



Échinote

numéro 3

AVRIL 2014

.....
Plan de surveillance
à l'abattoir
de la contamination
des viscères d'animaux 2
.....

L'expansion
d'*E. multilocularis*
en France expliquée
par la génétique 4
.....

Numéro réalisé par

l'Anses - laboratoire de la rage
et de la faune sauvage de Nancy

Laboratoire national de référence
Echinococcus spp.

Technopôle agricole et vétérinaire
CS 40009
54220 Malzéville cedex

Rédaction
franck.boue@anses.fr
gerald.umhang@anses.fr

Documentation
marie-jose.duchene@anses.fr

Retrouvez-nous sur
www.anses.fr

Dans ce troisième numéro, les résultats du plan de surveillance national d'*E. granulosus* à l'abattoir vous seront présentés ainsi que l'étude de l'expansion d'*E. multilocularis* en France expliquée par la génétique. Mais avant tout, nous avons souhaité faire, dans cet ÉCHINOTE nouvelle version, un bref historique sur la présence d'*E. granulosus* en France.

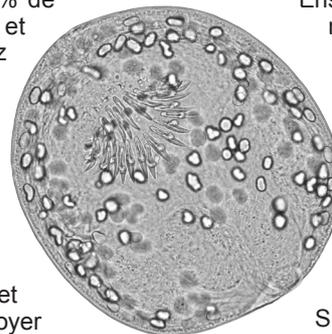
Dans les années 1960-1970 la prévalence dans l'Ouest était estimée à 2,4 % chez les bovins des abattoirs de Rennes et d'Angers et une prévalence inférieure à 1 % avait alors été établie en région parisienne ainsi que dans la région toulousaine. Un foyer se distinguait dans les Pyrénées avec plus de 15 % de cas, mais aussi en Corse avec plus de 20 % de bovins et porcins infectés et une prévalence de 46 % chez les ovins.

A partir des années 1980, trois régions présentaient des prévalences à l'abattoir atteignant parfois 20 % d'animaux infectés. Il s'agissait des foyers situés dans le Sud-Est, dans les Pyrénées et du foyer insulaire Corse. Le foyer du Sud-Est a pu être détaillé au niveau des ovins en 1984-1986 grâce à une étude du groupement d'intérêt économique ovin sur la région Rhône-Alpes. Les prévalences étaient faibles (<1 %) pour l'Ain et la Haute-Savoie, mais atteignaient jusqu'à 5 % dans l'Isère et la Drôme et plus de 10 % en Savoie, dans les Hautes-Alpes, les Alpes-de-Haute-Provence, le Vaucluse et les Bouches-du-Rhône.

Ces données d'infections animales couplées à l'augmentation des cas humains d'hydatidose depuis une dizaine d'années ont conduit les services vétérinaires de la Direction générale de l'alimentation (DGAL) à organiser une enquête nationale

en abattoir en 1989. Des prévalences nationales ont alors été estimées à 0,13 % chez les bovins adultes, 0,42 % chez les ovins-caprins et 0,009 % chez les porcins. Le parasite avait été observé dans le Nord et le Grand Ouest, mais le Sud constituait la zone la plus infectée dont émergeaient plus particulièrement les deux foyers du Sud-Est et des Pyrénées. Si l'hydatidose ovine s'expliquait par les pratiques liées à cet élevage, il était difficile de comprendre l'existence sur tout le territoire d'infestation bovine. En ce qui concerne la Corse, il est à noter que seuls des résultats partiels avaient été obtenus alors que la région était considérée à l'époque comme un des territoires d'Europe les plus infestés.

Ensuite, mise à part une enquête régionale en 1998 en Midi-Pyrénées chez les bovins, plus aucune donnée n'a été obtenue jusqu'aux études récentes du Laboratoire national de référence (LNR). L'actualisation de la prévalence de l'hydatidose a été menée en 2009-2010 en Corse et dans dix départements du Sud.



Cette fois, en plus de l'observation macroscopique des kystes, pour la première fois en France une caractérisation moléculaire a été réalisée, permettant de mieux comprendre l'épidémiologie actuelle du parasite en France. Les niveaux d'infestation observés à l'abattoir ont été estimés dans le Sud à 4 ovins pour 100 000, 3 bovins pour 100 000 (*E. granulosus sensu stricto* G1-G2-G3) et à 5,4 % chez les porcs en Corse (*E. canadensis* G6/7).

