

NIVEAUX D'INFESTATION PAR LES ANISAKIDAE CHEZ SEPT ESPECES DE POISSON PRELEVEES AU STADE DE LA DISTRIBUTION EN FRANCE

Mélanie Gay^{1*}, Renaud Lailier², Odile Bourgau¹, Laurence Rudloff³, Solène Guillotteau³, Graziella Midelet¹

Auteur correspondant : melanie.gay@anses.fr

- ¹ Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, unité Bactériologie et parasitologie des produits de la pêche et de l'aquaculture, Boulogne-sur-Mer, France
- ² Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Maisons-Alfort, France
- ³ Direction générale de l'Alimentation, Bureau des produits de la mer et d'eau douce, Paris, France

Résumé

Les nématodes de la famille des Anisakidae sont présents au stade larvaire chez de nombreuses espèces de poissons et céphalopodes fréquemment consommées en France. Ces parasites peuvent induire des pathologies digestives et/ou allergiques chez l'Homme suite à la consommation de produits de la pêche infestés. L'objectif du plan de surveillance 2017 était d'estimer les niveaux d'infestation par ces parasites, des poissons mis sur le marché, quelle que soit leur présentation au consommateur final, et par conséquent, de contribuer à l'évaluation de l'exposition du consommateur. Les niveaux d'infestation observés selon des méthodes de détection non destructives (utilisées par les professionnels) et par une méthode de détection destructive et exhaustive ont été comparés. Sept espèces de poissons d'importance commerciale ont été sélectionnées et 205 échantillons ont été analysés. Les prévalences d'infestation observées par la méthode exhaustive variaient entre 29,7 % (lieu noir) et 88,9 % (merlan) et étaient significativement différentes entre les espèces de poisson. Le lieu noir présentait les nombres de parasites moyen et maximal les plus faibles (4 et 16) et le merlu les plus importants (132,1 et plus de 906). Les flancs des poissons étaient significativement plus infestés que les filets. Les parasites qui ont été identifiés appartenaient majoritairement à l'espèce *Anisakis simplex*.

Mots clés : surveillance, Anisakidae, produits de la pêche, prévalence, méthodes de détection

Abstract

Anisakidae infestation levels in seven fish species at the retail stage in France

Nematodes belonging to the Anisakidae family are present, at the larval stage, in numerous fish and cephalopod species that are frequently consumed in France. These parasites may induce digestive and/or allergic pathologies in humans following the consumption of infested seafood products. The objective of the 2017 surveillance program was to estimate Anisakidae infestation levels in seafood at the retail stage, whatever the presentation to the ultimate consumer and thus to assess the consumer's exposure. These infestation levels were obtained with noninvasive detection methods (used by seafood professionals) and with an invasive and exhaustive detection method and were then compared. Seven commercially important fish species were selected and 205 samples were analyzed. Infestation prevalences varied between 29,7 % (saithe) and 88,9 % (whiting) and were significantly different between fish species. Saithe displayed the lowest mean and maximum number of parasites (4 and 16) and hake the highest (132,1 and more than 906). Fish belly flaps were significantly more infested than the fillets. The identified parasites mainly belonged to the species *Anisakis simplex*.

Keywords : surveillance, Anisakidae, seafood, prevalence, detection methods

Les nématodes de la famille des Anisakidae ont été décrits chez plus de 200 espèces de poissons au stade larvaire (Mattiucci and Nascetti 2008). Ces parasites ont un cycle de vie¹ impliquant plusieurs hôtes, dont un crustacé en tant qu'hôte intermédiaire, un ou plusieurs poissons ou céphalopodes en tant qu'hôte paraténique et soit un mammifère marin, soit un oiseau piscivore en tant qu'hôte définitif (EFSA 2010). Ces parasites peuvent induire des pathologies digestives et/ou allergiques chez l'Homme suite à la consommation de produits de la pêche infestés (Audicana and Kennedy 2008). En 2018, Yera et al. ont réalisé une étude rétrospective pour recenser les cas d'anisakidose en France entre 2010 et 2014 (Yera et al. 2018). L'incidence obtenue était de 3,8 cas par an pour les pathologies digestives et 7,4 cas par an en incluant les pathologies allergiques. Ces auteurs indiquaient que l'incidence des cas digestifs avait diminué par rapport à une précédente étude (Hubert, Bacou, and Belveze 1989). En revanche, ils recensaient, pour la première fois en France, des cas d'anisakidose allergique et concluaient sur la nécessité de mettre en place en France une meilleure évaluation du risque lié à ces parasites. A l'échelle mondiale, plus de 2000 cas humains d'anisakidose sont diagnostiqués chaque année. Ce chiffre est sous-estimé du fait que la plupart des cas d'infestation ou de réaction allergique ne font pas l'objet d'un diagnostic.

Récemment, plusieurs programmes de recherche ont été menés pour évaluer la répartition de ces parasites dans les produits de la pêche consommés en France ou en Europe. Dans le cadre du

¹ <https://www.cdc.gov/parasites/anisakiasis/biology.html>

programme national Fish-Parasites (ANR-10-ALIA-004), 1 768 poissons appartenant à 18 espèces ont été analysés (Gay, 2018, Communication personnelle). Par ailleurs, le programme PARASITE (7ème PCRD, GA no. 312068) a permis l'analyse de 17 760 poissons appartenant à 16 espèces. Dans les deux programmes, des espèces d'importance économique ont été sélectionnées. Les données de prévalence et de nombres de parasites ont été relevées par organe infesté. Elles ont été analysées de façon à mettre en évidence l'influence de facteurs externes (lieu et date de pêche, espèce et taille de poisson) et internes (localisation des parasites dans le poisson et espèces de parasites). Dans les deux cas, des prévalences (proportion d'individus infestés par rapport aux individus analysés) élevées ont été observées. Ces parasites sont majoritairement répartis dans les viscères des poissons, mais ils peuvent également être présents dans les filets. Ces études épidémiologiques ont été menées le plus en amont possible de la filière de transformation des produits de la pêche (participation à des campagnes de pêche scientifiques, achat direct aux pêcheurs). Ces données ont fourni une vision des niveaux d'infestation des produits de la pêche avant transformation et tri.

Plusieurs règlements du « Paquet Hygiène » font mention des mesures à mettre en place pour limiter le risque lié à ces parasites. Ainsi, les règlements (CE) n° 2074/2005 et 853/2004 (Parlement européen 2004, 2005) indiquent la nécessité d'un contrôle visuel sur un nombre représentatif d'échantillons et d'un éventuel traitement en fonction de l'origine (sauvage, élevage) et usage auquel ils sont destinés (consommation crue ou peu cuite), effectué par du personnel qualifié, pour la détection des parasites visibles. Le contrôle visuel consiste en un examen non destructif des poissons ou des produits de la pêche, exercé avec ou sans moyen optique d'agrandissement et dans de bonnes conditions d'éclairage pour l'œil humain, y compris par table de mirage si nécessaire. Les produits manifestement parasités, c'est-à-dire au moins un parasite visible à l'œil nu sont considérés comme impropres à la consommation et ne doivent pas être mis sur le marché.

