



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints ID : 4189](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/ID/4189)

To cite this version :

ORAIN, Delphine. *Apport de l'histologie dans la détection d'Anisakis simplex et de Kudoa Sp. dans les poissons et les matières premières utilisées dans l'industrie ou dans les produits finis* . Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Toulouse 3, 2010, 93 f.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

APPORT DE L'HISTOLOGIE DANS LA DETECTION
D'ANISAKIS SIMPLEX ET DE KUDOA SP. DANS LES
POISSONS ET LES MATIERES PREMIERES UTILISEES
DANS L'INDUSTRIE OU DANS LES PRODUITS FINIS

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2010
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Delphine, Murielle ORAIN
Née 26/05/1981, Paris 16^{ème}

Directeur de thèse : Mme Geneviève BENARD

JURY

PRESIDENT :

M. Gérard CAMPISTRON

Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

ASSESSSEURS :

Mme Geneviève BENARD

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mlle Marie-Christine CADIERGUES

Maître de Conférences à L'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de la Pêche
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. A. MILON

Directeurs honoraires M. G. VAN HAVERBEKE.
M. P. DESNOYERS

Professeurs honoraires :

M. L. FALIU	M. J. CHANTAL	M. BODIN ROZAT DE MENDRES NEGRE
M. C. LABIE	M. JF. GUELFY	
M. C. PAVAU	M. EECKHOUTTE	
M. F. LESCURE	M. D.GRIESS	
M. A. RICO	M. CABANIE	
M. A. CAZIEUX	M. DARRE	
Mme V. BURGAT	M. HENROTEAUX	

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. BRAUN Jean-Pierre, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. DORCHIES Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. EUZEBY Jean, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
M. FRANC Michel, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
M. TOUTAIN Pierre-Louis, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1° CLASSE

M. AUTEFAGE André, *Pathologie chirurgicale*
Mme CLAUW Martine, *Pharmacie-Toxicologie*
M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistique, Modélisation*
M. CORPET Denis, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
M. DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*
M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
M. MARTINEAU Guy, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
M. REGNIER Alain, *Physiopathologie oculaire*
M. SAUTET Jean, *Anatomie*
M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 2° CLASSE

Mme BENARD Geneviève, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
M. DUCOS Alain, *Zootéchnie*
M. DUCOS DE LAHITTE Jacques, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des ruminants*
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
Mme HAGEN-PICARD Nicole, *Pathologie de la Reproduction*
M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
M. LIGNEREUX Yves, *Anatomie*
M. PICAUVET Dominique, *Pathologie infectieuse*
M. SANS Pierre, *Productions animales*
Mme TRUMEL Catherine, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
M **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier**, (DISPONIBILITE) *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
M. **MAGNE Laurent**, *Urgences soins-intensifs*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
M **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants.*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENT CONTRACTUEL

M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORRAND Leni**, *Médecine Interne*
Mlle **DEBREUQUE Maud**, *Médecine Interne*
M **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*
M. **IRUBETAGOYENA Iban**, *Médecine*
M. **LE BOEDÉC Kevin**, *Médecine Interne*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*
Mlle **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
M **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

Remerciements :

A NOTRE PREDIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Gérard Campistron

Professeur des Universités

Physiologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.

Hommage respectueux

A NOTRE JURY DE THESE

Madame le Professeur Geneviève Bénard

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Hygiène et Industries des Denrées Alimentaires d'Origine Animale

Qui nous a fait l'honneur de nous confier ce travail et de nous encadrer dans son élaboration.

Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect et de notre reconnaissance et qu'elle soit ici remerciée pour sa disponibilité, son aide et sa confiance.

Mademoiselle le Docteur **Marie-Christine Cadiergues**

Maitre de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Dermatologie

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

A Valérie Méret pour son aide pour les photos.

A Alain Deloly pour son aide pour les coupes histologiques.

A la Poissonnerie qui nous a fournit les poissons frais.

A mes parents, mon petit frère et ma famille pour leur soutien toutes ces années.

A Alex pour avoir été là tout simplement.

A Elo, binôme d'un jour, binôme de toujours.

A Guergi, mâchouiller crachouiller et nettoyer !!!!!

A Dem, Charly pour toutes les soirées passées à refaire le monde.

A Coco, Lozère power.

A Cilouth, vacances, border et bouffe for ever.

A ma poulotte préférée et oui, Docteur Boulet est enfin Docteur !

Au groupe de pigeons, Mjeu, Johanne et Phospho, pigeon for ever, pour toutes les galères et les bons moments de ces années d'école.

A la reprise du lundi soir devenue celle du mardi soir : Audrey, Virginie, Delphine, Arnaud, Cédric et tous les autres pour leur amitié sans faille.

A l'équipe du JDR, vive les réunions Tupperware et les pourrissages de scénars !

A ma Topine exilée mais promis, bientôt on se verra une rando au milieu de nulle part !

A Sandrine et toute sa petite famille, plein de bonheur

A Estelle pour toutes les soirées à Rennes et les jeunes années iutiennes.

A Alex, Aurélie, Laurent et Rémi pour leur patience et leurs conseils et à Virginie, Marie et Véro pour leur écoute, leur patience et leur soutien.

A Isa, Manu, Sylvie et tous ceux qui m'ont permis de débiter dans de superbes conditions.

A Chouchou, la Moufette, Pantoufle et Le Triporteur pour me rappeler tous les jours que je fais un beau métier.

A tous mes amis qui se reconnaîtront et que mon cerveau de poisson rouge a oublié de citer.

Sommaire

TABLE DES ILLUSTRATIONS	9
Figures	9
Tableaux	9
Photos	9
TABLE DES ABREVIATIONS	12
INTRODUCTION.....	13
PREMIERE PARTIE : ETUDE DES PRINCIPAUX PARASITES ET DE LEUR POUVOIR PATHOGENE	14
1 <i>Anisakis simplex</i>	14
1.1 Biologie	14
1.1.1 Classification.....	14
1.1.2 Morphologie	14
1.1.2.2 Larve de stade 1 (L1).....	15
1.1.2.3 Larve de stade 2 (L2).....	15
1.1.2.4 Larve de stade 3 (L3).....	15
1.1.2.5 Adultes	24
1.1.3 Cycle.....	24
1.2 Epidémiologie	29
1.2.1 Prévalence	29
1.2.2 Répartition géographique	30
1.2.3 Localisation des larves de stade 3 chez les poissons.....	30
1.2.4 Variations saisonnières.....	30
1.3 Anisakidose humaine	31
1.3.1 Présentation de la maladie.....	31
1.3.2 Historique et prévalence.....	31
1.3.3 Formes cliniques de la maladie	32
1.3.3.1 Forme gastrique.....	32
1.3.3.2 Forme intestinale	33
1.3.3.3 Autres localisations	33
1.3.4 Diagnostic.....	33
1.3.4.1 Commémoratifs.....	34
1.3.4.2 Examens de laboratoire	34
1.3.4.3 Imagerie.....	34
1.3.4.4 Histologie	35
1.3.5 Traitement	36
1.3.6 Risque allergique.....	37
1.3.6.1 Prévalence	37
1.3.6.2 Principaux allergènes connus	38
1.3.6.3 Différentes manifestations cliniques	40
1.4 Prophylaxie.....	42
1.4.1 Congélation	42
1.4.2 Salage	42
1.4.3 Fumage	42
2 <i>Kudoa sp.</i>	43
2.1 Biologie	43
2.1.1 Classification.....	43
2.1.2 Morphologie Figure 4.....	43

2.1.3 Cycle.....	46
2.1.4 Etude histologique.....	47
2.1.5 Diagnostic.....	48
2.1.5.1 Examen macroscopique.....	48
2.1.5.2 Examen microscopique.....	48
2.1.5.3 PCR.....	49
2.1.5.4 Techniques immunologiques.....	49
2.2 Epidémiologie.....	49
2.2.1. Prévalence.....	49
2.2.2 Répartition géographique.....	59
2.2.3 Localisation chez le poisson.....	59
2.2.4 Variations saisonnières.....	59
2.3 Risque pour l'homme.....	59
2.3.1 Risque sanitaire.....	59
2.3.2 Risque allergique.....	60
2.4 Prophylaxie.....	61
2.4.1 Méthodes de lutte.....	61
2.4.2 Traitement.....	61
DEUXIEME PARTIE ETUDE HISTOLOGIQUE D' <i>ANISAKIS SIMPLEX</i> ET <i>KUDOJA SP</i> DANS DIFFERENTES DENREES ALIMENTAIRES.....	63
1 Matériel et méthode.....	63
1.1 Matériel.....	63
1.1.1 Echantillon.....	63
1.1.2 Préparation histologique.....	63
1.2 Méthode.....	63
1.2.1 Etat frais.....	63
1.2.2 Coupe histologique.....	63
2 Etude histologique d' <i>Anisakis simplex</i>	64
3 Etude histologique d' <i>Anisakis simplex</i> dans différentes denrées alimentaires.....	68
3.1 Poisson frais.....	68
3.2 Pulpe de poisson destinée à la transformation.....	73
3.3 Saumon fumé.....	73
4 Etude histologique de <i>Kudoja sp.</i> dans différentes denrées alimentaires.....	74
4.1 Pulpe de poisson destinée à la transformation.....	74
CONCLUSION.....	78
ANNEXES.....	80
BIBLIOGRAPHIE.....	85

