

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2020

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

*Melle AOUIDJ Manel*

*Melle SADAoui Lyakout*

*Thème*

**Le rôle des inhibiteurs de protéases dans la réponse  
immune vis-vis du métacestode *d'Echinococcus  
granulosus*.**

Soutenu le: 13 /08/2021

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M.LAMINE Salim</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. BOUTELDJA Razika</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>M.LIBDIRI Farid</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2020/2021

## **Remerciements**

*Avant toute chose, nous remercions le Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.*

*Nous tenons d'abord à remercier toute l'équipe pédagogique de l'université Akli Mohand Oulhadj.*

*C'est avec un grand honneur que nous remercions notre promotrice, **Madame BOUTELDJA Razika**, chargée de cours à l'université de l'Université Akli Mohand Oulhadj Bouira pour nous avoir proposé ce sujet.*

*Et pour nous avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail, Pour son esprit scientifique, ses précieux conseils et ses encouragements.*

*Soyez assuré de tous nos respects et de notre profonde gratitude.*

*Nous remercions **M.LAMINE Salim** d'avoir accepté de présider notre jury*

*Nous remercions également **M. LIBDIRI Farid** qui a bien voulu examiner notre travail.*

*Nous sommes reconnaissantes envers toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire : nos familles, nos amis ... pour leur encouragement et leur soutien.*

## *Dédicace*

*Avant toute je remerci ALLAH le tout puissante de l'avoir donné la santé ,la patience et le courage pour réaliser ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail à mon père qui m'encourage toujours d'étudier. A ma mère qui m'a toute appris dans la vie, merci pour votre amour et votre encouragement, merci de m'avoir toujours donné le meilleur de vous-même pour me voir réussir. Que dieux vous protège et vous garde à nos côtés.*

*À mes très chères frères : khaled,mustapha, oussama*

*À ma sœur khadidja et son marie Rachide*

*À mes très chères sœurs : bouchra et salsabile*

*À mes petits anges :Aya,Younes ,Wassim, Nazime, Abire.*

*À mon encadreur Mme Boutelja Razika que j'admire beaucoup*

## Dédicace

*A ma chère mère et mon cher père;*

*Vous avez été pour moi tout au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cesse ni diminué. Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce travail, pour tous les engagements et le réconfort qui n'ont cessé de me servir de guide, je vous dédie ce modeste travail en témoignage de mon grand amour que je n'ai su exprimer avec les mots. Puisse dieu vous accorder santé et longue vie, afin que je puisse vous combler à mon tour.*

*A mes très chers frères : Abdellhak, Ramzi et Ayoub.*

*A Toutes mes copines : Manel et Siham.*

*A mes cousins : Warda et Achwak.*

*A mon binôme Lyakout et sa famille.*

*A tous mes amis, camarades et collègues qui m'ont soutenu durant mes études.*

*A tous ceux qui m'ont aidé de loin ou de près pour contribuer  
Ce travail.*

**Manel**

# **Sommaire**

# SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

INTRODUCTION

## Chapitre I : Les inhibiteurs des protéases

<b>I.1.Généralités</b> .....	02
<b>I. 1.1.Les protéases</b> .....	02
<b>I. 1.2.Les inhibiteurs des protéases</b> .....	03
I.1.2.1.Les inhibiteurs des sérine-protéase (serpines).....	03
I.1.3.Classification et nomenclature.....	03
<b>I.1.4.Caractéristiques structurales des serpines</b> .....	05
<b>I.1.5.Différentes conformations des serpines</b> .....	05
a. La forme native.....	05
b. La forme latente.....	05
c. La forme clivée.....	06
b. La forme $\delta$ .....	06
e. La forme polymérisée.....	06
<b>II.1.6. Mécanisme d'inhibition des serpines</b> .....	07
II.1.6.1. Boucle d'inhibition Réactive Center Loop (RCL).....	07
II.1.6.2.inhibition de type « suicide ».....	07
II.1.6.3.Inhibition croisée ou « cross class inhibition ».....	08
<b>I.2.Intéraction potentielle entre les serpines de l'hôte et du pathogène</b> .....	09
I.2.1.Les serpines chez les vertébrés.....	09
I.2.2.Les serpines chez les invertébrés.....	09
I.2 .3.Les serpines chez les plantes.....	10
I.2.4.Serpines des virus.....	10
I.2.5.Les serpines des bactéries.....	10
I.2.6.Les serpines des parasites.....	11

## Chapitre II : L'Echinococcose kystique

<b>II.1.Définition</b> .....	12
------------------------------	----

<b>II.2. Origine de l'appellation.....</b>	12
<b>II .3. Classification du parasite <i>E. granulosus</i>.....</b>	13
<b>II.4. Epidémiologie de l'hydatidose.....</b>	13
II.4.1. Dans le monde.....	13
II.4.2. En Algérie.....	14
<b>II.5. Description des formes parasitaire.....</b>	15
II.5.1. Forme adulte.....	15
II.5.2. L'œuf.....	15
II.5.3. La Forme kystique.....	16
<b>II.6. Cycle parasitaire.....</b>	17
<b>II.7. Evolution d'<i>E. granulosus</i> au cours du cycle.....</b>	18
<b>II.8.Développement des kystes hydatiques.....</b>	19
<b>II.9. Localisation des kystes hydatiques.....</b>	20
<b>II.10.Les symptômes de l'hydatidose.....</b>	20
<b>II.11.Diagnostic de l'échinococcose kystique.....</b>	20
<b>II.12.Traitement de l'hydatidose.....</b>	21
<b>II.13. Le pouvoir antigénique de l'hydatide.....</b>	22
II .13.1. Les antigènes du liquide hydatique.....	22
II .13 .2. Autres antigenes du liquide hydatique.....	22
II .13.3.Les antigènes de protoscolex.....	23
<b>II.14.La réponse immunitaire de l'hôte.....</b>	23
II.14 .1.L'immunité innée.....	24
II.14.2. La réponse adaptative.....	24
<b>II.15. Prévention.....</b>	24

### **Chapitre III: Matériel et méthodes**

<b>III.1.Obtention du kyste hydatique.....</b>	26
<b>III.2.Examen de fertilité des liquides hydatique.....</b>	26
<b>III.3.Examen de la viabilité des protoscolex par coloration.....</b>	27
<b>III.4.Identification des protéines dans le liquide hydatique.....</b>	28
III.4.1.Extraction des protéines à partir de liquide hydatique.....	29
III.4.2.Dosage des protéines par la méthode de pearce 660nm.....	29

III.4.3.Électrophoreses sur gel de polyacrylamide de dodécyl sulfate de sodium (SDS-PAGE).....	29
III.4.4.La digestion enzymatique des protéines au niveau de gel.....	30
III.4.5.Extraction des fragment peptiques à partir du gel.....	30
III.4.6.Identification des protéines parLC-MS/MS ( liquid chromatographie – tandem massspectrometry ).....	31
III.4.7.Analyse bio-informatique.....	31
III.4.8.Détermination de la fonction moléculaire.....	33

## **Chapitre IV : Résultats et discussion**

### **1.Résultats**

1.1.Profile électrophorétique de l'extrait protéique du liquide hydatique.....	34
1.2.Identification des protéines de liquide hydatique.....	35
1.3.Identification de la fonction moléculaire des SERPINS identifiés dans le liquide hydatique.....	35

<b>2. Discussion.....</b>	<b>36</b>
---------------------------	-----------

<b>Conclusion.....</b>	<b>38</b>
------------------------	-----------

### **Référence bibliographique**

### **Résume**



## Liste des abréviations

°C	Degré Celsius
µg	Microgramme
ADN	Adénosine diphosphate
Ag	Antigène
CE	Cystic echinococcosis
DO	Densité Optique
DTT	Dithiothréitol
<i>E.granulosus</i>	<i>Echinococcus granulosus</i>
ELISA	Enzyme linked immuno sorbent assay
Emu	<i>Echinococcus multilocularis</i>
HD	Hôte définitif
HI	Hôte intermédiaire
IAA	Iodacétamide
INF $\gamma$	Interferon-gamma
IPNS	Institut national de santé publique
IRM	Imagerie par résonance magnétique
kDa	kilo-Dalton
LC-MS	Chromatographie Liquide –spectrométrie de masse
Ms	Mass Spectrometry(spectrométrie de masse)
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NO	Mono-Oxyde d'azote
OIE	World Organisation for Animal Health
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
Ppm	Partie par million

QTOF	Quadrupole Time Of Flight
RCL	Réactive Center Loop
Rpm	Rotation par minute
Serpin	Inhibiteur de la serine protéase
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
Th	T helper
VIH	Humain Immunodeficiency Virus
WHO	World Health Organisation

## Listes des figures

<b>Figure 01</b> : Structure de serpine.....	05
<b>Figure02</b> : Les différentes formes de serpines.....	06
<b>Figure 03</b> : La représentation de l'interaction serpine-protéase.....	08
<b>Figure 04</b> : Distribution de l'hydatidose à travers le monde.....	14
<b>Figure 05</b> : Schéma de la forme adulte d' <i>E. granulosus</i> .....	15
<b>Figure 06</b> : Schéma d'un œuf d' <i>E. granulosus</i> .....	16
<b>Figure 07</b> : La structure de kyste hydatique .....	17
<b>Figure08</b> : Cycle parasitaire de <i>l'Echinococcus granulosus</i> .....	18
<b>Figure 09</b> : Examens microscopique d'un protoscolex de kyste hydatique Fertile.....	26
<b>Figure 10</b> : Examens microscopique de kyste hydatique stérile.....	27
<b>Figure 11</b> : La démarche expérimentale.....	28
<b>Figure 12</b> : Fenêtre indiquant les différents paramètres du logiciel MASCOT.....	32
<b>Figure 13</b> : Fenêtre de la base de donné Uniprot.....	33
<b>Figure 14</b> : Gels SDS-PAGE de l'extrait protéique obtenu a partir de kyste hydatique pulmonaire d'origine ovine.....	34
<b>Figure 15</b> : Identification des fonction moléculaires.....	36

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : classification des protéases.....	02
<b>Tableau 2</b> : les clades des serpins.....	04
<b>Tableau 3</b> : classification d' <i>E.granulos</i> .....	13
<b>Tableau 4</b> : Les principaux antigènes identifiés et caractérisés à partir de la larve <i>d'Echinococcusgranulosus</i> .....	23
<b>Tableau 5</b> : Les données nécessaires utilisées dans le logiciel MASCOT.....	33
<b>Tableau 6</b> : Identification les protéines de parasite.....	35
<b>Tableau 7</b> : identification les protéines de l'hôte.....	35

## Introduction

L'échinococcose kystique (EC) est une maladie parasitaire cosmopolite qui sévit de façon endémique dans de nombreuses régions d'élevage ovin et bovin dans le monde. Cette parasitose est provoquée par le développement chez les herbivores et l'homme de la larve du ténia *Echinococcus granulosus* (Dakkak, 2010).

Le cycle parasitaire se déroule entre l'hôte définitif (chien, ou autre canidé) et l'hôte intermédiaire (ovins, bovins). L'infection chez l'homme par ce parasite est caractérisée par l'apparition de kyste dans différents organes principalement le foie et les poumons (Eckerte et al., 2001 ; Ripoché, 2009).

Le liquide du kyste hydatique est un mélange biologique complexe contenant des protéines, les molécules parasitaires jouent un rôle important dans l'établissement chronique de l'infection. Ces molécules interfèrent avec l'activité fonctionnelle des cellules immunitaires de l'hôte.

D'après des études antérieures, une analyse protéomique du liquide hydatique a permis d'identifier plusieurs protéines synthétisées par l'hôte ou le parasite (Siracusano et al., 2012 ; Zeghir-Bouteldja et al., 2017).

Les objectifs de la présente étude s'articulent autour des points suivants :

- L'identification *in silico* de quelques protéines du liquide hydatique d'origine ovine de localisation pulmonaire impliquée dans l'interaction hôte / parasite.
- Identification de la fonction moléculaire des inhibiteurs de sérine de protéase identifiés dans le liquide hydatique au cours de l'insaturation de métacestode.

Notre travail est réparti en deux parties, une partie bibliographique rappelant quelques généralités sur les inhibiteurs de protéase et l'hydatidose.

La partie expérimentale comprendra le matériel et méthode utilisés pour la réalisation de ce travail, ainsi que les résultats obtenus.

Enfin, nous terminerons par une discussion générale.

# **Chapitre I : Les inhibiteurs de protéase**

## I.1.Généralités

### I.1.1.Les protéases

Les protéases sont des protéines très courantes retrouvées dans le règne animal et végétal. Leur importance biologique est notamment illustrée par environ 2 à 3% du génome, elles forment un ensemble très hétérogène puisqu'elles vont du monomère de 10 kDa au complexe multimérique de plusieurs centaines de kDa.

Le processus catalytique peut être initié soit à l'intérieur d'une chaîne polypeptidique (activité endoprotéase), soit à partir des extrémités amino ou carboxyle (activité exopeptidase) Les protéases ont un rôle important dans de nombreux processus physiologiques (coagulation, immunité, cicatrisation) (**Sajid *et al.*, 2002**).

Les protéases se différencient également selon leur mode d'action : les endoprotéases et les exopeptidases. Les deux types de protéases sont divisés en plusieurs classes et sous-classes. (**Le tableau 1**) présente les classes et sous-classes de protéases.

**Tableau 1** : classification des protéases (**Rao *et al.*, 1998**).

Type de protéase	Classes et sous-classes
<b>Exopeptidases</b>	<b>Amino-peptidases</b> Peptidyle peptidase Dipeptidyle peptidases Tripeptidyle peptidases
	<b>Carboxypeptidases</b> Sérine carboxypeptidase Metallo-carboxypeptidase Cystéine carboxypeptidase
<b>Endopeptidases</b>	Protéases à sérines Protéases à cystéines ou protéases thiols Protéases aspartiques ou protéases acides Métallo-protéases

### I.1.2. Les inhibiteurs des protéases

Les inhibiteurs de protéases constituent, après l'albumine et les immunoglobulines, le troisième groupe fonctionnel du plasma humain. Les anti-protéases représentent près de 10 % de l'ensemble des protéines circulantes. La majorité des inhibiteurs de protéases connus et caractérisée jusqu'à ce jour est constituée d'inhibiteurs des sérine-protéases. Au sein des inhibiteurs des sérine-protéases on distingue la famille des serpinines (**Emmerich., 1996**).

**Laskowski et Kato 1980** ont proposé une nouvelle classification des inhibiteurs de protéases en les regroupant en familles en se basant sur le site réactif spécifique présent dans les séquences. Cette nomenclature a permis de regrouper les inhibiteurs de protéases en quatre grandes familles

1. les inhibiteurs de protéases à cystéine,
2. les inhibiteurs de protéases métalloïdes,
3. les inhibiteurs de protéases aspartiques
4. les inhibiteurs de protéases à sérine (**Clemente et al., 2009**).

#### I.1.2.1. Les inhibiteurs des sérine-protéase (serpinines)

La superfamille des serpinines, est une ancienne famille de protéines largement distribuées dans les trois règnes de la vie, les archées, les bactéries et les eucaryotes, ainsi que dans certains virus (**Olson et Gettins, 2011**).

Les serpinines sont des glycoprotéines globulaires, de masse moléculaire comprise entre 40 et 60 kDa et comprenant en moyenne environ 350 à 400 acides amines (**Emmerich J., 1996**).

Elles ont un intérêt clinique dans de nombreux processus biologiques critiques comme la coagulation sanguine, la fibrinolyse, la mort cellulaire programmée, le développement et l'inflammation (**Irving et al., 2000**).

#### I.1.3. Classification et nomenclature

La superfamille des serpinines a été divisée en 16 clades sur la base des relations phylogéniques, les 16 clades désignés par des lettres majuscules (A-P), avec quelques orphelins résiduels (**Tableau2**). De telles classifications phylogéniques ont été utilisées pour introduire un système de nomenclature normalisé qui utilise un préfixe SERPIN ou SERP suivi d'une lettre de désignation de clade (**Mangan et al., 2008**).

