACIE DE RABAT. UNIVERSITE MED V RABAT**

**INTRODUCTION:**

L'Hydatidose est une zoonose due au développement, chez l'homme, de la forme larvaire du ténia du chien : l'*Echinococcus granulosus*.

Encore très largement répandue dans le monde, cette parasitose sévit à l'état endémique au Maroc posant un problème majeur de santé publique en raison de son impact socio-économique sur la santé humaine et animale[1].

Notre étude s'est déroulée en Avril-Mai 2014, au niveau des deux provinces de Ifrane et d'El hajeb dans la région de Meknès Tafilalt.

Elle avait comme objectifs d'estimer la prévalence de l'Hydatidose abdominale au niveau de la région de Meknès-Tafilalt, de former les professionnels de santé locaux dans le diagnostic et la PEC de l'Hydatidose et de sensibiliser la population cible.

**MATERIEL ET METHODES**

**•Période, lieu et type de l'étude:** C'est une étude transversale de prévalence menée durant le mois d'Avril et Mai 2014, quatre campagnes de dépistage de masse de trois jours ont été organisées ; Les localités desservies sont Timhidit, Bouderbala, Ain Louh et Sebth Jahjouh.

Cette étude est menée en partenariat avec le ministère de santé italien et l'OMS et les différents intervenants concernés par la PEC de l'Hydatidose au Maroc (Ministère de la santé, CHU, ministère de l'agriculture, ministère de l'intérieur...)

**\* Critères d'inclusion:** Ont été inclus dans l'étude tous les sujets âgés de 10 à 80 ans habitant dans les zones d'endémie sus citées et prêts à participer à l'enquête en signant le consentement éclairé

**\* Méthodologie:**

Chaque patient a bénéficié d'un examen clinique, et d'une échographie abdominale. Ceux ayant une image kystique ont bénéficié d'une NFS, un bilan hépatique, d'une sérologie hydatique (par technique ELISA) et d'un WESTERN BLOT

**•Analyse statistique:** Les données ont été saisies et analysées à l'aide du logiciel SPSS version 18.0.

**RESULTATS**

**L'analyse descriptive**

L'âge moyen de la population est estimé à 39,6ans avec un écart type de 18,06 et une nette prédominance féminine (65,8%de femmes).

Les caractéristiques épidémiologiques de notre population sont représentées dans les tableaux suivants:

Province	N	%	Sexe (N=3342)		
			Pourcentage	Effectif	
EL_HAJEB	1177	35,2	Femme	65,8	2198
			Homme	34,2	1144
IFRANE	2165	64,8	Classe d'âge (N=3333)		
			<18	15,5	517
			[18-40[	34,1	1138
			[40-60[	33,5	1115
			≥60	16,9	563
Total	3342	100,0	Profession (N=3138)		
			Agriculteur/Berger/Fermier	14,3	449
			Elève	15,6	488
			Employé/Fonctionnaire	4,2	133
			Femme foyer/Sans/Retraite	59,6	1869
Autres	6,3	199			

3342 personnes se sont présentées et ont bénéficié d'un examen clinique et d'une échographie abdominale ce qui a permis de trouver des images kystiques chez 134 patients soit 4% de la population examinée dont 72% sont des femmes et 36,4% âgés de 40-60ans ; 75% de ceux là avaient plus que deux chiens à domicile.

La prévalence ainsi mesurée dans la région de MEKNES-TAFILALT dans la période s'étalant du 4Avril-18Mai 2014 est de 4 % avec 64,8% des cas positifs au niveau de la province d'Ifrane et 35,2% dans la province de Elhajeb.

Une enquête épidémiologique a été menée auprès des 134cas positifs, les résultats sont représentés dans les tableaux suivants:

Sexe (N=134)	Pourcentage	Effectif
Homme	27,3	36
Classe d'âge (N=134)		
<18	6,1	8
[18-40[	35,8	47
[40-60[	36,4	48
≥60	21,8	31
Profession (N=134)		
Agriculteur/Berger/Fermier	14,5	19
Elève	6,7	8
Employé/Fonctionnaire	1,8	2
Femme foyer/Sans/Retraite	70,3	94
Autres	6,7	11

Connaissez-vous les lésions dans le foie des animaux ? (N=134)	Pourcentage	Effectif
Oui	86,5	116
Avez-vous des animaux de boucherie à la maison ? (N=134)		
Non	47,1	63
Oui	52,9	71
Avez-vous des chiens ? (N=134)		
Non	39,6	53
Oui	60,4	81
D'autres chiens inconnus, ont-ils accès à votre maison ? (N=134)		
Non	37,2	49
Oui	62,8	85
Quelle source d'eau utilisez-vous ? (N=134)		
Robinet	43,5	58
Source/Puits/lac	56,5	76
Vos chiens et vos bétails partagent-ils la même source d'eau dans votre propriété ? (N=81)		
Non	48,0	38
Oui	52,0	43

	N	%
Admettre à la maison (N=134)		
Non	28	20,8
Oui	106	79,2
Comment vous débarrassez vous des abats ? (N=122)		
Donner aux chiens	91	74,6
Enterrer/Bruler	15	12,3
Poubelle	16	13,1
Laisser vous les chiens errer ?(N=81)		
Non	14	17,5
Oui	67	82,5
Les chiens sont-ils admis à la maison ?(N=134)		
Non	93	70,0
Oui	41	30,0
Que donnez-vous aux chiens ? (N=101)		
Pain/Son	11	10,9
Reste du repas familial/Pain	66	65,3
Viscères Crus/Autres	24	23,8
Traitez-vous vos chiens par Praziquantel? (N=81)		
Non	56	70,2
Oui	25	29,8

TECHNIQUE	ELISA	W.BLOT
CAS POSITIFS	57,4% (N=77)	52,2% (N =70)
CAS NEGATIFS	42,6% (N=57)	47,8% (N=64)

Sur les 134 cas dépistés,70 patients présentaient une sérologie positive(ELISA+Western Blot) soit 52,2%, 6 patients ayant une sérologie positive à l'ELISA se sont révélés négatifs au Western Blot. Soit une séroprévalence calculée de l'hydatidose abdominale dans la région de Meknès Tafilalt de 2,09%.

**DISCUSSION**

L'Hydatidose est un fléau mondial répandu de façon endémique en Afrique du Nord et dans certains pays du pourtour méditerranéen, où l'incidence dépasse parfois 500 cas pour 100000 habitants [2].Au Maroc de nombreuses séries ont été publiées apportant la preuve de la forte endémie de cette affection avec des chiffres allant de 3,6 (1980) à 5,6 (2004) pour 100000 habitants [3]. L'OMS considère que ces chiffres sont loin de la réalité et estime que l'incidence réelle de l'Hydatidose au Maroc serait de 12 cas par 100 000 habitants, derrière la Tunisie (14 pour 100 000 habitants) et devant l'Algérie (10 pour 100 000 habitants) [4]

Dans notre étude, nous avons tenté d'estimer la prévalence de l'Hydatidose abdominale au niveau de la région Meknès Tafilalt. Les résultats de notre série concordent avec la théorie de l'OMS en rapportant une prévalence de 4%, nettement plus élevée que celle estimée lors d'une étude de dépistage (2000-2001) par échographie dans la région du moyen Atlas qui estimait la prévalence à 1,1%(Actatropica).

Nous avons également constaté une nette prédominance rurale de l'Hydatidose, expliquée par l'association de nombreux facteurs favorisant l'agriculture, l'élevage, chiens errants, conditions d'abattage rejoignant ainsi les séries d'étude de Bellil et al [5].

Dans notre série d'étude, l'âge moyen rejoint la majorité des études ayant relaté la forte prévalence de l'adulte jeune. En revanche la tranche d'âge (0-9ans), n'enregistre aucun cas d'Hydatidose dans notre série.

La séroprévalence obtenue dans notre étude est de 2,09%,inférieure à la prévalence de 4%annoncée dans notre série ceci pourrait s'expliquer par les images kystiques dues à d'autres étiologies (kyste biliaire) et par les kystes calcifiées ou non immunogènes ou éventuellement à un déficit immunitaire humoral.

Par opposition à la majorité des grandes séries publiées qui n'ont pas rapporté de prédominance de sexe. On note une nette prédominance féminine chez nos patients avec un sexe ratio de 1,98, constat retrouvé dans l'étude de OMAR et al [5].ceci serait expliqué par le contact étroit des femmes avec les animaux domestiques et la manipulation des crudités souillées.

**CONCLUSION**

L'Hydatidose est une "maladie négligée", en partie à cause de sa distribution essentiellement rurale, caractéristique des sociétés pastorales et de son expression clinique. Néanmoins, son impact socio-économique est énorme. La dispersion de l'Hydatidose sur de vastes zones géographiques, souvent difficiles à atteindre et avec un niveau d'infrastructures de santé limitée, rend sa prise en charge complexe. Elle reste sensible à des moyens de prévention adaptés.



**REFERENCES**

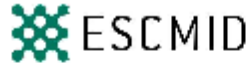
[1] S.M'rad, M. Oudni-M'rad, G.Boubaker, L.Bouazzi, M.Gorcil, A.Nouri, H.Mezhoud H.Babba. Etude rétrospective de la distribution et de la fertilité des kystes hydatiques chez l'enfant en tunisie. Pathologie Biologie : 60 (2012) :166-169

[2] Shyampada Mandal, Manisha Deb Mandal. Human cystic echinococcosis : epidemiologic, zoonotic, clinical, diagnostic and therapeutic aspects. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine (2011):253-260

[3] Mohammed Laytimi F. le kyste hydatique du poulmon chez l'enfant à propos de 115 cas faculté de médecine et de pharmacie de FES. Thèse de médecine, 2011 ; N°064/11.

[4] Le kyste hydatique du rein chez l'enfant (à propos de 4cas), bouناول med, faculté de Médecine de Fès, N°17 /2011 Omar derfoufi

[5]S.Bellil, F.Limaïem, K.Bellil, I.Chelly, A.Mekni, S.Haouet, N.Kchir, M.Zinoua. Epidémiologie des kystes hydatiques extrapulmonaires : 265 cas en Tunisie. Médecine et maladies infectieuses ; 39 (2009) :341- 343



Scientific Secretariat  
27th ECCMID 2017  
c/o ESCMID Executive  
Office P.O. Box 214  
4010 Basel, Switzerland  
eccmid@escmid.org  
www.escmid.org

05 May 2017

To whom it may concern:

CONFIRMATION OF PRESENTATION AT ECCMID 2017

We hereby confirm that the following abstract has been submitted, accepted and presented at the 27th ECCMID, the European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, which took place in Vienna, Austria, 22 – 25 April, 2017.

Title: Cystic echinococcosis in immigrants accessing a single referral centre in Lombardy, Italy

Abstract Authors: R. Lissandrin, S. Tahiri, I. Covini, A. Casulli, P. Rossi, F. Galati, L. Cattaneo, A. Vola, M. Mariconti, T. Manciuili, F. Tamarozzi, E. Brunetti

Presenter: Francesca Tamarozzi

Session Title: Echinococcosis

Presentation Type: Paper poster session

Presentation Number: 3318

Yours sincerely,

Winfried V. Kern  
ECCMID 2017 Programme Director

ESCMID European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

ESCMID Executive Committee M. Poljak, President, Ljubljana, SI; M. Akova, Past-President and Communication Officer, Ankara, TR; J. Rodriguez-Bafo, President-elect and Secretary General, Seville, ES; A. Friedrich, Treasurer, Groningen, NL; M. Sargunetti, Professional Affairs Officer Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Rome, IT; E. Tacconelli, Education Officer, Tübingen, DE; A. Zinkemagel, Scientific Affairs Officer, Zurich, CH  
Ad hoc members Ch. Giske, EUCAST Chairperson, Stockholm, SE; Michel Drancourt, AMM Editor-in-Chief, Marseille, FR; W. Hope, ESCMID Guidelines Director, Liverpool, UK; L. Leibovici, OMI Editor-in-Chief, Petah-Tiqva, IL; W. Kern, ECCMID Programme Director, Freiburg, DE; G. Cornaglia, International Affairs Director, Verona, IT

27th ECCMID  
EUROPEAN CONGRESS OF  
CLINICAL MICROBIOLOGY  
AND INFECTIOUS DISEASES



# Cystic Echinococcosis in immigrants accessing a single referral center in Lombardy, Italy.



Reffoalds Lisaendrin<sup>1</sup>, Sarah Tahiri<sup>2</sup>, Denis Covini<sup>3</sup>, Adriano Casulli<sup>4</sup>, Patricia Basti<sup>5</sup>, Fabio Gelsati<sup>6</sup>, Leticia Cattaneo<sup>7</sup>, Andrea Vola<sup>8</sup>, Mara Maricanti<sup>9</sup>, Tommaso Mancialli<sup>10</sup>, Francesca Tomazzoli<sup>11</sup>, Erica Brunetti<sup>12</sup>.

<sup>1</sup>Division of Infectious and Tropical Diseases, San Matteo Hospital Foundation, WHO Collaborating Centre on Clinical Management of Cystic Echinococcosis, Pavia, Italy; <sup>2</sup>ref@lisaendrin@unipv.it (E-mail); <sup>3</sup>Microbiology Laboratory, Military Teaching Hospital "Muhamed V" Rabat, Morocco; <sup>4</sup>Research Team in parasitology, Tropical and Fungal Infectious Diseases, School of Medicine and Pharmacy, University "Muhamed V", Rabat, Morocco; <sup>5</sup>WHO collaborating centre for the epidemiology, detection and control of cystic and dwarfed echinococcosis (in humans and animals) (Echinococcosis and Toxocarosis) (Echinococcosis Unit), Zetters Superior School of Health, Rome, Italy; <sup>6</sup>Department of Infectious, Parasitic and Zoonoses-related Diseases, Zetters Superior School of Health, Rome, Italy; <sup>7</sup>Division of Infectious and Tropical Diseases, San Matteo Hospital Foundation, University of Pavia, WHO Collaborating Centre for Clinical Management of Cystic Echinococcosis, Pavia, Italy; <sup>8</sup>Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences, University of Pavia, WHO Collaborating Centre for Clinical Management of Cystic Echinococcosis, Pavia, Italy.

**Introduction and purpose:**

Cystic echinococcosis (CE) is a chronic, complex, and neglected zoonosis that causes serious liver and lung disease in humans, especially in sheep raising areas. The increase in immigration from high CE prevalence countries to low prevalence countries results in higher numbers of patients with CE seeking medical attention in the latter. However, no data on the magnitude of the problem are available.

The aim of this study is to assess the number, demographics and clinical features of immigrants with CE seen in a single referral center in the north of Italy from 2012-2016.

**Material/methods:**

CE patients who accessed the WHO Collaborating Center for CE at the University of Pavia-San Matteo Hospital Foundation from October 2012 to November 2016, were searched in the European Register of Cystic Echinococcosis database (ERCE) (<http://www.bccs.cdc.gov/erice/index.html>) and retrospectively analyzed.

Cyst stages were classified as active (CE1 and CE2), transitional (CE3a and CE3b) and inactive cysts (CE4 and CE5). Post-surgical cavities were also included.

In the study period, 349 CE patients were enrolled in the registry, 160 (45.8%) were males and 189 (54.2%) were females, with a mean age of 49.3 years (range 2-85). Two hundred and nine patients (59.9%) were born in Italy while 140 (40.1%) were foreign born. The majority of immigrants were from highly endemic countries such as Morocco (n=40, 28.6%), Romania (n=30, 21.4%), Albania (n=10, 7.1%) and Peru (n=10, 7.1%). There were 525 cysts and/or post surgical cavities, 308 (58.8%) in Italians and 217 (41.3%) in foreign born patients. The majority of patients (n= 244, 69.9%) had a single cyst, located in the liver in 230 (94.3%) patients and outside the liver in 14 (5.7%). One hundred and five (30.1%) patients had multiple cysts.

Transitional and inactive cysts were most frequently observed (29.3 and 62.3% respectively) (See table). Most of transitional cysts were seen in immigrants while inactive cysts were more frequent in Italian patients (36.9 vs. 24% and 69.2% vs 52.5% respectively).

Hepatic and Extra-hepatic cysts	All patients	Italian born patients	Foreign born Patients
Total cysts n (%)	525	308 (58.7)	217 (41.3)
Active cysts, n (%)	44 (8.4)	21 (6.8)	23 (10.6)
Transitional cysts, n (%)	154 (29.3)	74 (24.0)	80 (36.9)
Inactive cysts, n (%)	327 (62.3)	213 (69.2)	114 (52.5)

Table: Cysts distribution in Italian and foreign born patients.

**Conclusion\***

Forty percent of CE patients seen in our referral center in Italy are immigrants. This is hardly surprising, given the increasing international mobility and the chronic nature of CE. The adoption of ERCE, an international registry for CE greatly improves monitoring of CE across borders and provides a reliable picture of its real prevalence.

\*Authors have nothing to disclose



## ATTESTATION DE PARTICIPATION

Nom : TAHIRI

Prénom : Sara

A participé à la 1<sup>ère</sup> édition des Rencontres Médicales et Scientifiques  
organisée par l'Université Internationale des Sciences de la Santé  
le Vendredi 11 Mai 2018 avec une communication affichée :

« Genotyping of Echinococcus granulosus cysts from humans in Morocco : about 17 cases »

Président de l'Université Internationale  
Abulcasis des Sciences de la Santé



## Genotyping of Echinococcus Granulosus cysts from humans in Morocco : about 17 cases

Sara TAHIRI ; Hafida NAOUI ; Mourad BOUCHRIK ; Badr Eddine LMIMOUNI  
Parasitology Laboratory , Military Teaching Hospital Mohamed The Fifth, Rabat  
School of Medicine and Pharmacy, University Mohammed the Fifth, Rabat



### INTRODUCTION

In Morocco, Cystic Echinococcosis(CE) ,caused by the larval stage of Echinococcus Granulosus is a real public health problem [1]. Molecular studies on mitochondrial DNA have identified 9 genotypes of E. Granulosus worldwide, 8 of wich are known to affect humans.In our country, Molecular studies carried out on CE cysts only obtains from infected animals in different regions identified in the vast majority the G1 genotype, and to a lesser extent the G2 and G3 genotypes,all in the Granulosus Sensus Stricto complex [2-4]. However, no studies have so far characterized the genotype of Granulosus cysts in humans in Morocco. Our genotyping study ,the first in Morocco on CE cysts form infected patients, aims to add new data on the epidemiology of CE in the country, allowing a comparison between the parasite circulation in humans and in animals , and on the susceptibility of humans to Granulosus strains endemic in the country.

### RESULTS

During the ultrasound screening, 102 persons with abdominal CE were identified [5] , of whom 12 were candidate to surgery and 32 to percutaneous treatment. A total of 17 samples were available for genotyping after microscopical assessment of cyst viability. Of these, only 5 samples could be amplified successfully, after carrying out the analysis twice. Electrophoresis results area shown in **figure 1** and **table 2**.

Band analysis revealed the presence of bands specific for the genus *Echinococcus* (1234pb), of the species *Echinococcus Granulosus* (110pb), of the complex *Echinococcus Granulosus s.s.* (1001pb; 706pb), comprising genotypes G1, G2 and G3. No bands specific for *E. Equinus* (G4), *E. Ortleppi* (G5), *E. Canadensis* (G6/G7), and *E. Canadensis* (G8/G10) were found.

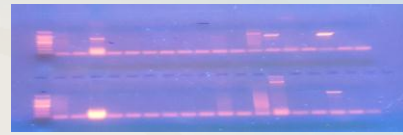


FIGURE 1: Agarose gel electrophoresis of the 17 analysed samples. Line M:molecular weight marker (100 bp Promega); lines 1-17: samples

Species (genotype)	E. granulosus (G1-G3)	E. equinus (G4)	E. ortleppi (G5)	E. canadensis (G6/G7)	E. canadensis (G8/G10)
Number	5	0	0	0	0
Percentage	100%	0%	0%	0%	0%

TABLE 2: Results of the genotyping of 5 successful amplifications of DNA from CE cyst material of human origin.

### MATERIALS AND METHODS

-Project « Clinical management of cystic Echinococcosis in Morocco » Meknes Tafilat region, Middle Atlas [5]

-October2014-january2015.

-Ultrasound screening of 5221 people of 10-80years of age with portable machines with 3,5-5Mhz convex probes.

-Serology: \*ELISA RIDASCREEN® Echinococcus IgG  
\*Western Blot Echinococcus IgG .

-All patient with abdominal CE requiring surgical or percutaneous (PAIR)treatment according to the WHO informal working group on Echinococcosis (IWGE) Expert Consensus recommendations were treated free of charge. [6]

-Cyst fluid was obtained during procedures (surgery , PAIR):

\*An aliquot was examined by optical microscopy after eosin stain.

\*A second aliquot was centrifuged at 500g for 30min and precipitate then stored at -20°C until used for the molecular analysis.

### MOLECULAR ANALYSIS

Before DNA extraction, samples were washed for 15 min in 200 µL phosphate buffered saline (PBS).Samples were centrifuged at 3500g for 3 min and the precipitates were washed twice for 15 min in 100 µL PBS. Finally all samples were centrifuged at 3500 g for 5 min and the PBS was removed.

Genomic DNA was extracted by each sample using the DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen, Valence, CA, USA), according to manufacturer's instructions.

Mitochondrial and nuclear genes published by Boubakar et al. [7] were amplified (Table 1).

Amplification was carried out in a final volume of 20 µL containing the DNA template (5ng), 100 µM of dNTP mix, 1X PCR buffer, 0,05 units/µL of Taq DNA polymerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega, Madison, WI, USA) and 22 primers specific for the 11 target sequences, at the concentrations indicated in Table1.

The thermal profile was as follows: 3 min at 94 °C, 25 cycles of 30 sec at 94°C, 30 sec at 56°C and 1 min at 72°C, followed by 10 min at 72°C. Amplicons were analysed by 2% agarose gel electrophoresis in the presence of ethidium bromide in a Biorad apparatus, followed by visualization of the products by UV light.

### CONCLUSION

Our results show that the *E. granulosus sensu stricto* complex causes CE in humans in Morocco, which is in line with the regional and global epidemiological picture. They support the hypothesis that humans are particularly susceptible to this particular species, and highlight the role of its animal reservoirs in the transmission to humans. Larger and more discriminative studies are need in Morocco to better define the genotype distribution and confirm our results, with the aim of elaborating the better strategy for infection control

### BIBLIOGRAPHY

- [1] D. DERPOUR, E. N. AKHA, A. ELMAJAOUI, E. HES, H. ESELMANI, M. LYAGOUBI, S. AOURI. Profil épidémiologique de l'hydatidose au Maroc de 1980 à 2008. *Ann Rev Clin* 2012 ; 70 (1) : 457-61
- [2] ADAR R, ET SARAH A. Epidemiological study of the cystic echinococcosis in Morocco. *Western Parasitology* 2006; 137: 89-93
- [3] CA. ALVAREZ ROSAS, T. ROJAS, M. W. LEIGHTONERS. Echinococcus granulosus sensu stricto genotypes infecting humans:review of current knowledge. *Parasitology* 2014; 144(1): 9-18.
- [4] ELMAJAOUI A. Epidemiologie et Technocologie hydatique dans la province de settat:etude et Evaluation d'actions de sante consequentes dans le cadre d'une approche integrée associant l'echinocoque viscérale et la rage Thèse de médecine Vétérinaire, Settat, Rabat, 2015.
- [5] ELMAJAOUI A. *Epidémiologie et Santé Publique*. Expert Consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Parasitology* 2010 April; 140(1):11-16. doi: 10.1017/S0950268809991200. Epub 2009 Nov 26.
- [6] MICHAELIS DV AND SMITH JD. Hydatidosis: Changing Concepts in Epidemiology and Speciation. *Parasitol Today* 1986; 7: 163-168.
- [7] SANDERS SM, HERRERA F, URABARRON M, MARAZON C, AGUIRRE E, OMBRESI TORRESAN, R, KAL E.B. Evidence that the Echinococcus granulosus G6 genotype has an affinity for the brain in humans. *Int J Parasitol* 2013 ; 43: 875-877.
- [8] SMITH LM, BARONNET K, ELFEQUICH M.C, DUPONT M, DALL L, WITTON D.L, PARROUX R. Echinococcus granulosus strain typing in North Africa: comparison of eight nuclear and mitochondrial DNA fragments. *Parasitology* 2004; 128: 229-234
- [9] MALLAS S, BENDICHO-ELISSAC M, KNAIP A, BRET JM, AGUIRRE F, GOTTSTEIN B, PARROUX R. Echinococcus granulosus strain typing in Tunisia: results of 2005-2009 study and trends between 1977 and 2005. *Parasitology* 2010; 140(1):11-16. doi: 10.1017/S0950268809991200. Epub 2009 Nov 26.
- [10] SAHAR, S., REBAI, W., BOUFANA, B.S., CRAID, P.S., KSANTINI, R., DAGHROUS, A., CHEBBI, F., FERICHE, F., REDOUH, H., YOUNI, H., CHEBI, H., MANZI, A., AYADI, H.S., AMMOUKI, A., KACEM, M.J., BEN SAFTA, Z. Cystic echinococcosis in Tunisia: analysis of hydatid cysts that have been surgically removed from patients. *Ann Trop Med Parasitol* 2009; 103: 593-604.
- [11] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19223334>
- [12] LIGHTONERS M,W, LAWRENCE S,B, GAUCI C,G, YOUNG, J, BALSON M,J, MAAS D, HEATH D.D. Vaccination against hydatidosis using a defined recombinant antigen. *Int J Parasitol* 1998; 28: 457-462.