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures

Figure 1 : Schéma d'une larve 3 d' <i>Anisakis simplex</i> (73).....	23
Figure 2 : Cycle d' <i>Anisakis simplex</i>	28
Figure 3 : Représentation schématique de la pathogénicité d' <i>A. simplex</i> (8).....	41
Figure 4 : Schéma d'une spore de <i>Kudoa ovivora</i> (80).....	44
Figure 5 : Analyse partielle des séquences ADN et classification morphologique de <i>Kudoa sp.</i> (80).....	45
Figure 6: Cycle de <i>Kudoa sp.</i> (27).....	47
Figure 7 : Cycle présumé de <i>Kudoa sp.</i> chez le poisson (27).....	47

Tableaux

Tableau 1 : Principaux hôtes définitifs d' <i>Anisakis simplex</i>	25
Tableau 2 : Principaux crustacés marins hôte des larves de stade 2 d' <i>Anisakis</i> (55).....	25
Tableau 3: Principaux poissons hôtes des larves de stade 3 d' <i>Anisakis simplex</i>	26
Tableau 4 : Evolution des lésions lors d'infestation par <i>Anisakis simplex</i> (8, 19).....	35
Tableau 5 : Allergènes responsables de choc anaphylactique à la consultation d'allergologie (Pays-Basque, Espagne) (8).....	38
Tableau 6 : Principaux allergènes d' <i>Anisakis simplex</i> (8).....	39
Tableau 7 : Principaux poissons hôtes de <i>Kudoa sp.</i> et prévalence.....	50
Tableau 8 : Principales espèces de <i>Kudoa</i> à localisation musculaire.....	54
Tableau 9 : Principales espèces de <i>Kudoa</i> à localisation non musculaire.....	57

Photos

Photo 1: Larves d' <i>Anisakis</i> dans la paroi intestinale d'un lieu noir (<i>Pollachius virens</i>).....	16
Photo 2 : Corps de larve de stade 3 d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x40.....	17
Photo 3 : Corps de larve de stade 3 d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x200.....	17
Photo 4 : Queue de larve de stade 3 d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x40.....	18
Photo 5: Queue de larve de stade 3 d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x400.....	18
Photo 6 : Corps et tête d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x40.....	19
Photo 7 : Tête de larve de stade 3 d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x100.....	20

Photo 8 : Tête et sa dent de pénétration de larve de stade 3 d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x200.....	20
Photo 9 : Tête et lèvres de larve de stade 3 d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x200	21
Photo 10 : Tête et lèvres de larve de stade 3 d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x400	21
Photo 11 : Tête de larve de stade 3 d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x400.....	22
Photo 12 : Coupe histologique de tête de larve d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x20 (coloration de Lillie et Pasternack)	64
Photo 13 : Coupe histologique de tête de larve d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x100 (coloration de Lillie et Pasternack)	65
Photo 14: Coupe histologique de tête de larve d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x40 (coloration de Lillie et Pasternack)	65
Photo 15 : Coupe histologique de tête de larve d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x100 (coloration de Lillie et Pasternack)	66
Photo 16 : Coupe histologique de queue de larve d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x40 (coloration de Lillie et Pasternack)	66
Photo 17 : Coupe histologique de queue de larve d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x100 (coloration de Lillie et Pasternack)	67
Photo 18 : Coupe histologique de queue de larve d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x200 (coloration de Lillie et Pasternack)	67
Photo 19 : Coupe histologique de queue d' <i>Anisakis simplex</i> en microscopie optique x400 (coloration de Lillie et Pasternack)	68
Photo 20 : Larve d' <i>Anisakis simplex</i> enkysté dans un intestin de bar (<i>Dicentrarchus labrax</i>) x20.....	69
Photo 21 : Larve d' <i>Anisakis simplex</i> dans un intestin de bar (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en microscopie optique x40	70
Photo 22 : Larve d' <i>Anisakis simplex</i> dans un intestin de bar (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en microscopie optique x100	71
Photo 23 : Larve d' <i>Anisakis simplex</i> dans un intestin de bar (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en microscopie optique x200	71
Photo 24 : Larve d' <i>Anisakis simplex</i> dans un intestin de bar (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en microscopie optique x400	72
Photo 25 : Larve d' <i>Anisakis simplex</i> dans un intestin de bar (<i>Dicentrarchus labrax</i>) en microscopie optique x400	72

Photo 26 : Larve d' <i>Anisakis simplex</i> dans de la pulpe de merlu en microscopie optique x40.	73
Photo 27 : Larve d' <i>Anisakis</i> dans du saumon fumé (vue macroscopique)	74
Photo 28 : Pseudokystes de <i>Kudoa sp.</i> dans de la pulpe de merlu en microscopie optique x40	75
Photo 29 : Pseudokystes de <i>Kudoa sp.</i> dans de la pulpe de merlu en microscopie optique x100	75
Photo 30 : Myxospores de <i>Kudoa sp.</i> dans du merlu en microscopie optique x200.....	76
Photo 31 : Myxospores de <i>Kudoa sp.</i> dans du merlu en microscopie optique x400.....	76
Photo 32 : Myxospores de <i>Kudoa histolytica</i> dans le merlu en microscopie optique x1000...	77

TABLE DES ABREVIATIONS

Abréviation	Signification
Ac	Anticorps
ADN	Acide Désoxyribo Nucléique
Ag	Antigène
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
CAP-FEIA	Capture FluorEnzyme Immuno Assay
Da	Dalton
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
HI	Hôte Intermédiaire
IgA	Immunoglobuline de type A
IgG	Immunoglobuline de type G
IgE	Immunoglobuline de type E
IFN	Interféron
IL	Interleukine
L1	Larve de stade 1
L2	Larve de stade 2
L3	Larve de stade 3
pH	Potentiel d'Hydrogène
SPT	Skin Prick Test
Th	Lymphocyte T Helper
TLRs	Toll-Like Receptors
TNF	Tumor Necrosis Factor

INTRODUCTION

De nombreuses zoonoses sont transmises par l'alimentation. Les poissons en constituent une source potentielle, notamment par la transmission de parasites. Parmi eux, *Anisakis simplex* est un des nématodes le plus important sur le plan de la santé publique. En effet, il est responsable à la fois d'anisakidose mais aussi de phénomènes allergiques (urticaire, angio-œdème, œdème de Quincke...) important chez l'homme. De même, *Kudoa sp.* est un protozoaire à la fois responsable d'une diminution de la qualité de la chair du poisson et de phénomènes allergiques chez l'homme. Le diagnostic de ces deux pathologies est primordial afin de les éliminer et de mettre en place des normes lors de la mise sur le marché des poissons et ainsi de réduire les risques pour l'homme.

L'histologie constitue une des méthodes pour diagnostiquer des parasites dans différents tissus. Elle peut ainsi être utile dans la recherche d'*A. simplex* et de *Kudoa sp.* dans les poissons ou les produits à base de poisson.

Dans un premier temps, ces deux parasites et leur pouvoir pathogène seront étudiés. Puis l'intérêt de l'histologie comme méthode de diagnostic dans différentes denrées alimentaires (poisson frais, poisson fumé ou pulpe de poisson destinée à la transformation) sera présenté.

PREMIERE PARTIE : ETUDE DES PRINCIPAUX PARASITES ET DE LEUR POUVOIR PATHOGENE

1 Anisakis simplex

Le terme *Anisakis* vient du grec et signifie nombre de fois inégal (27). Une autre étymologie possible est “sans pointe” de “an” préfixe privatif et “isakis” pointe.

1.1 Biologie :

1.1.1 Classification

Anisakis simplex appartient à l'embranchement des Némathelminthes, la classe des Nematoda, la sous-classe des Secernentea, l'ordre des Ascaridida, le sous-ordre des Ascaridoidea, la famille des Anisakidés, la sous-famille des Anisakinés, au genre *Anisakis* et à l'espèce *Anisakis simplex* (27).

1.1.2 Morphologie

Les *Anisakis* sont des nématodes et donc des vers ronds non segmentés couverts d'une épaisse cuticule. Ils disposent d'un tube digestif complet (bouche et anus) mais pas d'appareil respiratoire. Leur bouche est trilabée, la région postlabiale est nue, dépourvue d'ornements cuticulaires (26). Les membres du genre *Anisakis* mesurent de 2 à 6cm de long et quelques millimètres de diamètre. Les lèvres sont bilobées et il n'y a pas de lobes interlabiaux. Le ventricule oesophagien est oblong et dépourvu d'appendice. Le pore excréteur est à la base des lèvres. Il n'y a pas de caecum intestinal (27).