L'objectif du plan de surveillance 2017 était d'estimer la prévalence du parasitisme par les Anisakidae et de déterminer le nombre de parasites, pour des poissons mis sur le marché, quelle que soit leur présentation au consommateur final, et par conséquent, d'évaluer l'exposition du consommateur. L'efficacité de deux méthodes de détection non destructives (œil nu ou table de mirage) a été comparée à celle d'une méthode destructive et considérée comme exhaustive (méthode de la presse hydraulique et lecture sous lumière UV). Selon leur prévalence pour les Anisakidae dans les filets (programme Fish-Parasites), sept espèces de poissons couramment consommées en France ont été sélectionnées et prélevées au stade de la distribution. Dans un premier temps, les résultats de prévalence et de nombres de parasites ont été décrits dans cet article pour présenter l'exposition potentielle du consommateur, puis l'efficacité des méthodes de détection mises en œuvre par les professionnels de la filière a été évaluée et discutée.

MATERIEL & METHODES

Echantillonnage

Dans ce plan de surveillance, il était prévu la réalisation de 210 prélèvements au stade de la distribution (grandes et moyennes surfaces ou commerce de détail). Les échantillons à prélever étaient des poissons tels que présentés au consommateur final à l'état frais (entiers non éviscérés, entiers éviscérés, filets avec ou sans flanc, darnes, queues, dos), à l'étal ou conditionnés en barquettes. Les espèces de poisson à prélever ont été sélectionnées sur la base des résultats obtenus dans le cadre du programme de recherche Fish-Parasites (prévalences élevées dans les filets) : cardine franche (*Lepidorhombus whiffiagonis*), lieu noir (*Pollachius virens*), lingue bleue (*Molva dypterygia*), lingue franche (*Molva molva*), lotte (*Lophius piscatorius*), merlan (*Merlangius merlangus*) et merlu (*Merluccius merluccius*). Trente prélèvements de chaque espèce de poissons ont été réalisés. La répartition des 210 échantillons prélevés dans les 13 régions métropolitaines a été définie proportionnellement à la densité de population humaine présente dans chaque région.

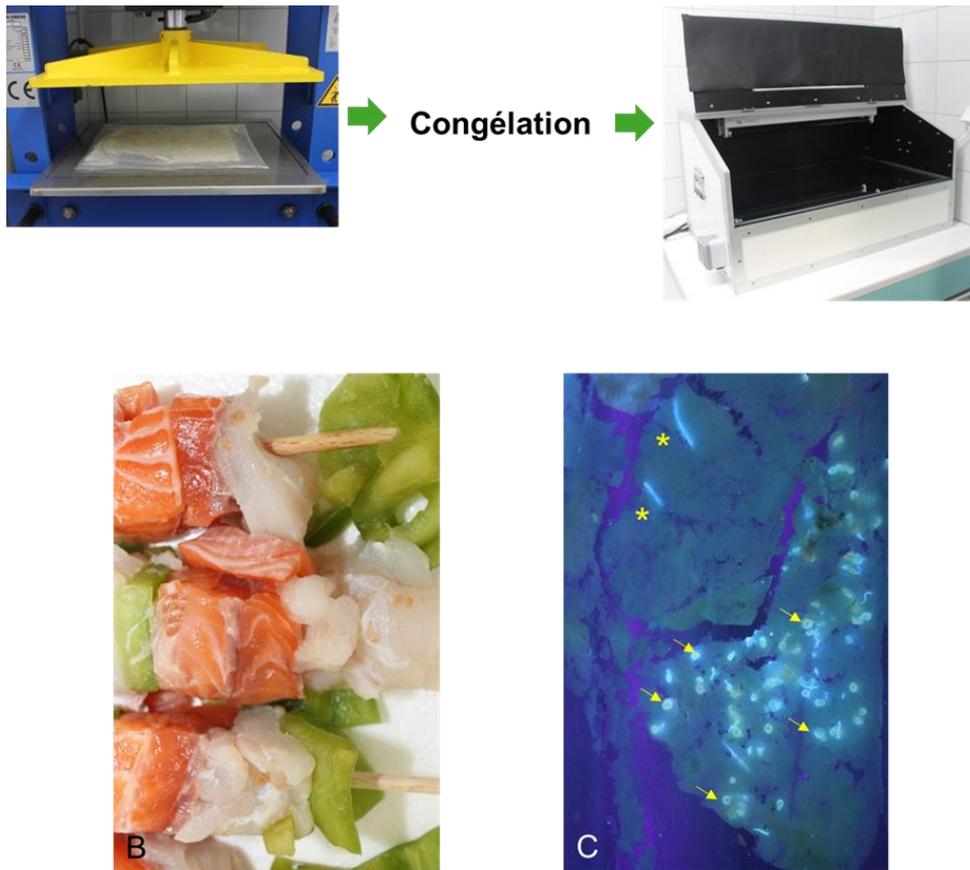


Figure 1. Détection d'Anisakidae par méthode de la presse et lecture sous lumière UV (A). Exemple d'analyse : échantillon sous lumière blanche : brochette poivron, saumon et brosmes (B), puis après presse et lecture sous lumière UV (* = arêtes, flèches = parasites) : seul le brosmes était infesté (C)

Biométrie et analyse des échantillons

Chaque prélèvement était pesé et mesuré. Les poissons entiers ont été filetés à la main. Les viscères des poissons non éviscérés et les cavités générales des poissons éviscérés ont été observés à l'œil nu puis sous lumière UV après passage à la presse. Les filets, darnes, queues et dos ont été observés à l'œil nu, puis sur table de mirage puis sous lumière UV après passage à la presse. Afin de permettre une étude comparative, les comptages étaient indépendants pour chacune des méthodes de détection. Les parasites observés étaient dénombrés mais n'étaient pas prélevés et conservés dans le produit pour leur détection par les différentes méthodes mises en œuvre successivement sur chaque échantillon. Les observations non destructrices (à l'œil nu et sur table de mirage) reflétaient les pratiques des professionnels de la filière, alors que la méthode dite « presse/UV » (méthode de la presse hydraulique et lecture sous lumière UV, Figure1) permettait d'obtenir une meilleure sensibilité (Gómez-Morales et al. 2018).

Méthode de la presse hydraulique et lumière UV

Chaque filet ou viscère était placé dans un sac plastique puis écrasé sous une presse hydraulique (application d'une force de 8 tonnes pour obtenir un échantillon d'une épaisseur de 1 mm, permettant de conserver l'intégrité des larves). Les échantillons étaient congelés à au moins -18 °C pendant au moins 12 h. La congélation induit la fluorescence de la lipofuscine sous lumière UV, facilitant la détection des Anisakidae (Pippy 1970). Les échantillons étaient observés sous lumière UV (360 nm) dans une boîte noire et les parasites étaient dénombrés. La répartition des parasites dans chaque filet était notée en découpant celui-ci en quatre parties selon un axe dorso-ventral et un axe antéro-postérieur (Levsen et al. 2018). Dans le cas d'infestations massives, les décomptes exacts de parasites n'ont été effectués que jusqu'à 100 par zone étudiée. Le nombre de zones était variable en fonction de la taille globale de l'échantillon. Le flanc d'un petit filet représentait une zone mais celui d'un poisson de plusieurs kilogrammes nécessitait d'être découpé en plusieurs zones pour une analyse exhaustive.