**COLLABORATION  
INTERNATIONALE**

---

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'



- WHO Collaborating Centre for the Epidemiology, Detection and Control of Cystic and Alveolar Echinococcosis;
    - European Union Reference Laboratory for Parasites (EURLP);
    - Department of Infectious Diseases, ITALIAN INSTITUTE OF HEALTH
- 



TO WHOM IT MAY CONCERNS

In my role of coordinator of HERACLES project (Human cystic Echinococcosis ReseArch in Central and Eastern Societies; GA 602051) funded under the Seventh Framework Programme of the European Commission (FP7), I confirm that Dr. Sara Tahiri is collaborating to the multicentre study on the genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in humans, within the Work Package 3 of HERACLES.

Rome 15/03/2018

Dr. Adriano Casulli

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Adriano Casulli".

**Adriano Casulli, PhD (HERACLES project coordinator)**

- Head of the WHO CC for the epidemiology, detection and control of cystic and alveolar echinococcosis;
- European Union Reference Laboratory for Parasites;  
Department of Infectious, Diseases.  
ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ (NATIONAL INSTITUTE of HEALTH)  
Viale Regina Elena, 299, 00161 Rome, ITALY  
Phone: +39 06 4990 2896  
adriano.casulli@iss.it; <http://www.Heracles-FP7.eu>

**ARTICLES ET  
PUBLICATIONS**

## Kyste hydatique abdominal : mise au point

### English title: Abdominal Hydatid Cyst: Overview

Sara Tahiri<sup>1,2</sup>, Majdouline Obtel<sup>3,4</sup>, Badre Eddine Lmimouni<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Parasitology laboratory, Military Teaching Hospital “Mohammed V”, Rabat, Morocco ; Team Research in parasitology, tropical and fungal infectious diseases, School of Medicine and Pharmacy, University “Mohammed V”, Rabat, Morocco ;

<sup>3</sup>Laboratory of Community Health, Preventive Medicine and Hygiene; <sup>4</sup>Laboratory of Epidemiology, Clinical Research and Biostatistics, Department of Public Health, Faculty of Medicine and Pharmacy, University Mohammed V, Rabat, Morocco.

**RESUME.** Le kyste hydatique (KH) est une zoonose parasitaire présente dans le monde entier, causée par le stade larvaire du ténia du chien *Echinococcus granulosus* sensu lato. Son cycle de vie se développe entre le chien (et d'autres canidés), qui est l'hôte définitif, et les moutons (et autres ruminants), qui est l'hôte intermédiaire. C'est une "maladie négligée", en partie à cause de sa distribution rurale, dans sociétés pastorales et marginalisées, où il existe un contact étroit avec le cycle chien-mouton. L'évolution de la maladie est chronique, marquée par des complications relatives à l'évolution de kyste, mais elle est rarement fatale. Néanmoins, son impact socio-économique est énorme. Le diagnostic et la prise en charge clinique du KH sont complexes et nécessitent une approche pluridisciplinaire, souvent disponible uniquement dans les centres de référence. En 2010, le Groupe de travail informel de l'OMS sur l'échinococcose (WHO-IWGE) a mis en place une classification par consensus des stades des kystes hydatiques, pour guider la prise en charge rationnelle selon les stades des kystes aux différentes options thérapeutiques, y compris la chirurgie, le traitement médical, le traitement percutané et l'approche « Wait and Watch ».

**Mots clés.** *Kyste hydatique, Echinococcus granulosus, zoonose parasitaire.*

**ABSTRACT.** The hydatid Cyst is a parasitic zoonosis, present worldwide, caused by the larval stage of the dog tapeworm *Echinococcus granulosus* sensu lato. The hydatid Cyst is a parasitic infection whose natural domestic cycle develops between dogs and sheep (and other livestock). Human infection is endemic in pastoral. It is a "neglected disease", partly because of its rural distribution, in pastoral and marginalised societies, where close contact with the dog-sheep cycle occurs. The evolution of the disease is chronic, marked by complications related to the evolution of cyst, but it is rarely fatal. Nevertheless, its socio-economic impact is considerable. The diagnosis and clinical management of KH are complex and require a multidisciplinary approach, often available only in referral centres. In 2010, the World Health Organization Informal Working Group on Echinococcosis (WHO-IWGE) implemented a consensus ultra sound based classification of hydatid cysts stages, to guide the rational stage-specific allocation of KH patients to different management options, including surgery, medical therapy, percutaneous treatment and the “watch and wait” approach.

**Keywords.** *Hydatid cyst, Echinococcus granulosus, parasitic zoonosis.*

## INTRODUCTION

Le kyste hydatique (KH) est une Cestode larvaire due au développement de la forme larvaire du tænia *Echinococcus granulosus* (E.G). Sa progression est très lente et caractérisée par une latence clinique comparable à une tumeur bénigne. L'évolution de la maladie est chronique, marquée par des complications relatives à l'évolution de kyste, mais elle est rarement fatale. Néanmoins son impact socio-économique est non négligeable.

Au Maroc, son incidence annuelle est de 7,2/100 000 Habitants [1]. Cependant, les statistiques hospitalières sous estiment la prévalence réelle de l'infection, car une grande proportion des cas ne parvient pas aux soins médicaux et n'est donc pas recensée sur les registres officiels [2].

Le diagnostic et la prise en charge clinique du KH sont complexes et nécessitent une approche pluridisciplinaire.

## CYCLE DU PARASITE

*L'Echinococcus granulosus* est l'agent de l'Hydatidose ou KH, anthroponose cosmopolite due au développement de la forme larvaire du parasite. Ce dernier peut exister sous trois formes distinctes représentant les trois différentes étapes de son cycle biologique, ainsi, l'EG peut se présenter sous la forme adulte, qui vit fixée au niveau de l'intestin grêle de l'hôte définitif (HD). Dans le milieu extérieur, Il revêt la forme d'œufs, qui permettent la contamination de l'hôte intermédiaire (HI). Et, enfin chez ce dernier hôte, il se présente sous une forme larvaire ou KH, responsable de l'Hydatidose maladie.

Le cycle est de type hétéroxène, il implique un HD principal qui est le chien domestique mais aussi les canidés sauvages dans certaines régions du monde, et un HI représenté par les herbivores : ovins, caprins, bovins, équidés, suidés ou encore les camélidés avec une importance variable selon les régions.

L'homme peut jouer le rôle d'HI accidentel et héberger la forme larvaire, mais ne faisant pas partie du régime alimentaire des chiens son infection constitue une impasse parasitaire.

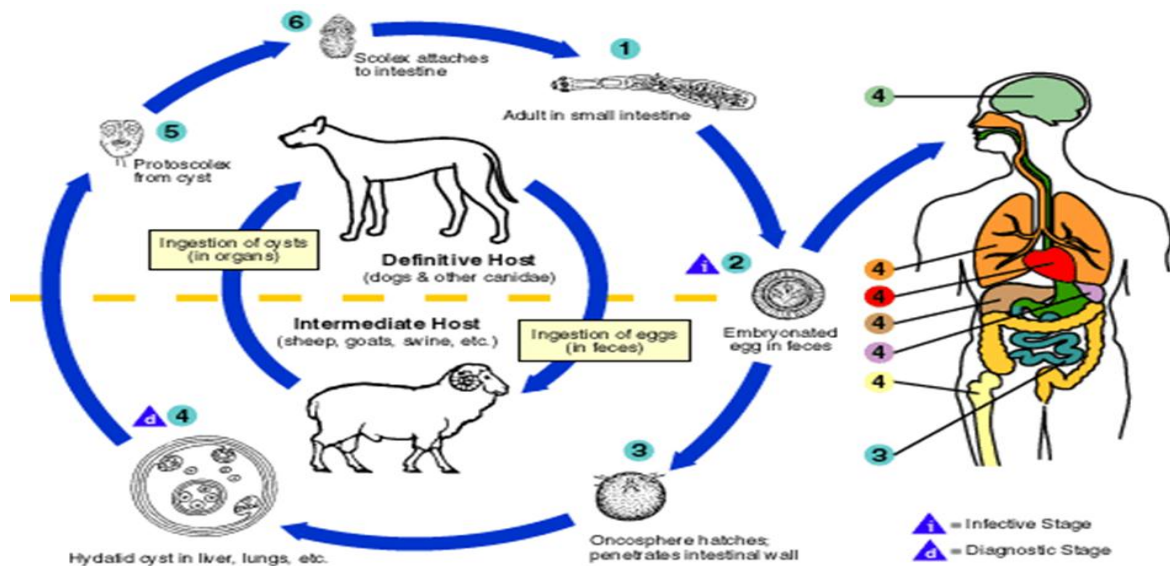


Figure 1 : Cycle évolutif d'E.G [3]

## ASPECTS GENETIQUES D'*ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*

La diversité génétique au sein des *Echinococcus* est reconnue depuis longtemps, aussi durant des années la taxonomie de ce genre a fait débat au sein de la communauté scientifique. E.G n'est pas une espèce uniforme. Des acquisitions récentes grâce aux outils de biologie moléculaire ont permis de conclure que c'est un complexe d'espèces parasites à expression clinique similaire comprenant 10 génotypes regroupés en 4 espèces. Il y'a un intérêt épidémiologique réel à définir les souches d'E.G car il existe une spécificité d'hôtes de ces génotypes avec un impact possible en diagnostic et en prévention, et également pour différencier les formes importées des formes autochtones [4].

Jusqu'à récemment seules 4 espèces étaient identifiées au sein du genre *Echinococcus* : *E. granulosus* ; *E. multilocularis* ; *E. oligarthrus* ; *E. vogeli*.

Les méthodes moléculaires ont permis la discrimination de différents génotypes (G1-10 et la «souche de lion»), dont certains sont maintenant considérés comme des espèces distinctes. En effet, l'avènement récent de ces techniques a montré que certaines souches d'E.G revendiquaient le statut d'espèce à part entière, et a renforcé la nécessité de réviser la taxonomie du genre *Echinococcus* [5].

Le séquençage complet du génome mitochondrial a confirmé la distinction en tant qu'espèces différentes de la souche équine et de la souche ovine d'EG en montrant qu'elles étaient aussi distantes les unes des autres que des espèces multilocularis ; oligarthrus et vogeli [6].

Roming et al. [7] ont suggéré que les différents génotypes soient regroupés en 4 différentes espèces : *E. granulosus sensu stricto* (G1, G2 et G3, ou G1–G3 complex), *Echinococcus equinus* (G4), *Echinococcus ortleppi* (G5), and *Echinococcus canadensis* (G6 à G10, ou G6–G10 complex).

*Echinococcus shiquicus* a été récemment découvert en Chine (Qinghai-Tibet) [8 ,9] ; montant ainsi le nombre d'espèces d'*Echinococcus* à neuf ou dix si l'on considère les groupes constitués par les souches G6, G7/G9 et G8 comme des espèces différentes, et la souche du lion comme une espèce à part entière : *E. felidis* [10].

## EPIDEMIOLOGIE

L'EG est responsable de la zoonose ayant la plus grande répartition géographique mondiale [11]. Le KH est endémique dans de nombreux pays du bassin méditerranéen, particulièrement au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Lybie, en Italie, en Grèce et en Turquie. Elle l'est également en Amérique du sud [12].

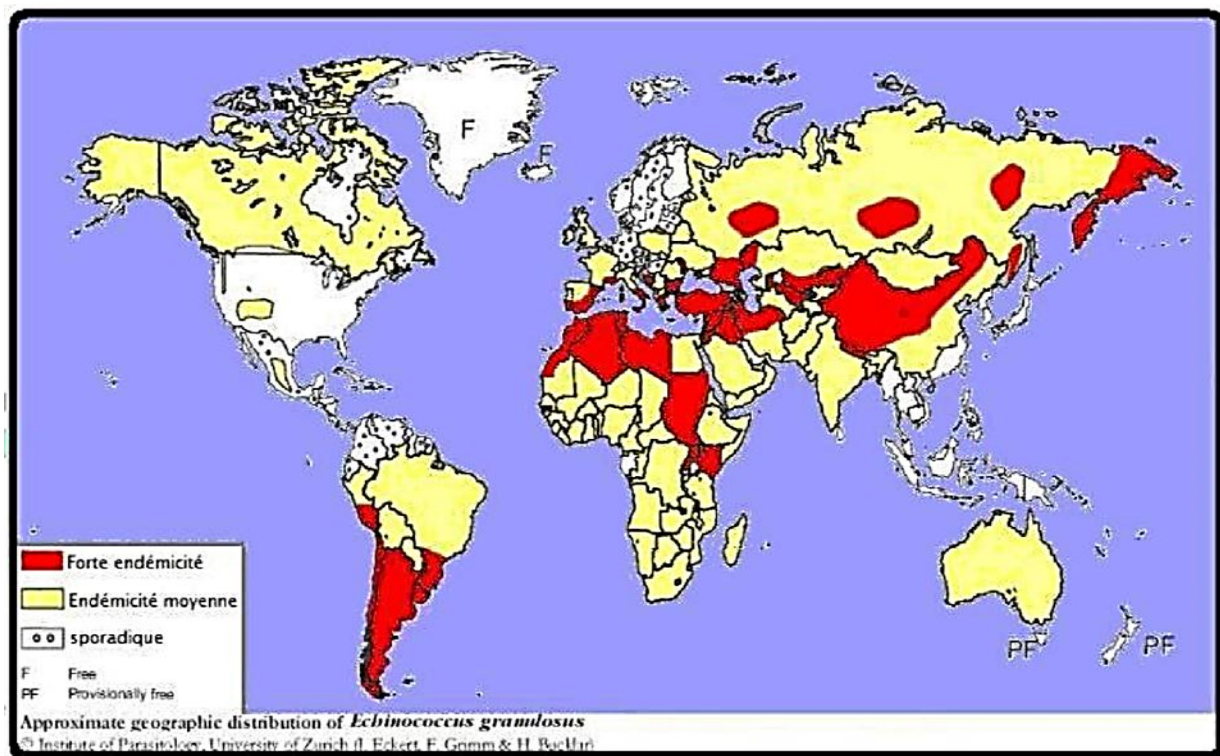


Figure 2 : Répartition géographique du kyste hydatique dans le monde [1]

En Afrique du Nord, La maladie est hautement endémique. Les HI prévalent sont représentés par les moutons et les chèvres, bien qu'en Afrique de Nord et de l'Est, le rôle du dromadaire semble considérable [13].

En Tunisie, l'hydatidose sévit de façon hautement endémique. La prévalence de l'infection est de l'ordre de 15/ 100 000 habitants, ce qui fait de ce pays l'un des plus endémiques du bassin méditerranéen. L'étude rétrospective la plus récente montre une incidence chirurgicale annuelle de 12,64 / 100000 habitants [14].

En Algérie, l'incidence chirurgicale basée sur des cas d'hôpitaux était de 3,6-4,6 /100 000 habitants [15]. D'autres études ont montré les taux suivant pour 100 000 habitants : 2,09 en 1997, 1,78 en 1998, 2,27 en 1999 et 2,6 en 2 000 [16].

En Egypte, le KH est également présent à l'état endémique avec une incidence de l'ordre de 4,29 – 9,01 cas / 100 000 habitants [16].

En Libye, une étude a estimé l'incidence chirurgicale dans la région orientale à 4,2 cas/100 000 habitants [17].

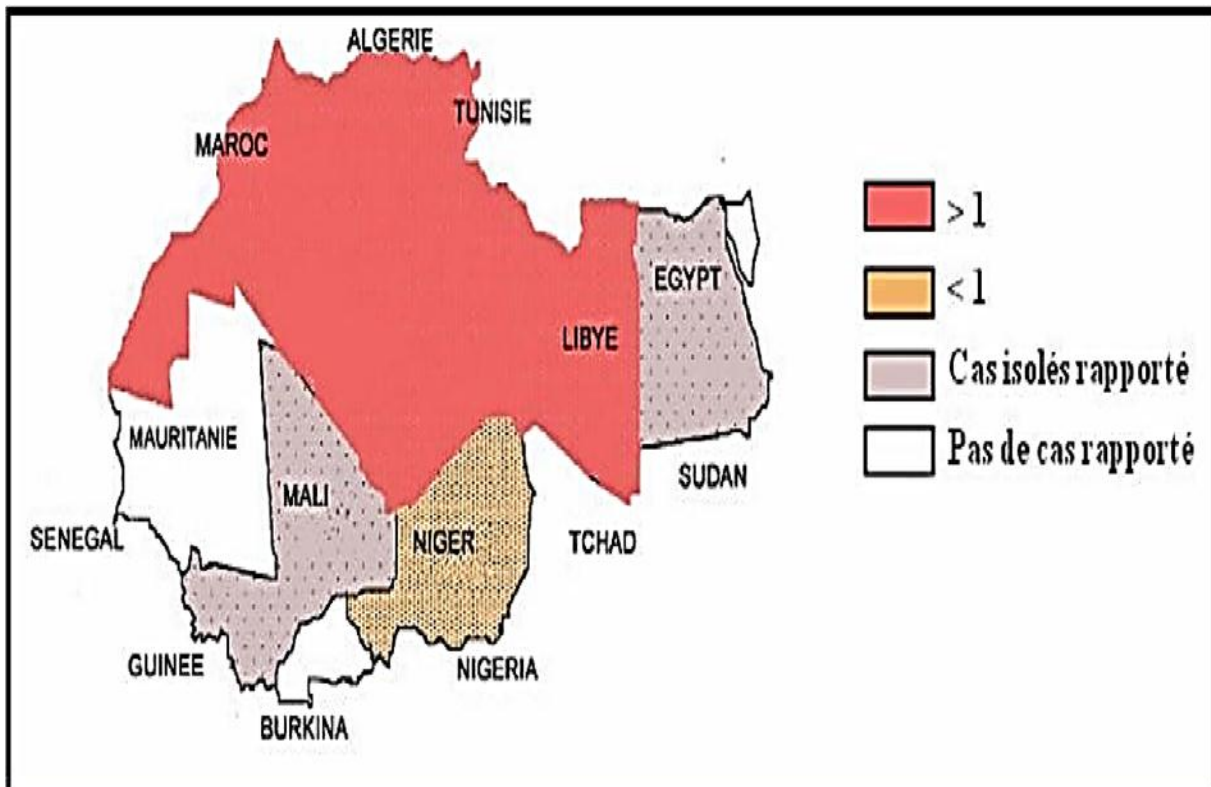


Figure 3 : Distribution de l'Hydatidose en Afrique du Nord [18]

Au Maroc, dans les trois dernières décennies et malgré les efforts réalisés dans la lutte contre cette parasitose, l'incidence chirurgicale des cas de KH n'a pas diminué et la demeure un grand problème de santé publique au Maroc avec une importance variable selon les régions.

Trois régions (Meknès-Tafilalt, Chaouia-Ouardigha et Doukala-Abda) enregistrent les incidences chirurgicales les plus élevées du royaume. En 2008, ces trois régions enregistrent à elles seules plus de 33 % du nombre des cas recensés, avec une incidence chirurgicale au cours de la même année qui varie entre un maximum de 11,9 pour 100 000 habitants à la région de Meknès-Tafilalt et un minimum de 2,2 pour 100 000 habitants dans la région de Guelmim-Essmara [19].

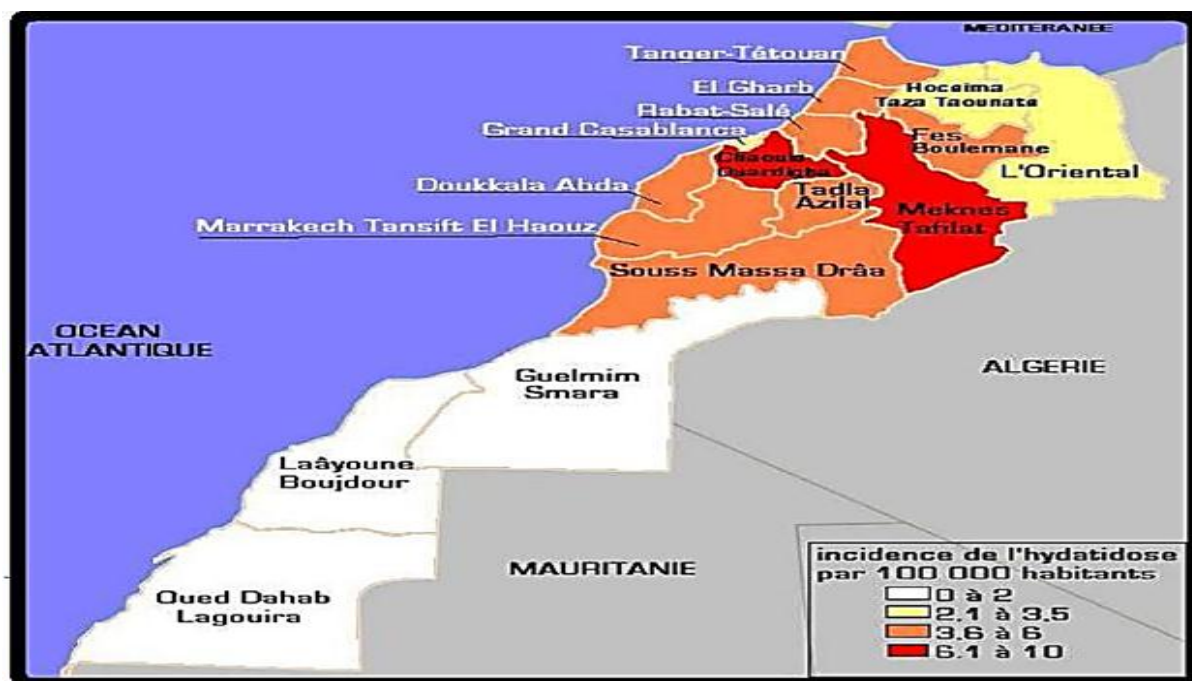


Figure 4 : Répartition géographique du kyste hydatique au Maroc selon les données épidémiologiques de 2006 [20].