La distinction à l'intérieur du genre *Anisakis* est très difficile par l'étude morphologique des parasites. Seules les larves de stade 3 permettent d'effectuer une diagnose d'espèce. Les techniques d'analyse génétique peuvent aussi permettre d'effectuer cette diagnose (59).

1.1.2.1 Œufs

Les œufs d'*Anisakis sp.* sont ellipsoïdaux et mesurent de 45,5 à 58,1µm sur 41,3 à 53,2µm (55). Les œufs sont excrétés non embryonnés dans le milieu marin. Ils ne s'embryonnent que dans l'eau de mer.

1.1.2.2 Larve de stade 1 (L1)

La première mue se produit dans l'œuf. La larve de stade 1 est donc toujours dans l'œuf dans l'eau de mer. Une larve de 1^{er} stade est obtenue en 20 à 27 jours à 5-7°C (19).

1.1.2.3 Larve de stade 2 (L2)

La larve de stade 2 est engainée dans l'enveloppe exuviale de la larve de stade 1 puis elle sort de l'œuf et nage librement dans l'eau de mer. Elle mesure sans l'enveloppe 220 à 290 µm. Le corps est rétréci postérieurement et présente un anneau nerveux avec une dent perforante antérieure. Le tractus digestif est peu différencié ce qui présente une différence avec les larves de stade 3 et de stade suivant. Les L2 sont très actives et agitées de mouvements serpentiformes. Lorsque l'on tente de les dérouler, elles reprennent très rapidement leur forme initiale (19). Elles peuvent survivre sans enveloppe exuviale 3 à 4 semaines entre 13 et 18°C ou 6 à 7 semaines entre 5 et 7°C. Une température de 34°C tue toutes les larves.

1.1.2.4 Larve de stade 3 (L3) : Figure 1

Lorsque la larve L2 est ingérée par un crustacé, elle mature et se transforme en L3.

La distinction entre les différences espèces du genre *Anisakis* se fait principalement par l'étude des L3. Elles sont de couleur blanche claire à jaunâtre. Elles mesurent 14 à 30mm de longueur et ont un diamètre de 0,5mm (13, 19) (Photo 1). A l'œil nu une tache blanche à 2 mm en arrière de l'extrémité antérieure correspond au ventricule œsophagien (Photo 2) mais est visible uniquement sur les larves vivantes (19).



Photo 1: Larves d'*Anisakis* dans la paroi intestinale d'un lieu noir (*Pollachius virens*)

La cuticule est striée de gros sillons transversaux et irréguliers, discontinus sur tout le corps. Entre les sillons transversaux, de fines rides parallèles sont visibles au fort grossissement (Photo 3).

Un mucron est présent à l'extrémité postérieure de la larve (19, 44) (Photo 5).

La partie ventrale comprend une dent de pénétration triangulaire pointue et trois renflements prélabiaux : un dorsal et deux sub-ventraux qui entourent l'orifice buccal. La microscopie à balayage montre que le renflement dorsal présente à sa base une structure papillaire et que les renflements sub-ventraux en présentent deux (19) (Photo 7, Photo 8, Photo 9, Photo 10, Photo 11).

Les organes internes sont composés d'un tube digestif complet comprenant une bouche, un œsophage, un intestin et se terminant par un anus. L'œsophage est composé de deux parties : une partie musculaire de 1,8 à 2,8 mm située juste après la bouche et une partie glandulaire (ou ventricule) assez allongée séparée de l'intestin par une limite oblique (Photo 6). La larve ne possède ni caecum ni appendice œsophagien (19, 44). L'organe excréteur se termine par un pore entre la base des deux ébauches labiales et est visible sous la forme d'un canal plus sombre (44) (Photo 4).

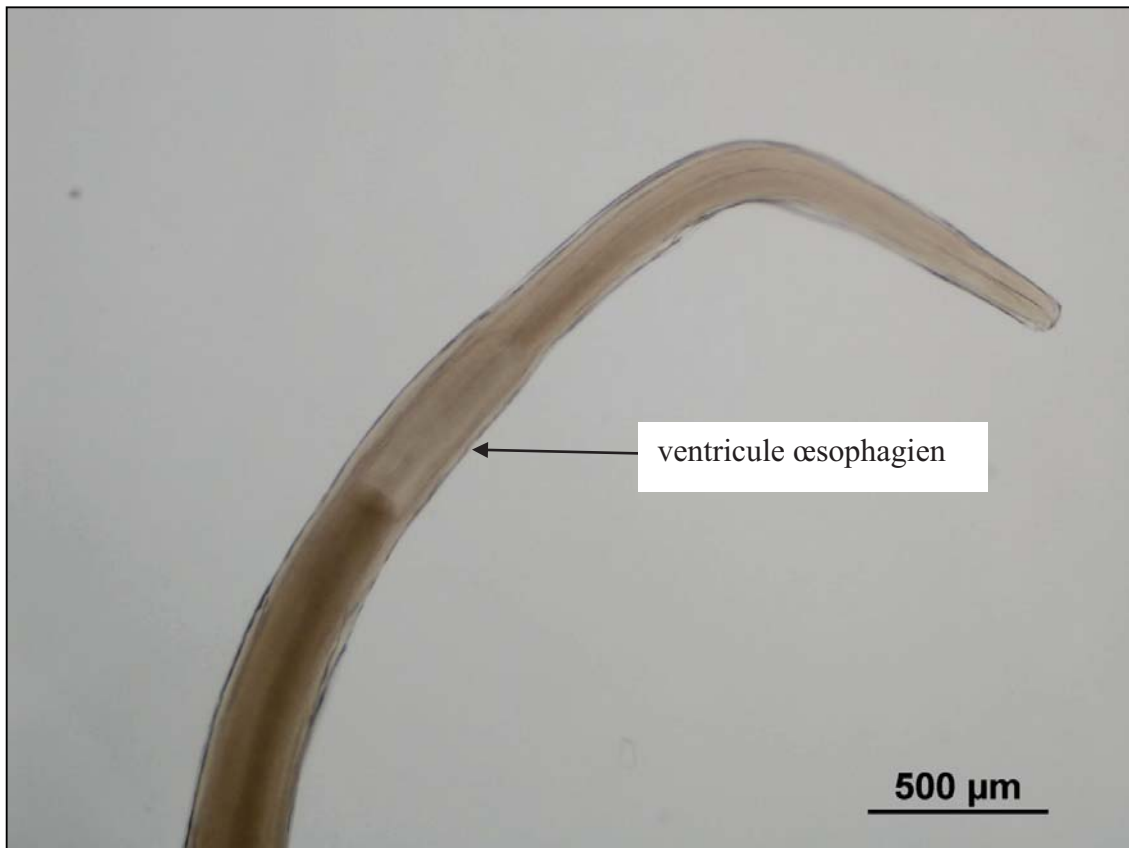


Photo 2 : Corps de larve de stade 3 d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x40