Chez l'Homme, 36 serpinines ont été identifiées dont la majorité appartient aux clades A et B et ces derniers englobent 13 serpinines chacun, et les 10 autres restantes sont membres de sept autres clades (de C à I). Les gènes de ces serpinines ont été répertoriés dans 10



chromosomes différents, et 22 gènes sont localisés dans trois clusters : 6p25, 14q32.1 et 18q21.3, le plus petit cluster situé à 3q26 rassemble deux serpinines (SERPINI1 et SERPINI2) **(Olson et Gettins, 2011)**.

La plupart des serpinines du clade A sont situées dans le cluster du chromosome 14. Ces serpinines semblent réguler les peptidases qui contrôlent les réponses inflammatoires et les invasions dues aux microbes pathogènes. Les serpinines du clade B sont connues sous le nom d'ov-serpinines en raison de leur étroite relation avec l'ovalbumine du poulet, elles comprennent des serpinines qui ont une fonction intracellulaire et ne possédant pas de peptide signal. Par ailleurs, la plupart des serpinines des autres clades sont de localisation extracellulaire, sécrétée par les tissus spécifiques qui les expriment **(Olson et Gettins, 2011)**.

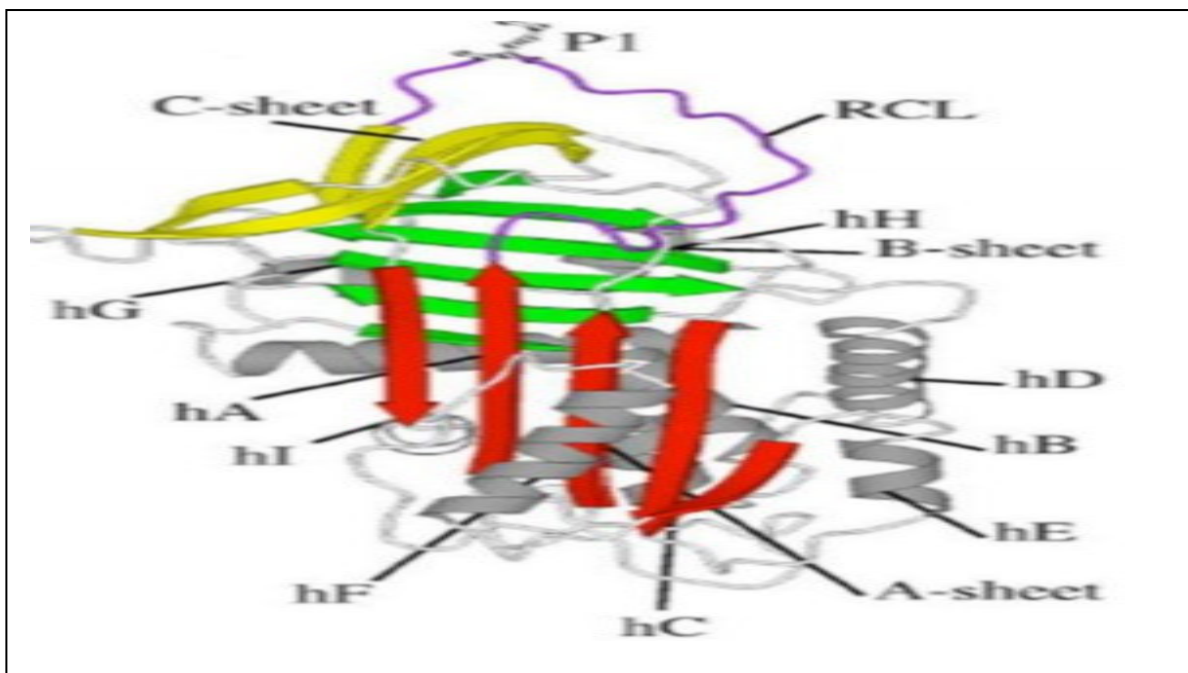
**Tableau2 : Les clades des serpinines (Gettins, 2002)**

<b>Le nom de clade</b>	<b>Lettres</b>
$\alpha$ 1-proteinase inhibitor	A
Intracellular , ov-serpine	B
Antithrombin	C
heparin cofactor II	D
proteinase nexin, PAI-1	E
$\alpha$ 2-antiplasmin, PEDF	F
C1 inhibitor	G
HSP47	H
Neuroserpin	I
horseshoe crab	J
Insect	K
Nématode	L
blood fluke	M
viral SPI1-2/CrmA-like	N
viral SPI3-like	O
Plant	P

### I.1.4. Caractéristiques structurelles des serpins

Il existe un taux élevé de conservation de la structure parmi les membres de la famille des serpins, dans laquelle la taille moyenne de la structure est de 1,5 nm.

Une serpine est constituée de 3 feuillets  $\beta$  (A, B et C), constituant le corps de la molécule, alors que les hélices et les boucles entourant ces structures, consolident la structure. On distingue 7 à 9 hélices alpha (hA à hI) et une boucle d'inhibition mobile d'environ 17 résidus exposée à la surface (**Figure 01**), située à l'extrémité C-terminale reconnue par la protéase cible et appelée RCL (Reactive Center Loop) (**Khanet *al.*, 2011**).



**Figure 01** : Structure de serpine

**I.1.5. Différentes conformations des serpins** : il existe 5 formes de serpins (voir **figure 02**)

#### a. La forme native

La forme native est la forme la plus instable, Dans cette conformation, la boucle centrale réactive se trouve à l'extérieur du noyau tertiaire de la serpine, attachée à l'extrémité C-terminale de s3A et à l'autre à s1C. Dans cette boucle se trouve la liaison réactive qui interagit avec le site actif des protéinases cibles (**Gettins, 2002a**).

#### b. La forme latente

La conformation latente est une forme non clivée, observée dans les structures cristallines de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène I et de l'antithrombine. Dans les

deux cas, la boucle non clivée de l'inhibiteur est incorporée de manière stable dans le feuillet  $\beta$ A de l'inhibiteur pour former une molécule inactive et thermostable qui partage des épitopes immunologiques avec l'espèce clivée. Elle peut être convertie de nouveau en forme active (inhibitrice) par dénaturation (Lomas *et al.*, 1995).

### c. La forme clivée

L'état le plus stable des serpins inhibitrices est la forme clivée, dans laquelle le RCL a été entièrement inséré dans le feuillet A. Les estimations de température pour le dépliage de ces conformations sont de 120 °C, contre 60 °C pour l'état natif (Silverman *et al.*, 2001).

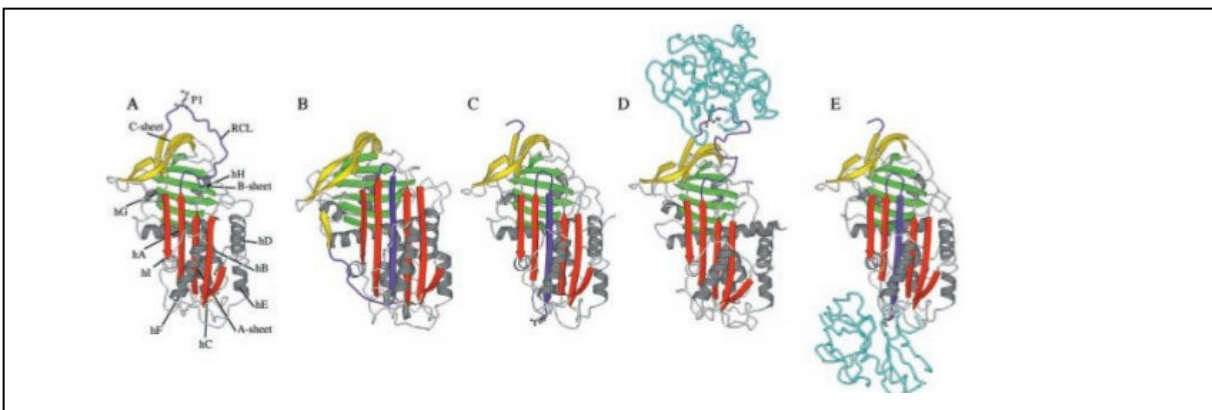
### d. La forme $\delta$

Cette forme est considérée comme une forme intermédiaire entre les formes native et latente puisqu'un fragment du RCL s'insère à une extrémité du feuillet  $\beta$  A jusqu'au résidu P12, et un fragment de l'hélice F s'insère à l'autre extrémité. La conformation  $\delta$  a été retrouvée dans un variant de l' $\alpha$ 1-antichymotrypsine (Gooptu *et al.*, 2000).

### e. La forme polymérisée

La polymérisation des serpins correspond à un enchaînement de plusieurs molécules dans lequel le RCL d'un monomère est complètement inséré dans le feuillet  $\beta$  A du monomère suivant. (Benning *et al.*, 2004).

C'est la principale cause de certains troubles liés à des mutations au niveau des serpins. Elles peuvent être facilement formées *in vivo* ou *in vitro* en modifiant la température ou le pH de la solution (Pearce., 2010).



**Figure 02** : les Différentes formes de serpins : **A** : forme native , **B** : forme latente , **C** : forme clivée clivé , **D** : forme  $\delta$  , **E** : forme polymérisée (silverman.,2001).

## I.1.6. Mécanisme d'inhibition des serpinés

### I.1.6.1. Boucle d'inhibition Réactive Center Loop (RCL)

La séquence de la RCL définit le modèle de spécificité enzymatique de chaque serpine et joue un rôle central dans les interactions serpinés peptidases. Le site réactif, désigné par les résidus P1–P1', comporte le site actif qui interagit avec la protéase cible. Les résidus à la partie N-terminale du site de clivage sont indiqués par les résidus Px (P17–P1) et les résidus à la partie C-terminale sont indiqués par les résidus P' (**Schechter et Berger, 1967**). La composition du RCL en acides aminés est importante dans le mécanisme d'inhibition et pour déterminer la spécificité inhibiteur-protéase, Les résidus P15–P9, composant la région de la charnière proximale, déterminent la capacité de la boucle à s'insérer lors du repliement (**Hopkins et al., 1993 ;Potempa et al., 1994**).

Toutes les serpinés inhibitrices sont des inhibiteurs de protéases covalents, irréversibles et "suicides" formant un complexe covalent hautement stable avec leur enzyme cible. Ce complexe est détectable dans des conditions de dénaturation par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE) (**Gettins, 2011**).

### I.6.1.2. Inhibition de type « suicide »

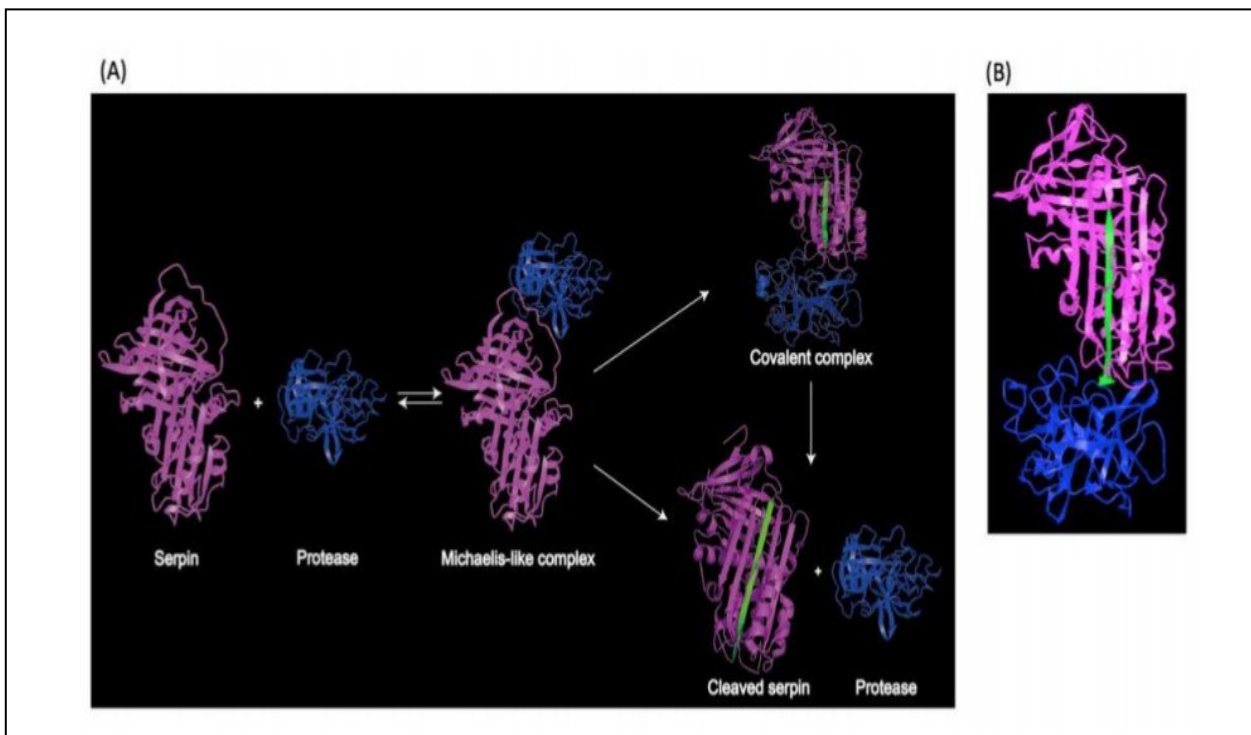
Le mécanisme d'inhibition de la serpine a été démontré biophysiquement et structurellement comme un mécanisme d'inhibition de type substrat suicidaire. La serpine se lie à la protéase par un complexe non covalent de type Michaelis (**figure 03**) par des interactions avec les acides aminés situés autour du site de coupure P1-P1' du RCL (**khan M et al 2011**). Où P1 est le résidu après lequel la protéase clive l'inhibiteur et libère le fragment C-terminal P1' à Px'. La sérine 195 du site actif de la protéase attaque la liaison peptidique située entre les résidus P1 et P1', formant ainsi une liaison ester covalente entre la sérine et la fonction carbonyle du résidu P1. Après le clivage de la serpine et la formation d'une liaison covalente, le complexe formé devient stable thermodynamiquement (**Lawrence et al., 1995 ; Wright et Scarsdale, 1995; Silverman et al., 2001**).

RCL s'insère dans le feuillet $\beta$ A et transporte la protéase liée de manière covalente avec elle. En conséquence, la protéase est transloquée de plus de 70 °Å et son site actif est déformé. La distorsion du site actif empêche les événements finaux d'hydrolyse et le résultat est un complexe covalent irréversible serpine-enzyme. Lorsque les serpinés actives sont inactivées protéolytiquement dans une réaction de type substrat, elles subissent une transition structurelle importante avec pour conséquence une augmentation de la stabilité de leur conformation (**khan M et al., 2011**).

### I.6.2.3. Inhibition croisée ou « cross class inhibition »

Certaines serpines sont capables d'inhiber des peptidases à cystéine. Ce phénomène est appelé inhibition croisée ou « cross-class inhibition ». Selon Salvesen (1993), ceci peut être expliqué par le fait que la sélectivité des serpines est due à la géométrie de la liaison avec le substrat et non pas au mécanisme catalytique des peptidases.

En effet, l'inhibition des cystéines peptidases par certaines serpines est effectuée par un mécanisme irréversible similaire à celui mis en place pour les peptidases à sérine. Elles formeraient un intermédiaire réactionnel thioacycle, permettant l'insertion du RCL lié à l'enzyme, la compression de la protéase et la modification de son site catalytique. Une liaison covalente entre la serpine CrmA et les caspases 1, 6 et 8 a été confirmée (Dobó et al., 2006).



**Figure 03** : La représentation de l'interaction serpine-protéase.

## I.2. Interaction potentielle entre les serpinines de l'hôte et du pathogène

Dans la plupart des cas, les serpinines ciblent les protéases pour moduler les réponses inflammatoires au cours des interactions hôte-pathogène. Il est toujours très intéressant de savoir si les serpinines fonctionnent par le biais d'interactions serpinine-serpinine. En effet, il existe des preuves que les serpinines peuvent être inactivées par polymérisation (**Gettins et Olson , 2016**). La polymérisation des serpinines se produit lorsque la région RCL d'une serpinine s'arrime à la feuille A d'une autre serpinine pour former un polymère de serpinine inactif, ce type d'inactivation de la serpinine n'est pas rare et de nombreux exemples sont trouvés dans les déficiences et les maladies humaines. Par exemple, l'allèle Z de SERPINA1 s'accumule dans le foie des patients par polymérisation de la serpinine.