## DIAGNOSTIC

**CLINIQUE** : Type de description : Kyste hydatique du foie non compliqué.

### - Circonstances de découverte

La découverte est plus souvent fortuite, à l'occasion d'une visite d'embauche, d'un examen échographique ou plus rarement en per opératoire.

Les Manifestations cliniques apparaissent tardivement dans l'évolution et sont liées au volume et/ou nombre de kystes et leurs topographie à l'origine d'un effet de masse au niveau des organes adjacents occasionnant une pesanteur hypochondre droit, une dyspepsie et une plénitude postprandiales [21].

Parfois, c'est lors du bilan d'extension d'une autre localisation hydatique (thorax surtout) qu'on trouve un KH abdominal.

L'origine rurale, la notion de profession exposée ainsi que la présence de chiens et de bétail dans l'entourage associées ou non à des douleurs de l'hypochondre droit à type de pesanteur sont des éléments anamnestiques qui orientent vers le diagnostic de KH dans les zones de forte endémicité [22].

#### - **Examen physique**

L'inspection de l'abdomen ne montre aucun signe pathognomonique du KH, mais parfois, on peut constater une voussure de l'hypochondre droit, en verre de montre. On palpe parfois le KH sous forme d'une tuméfaction déformant la paroi (lisse, régulière, légèrement rénitente, mobile avec le foie à la respiration) [22].

### **EXAMENS MORPHOLOGIQUES**

#### - **Echographie abdominale**

Les progrès de l'imagerie médicale ont beaucoup facilité le diagnostic du KH du foie ainsi que de ses complications.

L'échographie est la méthode de choix pour le diagnostic d'EK abdominale. Elle permet le diagnostic dans 9 cas sur 10, en précisant le siège, le contenu des kystes, leur nombre et les rapports vasculaires et biliaires intra-hépatiques

En 2003, le Groupe de travail informel de l'OMS sur l'échinococcose (WHO-IWGE) a mis en place une classification par consensus des stades des kystes KH (tableau 1, figure 4), ce qui permet de classer sans équivoque tous les stades morphologiques des kystes qui permet de guider la prise en charge rationnelle selon les stades d'EK aux différentes options thérapeutiques, y compris la chirurgie, le traitement médical, le traitement percutané et l'approche « Wait and Watch ». [23]

L'échographie peut aussi apporter des signes en faveur d'une complication biliaire en montrant une dilatation des voies biliaires avec parfois des images hyperéchogènes correspondant à des vésicules ou des membranes hydatiques à l'intérieur des voies biliaires. L'interruption de la continuité diaphragmatique, au contact d'un kyste témoigne de son ouverture dans le thorax.

L'écho-doppler permet d'évaluer les rapports du kyste hydatique avec les axes vasculaires (veine porte, veines sus-hépatiques, veine cave inférieure) [24].

**Tableau 1 : Classification des kystes hydatique du foie selon l'OMS [1]**

Type	Caractéristiques
<b>CL</b>	Univésiculaire, lésion (s) Kystique (CL) avec un contenu anéchogène uniforme, non délimité clairement par un bord hyperéchogène (= paroi du kyste non visible) Forme : normalement ronde mais peut être ovale Taille variable : mais généralement petite. CL (p): < 5.0 cm, CL (m): 5-10 cm, CL (g) > 10 cm.
<b>CE1</b>	Univésiculaire, kyste simple avec un contenu anéchogène uniforme. Kyste peut présenter un fin écho du au déplacement de la nichée de capsules qui est souvent appelée sable hydatique ('signe de flocon de neige') Paroi du kyste visible Forme : normalement ronde ou ovale Taille variable : Type CE1 (p): < 5.0 cm, Type CE1 (m) : 5-10 cm, CE1 (g) : > 10 cm
<b>CE2</b>	Multivésiculaires, kystes multicloisonnés, les cloisons du kyste produisent une structure 'wheel-like', et la présence de vésicules filles est indiquée par des structures d'aspect 'rosette' ou 'nid d'abeille'. Les vésicules filles peuvent occuper partiellement ou complètement la vésicule du kyste mère. Paroi du kyste visible normalement Forme : normalement ronde ou ovale Taille variable : Type CE2 (p): < 5.0 cm, Type CE2 (m) : 5-10 cm, CE2 (g) : > 10 cm
<b>CE3</b>	Kyste univésiculaire qui peut contenir des vésicules filles Contenu anéchogène avec détachement d'une membrane laminée de la paroi du kyste visible comme membrane flottante ou comme 'water-lily sign' qui est indicatif des membranes flottantes en dessus des débris du liquide kystique. Forme du kyste moins ronde à cause de la réduction de la pression intra kystique Taille variable : Type CE3 (p): < 5.0 cm, Type CE3 (m) : 5-10 cm, CE3 (g) : > 10 cm
<b>CE4</b>	Contenu dégénératif, hétérogène, hypoéchogène ou hyperéchogène. Pas de vésicules filles Peut montrer une 'pelote de laine' signe qui indique des membranes dégénératives Taille variable : Type CE4 (p): < 5.0 cm, Type CE4 (m) : 5-10 cm, CE4 (g) : > 10 cm
<b>CE5</b>	Kystes caractérisés par une paroi épaisse calcifiée qui est en forme d'arc, produisant un cône d'ombre. Degré de calcification varie de partielle à complète Taille variable : Type CE5 (p): < 5.0 cm, Type CE5 (m) : 5-10 cm, CE5 (g) : > 10 cm

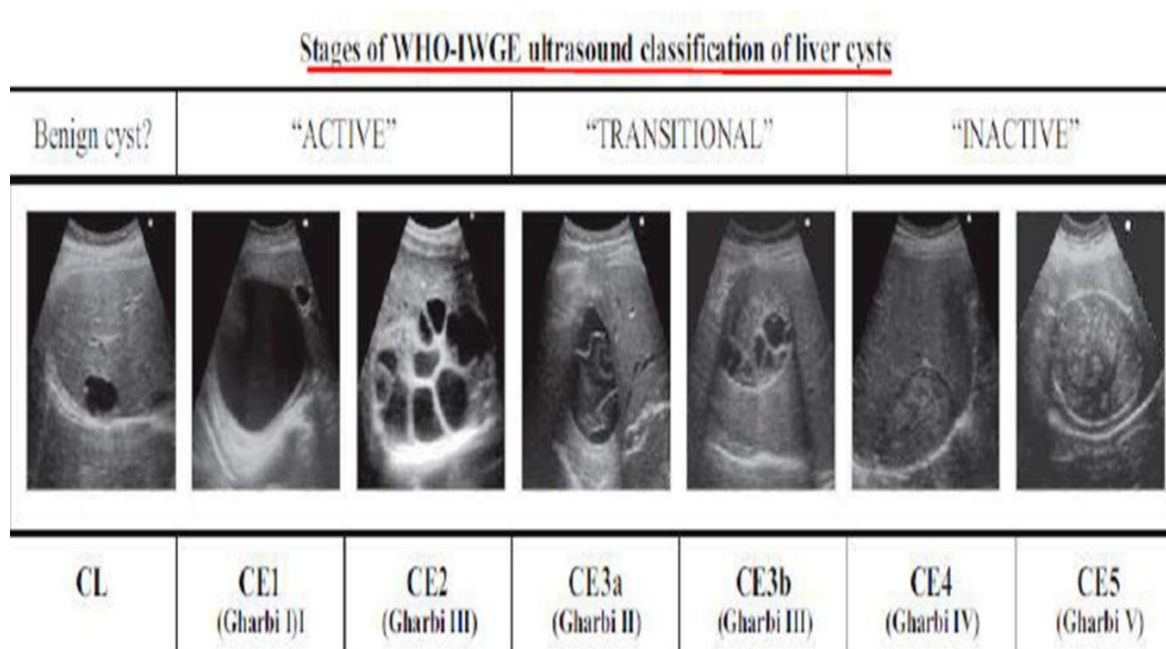


Figure 5 : Classification des kystes hydatique du foie selon l’OMS [23].

#### - Tomodensitométrie abdominale

Le scanner est utile quand le diagnostic est difficile (CE1, CE4 et CE5 de la classification de l’OMS) en éliminant les diagnostics différentiels, à savoir : un kyste biliaire, un angiome hépatique, un adénome, un hépato-carcinome, un abcès du foie ou une métastase hépatique dans sa forme kystique. La tomodensitométrie est indiquée aussi en cas de localisation hydatique multiple, de KH compliqué ou en cas de récurrence hydatique [24].

Egalement pour bilan préopératoire et bilan d’extension (cavité abdominale, pelvis, thorax) [22].

#### - IRM et Bili-IRM

C’est le 2ème examen de choix pour préciser caractéristiques du kyste (calcifications) et rechercher une éventuelle atteinte des voies biliaires.

### SEROLOGIE HYDATIQUE

Le diagnostic du KH repose principalement sur des méthodes radiologiques et immunologiques. La sérologie hydatique se base sur la mise en évidence d’anticorps spécifiques antiparasitaires dans le sang. Elle trouve son intérêt en cas de doute diagnostique dans stades intermédiaires de la classification de l’OMS et dans le suivi post-thérapeutique, principalement le dépistage des récurrences hydatiques [25].

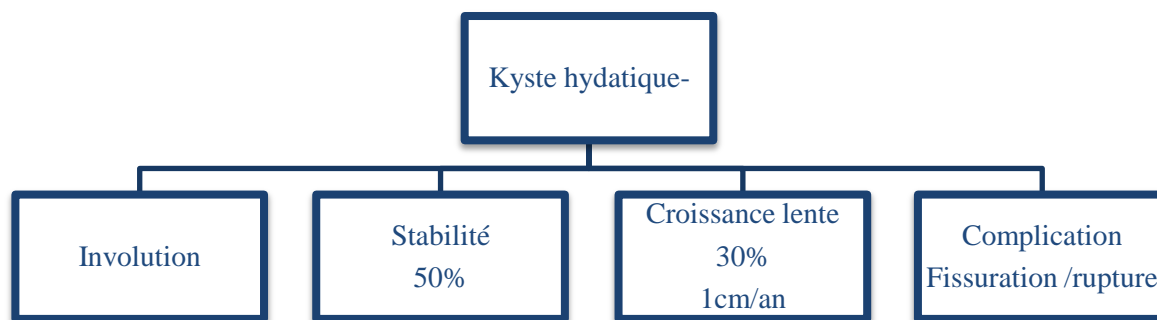
Toutefois, comme les antigènes ne peuvent pas être standardisés, des problèmes de sensibilité, de spécificité et de cohérence des tests sérologiques sont souvent rencontrés [26-27]. Il existe un consensus sur la faible spécificité des tests sérologiques couramment utilisés et sur la détection des anticorps anti-E. granulosus longtemps après la chirurgie ce qui provoque des difficultés d'interprétation. Le Western Blott (WB), plus spécifique, est utilisé comme test de confirmation dans de nombreux laboratoires pour un diagnostic fiable en plus de l'ELISA [26]. Dans une étude menée en Turquie, la sensibilité et la spécificité du kit WB d'E.G pour 25 cas de KH ont été calculées respectivement à 92,0% et 100,0% [28].

Étant donné que la spécificité de tous les tests est limitée par des réactions croisées dues à d'autres helminthoses, malignités, cirrhose du foie et présence d'anticorps anti-P-1, il existe un consensus selon lequel les tests de confirmation doivent être utilisés dans des cas douteux [29]. Multiplier les méthodes d'examen pour un même échantillon de sérum est recommandé pour un diagnostic plus fiable [30]. Le WB est un test spécifique généralement recommandé pour la confirmation après un test initial sensible tel qu'ELISA dans le diagnostic immunologique du KH [31].

D'autant plus que la performance des méthodes immunologiques est variable selon le stade évolutif du kyste, celles-ci est négative dans 30-58% des kystes CE1, dans 5 à 20% des kystes CE2 et CE3 et dans 50 à 87% des kystes CE4 et CE5. Elle varie également en fonction de l'intégrité du kyste et quand celui se fissure la réactivité sérologique augmente considérablement. Finalement, elle peut différencier selon l'organe touché (Foie>poumon>autres localisations) [21].

## **HISTOIRE DE LA MALADIE**

Selon des données fragmentaires recueillies de campagnes de dépistage de masse en pays endémiques avec des suivis longitudinaux, le KH peut évoluer soit spontanément vers l'involution, ou se stabiliser dans 50% des cas. Il peut également continuer à croître à un rythme lent (environ 1cm/an) dans 30% des cas. (Figure 6) [21].



**Figure 6 : Histoire naturelle du kyste hydatique [21].**

L'évolution peut également être marquée par la survenue de complications :

### Complications biliaires

La fistule biliaire est la plus fréquente des complications (40 à 60%), mais n'est pas toujours symptomatique. Pour les kystes de > 7,5 cm de diamètre, la probabilité de fistule est estimée à 80%. Une fistulisation dans voies biliaires qui peut se manifester par une angiocholite aiguë dans 2/3 des cas. Mais la symptomatologie peut être atypique avec simplement de la fièvre ou un prurit. Cette complication est à rechercher avant la prise de toute décision thérapeutique (anamnèse, enzymologie hépatique, imagerie) [32].

### Infections

Dans les formes mineures, elle est caractérisée par des douleurs épigastriques ou basi-thoraciques peu intenses avec parfois des accès fébriles. Un tableau de suppuration de l'hypochondre droit, voire un état de choc septique peuvent se voir dans les formes graves [33, 34].

### Compressions vasculaires

Les kystes centraux à développement postérieur peuvent entraîner une compression de la veine cave inférieure. Les kystes à développement postéro-supérieur peuvent comprimer les veines sus-hépatiques et être à l'origine d'un syndrome de Budd-Chiari. Les kystes comprimant le hile du foie peuvent être à l'origine d'un ictère par rétention et des poussées d'angiocholite ainsi que d'une hypertension portale [33-35].

### Rupture

Les kystes périphériques peuvent se rompre ou se fissurer dans la cavité péritonéale pouvant se manifester par un tableau aigu de choc anaphylactique ou évoluer de façon fruste vers

l'hydatidose péritonéale. Une ouverture dans le thorax qui peut être à l'origine d'installation brutale et évoquer la sémiologie d'un épanchement pleural, par une douleur basi thoracique et une dyspnée. Une symptomatologie de broncho-pneumopathie suppurée non spécifique, une toux, des expectorations purulentes sont présentes dans 8,0 à 60,0 % des cas [33,36]

### DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

Les kystes CL et CE1 de la classification de l'OMS peuvent prêter confusion avec des kystes biliaires à la différence que les kystes biliaires n'ont pas de paroi propre et la sérologie hydatique est négative.

Pour les CE4, le diagnostic de carcinome hépatocellulaire (CHC) peut être évoqué, on dose alors l'alpha-foetoprotéine qui est un marqueur tumoral. Un angio scanner abdominal permet également d'identifier les éventuelles métastases hépatiques qui peuvent avoir les mêmes caractéristiques morphologiques sur l'échographie [37].

**Tableau 2 : Diagnostic différentiel du kyste hydatique**

	Diagnostic	Diagnostic différentiel	Eléments de comparaison
KH non compliqué	CE1	Kyste biliaire	-Pas de paroi propre. -Sérologie hydatique Négative
	CE4	Carcinome hépatocellulaire	-Alpha foeto proteine -Métastase hépatiques
KH compliqué	Angiocholite hydatique	Angiocholite lithiasique	KH affaîssé à l'échographie +matériel hydatique dans les voies biliaires à l'échographie.
	KH surinfecté	Abcès du foie	—

## TRAITEMENT

### - **Objectifs**

En l'absence d'attitude thérapeutique standardisée, de nombreuses études ont aspiré à élaborer un consensus pour la prise en charge du kyste hydatique mais niveau de preuve reste faible et peu. Le diagnostic et la prise en charge clinique du KH sont complexes et nécessitent une approche pluridisciplinaire, souvent disponible uniquement dans les centres de référence. En 2010, le Groupe de travail informel de l'OMS sur l'échinococcose (WHO-IWGE) a mis en place une classification par consensus des stades des kystes hydatiques, ce qui permet de classer sans équivoque tous les stades morphologiques des kystes [29]. Il regroupe également les stades du kyste en catégories cliniques pour guider la prise en charge rationnelle selon les stades des KH aux différentes options thérapeutiques, y compris la chirurgie, le traitement médical, le traitement percutané et l'approche « Wait and Watch». Cette approche permet non seulement de choisir le traitement le plus approprié en fonction des caractéristiques du kyste, des facteurs liés au patient et des ressources thérapeutiques disponibles, mais contribue également à rationaliser les dépenses pour la gestion du KH [22].

### - **Éléments à prendre en compte pour traitement du KH-**

#### ✓ **Circonstances du diagnostic du KH**

Découverte fortuite, patient symptomatique ou à l'occasion d'une complication (Fistule biliaire).

#### ✓ **Caractéristiques du kyste en imagerie**

Notamment la taille, la topographie, le nombre de kyste et stade échographique du kyste selon la classification de l'OMS.

#### ✓ **Données du patient**

L'âge, l'état général du patient et la possibilité de son Intégration dans une filière de suivi régulier sur long terme (5-10ans).

- **Algorithme et procédure du traitement**

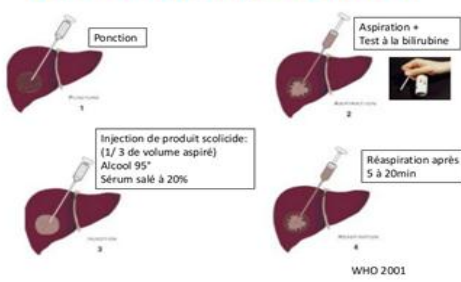
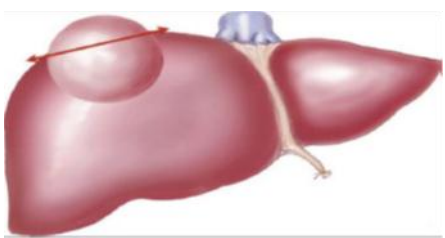
L'algorithme d'allocation du traitement est celui recommandé par l'OMS selon les stades de kystes pour les différentes options thérapeutiques comme explique dans le tableau 3, les procédures du traitement sont détaillées dans le tableau 4.

**Tableau 3. Algorithme d'allocation de traitement**

Stade*		Traitement
<b>KYSTES FOIE, REIN ET RATE</b>		
Kyste de petite taille < 5 cm		Albendazole
Hydatidose multiple		Albendazole
CE1 et CE3a	< ou = 10 cm	PAIR + Albendazole
	> 10 cm	Drainage + Albendazole
CE2 et CE3b		Chirurgie + Albendazole (ABZ) peropératoire
CE4 et CE5		Watch-and-Wait
Kyste compliqués	Infection	Drainage percutané ou chirurgie
	Fistule biliaire	Double drainage percutané et endoscopique ou chirurgie
	Rupture	Chirurgie
<b>KYSTES PERITOINE OU PELVIS</b>		
	< 5 cm	ABZ
CE1 et CE3a	< ou = 10 cm	Aspiration percutanée + Albendazole
	> 10 cm	Drainage de longue durée + Albendazole
<b>Autres stades et kystes compliqués</b>	Tous	Chirurgie + Albendazole peropératoire

\* Stade de kyste selon la classification du WHO-IWGE

**Tableau 5 : Procédures de traitement**

Traitement	Description	Durée
Albendazole	400 mg pour les adultes (>60 kg) ; 15 mg/kg/j pour enfants (<60 kg, maximum 800 mg/j)	Traitement continu
Traitement percutané + Albendazole	* PAIR : Ponction – Aspiration – Injection – Réaspiration ; agent scolicide : alcool 95 %	* 1 jour pour le drainage
<p><b>Les différentes étapes de la PAIR</b></p> 		
	- Albendazole commencé 1 jour avant la procédure	- 6 mois continu
Drainage + Albendazole	- Drainage percutané avec un drain en queue de cochon guidé par échographie. Le cathéter est laissé place après l'aspiration.	- hospitalisation pendant la durée entière du portage du cathéter. Le cathéter est retiré quand le drainage ramène une quantité $\leq 10$ ml/j.
	- Albendazole commencé 1 jour avant la procédure	- 6 mois continu
Chirurgie + Albendazole peropératoire (pour la prévention de la dissémination secondaire)	- Chirurgie radicale (péricystectomie) ou conservative (résection dôme saillant) - Principes de la résection du dôme saillant du kyste hydatique du foie.	Hospitalisation Procédure faite sous anesthésie générale. Sortie après rétablissement complet.
		
	Source : Dziri C, Nouira R, Journal de chirurgie viscérale -121- 2011	
	- Albendazole commencé 1 jour avant la procédure	- 1 mois en continu
Watch-and-Wait	Pas de traitement. Suivi échographique	

## CONCLUSION

La découverte du KH est le plus souvent fortuite. Les complications biliaires sont les plus fréquentes. L'échographie est l'examen indispensable pour le diagnostic et la discussion de prise en charge selon Classification de l'OMS.

La prise en charge du KH exige par une réflexion pluridisciplinaire qui sollicite des centres de références en absence d'une attitude thérapeutique standardisée d'où la nécessité de développer des essais prospectifs de qualité pour mieux définir les options thérapeutiques.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. ECKERT J, GEMMELL MA, MESLIN FX. 2002. WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans
- [2]. Brunetti E, Garcia HH, Junghanss T, International Ce Workshop in Lima P. Cystic echinococcosis: chronic, complex, and still neglected. PLoS Negl Trop Dis. 2011; 5 (7): e1146.
- [3]. CDC <https://www.cdc.gov/dpdx/az.html>
- [4]. Azlaf R, Dakkak A. Epidemiological study of the cystic echinococcosis in Morocco. Vet Parasitol. 2006; 137(1-2):83-93.
- [5]. THOMPSON R.C.A. AND LYMBERY A.J., 1996. Genetic variability in parasites and host-parasite interactions. Parasitology, 112: S7-S22.
- [6]. LE T.H., PEARSON M.S., BLAIR D., DAI N., ZHANG L.H., MCMANUS D.P., 2002. Complete mitochondrial genomes confirm the distinctiveness of the horse-dog and sheep dog strains of Echinococcus Granulosus. Parasitology, 124: 97-112.
- [7]. ROMIG T., DINKEL A., MACKENSTEDT U., 2006. The present situation of Echinococcus in Europe. Parasitol, Int. 55: S187-S191.
- [8]. XIAO N., QIU J., NAKAO M., LI T., YANG W., CHEN X., SCHANTZ P.M., CRAIG P.S., ITO A., 2005. Echinococcus shiquicus n. sp., a taeniid cestode from Tibetan fox and plateau pika in China. Int. J. Parasitol., 35, 693701.

- [9]. XIAO N., QIU J., NAKAO M., LI T., YANG W., CHEN X., SCHANTZ P.M., CRAIG P.S., ITO A., 2006. *Echinococcus shiquicus*, a new species from the Qinghai-Tibet plateau region of China: Discovery and epidemiological implications. *Parasitol, int.*, 55: S233-S236.
- [10]. HÜTTNER M, NAKAO M, WASSERMANN T, SIEFERT L, BOOMKER JD, DINKEL A, SAKO Y, MACKENSTEDT U, ROMIG T, ITO A. 2007. Genetic characterization and phylogenetic position of *Echinococcus felidis* (Cestoda: Taeniidae) from the African lion. *Int J Parasitol.* 38(7):861-8.
- [11]. SCHANTZ P.M., CHAI J., CRAIG P.S., ECKERT J., JENKINS D.J., MACPHERSON C.N.L. & THAKUR A., 1995. Epidemiology and control of hydatid disease. In *Echinococcus and hydatid disease* (R.C.A. Thompson & A.J. Lymbery, Eds). CAB International, Wallingford, Oxon, 233-331.
- [12]. WILSON M.E. 1991. *A World Guide to Infections. Diseases, Distribution, Diagnosis.* Oxford University Press, 769 pp.
- [13]. ALVAREZ ROJAS C.A., ROMIG T., LIGHTOWLERS M. W., 2014. *Echinococcus granulosus sensu lato* genotypes infecting humans--review of current knowledge. *Int J Parasitol.* 44(1):9-18.
- [14]. CHAHED MK, BELLALI H, TOUINSI H, CHERIF R, BEN SAFTA Z, ESSOUSSI M, KILANI T. 2010. Distribution of surgical hydatidosis in Tunisia, results of 2001-2005 study and trends between 1977 and 2005. *Arch Inst Pasteur Tunis.* ; 87(1-2):43-52.
- [15]. SHAMBESH M.K., 1997. Human cystic echinococcosis in North Africa (excluding Morocco). In: Anderson F.L., Ouhelli H., Kachani M., (eds.), *Compendium on Cystic Echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special reference to Morocco.* Brigham Young University, Print Services, Provo, UT 84602, USA, pp. 223-244.
- [16]. SEIMENIS A., 2003. Overview of the epidemiological situation on echinococcosis in the Mediterranean region. *Acta. Trop.* 2 191-195.
- [17]. TASHANI O.A., ZHANG L.H., BOUFANA B., JEGI A., MCMANUS D.P., 2002. Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus Granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 96 369-381.

