



Rapport annuel d'activité, année 2023

Laboratoire National de Référence

***Echinococcus* spp.**

Nom du responsable du LNR

Gérald UMHANG

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en œuvre

Laboratoire de la rage et de la faune sauvage de Nancy

Nom de l'unité où l'activité du LNR est mise en œuvre

INTERFAS

Les faits marquants de l'année

Mise en place d'une méthode standardisée de détection d'*Echinococcus* spp. et de *Toxoplasma gondii* dans les végétaux et fruits à baies en collaboration avec l'Université de Reims Champagne Ardenne (URCA). Cela se situe dans le contexte récent du développement de la thématique de la sécurité sanitaire des aliments au sein du LNR qui s'illustre notamment par le début en octobre dernier d'une thèse en collaboration avec l'URCA sur la contamination des aliments par les parasites *Echinococcus* spp. et *Toxoplasma gondii* (CALIPAR). Il s'agira notamment de développer une méthode pour évaluer la viabilité des œufs d'*Echinococcus* spp., d'étudier la dispersion des œufs sur le sol et les légumes ainsi que leur survie au fil des mois dans le contexte d'un potager puis enfin évaluer l'efficacité des méthodes de lavage domestique et industriel des salades. Fin de l'enquête sur la présence d'*E. multilocularis* chez le renard en Auvergne (2019-2023) en collaboration avec la Fédération Nationale des Chasseurs (FNC) et les Fédérations Départementales des Chasseurs (FDC). Le parasite a été détecté dans 7 des 8 départements concernés dont 4 pour la première fois (Aveyron, Corrèze, Haute-Loire et Lozère). Dans la Creuse, une prévalence très forte (46,7 %) similaire à celles retrouvées uniquement en France dans le foyer historique de l'est a été mise en évidence posant question sur le risque de contamination humaine. La collecte des renards a également servi à réaliser une comparaison de deux méthodes de diagnostic moléculaire à partir de fèces avec la méthode de référence par observation morphologique des vers au niveau intestinal. Dans le cadre de la collaboration depuis 10 ans avec le laboratoire LP3M de l'Université de Monastir, deux thèses d'université en Tunisie ont débuté en 2023 afin de mieux comprendre la contamination environnementale et alimentaire par *E. granulosus* sensu stricto dans le pays. Ainsi, des collectes de fèces de chiens à proximité des potagers ainsi que de sol et différents aliments (salades, fraises, menthe, persil) de ces potagers ont été réalisées dans cinq régions différentes de la Tunisie. Les analyses ont été réalisées au LNR par les deux étudiantes afin de profiter de l'expertise et des méthodes disponibles. Après des résultats très intéressants permettant de disposer d'un aperçu global de la situation, la collaboration se poursuit afin de cibler des points d'intérêts plus précis.

Abréviations

CALIPAR : thèse sur la Contamination des ALiments par les PARasites *Echinococcus* spp. et *Toxoplasma gondii*

FDC : Fédération Départementale des Chasseurs

FNC : Fédération Nationale des Chasseurs

LP3M : Laboratoire de Parasitologie Mycologie Médicale et Moléculaire

OFB : Office Français de la Biodiversité

OHEJP Meme : European Joint Project One Health Multi-centre study on *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus* s.l. in Europe: Development and harmonisation of diagnostic methods in the food chain

URCA : Université de Reims Champagne-Ardenne

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Sans objet

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre

1 méthode(s)

Intitulé et brève description de chacune de ces méthodes

Développement et validation d'une méthode pour la détection de l'ADN d'*Echinococcus* spp. et autres *Taeniidae* sur matrices salade et fruits à baies. Il s'agit de pouvoir laver 300 g de feuilles de salades ou 100-300 g de fruits à baies afin d'isoler les œufs et oocystes parasites après

filtration pour détection par des PCR temps réel ciblant les parasites d'intérêts après extraction d'ADN. La limite de détection de la méthode est de 2 œufs (8/8) d'*E. multilocularis* pour 300 g de salades alors qu'un œuf est détecté dans 7 cas sur 8.

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année

0 méthode(s)

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR.