Descripteurs parasitologiques (Bush et al. 1997)

La prévalence d'infestation (nombre d'échantillons infestés sur nombre d'échantillons analysés), le nombre de parasites dans un échantillon et le nombre moyen de parasites détectés dans un groupe d'échantillons ont été calculés par espèce de poisson et par localisation dans les parties consommées des poissons (comparaison des infestations dans les flancs et les filets).

Identification moléculaire

Un maximum de cinq parasites par échantillon a été prélevé pour réaliser une identification moléculaire du parasite au niveau de l'espèce. L'ADN des parasites prélevés a été extrait avec le kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, U.S.A.) selon les instructions du fabricant. L'ADN était conservé à -20°C jusqu'à utilisation. Une méthode de PCR en temps réel ciblant un fragment du gène *cox2* et spécifique de l'espèce *Anisakis simplex* a été appliquée à tous les échantillons (Paoletti et al. 2017). Une méthode de PCR en point final (Valentini et al. 2006) ciblant un fragment du gène *cox2* suivi d'un séquençage Sanger a été appliquée aux échantillons

négatifs par PCR en temps réel. Les séquences obtenues ont été comparées par Blast avec celles présentes dans Genbank et disponibles pour les membres de la famille des Anisakidae.

Analyse statistique

L'indépendance de la répartition des échantillons infectés et de l'espèce de poisson échantillonné a été testée par un test du Chi². Les prévalences observées pour l'ensemble des espèces étudiées ont été comparées par régression logistique, avec comme référence la prévalence moyenne observée pour l'ensemble des échantillons.

Les distributions des nombres de parasites des filets et flancs analysés suivaient une même loi, non assimilable à une loi Normale (tests de Shapiro). Elles ont donc été comparées par test non paramétrique (test de Wilcoxon, $\alpha = 5\%$). Un test de Kendall a été appliqué aux distributions appariées pour tester l'existence d'une corrélation entre la détection de larves dans les flancs et filets.

L'efficacité des méthodes de détection a été évaluée sur les 96 échantillons présentant flancs et filets (poissons entiers, éviscérés et filets). Cette évaluation a été réalisée par comparaison simultanée des médianes du nombre de larves détectées par les trois méthodes (Test de Friedman) puis par comparaison de ces méthodes considérées deux à deux (test de Wilcoxon). L'influence de l'espèce de poisson sur le nombre d'Anisakidae dans les flancs et filets de chaque échantillon a été évaluée par régression logistique ordinaire, à partir des 69 échantillons infestés parmi les 96 échantillons pour lesquels filets et flancs étaient présents.

Toutes les analyses statistiques et certains graphiques ont été réalisés en utilisant le logiciel R (version 3.4.0, 2017-04-21) (packages *stats*, *dplyr*, *ggplot2*, *paireddata*).

RESULTATS

Echantillonnage

Deux cent huit échantillons ont été prélevés sur les 210 prévus. Seuls deux cent cinq échantillons ont été analysés. En effet, 3 d'entre eux ne correspondaient pas aux critères définis dans le plan de surveillance et n'ont donc pas été pris en compte dans l'analyse des résultats. La figure 2 représente la répartition des échantillons par espèce de poisson et par type de prélèvement. Les effectifs par espèce étaient de 13 échantillons pour la cardine, 22 pour la lingue bleue, 27 pour la lingue franche, 33 pour la lotte, 36 pour le merlan, 37 pour le lieu noir et 37 pour le merlu. Les types de prélèvement étaient des darnes (3 échantillons), des dos (10), des poissons entiers (12), des queues (32), des poissons éviscérés (44), des filets avec (40, nommés « filets ») ou sans flanc (64, nommés « filets sans flanc »). Le type de prélèvement variait selon l'espèce et réciproquement. Pour les échantillons de lotte, des queues ont été quasi-exclusivement analysées et quasiment toutes les queues prélevées étaient des queues de lotte.

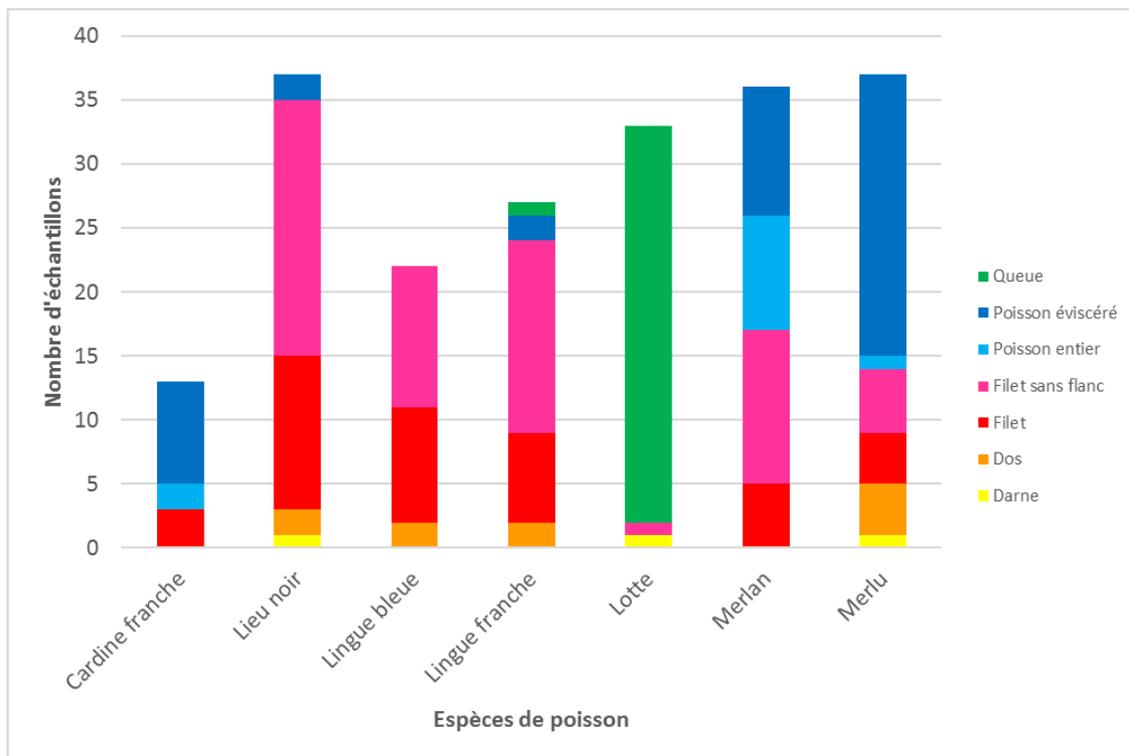


Figure 2. Répartition de l'échantillonnage en fonction de l'espèce de poisson et du type de prélèvement