Les stratégies de défense des serpinines dérivées de l'hôte sont variables, y compris l'inhibition directe des protéases des agents pathogènes, l'inhibition de la liaison des agents pathogènes et l'amélioration des fonctions des cellules immunitaires de l'hôte (**Lomas et al., 1992**).

### I.2.1. Les serpinines chez les vertébrés

Chez l'homme et les autres vertébrés, les pièges extracellulaires des neutrophiles (NET) sont des structures d'ADN en forme de toile extrudées dans l'environnement extracellulaire par les neutrophiles activés. Les pièges extracellulaires des neutrophiles représentent une stratégie de défense unique contre les infections microbiennes. Un membre de la superfamille des serpinines exprimé par les macrophages et les neutrophiles est la SerpinB1. Elle est capable de limiter la production de NET et inhibe l'élastase des neutrophiles, la cathepsine G et la protéinase 3 (**Farley et al., 2012**). Les serpinines exprimées à la surface des muqueuses ont été liées à l'inhibition de la liaison et de la réplication du VIH et à la réduction de l'inflammation des cellules sensibles. Ces serpinines, ainsi que d'autres inhibiteurs de protéase, sont exprimées dans la couche épithéliale des voies génitales féminines et sont donc considérées comme essentielles dans la défense de première ligne contre l'infection.

### I.2.2. Les serpinines chez les invertébrés

Chez les insectes, le système principal de défense contre l'invasion des pathogènes utilisée est l'immunité innée. Les réponses immunitaires comprennent la coagulation des hémocytes, la mélanisation et l'expression de peptides antimicrobiens (**Meekins et al., 2017**). Pour déclencher ces réponses innées, des cascades d'activation de protéases à sérine doivent être déclenchées, et ces cascades protéolytiques sont étroitement régulées par les serpinines.

Les serpinines d'insectes sont trouvées exprimées dans divers organes, les corps gras, l'intestin moyen et les hémocytes (Meekins *et al.*, 2017). Des études plus récentes ont montré que les serpinines-1, 4, 9, 13 et les serpinines-3, 5, 6 de *Manduca sexta* étaient tous capables de se complexer avec la protéase 1 pro- hémolymphe (ProHP1), c'est une protéinase clé dans l'immunité innée des insectes (He *et al.*, 2017).

### I.2.3. Les serpinines chez les plantes

Les serpinines sont présentes dans presque toutes les plantes terrestres (Roberts *et al.*, 2011). Des études *in vitro* ont démontré les activités d'inhibition des protéases des serpinines végétales, mais l'absence de protéases cibles de type chymotrypsine au sein des plantes suggère que les serpinines végétales pourraient cibler les protéases digestives des pathogènes ou parasites. En outre, il existe une accumulation abondante des serpinines dans l'endosperme des graines végétales, le phloème des coléoptiles et les feuilles (Roberts *et al.* 2003). Ces localisations des serpinines végétales impliquent en outre les rôles défensifs des serpinines dans les plantes contre les protéases exogènes et les pathogènes, il a été démontré qu'elles jouent un rôle dans les voies de régulation des réponses immunitaires de l'hôte.

### I.2.4. Serpinines des virus

Les génomes viraux sont généralement maintenus à une échelle minimale pour s'adapter à leur style de vie unique. Ainsi, la présence des serpinines virales doit être essentielle pour la survie et/ou la fonction du virus. En fait, les chercheurs ont identifié plusieurs serpinines qui sont nécessaires pour la virulence et l'infectivité (Nathaniel *et al.*, 2004).

### I.2.5. Les serpinines des bactéries

*Tannerella forsythia* est une espèce de bactérie anaérobie, Gram négative, qui réside habituellement dans la bouche humaine et contribue à la parodontite chronique (Pereira *et al.* 2017). Pour inhiber les endopeptidases de l'hôte, *T. forsythia* sécrète un inhibiteur de protéase de type serpinine appelé miropine, qui inhibe de manière irréversible les endopeptidases à sérine et à cystéine de l'hôte (Goulas *et al.*, 2017). L'analyse phylogénétique de cette protéine serpinine montre qu'elle ne suit pas un modèle de descente verticale, indiquant que la miropine peut provenir de l'hôte par transfert horizontal de gènes. En fait, les études des serpinines des bactéries commensales humaines et leurs applications thérapeutiques sont devenues des domaines de recherche passionnants. Par exemple, ont caractérisé deux nouvelles serpinines provenant de bactéries commensales du tractus gastro-intestinal humain. Ces deux serpinines sont appelées *siropine-1* et *siropine-2*. Ces deux serpinines s'avèrent inhiber préférentiellement

deux sérine-protéases humaines, l'élastase des neutrophiles et la protéinase 3, qui sont associées aux maladies inflammatoires de l'intestin humain (Mkaouar et al., 2016).

### I.2.6. Les serpins des parasites

Les parasites sont des organismes qui vivent dans un autre organisme et peuvent causer des problèmes majeurs de santé publique tels que les zoonoses. En général, les parasites doivent échapper au système de défense de l'hôte afin de survivre. Les serpins se révèlent importantes lors de l'interaction hôte-parasite, et les parasites utilisent leurs serpins pour faciliter l'infection et la survie chez l'hôte. Par exemple, la tique du bétail *Rhipicephalus microplus* code au moins 24 serpins, dont RmS-3, RmS-6 et RmS-17 ont été identifiées dans la salive et confirmées par la suite pour inhiber les protéases pro-inflammatoires et pro-coagulatrices de l'hôte (Tirloni et al., 2014).

Dans une étude de suivi, on a constaté que la rRmS-3 inhibe la chymotrypsine, la cathepsine G et l'élastase pancréatique. Parmi ces serpins, la rRmS-6 a été trouvée pour inhiber la trypsine, la chymotrypsine, le facteur Xa, le facteur XIa et la plasmine ; tandis que la rRmS-17 a inhibé la trypsine, la cathepsine G, la chymotrypsine, la plasmine et le facteur XIa (Tirloni et al., 2016). Cette étude a également affirmé que les anticorps polyclonaux contre les protéines salivaires d'*Amblyomma americanum*, *Ixodes scapularis* et *Rhipicephalus sanguineus* étaient capables de réagir de manière croisée avec ces trois serpins salivaires de *R. microplus*. Ces résultats suggèrent que les serpins des agents pathogènes pourraient être appliquées comme de nouveaux candidats à la vaccination (De la Fuente et al. 2007).



# **Chapitre II : L'Echinococcose kystique**

### II.1. Définition :

L'hydatidose ou échinococcose est une parasitose cosmopolite commune à l'homme et à de nombreux mammifères. Elle est due au développement, chez l'hôte, de la larve du ténia *Echinococcus granulosus*, une espèce endémique dans les pays d'élevage d'ovins, bovins, caprins, porcins et camelins dans le monde (Euzéby, 1984).

### II .2. Origine de l'appellation

**Hydatido** : Du grec *hudatis*, petite tumeur contenant du liquide aqueux, ou relatif à la larve du ténia échinocoque qui se développe dans le foie de plusieurs mammifères et de l'Homme.

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

L'hydatidose est une **métacestodose**, à caractère infectieux, inoculable, non contagieuse commune à l'homme et aux animaux domestiques. Elle est due à la présence et au développement dans les différents organes et tissus principalement, le foie et le poumon d'une larve vésiculaire de type échinocoque d'un cestode *Echinococcus granulosus*, parasite de certains mammifères canidés, principalement le chien.... La persistance de l'infection dans le cheptel ovin et donc le haut niveau d'infection de l'environnement, qui présente un risque pour l'homme, ainsi que le rôle non négligeable des poumons dans la transmission du parasite.

L'hydatidose se traduit, cliniquement, par des symptômes discrets voire le plus souvent, absents et sur le plan lésionnel par la présence de kystes souvent volumineux à paroi opaque renfermant un liquide clair constamment sous pression (Euzéby, 1966).

### II .3. Classification

Le débat taxonomique se poursuit encore aujourd'hui au sein d'*E. granulosus*. ce dernier présente une grande diversité. cependant ce parasite est classé comme suit (Tableau3)(Thompson, 2017 ; Xiao et al., 2005).

**Tableau3** : classification d'*E.granulosus*. (Thompson, 2017 ; Xiao et al .,2005)

Régne	Animalia
Embranchement	Plathelminthes
Classe	Cestoda
Sous-classe	Eucestoda
Ordre	Cyclophyllidea
Famille	<i>Taeniidea</i>
Sous-famille	<i>Echinococcinae</i>
Genre	<i>Echinococcus</i>
Espèce	<i>Echinococcus granulosus</i>

Des études moléculaires récentes ont montré que neuf (9) espèces présentant une importance en pathologie humaine et vétérinaire (Thompson, 2017). Ces espèces sont les suivantes :

- *Echinococcus granulosus*
- *Echinococcus multilocularis*
- *Echinococcus equinus E.granulosus G4*
- *Echinococcus ortleppi E.granulosus G5*
- *Echinococcus canadensis E.granulosus G7*
- *Echinococcus felidis*
- *Echinococcus vogeli*
- *Echinococcus oligarthrus*
- *Echinococcus shiquicus*

## II.4. Epidémiologie de l'hydatidose

### II.4.1. Dans le monde

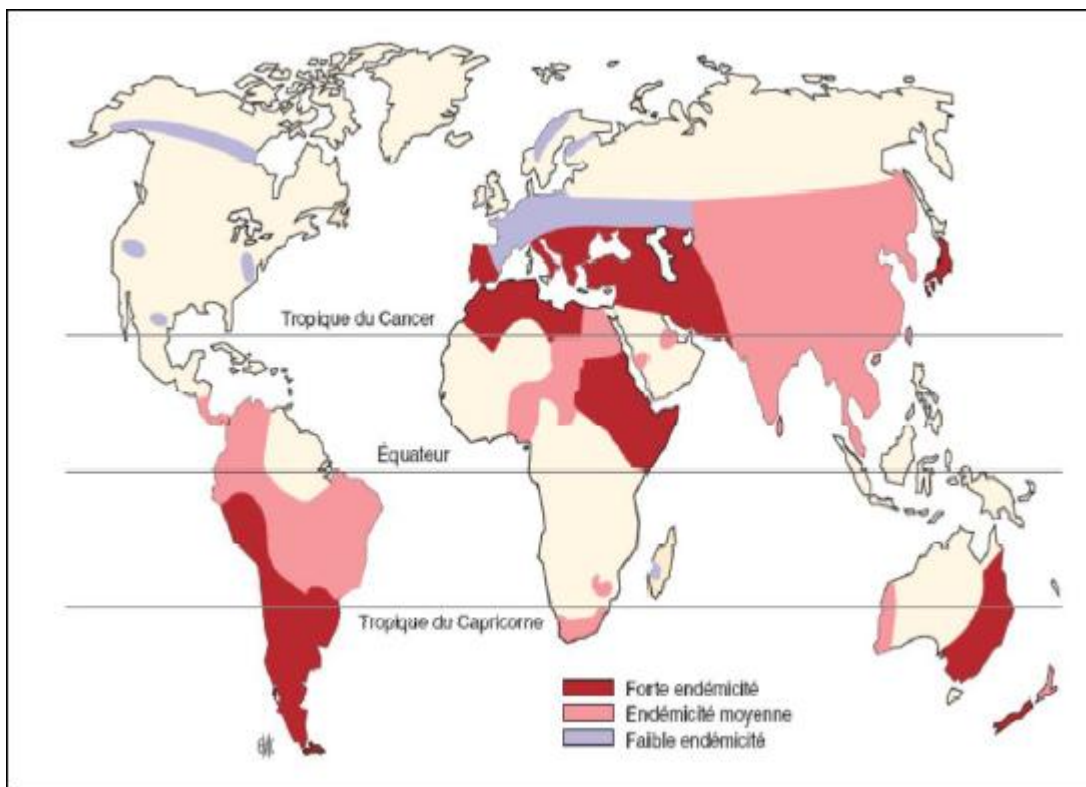
Récemment, l'organisation mondiale de la santé a classé l'échinococcose avec les zoonoses négligées durant la période de 2008-2015 (Budke et al., 2009). Ce groupe a été considéré dans ses stratégies et ses plans d'action établis pour le contrôle des maladies tropicales négligées (Craig et al., 2007 ; Menezes de Silva, 2010). Cependant, l'hydatidose prédomine dans les régions chaudes telle que l'Amérique du sud. La Russie, l'Asie centrale, la Chine, l'Australie, et une partie de l'Afrique (Yu et al., 2006 ; Carmena et al., 2008 ; Dakkak, 2010). Aux Etats unis d'Amérique, la plupart des infections ont été diagnostiquées chez les migrants provenant des régions endémiques. L'Afrique du Nord est

une des régions du monde où l'échinococcose à *E.granulosus* sévit à l'état endémique. Elle représente une problématique majeure de santé publique (**Figure 04**).

#### II.4.2. En Algérie

L'Algérie est un pays d'élevage traditionnel de type pastoral, et comme certains pays du bassin méditerranéen, c'est une zone endémique. L'hydatidose est considérée comme étant une maladie à déclaration obligatoire par l'institut national de santé publique (INSP).

L'incidence annuelle est de 1.11/100.000 d'habitant. Plusieurs facteurs peuvent expliquer la fréquence de cette maladie, à savoir l'élevage de moutons, le nombre de chiens errants et l'humidité propice pour l'entretien des embryophores dans le milieu extérieur. Ce sont des facteurs auxquels s'ajoutent parfois les règles d'hygiène insuffisantes (**Bezzari et al., 1999 ; Possentiet al., 2016**).



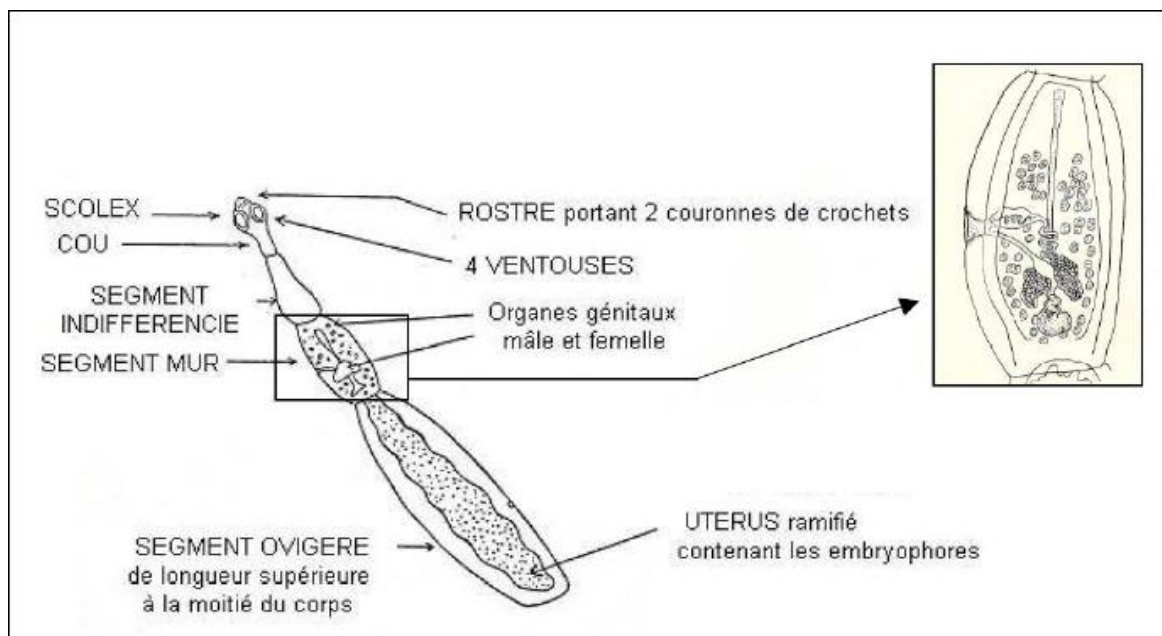
**Figure 04 :** Distribution de l'hydatidose à travers le monde (**Benhamdane, 2013**)

## II.5. Description des formes parasites

Selon le cycle évolutif *E. granulosus* se représente sous 3 formes.