Ces résultats ont permis au LNR avec l'aide de la DGAL, de mettre en place un plan national de surveillance présenté dans ce numéro d'ÉCHINOTE.

Plan de surveillance à l'abattoir de la contamination des viscères d'animaux de boucherie par *E. granulosus sensu lato*

Le diagnostic d'*E. granulosus* chez les animaux de rente en France est facilité par la réalisation au niveau des abattoirs d'une inspection sanitaire des carcasses. Le plan de surveillance mis en place en 2012 en étroite collaboration avec la DGAI, a sollicité l'ensemble des abattoirs (DOM inclus) pour la collecte d'échantillons. Tous les animaux de rente (bovins, ovins, porcins, caprins et équins) qui sont des hôtes intermédiaires potentiels, ont été échantillonnés et tous les kystes suspects ont été prélevés et envoyés au LNR pour analyse.

De janvier à décembre, 94 abattoirs répartis dans 57 départements ont fait parvenir au moins un kyste permettant la collecte au total de 1237 échantillons. Du fait de la saisie possible de plusieurs organes (généralement foie et poumons), l'échantillonnage correspond à un total de 1196 animaux toutes espèces confondues, provenant principalement de bovins (71 %), mais aussi d'ovins (20 %), de porcins (8 %), et dans une moindre mesure de caprins (< 1 %).

14 % des échantillons étaient liés à une infection par *E. granulosus s.l.*

Si le nombre total de prélèvements correspond à celui attendu, la répartition départementale montre une grande disparité de collecte puisque 61 % des échantillons ne proviennent que de 10 départements (Allier, Hautes-Alpes, Côtes d'Armor, Loire, Maine-et-Loire, Nord, Saône-et-Loire, Sarthe, Vendée, Haute-Corse) qui ne drainent que 26 % du cheptel abattu à l'abattoir. De plus, si on analyse l'échantillonnage par espèce, la répartition géographique de l'échantillonnage sur bovins est relativement comparable à celle des effectifs abattus, ce qui n'est absolument pas le cas pour les ovins, puisque de nombreux départements avec des effectifs abattus importants n'ont transmis aucun échantillon. Pour les porcins, seuls 4 départements continentaux ont transmis des prélèvements ; les deux départements de Corse constituant 87,5 % des effectifs échantillonnés pour cette espèce.

Parmi les 1237 prélèvements collectés, les kystes prélevés sur les foies sont très largement majoritaires avec 92,6 % des échantillons, alors que les kystes pulmonaires ne représentent que 6,9 %. Les 0,5 % restant ayant des localisations

diverses (diaphragme, muscle,...). Chacun de ces kystes a été disséqué pour identifier dans un premier temps la présence ou non d'une double membrane hydatique. Ensuite une observation macroscopique du liquide kystique a été réalisée pour la mise en évidence de la présence de protoscolex qui témoignent de la fertilité du kyste hydatique et attestent que l'hôte intermédiaire infesté participe au cycle

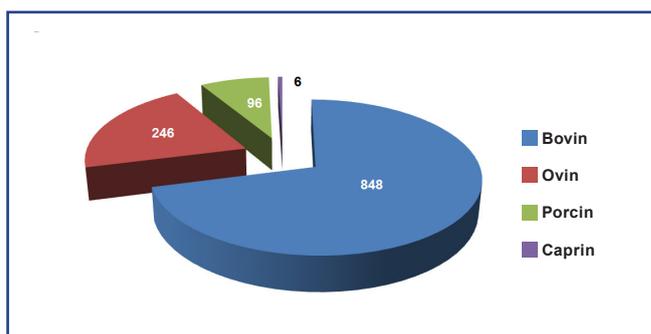


Figure 1. Répartition par espèce des échantillons collectés

de vie du parasite. Dans un deuxième temps une extraction d'ADN sur la membrane kystique a été effectuée sur chaque échantillon, pour une analyse moléculaire par PCR et séquençage afin d'identifier l'espèce parasitaire et le génotype dès lors qu'il s'agissait d'*E. granulosus*. Au total 182 kystes, soit 14 % des échantillons correspondaient à des infections par *E. granulosus*. Les analyses moléculaires ont permis d'identifier trois espèces du complexe *E. granulosus sensu lato* : *Echinococcus granulosus sensu stricto*, *Echinococcus ortleppi* et *Echinococcus canadensis*.