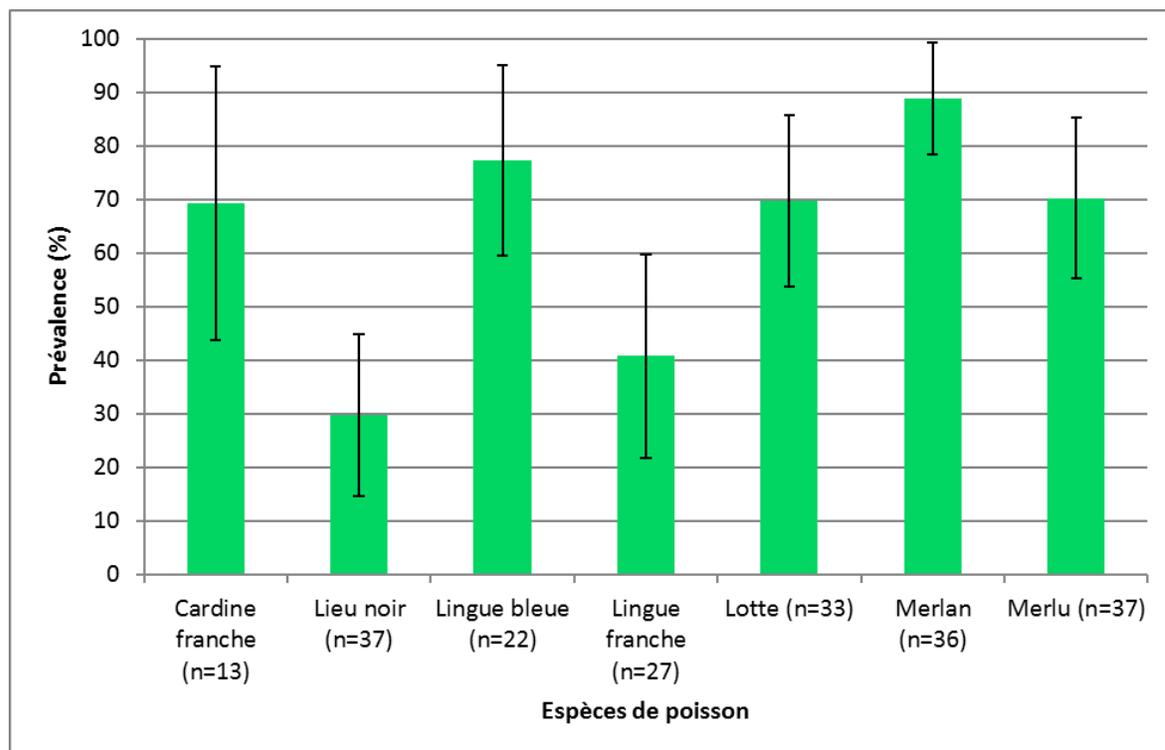


Figure 3. Prévalence des Anisakidae chez les différentes espèces de poissons (résultats par la méthode presse/UV). Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95 %.

Niveaux d'infestation

La méthode de la presse/UV est considérée comme la méthode de référence pour cette étude car exhaustive (Gómez-Morales et al., 2018). Les résultats de prévalence (Tableau 1, Figure 3) obtenus par la méthode de la presse/UV variaient entre 29,7 % (lieu noir) et 88,9 % (merlan). Les prévalences chez les différentes espèces de poisson étaient significativement différentes (test du Chi², $p < 0,001$). Les espèces merlan, lingue bleue, merlu et lotte présentaient des prévalences significativement plus élevées que l'espèce lieu noir (régression logistique, $p < 0,05$; Figure 4).

Les nombres de parasites par échantillon obtenus par la méthode de la presse/UV étaient variables tant entre espèces de poisson qu'au sein d'une espèce donnée (Tableau 1). Les plus faibles nombres de parasites moyen et maximal observés étaient respectivement de 4 et 16 pour le lieu noir. Les échantillons de merlu présentaient les nombres de parasites moyen (132,1) et maximal (plus de 906) les plus élevés. Douze échantillons présentaient des nombres de parasites supérieures à 200 larves. Ces échantillons appartenaient aux espèces cardine franche (2 échantillons), lingue bleue (2 échantillons), lingue franche (2 échantillons) et merlu (6 échantillons) et étaient soit des poissons entiers éviscérés (9 échantillons), soit des filets (3 échantillons).

Tableau 1. Prévalence (en %) et nombre de parasites en fonction de l'espèce de poisson (tous types de prélèvement) et de la méthode de détection. Les nombres de parasites supérieurs à 200 sont des estimations.

	Œil nu		Mirage		Presse/UV		
	Prévalence	Intensité min-max	Prévalence	Intensité min-max	Prévalence	Intensité min-max	Intensité moyenne
Cardine franche (n=13)	53,85	6->220	53,85	3->222	69,23	1->293	54,92
Lieu noir (n=37)	5,41	1	8,11	1-4	29,73	1-16	1,19
Lingue bleue (n=22)	50,00	1-54	54,55	1-103	77,27	2-308	56,55
Lingue franche (n=27)	22,22	1->422	22,22	1->427	40,74	1->637	52,44
Lotte (n=33)	48,48	1-11	63,64	1-19	69,70	1-48	5,36
Merlan (n=36)	69,44	1-21	72,22	1-21	88,89	1-89	11,47
Merlu (n=37)	56,76	1->347	62,16	1->355	70,27	1->906	92,81
Total (n=205)	42,93		47,80		62,93		

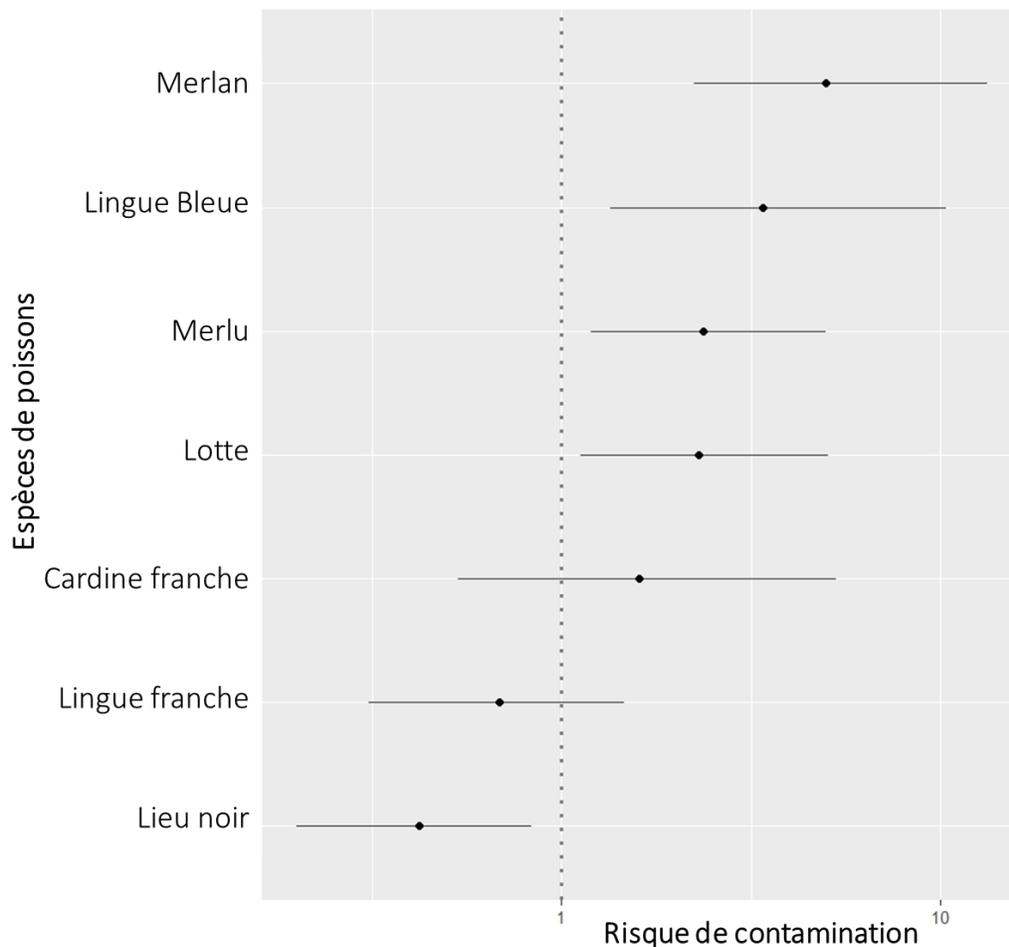


Figure 4. Représentation du risque accru (risque de contamination >1) ou réduit (risque de contamination <1) d'infestation des 205 échantillons de l'étude selon l'espèce, comparativement à l'infestation moyenne observée pour l'ensemble des échantillons (= 1, ligne de pointillés)