### II.5.1. Forme adulte

C'est un ver plat hermaphrodite mesurant 2-7 mm de long qui vit fixé entre les villosités de l'intestin grêle du chien. Sa longévité varie entre 6 mois et 2 ans. Il comporte 3 parties à savoir une tête, un cou et un corps. La tête ou scolex est d'aspect piriforme pourvue de 4 ventouses arrondies et d'un rostre saillant qui lui permettent de se fixer sur la paroi intestinale de l'hôte (**Figure 05**). Le corps est formé de trois à 5 anneaux dont le dernier anneau est grvide contenant jusqu'à 1 500 œufs mûrs appelés aussi embryophores. Arrivé à maturité, ce dernier anneau se détache du reste du parasite pour être rejeté dans les selles en libérant ses œufs. Un anneau grvide est éliminé toutes les 2 à 5 semaines(**wajih,2017**).



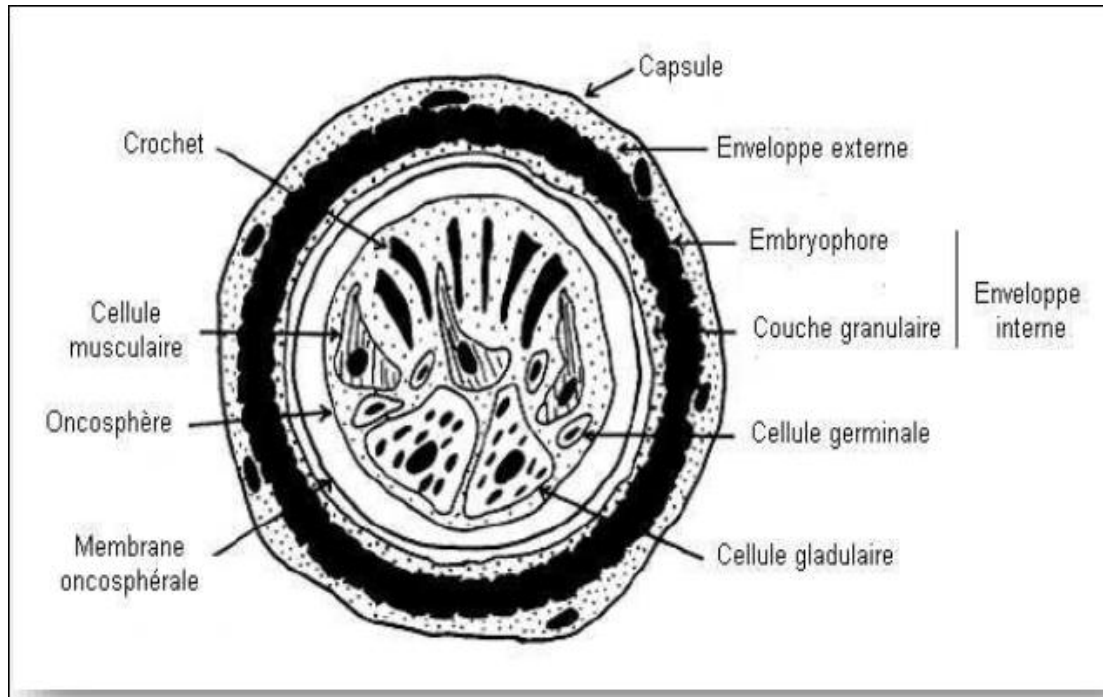
**Figure 05:**Schéma de la forme adulte d'*E. granulosus*(**lausier,1987**).

### II.5.2.L'œuf

Libéré de sa membrane externe fragile, il devient un embryophore. Il est ovoïde mesurant 30 à 40  $\mu\text{m}$ , non operculé, protégé par une coque épaisse et striée. Il contient un embryon hexacanthé à six crochets ou oncosphère(**Figure 06**).Les embryophores sont résistants dans le milieu extérieur ; leur survie dépend des conditions d'humidité et de température. Elle est de 1 mois à + 20 C°, de 15 mois à + 7 C° et de 4 mois à -10 C°.

La congélation classique à -18 C° des aliments ne le tue pas. Ils sont cependant détruits en 3 jours si l'hygrométrie est faible (< 70%), en quelques heures par la dessiccation et en

quelques instants par une température supérieure à 60 °C. Les agents chimiques, engrais et désinfectants n'altèrent pas leur vitalité et ne peuvent donc être utilisés pour désinfecter les légumes contaminés (wajih, 2017).



**Figure 06:** Schéma d'un œuf d'*E. granulosus* (Eckert et al., 2001).

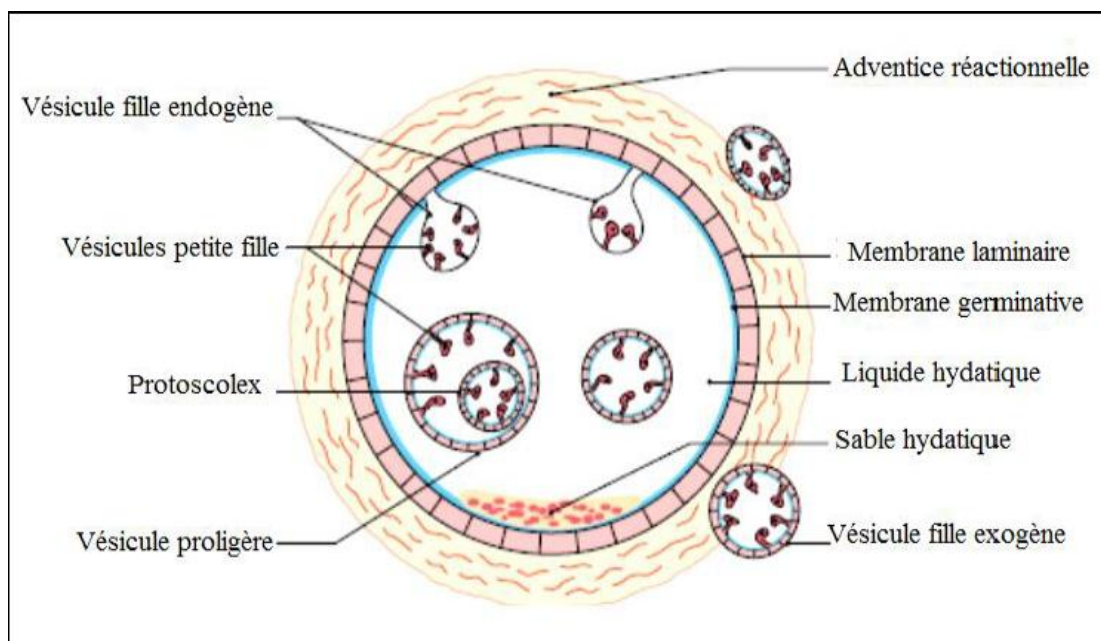
### II.5.3 .La Forme kystique

La larve d'*E. granulosus* a un diamètre variable, d'une taille à peine visible à une taille équivalente à un ballon de football (**Figure 07**). Rempli de liquide sous pression, le kyste a un aspect arrondi ou plus ou moins ovalaire, avec parfois des « bosses » dues à la formation de vésicules filles exogènes. De l'extérieur vers l'intérieur, le kyste est formé de plusieurs membranes:

- l'adventice, formé par une couche de cellules du tissu hôte qui sont écrasées par le volume du kyste, n'appartient pas au parasite. Cette adventice comprend du tissu fibreux et des granulomes inflammatoires et giganto-cellulaires.
- la cuticule, dont l'épaisseur varie avec l'âge du kyste, a une consistance élastique, de couleur blanche brillante. Cette membrane anhiste, d'aspect lamellaire, est constituée de cholestérol, de galactose et de protéines, mais est pauvre en glycogène .

- la membrane proligère la membrane germinative ou proligère, est très fine, de 10 à 25 microns d'épaisseur, comporte de nombreuses cellules chargées de lipides et d'autres de glycogène et est riche en acides aminés. Parfois apparaissent des bourgeons qui prolifèrent pour former les futures vésicules filles, soit à l'intérieur de la cavité (vésicule fille endogène) soit à l'extérieur (vésicule fille exogène)(**Bourée et Bisaro, 2007**).

Les kystes sont remplis de liquide hydatique et peuvent atteindre 25 cm de taille(**wajih,2017**). Le liquide hydatique est limpide (eau de roche) et contient du « sable hydatique », c'est-à-dire des scolex (400 000 par mm<sup>3</sup>)(**Bourée et Bisaro, 2007**). Elle est majoritairement constituée d'eau (99,9 %), le reste est un mélange complexe de molécules dérivées à la fois du parasite et du sérum de l'hôte tel que les sels, les ions, les lipides, les glucides, et les acides aminés, et des enzymes glycolytiques et protéolytiques certaines molécules lui confèrent des propriétés antigéniques tel que l'Ag5 et l'AgB (**Aziz et al., 2011 ; Zeghir-bouteldja et al., 2017**).



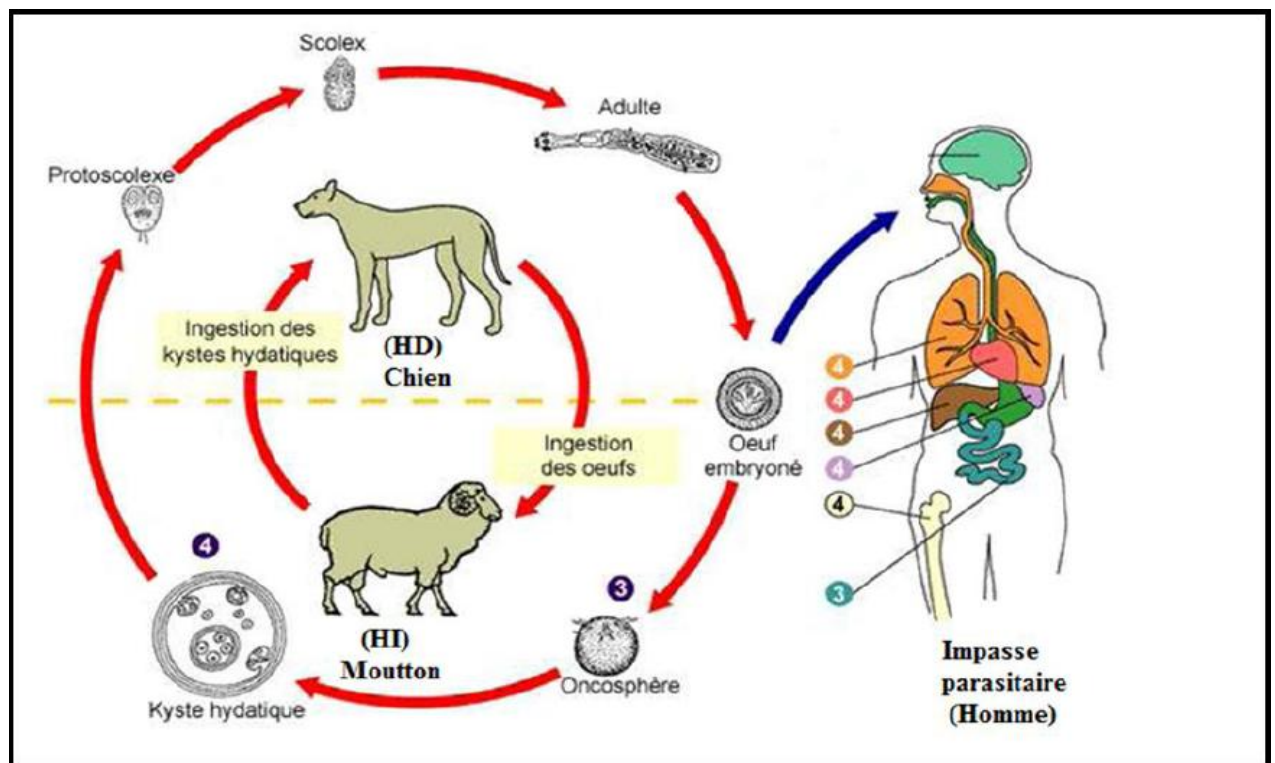
**Figure 07** :La structure de kyste hydatique (**Euzéby ,1971**).

## II.6. Cycle parasitaire

Comme pour tous les taéniidés, le cycle biologique d'*E.granulosus*(**Figure 08**) est de type hétéroxène, s'accomplissant chez deux hôtes obligatoires(**Altintas, 2009**). L'hôte définitif est toujours un carnivore, le plus souvent un chien, qui se contamine en ingérant des abats ou des tissus parasités. Le parasite se développe dans l'intestin grêle du chien. Une fois le parasite mature, il libère régulièrement des proglottis, contenant les œufs

infestant, qui sont éliminés dans le milieu extérieur avec les fèces .L'hôte intermédiaire, un herbivore ou un omnivore , se contamine en ingérant ces œufs présents dans l'environnement, c'est-à-dire en consommant l'herbe , le foin , la paille ou les concentrés souillés par les excréments de chiens infestés. Une fois ingérés, les œufs libèrent les oncosphères qui vont traverser la paroi intestinale et s'enkyster dans un organe, le plus souvent le foie ou les poumons, formant ainsi les kystes hydatiques contenant les protoscolex qui infecteront l'hôte définitif (**Ripoche, 2009**).

L'homme est un hôte accidentel dans ce cycle, car il ne permet pas la poursuite du cycle il prend la place de l'hôte intermédiaire dans le cycle. Des kystes hydatiques peuvent donc se développer dans son organisme par contre, il n'héberge jamais le stade adulte dans son intestin grêle (**Euzeby, 1971**).



**Figure08** :Cycle parasitaire d'*Echinococcus granulosus* (**Pedrosa et al.,2000**).

### II.7. Evolution d'*E. granulosus* au cours du cycle :

1) **La forme adulte chez le chien** : Après l'ingestion du kyste hydatique fertile, les protoscolex s'exposent à l'action de pepsine stomacale et par l'action de la bile et le changement du pH et de température se transforment en un ver adulte, sexuellement mature, au niveau du duodénum, quatre à six semaines post-infection (correspondant à la période pré



patente). Ensuite le parasite pénètre entre les microvillosités intestinales et les cryptes de Lieberkuhn par ses crochets rostraux et adhère à l'épithélium. Au terme de cette période pré patente, les hôtes définitifs (chiens) deviennent infectants et disséminent ainsi les embryophores dans le milieu extérieur (**Thompson, 1995**).

**2) L'œuf à l'extérieur :** L'œuf est entouré d'une coque, ou embryophore, contenant une larve «hexacanthé » (6 crochets) appelée encore oncosphère.L'embryophore est un revêtement épais, dur, résistant et imperméable formé de plaques polygonales composées d'une protéine similaire à la kératine qui confère à l'œuf sa résistance dans le milieu extérieur (**Morseth, 1965**).

**3) La larve chez l'hôte intermédiaire :** Après l'ingestion, l'embryophore arrive dans l'estomac de l'animal où sa coque est dissoute sous l'action des enzymes stomacales et intestinales libérant ainsi l'embryon hexacanthé ou oncosphère. La bile participe aussi à l'activation de l'oncosphère, qui pénètre la membrane de l'intestin grêle. La pénétration se poursuit par les mouvements des crochets, et peut être par les sécrétions des oncosphères. L'oncosphère perfore la paroi intestinale au niveau de la portion proximale de l'intestin grêle et gagne le foie par le système de la veine porte. L'embryon se développe soit directement en hydatide dans le foie, soit il franchit la barrière hépatique pour atteindre le poumon voire parfois la grande circulation et se distribuer dans les divers tissus et organes (**Morseth, 1965**).

## **II.8.Développement des kystes hydatiques**

Cinq jours après ingestion des œufs ,les métacestodes forment une petite vésicule de 60 à 70 µm de diamètre , constituée d'une couche germinative et lamellaire. Ce petit kyste va entraîner une réaction granulomateuse de l'hôte. Une couche externe appelée adventice est alors formée. La taille des kystes est très variable. Elle varie de 1 à15 cm et plus, voire supérieure à 20 cm(**Dincer et al.,2006**). La durée de développement des kystes n'est pas bien connue mais le kyste est visible en une période de plus de 10 mois de la post -infection. Les kystes sans protoscolexe sont appelés kystes stériles. Les kystes ne comprennent qu'une seule cavité : ils sont dits uniloculaires(**Eckert et Deplazes,2004**).