- [18]. ANDERSON FL, OUHELLI H, KACHANI M., 1997. Compendium on cystic Echinococcosis in Africa and in Middle Eastern countries with special reference to Morocco. Provo' Brigham Young University
- [19]. Derfoufi O, Akawa E, Elmaataoui A, Miss E, Esselmani H, Lyagoubi M, et al. Epidemiological profile of cystic echinococcosis in Morocco from 1980 to 2008. *Ann Biol Clin.* 2012; 70(4):457-61
- [20]. COMITE INTERMINISTERIEL DE LUTTE CONTRE L'HYDATIDOSE / ECHINOCOCCOSE, 2007. Guide des activités de lutte. Ministère de la santé.
- [21]. Bastid C. *EMC Hépatologie* 2014. 7-023-A-10 Van Cauteren D et al. *Parasitol Res.* 2016;115(11):4261-426
- [22]. Dougaz Wejiha, Nouria Ramzia\*, Aoun Karimab, Dziri Chadlia Le kyste hydatique du foie *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - AVRIL 2017 - N°491 // 31*
- [23]. WHO.IWGE. International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological settings. *Acta Trop.* 2003; 85(2):253-61.
- [24]. SAKHRI. J, BEN ALI. A - kyste hydatique du foie .*J Chir*, 2004,141, N°6 Masson, Paris, 2004, P 383
- [25]. GARCIA, L.S., 2001. Tissue cestodes: larval forms. In: Garcia, L.S. (Ed.) *Diagnostic Medical Parasitology.* , 4th ed. ASM Press, VA, USA, pp. 386–412
- [26]. DOIZ O., BENITO R., SBIHI Y., OSUNA A., CLAVEL A. & GOMEZLUS R. Western blot applied to the diagnosis and post-treatment monitoring of human hydatidosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2001, 41, 139-142.
- [27]. KILIMCIOĞLU AA1, OZKOL M, BAYINDIR P, GIRGINKARDEŞLER N, OSTAN I, OK UZ The value of ultrasonography alone in screening surveys of cystic echinococcosis in children in Turkey *Parasitol Int.* 2006 Dec;55(4):273-5. Epub 2006 Aug 22.
- [28]. ASLAN M1, YÜKSEL P, POLAT E, CAKAN H, ERGIN S, ÖNER YA, ZENGİN K, ARIKAN S, SARIBAS S, TORUN MM, KOCAZEYBEK B The diagnostic value of Western blot method in patients with cystic echinococcosis. *New Microbiol.* 2011 Apr;34(2):173-7. Epub 2011 Apr 30

- [29]. BRUNETTI, E., P. KERN, AND D. A. VUITTON. 2010. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop* 114: 1-16.
- [30]. ALTINTAS N. Past to present: echinococcosis in Turkey. *Acta Tropica*, 2003, 85, 105-112
- [31]. LIANCE M., JANIN V., BRESSON-HADNI S., VUITTON D.A., HOUIN R.& PIARROUX R. Immunodiagnosis of Echinococcus infections: confirmatory testing and species differentiation by a new commercial Western Blot. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000, 38, 3718-3721.
- [32]. Aydin U et al *Turk.J.Gastroenterol.* 2008; 19: 33-39.
- [33]. KILANI T, EL HAMMAMI S, HORCHANI H et al - Hydatid disease of the liver with thoracic involvement. *World J Surg* 2000;25:40-45
- [34]. KLOTZ F, NICOLAS X, DEBONNE JM, GARCIA JF, et al. Kystes hydatiques du foie. *Encycl Méd Chir (Editions scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris) Hépatologie*, 7-023-A-10,2000, 16p
- [35]. FRANCO D, VONS C - Traitement chirurgical des kystes hydatiques du foie. *Techniques chirurgicales. Appareil digestif. Encycl Med Chir. Elsevier Paris* 1999;40-775.
- [36]. BAUER T, DAVID T, LORTAT-JACOB A - Echinococcose étendue du Fémur : à propos d'un cas, *Med Mal Inf*, 2004 ; 34 ; 177-9
- [37]. Madhusudhan KS, Srivastava DN, Dash NR et al. Alveolar echinococcosis of liver : a diagnostic problem in a non-endemic area. *Curr Probl Diagn Radiol* 2015;44:221-6.

Ref.: Ms. No. AJHS-A-19-0006R

Kyste hydatique abdominal : mise au point

African Journal of Health and Sciences

Cher(e) Dr. Tahiri,

Nous avons le plaisir de vous annoncer que votre article intitulé : Kyste hydatique abdominal : mise au point, a été accepté par le comité éditorial AJHS et paraîtra dans un prochain numéro de la revue.

Nous vous remercions vivement de votre précieuse collaboration.

Avec nos sentiments les meilleurs,

--

Younes Zaïd

Rédacteur Associé

AJHS

**Journal of Parasitic Diseases**  
**RABAT, 5 MARCH 2019**  
**Genotyping of Echinococcus Granulosus cysts from humans in Morocco**  
 –Manuscript Draft–

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Full Title:</b>	RABAT, 5 MARCH 2019 Genotyping of Echinococcus Granulosus cysts from humans in Morocco
<b>Article Type:</b>	Original Article
<b>Keywords:</b>	Echinococcus granulosus, genotypes, G1-G3 complex, Human, Morocco.
<b>Corresponding Author:</b>	SARA TAHIRI, M.D. Universite Mohammed V de Rabat Faculte de Medecine et de Pharmacie Rabat MOROCCO
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Universite Mohammed V de Rabat Faculte de Medecine et de Pharmacie Rabat
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	SARA TAHIRI, Ph.D
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	SARA TAHIRI, Ph.D hafida naoui mariem iken souad azelmat mourad bouchrik badre eddine Imimouni
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Funding Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	Echinococcus granulosus is the etiological agent of cyst echinococcosis (CE), also commonly called hydatidosis. This is a zoonotic infection endemic worldwide, including the Mediterranean basin and Morocco. The genetic variability of Echinococcus granulosus is known to influence development of parasitic cysts in different intermediate hosts, and therefore the epidemiology of infection. Molecular studies have identified nine genotypes of Echinococcus granulosus, eight of them affect humans, grouped today in four distinct species. In Morocco, molecular studies on CE cysts from animals showed the presence, for the large majority of cases, of the G1 genotype (« sheep strain » or Echinococcus granulosus sensu stricto), which is also the cause of the majority of human infections worldwide, and to a lesser extent of the other genotypes (G2 and G3) within Echinococcus granulosus sensu stricto complex. However, so far no genotyping of echinococcal cysts in Morocco has been carried out. We collected CE cysts material from 17 patients diagnosed with abdominal CE in the Meknès-Tafilalt region, Middle Atlas of Morocco, and an endemic area and genotyped by multiplex PCR. The only five cysts from which it was possible to successfully amplify the DNA were all belonging to the G1-3 genotype, in line with the epidemiology of CE in animals in the same area. Our results add new information, on the human side, to the epidemiological picture of CE in the region, which are important in the context of any control plan for the infection.
<b>Suggested Reviewers:</b>	MAJDOULINE OBTEL majdobl7@yahoo.fr francesca tamarozzi

*Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation*

## ABSTRACT

*Echinococcus granulosus* is the etiological agent of cyst echinococcosis (CE), also commonly called hydatidosis. This is a zoonotic infection endemic worldwide, including the Mediterranean basin and Morocco. The genetic variability of *E. granulosus* is known to influence development of parasitic cysts in different intermediate hosts, and therefore the epidemiology of infection. Molecular studies have identified 9 genotypes of *E. granulosus*, 8 of which are known to affect humans, grouped today in 4 distinct species.

In Morocco, molecular studies on CE cysts from animals showed the presence, for the large majority of cases, of the G1 genotype (« sheep strain » or *E. granulosus sensu stricto*), which is also the cause of the majority of human infections worldwide, and to a lesser extent also of the other genotypes (G2 and G3) within *E. granulosus s.s.* complex. However, so far no genotyping of echinococcal cysts in Morocco has been carried out. We collected CE cysts material from 17 patients diagnosed with abdominal CE in the Meknès-Tafilalt region, Middle Atlas of Morocco, a highly endemic area and genotyped by multiplex PCR. The only 5 cysts from which it was possible to successfully amplify the DNA were all belonging to the G1-3 genotype, in line with the epidemiology of CE in animals in the same area.

Our results add new information, on the human side, to the epidemiological picture of CE in the region, which are important in the context of any control plan for the infection.

**Keywords:** *Echinococcus granulosus*, genotypes, G1–G3 complex, Human, Morocco.

## 1. INTRODUCTION

In Morocco, cystic echinococcosis (CE), caused by the larval stage of the cestode *Echinococcus granulosus*, represents a real public health problem. Dogs and wild carnivores act as definitive hosts for the adult tapeworm, while livestock (sheep, goats, cattle, camels) represent the natural intermediate hosts. CE is endemic in almost all rural regions of the country, and of affected humans, 62% reside in rural areas [1]. Three regions, Meknès-Tafilalt, Chaouia-Ouardigha and Doukala-Abda, record the highest surgical incidence of human cases in the country [1]. In fact, in 2008, over 33% of all recorded surgical cases came from these three regions [1]. Notwithstanding the efforts put in control programs, CE remains a neglected zoonosis. According to the increasing knowledge in the molecular epidemiology of *E. granulosus*, the genotype has a great influence on various aspects of the parasite including the pattern of life cycle, the host specificity, and the pathology. Genetic variability could have important implications for the design and development of vaccines, diagnostic reagents and drugs effective against this parasite. Moreover, molecular approaches allowing the species-specific identification of *Echinococcus* can distinguish between imported or autochthonous parasitic infection. Therefore, there is a need of more studies on molecular identification of CE to understand its species diversity and molecular epidemiology.

Molecular studies on mitochondrial DNA have identified throughout the world nine genotypes of *E. granulosus*, eight of which are known to affect humans, grouped today in four distinct species [3]. In Morocco, molecular studies carried out on CE cysts obtained from infected animals (sheep, cattle, camels) in different regions identified in the vast majority of cases (91.4%) the G1 genotype, and to a lesser extent the G2 (1.7%) and G3 (2.6%) genotypes, all in the *E. granulosus sensu stricto* complex [2-4]. However, paradoxically, no studies have so far characterized the genotype of *E. granulosus* cysts in humans in Morocco. Our genotyping study, the first in Morocco on CE cysts from infected patients, aims to add new data on the epidemiology of CE in the country, allowing a comparison between the parasite circulation in humans and in animals, for which more data are available, and on the susceptibility of humans to *E. granulosus* strains endemic in the country.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### 2.1 Ethics statement

Approval was granted by the Ethics Committees of the University of Pavia, Italy, and of the University Hospital center Hassan II of Fez, Morocco.

## 2.2 Cases definition and samples collection

The samples were collected in the context of the project « Clinical management of Cystic Echinococcosis in Morocco », in the aim of evaluation of prevalence of human abdominal CE in the provinces of Ifrane and El Hajeb, Meknès-Tafilalt region, Middle Atlas, by ultrasound screening of 5221 people of 10-80 years of age residing in the target provinces between October 2014 and January 2015 [5].

CE was diagnosed and staged by ultrasound using portable machines with 3,5-5 MHz convex probes.

Serology was used to confirm CE, and performed in the Parasitology Laboratory of the Teaching Military Hospital Mohammed V of Rabat , using ELISA RIDASCREEN ® *Echinococcus* IgG (code K7621, R85 Biofarm AG, Darmstadt, Germany) and Western Blot *Echinococcus* IgG (code ECHWB24G 86 LDBIO Diagnostics, Lyon, France, distributed by Promalab, Casablanca, Morocco).

Epidemiological data of all CE cases were collected during the screening sessions. All patients with abdominal CE requiring surgical or percutaneous (PAIR) treatment according to the WHO Informal Working Group on Echinococcosis (IWGE) Expert Consensus recommendations, were treated free of charge [6].

The cyst fluids obtained during these procedures were aliquoted. The first aliquot was examined under light microscope after eosin staining to determine the viability of protoscoleces. The second aliquot of each samples were centrifuged at 3500 g for 3 min, and the pellets were washed twice for 15 min in 100 µL of PBS. Finally, the samples were centrifuged at 3500 g for 5 min, and the supernatant was removed. The protoscoleces samples were stored at -20°C and used for the molecular analysis.

## 2.3 Molecular analysis

Genomic DNA was extracted from each sample with the DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen, Valencia, CA, USA), according to the manufacturer's instructions. A multiplex PCR was carried out according to the protocol described in Boubaker 2013 [7] using only primers for *ef1a cal*, *cox1*, *pold* and *elp 1* genes. The final product sizes and the targets genes are listed in Table 1. The cycling conditions were as follows: an initial denaturation step at 94°C for 3 min, 25 cycles (94°C–30 s, 56°C– 30 s, 72°C–1 min) and a final extension step lasting 5 min

at 72°C. PCR products were separated by electrophoresis in a 2% agarose gel and visualized by ethidium bromide staining and subsequent UV excitation.

To confirm the obtained results, the positive samples were then amplified by PCR for cytochrome c oxidase subunit 1 gene (*cox1*), with the specific primers previously described in Bowles et al [8]. Amplification was performed in a 20- $\mu$ L final volume containing template DNA (1–10 ng), 0.2 mM premixed solution of dNTPs, 1  $\mu$ M each primer, 1X PCR buffer, and 0.5 U of Taq DNA polymerase (GoTaq DNA Polymerase; Promega, Madison, WI, USA). The thermal profile was as follows: 2 min at 95°C, 40 cycles of 45 s at 95°C, 45 s at 57°C and 1 min 30 s at 72°C, followed by 10 min at 72°C. After gel electrophoresis, PCR products were purified with the Wizard DNA Clean-Up System (Promega), and sequenced.

The positive controls was kindly provided by Prof Enrico Brunetti (Policlinico San Matteo Hospital Foundation, Pavia), ultrapure water was used as negative control in this experiment.

Analysis of nucleotide sequence data was performed with BLAST algorithms and databases from the National Center for Biotechnology (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

### 3. RESULTS

During the ultrasound screening, 102 individuals with abdominal CE were identified [5], of whom 12 were candidate to surgery and 32 to percutaneous treatment.

A total of 157 samples were available for genotyping after microscopical assessment of cyst viability. Of these, only six samples resulted positive and the amplification size correspond to *ef1a* gene (G1-G3 complex; Fig 1). The six samples were the tested for *cox1* gene but only five samples resulted positive (Fig 2). The nucleotide sequence were then obtained and analyzed and all the samples showed maximum homology (>99%) with the G1 and G3 genotype sequences registered in GenBank, and were classified as belonging to the G1–G3 complex (*E. granulosus sensu stricto*).

### 4. DISCUSSION

Genotyping of *E. granulosus* in both human and animal hosts is important in all control programs [9]. Different genotypes can develop differently in different intermediate hosts and it has been suggested that different genotypes may induce different clinical manifestations in humans [10-11], although these data are scant and this aspect requires further investigation.

*E. granulosus* sensu stricto, also known as the « sheep strain » is the one reported in the vast majority of human cases [3]. As mentioned above, G1 (*E. granulosus* sensu stricto) is the most frequent genotype found in animals in Morocco. [4]. Sheep and cattle are the main intermediate hosts, with high prevalence, which is in line with the high prevalence and surgical incidence of CE in humans in endemic areas of the country. This study, for the first time, identifies and confirms that the same species *E. granulosus* sensu stricto in Morocco affects also humans, who enter in the transmission dynamics of the domestic animals cycle, and support the hypothesis that this particular species is the one probably most infective to humans [3]. Our results are in line with epidemiological data from other countries of the same region. In Algeria, the genotype of all samples (8 in total) analyzed of human origin was the G1-G3 complex [12, 13]. Same results were reported from Tunisia [7, 14-17]. We need more studies to confirm or exclude the presence of the G6, genotype in Morocco, which is globally the second most frequent genotype, affecting humans, considering that the intermediate hosts where this genotype is most often found (camels, cattle, and goats) are bred in Morocco [3]. The G6 genotype has been described as having a faster development in the dog compared to *E. granulosus* sensu stricto [18, 19].

The vaccine EG95 for sheep that can help in the control of echinococcosis is a recombinant protein from parasitic material of the G1 genotype from New Zealand [20].

Recent studies have shown that this protein is immunologically different from the one deriving from the G6 genotype [21]. Additional studies will be needed to determine the efficacy of the EG95 vaccine for other genotypes, and the need for the development of different genotype-specific vaccines. Knowing that the G1 genotype is the largely dominant, in Morocco, encourages the possible introduction of this vaccine in our country, and further highlights the reason why the genotyping of parasites circulating in the natural hosts and humans is important, as this information may influence dramatically the use of different tools in control programs. The multiple PCR developed by Boubaker et al. [7] is a feasible method for the genotyping of hydatid cysts, even if does not allow to distinguish the different genotypes G1, G2 and G3 comprised in the *E. granulosus* sensu stricto complex.

This distinction can be done, for example, by the methods of Azlaf et al. [2] and El Berbi et al. [4] using mitochondrial *cox1* and *nad1* genes of *E. granulosus*. In this study, such distinction was not carried out as some authors have suggested that G1, G2 and G3 genotypes should be just indicated as the complex *E. granulosus* sensu stricto due to their global

distribution and apparent lack of difference in host specificity [22, 23]. However, the identification of the precise genotype in human samples can give a more precise picture of the relations between genotypes affecting humans and animals. Unfortunately, the available material for this study was not enough to carry this additional characterization.

The poor efficiency demonstrated by the genotyping method applied in this study contrasts with the results shown by Boubaker et al. [7]. This may be explained by a suboptimal collection/storage of our samples. Whatever the reason, this should prompt a better and more extended analysis of the *E. granulosus* genotypes circulating in Morocco, and the Meknes-Tafilalt region, the zone of highest CE endemicity in Morocco, should constitute a privileged study site.

## 5. CONCLUSION

Our results show that the *E. granulosus* sensu stricto complex causes CE in humans in Morocco, which is in line with the regional and global epidemiological picture. They support the hypothesis that humans are particularly susceptible to this particular species, and highlight the role of its animal reservoirs in the transmission to humans. Larger and more discriminative studies are required in Morocco to better define the genotype distribution and confirm our results, with the aim of elaborating the better strategy for infection control.

## REFERENCES

- [1] Derfoufi, O., Akwa, EN., Elmaataoui, A., Miss, E., Esselmani, H., Lyagoubi, M., Aoufi,S., 2012. Profil épidémiologique de l'hydatidose au Maroc de 1980 à 2008, Ann Biol Clin.70 (4), 457-61
- [2] Azlaf, R., Dakak, A., 2006. Epidemiological study of the cystic echinococcosis in Morocco, Veterinary Parasitology. 137, 83-93.
- [3] Alvarez Rojas,CA.,Romig,T.,Lightowers,MW.,2014. *Echinococcus granulosus* sensu lato genotypes infecting humans review of current knowledge. Int J Parasitol. 44(1), 9-18.
- [4] El Berbri, I., Ducrotoy, MJ., Petavy, AF., Fassi Fihri, O., Shaw, AP., Bouslikhane, M.,Boue, F., Welburn, SC., Dakkak, A., 2015. Knowledge, Attitudes attitudes and practices with regard to the presence, transmission, impact and control of cystic echinococcosis in Sidi Kacem Province, Morocco. Infect Dis Poverty. 4 (48), 1-12.
- [5] Chebli,H., Laamrani ,ElIdrissi,A., Benazzouz, M., Lmimouni,BE.,Nhammi, H., Elabandouni,M., Youbi, M., Afifi,R., Tahiri, S., Essayd El Feydi ,A.,Settaf,A., Tinelli,C., DeSilvestri,A., Bouhout, .S, Abela-Ridder,B., Magnino,S.,Brunetti,E., Filice,C., Tamarozzi,F.,2017. Human cystic echinococcosis in Morocco: Ultrasound screening in the Mid Atlas through an Italian-Moroccan partnership. PLoS Negl Trop Dis.11 (3), 1-20.
- [6] Brunetti, E., Kern, P., Vuitton, DA., 2010. Writing Panel for the WHO-IWGE Expert, consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. ActaTrop. 114(1), 1-16.
- [7] Boubaker, G., Macchiaroli, N., Prada, L., Cucher, MA., Rosenzvit, MC., Ziadinov, I., Deplazes, P., Saarma, U., Babba, H., Gottstein, B., Spiliotis, M., 2013. A Multiplex PCR for the simultaneous detection and genotyping of the *Echinococcus granulosus* complex. PLoS Negl Trop Dis. 7(1)
- [8] Bowles, J., Blair, D., McManus, D.P., 1992. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing .Molecular and Biochemical Parasitology, 54, 2, 165-173.
- [9] McManus, D.P., Smyth, J.D., 1986. Hydatidosis: Changing concepts in epidemiology and speciation. Parasitol. Today. 2, 163-168.

- [10] Schneider, R., Gollackner, B., Schindl, M., Tucek, G., Auer, H., 2010. *Echinococcus canadensis* G7 (pig strain): an under estimated cause of cystic echinococcosis in Austria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 82, 871–874.
- [11] Guarnera, E.A., Parra, A., Kamenetzky, L., Garcia, G., Gutierrez, A., 2004. Cystic echinococcosis in Argentina: evolution of metacestode and clinical expression in various *Echinococcus granulosus* strains. *Acta Trop.* 92, 153–159.
- [12] Sadjjadi, S.M., Mikaeili, F., Karamian, M., 209 Maraghi, S., Sadjjadi, F.S., Shariat-Torbaghan, S., Kia, E.B., 2013. Evidence that the *Echinococcus granulosus* G6 genotype has an affinity for the brain in humans. *Int. J. Parasitol.* 43, 875–877.
- [13] Bart, J.M., Bardonnnet, K., Elfegoun, M.C., Dumon, H., Dia, L., Vuitton, D.A., Piarroux, R., 2004. *Echinococcus granulosus* strain typing in North Africa: comparison of eight nuclear and mitochondrial DNA fragments. *Parasitology.* 128, 2 . 229-234.
- [14] Maillard, S., Benchikh-Elfegoun, MC., Knapp, J., Bart, JM., Koskei, P., Gottstein, B., Piarroux, R., 2007. Taxonomic position and geographical distribution of the common sheep G1 and camel G6 strains of *Echinococcus granulosus* in three African countries. *Parasitol Res.* 100 (3), 495-503.
- [15] M'rad, S., Filisetti, D., Oudni, M., Mekki, M., Belguith, M., Nouri, A., Sayadi, T., Lahmar, S., Candolfi, E., Azaiez, R., Mezhoud, H., Babba, H., 2005. Molecular evidence of ovine (G1) and camel (G6) strains of *Echinococcus granulosus* in Tunisia and putative role of cattle in human contamination. *Vet Parasitol.* 129 (3-4), 267-72.
- [16] Lahmar, S., Rebai, W., Boufana, B.S., Craig, P.S., Ksantini, R., Daghfous, A., Chebbi, F., Fteriche, F., Bedioui, H., Jouini, M., Dhibi, M., Makni, A., Ayadi, M.S., Ammous, Kacem, M.J., Ben Safta, Z., 2009. Cystic echinococcosis in Tunisia: analysis of hydatid cysts that have been surgically removed from patients. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 103, 593–604.
- [17] Chahed, MK., Bellali, H., Touinsi, H., Cherif, R., Ben Safta, Z., Essoussi, M., Kilani, T., 2010. Distribution of surgical hydatidosis in Tunisia, results of 2001-2005 study and trends between 1977 and 2005. *Arch Inst Pasteur Tunis.* 87(1-2), 43-52.
- [18] Eckert, J., Thompson, R.C., Michael, S.A., Kumaratilake, L.M., El-Sawah, H.M.,

1989. *Echinococcus granulosus* of camel origin : development in dogs and parasite morphology. Parasitol. Res. 75, 536–544.