L'espèce *E. granulosus sensu stricto* (génotypes G1, G2, G3), a un cycle parasitaire faisant intervenir le chien comme hôte définitif et principalement l'ovine comme hôte intermédiaire. Cette espèce a été mise en évidence chez les ovins, bovins et porcins avec une prévalence nationale en abattoir respectivement de 15,3, 8,3 et 0,04 cas pour 1 million de têtes abattues. La majeure partie des cas ovins ont été identifiés dans le sud-est, avec près de 74,2 % des échantillons qui étaient originaires de l'abattoir de Sisteron (Alpes-de-Haute-Provence) et 28,8 % de celui de Carpentras (Vaucluse), alors que l'ensemble des cas bovins se répartit sur toute la France. Plus de la moitié des ovins infectés (57,6 %) présentaient une

Tableau 1. Pourcentage de détection par espèce animale d'*E. granulosus s.l.* au niveau des abattoirs

Espèce	Nb d'animaux échantillonnés	Nb de cas d' <i>E. ortleppi</i>	Nb de cas d' <i>E. granulosus s.s.</i>	Nb de cas d' <i>E. canadensis</i>	Nb de cas d' <i>E. granulosus s.l.</i> (%)
Bovin	848	7	40	-	47 (5,5 %)
Ovin	246	-	66	-	66 (26,8 %)
Porcin	96	-	1	68	69 (71,9 %)
Total	1190	7	107	68	182 (14,0 %)

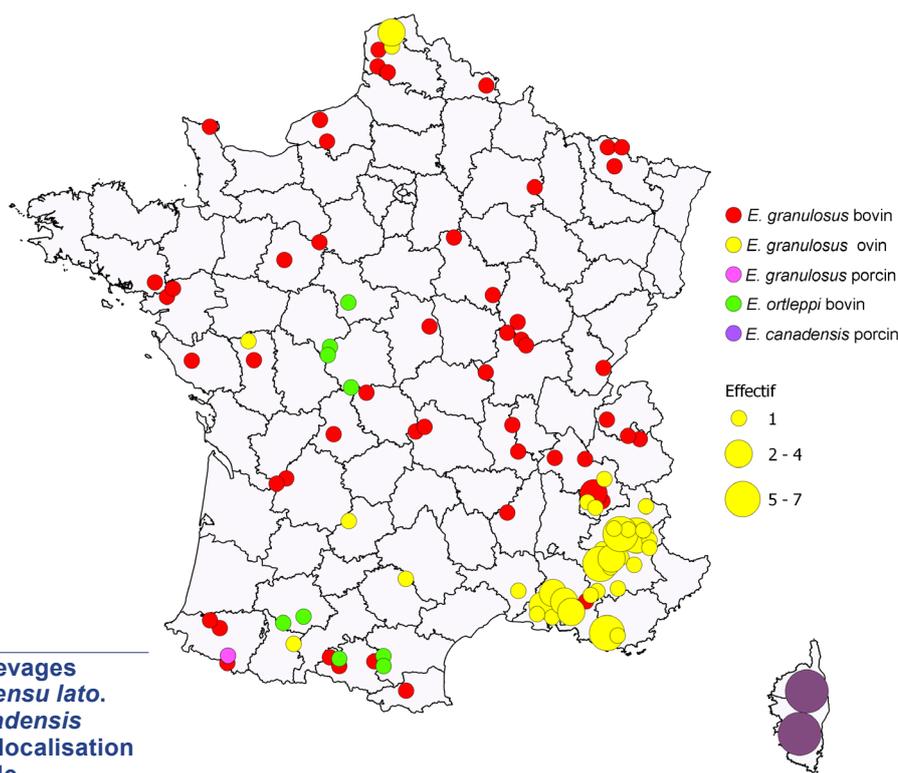


Figure 2. Localisation des élevages infectés par *E. granulosus sensu lato*. Concernant les cas d'*E. canadensis* porcins en Corse, seule une localisation départementale a été possible.

double infection foie/poumons, et des kystes fertiles pour 42,4 % d'entre eux. Pour les bovins, l'infection concernait principalement le foie (82,5 %) avec aucune double infection. En revanche les bovins présentent, comme attendu, un taux de fertilité extrêmement faible de seulement 5 %. Le seul cas d'*E. granulosus sensu stricto* identifié chez un porc, correspondait au génotype G1, et l'analyse de l'échantillon a démontré qu'il n'était pas fertile.