Les kystes peuvent se développer dans tous les tissus et organe et peuvent toucher un ou plusieurs organes (**Feki et al.,2008**).

### II.9. Localisation des kystes hydatiques

Les études montrent qu'environ 70 – 80% des kystes humains se développent dans le foie contre 10 – 20 % dans les poumons et 5% seulement dans les autres organes (WHO/OIE,2001). D'autres localisations sont possibles mais nettement plus rares, telles que le pancréas, le diaphragme, le petit bassin, le sein, l'orbite (provoquant une exophtalmie), la thyroïde, la langue ou encore le thymus révélées par des douleurs et des troubles (Bourée et Bisaro, 2007).

### II.10. Les symptômes de l'hydatidose

L'hydatidose est une affection silencieuse qui peut rester asymptomatique pendant des années. Elle se découvre à l'occasion d'une radiographie ou d'une complication. Le métacestode se développe à des vitesses variables. En grossissant, le kyste commence à exercer une pression mécanique sur les tissus périphériques de l'hôte pouvant occasionner des événements pathologiques.

La diversité des manifestations clinique du kyste hydatique est liée à :

- Son siège anatomique (sa localisation), sa taille et donc son effet de masse sur les organes adjacents.
- L'état du kyste hydatique
- Sa rupture spontanée ou traumatique
- Son extension secondaire
- La libération d'antigène parasitaire responsable d'une réaction d'hypersensibilité systémique.

Le kyste peut se développer à une vitesse de 1 à 50 mm par an ou persiste sans changement pendant des années. Une symptomatologie aiguë peut survenir lorsque le kyste se rompt instantanément ou suite à un traumatisme. Il peut également dégénérer, s'involver ou se calcifier (Mufit et al.,1999 ; Wang et al.,2006). L'infection bactérienne du kyste hydatique est plus souvent observée après rupture et constitue une complication sérieuse (Pedrosa et al.,2000 ; Ekert et al.,2001).

### II.11. Diagnostic de l'échinococcose kystique

Le diagnostic définitif pour la plupart des cas de l'échinococcose kystique se fait par des méthodes d'imagerie, tels que la radiologie, l'échographie, la tomographie d'axiale calculée (scanner) et l'imagerie de résonance magnétique.

L'immunodiagnostic est utile non seulement dans le diagnostic mais aussi pour le suivi

des patients après chirurgie ou suite à un traitement pharmacologique. La détection de la circulation des antigènes d'*E granulosus* dans le sérum sont moins sensibles que la détection d'anticorps, qui reste la méthode de choix. Les méthodes immunologiques les plus utilisées ELISA, dosage indirect des anticorps anti-hémagglutination, le test d'agglutination de latex, et le test immunoblot. Le test d'immunofluorescence des anticorps et arc immunoélectrophorèse sont également utilisés. Les antigènes de kyste hydatique tels que le liquide hydatique constituent la source habituelle du matériel antigénique utile dans l'immun diagnostic. En outre, l'antigène des lipoprotéines B et l'antigène 5 sont les antigènes majoritaires du liquide hydatique. Ils sont largement utilisés dans les tests d'immun diagnostic d'échinococcose kystique. Le gène codant pour l'antigène 5 a été cloné et il pourrait être lié étroitement aux protéases de la famille de la trypsine (McManus et Zhang, 2003).

### II.12. Traitement de l'hydatidose :

Au cours des 20 dernières années, le traitement de la maladie hydatique a connu lui aussi de véritables bouleversements dominés par le développement de nouveaux protocoles incluant des traitements médicaux et des ponctions guidées . Le traitement chirurgical reste le traitement le plus souvent adopté devant la présence de kystes hydatiques au niveau de l'organisme néanmoins l'introduction du mebendazole (MBZ) en 1970 et de l'albendazole en début de 1980 et l'implémentation percutanée au milieu des années 80 ont été considérées .A l'heure actuelle, le traitement dépend du stade et de la taille du kyste hydatique, mais également de la présence ou non de complications (Brunetti et al.,2010 ; Menezes da Silva, 2010) .

Une nouvelle méthode a été introduite, il s'agit de la méthode de « watch end wait». Certains experts recommandent que les kystes inactifs et non compliqués du foie ne nécessitent pas de traitement mais une surveillance régulière aux ultrasons par l'approche « Watch and Wait ». Cette approche a été appliquée suite à des observations qui ont montré que 20 / des kystes deviennent spontanément inactifs et restent dans un état stable d'inactivité en fonction du temps alors que certains kystes sont temporairement inactifs chez certains patients traités (Frider et al .,1999 ; Keshamiri et al., 2001 ; Whang et al., 2006).

Des travaux de recherche ont été initiés afin de rechercher des biomarqueurs de viabilité associés à l'activité métabolique du métacestode. Ces biomarqueurs présenteraient un intérêt dans le contrôle de la parasitose et le suivi des patients mis sous chimiothérapie (Gottstein et al .,2014).

### II.13. Le pouvoir antigénique de l'hydatide

La présence d'un taux élevé d'anticorps dans l'organisme de l'hôte témoigne du pouvoir antigénique de l'hydatide. Cette pluralité antigénique est due à l'existence d'une véritable mosaïque d'antigènes (Hamrioui et al., 1988 ; Touil-Boukoffa, 1988). Ces antigènes proviennent de divers constituants de l'hydatide : du liquide hydatique des protoscolex et des membranes (en particulier de la membrane germinative) (Tableau 4).

#### II .13.1. Les antigènes du liquide hydatique :

Le liquide contient des glycoprotéines, des lipoprotéines, des carbohydrates et des sels minéraux. Ces molécules proviennent d'une part de la synthèse propre du parasite, d'autre part de l'hôte). L'antigène A et l'antigène B sont les principaux antigènes utilisés dans l'immunodiagnostic de cette macroparasitose (Siracusano et al., 2002).

**L'antigène A:** appelé aussi antigène 5, est un complexe de glycoprotéines thermolabiles de poids moléculaire d'environ 400 kDa. Il est formé de deux sous unités de 67 et de 57 kDa.

**L'Antigène 5** est très immunogène et il conduit à l'apparition précoce d'anticorps lors de l'infection parasitaire. Il est localisé généralement au niveau de la membrane germinative, et dans le tégument du protoscolex (Lightowers et al., 1989).

**L'Antigène B :** est une lipoprotéine polymérique thermostable avec un poids moléculaire de 150 kDa. Il est localisé au niveau de tous les constituants de l'hydatide. Il est présent au niveau de la membrane germinative et des capsules proligères. Au niveau des protoscolex, il est retrouvé au niveau des téguments et à la surface des corpuscules calcaires. La présence de l'AgB au niveau de la membrane lamellaire serait le simple fait d'une diffusion transmembranaire (Siracusano, 2002 ; Siracusano et al., 2008).

#### II .13 .2. Autres antigènes du liquide hydatique

D'autres antigènes du liquide hydatique ont été identifiés ce sont des protéines avec des poids moléculaires différents mais leur utilisation dans le diagnostic exige des études plus approfondies sur leurs structures et leurs fonctions.

**Tableau4** : Les principaux antigènes identifiés et caractérisés à partir de la larve d'*Echinococcus granulosus*

Antigènes	Nom	Références
Antigènes 5	Ag5	Hamrioui et <i>al.</i> , 1988
Antigènes B	AgB	Lightowers et <i>al.</i> , 1989
<i>Echinococcus granulosus</i> 29kDa	P-29	Gonzaleset <i>al.</i> , 2000
Thioredoxin peroxydase	TPx	Salinas et <i>al.</i> , 1998
Tropomyosin	Trp	Esteves et <i>al.</i> , 2003
Heart shok protein 70	HSP70	Ortona et <i>al.</i> , 2003
<i>Echinococcus granulosus</i> Tegumental antigen	EgTeg	Ortona et <i>al.</i> , 2005
Eg19	Eg19	Delunardo et <i>al.</i> , 2010

### II .13.3.Les antigènes de protoscolex

L'analyse électrophorétique (dans les conditions réductrices) d'un extrait soluble de protoscolex soniqué a révélé la présence d'une mosaïque protéique. Concernant les produits de sécrétion et d'excrétion des protoscolex, (**Carmena et al., 2005**) ont identifié 20 protéines majeures par SDS-PAGE (de 46 à 130 kDa). Les protéines de 89, 74 et 50 kDa auraient selon ces auteurs un intérêt dans le diagnostic récemment, plusieurs autres protéines antigéniques ont été également identifiées. Citons le EG19, la P29, la calpain protéase, la thioredoxine peroxydase, la protéine 14-3-3 et l'antigène B. Les trois dernières molécules seraient impliquées dans l'échappement parasitaire aux défenses de l'hôte (**Virginio et al., 2012**)

### II.14.La réponse immunitaire de l'hôte

La pénétration du parasite dans l'organisme provoque chez l'hôte des diverses manifestations. Certaines sont des témoins du parasitisme, alors que d'autres constituent de véritables mécanismes de défense de l'hôte. En effet, l'hydatidose est une pathologie qui se caractérise par la coexistence d'une infection chronique, avec des réponses tissulaires, cellulaires et humorales détectables contre le parasite (**Zhang et al., 2003 ; 2008 ; Siracusano et al., 2008 et 2012**).

### II.14 .1.L'immunité innée

La première phase d'établissement du kyste s'accompagne d'une infiltration cellulaire incluant les neutrophiles, les macrophages, et les cellules dendritiques. Cette étape est suivie par une leucocytose résultant de l'augmentation du nombre d'éosinophiles, de lymphocytes et de macrophages (Zhang *et al*, 2003 ; 2012). Au cours de la phase chronique, il y'a infiltration des neutrophiles, des macrophages, des éosinophiles et des fibrocytes dans le périkyte (Zhang *et al*, 2012).

### II.14.2. La réponse adaptative

**La production d'Anticorps :** Chez les patients hydatiques, des taux élevés

Immunoglobulines ont été détectés. Il s'agit particulièrement des IgG, IgM et IgE (Khabiri *et al*, 2006).

**La réponse T-dépendante et la production des cytokines :** La réponse cellulaire est sous le contrôle de cytokines distinctes produites notamment par les sous population TCD4+ de type Th1, Th2, Th17

### L'immunomodulation par les antigènes hydatiques

La réponse immunitaire de l'hôte contre ce macroparasite serait sous ladépendance des antigènes hydatiques. Plusieurs études ont abordé cet aspect et ont décrit plusieurs molécules pourvues des propriétés immunomodulatrices. L'antigène 5 serait l'effecteur majeur de la production d'IFN- $\gamma$  et l'activation de la NO.

### La survie et échappement du parasite aux mécanismes immunitaires de l'hôte

La durée de vie de l'hydatide chez l'homme est très longue et peut atteindre les 53 ans (Siracusano *et al*, 2008). Cette infection durable conduit à une adaptation étroite du parasite à son hôte. Elle traduit également la mise en place de stratégies d'évasion pour échapper à la réponse immunitaire protectrice de l'hôte (Zhang *et al*, 2003 ; Siracusano *et al*, 2008).

Le parasite peut utiliser deux mécanismes pour échapper à la réponse immunitaire de l'hôte. Le premier est passif par l'enkystement qui protège le parasite des défenses cellulaires de l'hôte. Le deuxième actif implique une immunomodulation du système immunitaire de l'hôte (Zhang *et al*, 2003 ; Siracusano *et al*, 2008).

## II.15 . Prévention

Elle doit s'exercer à tous les niveaux de la chaîne épidémiologique.

**A - Eviter l'infestation de l'hôte définitif**

Il faut protéger le chien :

- Contre l'ingestion de larves :
  - Eviction des chiens des abattoirs et abattage contrôlé ;
  - Saisie et dénaturation des viandes porteuses de kystes ;
- Contre le développement des adultes à partir des larves ingérées : la vaccination
- Contre les vers adultes : utilisation de ténifuges (bromhydrate d'arécoline), suivis de la collection et de la destruction des fèces émises.

**B - Protection de l'hôte intermédiaire**

- Eviter le contact chien-mouton ;
- Capture et sacrifice des chiens errants ;
- Essais d'immunisation encore du domaine de la recherche.

**C - Eviter la contamination de l'homme**

Cette protection découle tout d'abord des mesures de prophylaxie générale précédemment exposées. S'y ajoutent des mesures individuelles d'hygiène :

- Eviter la promiscuité avec les chiens susceptibles d'être parasités ;
- Lavage soigneux des aliments crus, fruits, légumes susceptibles d'être contaminés.

De plus, il serait souhaitable d'effectuer périodiquement des tests sérologiques chez les sujets à risque hydatique élevé dans certaines régions (**Lariviere, 1987**).

# **Chapitre III : Matériel et Méthodes**



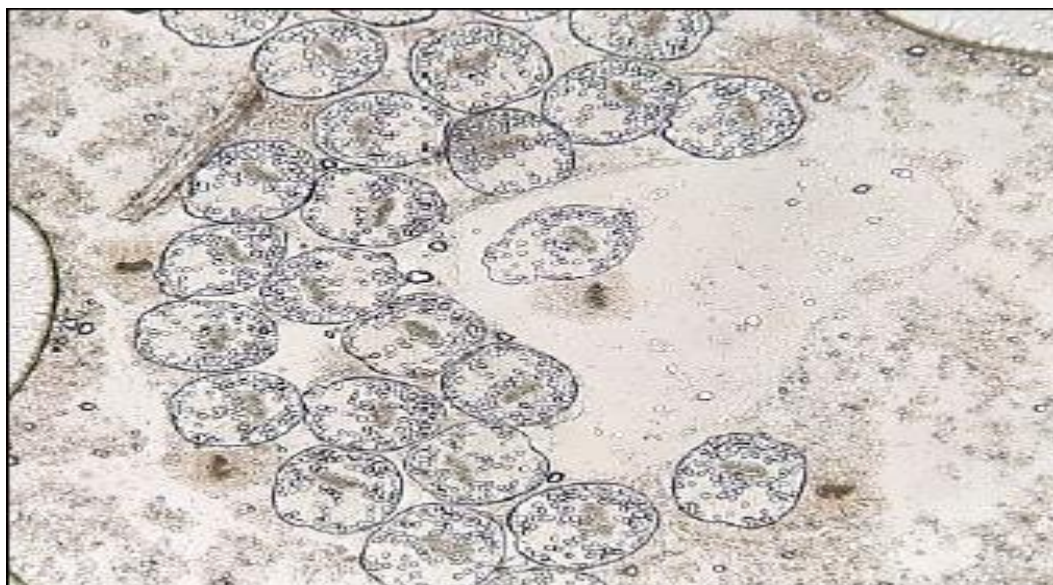
### III.1.Obtention du kyste hydatique

Le kyste hydatique pulmonaire ovin ayant fait l'objet de cette étude a été obtenu à partir d'un mouton naturellement infecté et abattu à l'abattoir. Le kyste hydatique a été rincé avec l'eau physiologique et acheminé dans une glacière à température +4°C. Le liquide hydatique a été obtenu par ponction dans des conditions aseptiques puis centrifugé à 3000 rpm pendant 15 minutes. Le surnageant est récupéré puis conservé à 20°C pour une utilisation ultérieure (Monteiro et al., 2010).

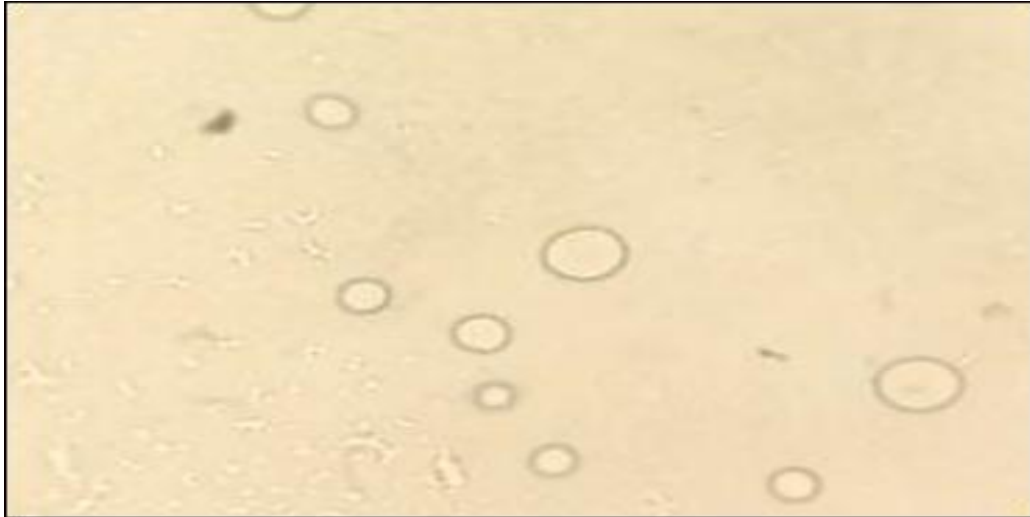
### III.2.Examen de fertilité du liquide hydatique

La fertilité d'un kyste hydatique est déterminée par la présence de protoscolex libres et viables dans le liquide hydatique. Quelques gouttes du liquide hydatique prélevées sont déposées sur une lame et recouvertes d'une lamelle, puis examinées sous le microscope optique à l'objectif (X10).