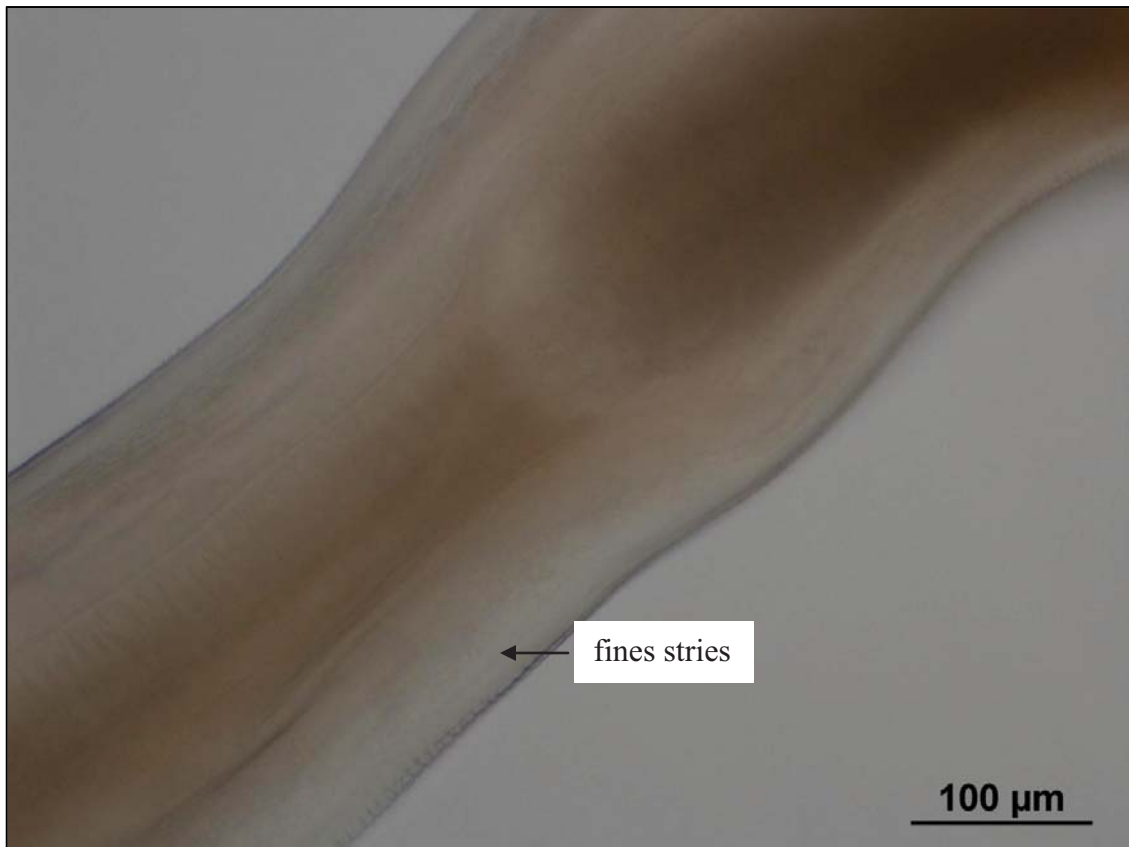


Photo 3 : Corps de larve de stade 3 d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x200

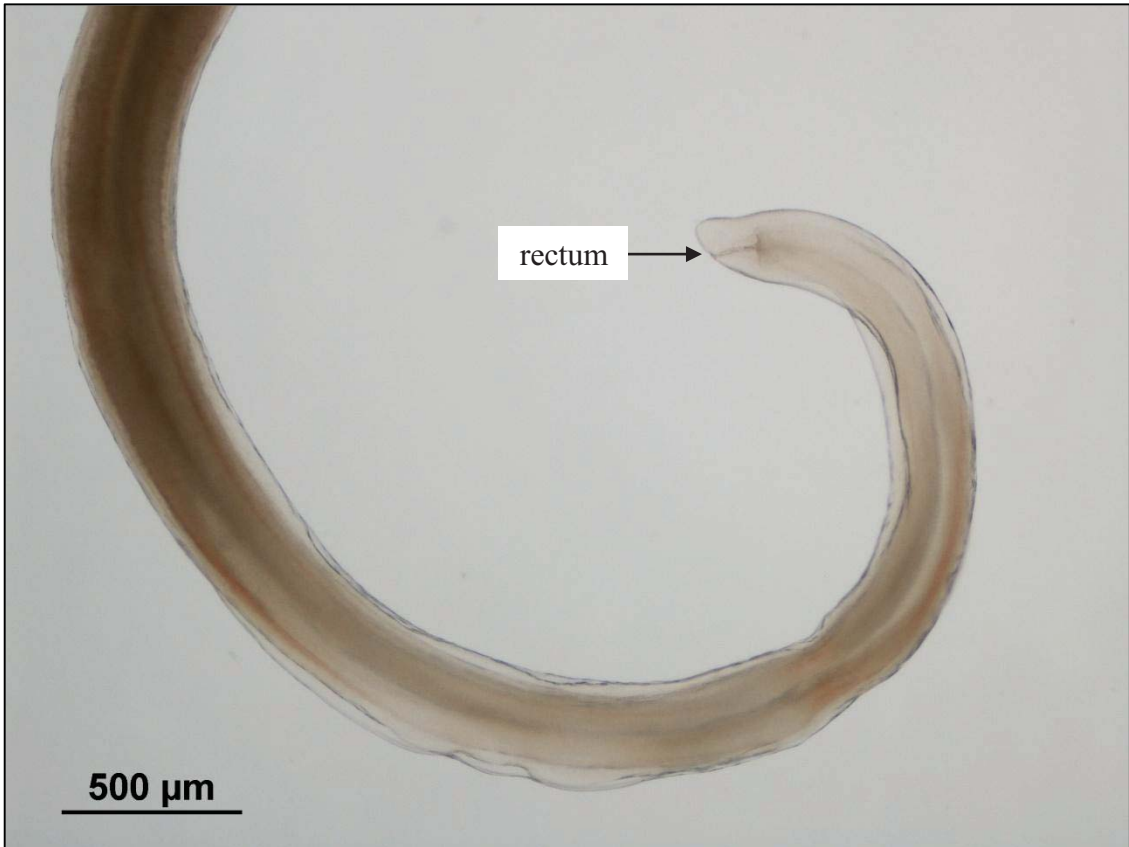


Photo 4 : Queue de larve de stade 3 d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x40

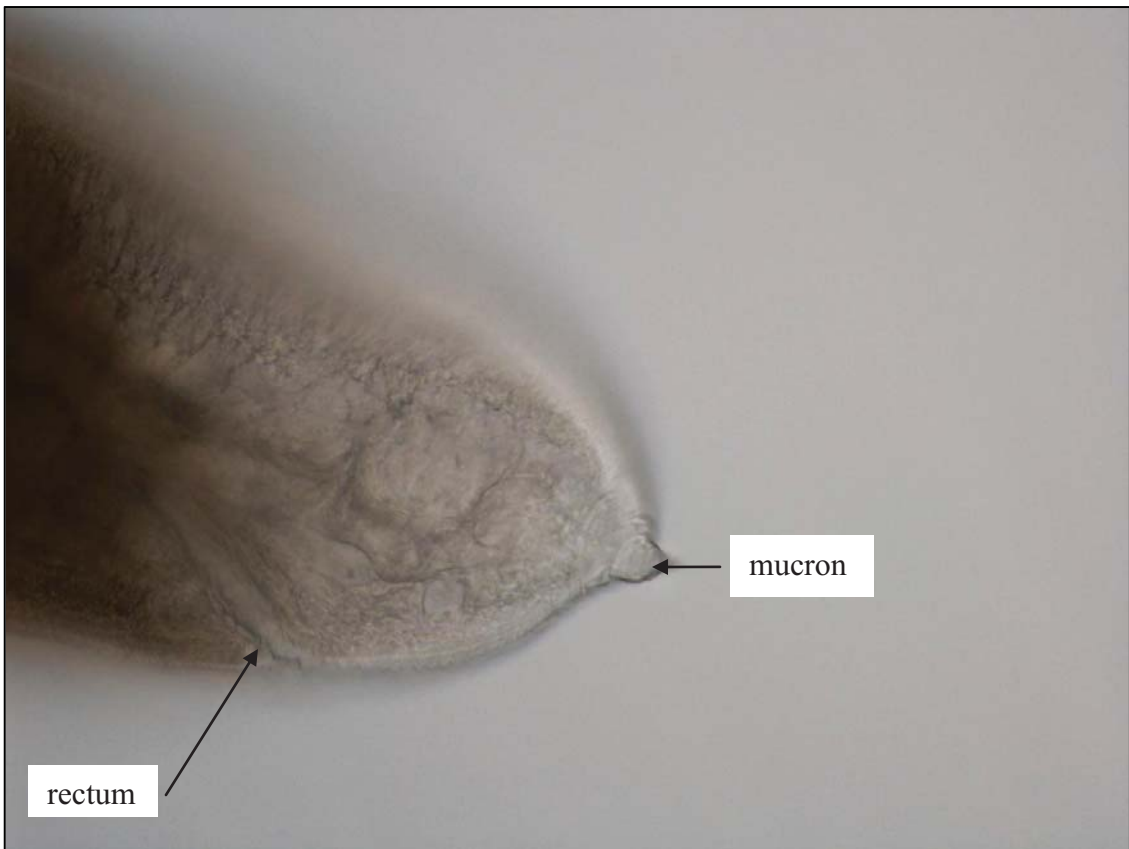


Photo 5: Queue de larve de stade 3 d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x400