3. Activités d'analyse

3.1 Analyses officielles de première intention

Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

Sans objet

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année

0 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

Sans objet

3.3 Autres analyses

Nombre estimé d'autres analyses (non officielles) réalisées dans l'année en lien avec le mandat de LNR

2641 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

Le nombre d'analyses est similaire aux années précédentes, hormis l'année dernière avec un volume supérieur lié aux études menées dans le cadre du projet EJPOH Meme. Les analyses morphologiques représentent depuis plusieurs années une très faible proportion en comparaison des analyses moléculaires. Depuis plusieurs années, le volume des analyses des matrices environnementales et alimentaires augmente illustrant l'importance croissante de cette thématique au sein du LNR.

- Diagnostic d'*E. multilocularis* à partir d'intestins de renards : 65 intestins analysés dont 12 positifs dans le cadre d'une enquête en collaboration avec la FNC et les FDC de huit départements sur la présence du parasite dans le foyer historique auvergnat (EmAUV), après 40 ans d'absence de données.

- Diagnostic d'*E. multilocularis* à partir d'intestins de chats forestiers : 25 intestins analysés et aucun positif dans le cadre d'une collaboration avec l'OFB pour la description des helminthes gastro-intestinaux du chat forestier en France (Helm-wildcat).

- Détection de l'ADN d'*E. multilocularis* à partir de fèces de renards : 103 fèces analysées dont 13 positives dans le cadre d'une enquête en collaboration avec la FNC et les FDC de huit départements sur la présence du parasite dans le foyer historique auvergnat (EmAUV), après 40 ans d'absence de données.

- Détection de l'ADN d'*E. granulosus* sensu lato à partir de fèces de chiens : 234 fèces analysées provenant de Tunisie et d'Italie dans le cadre du projet Echino-Safe-Med dont 2 positives pour *E. granulosus* sensu stricto 22 fèces de chiens de bergers analysées dont aucune positive dans le

cadre d'une étude collaborative avec le CNR sur les cas d'échinococcose kystique autochtones. 17 fèces de chiens positives pour *E. granulosus* sensu stricto parmi les 304 collectées autour de potagers dans cinq régions de Tunisie dans le cadre de deux thèses d'Université menées à Monastir. 6 fèces de chiens dont une positive pour *E. multilocularis* collectées dans le sud-est de la France dans le cadre de l'étude menée avec l'OFB sur les fèces de loups

- Détection de l'ADN d'*E. granulosus* sensu lato et d'*E. multilocularis* à partir de fèces de loups dans le cadre d'une collaboration avec l'OFB sur la présence des deux parasites en France : parmi les 217 fèces analysées, 2 positives pour *E. multilocularis* et 3 pour *E. granulosus* sensu stricto.

- Détection de l'ADN d'*E. granulosus* sensu lato et d'*E. multilocularis* à partir de lésions suspectes : 7 échantillons de bovins de Tanzanie dont 6 positifs pour *E. ortleppi* et 1 positif pour *E. granulosus* sensu stricto 2 échantillons de liquide kystique de chiens, tous deux positifs pour *E. multilocularis* 4 échantillons reçus pour diagnostic et tous négatifs provenant de cheval (n=2), cerf et daim.

- Génotypage d'*E. granulosus* sensu stricto par analyse microsatellites : 691 échantillons analysés dans le cadre du projet Echino-Safe-Med.

- Détection de l'ADN d'*E. granulosus* sensu stricto à partir de matrices environnementales : 344 échantillons de sol collectées dans des potagers dans cinq régions de Tunisie dont 1 positif dans le cadre de deux thèses d'Université menées à Monastir.