Les kystes qui contiennent des protoscolex sont considérés fertiles (**Figure 9**). Par contre, ceux qui n'en contiennent pas sont considérés stériles (acéphalocystes) (**Figure 10**) (Ould Ahmed Salem et al., 2010 ; Zeghir-Bouteldja et al., 2013).



**Figure 09** : Examens microscopique d'un protoscolex de kyste hydatique fertile



**Figure 10** : Examens microscopique de kyste hydatique stérile

### III.3.Examen de la viabilité des protoscolex par coloration

Une goutte de liquide hydatique fertile mélangée avec une goutte d'éosine à 0,1% ou bleu de méthylène 0,1% en solution dans l'eau distillée est placée entre lame et lamelle. Après quelques minutes, tous les protoscolex qui retiennent la coloration sont considérés comme morts, alors que ceux qui ne la retiennent pas sont considérés comme viables.

Le taux de viabilité est déterminé par comptage des protoscolex morts par rapport au nombre total des protoscolex déposés entre lame et lamelle (**Bouteldja, 2018**).

$$\text{Taux des protoscolex mort \%} = (n \times 100) / N$$

$$\text{Taux de viabilité \%} = 100\% - \text{taux de mortalité}$$

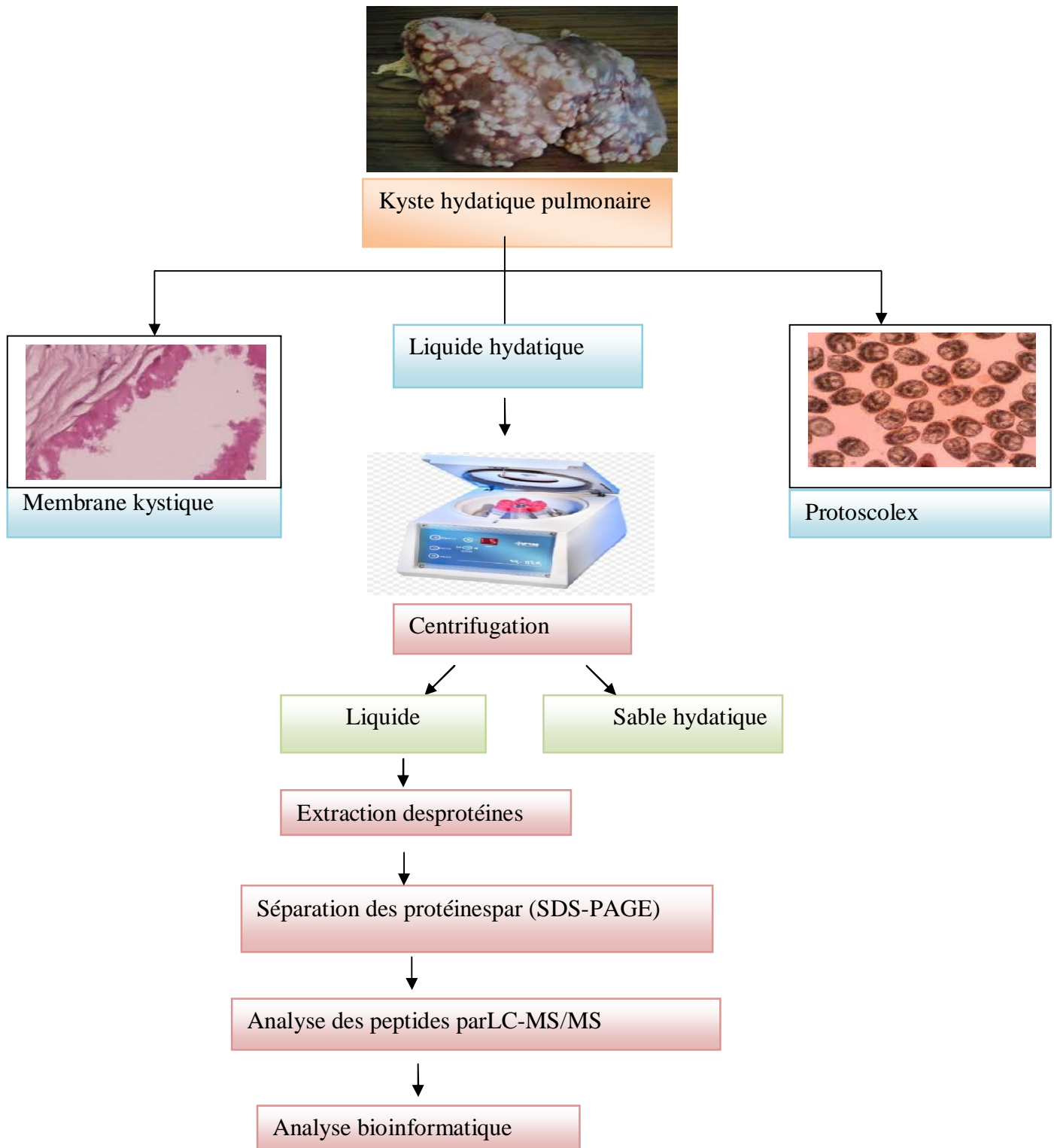
**Avec :**

**N** : Nombre total des protoscolex

**n** : Nombre des protoscolex morts

### III.4. Identification des protéines dans le liquide hydatique

L'identification et la caractérisation des protéines a été réalisée à la plateforme de protéomique dirigée par le Docteur S. Bousbata, institut de médecine et de biologie moléculaire. Université libre de Bruxelles selon la démarche expérimentale(Figure11)



**Figure 11** : La démarche expérimentale

### III.4.1.Extraction des protéines à partir du liquide hydatique

Les protéines du liquide hydatique ovin sont précipitées par addition d'un volume d'échantillon avec trois volumes d'acétone 100% (1V/3v). La précipitation des protéines est laissée pendant une nuit à -20°C. Le liquide hydatique en présence d'acétone est centrifugé à 10 000xg pendant 15 minutes à 4°C. Le précipité est lavé trois fois avec de l'acétone glaciale. L'acétone résiduel est éliminé par séchage à l'air libre et conservé à -80°C jusqu'à utilisation (Zeghir-bouteldja et al., 2017).

### III.4.2.Dosage des protéines par la méthode de pearce 660nm

Thermo Scientific Pierce 660nm Protein Assay est une méthode colorimétrique rapide et simple pour la quantification des protéines totales.

Des standards de concentration croissantes (25, 50, 125, 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000) µg/ml ont été ajoutés à des volumes de réactif Pierce mélangés et incubés à 22°C. Les valeurs d'absorbance de tous les échantillons ont été mesurées à 660nm (Antharavally et al., 2009).

### III.4.3.Electrophorèse sur gel de polyacrylamide de dodécyl sulfate de sodium (SDS-PAGE)

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide est un procédé de séparation des molécules en fonction de leur taille et de leur charge et permet d'estimer les poids moléculaires. Le SDS-PAGE implique le traitement de l'échantillon avec le SDS et un réducteur thiol généralement du β-mercaptoéthanol ou du dithiothréitol pour éliminer les effets de la conformation native des protéines sur la mobilité électrophorétique. La méthode de SDS-PAGE est appliquée selon la méthode Laemli (1970).

Cette étape est effectuée par une réduction des bandes dans 20 µl du tampon d'équilibration (équ Coastal buffer : urée, Tris, glycérol, SDS, bleu de bromophénol) avec du dithiothréitol (DTT) 2% soumis à une agitation pendant 10 min et une alkylation où les bandes réduites sont immergées dans 10 ml de solution contenant de l'iodoacétamide (IAA) 2.5% suivie par une agitation pendant 10 minutes.

Les échantillons sont mélangés avec du Laemli et mis à ébullition pendant 5 minutes. Les protéines sont séparées sur un gel SDS 12% à 120V pendant 120 minutes. Les bandes protéiques sont révélées par le bleu de Coomassie (Aziz et al., 2011).

#### III.4.4. La digestion enzymatique des protéines au niveau de gel

La digestion enzymatique se fait généralement par la trypsine, qui clive les protéines à l'extrémité carboxylique des acides amines lysine et l'arginine sauf s'ils sont suivis d'une proline, Elle permet d'obtenir des fragments de taille comprise entre 600 et 5000 DA compatible avec une analyse en LC-MS/MS.

Les extraits protéiques des liquides hydatiques sont soumis à un SDS-PAGE. Les bandes apparentes sont coupées manuellement en petites pièces et soumises à une digestion à la trypsine.

Le prélèvement des "bandes" se fait dans une chambre décontaminée (kératine free) (Shevchenko et al., 1996).

#### III.4.5. Extraction des fragments peptiques à partir du gel

Les morceaux de gel ont été découpés en fragments plus petits et décolorés deux fois en les incubant dans l'acétonitrile pendant 15 minutes à 37°C puis séchés par centrifugation. Un volume de dithiothreitol (DTT) dissout dans du bicarbonate d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ) suffisant pour couvrir les morceaux de gel a été ajouté, et les protéines ont été réduites pendant 1 h à 56 °C. Après refroidissement à température ambiante, la solution de DTT a été remplacée par le même volume d'iodoacétamide puis l'IAA et remplacé à nouveau par l'ajout d'un même volume d'acétonitrile. Les morceaux de gel ont été complètement séchés pendant 15 minutes. L'acétonitrile est récupéré et les tubes sont soumis à une évaporation de l'acétonitrile résiduel, les morceaux de gel sont réhydratés avec la trypsine modifiée.

Des volumes de 10 µl à 20 µl de bicarbonate d'ammonium sont ajoutés puis les pièces sont incubées à 37°C pendant une nuit. Après digestion des protéines, la réaction est stoppée par l'addition d'acide formique et les surnageants sont récupérés dans les tubes destinés à l'analyse LC-MS/MS (Shevchenko et al., 1996).

#### Principe de spectromètre de masse

Le spectromètre de masse est une technique d'analyse qui permet la détermination des masses moléculaires des composés analysés ainsi que leur identification et leur quantification.

Un spectromètre de masse est constitué d'une source d'ions, d'un analyseur de masse qui mesure le rapport masse /charge ( $m/z$ ) des analytes ionisés, et un détecteur qui enregistre le nombre d'ions à chaque valeur ( $m/z$ ) (Aebbersold et Mann, 2003).

### III.4.6. Identification des protéines par LC-MS/MS (liquide chromatographie–tandem mass spectrometry)

Les peptides tryptiques obtenus ont été fractionnés sur une nano-HPLC-nLCII (Thermo Fisher Scientific, Odense, Danemark) couplée à un QTOF Ultima mondial (Waters, Zellik, Belgique). Les peptides ont été chargés sur une colonne d'une longueur de 10 cm à 75 µm de diamètre interne, garnie de particules C18 de 3 µm de diamètre. La chromatographie inverse a été réalisée avec un système binaire d'un tampon consistant en 0.1% d'acides formiques AF (tampon A) et 95% d'acétonitrile dans 0.1% AF (tampon B) sur un gradient avec un débit de 300 nl/min. Le QTOF fonctionne dans le mode dépendant des données et des trois peptides les plus abondants. Dans ce contexte, 2 et 3 charges ont été sélectionnées. Les fichiers bruts ont été traités en utilisant le système "MASCOT Daemon" de la plateforme protéomique (institut de biologie et de médecine moléculaire de Gosselies, université libre de Bruxelles, Belgique selon la méthode de Danemark. Les spectres de fragmentation ont été recherchés sur la base de données "NCBI nr All" (Zeghir-bouteldja et al., 2017).

### III.4.7. Analyse bio-informatique

L'identification des protéines a été effectuée en comparaison avec la base de données NCBI nr All, en utilisant le logiciel MASCOT® de la plateforme protéomique de l'institut de biologie et de médecine moléculaire de Gosselies, université libre de Bruxelles (ULB), Royaume de Belgique selon la méthode du Danemark.

Le principe est basé sur la comparaison entre les spectres MS/MS expérimentaux bruts et des MS/MS générés *in silico* à partir de banques de séquences protéiques (Figure 12).

The screenshot shows the MASCOT MS/MS Ions Search web interface. The page title is "MASCOT MS/MS Ions Search". The URL is "www.matrixscience.com/cgi/search\_form.pl?FORMVER=2&SEARCH=MIS". The form includes the following fields and options:

- Your name:** razika
- Email:** bouteidja\_raz@yahoo.FR
- Search title:** (empty)
- Database(s):** Environmental\_EST, SwissProt, NCBInr, contaminants, cRAP
- Enzyme:** Trypsin
- Allow up to:** 1 missed cleavages
- Quantitation:** None
- Taxonomy:** All entries
- Fixed modifications:** Carbamidomethyl (C)
- Variable modifications:** Oxidation (M)
- Peptide tol. ±:** 1.2 Da
- #13C:** 0
- MS/MS tol. ±:** 0.6 Da
- Peptide charge:** 2+
- Nonisotopic:** Average
- Data file:** Cherchez un fichier (Aucun fichier choisi)
- Data format:** Mascot generic
- Precursor:** m/z
- Instrument:** Default
- Error tolerant:** (checkbox)
- Decoy:** (checkbox)
- Report top:** AUTO hits
- Start Search ...** and **Reset Form** buttons.

**Figure 12:** Fenêtre indiquant les différents paramètres du logiciel MASCOT ([www.matrixscience.com](http://www.matrixscience.com))

**Tableau5** : Les données nécessaires utilisées dans le logiciel MASCOT

Database	NCBIInr All
Threshold	p<0 ,05
Enzyme	Trypsin
Missed cleavages	1
Fixed modification	Cystein carbamidomethyl alkylation
Variable modification	Methionine oxidation
Peak	Monoisotope
Peptide Tolerance	50ppm on parent ion
Peptide charge	2+ and 3+

### III.4.8.Détermination de la fonction moléculaire

La fonction moléculaire des protéines a été recherchée selon gène ontology à partir de la base de données UniProtKB et QuickGO (<http://www.ebi.ac.uk/QuickGO/>) (**Figure 13**).

**Figure 13** : Fenêtre de la base de donnée Uniprot.



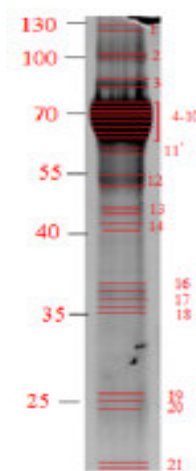
# **Chapitre IV : Résultats et discussion**

## 1. Résultats

### 1.1. Profil électrophorétique de l'extrait protéique du liquide hydatique

Le profil électrophorétique obtenue par SDS-PAGE après coloration par bleu de coomassie de l'extrait protéique obtenu a partir de kyste hydatique pulmonaire d'origine ovin est représenté sur la (**Figure 14**). Les marqueurs de poids moléculaires sont affichés sur la gauche alors que les bandes d'extrait protéique à droite.

Le SDS-PAGE a permis d'identifier un mélange protéique représenté par plusieurs bandes dans le poids moléculaire est compris 21kDa jusqu' a des valeurs supérieurs a 130 kDa avec un bande de protéines important dont le PM est compris entre 60 et 80 kDa .



**Figure 14** : Gels SDS-PAGE de l'extrait protéique obtenu a partir de kyste hydatique pulmonaire d'origine ovine.

## 1.2. Identification des protéines de liquide hydatique

Les protéines identifiées dans le liquide hydatique sont représenté dans les (tableaux 6 et 7).