Comparaison des niveaux d'infestation des flancs et des filets

Seuls les poissons entiers (éviscérés ou pas) et les filets ont été considérés pour comparer les niveaux d'infestation des flancs et des filets obtenus par la méthode de la presse/UV. L'effectif était composé de 96 échantillons appartenant à 6 espèces (cardine franche, lieu noir, lingue bleue, lingue franche, merlan et merlu). La figure 5 représente la distribution des nombres de parasites des filets et flancs des échantillons infestés. Ces deux distributions étaient significativement différentes (test de Wilcoxon, $p < 0,001$).

Parmi ces 96 échantillons analysés, 90% de filets ont révélé au maximum 10 larves et 83% des flancs analysés ont révélé au maximum 70 larves. Le filet le plus contaminé présentait 261 larves et le flanc le plus contaminé présentait plus de 600 larves. La détection de larves dans les flancs était positivement corrélée à celle dans les filets, toutes espèces de poissons confondues (test de Kendall, $p < 0,001$) : plus le nombre de larves détectées dans les flancs était élevé, plus ce nombre était également élevé dans les filets.

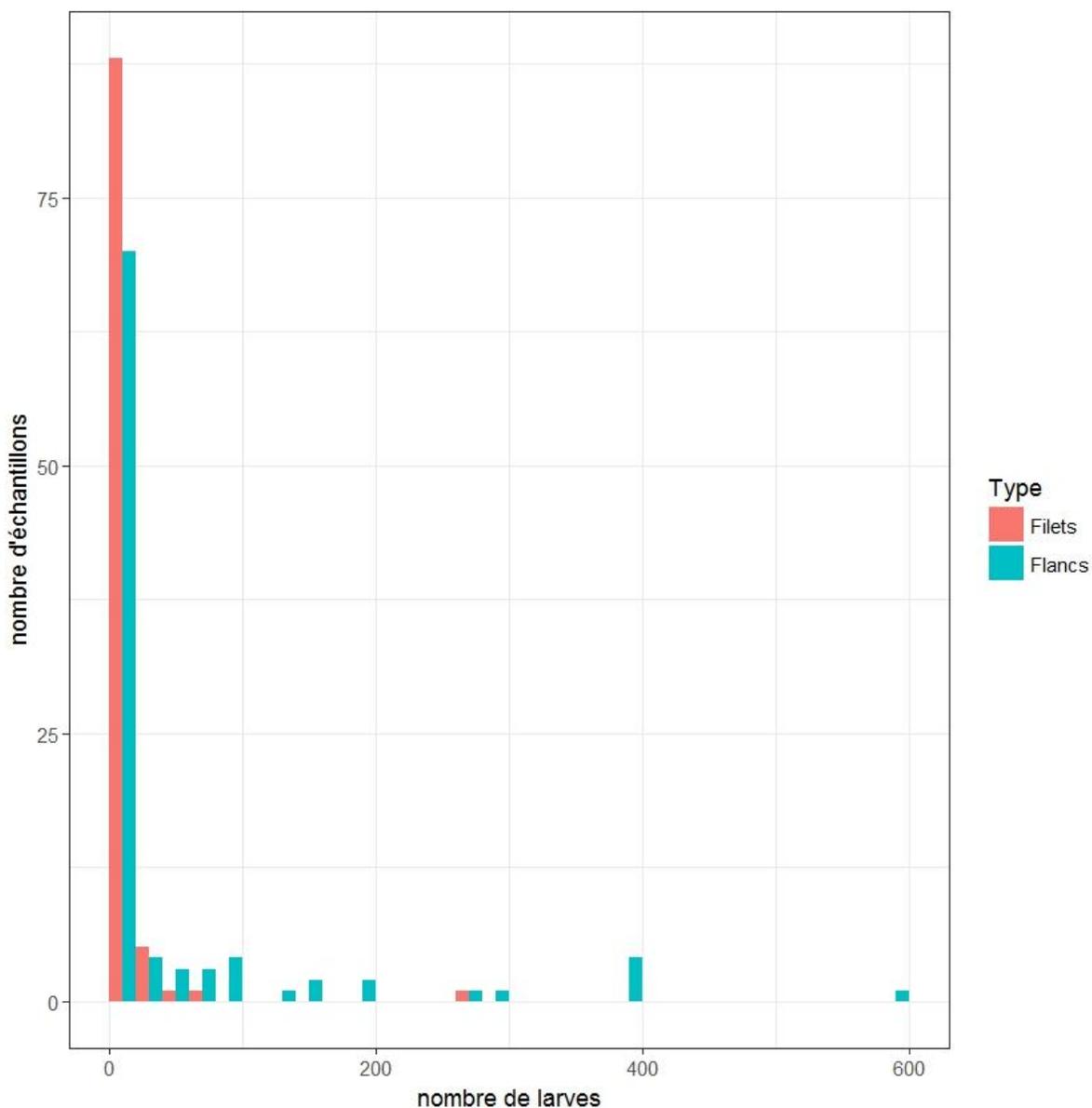


Figure 5. Distributions des concentrations en larves détectées dans les filets et flancs des mêmes échantillons (n=96) analysés par la méthode presse/UV

Comparaison des méthodes de détection

Sur les 205 échantillons analysés, la présence d'Anisakidae a été détectée dans 42,9 % (IC95-[36,0-49,8 %]) par observation à l'œil nu, dans 47,8 % (IC95-[40,8-54,8 %]) par observation sur table de mirage et dans 62,9 % (IC95-[56,2-69,7 %]) par observation par la méthode presse/UV.

Pour l'observation à l'œil nu, les valeurs de prévalence (Figure 6, Tableau 1) variaient de 5,4 % (lieu noir) à 69,4 % (merlan). Pour l'observation sur table de mirage, les valeurs de prévalence variaient de 8,1 % (lieu noir) à 72,2 % (merlan). Pour l'observation par la méthode presse/UV, les valeurs de prévalence variaient de 29,7 % (lieu noir) à 88,9 % (merlan). Les espèces de poisson peuvent être classées en fonction des résultats de prévalence décroissants à l'œil nu (merlan, merlu, cardine franche, lingue bleue, lotte, lingue franche et lieu noir), sur table de

mirage (merlan, lotte, merlu, lingue bleue, cardine franche, lingue franche et lieu noir) et par la méthode presse/UV (merlan, lingue bleue, merlu, lotte, cardine franche, lingue franche et lieu noir).