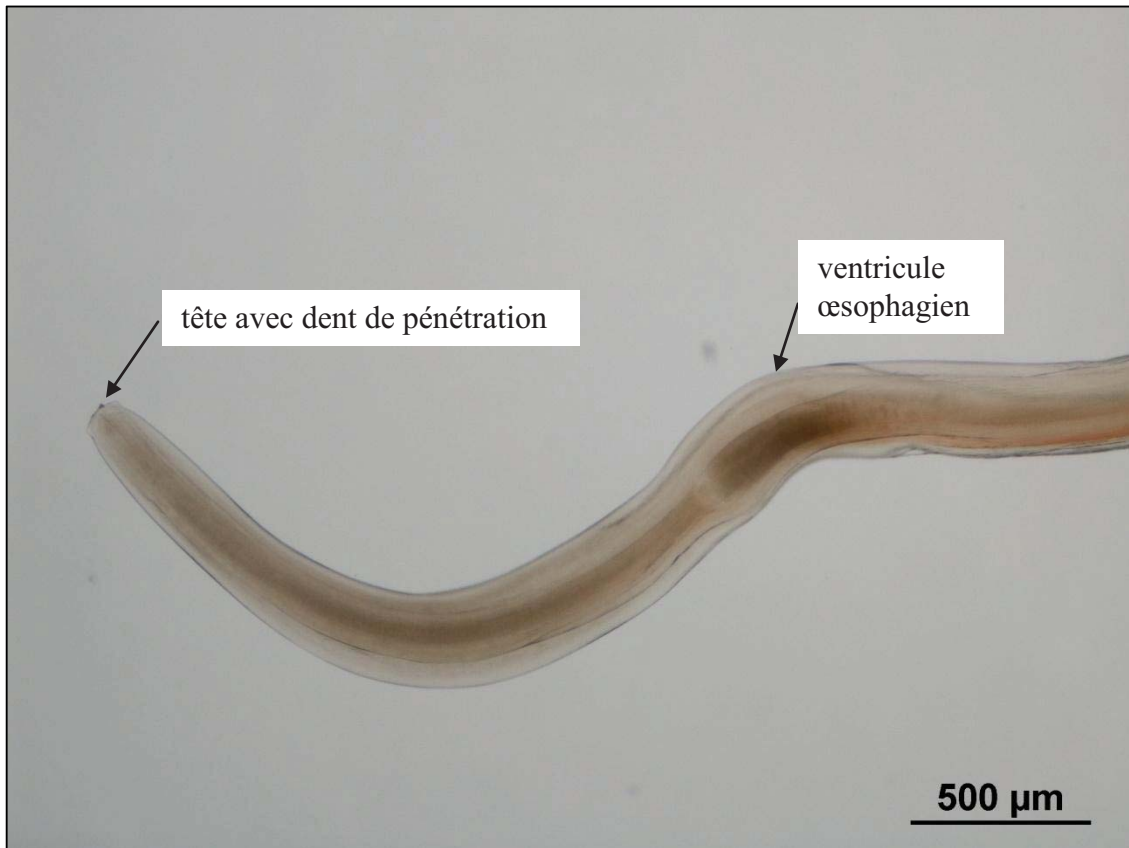


Photo 6 : Corps et tête d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x40



Photo 7 : Tête de larve de stade 3 d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x100

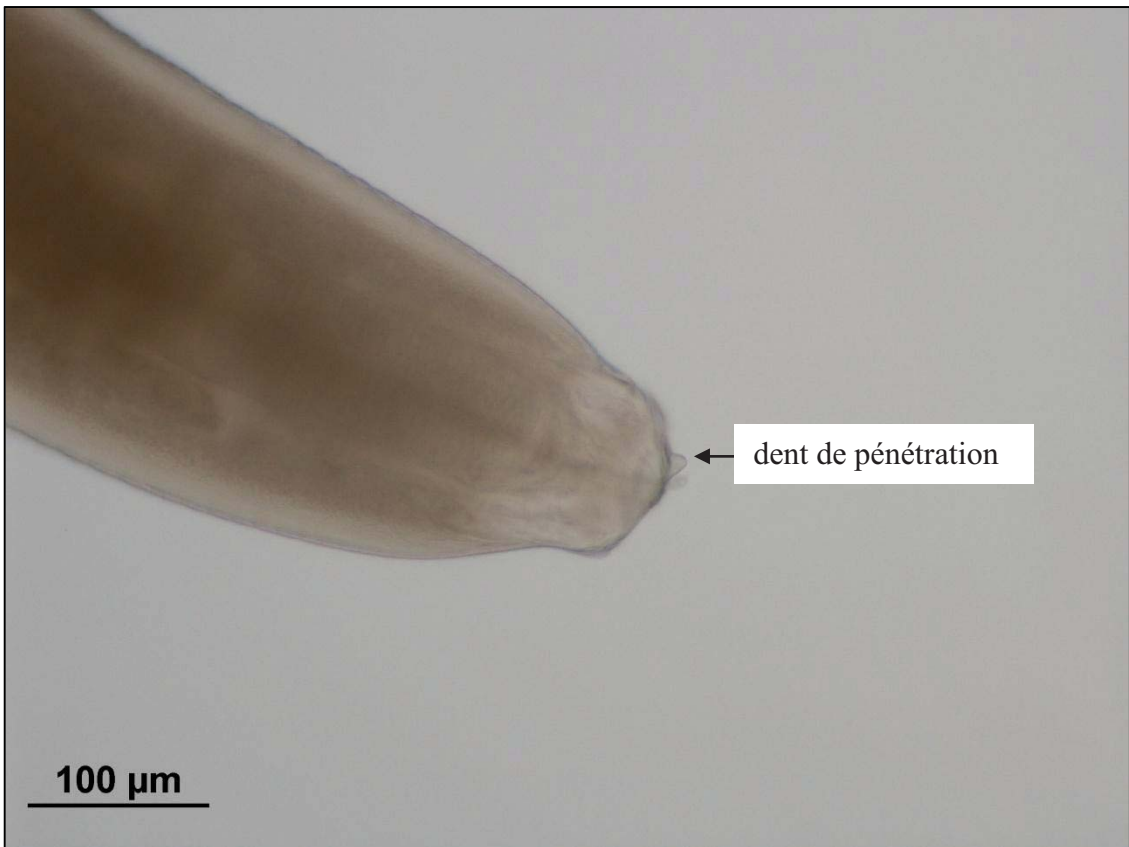


Photo 8 : Tête et sa dent de pénétration de larve de stade 3 d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x200



Photo 9 : Tête et lèvres de larve de stade 3 d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x200

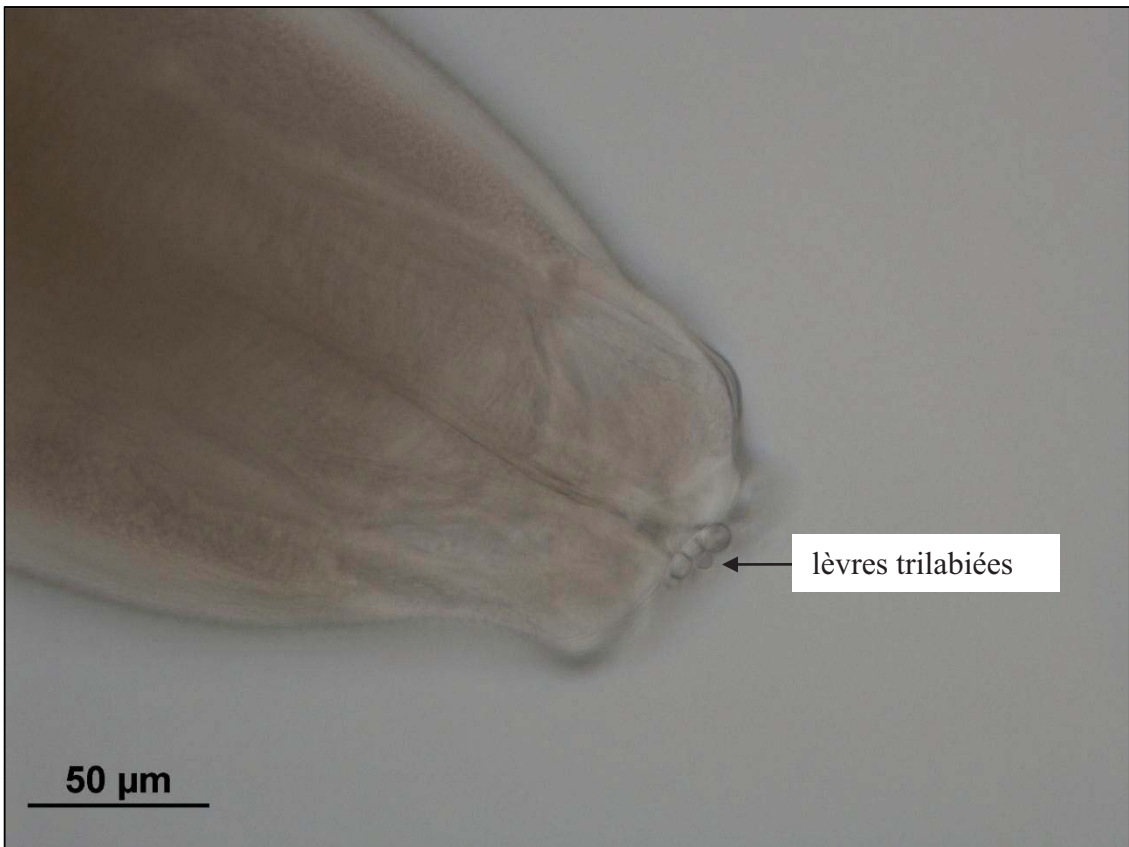


Photo 10 : Tête et lèvres de larve de stade 3 d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x400