[19] Eckert, J., Thompson, R.C., Lymbery, A.J., Pawlowski, Z.S., Gottstein, B., Morgan, U.M., 1993. Further evidence for the occurrence of a distinct strain of *Echinococcus granulosus* in European pigs. Parasitol. Res. 79, 42–48.

[20] Lightowlers, M.W., Lawrence, S.B., Gauci, C.G., Young, J., Raltson, M.J., Maas, D., Heath, D.D., 1996. Vaccination against hydatidosis using a defined recombinant antigen. Int. J. Parasitol. 18, 457-462.

[21] Alvarez Rojas, C.A., Gauci, C.G., Lightowlers, M.W., 2013. Antigenic differences between the EG95-related proteins from *Echinococcus granulosus* G1 and G6 genotypes: implications for vaccination. Parasite Immunol. 35, 99-102.

[22] Thompson, R.C.A., McManus D.P., 2002. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus*. Trends Parasitol. 18, 452-457.

[23] Jenkins, D., Romig, T., Thompson, R.C.A., 2005. Emergence/re-emergence of *Echinococcus* spp. a global update. Int J Parasitol. 35, 1205-1209.

Table 1: Characteristics of oligonucleotides used for *Echinococcus granulosus* complex multiplex PCR. [7]

Primer name	Conc. in mPCR	Product size (bp)	Specificity	Sequence 5'-3'a	Primer length (bp)	Gene marker	Acc No (NCBI)	Primer position
Echi Rpb2 F	1 µM	1232	All <i>E. species</i>	TTGACCAAAGAAATCAGAC	19	rpb2	FN566850.1	55–74
Echi Rpb2 R	1 µM	1232	All <i>E. species</i>	TGGTCGTCTTAATCATTG	16	rpb2	FN566850.1	1287–1271
E.g complex F	0.15 µM	110	<i>E. granulosus</i> complex	TGGTCGTCTTAATCATTG	19	cox2	AF297617.1	10686–10705
E.g complex R	0.15 µM	110	<i>E. granulosus</i> complex	CCACAACAATAGGCATAA	19	cox2	AF297617.1	10796–10777
E.g ss cal F	2 µM	1001	<i>E. granulosus</i> s.s. (G1/G/G3)	CAATTTACGGTAAAGCAT	18	cal	U834931.1	151–169
E.g ss cal R	2 µM	1001	<i>E. granulosus</i> s.s. (G1/G/G3)	CCTCATCTCCACTCTCT	17	cal	U834931.1	1152–1135
E.g ss Efla F	1 µM	706	<i>E. granulosus</i> s.s. (G1/G/G3)	TCCTAACATGCCTTGGTAT	19	ef1a	FN568380.1	594–613
E.g ss Efla R	1 µM	706	<i>E. granulosus</i> s.s. (G1/G/G3)	GTTACAGCCTTGATCACG	18	ef1a	FN568380.1	1300–1282
E.eq cal F	2 µM	426	<i>E. equinus</i> (G4)	GCTTATTTAGGATCCCA	17	cal	EU834936.1	566–583
E.eq cal R	2 µM	426	<i>E. equinus</i> (G4)	TCGTTTTTGCCAGTG	15	cal	EU834936.1	992–977
E.eq coxI F	0.2 µM	124	<i>E. equinus</i> (G4)	GTTGGgTTgGATGTT	15	cox1	M84664.1	143–158
E.eq coxI R	0.2 µM	124	<i>E. equinus</i> (G4)	CAAAACaGGATCACTCTT	18	cox1	M84664.1	277–259
E.ortp ATP6 R	0.05 µM	1041	<i>E. ortleppi</i> (G5)	GTGTCGTgTgTTTAgTGAG	19	atp-6	AF235846.1	6057–6076
E.ortp ATP6 F	0.05 µM	1041	<i>E. ortleppi</i> (G5)	GCACiGATAcaGGiGtAtT	20	atp-6	AF235846.1	7098–7078
E.ortp CoxI F	0.2 µM	250	<i>E. ortleppi</i> (G5)	GGTTtTATGGGTTGTTA	17	cox1	AF235846.1	9978–9995
E.ortp CoxI R	0.2 µM	250	<i>E. ortleppi</i> (G5)	ACACCaCCAAACGTG	15	cox1	AF235846.1	10228–10213
E.cnd G6/G7 pold F	1 µM	617	<i>E. canadensis</i> (G6/G7)	GGCCTTCATCTCCATAATA	20	pold	FN568364.1	325–345
E.cnd G6/G7 pold R	1 µM	617	<i>E. canadensis</i> (G6/G7)	ATGAAGAGTTTGAAACTAAAG	21	pold	FN568364.1	942–921
E.cnd G6/G7 NDI F	0.3 µM	339	<i>E. canadensis</i> (G6/G7)	cTGCAGAGGTTTGCC	15	nad1	AB208063.1	7635–7650
E.cnd G6/G7 NDI R	0.3 µM	339	<i>E. canadensis</i> (G6/G7)	cACAACaGCAtAAAGCG	17	nad1	AB208063.1	7974–7957
E.cnd G8/G10 Elp F	1.5 µM	283	<i>E. canadensis</i> (G8/G10)	CCTAGTCTTCCCATGATA	18	elp1	U834894.1	450–468
E.cnd G8/G10 Elp R	1.5 µM	283	<i>E. canadensis</i> (G8/G10)	ACAGAAGGCATATCCA	16	elp1	U834894.1	733–717

<sup>a)</sup> Strict specific bases in each primer are written in bold. Tiny characters mark additional polymorphic sites (but not strict).

Figure 1: The multiplex PCR results of 706 pb of Echinococcus granulosus human isolates.

**Line MW:** Low molecular weight marker (100 bp ),Promega; **lines 1-15:** the samples, **line PC:** Positive control, **line NC:** Negative control. **In Red:** The positive samples

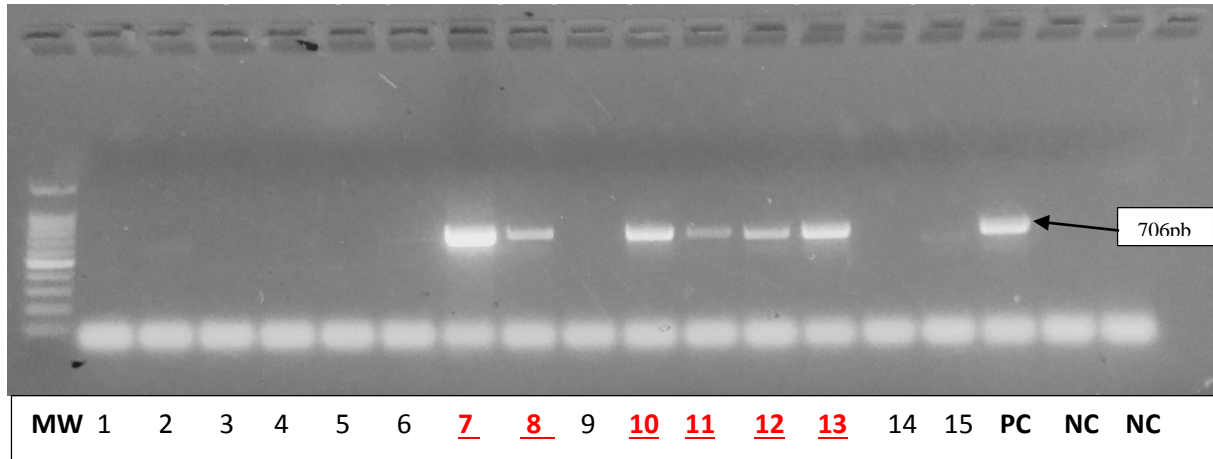
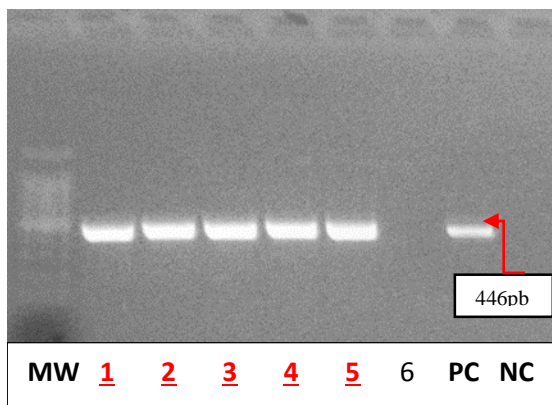


Figure 2: Agarose gel electrophoresis of the 6 samples for Multiplex PCR using cox1 gene.

**MW:** Low molecular weight marker (100 bp), lines 1-6: the samples,

**NC:** Negative control, **PC:** Positive control, marker (100 bp Promega). **In Red:** The positive samples.



De : "Journal of Parasitic Diseases (JOPD)" <[em@editorialmanager.com](mailto:em@editorialmanager.com)>

Date : 27/05/2019 14:18 (GMT+00:00)

À : SARA TAHIRI <[dr.sara.tahiri@gmail.com](mailto:dr.sara.tahiri@gmail.com)>

Objet : Your Submission JOPD-D-19-00090R3

Dear Dr TAHIRI,

We are pleased to inform you that your manuscript, "GENOTYPING OF HUMAN ECHINOCOCCUS GRANULOSUS CYST IN MOROCCO", has been accepted for publication in Journal of Parasitic Diseases.

You will receive an e-mail from Springer in due course with regards to the following items:

1. Offprints
2. Colour figures
3. Transfer of Copyright

Please respond to this e-mail in the timely manner to help us process your manuscript to the next stage. Please note that the article will be processed and the proofs be sent to you only after we receive your responses to this e-mail. If you have any queries on the same please contact the editor.

Please remember to quote the manuscript number, JOPD-D-19-00090R3, whenever inquiring about your manuscript.

With best regards,

Veena Tandon, Ph.D.  
Editor in Chief

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.

---

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/jopd/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

## RESEARCH ARTICLE

# Human cystic echinococcosis in Morocco: Ultrasound screening in the Mid Atlas through an Italian-Moroccan partnership


Houda Chebli<sup>1</sup>, Abderrahmane Laamrani El Idrissi<sup>1</sup>, Mustapha Benazzouz<sup>2,3a</sup>, Badre Eddine Lmimouni<sup>3</sup>, Haddou Nhammi<sup>1</sup>, Mourad Elabandouni<sup>1</sup>, Mohammed Youbi<sup>1</sup>, Rajaa Afifi<sup>2</sup>, Sara Tahiri<sup>3</sup>, Abdellah Essayd El Feydi<sup>2</sup>, Abdellatif Settat<sup>4</sup>, Carmine Tinelli<sup>5</sup>, Annalisa De Silvestri<sup>5</sup>, Souad Bouhout<sup>1</sup>, Bemadette Abela-Ridder<sup>6</sup>, Simone Magnino<sup>6,7a</sup>, Enrico Brunetti<sup>7,8</sup>, Carlo Filice<sup>7,8</sup>, Francesca Tamarozzi<sup>7\*</sup>

**1** Directorate of Epidemiology, Division of Infectious Diseases, Service of Parasitic Diseases, Ministry of Health of Morocco, Rabat, Morocco, **2** Department of Hepatogastroenterology (Medicine C), Ibn Sina Hospital, University "Mohammed V", Rabat, Morocco, **3** Parasitology laboratory, Military Teaching Hospital "Mohammed V", Rabat, Morocco; Team Research in parasitology, tropical and fungal infectious diseases, School of Medicine and Pharmacy, University "Mohammed V", Rabat, Morocco, **4** Department of Hepatobiliary Surgery (Surgery B), Ibn Sina Hospital, University "Mohammed V", Rabat, Morocco, **5** Clinical Epidemiology and Biometry Unit, San Matteo Hospital Foundation, Pavia, Italy, **6** Department of Control of Neglected Tropical Diseases, WHO Headquarters, Geneva, Switzerland, **7** Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences, University of Pavia, Pavia, Italy; WHO-Collaborating Centre for Clinical management of Cystic Echinococcosis, Pavia, Italy, **8** Division of Infectious and Tropical Diseases, San Matteo Hospital Foundation, Pavia, Italy

<sup>3a</sup> Current address: Clinica "La capitale", Rabat, Morocco.

<sup>7a</sup> Current address: Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna "Bruno Ubertini", Laboratory of Pavia, Pavia, Italy

\* [f\\_tamarozzi@yahoo.com](mailto:f_tamarozzi@yahoo.com)


 OPEN ACCESS

**Citation:** Chebli H, Laamrani El Idrissi A, Benazzouz M, Lmimouni BE, Nhammi H, Elabandouni M, et al. (2017) Human cystic echinococcosis in Morocco: Ultrasound screening in the Mid Atlas through an Italian-Moroccan partnership. *PLoS Negl Trop Dis* 11(3): e0005384. doi:10.1371/journal.pntd.0005384

**Editor:** Paul Robert Torgerson, University of Zurich, SWITZERLAND

**Received:** July 25, 2016

**Accepted:** February 4, 2017

**Published:** March 1, 2017

**Copyright:** © 2017 Chebli et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding:** This study was funded by the Ministry of Health of Italy, Directorate of Health Prevention, Rome, Italy (decree 6157 of 26 September 2012), through an agreement with the WHO Headquarters, HIV/AIDS, Tuberculosis, Malaria and Neglected Tropical Diseases (HTM) Cluster, Geneva, Switzerland, to EB and CF (Award 60322).

## Abstract

### Background

Cystic echinococcosis (CE) is a neglected parasitic zoonosis with considerable socioeconomic impact on affected pastoral communities. CE is endemic throughout the Mediterranean, including Morocco, where the Mid Atlas is the most prevalent area for both human and animal infection. The highest hospital annual incidence of human CE is recorded in the provinces of Ifrane and El Hajeb. However, hospital-based statistics likely underestimate the real prevalence of infection, as a proportion of cases never reach medical attention or official records.

### Methodology/Principal findings

In 2012, a project on clinical management of CE in Morocco was launched with the aims of estimating the prevalence of human abdominal CE in selected rural communes of the above mentioned provinces using ultrasound (US) screening and training local physicians to implement US-based focused assessment and rational clinical management of CE according to the WHO-IWGE Expert Consensus. A total of 5367 people received abdominal US during four campaigns in April-May 2014. During the campaigns, 24 local general practitioners received >24 hours of hands-on training and 143 health education sessions were organized

([http://www.who.int/neglected\\_diseases/italy\\_echinococcosis\\_2012/en](http://www.who.int/neglected_diseases/italy_echinococcosis_2012/en), accessed on 01/07/16).

The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

for local communities. We found an overall CE prevalence of 1.9%, with significantly higher values in the rural communes of Ifrane than El Hajeb (2.6% vs 1.3%;  $p < 0.001$ ). CE cysts were predominantly in inactive stage, especially in older age groups. However, active cysts were present also in adults, indicating acquisition of infection at all ages. Province of residence was the only risk factor consistently associated with CE infection.

### Conclusions/Significance

Our results show a high prevalence and on-going, likely environmental transmission of CE in the investigated provinces of Morocco, supporting the implementation of control activities in the area by national health authorities and encouraging the acceptance and divulgation of diagnosis and treatment algorithms based on imaging for CE at both national and local level.

### Author summary

Cystic Echinococcosis (CE) is a parasitic infection whose natural domestic cycle develops between dogs and sheep (and other livestock). Human infection is endemic in pastoral communities, where close contact with the dog-sheep cycle occurs. In humans, as well as in livestock, the parasite develops as fluid-filled cyst mainly in the liver. CE is a neglected disease, as it is a disabler without high mortality, it affects mainly poor communities, and requires complex and expensive clinical management and long-term integrated public health control strategies. The prevalence of infection in an area is often unknown or largely underestimated, therefore the problem is perceived as not important. In Morocco, the Mid Atlas is the most prevalent area for human and animal infection. We performed an ultrasound survey on 5,367 people in Ifrane and El Hajeb provinces, and found an overall prevalence of 1.9%. CE cysts were predominantly inactive, however, active cysts were present also in adults. Our results show a high prevalence and on-going transmission of CE, encouraging the prompt strengthening and complete implementation of control activities envisaged by Moroccan health authorities in the area and the adoption of diagnosis and treatment algorithms based on imaging at both national and local level, to avoid a risk-associated and expensive treatment of inactive cysts.

### Introduction

Cystic Echinococcosis (CE) is a globally distributed parasitic zoonosis, caused by the larval stage of the dog tapeworm *Echinococcus granulosus sensu lato*. Its life cycle develops between the dog (and other canids), which is the definitive host harbouring the adult parasites in the intestine, and the sheep (and other ungulates), which is the intermediate host where the larval form may develop in organs and tissues. Humans, which are aberrant “dead-end” intermediate hosts, as well as natural intermediate hosts, become infected through ingestion of eggs released with the faeces of parasitized dogs. Eggs can remain viable for months in the environment. In the intermediate host, the parasite larvae develop in organs and tissues, mainly the liver and the lungs, forming fluid-filled cysts (commonly referred to as hydatid cysts) that expand centrifugally. The cycle completes when the definitive host ingests viscera infected with hydatid cysts.

CE affects mainly pastoral communities where close contact with the dog-sheep cycle and a contaminated environment occur. However, clear-cut association with risk factors is still lacking [1]. The global burden of CE has been estimated in 1.2 million people infected worldwide with over 3.5 million DALYs (Disability-Adjusted Life Years) lost globally every year [2]. However, these figures are likely underestimated. The geographical dispersal of the infection on vast rural areas with a patchy distribution, the absence of specific symptoms, and the lack of an effective disease record system, hamper a more precise assessment of infection prevalence and disease burden. Furthermore, CE mostly affects poor communities, is a disease with a low case-fatality rate with difficult and expensive diagnosis and treatment, and is an infection with a transmission cycle that is difficult to interrupt in the absence of sustained, expensive and well-coordinated programs involving both human and veterinary health services [2]. As a result, this disease is neglected [2, 3].

Morocco is highly endemic for CE. The prevalence of infection in animals has been reported to be up to 58.8% in dogs, 19.3% in sheep and 48.7% in cattle, with consistent variations between regions (Guide des activités de lutte contre l'hydatidose/echinococose. Comité Interministeriel de lutte contre l'hydatidose/echinococose, Royaume du Maroc, 2007). The Mid Atlas region was found to be the most prevalent area for animal CE in surveys conducted between 2001 and 2004 by Azlaf and Dakkak [4].

A total of 23,512 operated human cases were recorded by the Ministry of Health of Morocco during the periods 1980–1992 and 2003–2008 [5]. An increasing average annual incidence of surgical cases was shown, from 3.6 to 5.2 per 100,000 inhabitants in 1980 and 2008, respectively, with the region of Meknes-Tafilalet, in the Mid Atlas, recording the highest figures (11.9 per 100,000 in 2008) [5]. More recent data from the Ministry of Health of Morocco for 2014 report an annual incidence of human CE in the Meknes-Tafilalet region of 7.04 per 100,000, with the highest figures recorded in the provinces of Ifrane (16.33 per 100,000) and El Hajeb (12.90 per 100,000). These figures, however, are likely not representative of the real prevalence of infection, as a proportion of cases remain clinically silent often for many years and, even when symptomatic, may never reach medical attention or official disease records. More accurate data may come from screening campaigns, which allow to detect also asymptomatic cases and to evaluate the distribution of CE stages among age groups. In 2000 and 2001, Macpherson and colleagues conducted an ultrasound (US) screening of 11,612 people in the provinces of Ifrane and Khenifra in the Meknes-Tafilalet region, finding a prevalence of abdominal CE of 1.1% (1.3% in Ifrane and 0.9% in Khenifra) [6]. Most of the diagnosed CE cases were asymptomatic, even in patients with large active cysts, and symptoms, when present, were non-specific.

The diagnosis and clinical management of CE are complex and require a multidisciplinary approach, often available only in referral centres. In 2003, the World Health Organization Informal Working Group on Echinococcosis (WHO-IWGE) implemented a consensus US-based classification of CE cysts stages, which allows classifying unequivocally all morphological stages of cysts [7]. This classification also groups cyst stages into clinical categories to guide the rational stage-specific allocation of CE patients to different management options, including surgery, medical therapy, percutaneous treatment and the “watch and wait” approach [8, 9]. This approach not only allows choosing the most appropriate treatment (or the need for no treatment) depending on cyst characteristics, patient-related factors, and therapeutic resources available, but also helps in rationalizing the expenses for CE management. Unfortunately, the use of this consensus approach, and of CE classifications of any kind, are still appallingly scarce, and the management of the disease is often inappropriate, exposing patients (and health systems) to unnecessary treatments, risks, and costs [10, 11]. A survey on clinical practices in CE carried out in Morocco in 2008 found that 73.6% of interviewed physicians

( $n = 148$ ) would treat inactive CE cysts with surgery, only 4.1% would use the (correct) watch and wait approach, while 20.3% of the interviewed did not know what approach to take with inactive cysts [12]. In Morocco, the direct cost of surgery for abdominal CE has been estimated at 1500–3000 US\$ per patient [4, 5]. Further costs include the reduction or loss of income due to hospitalization and complications and, not less important, the impact on patient's quality of life due to the risks, complications, and long hospital stay associated with surgery. Nonetheless, the treatment of CE in Morocco is still almost uniquely surgical, while other options such as percutaneous treatment are implemented in only a minority of cases [5]. According to data from the Ministry of Health of Morocco, in 2014, percutaneous treatment was used in 1.8%, and medical treatment in 0.9% of recorded CE cases.

In 2004, an inter-ministerial committee for the control of CE was established in Morocco, involving the Ministry of Agriculture, the Ministry of Health and the Ministry of Interior. The committee started its activities in 2009. However, the implementation of integrated control measures proved extremely difficult due to problems of inter-ministerial collaboration at the organizational and funding level, and so far only improvement of human CE case report system has been implemented. A re-evaluation of the prevalence of human CE was therefore considered necessary.

In 2012, an EUR 300,000 project "Clinical Management of Cystic Echinococcosis in Morocco" funded by the Italian Ministry of Health and coordinated by the WHO was launched, with the aims of: i) estimating the prevalence of human abdominal CE in target endemic areas of Morocco using US screening; ii) encouraging the use of US-based focused assessment of CE in peripheral endemic areas [13, 14]; and iii) encouraging a rational clinical management of CE by local physicians according to the WHO-IWGE Expert Consensus on diagnosis and management of human echinococcosis [8]. Here we present the results of the community-based US screening and related activities carried out between April and May 2014 in the target endemic provinces of Ifrane and El Hajeb, Meknes-Tafilalet region (designated as such until December 2014 and indicated as such in the manuscript), Mid Atlas, an area among the most endemic in Morocco for both human and animal infection (Guide des activités de lutte contre l'hydatidose/echinococose. Comité Interministeriel de lutte contre l'hydatidose/echinococose, Royaume du Maroc, 2007; and [4, 5]).