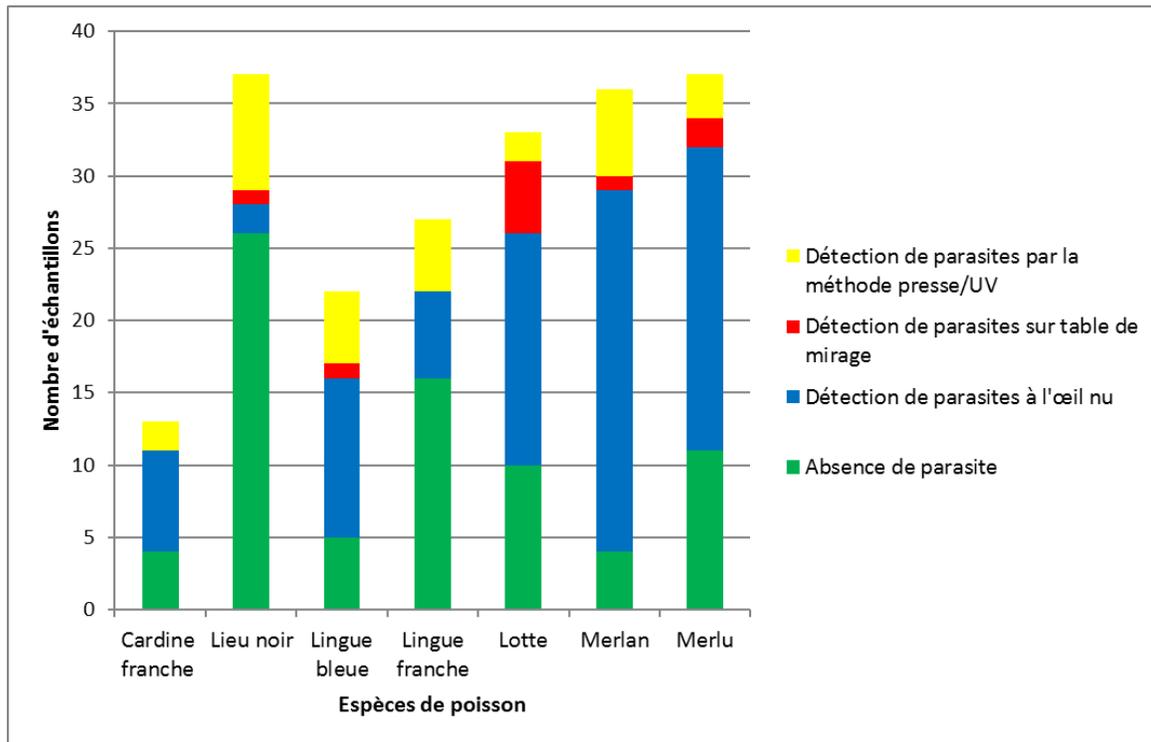


Figure 6. Répartition des échantillons en fonction de l'espèce de poisson et de la détection d'Anisakidae selon les 3 méthodes (œil nu, table de mirage et presse/UV)

Au regard des nombres de parasites observés pour les 96 échantillons présentant à la fois des filets et flancs (poissons entiers, éviscérés et filets), une différence significative entre les 3 méthodes a été constatée pour détecter les larves dans les flancs (A) ou les filets (B) (test de Friedman, $p < 0,001$, Figure 7). Cette différence s'explique pour les flancs comme pour les filets par une meilleure performance de la méthode Presse/UV face aux deux autres méthodes (test de Wilcoxon, $p < 0,001$). Au contraire, bien que le nombre de larves détectées par la méthode mirage soit supérieur à celui détecté par la méthode œil nu, la capacité des méthodes œil nu et mirage à détecter les larves dans les filets d'une part et les flancs d'autre part, n'apparaît pas significativement différente (test de Wilcoxon, $p > 0,05$).

Considérant uniquement les 69 échantillons infestés parmi les 96 échantillons sélectionnés, afin d'éliminer les biais dus aux types de prélèvement, il n'a pas été mis en évidence de différence significative entre les trois méthodes pour détecter les larves dans les différentes espèces (lotte exclue par manque d'échantillon présentant simultanément flanc et filet). En comparaison à la méthode de détection à l'œil nu, la méthode par mirage a permis de détecter 1 échantillon contaminé supplémentaire de lieu noir (filet) et 3 échantillons contaminés de merlu (2 entiers éviscérés et un entier non éviscéré).

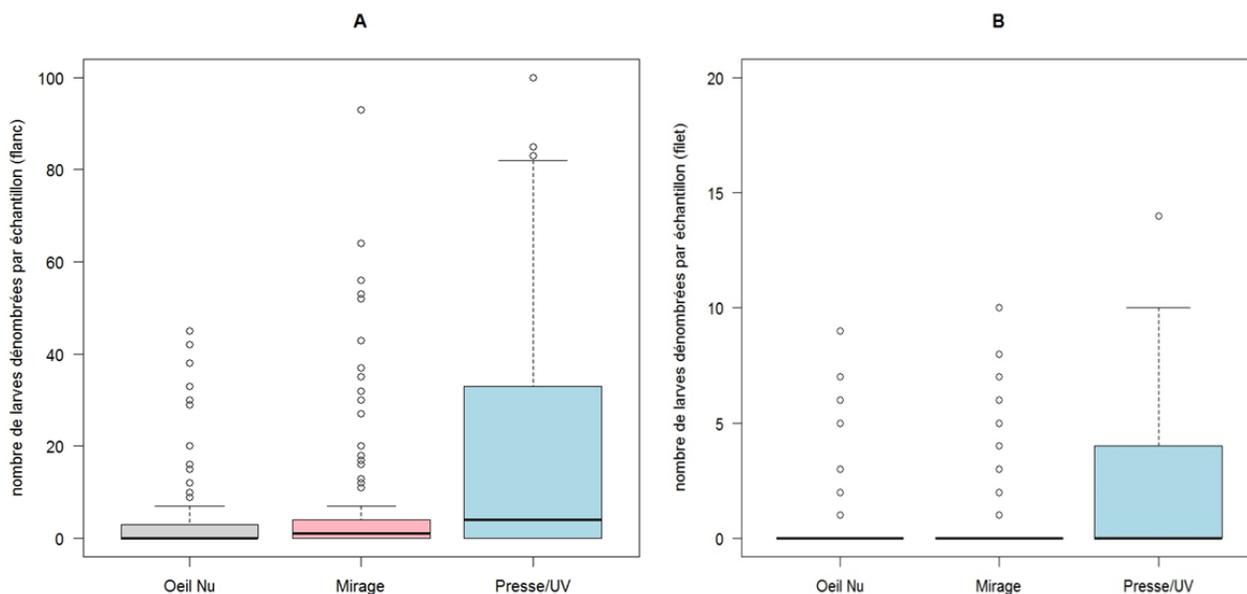


Figure 7. Distributions du nombre de larves observées dans les flancs (A) et les filets (B) des 96 échantillons (poissons entiers éviscérés et non éviscérés, filets) pour chacune des méthodes de détection (œil nu, mirage et presse/UV). Les valeurs extrêmes ne figurent pas sur ces graphiques, cependant les résultats indiqués représentent respectivement, 99%, 99% et 87% de la distribution totale des résultats observés pour les flancs analysés à l'œil nu, par mirage et presse/UV et 100%, 100% et 99% pour les filets

Identification moléculaire des parasites

Trois cent vingt-six parasites ont été identifiés par PCR en temps réel et/ou PCR en point final puis séquençage Sanger. Deux cent soixante-sept parasites ont été identifiés comme appartenant à l'espèce *Anisakis simplex* par PCR en temps réel. Pour cinquante-neuf échantillons, l'identification a été réalisée par PCR en point final/séquençage. Quatre appartenaient à l'espèce *Anisakis pegreffii*, 26 à *A. simplex*, 2 à *Hysterothylacium* sp., 4 à *Pseudoterranova azarasi*, 1 à *Pseudoterranova decipiens*, 18 à *Pseudoterranova krabbei* et 4 à *Pseudoterranova* sp.