**Tableau 6** : identification les protéines de parasite

Nom de protéines	Espèces	Fonction moléculaire
Serpin A3-1	<i>E.granolusus</i>	Inhibiteur de serine protease
Hemopixine	<i>E.granolusus</i>	Transport de l'héme
AgB su4	<i>E.granolusus</i>	-----
Ag 5	<i>E.granolusus</i>	Serine protease endopeptidase



**Tableau 7** :identification les protéines de l'hôte

Nom de protéines	Espèce
Serpin A3-1	<i>Ovis</i>
Serpin A3-3	<i>Bos taurus</i>
Serpin A3-6	<i>Bos taurus</i>
Serpin A3-7	<i>Ovis</i>
alpha-1-antiproteinase precursor	<i>Bos taurus</i>

## 1.3. Identification de la fonction moléculaire des SERPINS identifiés dans le liquide hydatique

La fonction moléculaire a été assignée à une activité inhibitrice de protéases. Ces SERPINES sont impliqués dans la régulation négative de l'activité des peptidases.

D'après les résultats présenter dans les tableaux, l'analyse permet d'identifier des peptides communs et d'autre spécifique entre l'hôte et parasite.

Gene Product	Symbol	Qualifier	GO Term
UniProtKB:U6FVI6	EGR_03125	involved_in	GO:0010466    negative regulation of peptidase activity
UniProtKB:U6FVI6	EGR_03125	enables	GO:0030414    peptidase inhibitor activity

**P** :Processus biologique

**F** : Fonction moléculaire

**Figure 15** : Identification des fonctions moléculaires

## 2. Discussion

Le liquide hydatique est constitué des produits de sécrétion et d'excrétion des protoscolex et de la couche germinale du kyste hydatique. Cependant, il contient des protéines essentielles à la survie du parasite et à l'évasion au système immunitaire de l'hôte.

L'analyse bioinformatique a permis d'identifier des protéines d'origine ovine et d'origine parasitaire soulignant le passage de certaines protéines de l'hôte à travers les membranes kystique suggérant leur implication dans la relation hôte /parasite (**Aziz et al.,2011**).

En effet, le parasite secrète des protéases afin de dégrader la matrice extracellulaire et les protéines de l'hôte afin de permettre son extension et son instauration au niveau de l'organe infecté. Toutefois le parasite secrète des inhibiteurs de protéases tels que les SERPINS pour inhiber les protéases produites par l'hôte. D'autres parts les cellules de l'hôte se protègent des protéases produites par le métacestode d'*Echinococcus granulosus* pour protégerle tissu environnant le kyste de la dégradation par les protéases parasitaires.Cependant, la production des endopeptidases et des inhibiteurs de protéases indique une dualité d'effet en faveur de la persistance du metacestode et son développent (**Azizet al.,2011 ; Sasaki,2016**).

---

Par ailleurs, il a été rapporté que les SERPINES sont impliqués dans l'immunité innée chez les mammifères, et dans le processus inflammatoire. De plus, la serpin est une protéine commune de l'hôte et parasites (**Mekouar et al., 2016**).

L'AgB et Ag5 sont impliqués dans différents mécanismes de l'interaction hôte/parasite permettant l'établissement de l'infection et la survie du parasite au sein de son hôte intermédiaire par inhibition des protéases par immunomodulation, dans le liquide hydatique l'antigène B quantitativement est le composant majeur par rapport à l'antigène 5 mais nettement moins immunitaire que ce dernier. Cependant son rôle dans la biologie des parasites n'est pas complètement élucidé mais elle semble impliquée dans l'induction de la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte. L'Ag B est un autre puissant inhibiteur de l'élastase des neutrophiles fortement exprimé dans le kyste hydatique, il a été signalé que l'AgB est impliquée dans l'induction de la réponse immunitaire de type Th2 et inhibe la migration des neutrophiles.

(**shepherde et al., 1991 ; siracusano et al., 2008**).

Dans le contexte de notre étude, l'analyse protéomique de liquide hydatique d'*E. multilocularis* a permis d'identifier deux gènes de serpine putative serpine 2Emu et serpin 3Emu. En plus de serpine Emu, trois protéines étaient localisées dans les fractions intracellulaire et excrétrice –sécrétoire du métacestode d'*E. multilocularis*. En outre la localisation du tissu parasitaire a indiqué que les trois protéines étaient localisées dans la couche germinale.

Le serpine oncosphérique Emu a une activité inhibitrice sur l'élastase, plasmine et la trypsine (**Sasaki, 2016**).

Par ailleurs, il existe plusieurs protéines communes dans le liquide hydatique d'*E. granulosus* et *E. multilocularis* qui sont l'antigène 5, cathepsine B et cystatine jouant un rôle d'inhibiteur de protéase (**chun-seobAhn et al., 2017**).

# **Conclusion**

## Conclusion

---

Le présent travail porte sur l'étude du rôle des inhibiteurs de protéase (SERPIN) dans la réponse immunitaire du métacestode, qui jouerait un rôle crucial dans les interactions hôte-pathogène et la régulation des réponses inflammatoires.

Nos résultats ont montré la présence des protéines d'origine ovine et parasitaire dans le liquide hydatique soulignant un système d'échange entre parasite et l'hôte et l'établissement d'une interaction entre l'hôte et le parasite contribuant ainsi à la survie à long terme des parasites, les protéines ont également des fonctions protectrices contre les enzymes protéolytiques.

L'analyse protéomique a permis d'identifier les inhibiteurs de protéase principalement (SERPIN) dans le liquide hydatique d'*E. granulosus* qui interviendrait dans l'instauration d'une infection chronique de l'échinococcose kystique.

En perspective, il serait intéressant d'étudier les mécanismes d'interaction des SERPINS *in vitro et in vivo*.

# **Références bibliographiques**



## Références bibliographiques

---

### A

**Antharavally, Babu S., et al.,** (2009). Quantitation of proteins using a dye–metal-based colorimetric protein assay. *Analytical biochemistry* 385.2 :342-345.

**Aebersold, R., Mann, M.** (2003). Mass spectrometry – based proteomics. *Nature*. 422, 198-207.

**Aziz A., Zhang W., Lib J., Loukasa A., McManus D.p., Mulvenna Ja.,** (2011). Proteomic characterisation of *Echinococcus granulosus* hydatid cyst fluid from sheep, cattle and humans. *J. proteom.* 74, 1560.

**Ahn C. S., Kim, J. G., Han X., Kang I., et Kong, Y.** (2017). Comparison of *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus* hydatid fluid proteome provides molecular strategies for specialized host-parasite interactions. *Oncotarget*, 8(57), 97009.

**Altintas N., D'amelio S., Nakao, M., Romig T., Yolasigmaz, A., Gunes K, Turk M., Busi M., Huttner, M., Sevcova D., Ito A., Altintas N., Dubinsky p.** (2009). Cystic echinococcosis in Turkey : genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitol Res.* jul ;105(1) :145-54.

### B

**Benhamdane I** (2013). Traitement médicale du kyste hydatique .thèse de doctora en médecine .université Mohamed V ,faculté de médecine Rabat, 70.

**Budke, Christine M., A. Clinton White Jr, et Garcia, Hector.** (2009). Zoonotic larval cestode infection : neglected, neglected tropical diseases ? *PLoS Negl. Trop. Dis.* 3, e319.

**Bezzari, M., Bigaignon, G., Nacherga J., Laasouk., Gigote J.F. et Ayadil A.** (1999). L'hydatidose : Echinococcose d'importance en Belgique. *Louvain Med.* 118, 64-71.

**Benning, L.N., Whisstock, J.C., Sun, J., Bird, P.I., et Bottomley, S.P.** (2004). The human serpin proteinase inhibitor-9 self-associates at physiological temperatures. *Protein Sci* 13, 1859-1864.

**Bourée P., F. Bisaro.** (2007). Hydatidose: aspects épidémiologique et diagnostique. *Antibiotiques* 9.4: 237-245.

## Références bibliographiques

---

**Brunetti E., Kern P., Vuitton, D.A.** (2010). WHO-IWGE Expert consensus for of the daignosis and treatment of cystic and alveolar and echinococcosis in humans. *Acta Trop.* 114,1-16.

### C

**Carmena D., S'anchez-serrano L.p., et Barbero Mart'inez I.** (2008). Echinococcus granulosus infection in Spain'' Zoonoses and public Health. 55(3), 156-165.

**Clemente M., Corigliano M. G., Pariani S. A., Sánchez-López E. F., Sander V. A., et Ramos-Duarte V. A.** (2019). Plant serine protease inhibitors: biotechnology application in agriculture and molecular farming. *International journal of molecular sciences*, 20(6), 1345.

**Craige P.S. et al.** (2007). Prevention and control of cystic echinococcosis. *Lancet Infect. Dis.* 7(6) :385-94.

**Carmena D., Benito A., Martínez J., and Guisantes J. A.** (2005). Preliminary study of the presence of antibodies against excretory-secretory antigens from protoscolexes of Echinococcus granulosus in dogs with intestinal echinococcosis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(3), 311-317.

### D

**Dincer S I., Demir A., Sayar, A., Gunluoglu, MZ, Kara, HV et Gurses, A.** (2006) Surgical treatment of pulmonary hydatid disease : a comparison of children and adults. *J. Pediatr. Surg.*, 2006 Jul ;41(7) :1250-6.

**Dobó J., Swanson R., Salvesen G.S., Olson S.T. and Gettins P.G.** (2006). Cytokine response modifier 1 inhibition of initiator caspases results in covalent complex formation and dissociation of the caspase tetramer. *J Biol Chem*, 281 (50) : 38781 – 38790.

**Dakkak A.** (2010). Echinococcosis/hydatidosis : a severe threat in Mediterranean countries. *vet parasitol.* 2010 Nov 24 ;174(1-2) :2-11.

**Delunardo F., Ortona, E., Margutti, P., Perdicchio, M., Vacirca, D., Teggi, A., ... & Siracusano, A.** (2010). Identification of a novel 19 kDa Echinococcus granulosus antigen. *Acta tropica.* 113(1) :42-7.

## Références bibliographiques

---

**De la Fuente, J., Almazán, C., Canales, M., de la Lastra, J. M. P., Kocan, K. M., & Willadsen, P.** (2007). A ten-year review of commercial vaccine performance for control of tick infestations on cattle. *Animal Health Research Reviews*, 8(1), 23-28.

### E

**Emmerich, J.** (1996). Les serpines, une classe de protéines fonctionnellement importantes : le paradigme de l'alpha-1-antitrypsine. *la Revue de médecine interne*, 17(2), 176-179.

**Eckert J., Gemmel, M.A., Meslin, F.x., Pawlowski, Z.S.** (2001)-(eds), WHO/OIE Manuel on echinococcosis in human and animals : a public health problem of global concern. OIE/WHO. Paris, p :20-71.

**Euzeby J.** (1966). Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs incidences sur la pathologie humaine . Tome 2, maladies dues aux plathelminthes. P : 531-639.

**Euzeby J.** (1971). les échinococcoses animales et leur relation avec les échinococcoses de l'homme. Edition Vigot Frères. Paris, 163p.

**Euzeby J.** (1984). "Les parasitoses humaines d'origine animale, caractères épidémiologiques". Ed. Flammarion Médecines-Sciences, p28-38

**Eckret J., Deplazes P.** (2004). Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin Microbiol Rev*, 17, 107-35.

**Eckert J., Gemmel M.A., Meslin F.X., Pawlowski Z.S.** (2001). WHO/OIE Manual on Echinococcosis in humans and animals : a public health problem of global concern, paris : International Office of Epizootics, the world organization for Animal Health, paris, n° 261, 20-71.

**Esteves, A., Señorale, M., & Ehrlich, R.** (2003). A tropomyosin gene is differentially expressed in the larval stage of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology research*, 89(6), 501-502.

### F

## Références bibliographiques

---

**Farley K, Stolley JM, Zhao P, Cooley J, and Remold-O'Donnell E.** (2012). A serpinB1 regulatory mechanism is essential for restricting neutrophil extracellular trap generation. *J Immunol* 189:4574-4581. doi:10.4049/jimmunol.1201167.

**Feki, W., Ghozzi, S., Khiari, R., Ghorbel, J., Elarbi, H., Khouni, H., & Rais, N. B.** (2008). Multiple unusual locations of hydatid cysts including bladder, psoas muscle and liver. *Parasitology International*, 57(1), 83-86.

**Fuente, J. de la, Almazán, C., Canales, M., Pérez de la Lastra, J. M., Kocan, K. M., & Willadsen, P.** (2007). A ten-year review of commercial vaccine performance for control of tick infestations on cattle. *Animal Health Research Reviews*, 8(01), 23–28. doi:10.1017/s1466252307001193

**Frider, B., Larrieu, E., Odriozola, M.** (1999). Long-term outcome of asymptomatic liver hydatidosis. *J. Hepatol.* 30, 228-231.

### G

**Gettins, P.G.W.** (2002a). Serpin structure, mechanism, and function. *Chem Rev* 102:4751–4804.

**Gettins, P. G.** (2002). Serpin structure, mechanism, and function. *Chemical reviews*, 102(12), 4751-4804.

**Gettins P. G., & Olson S. T.** (2016). Inhibitory serpins. New insights into their folding, polymerization, regulation and clearance. *Biochemical Journal*, 473(15), 2273-2293.

**Gooptu B., Hazes, B., Chang W.S., Oafforn T.R., Carrell R.W., Read R.J., & Lomas, D.A.** (2000). Inactive conformation of the serpin alpha(1)-antichymotrypsin indicates two stage insertion of the reactive loop: Implications for inhibitory function and conformational disease. *Proc Natl Acad Sci*, 97 : 67 – 72.

**Goulas T, Ksiazek M, Garcia-Ferrer I, Sochaj-Gregorczyk AM, Waligorska I, Wasylewski M, Potempa J, and Gomis- Ruth FX.** (2017). A structure-derived snare-trap mechanism of a multispecific serpin from the dysbiotic human oral microbiome. *J Biol Chem* 292:10883-10898. doi:10.1074/jbc.M117.786533.

**González-Sapienza, G., Lorenzo, C., & Nieto, A.** (2000). Improved immunodiagnosis of cystic hydatid disease by using a synthetic peptide with higher diagnostic value than that of its parent protein, Echinococcus granulosus antigen B. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(11), 3979-3983.

### H

## Références bibliographiques

---

**He Y, Wang Y, Yang F, and Jiang H.**(2017). Manducase xtrahemolymph protease-1, activated by an unconventional non-proteolytic mechanism, mediates immune responses. *Insect Biochem Mol Biol* 84:23-31. 10.1016/j.ibmb.2017.03.008.

**Hamrioui B.** et al.(1988).Caractère physicochimique de la fraction 5 du liquide hydatique. *Arch.Inst.Past.Alg.*,56:129-54.

**Hopkins P. C. R., Carrell R. W. & Stone, S. R.** (1993). Effects of mutations in the hinge region of serpins. *Biochemistry*, 32, 7650-7657.

### I

**Irving JA, Pike RN, Lesk AM, et Whisstock JC.**(2000). Phylogeny of the serpin superfamily : implications of patterns of amino acid conservation for structure and function. *Genome Res*; 10 : 1845– 1864.

### K

**Keshmiri, M., Baharvahdat, H., Fattahi, S. H., Davachi, B., Dabiri, R. H., Baradaran, H., Rajabzadeh, F.**(2001). Albendazole versus placebo in treatment of echinococcosis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 95(2), 190-4.

**Khabiri, A. R., Bagheri, F., Assmar, M., & Siavashi, M. R.** (2006). Analysis of specific IgE and IgG subclass antibodies for diagnosis of *Echinococcus granulosus*. *Parasite Immunology*, 28(8), 357-362.

**Khan M. S., Singh P., Azhar A., Naseem, A., Rashid Q., Kabir M. A., & Jairajpuri M. A.** (2011). Serpin inhibition mechanism: a delicate balance between native metastable state and polymerization. *Journal of amino acids*, 2011.

### L

**Lawrence D.A., Ginsberg D., Day D.E., Berkenpas, M.B., Verhamme I.M., J-O., K., & Shore J.D.** (1995). Serpin-protease complexes are trapped as stable acyl-enzyme intermediates. *J Biol Chem* 270, 25309 – 25312.