L'espèce *E. ortleppi* (génotype G5), maintenue grâce à un cycle entre le chien et le bovin (exclusivement), a été identifiée chez 7 bovins pour la première fois en France. Une prévalence nationale en abattoir de 1 cas pour 1 million de bovins a été estimée, mais qui localement dans l'Ariège et le Loir-et-Cher atteint 20 cas pour 100 000. Les kystes ont été observés uniquement sur les poumons, et ils présentent un taux de fertilité élevé de 85,7 %. Les 7 bovins positifs à *E. ortleppi* peuvent être regroupés en deux foyers distincts, l'un dans le Centre de la France, l'autre au niveau des Pyrénées. À noter qu'à deux reprises la distance séparant les élevages de deux animaux positifs était très faible (2 et 10 km).

L'espèce *E. canadensis* (génotype G6/7), associée cette fois à un cycle chien-porc, n'a été identifiée que sur des échantillons de porcs originaires des deux départements de Corse avec une prévalence régionale de 0,9 %. Il s'agit d'une localisation hépatique pour l'ensemble des cas du génotype G6/7. Le taux de fertilité des kystes enregistré est de 47,1 % à l'échelle de la région. La donnée concernant l'élevage d'origine n'étant pas toujours disponible, les localisations précises des élevages contaminés n'ont pas pu être cartographiées.

Conclusion

L'ancienneté de la dernière étude en abattoir à l'échelle nationale justifiait l'organisation d'un plan national de surveillance afin d'actualiser les zones et les niveaux de présence du parasite et d'objectiver le risque zoonotique actuel lié à ce parasite, longtemps négligé. Le plan de surveillance résumé ici, constitue une première à l'échelle européenne de par son envergure nationale et en raison de la caractérisation moléculaire systématique des échinocoques.

Le plan de surveillance nationale a permis de confirmer que le parasite *E. granulosus sensu lato* circule toujours en France. La répartition des lieux d'élevage des animaux contaminés montre que l'ensemble du territoire français est concerné. De plus, les kystes hydatiques correspondent souvent à des kystes fertiles, ce qui indique un cycle parasitaire actif dans l'élevage d'origine de l'animal. Dans le cas d'*E. granulosus* s.s., la distribution spatiale des cas ovins, très majoritairement groupés dans le Sud-Est, ne corrèle pas avec la distribution spatiale des cas bovins et ne permet donc pas d'expliquer totalement le maintien des cycles parasitaires chiens/animaux de rente en France. En conclusion, l'acquisition de toutes ces données sur la présence d'*E. granulosus* s.l. chez l'animal en France interpelle sur le risque zoonotique associé. Si par le passé les cas humains étaient considérés comme importés et non autochtones, la présence toujours actuelle de foyers chez les animaux de rente et leur large répartition spatiale soulèvent la question de l'existence probable de cas d'hydatidose humaine autochtones en France.

L'expansion d'*E. multilocularis* en France expliquée par la génétique

Une augmentation de l'aire de répartition connue d'*E. multilocularis* en Europe a été constatée durant les quinze dernières années, s'étendant notamment du nord de l'Italie en passant par la Russie et jusqu'en Suède et Norvège. Lors d'une large campagne de surveillance chez le renard entre 2005 et 2010 en France, le parasite a été retrouvé dans 35 des 42 départements investigués dont 25 pour lesquels aucune donnée de présence antérieure n'existait. Ainsi, l'identification du parasite non seulement en dehors de la zone historique d'endémie de l'est de la France mais aussi en région parisienne et jusque dans l'Ille-et-Vilaine démontre une expansion majeure vers l'Ouest. En l'absence de recherche antérieure dans la plupart de ces départements se pose la question de la présence antérieure possible du parasite.

Afin de comprendre cette expansion nouvellement observée, une analyse de la diversité génétique du parasite par le microsatellite EmsB a été réalisée dans cinq régions : le foyer historique de l'Est, la Lorraine, la Champagne-Ardenne, le Nord et l'Ouest. Les parasites adultes ont été isolés par les laboratoires vétérinaires départementaux lors de l'analyse de première intention puis transmis au LNR pour confirmation dans le cadre du programme de surveillance.

385 vers provenant de 128 renards ont ainsi été analysés et utilisés pour l'analyse phylogénétique. Au total, 22 profils microsatellites différents ont été identifiés, dont cinq identiques à ceux décrits précédemment en Europe. Deux profils sont dominants (33,9 % des vers) et présents dans les quatre des cinq régions (à l'exception d'un des deux dans l'Ouest).

Ainsi la colonisation du Nord et de l'Ouest remonterait à plusieurs décennies

La très forte diversité génétique observée dans l'Est et le plus grand nombre de profils ont confirmé le statut historique d'endémie. En revanche, dès lors qu'on s'éloigne vers l'Ouest, la diversité génétique et le nombre de profils diminuent progressivement même si les régions partagent plus ou moins des profils communs.