DISCUSSION

Cette étude représente la 1^{ère} étude française sur les niveaux d'infestation (prévalence et nombre de parasites par échantillon) des Anisakidae dans des produits de la pêche au stade de la distribution. Deux études précédentes (Angot 1993, Chord-Auger 1994) avaient analysé des produits au même stade mais par des méthodes uniquement visuelles ne garantissant pas une détection de 100% des parasites.

Le plan d'échantillonnage reposait sur les prélèvements par les agents des Directions Départementales de la Protection des Populations (DDPPs) dans le cadre des PSPC programmés par la DGAL. Il était ainsi soumis à la disponibilité des produits. Ainsi, le nombre d'échantillons

pour la cardine franche a été inférieur aux prévisions. Cependant, selon les données de FranceAgrimer² et de SeaWeb Europe³, comparativement aux autres espèces échantillonnées, cette espèce est moins commercialisée en France. De même, la diversité des types de prélèvements (l'instruction technique ne précisait que le stade de la mise sur le marché) a reflété le marché français (poissons commercialisés entiers, éviscérés, en filets avec ou sans flanc).

Les prévalences et nombres de parasites présentaient de fortes variabilités inter et intra espèces de poissons, avec une influence significative de l'espèce sur les valeurs de prévalence. Cependant, certains facteurs tels que le poids et le type de prélèvement ont pu également influencer ces descripteurs. En effet, certaines espèces de poissons ont été prélevées majoritairement sous certaines formes (queues de lotte). La nature des échantillons de lieu noir prélevés différait de celle d'autres espèces de poissons (seulement 2 poissons entiers sur 37 et une majorité de filets sans flanc) avec une majorité de types de prélèvement pour lesquelles les prévalences et nombres de parasites se sont avérées plus faibles. Au vu des effectifs du présent échantillonnage, aucune comparaison statistique n'a pu être menée pour évaluer l'influence du type de prélèvement ou le poids des échantillons. L'influence du poids ainsi que la présence majoritaire des parasites dans les viscères ont été observées dans plusieurs travaux (Levsen et al., 2018). Les différences observées entre espèces de poisson pourraient résulter de différences physiologiques et/ou de différences de mode de vie (pélagique vs benthique) mais également de facteurs écologiques et environnementaux (zones de pêches plus ou moins contaminés, autres espèces marines présentes) non explorés dans cette étude (Mattiucci et al. 2008, Pulleiro-Potel et al. 2015). Les résultats obtenus montrent que les flancs étaient significativement plus infestés que les filets. Cela est cohérent avec de précédents travaux (Klapper et al. 2015, Levsen and Lunestad 2010) et reflète probablement la proximité des flancs avec la cavité générale.

Les échantillons ont été systématiquement analysés selon trois méthodes de détection, l'œil nu, la table de mirage et la méthode de la presse/UV. Les parasites observés par une des 2 méthodes non destructrices ont été systématiquement observés par la méthode de la presse/UV. Ceci est cohérent avec les résultats des essais inter-laboratoires de validation qui ont montré une meilleure sensibilité de cette méthode (Gómez-Morales et al., 2018). Les résultats obtenus montrent que les observations non destructrices ne permettent pas d'éliminer totalement le risque lié à la présence de ces parasites. Cependant, sur 129 échantillons infestés, la présence de parasites a pu être détectée pour 98 d'entre eux par observation à l'œil nu ou sur table de mirage. Les 31 échantillons pour lesquels la présence de parasites n'a été détectée que par la méthode de la presse/UV présentaient des nombres de parasites faibles (toujours inférieures à 10 sauf pour 3 échantillons). L'efficacité de la table de mirage et/ou de l'observation à l'œil nu a été évaluée précédemment (Levsen, Lunestad, and Berland 2005). Elle est dépendante de la nature du

²<http://www.franceagrimer.fr/content/download/52763/508694/file/STA-MER-CONSO%202016-juil2017.pdf>

³<http://www.guidedesespeces.org/fr>

produit (chair colorée ou pas), de son épaisseur et de l'œil du manipulateur. La proportion d'échantillons infestés détectés à l'œil nu était variable en fonction de l'espèce mais pas forcément proportionnelle au nombre de larves détectées dans l'échantillon. Cela était probablement dû à l'épaisseur, la texture et la couleur des échantillons. En effet, les filets de merlan étaient généralement moins épais et plus translucides que ceux d'autres espèces, facilitant ainsi la détection des larves.

Les parasites qui ont été identifiés appartenaient majoritairement à l'espèce *Anisakis simplex*, espèce majoritairement impliquée dans les pathologies humaines (Audicana and Kennedy 2008). Les autres espèces (*Anisakis pegreffi* et *Pseudoterranova* spp.) ont également été impliquées dans des cas humains (Yera, Frealle, and Dupouy-Camet 2016).

RECOMMANDATIONS AUX OPERATEURS ET AUX CONTROLES OFFICIELS

La prévalence d'infestation des poissons éviscérés était élevée ainsi que le nombre de larves détectées dans ces poissons infestés. Dans certains cas, cela était dû à la présence de morceaux d'organes. Dans d'autres cas, les parasites étaient présents sous forme de « grappes » contenant entre 100 et plus de 300 parasites. La présence de ces amas de parasites peut être due soit à une mauvaise éviscération, soit à une migration des parasites des filets vers la cavité générale entre la pêche et la commercialisation. Dans les deux cas, ce risque pourrait être réduit par un contrôle des poissons éviscérés avant commercialisation (généralement sur étal).

Les flancs étaient significativement plus infestés que les filets. Les flancs étant moins épais que les filets, les parasites sont potentiellement plus visibles dans ces parties. Cependant, parmi les 69 échantillons infestés pour lesquels les données sur les flancs et les filets ont pu être collectées, 7 ne présentaient des parasites que dans les filets et non dans les flancs. En revanche, 24 échantillons sur 69 présentaient des parasites uniquement dans les flancs. Des études complémentaires sont à mener pour conforter ces résultats. Au regard des résultats acquis durant ce plan de surveillance, il apparaît opportun d'apporter une attention toute particulière au contrôle des flancs pour évaluer la présence de parasites dans l'ensemble des parties consommables.