**Larrieu, E. J., Frider, B.**(2001). Human cystic echinococcosis : contributions to the natural history of the disease. *Ann Trop Med Parasitol*, 95, 679-687.

**Lomas DA, Evans DL, Finch JT, and Carrell RW.** 1992. The Mechanism of Z-Alpha-1-Antitrypsin Accumulation in the 412 Liver. *Nature* 357:605-607. Doi 10.1038/357605a0

## Références bibliographiques

---

**Lomas D.A., Elliott P.R., Chang W., Wardell M.R. & Carrell R.W.**(1995). Preparation and characterization of latent alpha(1)-antitrypsin. *J Biol Chem* 270 : 5282 – 5288.

**Lightowers M-W., D.Y Liu A., Haralambous A. and Rickard M.D.**(1989). subunit composition and specificity of the major cyst fluid antigens of *Echinococcus granulosus*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 37 : 171-82.

**Laemmli, U.K.** (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970, 227, 680-5.

**Li Y., Xu H., Chen J., Gan W., Wu W., Hu X.**(2012). Gene cloning, expression, and localization of Ag5 in the cycle of *Echinococcus granulosus*. *Parasitol Res.* 110, 2315-2323.

**Lariviere M., Beuvais B., Derouin F., Traore F.**, 1987 - *Parasitologie médicale* Ed. marketing, 238 p.

### M

**Mangan M.S.J. Kaiserman, D., et Bird P.I.**(2008). The role of serpins in vertebrate immunity. *Tissue Antigens* 72, 1 – 10.

**Meekins DA, Kanost MR, and Michel K.**(2017). Serpins in arthropod biology. *Semin Cell Dev Biol* 62:105-119. [10.1016/j.semcdb.2016.09.001](https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.09.001).

**Mkaouar, H., Akermi, N., Mariaule, V., Boudebouze, S., Gaci, N., Szukala, F., ... Rhimi, M.** (2016). Siropins, novel serine protease inhibitors from gut microbiota acting on human proteases involved in inflammatory bowel diseases. *Microbial Cell Factories*, 15(1). doi:10.1186/s12934-016-0596-2.

**Menezes da Silva A.**(2010). In : *Gastroenterology Research and practice* ; Senturk, H., Ed; Hindawi Publishing Corporation :cairo. 1-9.

**Morseth D.J.**, (1965). “Ultrastructure of developing taeniid embryophores and associated structures”. *Experimental Parasitology*, , 16, 207-216.

**Mufit, k., Nejat, I., Mercan, S., Ibrahim, K., Mete, U. Y., Yuksel, K.**(1998). Growth of multiple hydatid cysts evaluated by computed tomography. *J. Clin Neurosci.* 5 , 215-217.

**Monteiro K. M., de Carvalho, M. O., Zaha, A., & Ferreira, H. B.** (2010). Proteomic analysis of the *Echinococcus granulosus* metacestode during infection of its intermediate host. *Proteomics*, 10(10), 1985-1999.

## Références bibliographiques

---

**McManus, D. P., Zhang, W., Li, J., & Bartley, P. B.** (2003). Echinococcosis. *The Lancet*, 362(9392), 1295-1304.

### N

**Nathaniel R., MacNeill A. L., Wang Y. X., Turner P. C., & Moyer R. W.** (2004). Cowpox virus CrmA, Myxoma virus SERP2 and baculovirus P35 are not functionally interchangeable caspase inhibitors in poxvirus infections. *Journal of general virology*, 85(5), 1267-1278.

### O

**Olson S.T., et Gettins P.G.W.** (2011). Regulation of Proteases by Protein Inhibitors of the Serpin Superfamily. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, Vol. 99. Elsevier Inc. 185.

**Ould Ahmed Salem C.B, Schneegans F, Chollet J.Y.** (2010). Étude des aspects lésionnels de l'échinococcose hydatique chez l'Homme en Mauritanie : fertilité, histologie des kystes hydatiques et viabilité des protoscolex. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* (2011) 104:1-5

**Ortona, E., Margutti, P., Delunardo, F., Vaccari, S., Rigano, R., Profumo, E., ... & Siracusano, A.** (2003). Molecular and immunological characterization of the c-terminal region of a new *Echinococcus granulosus* Heat Shock protein 70. *Parasite immunol.*, 25(3) :119-26.

**Ortona, E., Margutti, P., Delunardo, F., Nobili, V., Profumo, E., Rigano, R., & Siracusano, A.** (2005). Screening of an *Echinococcus granulosus* cDNA library with IgG4 from patients with cystic echinococcosis identifies a new tegumental protein involved in the immune response. *Clin. Exp. Immunol.*, 142(3) :528-38.

### P

**Pearce M.C., Powers G.A., Feil S.C., Hansen G, M., Parker W., & Bottomley, S. P.** (2010). Identification and Characterization of a Misfolded Monomeric Serpin Formed at Physiological Temperature. *J. Mol. Biol.* 403, 459 – 467.

**Pereira, R. S., Rodrigues, V. A. A., Furtado, W., Gueiros, S., Pereira, G. S., & Avila-Campos, M. J.** (2017). Microbial analysis of root canal and periradicular lesion associated to teeth with endodontic failure. *Anaerobe*, 48, 12-18.

## Références bibliographiques

---

**Possenti, A., Manzano-Román, R., Sánchez-Ovejero, C., Boufana, B., La Torre, G., Siles-**

**Lucas, M., Casulli, A.** (2017). Potential Risk Factors Associated with Human Cystic Echinococcosis : systematic Review and Meta-analysis, 11(7) : e0005801.

**Pedrosa, I., Saiz, A., Arrazola, J., Ferreiros, J., Pedrosa, C.S.** (2000). Hydatid disease : radiologic and complications. *Radiographics*. 20(3). 795-817.

**Potempa J., Korzus E. & Travis J.** (1994) The serpin superfamily of proteinase inhibitors: structure, function, and regulation. *J Biol Chem* 269, 15957-60.

### R

**Rao Mala, B., et al.** (1998). Aspects moléculaires et biotechnologiques des protéases microbiennes. *Revue de microbiologie et de biologie moléculaire* 62.3: 597-635.

**Ripoch, M.** (2009). La lutte contre l'hydatidose en Sardaigne. thèse de doctorat en médecine vétérinaire. université de Toulouse 3, 97.

**Roberts, T. H.** (2003). Differential gene expression for suicide-substrate serine proteinase inhibitors (serpins) in vegetative and grain tissues of barley. *Journal of Experimental Botany*, 54(391), 2251–2263. doi:10.1093/jxb/erg248.

**Roberts T. H., Ahn J. W., Lampl, N., & Fluhr R.** (2011). Plants and the study of serpin biology. *Methods in enzymology*, 499, 347-366.

### S

**Sajid, M., & McKerrow, J. H.** (2002). Cysteine proteases of parasitic organisms. *Molecular and biochemical parasitology*, 120(1), 1-21.

**Salem, C. O. A., Schneegans, F., & Chollet, J. Y.** (2011). Étude des aspects lésionnels de l'échinococcose hydatique chez l'Homme en Mauritanie: fertilité, histologie des kystes hydatiques et viabilité des protoscolex. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 104(1), 1-5.

**Sasaki, M., & Sako, Y.** (2017). The putative serine protease inhibitor (serpin) gene encoded on *Echinococcus multilocularis* genome and their expressions in metacestodal stage. *Veterinary parasitology*, 233, 20-24.



## Références bibliographiques

---

**Silverman, G. A., Bird, P. I., Carrell, R. W., Church, F. C., Coughlin, P. B., Gettins, P. G. W., Whisstock, J. C.** (2001). The Serpins Are an Expanding Superfamily of Structurally Similar but Functionally Diverse Proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 276(36), 33293–33296. doi:10.1074/jbc.r100016200.

**Siracusano, A., Ortona, E., & Rigano, R.** (2002). Molecular and cellular tools in human cystic echinococcosis. *Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders*, 2(3), 235-245.

**Siracusano, A., Margutti, P., Delunardo, F., Profumo, E., Riganò, R., Buttari, B., & Ortona, E.** (2008). Molecular cross-talk in host-parasite relationships: the intriguing immunomodulatory role of Echinococcus antigen B in cystic echinococcosis. *Int. J. Parasitol.*, 38(12) :137-6.

**Siracusano, A., Delunardo, F., Teggi, A., & Ortona, E.** (2012). Host-parasite relationship in cystic echinococcosis: an evolving story. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012.

**Salinas G., Fernández V., Fernández C., & Selkirk, M. E.** (1998). Echinococcus granulosus: cloning of a thioredoxin peroxidase. *Experimental Parasitology*, 90(3), 298-301.

**Shevchenko, A., Wilm, M., Vorm, O., Mann, M.** (1996). Mass spectrometric sequencing of proteins in silver-stained polyacrylamide gels. *Analytical Chemistry*, 68(5), 850-858.

**Schechter I. & Berger A.** (1967). On the size of the active site in proteases. I. Papain. *Biochem Biophys Res Commun* 27 (2) : 157 – 62.

**Shepherd J. C., Aitken A., McManus, D. P.** (1991). A protein secreted in vivo by Echinococcus granulosus inhibits elastase activity and neutrophil chemotaxis. *Mol Biochem Parasitol.* 44, 81-90.

### T

**Thompson R.C.A., Lymbery A.J.** (1995) 'Variation in Echinococcus: towards a taxonomic revision of the genus.', *Advances in Parasitology*, 35, pp. 145–176.

**Thompson, R. C. A.** (2017). Biology and systematics of Echinococcus. *Advances in parasitology*, 95, 65-109.

## Références bibliographiques

---

**Touil-Boukoffa C., Bauvois B., Sancéau J., Hamrioui B., & Wietzerbin, J.** (1998). Production of nitric oxide (NO) in human hydatidosis. Relationship between nitrite production and interferon- $\gamma$  levels *Biochimie*, 80 :739-44.

**Tirloni, L., Kim, T. K., Coutinho, M. L., Ali, A., Seixas, A., Termignoni, C., ... da Silva Vaz, I.** (2016). The putative role of Rhipicephalus microplus salivary serpins in the tick-host relationship. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 71, 12–28. doi:10.1016/j.ibmb.2016.01.004.

**Tirloni, L., Reck, J., Terra, R. M. S., Martins, J. R., Mulenga, A., Sherman, N. E., ... da Silva Vaz, I.** (2014). Proteomic Analysis of Cattle Tick Rhipicephalus (Boophilus) microplus Saliva: A Comparison between Partially and Fully Engorged Females. *PLoS ONE*, 9(4), e94831. doi:10.1371/journal.pone.0094831.

### V

**Virginio V. G., Monteiro K. M., Drumond F., de Carvalho M. O., Vargas D. M., Zaha, A., & Ferreira, H. B.** (2012). Excretory/secretory products from in vitro-cultured Echinococcus granulosus protoscoleces. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 183(1):15-22.

### W

**Wang, Y., He, T., Wen, X., Li, T., Waili, A., Zhang, W., Xu, V., Vuitton, D. A., Rogan, M. T., Wen, H., Craig, P. S.** (2006). Post-survey follow-up for human cystic echinococcosis in northwest China. *Acta Trop.* 98, 43-51.

**Wejih, D., Ramzi, N., Karim, A., & Chadli, D.** (2017). Le kyste hydatique du foie. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2017(491), 31-37.

**WHO Informal working group on Echinococcosis** (2001). Guidelines for treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Bull. World Health Organ.*, 74 :231-42.

**Wright, H. T. & Scarsdale, J. N.** (1995). Structural basis for serpin inhibitor activity. *Proteins*, 22, 210-225. **Wyllie, A.** (1998). An endonuclease at least. *Nature*, 391, 20-21.

### X

**Xiao, N., Qiu, J., Nakao, M., Li, T., Yang, W., Chen, X., Schantz, P. M.,**

## Références bibliographiques

---

**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, 693–701.

### Y

**Yang Y., Yunjun W., YA Nanc., Vallée I., Boireau P., Ming Yuan L.** (2015). proteases of parasitic helminths. *coréen J Parasitol*, 53(1), 1-11.

**Yu, R.Y., Sun, T., Li, Z. et al.** (2006). Community surveys and risk factor analysis of human alveolar and cystic echinococcosis in Ningxia Hui Autonomous Region, China, *Bulletin of the world health organization* .84(9), 714-721.

### Z

**Zhang, W., Li, J., & McManus, D. P.** (2003). concepts in immunology and diagnosis of hydatid disease. *Clin. Microbio. Rev.*, 16(1) : 18-36.

**Zhang, W., Wen, H., Li, J., Lin, R., & McManus, D. P.** (2012). Immunology and immunodiagnosis of cystic echinococcosis: an update. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012.

**Zeghire – Bouteldja R., Amri M., Bouaziz S., Mezioug D., Touil-Boukoffa C.** (2013). Comparative study of nitric oxide (NO) production during human hydatidosis : relationship with cystic fluid fertility. *parasitology Res.*

### Zeghir-

**Bouteldja, R., Polomé, A., Bousbata, S., Touil Boukoffa, C.** (2017). Comparative proteome profiling of hydatid fluid from Algerian patients reveals cyst location related variation in *Echinococcus granulosus*. *Acta Tropica*. 171, 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.03.034>

**Zeghir-Bouteldja, R.** (2018). Étude des effets du monoxyde d'azote in vivo, in vitro et in situ au cours des localisations fréquentes et rares de l'hydatidose: Apport de l'analyse protéomique du liquide hydatique. Th.doc.: Sciences de la Nature et de la vie, BABEZZOUAR, université de BABEZZOUAR, 47.

## Résumé

L'hydatidose est une parasitose cosmopolite causées par la forme larvaire d'un cestode *Echinococcus granulosus*, Elle est caractérisée par la persistance chez l'hôte. Ce présent travail a pour objectif l'identification *in silico* des serpinines dans le liquide hydatique ovin. L'analyse a permis d'identifier des protéines d'origine parasitaire telque Ag5 et AgB su 4 et ovine telque Serpin A3-1 , Serpin A3-3, Serpin A3-6, Serpin A3-7 indiquant un échangeur moléculaire entre parasite et son hôte intermédiaire en faveur de sa persistance . La production de protéases pour digérer les protéines de l'hôte et des inhibiteurs de serine protéases pour inhiber les protéases de l'hôte constituerait un mécanisme d'échappement en faveur de la persistance de la parasitose chez l'hôte intermédiaire

**Mots clé :** *Echinococcus granulosus*, liquide hydatique , SERPIN, Protéomique.

## Abstract

Hydatidosis is a cosmopolitan parasitoses caused by the larval form of a cestode *Echinococcus granulosus*. it is characterized by the persistence inside the hoste.the present work aimed to the *in silico* identification of SERPINS in the ovine hydatid fluid. Our analysis allowed identification of proteins from both origins. We have identified Ag5 et AgB su 4 from *Echinococcus granulosus* and Serpin A3-1, Serpin A3-3, Serpin A3-6, Serpin A3-7 from ovine intermediate host. This dat indicated the protein exchange between metacestode and intemediate host. The production of proteases to digeste the host proteins and the SERPIN to inhibit the proteases contitutes un evasion strategy in favour to the persistence of the parasitoses inside the intermediate host.

**Key words :** *Echinococcus granulosus*, hydatid fluid, SERPIN, Protéomics.

## ملخص

مرض الكيس المائي هو مرض عالمي يسببه الشكل اليرقي للديدان الخيطية الشوكية المحببة. يتميز بثبوته داخل العائل . يهدف هذا العمل إلى التعرف على SERPINS الموجودة في السائل العداري. حدد التحليل البروتيني بروتينات من أصل طفيلي مثل Ag 5,AgB والأغنام مثل 1-serpinA3-serpinA3-3, Serpin A3-3, serpin A3-6, serpin A3-7 مما يشير إلى التبادل الجزئي بين الطفيل و مضيفه الوسيط لصالح ثباته. يعتقد أن إنتاج البروتياز لهضم بروتياز المضيف ومثبطات SERPINS لتثبيط بروتياز المضيف هو آلية هروب لاستمرار الطفيليات في الوسيط.

**الكلمات الدالة :** الكيس المائي, السائل العداري, تحليل البروتين, SERPIN