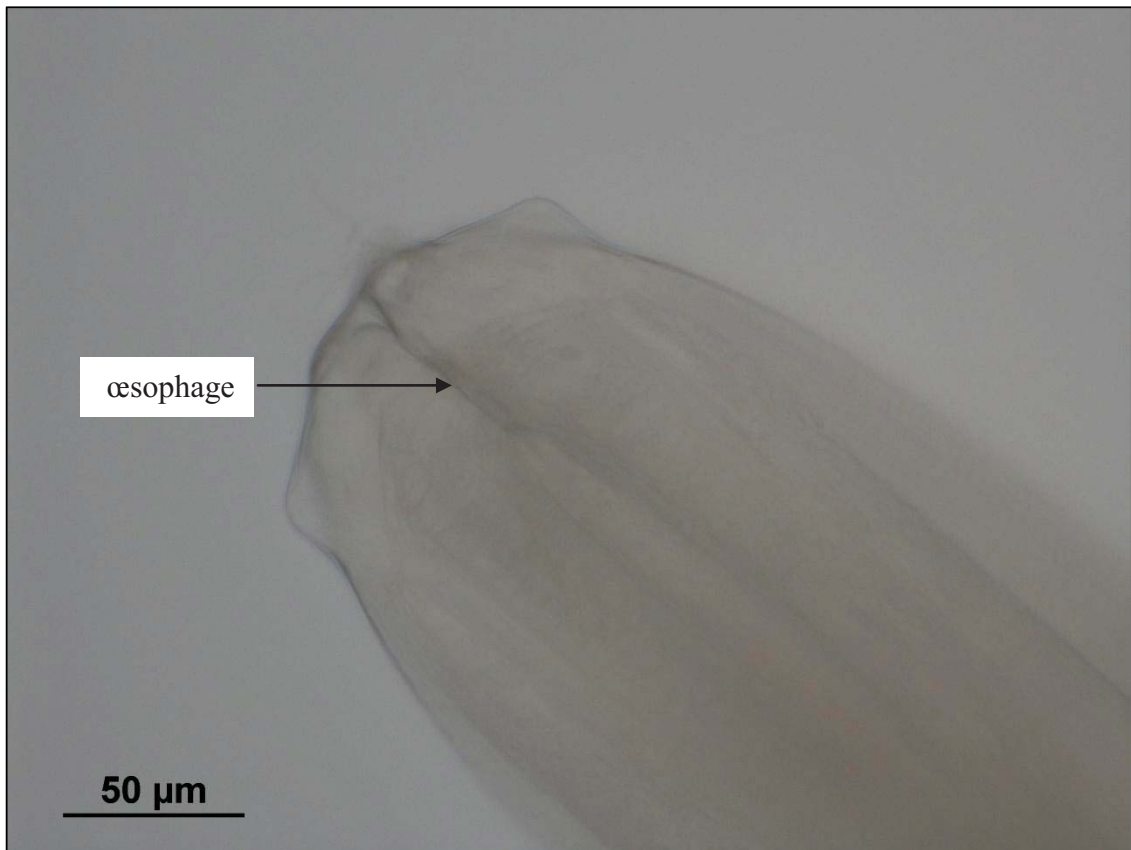
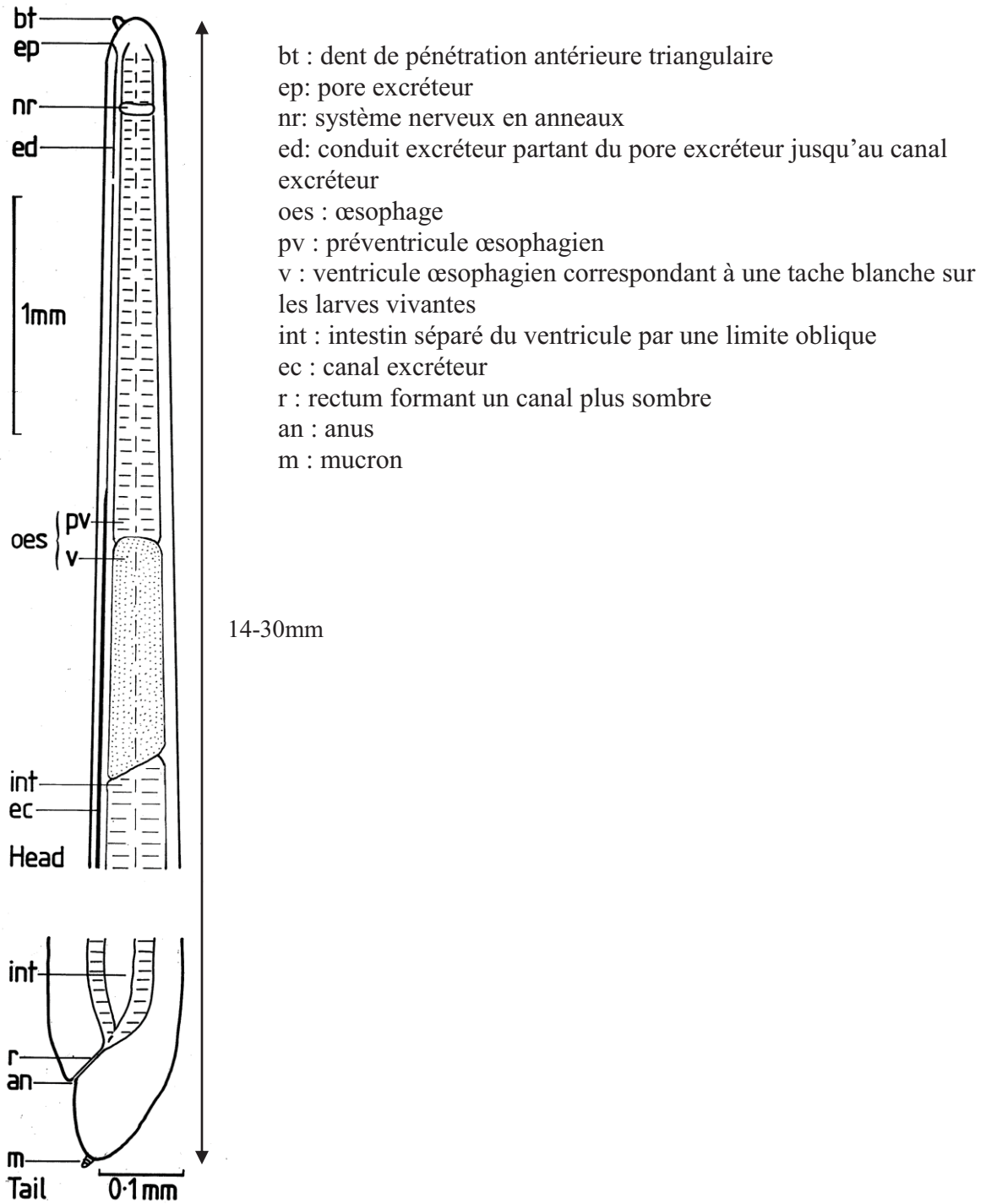


Photo 11 : Tête de larve de stade 3 d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x400

Figure 1 : Schéma d'une larve 3 d'*Anisakis simplex* (73)



1.1.2.5 Adultes

Les adultes se trouvent dans l'intestin de l'hôte définitif après la mue des L3.

Les *Anisakis* adultes présentent trois lèvres avec chacune une saillie antérieure bilobée et une simple crête denticulée. Il n'y a pas d'inter labium.

L'œsophage est composé de deux parties comme chez la larve de stade 3 : une portion antérieure musculuse et une partie postérieure glandulaire. L'adulte ne possède pas d'appendice œsophagien ni de caecum tout comme la larve de stade 3. L'appareil excréteur se termine par des lèvres ventrolatérales. De nombreuses papilles périanales sont présentes. Des groupes de trois ou quatre papilles péri anales sont situés au bout de la queue face ventrale.

L'orifice femelle est situé au milieu du premier tiers du corps. Le mâle quant à lui présente des spicules non égaux en longueur (27).

1.1.3 Cycle

Le cycle est trixène. Le cycle des *Anisakis* en général et celui d'*Anisakis simplex* en particulier, est composé de 4 stades larvaires et 4 mues. Il comprend une phase dans le milieu extérieur en l'occurrence dans l'eau de mer. Le passage de la larve de stade 2 à la larve de stade 3 s'effectue chez un hôte intermédiaire, un crustacé planctonique. Le stade infestant est la larve de stade 3.

Les hôtes définitifs d'*Anisakis simplex* sont les mammifères marins comme les Cétacés ou plus rarement des Pinnipèdes (Tableau 1) (48). Les parasites adultes se trouvent alors dans l'estomac ou l'intestin de l'hôte. Lorsque les larves n'évoluent pas en adulte chez le mammifère marin, elles peuvent provoquer des ulcères gastriques (14) ou des granulomes éosinophiliques (56). Chez certains mammifères comme le marsouin de Burmeister (*Phocoena spinipinnis*) ou le dauphin noir (*Cephalorhynchus eutropia*) peu de parasites adultes sont observés. Leur rôle dans la diffusion d'*Anisakis simplex* est donc probablement peu important (84).