## Materials and methods

### Ethics statement

Approval was granted by the Ethics Committees of the University of Pavia, Italy, and of the University Hospital Centre Hassan II of Fès, Morocco.

### Participating institutions

The project developed as a 2-year collaboration between the University of Pavia, San Matteo Hospital Foundation, WHO Collaborating Centre for the Clinical Management of Cystic Echinococcosis, Pavia, Italy, and the Ministry of Health of Morocco, Service of Parasitic Diseases, Rabat, Morocco. The project was coordinated by the WHO, Department of Neglected Infectious Diseases and the WHO Regional Office for the Eastern Mediterranean, Cairo, Egypt. Moroccan study centres were represented by the Service of Medicine C and the Service of Surgery B, Avicenne (Ibn Sina) hospital, Rabat; the Service of Parasitology, Mohammed V Military Teaching Hospital and Faculty of Medicine and Pharmacy, Rabat; the Prince Moulay Hassan Hospital, El Hajeb; and the 20 August Hospital, Ifrane. Local support and coordination was provided by the WHO Office in Morocco, Rabat, the Regional Health Directorate of Meknes-Tafilalet region, and the Provincial Delegations of Ifrane and El Hajeb.

## Objectives

The main objective of this cross-sectional study was to estimate the prevalence of abdominal CE in the target endemic provinces of Ifrane and El Hajeb, Meknes-Tafilalet region, Mid Atlas. Secondary objectives were i) to assess risk factors associated with CE infection, ii) to train local health professionals on the diagnosis and clinical management of abdominal CE according to the WHO-IWGE Expert Consensus on diagnosis and management of human echinococcosis [8] and, iii) to provide educational inputs on the disease, its transmission, treatment and prevention, to the inhabitants of the communities involved in the screening. The evaluation of the effectiveness of the stage-specific clinical management of patients with abdominal CE according to the WHO-IWGE Expert Consensus is on going and will be the object of a further publication.

## Sample size calculation and data analysis

A sample size of 5,000 subjects (2,500 per province) was calculated to provide an estimate of CE prevalence with a 95% confidence level and 0.5% precision, based on an expected prevalence of 1.5%. The Shapiro-Wilk test was used to assess the normal distribution of quantitative variables. These were expressed as the mean and standard deviation, as they were normally distributed, and were compared by t-test. Qualitative variables were described as number and percentage. Differences between groups were evaluated using  $\chi^2$  or Fisher's exact test, as appropriate. Association between CE infection and potential risk factors, with the exception of age and sex, were assessed using univariate logistic regression models. To take into account potential confounders we calculated Odds Ratios (ORs, with their 95% Confidence Interval) adjusted for age, sex, and province by multivariable logistic models. Each type of "dog role" was analyzed as "yes/no" as dogs may have several roles in the same households. At cyst level, risk of being in active or inactive stage was assessed by logistic regression with robust standard errors, clustered at patient level. As missing data were below 5%, no statistical method for missing data was necessary. A p-value < 0.05 was considered statistically significant and a p-value < 0.10 was considered borderline significant. All tests were two sided. Data analysis was performed with the STATA statistical package (version 14.1; Stata Corporation, College Station, TX, USA).

## Ultrasound survey

Consent to conduct the screening was obtained from local authorities and community leaders during the preparatory phase of the project. The surveys comprised four 2-day campaigns in April and May 2014, in the rural communes of Ain Louh and Timahdit in the province of Ifrane, and in the rural communes of Bouderbala and Sebt Jehjough in the province of El Hajeb, Meknes-Tafilalet region (Fig 1). The main population of these areas of central Morocco are Amazighs. The rural communes of Ain Louh and Timahdit in Ifrane province are located at an altitude of 1300 and 1900 m a.s.l. and are 24 km and 34 km distant from the closest city, respectively. Their population is 9669 and 10945 inhabitants, respectively. The rural communes of Bouderbala and Sebt Jehjough in the province of El Hajeb are located at a lower altitude, between 760 and 1000 m a.s.l. They are located 16 km and 15 km, respectively, from the closest city, with a population of 7907 and 7485 inhabitants, respectively (data from the Haut Commissariat au Plan, Morocco, 2014). These areas were chosen after evaluation of available human and animal data on the presence of CE, and agreement from local authorities. According to official data of the Ministry of Agriculture and Fishery of Morocco, in 2014 the province of Ifrane counted 900,000 ovines, with a prevalence of CE infection in this species of 12.2%, while the province of El Hajeb counted 330,000 ovines, with a prevalence of CE infection of



**Fig 1. Map of Morocco and the survey area.** The survey area is indicated in black. This includes the rural communes of Timahdit and Ain Louh in the province of Ifrane, and the rural communes of Boudelbata and Sebt Jehjough in the province of El Hajeb, Meknes-Tafilalt region (designated as such until December 2014). Modified from [Di Harhi](#) [Public Domain] Wikimedia Commons.

doi:10.1371/journal.pntd.0005384.g001

3.5%. These figures are considerably lower than those reported by the Comité Interministeriel de lutte contre l'hydatidose/echinococcose (2007), an underestimation possibly in part deriving from the fact that abattoirs survey data reflect the age of the animals slaughtered. Indeed, young animals are less infected than older ones, and, in addition, data from abattoirs are cumulative, not differentiating between age categories, therefore inducing bias and underestimation.

On average 40 staff members were involved in the implementation of each campaign. Pre-screening activities included two preliminary meetings with all staff involved, inspections to the screening sites, and regular announcement of the screening dates to the population during social and religious occasions (weekly markets, Mosques, etc). The screening activities were carried out in primary school buildings, in each of which eight rooms were used: one for the registration and waiting of participants; one for the health education sessions, one for the administration of the Participant Information Sheet and the risk factors questionnaire, and the signature of the Informed Consent Form; four for clinical examination using eight portable

ultrasound machines, and one for blood sampling, medical interview and counselling of patients diagnosed with CE. All residents of the target study areas aged between 10 and 80 years were invited to take part into the screening. However, younger children brought by their parents and older persons responding to the invitation were also examined. The Informed Consent Form was signed by the parent/legal representative for subjects <18 years of age. Males and females were examined by US in separate rooms.

### Risk factors questionnaire

All participants were asked to answer a risk factors questionnaire before US examination. The questionnaire was written in French and verbally translated into the local language Amazigh by the survey staff. Questions included recognition of CE cysts upon show of a picture of an infected sheep liver, information on main water source for human use, livestock breeding, home slaughter, disposal of offal, ownership and management of owned dogs (purpose of dog ownership, dog confinement inside and outside the owner's premises, feeding habits, deworming with praziquantel, use of same source of water by dogs and livestock), and access of unowned dogs to the premises

### Patient classification

All patients diagnosed with abdominal CE or suspected CE lesions/surgical scars were asked about previous CE diagnosis and treatment, underwent blood sampling for the examination of laboratory parameters and CE serology, and received a chest X ray for the detection of possible pulmonary CE lesions. All women of childbearing age were also assessed for pregnancy using hCG urine rapid test. After receiving detailed information and counselling about the most appropriate clinical management according to the WHO-IWGE Expert Consensus indications, patients were invited to sign the Informed Consent Form to treatment. Subjects <18 years of age were addressed to a paediatric hospital for treatment. Treatment was offered free of charge.

Patients were classified as positive for abdominal CE if: i) they had abdominal lesions with pathognomonic features of CE at US irrespective of their serology results; or if ii) they had abdominal lesions compatible with CE and positive serology; or if iii) they had post-treatment lesions from previous CE treatment. In the latter case, where a residual cavity was visualized on US with suspect features for relapse, a diagnostic puncture was proposed and the cyst fluid analysed microscopically and by PCR (see below) to define the nature of the lesion.

Suspect lesions were investigated with diagnostic puncture, Magnetic Resonance Imaging, and US re-evaluation, as appropriate. All subjects diagnosed with medically relevant conditions other than CE were referred to the reference provincial hospital or regional hospital, as appropriate, for free of charge treatment according to the agreement with the Ministry of Health of Morocco.

### Serology and cyst fluid genotyping

Serology for echinococcosis was performed using ELISA (RIDASCREEN Echinococcus IgG, R-Biopharm, Darmstadt, Germany) and Western Blot (WB) (Echinococcus IgG, LD-BIO Diagnostics, Lyon, France) according to manufacturers' instructions. For the analysis, patients with both hepatic and extra-hepatic cysts were classified into 3 groups according to the stage of the hepatic cyst. When more than one hepatic cyst was present, patients were grouped according to the stage of the cyst known to have the most influence on a positive serology result, i.e. CE2-CE3a-CE3b>CE1>CE4-CE5 [15]. To assess the *E. granulosus* genotypes infecting CE patients, hydatid fluids available after percutaneous or surgical interventions of patients

with CE or suspected CE were analysed by PCR according to the method described by Bouba-ker et al [16].

### Training and educational activities

Before the survey, a 1-day meeting was organized, directed to the medical personnel of the target areas involved in the study. The workshop included 6 hours of frontal lectures on the current techniques of diagnosis and recommendations on the clinical management of CE. Educational material was also provided to the participants. Twenty-four general practitioners practicing in the two target provinces (12 per province) received >18 hours of hands-on training on general abdominal US and focused assessment of CE with US during the screening campaigns, by flanking expert sonographers conducting the screening. None of the physicians had ever received training on CE and ultrasonography before the project. Physicians from El Hajeb specialized in gastroenterology and surgery (one per specialty) agreed to receive practical training on surgical and percutaneous CE treatment techniques at the Avicenne (Ibn Sina) hospital, Rabat, during the treatment of diagnosed patients. Unfortunately physicians from Ifrane were not available for training during the envisaged period. Educational posters and handouts in Arabic were made available in the places of the US screening to inform the local population on the infection, its transmission, and its prevention. Participants were organized in groups of 30–35 people and received a 15-minute presentation by the Provincial Training Facilitator on Information, Education, and Communication with the aid of simple Power Point slides written in Arabic and explained in the local language Amazigh. Educational material was also provided to the participants.

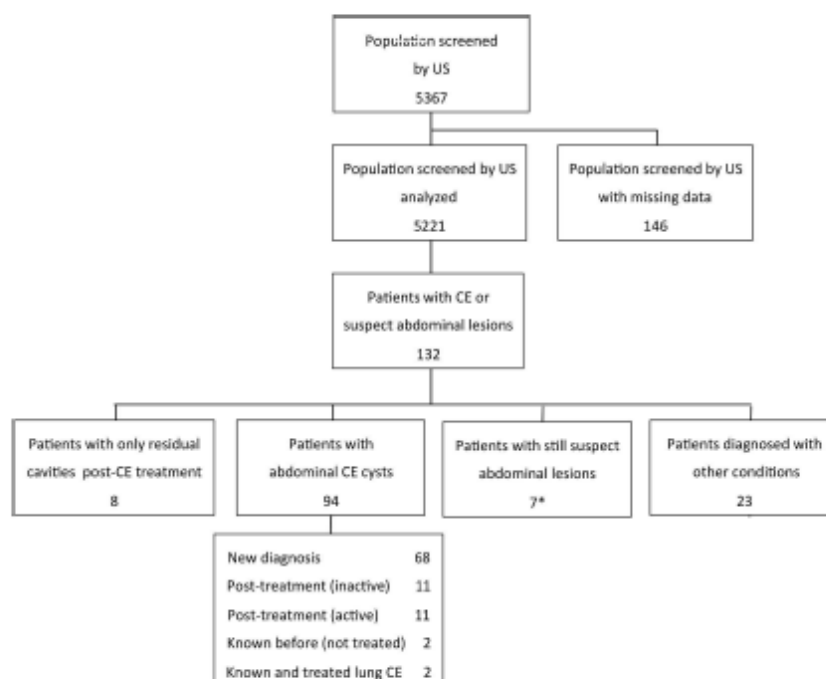
## Results

### Demographic characteristics of the screened population

A total of 5,367 people, aged 3–94 years, participated voluntarily in the screening and were evaluated by abdominal US during the 4 campaigns, of which 2,705 (50.4%) in Ifrane and 2,662 (49.6%) in El Hajeb. This constituted 1.7% of the whole population of Ifrane in 2014 and 13.1% of that of the two investigated rural communes in this province; and 1.1% of the whole population of El Hajeb and 17.3% of the two investigated rural communes in this province (data from the Haut Commissariat au Plan, Morocco, 2014). During the screening campaigns, 143 health education sessions were performed, for a total of 5249 local people. Of the 5367 people screened, data were available for analysis from 5221 people (97.3%), with results seen in Fig 2, of which 2633 from Ifrane and 2588 from El Hajeb. The majority (70.7%) of screened people were females. The demographic and social distribution of the general resident population and the screened population is detailed in Table 1.

### Prevalence of CE and risk factors analysis

The number of examined people and CE cases found during the screening campaigns are summarized in Fig 2. Of the 5,221 people who received abdominal US, 132 subjects had at least one abdominal CE or suspect abdominal lesion. Of these, 102 subjects (1.9% [95% CI 1.6%–2.4%]) had at least one abdominal CE lesion, either a CE cyst (92.2%), or a residual lesion from previous surgery for abdominal CE (7.8%). CE was excluded in 32 subjects while for 7 people the aetiology of the lesion is still not determined at the time of writing. As shown in Table 2, the prevalence in the province of Ifrane (2.6% [95% CI 2.0%–3.3%]) was significantly higher than that of El Hajeb (1.3% [95% CI 0.9%–1.8%]) ( $p < 0.001$ ). Using logistic regression analysis, the risk of having CE was significantly higher in the two investigated rural communes of Ifrane



**Fig 2. Examined people and CE cases observed during the screening campaigns.** \*One patient reported previous surgery for pulmonary CE.

doi:10.1371/journal.pntd.0005384.g002

province (OR 2.8 [95% CI 1.3–5.7] in Ain Louh and OR 3.3 [95% CI 1.6–6.7] in Timahdit) compared to the rural commune of Sebti Jahjouh in the province of El Hajeb ( $p = 0.005$  and  $0.001$ , respectively), showing the lowest prevalence, while there was no significant increased risk compared to this area in the second investigated rural commune of Bouderbala in the El Hajeb province (OR 1.8 [95% CI 0.9–3.9];  $p = 0.114$ ).

The association between CE infection and each risk factor (Table 3) was investigated taking into account province and age and gender, which were not significantly different between CE positive and CE negative subjects (age  $p = 0.734$  and  $p = 0.856$ , and gender  $p = 0.896$  and  $p = 0.166$  in Ifrane and El Hajeb, respectively). Province of residence was constantly found associated with high statistical significance with CE infection ( $p < 0.001$  in univariate logistic regression model;  $p < 0.01$  in all multivariable logistic models). Dog ownership was found to be associated with borderline statistical significance ( $p = 0.063$ ) with CE infection only in Ifrane province, where the proportion of infected subjects owning a dog was 68% vs 57% of non infected subjects, and statistically associated ( $p = 0.035$ ) with infection when adjusting for age, sex, and province. Other variables associated with borderline significance to infection were livestock breeding in the household ( $p = 0.098$ ), owned dogs allowed to roam ( $p = 0.099$ , only for Ifrane province), and raw viscera given to dogs ( $p = 0.077$ , only in El Hajeb province). The proportion of people recognizing CE lesions in pictures of animal infected organs was very high (93.1% in Ifrane and 57.8% in El Hajeb). Although the questionnaire was administered after the health education session, and therefore answers may have been influenced by the

**Table 1. Demographic characteristics distribution of the screened and general population of the investigated provinces. Three children (aged 3, 8 and 9 years) and 19 adults (aged 81–94 years) were outside the target age range.**

	Screened population Ifrane	Screened population El Hajeb	General population Ifrane	General population El Hajeb
<b>Gender</b>				
Male	840 (31.9%)	691 (26.7%)	48.9%	49.8%
Female	1793 (68.1%)	1897 (73.3%)	51.1%	50.2%
<b>Age (years)</b>				
Mean (SD)	40.4 (18.0)	39.7 (17.8)		
3–20	448 (17.0%)	504 (19.5%)	39.6%	37.1%
21–40	972 (36.9%)	931 (35.8%)	33.1%	33.5%
41–60	803 (30.5%)	866 (33.5%)	18.2%	17.5%
61–80	398 (15.1%)	268 (10.4%)	(>60 years) 9.1%	(>60 years) 7.8%
81–94	4 (0.2%)	15 (0.6%)		
Missing data	8 (0.3%)	4 (0.2%)		
<b>Occupation</b>				
Livestock raising/ Agriculture	395 (15.0%)	212 (8.2%)		
Student	348 (13.2%)	343 (13.3%)		
Labourer	154 (5.9%)	141 (5.4%)		
Housewife	1394 (52.9%)	1326 (51.2%)		
Other	99 (3.8%)	86 (3.3%)		
Unemployed	132 (5.0%)	92 (3.6%)		
Missing data	111 (4.2%)	388 (15.0%)		

doi:10.1371/journal.pntd.0005384.t001

recently heard information, it is possible they were true recognition of the parasitic lesion, as the absence of abattoirs in these rural communes makes inhabitants exposed to infected organs after home slaughter.

### CE cysts characteristics

The characteristics of CE cases found during the screening campaigns are summarized in Fig 2. Of the 102 subjects classified as having abdominal CE, 94 (92.2%) had CE cyst in abdominal organs, while 8 (7.8%) patients had only residual lesions from previous surgery for abdominal

**Table 2. Population screened and prevalence of abdominal CE in the investigated provinces and rural communes.**

Province	Rural commune	N screened	CE cases	Prevalence (95% CI)	p-value between provinces	OR (95% CI) compared with Sebti Jahjough	p-value compared with Sebti Jahjough
Ifrane	Timahdit	1336	38	2.8% (2.0%–3.9%)	p<0.001	3.3 (1.6–6.7)	p = 0.001
	Ain Louh	1297	31	2.4% (1.8%–3.4%)		2.8 (1.4–5.7)	p = 0.005
	Total	2633	69	2.6% (2.0%–3.3%)			
ElHajeb	Bouderbala	1447	23	1.6% (1.0%–2.4%)		1.8 (0.9–3.9)	p = 0.114
	Sebti Jahjough	1141	10	0.9% (0.4%–1.6%)		-	-
	Total	2588	33	1.3% (0.9%–1.8%)			
Total		5221	102	1.9% (1.6%–2.4%)			

doi:10.1371/journal.pntd.0005384.t002

**Table 3. Risk factor analysis for CE infection.**

	Crude OR (95%CI)		Adjusted OR ** (95%CI)	P value*
	Ifrane	El Hajeb		
Age (per year)	1.0 (0.9–1.1)	1.0 (0.9–1.1)		
Sex (M vs F)	0.9 (0.5–1.5)	0.5 (0.2–1.3)		
Recognition of <i>E. granulosus</i> cysts (yes/no)	0.9 (0.4–1.4)	1.1 (0.5–2.2)	0.9 (0.6–1.8);	p = 0.970
Main type of water source				
Open source <sup>^</sup>	1	1	1	
Tap	1.2 (0.7–2.3)	1.0 (0.2–4.2)	1.2 (0.7–2.2)	p = 0.440
Public fountain	1.1 (0.6–1.9)	1.7 (0.8–3.5)	1.3 (0.8–2.1)	p = 0.208
Livestock breeding in the household (yes/no)	1.2 (0.7–1.9)	1.8 (0.9–3.6)	1.4 (0.9–2.1)	p = 0.098*
Home livestock slaughtering (yes/no)	1.2 (0.5–2.9)	1.3 (0.6–2.9)	1.2 (0.7–2.3)	p = 0.451
Main way of viscera disposal				
Given to dogs <sup>^</sup>	1	1	1	
Buried	1.2 (0.5–2.8)	0.9 (0.1–4.2)	1.1 (0.5–2.2)	p = 0.870
Used as fertilizer	2.4 (0.6–10)	2.0 (0.4–11)	2.3 (0.5–9.8)	p = 0.273
Burned	1.1 (0.7–2.3)	0.9 (0.8–2.1)	1 (0.8–2.0)	p = 0.900
Thrown outside/garbage	1.9 (0.7–4.9)	0.5 (0.1–2.2)	1.1 (0.5–2.4)	p = 0.833
Dog ownership (yes/no)	1.6 (1.0–2.7)	1.3 (0.6–2.6)	1.6 (1.1–2.4)	p = 0.035
Role of owned dogs				
Guard (yes/no)	1.4 (0.2–11)	1.3 (0.2–10)	1.4 (0.3–5.8)	p = 0.653
Shepherd (yes/no)	1.2 (0.6–2.4)	0.6 (0.1–2.3)	0.9 (0.5–1.8)	p = 0.999
Pet (yes/no)	0.8 (0.4–1.9)	1.6 (0.2–12)	0.9 (0.4–1.9)	p = 0.781
Hunting (yes/no)	0.8 (0.6–2.9)	1.2 (0.7–3.9)	1 (0.8–1.9)	p = 0.910
Owned dogs allowed to roam (yes/no)	2.8 (0.9–9.0)	1.2 (0.4–3.2)	1.8 (0.9–3.7)	p = 0.115
Owned dogs allowed to enter the house (yes/no)	1.4 (0.7–2.5)	1.3 (0.4–3.8)	1.4 (0.8–2.4)	p = 0.227
Raw viscera given to dogs (yes/no)	1.7 (0.7–3.9)	0.4 (0.2–1.1)	1.0 (0.6–1.9)	p = 0.894
Owned dogs dewormed with praziquantel (yes/no)	1.4 (0.8–2.8)	1.6 (0.8–2.8)	1.5 (0.8–2.7)	p = 0.197
Unowned dogs can enter the premises (yes/no)	1.4 (0.8–2.4)	0.8 (0.4–1.9)	1.2 (0.8–1.9)	p = 0.390
Dogs and livestock use same water source (yes/no)	0.9 (0.3–3.1)	1.2 (0.4–2.9)	1.1 (0.4–2.8)	p = 0.988

Association between CE infection and each variable; Odds Ratio (ORs) adjusted for age, sex and province are shown

\*Borderline significant

\*\*OR (95%CI) adjusted for age, sex and province

\* P-value for adjusted OR

<sup>^</sup>Reference value.

doi:10.1371/journal.pntd.0005384.t003

CE. None of the patients with abdominal CE had lung infection, as assessed by X ray of the chest. Twenty-three patients with suspect CE lesions were excluded from having the parasitic infection after re-examination, as appropriate. The alternative diagnoses were biliary cysts (n = 15), haemangioma (n = 1), hepatocellular carcinoma (n = 1), other kidney diseases (n = 4), and absence of lesions at re-evaluation (n = 2).

Of the 94 patients with abdominal CE cysts, 68 (72.3%) did not know they were infected, and were therefore newly diagnosed. The remaining 26 (27.7%) patients already knew about their condition. Infected patients were symptomatic in 47.9% of cases; the most frequent reported symptom was abdominal pain (91.7%). Of the 32 patients with a previous history of treatment for CE, 27 (84.4%) were treated surgically and 5 (15.6%) received medical treatment with albendazole. Nobody reported previous percutaneous treatment. Of these previously treated CE patients, 11 (34.4%) had active cysts on US examination, but unfortunately it was

not possible to assess whether these were new infections or relapses after treatment, due to the lack of medical documentation. The prevalence and distribution of CE lesions by age group and gender is shown in Fig 3A.