- Détection de l'ADN d'*E. multilocularis* et d'*E. granulosus* sensu lato à partir de matrices alimentaires : 25 lot de myrtilles collectées au Pakistan dans la cadre du projet OHEJP Meme dont 13 positifs pour *E. multilocularis* et 3 positifs pour *E. granulosus* sensu stricto 55 lots de myrtilles sauvages collectés en France dont 15 positifs dans le cadre de la thèse CALIPAR

Dans le cadre de deux thèses d'Université menées à Monastir plusieurs matrices provenant de cinq régions de Tunisie ont été analysées :

- 41 lots de fraises dont 15 positifs pour *E. granulosus* sensu stricto 5 lots de menthe dont 1 positif pour *E. granulosus* sensu stricto

- 176 lots de persil dont 39 positifs pour *E. granulosus* sensu stricto

- 63 lots de fraises dont 9 positifs pour *E. granulosus* sensu stricto

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année

Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

Participation à deux EIL du LRUE Parasites (ISS, Rome) :

- pour la détection du stade adulte d'*Echinococcus* spp. dans la muqueuse intestinale de l'hôte définitif ;

- pour l'identification moléculaire de l'espèce d'*E. multilocularis* et *E. granulosus* sensu stricto.

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Non

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Oui

Types de matériaux de référence produits (MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

Production d'un lot de sentinelle d'extraction tissus à partir de broyat de matériel larvaire d'*E. multilocularis*.

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence

Broyat de matériel larvaire d'*E. multilocularis*

Nombre de lots produits dans l'année

1

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Les lots de sentinelle d'extraction tissus et fèces sont produits tous les 3 à 5 ans selon les besoins du LNR.

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau

Non

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Non

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé ...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente

0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes : CES, GT ou externe : EFSA ...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor ...).

Le responsable du LNR a été auditionné par le groupe de travail de la saisine relative à l'évaluation des impacts sur la santé publique de la dynamique des populations de renards (2022-SA-0049).

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

0 dossier(s)

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

Réponses à environ une dizaine d'appels téléphoniques ou contacts par email de particuliers à des fins d'information et de prévention pour une estimation d'environ 4 heures sur l'année.

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Non

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILA

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Non

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires

Actions mises en œuvre

Sans objet

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

0 journée(s)

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

0 session(s) de formation

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

Sans objet

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILV

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILT

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Non

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Non

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Non

8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

Acronyme	Titre	Statut
ECHINO-SAFE-MED	ECHINO-SAFE-MED (New sustainable tools and innovative actions to control cystic ECHINOcoccosis in sheep farms in the MEDiterranean area: improvement of diagnosis and SAFEty in response to climatic changes) auprès du comité scientifique PRIMA (Partnership for Research and Innovation in the Mediterranean Area) en collaboration avec l'Italie, la Suisse, la Grèce, la Tunisie, l'Algérie et l'Australie	en cours
EmAUV	Enquête sur la présence d' <i>E. multilocularis</i> dans le massif central	terminé
EmEUR	Etude de la diversité génétique d' <i>E. multilocularis</i> en Europe par le microsatellite EmsB et par séquençage du génome mitochondrial	en cours
EmEurAsia	Etude de la présence et interactions des souches européennes et asiatiques d' <i>E. multilocularis</i>	en cours
EmS-E	Enquête sur la présence d' <i>E. multilocularis</i> dans le sud-est de la France	en cours
Helm-Lynx	Etude des helminthes du lynx en France	en cours
EmNed	Collaboration avec le RIVM pour une étude dans la province du Limbourg au sud-est du pays sur la contamination des salades et baies par <i>E. multilocularis</i> ainsi que l'actualisation de la prévalence vulpine	en cours
CALIPAR	Thèse sur la contamination des aliments par les parasites <i>Echinococcus</i> spp. et <i>T. gondii</i>	en cours
Helm-wildcat	Etude des helminthes du chat forestier en France	en cours

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du CNR

CNR Echinococcoses (Echinococcoses alvéolaire et kystique)

Organisme porteur du CNR

CHRU de Besançon

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Oui

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Réflexion sur les possibilités de la mise en place d'une surveillance d'*E. multilocularis* chez le renard en France

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche

Rédaction d'articles sur les études en collaboration

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant

Sans objet

Transfert de matériel biologique

Oui

10. Relations avec le LRUE

Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR

Non

Existence d'un LRUE dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du mandat de LRUE

Parasites (*Trichinella*, *Echinococcus*, *Anisakis*, *Toxoplasma*), ISS, Rome (IT)

Le LNR a participé au Workshop organisé par le LRUE

Oui

Le LNR a participé à une/des formation(s) organisée(s) par le LRUE

Non

Raison pour laquelle le LNR n'a pas participé

Pas de formation pertinente pour le LNR

Questions posées au LRUE par le LNR dans l'année

Sans objet

Points particuliers ou d'actualité sur l'année, à signaler

Sans objet

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international

Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences

Aucun

ANNEXES

Liste des publications et communications 2023 dans le cadre du mandat de LNR *Echinococcus* spp.

Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont sous presse ou publiées.

Publications :

- Benchikh El Fegoun, MC., G. Umhang, F. Boué, K. Kohil, B. Babelhadj, S. Rabhi, R. Slimani, N. Messaoudi, A. Aguezlane, et A. Zouikri. 2023. "Prélèvement des kystes hydatiques par la méthode FTA Card pour la caractérisation moléculaire d'*Echinococcus granulosus sensu lato* en Algérie. Résultats préliminaires". *Médecine Tropicale et Santé Internationale* 3 (3).
<https://doi.org/10.48327/mtsi.v3i3.2023.416>
- Knapp, J., S. Lallemand, F. Monnier, S. Felix, S. Courquet, G. Umhang, et L. Millon. 2023. "Real-time multiplex PCR for human echinococcosis and differential diagnosis." *Parasite* 30: 3.
<https://doi.org/10.1051/parasite/2023003>.
- Miljević, M., M. Rajičić, G. Umhang, B. Bajić, O. Bjelić Čabrilo, I. Budinski, et J. Blagojević. 2023. "Cryptic species *Hydatigera kamiyai* and other taeniid metacestodes in the populations of small mammals in Serbia." *Parasites & Vectors* 16 (1): 250. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05879-x>.
- Santa, MA., G. Umhang, C. Klein, D. M. Grant, K. E. Ruckstuhl, M. Musiani, J. S. Gilleard, et A. Massolo. 2023. "It's a small world for parasites: evidence supporting the North American invasion of European *Echinococcus multilocularis*." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 290 (1994): 20230128. <https://doi.org/10.1098/rspb.2023.0128>.
- Umhang G., C. Duchamp, J.-M. Boucher, C. Caillot, L. Legras, J.-M. Demerson, J. Lucas, D. Gauthier, et F. Boué. 2023. "Gray wolves as sentinels for the presence of *Echinococcus* spp. and other gastrointestinal parasites in France." *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 22: 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2023.09.007>.

Communications nationales :

- Umhang, G., F. Bastien, A. Cartet, H. Ahmad, K. van der Ark, R. Berg, P. Bonelli, et al... et F. Boué. 2023. "Contamination par *Echinococcus multilocularis* et *Echinococcus granulosus sensu lato* des salades et des fruits à baies en Europe et au-delà." Congrès de la Société Française de Parasitologie, Marrakech, Maroc, 24-27 mai 2023.
- Umhang, G. 2022. "Surveillance d'*Echinococcus granulosus sensu lato* chez l'animal en France." 1er Colloque « Echinococcose Kystique – Méditerranée », 13 septembre 2023.

Communications internationales :

- Umhang, G., J. Karamon, P. Maksimov, et A. Casulli, behalf of the MEmE project (One Health EJP). 2023. "Multicentre studies from Meme project for the detection of *Echinococcus* spp. in different matrices." XXIX World Congress on Echinococcosis, Bishkek, Kirghizstan, 28-30 August 2023.
- Peytavin de Garam, C., F. Boué, Y. Blanchard, J. Knapp, et G. Umhang. 2023. "Genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu stricto* among livestock, wildlife and humans in France." XXIX World Congress on Echinococcosis, Bishkek, Kirghizstan, 28-30 August 2023.

Conférences sur invitations :

Umhang, G. 2023. "From carnivores feces to human cases: environmental and foodborne contamination by *Echinococcus* eggs" XXIX World Congress on Echinococcosis, Bishkek, Kirghizstan, 28-30 August 2023.