Tableau 1 : Principaux hôtes définitifs d'*Anisakis simplex*

Nom d'usage	Nom latin	Lieu de capture	Références
Marsouin commun	<i>Phocoena phocoena</i>	Norvège	72
Marsouin de Burmeister	<i>Phocoena spinipinnis</i>	Chili	84
Dauphin noir	<i>Cephalorhynchus eutropia</i>	Chili	84
Dauphin	<i>Delphinus Delphia</i>	Pérou	14
Baleine boréale	<i>Balaena mysticetus</i>	Alaska	55
Baleine à bec d'oie	<i>Ziphius cavirostris</i>	Chili et Espagne	28
Phoque gris	<i>Halichoerus grypus</i>	Golf du S ^t Laurent	48
Lion de mer	<i>Otaria byronia</i>	Chili	15

Tableau 2 : Principaux crustacés marins hôte des larves de stade 2 d'*Anisakis* (55)

Nom commun	Nom latin	Lieu de pêche	Prévalence (%)
	<i>Carella septentrionalis</i>	Mer de Barents	0,117
Crabe araignée	<i>Hyas araneus</i>	Mer de Barents	0,101
Zooplancton		Mer de Barents	?
	<i>Thysanoessa raschii</i>	Mer de Béring et Pacifique Nord	2,479
	<i>Thysanoessa inermis</i>	Atlantique Nord et Mer du Nord	0,659
	<i>Thysanoessa longicaudata</i>	Atlantique Nord et Mer du Nord	0,316
	<i>Thysanoessa longipes</i>	Mer de Béring et Pacifique Nord	0,685
	<i>Meganyctiphanes norvégicus</i>	Atlantique Nord et Mer du Nord	0,031
Krill pacifique	<i>Euphausia pacifica</i>	Mer de Béring et Pacifique Nord Est de la Mer de Chine	0,002 0,007
Crevette nordique	<i>Pandalus borealis</i>	Mer du Japon	0,099
	<i>Pandalus kessuerii</i>	Mer d'Okhotsk	0,276

Tableau 3: Principaux poissons hôtes des larves de stade 3 d'*Anisakis simplex*

Nom d'usage	Nom latin	Lieu de pêche	Prévalence (%)	Référence
Saumon sauvage	<i>Salmo salar</i>	Atlantique Ouest et Nord, Pacifique Elevage	100 <0,5	22 5
Saumon coho	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	Pacifique	100 26,4	5
Saumon kéta	<i>Oncorhynchus keta</i>	Pacifique Nord Mer de Béring Rivière Chitose	92,9 à 100 16,7 à 64 97,6 à 100	79 86
Hareng	<i>Opisthonema oglinum</i> <i>Clupea harengus</i>	Atlantique nord Estuaire du S ^t Laurent France	2 95 80 0,2 – 24	32 46 63
Alose canadienne	<i>Alosa sapidissima</i>	Rivière de l'Oregon	100	71
Anchois japonais	<i>Engrauris japonicus</i>	Mer de Corée	6,9	77
Eglefin	<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	Atlantique nord	19	5
Lieu noir	<i>Pollachius virens</i>	Ouest Ecosse Norvège	54,7 97,2 27-97	5 78 63
Lieu jaune	<i>Pollachius pollachius</i>	France	70 83	46 64, 63
Lingre	<i>Molva dypterygia</i>	France	9-65	63
Morue	<i>Molva molva</i>	Atlantique nord	65 9	5 64
Cabillaud	<i>Gadus morhua</i>	Ouest Ecosse Norvège France	19,7 92,2 35 3-92	5 78 64 63

Merlu	<i>Merlangus merlangus</i>	France	90 15,4	46 60, 63
Merlu du Pacifique Sud	<i>Merluccius gayi gayi</i>	Côte chilienne	75 à 93	60
Merlan bleu austral	<i>Micromesistius australis</i>	Antarctique	100	66
Bocasse grise	<i>Lepidonotothen kempfi</i>	Antarctique	46,7	66
Bocasse marbrée	<i>Notothenia rossii</i>	Antarctique	43,8	66
Bar	<i>Dicentrarchus labrax</i>	Atlantique Nord Est	65 à 89	10
Maquereau espagnol	<i>Scomber japonicus</i>	Madère	69,5	20
Maquereau	<i>Trachurus murphyi</i>	Côtes chiliennes France	50 30	30 46
Chinchard	<i>Trachurus trachurus</i>	Mer Méditerranée	80 à 100 26	47 3
Chinchard bleu	<i>Trachurus pictarus</i>	Madère Mer Méditerranée	62,5 80 à 100	20 47
Sabre noir	<i>Aphanopus carbo</i>	Madère	97,2	20
Murénésocce-dague	<i>Muraenesox cinereus</i>	Mer des Philippines	53,3	62
Congre du Pacifique	<i>Astroconger myriaster</i>	Mer de Corée	57,7 24,6	16 76
Capelan	<i>Mallotus villosus</i>	Estuaire du S ^t Laurent	5	32
Sébaste	<i>Sebastes marinus</i>	Norvège	60,1 4 7-60	78 64 63
Sébaste du Cap	<i>Sebastes capensis</i>	Pacifique Nord	3 à 5	31
Anchois japonais	<i>Engraulis japonicus</i>	Mer de Corée	6,9	77

Les hôtes intermédiaires sont tout d'abord des Euphasiacés, petits crustacés formant le plancton (Tableau 2). Les seconds hôtes intermédiaires sont des poissons ou parfois des céphalopodes dans 20 à 35% des cas (46). Les poissons et céphalopodes sont des hôtes paraténiques. En effet, la larve n'évolue pas lorsqu'elle se trouve dans ce type d'hôte. Il concentre uniquement les larves d'*Anisakis* (19).

Des larves d'*Anisakis* ont été décrites chez plus de 75 espèces de poissons et 4 espèces de céphalopodes (19). Les principaux poissons hôtes intermédiaires sont présentés dans le Tableau 3. En Atlantique Nord, *Anisakis simplex* a été décrit chez les clupéiformes (harengs *Clupea harengus*, anchois *Engraulis encrasicolus*), les gadiformes (églefin *Melanogrammus aeglefinus*, lieu noir *Pollachius virens*), les pleuronectiformes (flétan *Hippoglossus hippoglossus*, turbot *Psetta maxima*), les Scombridae (maquereau *Scomber scombrus*) et les scorpaeniformes (rascasse *Scorpaena notata*). En Méditerranée, le parasite a été décrit chez les gadiformes (merlu *Merluccius merluccius*), les perciformes (mulet *Mugil auratus*) et les Scombridae (maquereau *Scomber scombrus*) (87).

Les hôtes définitifs se contaminent en ingérant du poisson ou des calamars contaminés. La larve 3 est alors libérée lors de la digestion et se développe en larve 4 puis en adulte dans le tube digestif de l'hôte définitif. Les œufs non-embryonnés sont éliminés dans les fèces et se retrouvent donc dans le milieu extérieur. Une larve de 1^{er} stade est obtenue en 20 à 27 jours à 5-7°C. La larve se développe à l'intérieur de l'œuf. La larve de stade 2 reste à l'intérieur de l'exuvie de la larve de stade 1. La L2 est libérée dans l'eau de mer et est ingérée par le 1^{er} hôte intermédiaire (H.I. 1), les crustacés planctoniques. La L2 évolue alors en larve de stade 3 dans l'hémocoèle des crustacés. L'H.I. 1 est consommé par le 2^{ème} hôte intermédiaire (H.I.2), poisson ou céphalopode. La larve de stade 3 est alors libérée et va se fixer dans le tube digestif de l'H.I.2. (19).