The 94 patients with abdominal CE cysts had a total of 131 CE cysts (mean 1.4 CE cysts per patient; range 1–8). Of these, 84 (89.4%) patients had CE cysts only in the liver; 3 (3.2%) in the liver and another localization, notably the peritoneum in 2 patients and the spleen in 1 patient; and 7 patients (7.4%) had CE cysts only in extra-hepatic locations, notably the peritoneum in 3 patients, the spleen in 3 patients, and the kidney in 1 patient. The distribution of hepatic CE cysts by stage is shown in Fig 3B. Liver CE cysts were most frequently inactive (55.8% were CE4-CE5 stages), followed by stages CE3b (19.2%), CE1 (13.3%), CE2 (8.3%) and CE3a (3.3%). As CE has a slow progressive evolution and the exposure may vary due to gender and age-related activities, we investigated the distribution of cyst stages according to these variables. As it was not possible to discriminate between relapse and reinfection in previously treated patients, the distribution of CE stages by sex and age was analysed here only in the 70 previously untreated patients (68 newly diagnosed and 2 known infected but never treated patients). We found that the relative frequency of inactive cysts increased with age, while that of active cysts decreased with age. The risk of having an active cyst significantly decreased with age ( $p = 0.003$  OR 0.33 CI 0.16–0.69). Results are shown in Fig 3C and 3D. Of the 29 patients who had been previously treated for abdominal CE, 17 (58.6%) had only residual cavities/scar or inactive CE4-CE5 cysts on US examination (7 [24.1%] only residual cavities/scar; 10 [34.5%] inactive cysts), while 12 (41.4%) had cysts in active stage. However, as stated above, it was not possible to discriminate between relapse and reinfection.

### Serology and PCR

Sera from patients with CE were tested by ELISA and WB and the results analysed by cyst stage group as detailed in the methods. Of the 32 patients previously treated for CE, 78.2% had positive serology on both ELISA and WB. Of note, among these previously treated patients, only 1 of the 8 patients having just residual cavities/scar from previous surgery for CE was seronegative, and one seronegative patient had a CE3b cyst in the spleen. Of the 70 previously untreated patients, 21 (30%) were seronegative on both ELISA and WB, 6 (8.6%) had only positive ELISA serology, and 41 (58.6%) were seropositive with both tests. For 2 patients data regarding serology were not obtained. The percentage of ELISA positive results according to cyst stage in untreated and previously treated patients is shown in Fig 4. Of note, only 1 patient was receiving albendazole treatment at the time of blood sampling. One (4.3%) of people that were excluded from having CE had ELISA and WB positive results.

Cyst fluid was obtained from 13 lesions and evaluated by microscopy and PCR. Three suspect lesions were excluded from being CE upon the result of negative microscopy and PCR; of note, one of these patients had a suspect liquid cyst together with a CE5 cyst and positive serology, therefore the non-parasitic nature of the liquid cyst could have not been determined by the serology result only. The negativity of microscopy and PCR of aspirated liquid from 4 lesions of patients with a previous history of surgery and images suspect for relapse allowed to exclude relapse and classify the lesions as residual cavities. All the remaining 6 cyst fluids had protoscolices on microscopy. Of these, 5 were also positive by PCR and identified as genotype G1 (*E. granulosus sensu stricto*; sheep strain).

### Discussion

CE is endemic in Mediterranean countries, including Morocco, however its real prevalence, incidence and burden are difficult to estimate. This is due to the uneven distribution of

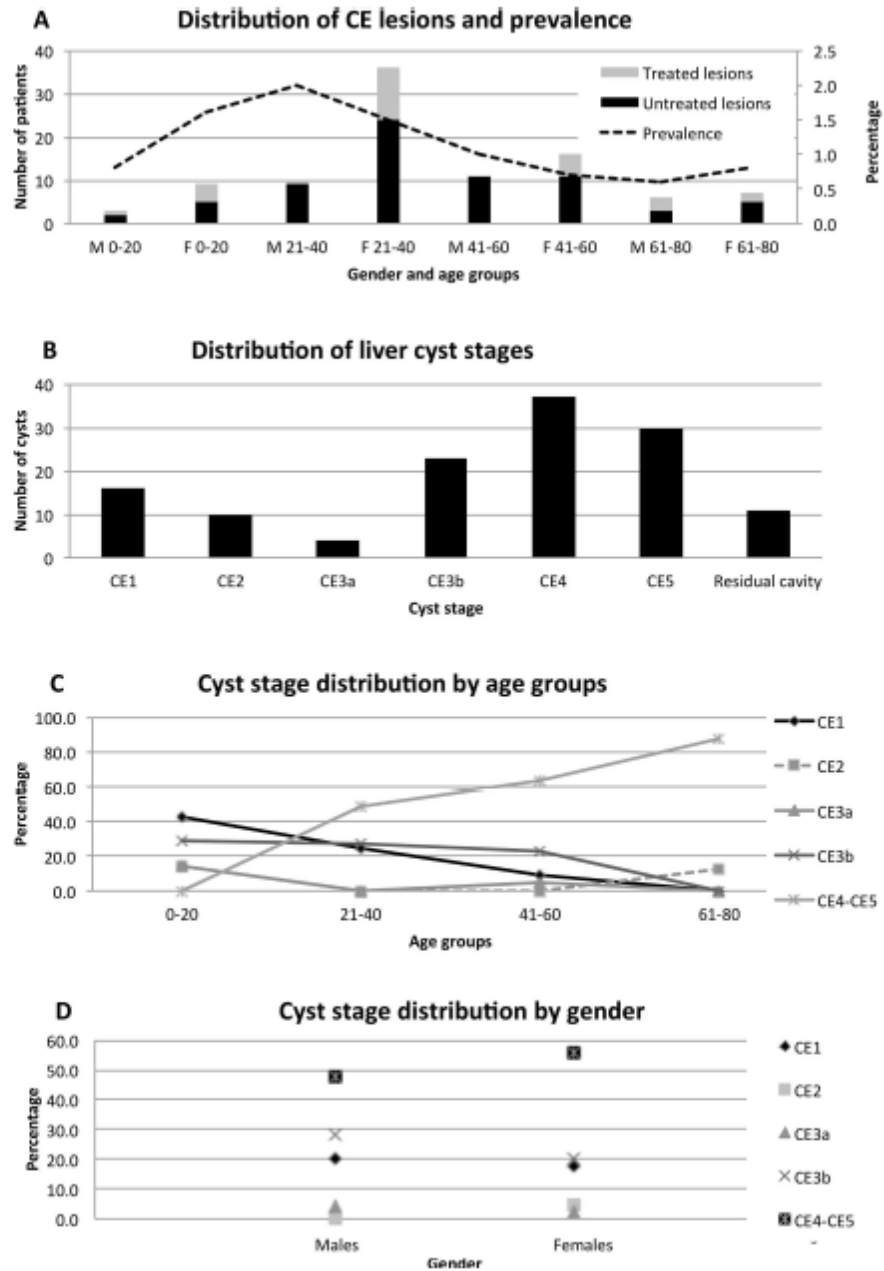


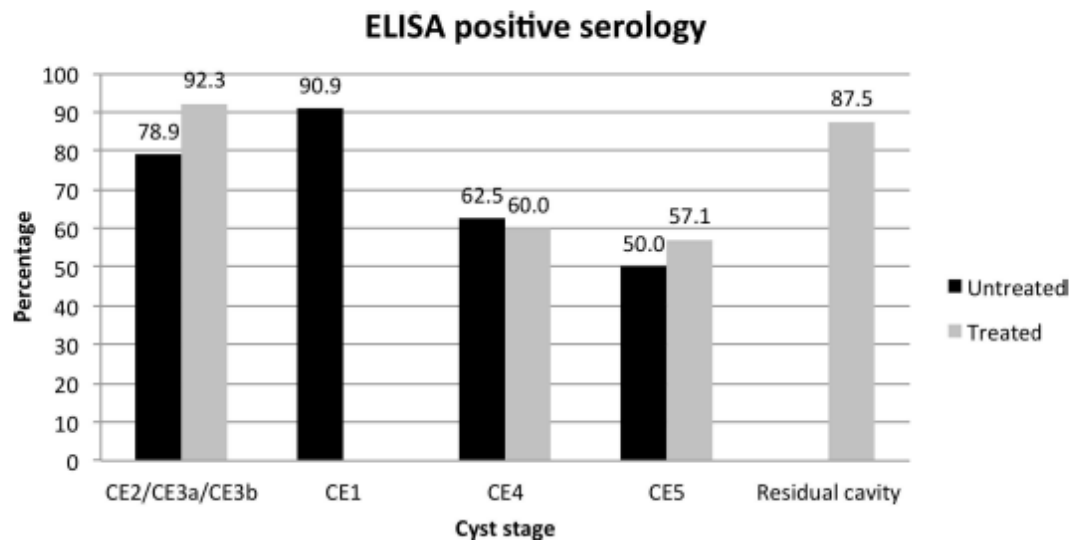
Fig 3. Distribution of CE lesions. A. Number of subjects with untreated and previously treated CE cysts (bars; left Y axis) and overall prevalence of CE in the screened population (dotted line; right Y axis) according to gender and age group (X axis).

M = males; F = females. Age groups are expressed in years. Three children (aged 3, 8 and 9 years) and 19 adults (aged 81–94 years) were outside the target age range target; none of these subjects were infected with CE. **B.** Number of hepatic CE cysts in different stages. **C.** Percentage of CE cyst stages in patients never previously treated for CE within age groups. **D.** Percentage of CE cyst stages in patients never previously treated for CE within gender groups.

doi:10.1371/journal.pntd.0005384.g003

transmission areas in endemic countries, the high proportion of asymptomatic infected individuals and symptomatic patients living in resource-poor areas with logistical and/or economic constraints, who never reach medical attention, and the underreporting of diagnosed cases. Furthermore, commonly used measures such as surgical case incidence are not appropriate to evaluate the dynamics of a chronic and clinically complex infection such as CE. A comprehensive evaluation of infection and disease burden, and of transmission risk factors, is at the basis of the decision, by public health authorities, upon the implementation of control programmes and rationalization of diagnosis and treatment recommendations. Population US surveys using portable and relatively inexpensive scanners allow obtaining more comprehensive, accurate and detailed information on infection prevalence and stage distribution of CE. The finding of early active cyst stages arguably reflects transmission pressure. Furthermore, US is non-invasive and repeatable, thus it can be used to monitor the effectiveness of control interventions [17]. Training of local physicians on focused assessment with US of CE and the rational allocation of infected patients to clinical management options allow for the reduction of costs associated with the need of travel to tertiary care facilities and provide an efficacious and less expensive tool for patients and health care systems [13]. Finally, community-based US surveys may constitute a useful educational activity, raising awareness of the importance of the infection in the population living in endemic areas [14].

CE is endemic throughout the Mediterranean, which is an area of intense migration, and infected patients may be diagnosed long after infection and in a different country from where



**Fig4.** Percentage of untreated and previously treated CE patients with ELISA positive serology according to cyst stage.

doi:10.1371/journal.pntd.0005384.g004

it was acquired. Recent data from the WHO Collaborating Centre on Clinical Management of CE in Pavia, Italy, showed that 38.2% of the 203 patients with CE followed by the Centre between January 2012 and February 2014 were foreign-born, and Morocco was the country of birth of the majority (27.2%) of these patients [18]. In this work, carried out through an Italian-Moroccan partnership, we estimated the prevalence and the characteristics of human abdominal CE by means of a community-based US screening in the provinces of Ifrane and El Hajeb, Meknes-Tafilalet region, Mid Atlas, an area among the most endemic in Morocco for both human and animal infection. In four 2-day campaigns using 8 portable US machines operated by experienced clinicians, we screened 13.1% of the population of the two investigated rural communes of Timahdit and Ain Louh in Ifrane and 17.3% of the two investigated rural communes of Bouderbala and Sebt Jajjouch in El Hajeb. This study had several limitations. First, this sample population included a lower percentage of young (<20 years of age) people and a higher percentage of middle-aged (40–60 years) people compared to the general registered population of the investigated provinces; also, more females than males volunteered to participate to the survey. Second, the screened sample was self-selected due to the voluntary nature of the participation, which could have biased the estimate in either direction. A random sampling was not considered suitable here due to concerns about the acceptability of such sampling method by the population. Third, children younger than 10 years of age were excluded from the target population due to practical constraints regarding treatment of CE in this age range population.

We found an overall CE prevalence of 1.9% (CI 1.6%–2.4%), a figure almost double compared to what reported by Macpherson and colleagues [6], who carried out a population US survey in the provinces of Ifrane and Khenifra, Mid Atlas, in 2000–2001, observing a prevalence of 1.1% (CI 0.9%–1.3%). This discrepancy could be due to a real increase in the infection pressure in the absence of control measures, or derive from differences in the investigated areas and target populations. Indeed, CE infection burden is difficult to estimate also due to the uneven distribution of transmission even within relatively small areas. Although a direct comparison of the two surveys is therefore not possible, these results demonstrate, as expected, an on-going transmission of the infection in the region. In our survey, CE prevalence in Ifrane was twice that in El Hajeb, with no differences between rural communes within provinces. The analysis of the prevalence of infection by age and gender showed the highest values in males aged 21–40 years, with comparable values in males and females within age groups. These results are in line with what found by Macpherson and colleagues [6]. However, we observed a decrease in infection prevalence in the population aged > 40 years. This was not explained by an increase in treatment rate with age, as prevalence was calculated including both subjects untreated and previously treated for CE. Possible explanations may be related to the structure of the resident population (e.g. more people aged 40–60 years may be emigrated from rural areas) and/or to the spontaneous resolution of the infection with time, with disappearance of the lesions possibly combined with the acquisition over time of some protective immunity to new infections [19].

When we investigated risk factors using multivariable analysis, we found that only province of residence (Ifrane) and dog ownership were significantly associated with CE infection, while age and gender were not. Of note, Ifrane is the province with more extensive livestock breeding activity and meat production (i.e. slaughter activity). These results are different from previous work, where dog ownership was generally not associated with CE infection in studies investigating adults or communities, while gender and source of water were consistently associated with CE infection [20–24]. These results, however, are consistent with those reported in the recent systematic review and meta-analysis of potential risk factors associated with CE infection [1]. In the investigated area, “dog ownership” may be not intended in the same strict manner as in Europe. Indeed, from the analysis of the answers to the questionnaire, we noticed that at-risk practices such as home slaughter, unsafe disposal of livestock viscera in public

places (e.g. garbage or open fields accessible to dogs), and feeding of dogs with raw viscera, were carried out independently of the strict ownership of livestock and dogs. Possibly, a more precise investigation of the type of contact with dogs rather than the general terminology of “dog ownership” could be more informative on the role of direct contact with dogs in the transmission of CE. Our result that province of residence was the only risk factor consistently associated with CE infection suggest that environmental contamination is likely the main factor responsible for CE transmission in this area. A more detailed assessment of habits and analysis of materials (water, soil, food) would be necessary to try individuating the actual route of infection, as also suggested by Possenti et al [1]. However, the acquisition of infection a long time before diagnosis makes the evaluation of such causality very difficult.

When considering CE infection in previously untreated patients, we observed that CE cysts were predominantly in an inactive stage, supporting the findings of previous longitudinal and observational studies showing that cysts evolve spontaneously to inactivation over time [25–30]. However, active cyst stages, including CE1 cysts (i.e. cysts likely acquired in recent times), were present also in adult age groups, as also found by Macpherson and colleagues in the same area [6], indicating acquisition of infection even in adulthood, although at lower rate. This may be due to the acquisition of some degree of immunity or to a decrease in exposure to infection at older age. In any case, these results are of particular importance. First, the predominance of inactive cysts in the sample population and the increase of the presence of inactive cysts with increasing age support the need for a stage-specific approach. Indeed, most cysts evidently evolve spontaneously to inactivation. As a consequence, aggressive invasive therapy, when not needed because of symptoms or complications, is not appropriate in most cases, and spontaneously inactivated cysts (the majority of those found in our population) do not have to be treated at all [8, 9]. Second, the evidence of acquisition of infection even in adulthood implies that a benefit from control programmes may be observed in all age groups, as already observed by Beard [31]. Indeed, the assumption that most cysts are acquired at early age but only evident after years hindered control measures, as this implied that investments for decades were needed before visible results may be obtained [31]. On the contrary, the practical consequence of the finding that adults are also susceptible and that latency between infection and diagnosis may be shorter than believed, is that expenditures for control may be encouraged by the expectation of early measurable benefits to the whole community.

To conclude, our results show a high prevalence and on-going transmission of CE in the investigated provinces of Ifrane and El Hajeb, Mid Atlas of Morocco. A plan for a control program in Morocco was envisaged after the study on the incidence of hospitalized CE cases at the national level (1980–1992) carried out by the Ministry of Health. In 2003 a national register of hospital CE cases was implemented. In 2004, an inter-ministerial committee for the control of CE was established in Morocco. The activities envisaged in the control program included health education, improvement of general hygiene, strengthening of the case registration system, control of the stray dog population, and screening and early treatment of patients. The intersectoral strategy was developed in 2007 and the activities started in 2009, but so far only improvement of human CE case report system has been implemented. Our data confirm the need for control activities in the area by national health authorities, through the full implementation of envisaged activities, and possibly the inclusion of other measures [32] after revision of the current plan, in the light of the difficulties and constraints to the implementation of such control programs. Also, our results encourage the acceptance and use of diagnostic-based algorithms using imaging rather than serology, and a stage-specific management approach for CE. Indeed, with presently available tools cyst activity cannot be assessed by serology, as more than 50% of subjects with spontaneously inactivated cysts (which remain stably inactive in >97% of cases [9]) and more than 85% of subjects with post-surgical residual cavities/scars

had a positive serology in our population. These patients should be correctly diagnosed as not having an active infection, and should be solely monitored over time, avoiding expensive and risky treatments such as surgery [8, 9]. Focused training of local physicians on US in CE diagnosis, management options, and follow-up would be a valuable tool. Indeed, in Morocco, surgery is still almost the sole treatment option offered to patients [5], as also shown by our results of treatment type reported by previously treated patients, and compliance to current recommendations on the clinical management of CE is still very low [10, 12]. Our experience also shows that population-based screening campaigns are useful to assess the prevalence, dynamics, and risk factors of CE in endemic areas, and may provide the favourable occasion to implement focused training for local health care workers and health education for general population. In this study, children younger than 10 years of age were excluded from the target population due to practical constraints regarding treatment of CE in this age range population. However, the inclusion of a younger population would be important in studies preliminary to the implementation of control activities, to provide baseline data, and for the monitoring of infection incidence once the program is in ongoing.

A highly coordinated multidisciplinary team is pivotal and a systematic pre-survey planning is absolutely required to address research questions and implement operational activities on an infection such as CE whose management is the exemplification of the "One Health" approach. However, the building and coordination of such teams is difficult, and requires time and continuous work over time with the same group. Also, the individuation and agreement on the relative share of costs and coordination between human and veterinary health services is an issue [33]. In this regard, it would be desirable to include all or part of the same staff in future surveys, to take advantage of the experience gained and lessons learned from previous activities through the identification of critical points after completion of field work (e.g. here the administration of the education session before the questionnaire for logistical convenience posed then problems in the interpretation of answers to some questions of the questionnaire). A pilot testing of the risk factors questionnaire and the inclusion of a social scientist in the team are also advisable to better adapt epidemiological tools to the habits and structure of the target communities, improve attendance from all age groups and genders and advise on the social acceptability of different sampling methods [34].

### Supporting information

**S1 Checklist. STROBE checklist.**  
(DOCX)

**S1 Dataset. Original data file.**  
(XLS)

### Acknowledgments

The Authors are grateful for their vital help in the organization and practical implementation of the survey to: to Dr Hassan Chrifi, Dr Abdelkhalek Hassane, and Dr Mohamed Khouchoua, Regional Health Directorate of Meknes-Tafilalet region, Morocco; Dr Houssain Touhtouh, Dr Mohammed Dary, Dr Latfi Omar, Mr Chouiakh Azdine, Dr Grine Rachid, Mr Doudou Youssef, Mr Idrissi Mohamed, Mr Ismekh Omar, Mr Salah Bahjoub, Mr Ghrbaoui Rachid, Mr El Ibrahim Mohamed, Mr Bouyakoubi Rachid, Dr Jaoui Hassan, Dr Saoudi Noureddine, Mr Dreladraoui Abderrahim, Mr Ezzahouany Hassan, Dr Ayachi Sabah, Dr El Alami Fatima Ezzahra, Dr El Mali Fadoua, Mr Chakri Moulay El Mehdi, Mme Bouchakour Atika, Mr Hassani Ahmed, Mr Boumsisse Ibrahim, Dr Rachida Chekrouni, Mr Kouki Moulay Rachid, Mr

Abdelhakim El Yazidi, Dr Naas Nourddine, Mme Hind Faiq, Provincial Delegations of Ifrane and El Hajeb, Morocco; Dr Nada Lahmidani, Dr Hajoui Fatima-Zahra, Dr Lakouichi Fouad, Mr Zouiteni Driss, Mr Kasmi M'hamed, Mr Dghoughi Abderrahmane, Mr Kharroubi Jalal, Mme Aziza El Adlouni, Hospital "XX August", Ifrane, Morocco; Dr Telemsani Houda, Mr El Boukhari Nourdine, Hospital "Prince Moulay Hassan", El Hajeb, Morocco; Dr Yves Souteyrand, Mr Ahmed Chahir, Mr El Falah Ghassane, WHO Office in Morocco, Rabat, Morocco; Dr Riadh Ben-Ismaïl, WHO Regional Office for the Eastern Mediterranean, Cairo, Egypt; Dr Alae Alkhouja, Dr Hadja Zarra Elh Lamine, Dr Mohamed Borahma, Dr Cherradi Younes, Department of Hepato-gastroenterology, Service of Medicine C, Ibn Sina University Hospital, Rabat, Morocco; Dr Hanane Fadlallah, Dr Dghimar Abelghani, Division of communication, Ministry of Health of Morocco, Rabat, Morocco. We are grateful to Dr Mara Mariconti, Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences, University of Pavia, Pavia, Italy and WHO-Collaborating Centre for Clinical management of Cystic Echinococcosis, Pavia, Italy, for her help in the genotyping of hydatid cyst fluid. Finally we thank Dr Sam Goblirsch for editing the English.