Cela est caractéristique du système de transmission île-continent décrit pour *E. multilocularis* au niveau européen, où le parasite a progressivement colonisé sous différents profils microsatellites d'autres territoires à partir du foyer historique basé autour des Alpes. Les 10 profils observés en Lorraine sont communs avec ceux de l'Est, alors que le Nord et la Champagne-Ardenne ne se partagent que la moitié de leurs profils. La présence à la fois dans le Nord et dans l'Ouest d'un profil dominant témoigne d'un effet fondateur reflétant des colonisations récentes et contemporaines l'une de l'autre en raison d'une diversité génétique similaire.

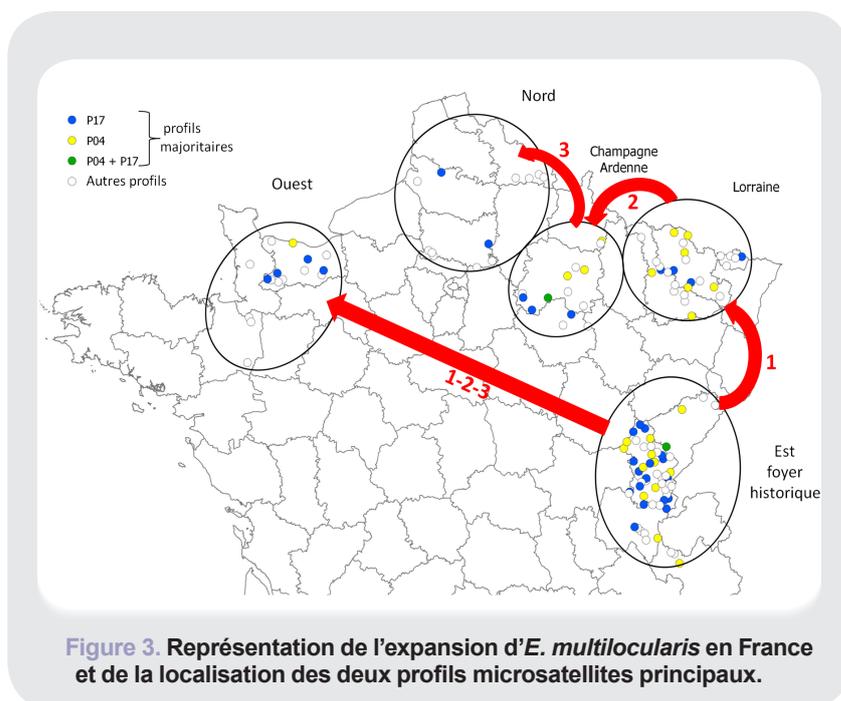


Figure 3. Représentation de l'expansion d'*E. multilocularis* en France et de la localisation des deux profils microsatellites principaux.

Toutefois bien que géographiquement proches, ces deux régions ne semblent pas liées génétiquement entre elles (1 seul profil commun sur 5), ce qui renforce l'hypothèse d'une colonisation par deux processus différents. Ainsi un scénario spatio-temporel de l'expansion d'*E. multilocularis* en France peut être proposé. A partir de l'Est, le parasite a d'abord colonisé la Lorraine puis la Champagne-Ardenne et finalement le Nord (nombreux profils communs entre ces régions). En parallèle, une deuxième expansion contemporaine de la première s'est réalisée à partir de l'Est pour coloniser l'Ouest.

L'échelle de temps associé à la colonisation par *E. multilocularis* est liée à la migration de proche en proche de renards et a fait l'objet d'une estimation d'environ 3 km/an par le biais de modèles mathématiques. Ainsi la colonisation par le parasite des régions du Nord et de l'Ouest à partir de l'Est distant de plusieurs centaines de kilomètres remonterait à plusieurs décennies. La découverte récente du parasite dans ces régions doit donc être attribuée à l'absence de recherche antérieure. En effet cette expansion vers l'Ouest était précédemment suspectée par l'apparition de cas humains en dehors des zones d'endémies connues mais la longue période asymptomatique (5-15 ans) ne permettait pas d'attester avec certitude ce phénomène.

Pour plus de détails : Umhang, G., et al. Using the genetics of *Echinococcus multilocularis* to trace the history of expansion from an endemic area. Infect. Genet. Evol. (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2014.01.018>