CONCLUSION

La présente étude a permis d'évaluer la prévalence des Anisakidae, au stade de la distribution, dans 7 espèces de poisson pour lesquelles des prévalences élevées dans les filets avaient été observées dans le cadre du programme *Fish-Parasites*. L'influence de l'espèce de poisson ainsi que la localisation des parasites dans les différentes parties du poisson ont pu être évaluées. Cependant, les effectifs observés par espèce et par catégorie de type de prélèvement (dos, darne, filet, etc.) devraient être complétés pour approfondir l'analyse statistique. De même, la sous-zone de pêche n'était pas systématiquement précisée dans les commémoratifs de prélèvement, ainsi aucune conclusion n'a pu être émise quant à l'influence de la zone de pêche sur la distribution des parasites. Un futur plan de surveillance pourra être envisagé pour contrôler les progrès

effectués par la filière. Une attention particulière devra être portée sur les effectifs à atteindre par espèces de poisson, types de prélèvement et origine géographique pour étayer statistiquement les résultats.

Ces résultats interrogent directement les pratiques de la filière qui doit, à travers des mesures d'éviscération précoce, de tri, de parage, garantir la mise sur le marché de produits non manifestement parasités. Un travail visant l'amélioration de la prise en compte du risque « parasites » par chacun des maillons de la filière, et sa déclinaison au niveau du contrôle officiel a été engagé pour répondre à ces enjeux. En complément, des actions d'information et de sensibilisation du consommateur pourront être renouvelées.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier les différents acteurs du dispositif : les DDPPs et DDCSPPs de l'ensemble des départements français de métropole et le personnel du Laboratoire de Sécurité des Aliments, site de Boulogne sur Mer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Angot, V. 1993. "Infestation de sept poissons de consommation courante par des larves de nématodes Anisakidés; efficacité des méthodes de filetage. Conséquences sanitaires et prophylactiques."Thèse pour le doctorat d'université en biologie, parasitologie, Faculté de médecine et de pharmacie.
- Audicana, M. T., and M. W. Kennedy. 2008. "*Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity." *Clin Microbiol Rev* 21 (2):360-379. doi: 21/2/360 [pii]10.1128/CMR.00012-07.
- Bush, A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz, and A. W. Shostak. 1997. "Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited." *J Parasitol* 83 (4):575-583.
- Chord-Auger, S. 1994. "De l'étal du poissonnier au cabinet du médecin, enquête épidémiologique, incidence clinique, approche immunologique."Thèse d'état de docteur en médecine, biologie médicale, Faculté de médecine.
- EFSA. 2010. "Scientific opinion on risk assessment of parasites in fishery products." *EFSA Journal* 8 (4):1543 (91 pp.). doi: doi:10.2903/j.efsa.2010.1543.
- Gómez-Morales, M. A., C. M. Castro, M. Lalle, R. Fernández, P. Pezzotti, E. Abollo, E. Pozio, and ring trial beta-testing participants. 2018. "UV-press method versus artificial digestion method to detect Anisakidae L3 in fish fillets: Comparative study and suitability for the industry." *Fish Res* 202:22-28. doi: 10.1016/j.fishres.2016.12.011.
- Hubert, B., J. Bacou, and H. Belveze. 1989. "Epidemiology of human anisakiasis: incidence and sources in France." *Am J Trop Med Hyg* 40 (3):301-3.
- Klapper, R., T. Kuhn, J. Munster, A. Levsen, H. Karl, and S. Klimpel. 2015. "Anisakid nematodes in beaked redfish (*Sebastes mentella*) from three fishing grounds in the North Atlantic, with

- special notes on distribution in the fish musculature." *Vet Parasitol* 207 (1-2):72-80. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.11.017.
- Levsen, A., B. T. Lunestad, and B. Berland. 2005. "Low detection efficiency of candling as a commonly recommended inspection method for nematode larvae in the flesh of pelagic fish." *J Food Prot* 68 (4):828-832.
- Levsen, A., C. S. Svanevik, P. Cipriani, S. Mattiucci, M. Gay, L. C. Hastie, G. J. Pierce, I. Bušelić, I. Mladineo, H. Karl, U. Ostermeyer, K. Buchmann, D. P. Højgaard, A. F. González, and S. Pascual. 2018. "A survey of zoonotic nematodes of commercial key fish species from major European fishing grounds - introducing the FP7 PARASITE exposure assessment study." *Fish Res* 202:4-21.
- Levsen, Arne, and Bjørn Tore Lunestad. 2010. "*Anisakis simplex* third stage larvae in Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.), with emphasis on larval distribution in the flesh." *Vet Parasitol* 171 (3-4):247-253.
- Mattiucci, S., V. Farina, N. Campbell, K. MacKenzie, P. Ramos, A. L. Pinto, P. Abaunza, and G. Nascetti. 2008. "*Anisakis* spp. larvae (Nematoda: Anisakidae) from Atlantic horse mackerel: Their genetic identification and use as biological tags for host stock characterization." *Fish Res* 89 (2):146-151.
- Mattiucci, S., and G. Nascetti. 2008. "Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite co-evolutionary processes." *Adv Parasitol* 66:47-148. doi: S0065-308X(08)00202-9 [pii]10.1016/S0065-308X(08)00202-9.
- Paoletti, M., S. Mattiucci, A. Colantoni, A. Levsen, M. Gay, and G. Nascetti. 2017. "Species-specific Real Time-PCR primers/probe systems to identify fish parasites of the genera *Anisakis*, *Pseudoterranova* and *Hysterothylacium* (Nematoda: Ascaridoidea)." *Fisheries Research* In Press.
- Parlement européen. 2004. Règlement (CE) N° 853/2004 du parlement européen et du conseil du 29 avril 2004 fixant des règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale.
- Parlement européen. 2005. Règlement (CE) No 2074/2005 de la Commission du 5 décembre 2005 établissant les mesures d'application relatives à certains produits régis par le règlement (CE) no 853/2004 du Parlement européen et du Conseil et à l'organisation des contrôles officiels prévus par les règlements (CE) no 854/2004 du Parlement européen et du Conseil et (CE) no 882/2004 du Parlement européen et du Conseil, portant dérogation au règlement (CE) no 852/2004 du Parlement européen et du Conseil et modifiant les règlements (CE) no 853/2004 et (CE) no 854/2004.
- Pippy, J. H. C. 1970. "Use of ultraviolet light to find parasitic nematodes *in situ*." *J Fish Res Bd Canada* 27:963-965.
- Pulleiro-Potel, Lorena, Elena Barcala, Elvira Mayo-Hernández, and Pilar Muñoz. 2015. "Survey of anisakids in commercial teleosts from the western Mediterranean Sea: Infection rates and possible effects of environmental and ecological factors." *Food Control* 55:12-17. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.020>.
- Valentini, A., S. Mattiucci, P. Bondanelli, S. C. Webb, A. A. Mignucci-Giannone, M. M. Colom-Llavina, and G. Nascetti. 2006. "Genetic relationships among *Anisakis* species (Nematoda : Anisakidae) inferred from mitochondrial *Cox2* sequences, and comparison with allozyme data." *J Parasitol* 92 (1):156-166.

- Yera, H., E. Frealle, and J. Dupouy-Camet. 2016. "Molecular confirmation of *Anisakis pegreffii* as a causative agent of anisakidosis in France." *Dig Liver Dis* 48 (8):970. doi: 10.1016/j.dld.2016.04.003.
- Yera, H., E. Frealle, E. Dutoit, and J. Dupouy-Camet. 2018. "A national retrospective survey of anisakidosis in France (2010-2014): decreasing incidence, female predominance, and emerging allergic potential." *Parasite* 25:23. doi: 10.1051/parasite/2018016.