### Author Contributions

**Conceptualization:** EB CF FT.

**Data curation:** FT.

**Formal analysis:** CT ADS HC FT SB.

**Funding acquisition:** CF EB.

**Investigation:** HC ALEI BEL HN ME MY RA ST AEEF AS SB BAR SM MB RA FT.

**Methodology:** FT ALEI MB.

**Resources:** CF.

**Writing – original draft:** FT HC.

**Writing – review & editing:** HC ALEI MB BEL HN ME MY RA AEEF AS CT ADS SB BAR SM EB CF FT.

### References

1. Possenti A, Manzano-Roman R, Sanchez-Ovejero C, Boufana B, La Torre G, Siles-Lucas M, et al. Potential Risk Factors Associated with Human Cystic Echinococcosis: Systematic Review and Meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(11):e0005114. doi: [10.1371/journal.pntd.0005114](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005114) PMID: [27820824](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27820824/)
2. Craig P, Burke C, Schantz P, Li T, Qiu J, Yang Y, et al. Human Echinococcosis: A Neglected Disease? *Tropical Medicine and Health*. 2007; 36(4):283–92.
3. Brunetti E, Garcia HH, Junghans T, International Ce Workshop in Lima P. Cystic echinococcosis: chronic, complex, and still neglected. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011; 5(7):e1146. doi: [10.1371/journal.pntd.0001146](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001146) PMID: [21814584](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21814584/)
4. Azlaf R, Dakkak A. Epidemiological study of the cystic echinococcosis in Morocco. *Vet Parasitol*. 2006; 137(1–2):83–93. doi: [10.1016/j.vetpar.2006.01.003](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.003) PMID: [16473466](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16473466/)
5. Derloufi O, Akawa E, Elmaataoui A, Miss E, Esselmani H, Lyagoubi M, et al. Epidemiological profile of cystic echinococcosis in Morocco from 1980 to 2008. *Ann Biol Clin*. 2012; 70(4):457–61.
6. Macpherson CN, Kachani M, Lyagoubi M, Berrada M, Shepherd M, Fields PF, et al. Cystic echinococcosis in the Berber of the Mid Atlas mountains, Morocco: new insights into the natural history of the disease in humans. *Ann Trop Med Parasitol*. 2004; 98(5):481–90. doi: [10.1179/000349804225021343](https://doi.org/10.1179/000349804225021343) PMID: [15257798](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15257798/)

7. WHO. IWGE. International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological settings. *Acta Trop.* 2003; 85(2):253–61. PMID: [12606104](#)
8. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA, Writing Panel for the W-I. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop.* 2010; 114(1):1–16. doi: [10.1016/j.actatropica.2009.11.001](#) PMID: [19931502](#)
9. Piccoli L, Tamarozzi F, Cattaneo F, Mariconti M, Filice C, Bruno A, et al. Long-term sonographic and serological follow-up of inactive echinococcal cysts of the liver: hints for a "watch-and-wait" approach. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014; 8(8):e3057. doi: [10.1371/journal.pntd.0003057](#) PMID: [25122222](#)
10. Nabarro LE, Amin Z, Chiodini PL. Current management of cystic echinococcosis: a survey of specialist practice. *Clin Infect Dis.* 2015; 60(5):721–8. doi: [10.1093/cid/ciu931](#) PMID: [25422388](#)
11. Tamarozzi F, Nicoletti GJ, Neumayr A, Brunetti E. Acceptance of standardized ultrasound classification, use of albendazole, and long-term follow-up in clinical management of cystic echinococcosis: a systematic review. *Curr Opin Infect Dis.* 2014; 27(5):425–31. doi: [10.1097/QCO.0000000000000093](#) PMID: [25101556](#)
12. Tabel IB. MD Thesis: Faculty of Medicine and Pharmacy, Rabat, Morocco; 2008.
13. Del Carpio M, Mercapide CH, Salvitti JC, Uchiumi L, Sustercic J, Panomarenko H, et al. Early diagnosis, treatment and follow-up of cystic echinococcosis in remote rural areas in Patagonia: impact of ultrasound training of non-specialists. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012; 6(1):e1444. doi: [10.1371/journal.pntd.0001444](#) PMID: [22253935](#)
14. Kachani M, Macpherson CN, Lyagoubi M, Berrada M, Bousikhane M, Kachani F, et al. Public health education/Importance and experience from the field. Educational impact of community-based ultrasound screening surveys. *Acta Trop.* 2003; 85(2):263–9. PMID: [12606105](#)
15. Lissandrín R, Tamarozzi F, Piccoli L, Tinelli C, De Silvestri A, Mariconti M, et al. Factors Influencing the Serological Response in Hepatic Echinococcus granulosus Infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2016; 94(1):166–71. doi: [10.4269/ajtmh.15-0219](#) PMID: [26503271](#)
16. Boubaker G, Macchiarelli N, Prada L, Cucher MA, Rosenzvit MC, Ziadinov I, et al. A multiplex PCR for the simultaneous detection and genotyping of the Echinococcus granulosus complex. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013; 7(1):e2017. doi: [10.1371/journal.pntd.0002017](#) PMID: [23350011](#)
17. Fidler B, Moguillansky J, Salvitti JC, Odriozola M, Cantoni G, Lanfau E. Epidemiological surveillance of human hydatidosis by means of ultrasonography: its contribution to the evaluation of control programs. *Acta Trop.* 2001; 79(3):219–23. PMID: [11412805](#)
18. Tamarozzi F, Rossi P, Galati F, Mariconti M, Nicoletti GJ, Rinaldi F, et al. The Italian registry of cystic echinococcosis (RIEC): the first prospective registry with a European future. *Euro Surveill.* 2015; 20(18).
19. Tamarozzi F, Mariconti M, Neumayr A, Brunetti E. The intermediate host immune response in cystic echinococcosis. *Parasite Immunol.* 2016; 38(3):170–81. doi: [10.1111/pim.12301](#) PMID: [26683283](#)
20. Campos-Bueno A, Lopez-Abente G, Andres-Cercadillo AM. Risk factors for Echinococcus granulosus infection: a case-control study. *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 62(3):329–34. PMID: [11037773](#)
21. Carmona C, Perdomo R, Carbo A, Alvarez C, Monti J, Grauert R, et al. Risk factors associated with human cystic echinococcosis in Florida, Uruguay: results of a mass screening study using ultrasound and serology. *Am J Trop Med Hyg.* 1998; 58(5):599–605. PMID: [9598448](#)
22. Dowling PM, Abo-Shehadeh MN, Torgerson PR. Risk factors associated with human cystic echinococcosis in Jordan: results of a case-control study. *Ann Trop Med Parasitol.* 2000; 94(1):69–75. PMID: [10723525](#)
23. Harandi MF, Moazezi SS, Saba M, Grimm F, Kamyabi H, Sheikhzadeh F, et al. Sonographical and serological survey of human cystic echinococcosis and analysis of risk factors associated with seroconversion in rural communities of Kerman, Iran. *Zoonoses Public Health.* 2011; 58(8):582–8. doi: [10.1111/j.1863-2378.2011.01407.x](#) PMID: [21824361](#)
24. Lanfau EJ, Costa MT, del Carpio M, Moguillansky S, Bianchi G, Yadon ZE. A case-control study of the risk factors for cystic echinococcosis among the children of Rio Negro province, Argentina. *Ann Trop Med Parasitol.* 2002; 96(1):43–52. doi: [10.1179/000349802125000501](#) PMID: [11989533](#)
25. Guarnera EA, Parra A, Kamenetzky L, Garcia G, Guillermo A. Cystic echinococcosis in Argentina: evolution of metacestode and clinical expression in various Echinococcus granulosus strains. *Acta Trop.* 2004; 92(2):153–9. doi: [10.1016/j.actatropica.2004.06.008](#) PMID: [15360668](#)
26. Keshmiri M, Baharvahdat H, Fattahi SH, Davachi B, Dabiri RH, Baradaran H, et al. Albendazole versus placebo in treatment of echinococcosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2001; 95(2):190–4. PMID: [11365559](#)
27. Lanfau E, Del Carpio M, Salvitti JC, Mercapide C, Sustercic J, Panomarenko H, et al. Ultrasonographic diagnosis and medical treatment of human cystic echinococcosis in asymptomatic school age carriers:

- 5 years of follow-up. *Acta Trop.* 2004; 91(1):5–13. doi: [10.1016/j.actatropica.2004.02.008](https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2004.02.008) PMID: [15158684](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15158684/)
28. Li T, Ito A, Pengcui R, Sako Y, Chen X, Qiu D, et al. Post-treatment follow-up study of abdominal cystic echinococcosis in Tibetan communities of northwest Sichuan Province, China. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5(10):e1364. doi: [10.1371/journal.pntd.0001364](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001364) PMID: [22039558](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22039558/)
  29. Wang Y, He T, Wen X, Li T, Waili A, Zhang W, et al. Post-survey follow-up for human cystic echinococcosis in northwest China. *Acta Trop.* 2006; 98(1):43–51. PMID: [16676417](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16676417/)
  30. Wen H, Craig PS. Immunoglobulin G subclass responses in human cystic and alveolar echinococcosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1994; 51(6):741–8. PMID: [7810806](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7810806/)
  31. Beard TC. Evidence that a hydatid cyst is seldom "as old as the patient". *Lancet.* 1978; 2(8079):30–2. PMID: [78222](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/78222/)
  32. W.H.O. Report of the WHO Informal Working Group on cystic and alveolar echinococcosis surveillance, prevention and control, with the participation of the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Organisation for Animal Health, 22–23 June 2011, WHO Headquarters, Geneva. World Health Organization, Geneva: 2011.
  33. Welburn SC, Beange I, Ducrotoy MJ, Okello AL. The neglected zoonoses—the case for integrated control and advocacy. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21(5):433–43. doi: [10.1016/j.cmi.2015.04.011](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.04.011) PMID: [25911990](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25911990/)
  34. Ducrotoy MJ, Yahyaoui Azami H, El Berbi I, Bouslikhane M, Fassi Fihf O, Boue F, et al. Integrated health messaging for multiple neglected zoonoses: Approaches, challenges and opportunities in Morocco. *Acta Trop.* 2015; 152:17–25. doi: [10.1016/j.actatropica.2015.06.011](https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.06.011) PMID: [26299194](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26299194/)

## Accepted Manuscript



Cystic Echinococcosis in immigrants and Italians accessing a single referral center in Lombardy, Italy

Raffaella Lissandrin, Ambra Vola, Sarah Tahiri, Mara Mariconti, Tommaso Manciuilli, Francesca Tamarozzi, Enrico Brunetti

PII: S1477-8939(18)30380-6

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2018.10.018>

Reference: TMAID 1340

To appear in: *Travel Medicine and Infectious Disease*

Received Date: 29 June 2018

Revised Date: 16 October 2018

Accepted Date: 26 October 2018

Please cite this article as: Lissandrin R, Vola A, Tahiri S, Mariconti M, Manciuilli T, Tamarozzi F, Brunetti E, Cystic Echinococcosis in immigrants and Italians accessing a single referral center in Lombardy, Italy, *Travel Medicine and Infectious Disease* (2018), doi: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2018.10.018>.

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

ACCEPTED MANUSCRIPT

Cystic Echinococcosis in immigrants and Italians accessing a single referral center in Lombardy, Italy.

Raffaella Lissandrin<sup>1,2</sup>, Ambra Vola<sup>2</sup>, Sarah Tahiri<sup>3</sup>, Mara Mariconti<sup>2</sup>, Tommaso Manciuoli<sup>1,4</sup>,  
Francesca Tamarozzi<sup>5</sup>, Enrico Brunetti<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences, University of Pavia, Viale Brambilla 74, 27100, Pavia, Italy.

<sup>2</sup>Unit of Infectious and Tropical Diseases, IRCCS San Matteo Hospital Foundation, Viale Taramelli 5, 27100, Pavia, Italy.

<sup>3</sup>Parasitology laboratory, Military Teaching Hospital “Mohammed V”, Rabat, Morocco; Research Team in parasitology, tropical and fungal infectious diseases, School of Medicine and Pharmacy, University “Mohammed V”, Rabat, Morocco.

<sup>4</sup>PhD School of Experimental Medicine, University of Pavia, Pavia, Italy.

<sup>5</sup>Centre for Tropical Diseases, Sacro Cuore-Don Calabria Hospital, Via don A. Sempredoni 5, 37024, Negrar, Verona, Italy

Cystic Echinococcosis in immigrants accessing a single referral center in Lombardy, Italy.

Raffaella Lissandrin<sup>1,2</sup>, Sarah Tahiri<sup>3</sup>, Ambra Vola<sup>2</sup>, Mara Mariconti<sup>2</sup>, Tommaso Manciuoli<sup>1,4</sup>, Francesca Tamarozzi<sup>5</sup>, Enrico Brunetti<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences, University of Pavia, Viale Brambilla 74, 27100, Pavia, Italy.

<sup>2</sup>Unit of Infectious and Tropical Diseases, IRCCS San Matteo Hospital Foundation, Viale Taramelli 5, 27100, Pavia, Italy.

<sup>3</sup>Parasitology laboratory, Military Teaching Hospital “Mohammed V”, Rabat, Morocco; Research Team in parasitology, tropical and fungal infectious diseases, School of Medicine and Pharmacy, University “Mohammed V”, Rabat, Morocco.

<sup>4</sup>PhD School of Experimental Medicine, University of Pavia, Pavia, Italy.

<sup>5</sup>Centre for Tropical Diseases, Sacro Cuore-Don Calabria Hospital, Via don A. Sempredoni 5, 37024, Negrar, Verona, Italy

\* **Raffaella Lissandrin**, Department of Clinical, Surgical, Diagnostic and Pediatric Sciences, University of Pavia, Viale Brambilla 74, 27100, Pavia, Italy and Unit of Infectious and Tropical Diseases, IRCCS San Matteo Hospital Foundation, Viale Taramelli 5, 27100, Pavia, Italy

E-mail: raffaella.lissandrin@unipv.it

Phone number: 00390382502799

**ABSTRACT:**

Cystic echinococcosis (CE) is a chronic, complex, and neglected zoonosis that causes serious liver and lung disease in humans, especially in sheep raising areas. The increase in immigration from countries with high CE prevalence results in higher numbers of patients with CE seeking medical attention in low prevalence countries, where this condition is poorly known and is frequently misdiagnosed and mismanaged. However, no data on the magnitude of the problem in Italy are currently available.

In this paper, we assess the number, demographic and clinical features of immigrants with CE seen in a single referral center in the north of Italy from October 2012- March 2018.

**Keywords:** Cystic echinococcosis, Immigrants, *Echinococcus granulosus*.

**Financial Support:** this work was partially funded by the EU Project HERACLES - (Human cystic Echinococcosis ReseArch in CentraL and Eastern Societies), FP7-HEALTH-2013-INNOVATION-1 PN 602051 (to EB).

**Disclosures:** All authors have approved the final version of this paper.

## **INTRODUCTION:**

Cystic echinococcosis (CE) is a chronic, complex, and neglected disease caused by the larval form of the dog tapeworm *Echinococcus granulosus* sensu lato species complex, which causes serious liver and lung disease [1][2]. Its estimated human global burden, evaluated assuming no underreporting, ranges from 218,515 to 366,133 disability-adjusted life years (DALYs)[3]but it is much high if underreporting is taken into account.

This infection is preventable, but breaking the transmission cycle of the parasite is difficult and requires long-lasting efforts. Control programs are expensive to set up and sustain [2] in endemic countries but are prohibitive in poor developing countries [4].

The increase in immigration from endemic countries results in higher numbers of patients with CE seeking medical attention in Italy, including our referral center in Pavia [5-6].

Unfortunately, reliable data concerning this phenomenon are hard to come by due to suboptimal notification systems throughout Europe [7-8].

CE is a chronic infection that may require complex and prolonged medical care. Although still endemic in southern and central Italian regions [9-11], it is frequently mismanaged and overtreated [12,13] and specific expertise is patchy.

The aim of this study is to assess the number, demographics and clinical features of immigrants with CE seen in a single referral center in the north of Italy.

## **MATERIALS AND METHODS**

In this single cross-sectional study, data regarding all CE patients who were visited in the WHO Collaborating Center for Cystic Echinococcosis of Pavia from October 2012 to March 2018, were searched in the European Register of Cystic Echinococcosis (ERCE) [14]. The technical features and type of data collected in ERCE database have been previously described [10]. All patients born in countries different from Italy, irrespective of their current domicile, were considered in a single group “immigrants or foreign born patients”.

For all enrolled patients demographics and number, location and stage of parasitic cysts at the first visit within the investigated period were extracted. Cyst stages were classified according to the World Health Organization Informal Working Group on Echinococcosis (WHO-IWGE) ultrasound classification of echinococcal cysts as (CE1 and CE2), transitional (CE3a and CE3b) and inactive (CE4 and CE5)[2].

Descriptive statistics were produced for demographic and clinical characteristics.

Quantitative variables were expressed as mean, standard deviation (SD) and range.

Qualitative variables were summarized as counts and percentages.

## RESULTS

As of March 20<sup>th</sup> 2018, 399 patients were registered in the Pavia center. One hundred and ninety (47.6%) of them were males and 209 (52.4%) females, with a mean age of years 52.4 (range 2.0-87.0 years).

Two hundred and twenty nine patients (57.1%) were born in Italy (mean age 56.8 years, range 5.0-87.0 years) while 171 (42.9%) were foreign-born (mean age 39.2 years, range 2.0-80.0 years).

The population characteristics are shown in table 1.

Most Italian born patients were from the Southern regions [Sicilia n=58 (25.4%), Calabria n=32 (14.0%), Puglia n=29 (12.7%), Sardinia n=24 (10.5%), Basilicata n=17 (7.5%), Campania n=17 (7.5%)] while the majority of foreign born were from Morocco (n=55, 32.2%), Romania (n=33, 19.3%), Albania (n=11, 6.4%), Ukraine (n=11, 6.4%) and Peru (n=10, 5.8%).

One hundred thirty two patients (33.1%) were diagnosed with CE in Pavia while 267 (66.9%) had already been diagnosed elsewhere, in other Italian regions in 217 cases (54.4%) and in foreign countries in 50 cases (12.5%). Patients who had already been diagnosed with CE were referred to Pavia for a second opinion or in case of complications.

In this cohort 615 cysts and/or postsurgical cavities were evaluated, 349 (56.7%) in Italians and 266 (43.3%) in foreign-born patients. Most cysts were located in the liver (n=548, 89.1%).

The majority of patients (n= 270, 67.7%) had a single cyst, which was located in the liver in 255(94.4%) patients and outside the liver in 15 (5.6%). One hundred and twenty nine (32.3%) patients had multiple cysts (range 2-12).

The distribution of cyst stages is summarized in table 2.

	All patients	Italian born patients	Foreign born patients
Cohort, n (%)	399 (100)	228 (57.1)	171 (42.9)
Mean age, years (range)	52.4 (2.0-87.0)	56.8 (5.0-87.0)	39.2 (2.0-80.0)
Total cysts n (%)	615 (100)	349 (56.7)	266 (43.3)
Hepatic cysts, n (% of total cysts)	548 (89.1)	318 (91.1)	230 (86.5)
Extra hepatic cysts, n (% of total cysts)	67 (10.9)	31 (8.9)	36 (13.5)

**Table n. 1: Cysts distribution in Italian and foreign born patients.**

Hepatic cysts	All patients	Italian born patients	Foreign born patients
Liver cysts n (%)	548 (100)	318 (58.0)	230 (42.0)
CE1, n (%)	28 (5.1)	10 (3.1)	18 (7.80)
CE2, n (%)	21 (3.8)	8 (2.5)	13 (5.7)
CE3a, n (%)	55 (10.0)	18 (5.7)	37 (16.1)
CE3b, n (%)	106 (19.3)	60 (18.9)	46 (20.0)
CE4, n (%)	189 (34.5)	109 (34.3)	80 (34.8)
CE5, n (%)	88 (16.1)	73 (23.0)	15 (6.5)
Residual cavity, n (%)	61 (11.2)	40 (12.6)	21 (9.1)

**Table n.2 Hepatic cystic stages distribution in Italian and foreign born patients.**

## DISCUSSION

The majority of the patients registered in ERCE in Pavia were from highly endemic central or southern Italian regions or from highly endemic foreign countries such as Romania, Morocco, Albania and Peru. The origin of these patients is in line with data on immigration in Italy reported by the Italian National Institute of Statistics: in January 2018, 5.047.028 foreign-born individuals were resident in Italy (8.3% of the entire Italian population), the largest communities were from Romania, Morocco and Albania (23.1%, 8.3% and 8.9% respectively). 1.139.463 of them were resident in Lombardy (1.9% of the entire resident population in Italy); 60.431 foreign-born individuals are resident in the province of Pavia, and the distribution of foreign people parallels these numbers, with foreign resident people (11% of the entire population) mainly coming from Romania, Albania and Morocco (27.9%, 12.1%, and 7.4% respectively) [15].

In our cohort, the mean age of Italian born patients was higher than that of foreign born patients, as reflected on a national scale in the Statistics Dossier on Immigration published by the Center for the Study and Research on Immigration (IDOS) in 2015, where the mean ages were 44 and 31 year for Italian and foreign people respectively [16].

In line with the literature [2] most patients had single hepatic cysts, and they were mostly in transitional or inactive stages.

Of the registered patients, 11% had extra hepatic cyst localization or multiple locations with a more complex clinical situation. These require a multidisciplinary approach and often surgical therapy, which are not available in all hospitals.

Immigrants from CE endemic areas make up for an important part of our with CE cohort. The adoption of an international registry for CE, which expands the existing ERCE, could be helpful to improve monitoring of CE across borders.

## References

- [1]. Craig PS, Budke CM, Schantz PM, Li T, Qiu J, Yang Y et al. Human echinococcosis: a neglected disease? *Trop Med Heal* 2007;283–292.
- [2]. Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Trop* 2010;114:1–16. doi:10.1016/j.actatropica.2009.11.001.
- [3]. Budke CM, Deplazes P, Torgerson PR. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerg Infect Dis* 2006;12:296–303. doi:10.3201/eid1202.050499.
- [4]. Brunetti E, Garcia HH, Junghanss T. Cystic echinococcosis: Chronic, complex, and still neglected. *PLoS Negl Trop Dis* 2011;5. doi:10.1371/journal.pntd.0001146.
- [5]. Indicatori Demografici, Stime per l'anno 2017, <http://www.istat.it/it/files/2018/02/Indicatoridemografici2017.pdf?title=Indicatori+demografici+-+08%2Ffeb%2F2018+-+Testo+integrale.pdf> [accessed 20 March 2018]
- [6]. Cattaneo F, Sardi F, Mariani B, Ludovisi S, Piccoli L, Tamarozzi F et al. Management of cystic echinococcosis: thirty year experience in a single referral center in northern Italy. *AJTMH*, vol.89 (2013), S535., DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2013.89.153>
- [7]. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015 <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4634> [accessed 20 March 2018]
- [8]. Rojo-Vazquez FA, Pardo-Lledias J, Francos-Von Hunefeld M, Cordero-Sanchez M, Alamo-Sanz R, Hernandez-Gonzalez A, et al. Cystic Echinococcosis in Spain: Current Situation and Relevance for Other Endemic Areas in Europe. *PLoS Negl Trop Dis* 2011;5:e893. doi:10.1371/journal.pntd.0000893.
- [9]. Brundu D, Piseddu T, Stegel G, Masu G, Ledda S, Masala G. Retrospective study of human cystic echinococcosis in Italy based on the analysis of hospital discharge records between 2001 and 2012. *Acta Trop* 2014;140:91–6. doi:10.1016/j.actatropica.2014.08.011.

- [10]. Tamarozzi F, Rossi P, Galati F, Mariconti M, Nicoletti GJ, Rinaldi F, et al. The Italian registry of cystic echinococcosis (RIEC): the first prospective registry with a European future. *Euro Surveill* 2015;20.
- [11]. Grosso G. Worldwide epidemiology of liver hydatidosis including the Mediterranean area. *World J Gastroenterol* 2012;18:1425. doi:10.3748/wjg.v18.i13.1425.
- [12]. Tamarozzi F, Mariconti M, Casulli A, Magnino S, Brunetti E. Comment on: Retrospective study of human cystic echinococcosis in Italy based on the analysis of hospital discharge records between 2001 and 2012. *Acta Trop* 2015;144:50–1. doi:10.1016/j.actatropica.2015.01.002.
- [13]. Tamarozzi F, Nicoletti GJ, Neumayr A, Brunetti E. Acceptance of standardized ultrasound classification, use of albendazole, and long-term follow-up in clinical management of cystic echinococcosis. *Curr Opin Infect Dis* 2014;27:425–31. doi:10.1097/QCO.0000000000000093.
- [14]. Rossi P, Tamarozzi F, Galati F, Pozio E, Akhan O, Cretu CM, et al. The first meeting of the European Register of Cystic Echinococcosis (ERCE). *Parasit Vectors* 2016;9:243. doi:10.1186/s13071-016-1532-3.
- [15]. i.stat, stranieri residenti al 1 gennaio 2018, [http://dati.istat.it/Index.aspx?DataSetCode=DCIS\\_POPSTRRES1](http://dati.istat.it/Index.aspx?DataSetCode=DCIS_POPSTRRES1) [accessed 20 March 2018]
- [16]. Dossier statistico sull'immigrazione2015, [http://www.dossierimmigrazione.it/docnews/file/Scheda%20Dossier%202015\(4\).pdf](http://www.dossierimmigrazione.it/docnews/file/Scheda%20Dossier%202015(4).pdf) [accessed 20 march 2018]