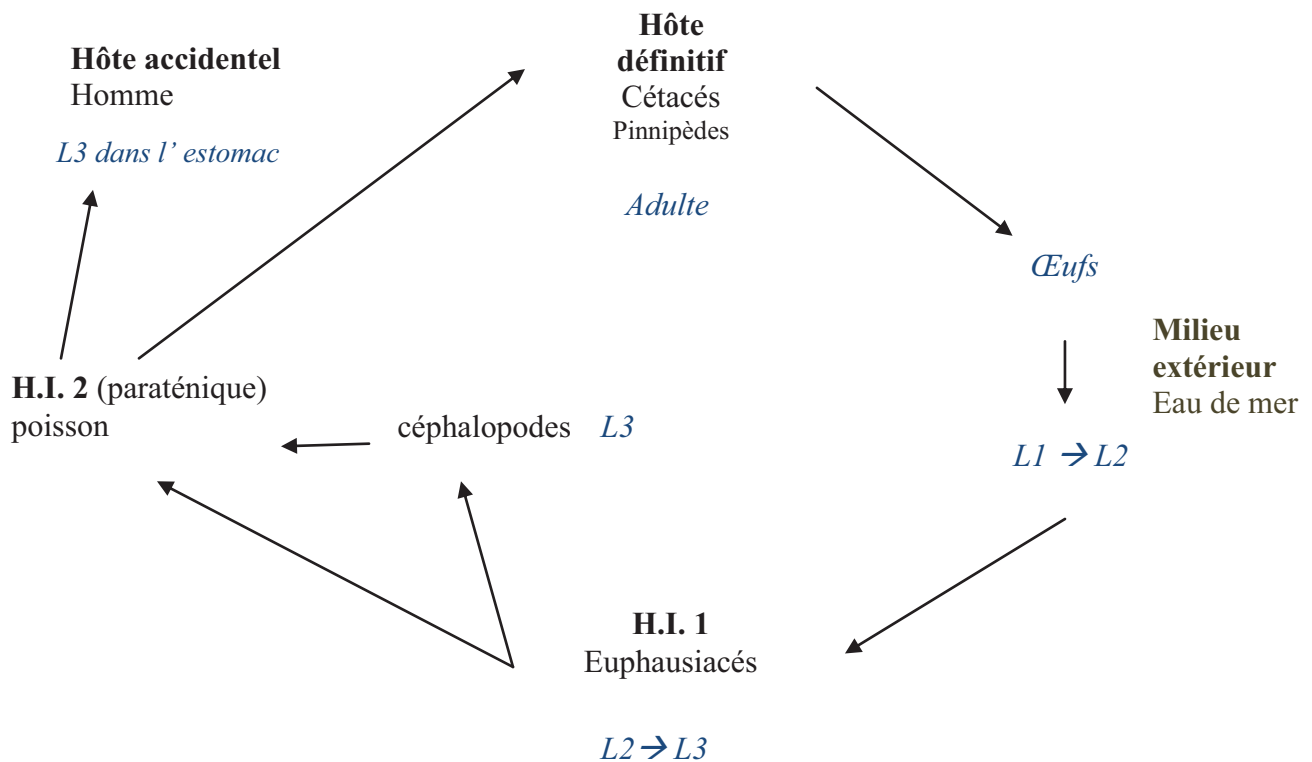


Figure 2 : Cycle d'*Anisakis simplex*

1.2 Epidémiologie

1.2.1 Prévalence Tableau 3

De nombreuses études ont été effectuées afin d'évaluer la prévalence des larves d'*Anisakis* chez les poissons couramment pêchés (3, 5, 10, 16, 20, 22, 30, 31, 32, 46, 47, 60, 62, 64, 66, 71, 77, 78, 79, 86).

Les poissons vivant strictement dans l'océan et ceux qui viennent se reproduire en eau douce (rivière) sont touchés indistinctement (saumon (79), alose canadienne *Alosa sapidissima* (71)). Les mâles et les femelles sont parasités de la même façon (31, 79). Selon certaines études, il n'y a pas de différence de parasitisme en fonction de la taille de l'animal (30, 44, 71, 79). D'après d'autres publications la taille de l'animal semble avoir une influence : plus le poisson est de grande taille, plus il est parasité. Cette relation a été mise en évidence chez *Scomber japonicus* (20), chez *Sebastes capensis* (31) ou encore chez le chinchard (*Trachurus trachurus* et *Trachurus picturatus*) (3, 47). En grandissant, le poisson a plus d'opportunités d'ingérer des crustacés hébergeant des larves d'*A. simplex* et donc d'être contaminé (31).

En Atlantique Nord, les poissons les plus touchés semblent être les morues et les harengs (80% selon 46). Le saumon sauvage est aussi souvent mis en cause (jusqu'à 100% selon 22). Dans le Pacifique, le saumon est également une espèce très touchée (100% selon 79).

Des différences de prévalence importantes existent selon les études. Par exemple, chez le cabillaud, les valeurs varient de 92% (5) à 35% (78). Ces disparités sont dues aux échantillons de l'étude. Selon Angot et Brasseur, l'échantillon est important (plus de 400 spécimens) alors que selon Song et al. il est de petite taille (une vingtaine). De même, la recherche des parasites s'effectue chez certains auteurs sur le poisson entier, sur de nombreux organes (viscères, cavité cœlomique) (30, 62, 86) ou uniquement le filet (64, 78). Par ailleurs, certains poissons sont pêchés pour l'étude (22, 47, 66, 76, 79, 86), d'autres proviennent des pêcheurs locaux ou des criées (3, 5, 30, 64). Les variations observées peuvent ainsi être liées au rejet de certains poissons par les pêcheurs (produits non commercialisables) ou à l'éviscération précoce lors de pêche industrielle.

Le nombre de parasites par poisson est variable : de 11 à 89 larves d'*Anisakis simplex* chez *Alosa sapidissima* (71) ou de 1 à 156 chez les poissons de l'Antarctique (66).

Le poisson d'élevage est peu touché (pas ou peu de consommation d'hôtes intermédiaires donc peu de risque de contamination). Ainsi, aucun parasite n'a été trouvé chez les saumons d'élevage (5). Cependant, certains saumons d'élevage sont nourris avec des poissons frais

comme les harengs (*Clupea harengus*) qui sont eux d'origine sauvage et souvent très parasités (22).

Les espèces autochtones peuvent être contaminées (saumon sauvage *Salmo salmar*) par l'introduction d'espèces exotiques contaminées (alose canadienne *Alosa sapidissima*) (71)

1.2.2 Répartition géographique

La répartition d'*Anisakis simplex* est cosmopolite. Le parasite a été isolé aussi bien dans l'hémisphère Nord (5) que dans l'hémisphère Sud (66). La zone géographique de pêche semble avoir une influence indirecte sur la prévalence. Ces variations s'expliquent sans doute par des facteurs biologiques comme par exemple la présence de mammifères marins, leur degré d'infestation ou la présence d'hôte intermédiaire (5, 19).

1.2.3 Localisation des larves de stade 3 chez les poissons

Les larves de stade 3 se trouvent principalement dans l'intestin et la cavité cœlomique. Elles sont encapsulées dans la paroi viscérale, à la surface des organes ou dans le mésentère (5, 19, 30). Cependant, chez certaines espèces comme *Oncorhynchus keta*, *Astroconger myriaster* et *Engraulis japonicus* il semble que les larves se trouvent également dans les muscles autour de la cavité abdominale (16, 76,77, 79, 86) les saumons peuvent même être infestés jusqu'à 87% (22). Un phénomène de migration post-mortem pourrait être à l'origine de la migration des larves dans le muscle. Des mesures prophylactiques simples pourraient donc être prises afin d'éviter la dispersion des larves dans le muscle (19). A l'inverse les muscles de certaines espèces comme le lieu noir (*Pollachius virens*) sont très peu touchés (0,4% selon 78).

1.2.4 Variations saisonnières

Il ne semble pas y avoir de variation saisonnière significative selon certaines études (44). Les différences observées pourraient provenir du degré d'infestation de l'autre hôte intermédiaire à savoir les Euphasiacées tels que les *Thysanoessa* ou *Euphasia* (20, 79). La présence ou non des hôtes définitifs comme les baleines joue aussi un rôle (62).

1.3 Anisakidose humaine

1.3.1 Présentation de la maladie

L'anisakidose est une parasitose provoquée par un nématode de la sous-famille des Anisakinés. L'homme est alors un hôte accidentel de la larve de stade 3. Il se contamine en ingérant du poisson cru ou insuffisamment cuit (sushi, sashimi, ceviche...). L'homme est une impasse parasitaire : la larve de stade 3 ne se transforme pratiquement jamais en larve de stade 4 et jamais en adulte. Le parasite n'est donc pas excréteur d'œufs chez l'homme. Les larves de stade 3 ne survivent que quelques semaines chez l'homme.

Des cas d'anisakidose ont été décrits chez les cormorans (40, 85) ou chez le chat (74). Les larves peuvent provoquer des ulcères gastriques chez le lion de mer (15) ou des granulomes éosinophiliques chez la baleine (56) lorsqu'elles n'évoluent pas en adultes chez ces animaux.

1.3.2 Historique et prévalence

L'anisakidose a été décrite pour la première fois au Pays-Bas en 1960 (43, 88) en tant que maladie du vers du hareng. En effet, culturellement ce poisson y est fréquemment consommé cru ou fumé ce qui prédispose à la contamination humaine.

La maladie a ensuite été recensée dans les pays asiatiques comme le Japon où le poisson est traditionnellement consommé cru. Ainsi dans ce pays, environ 2000 cas ont été décrits en 1995 (52). La prévalence de l'anisakidose est plus importante chez les hommes entre 20 et 50 ans et dans les populations habitant la côte (8). En Chine, la prévalence est beaucoup plus faible (1 seul cas décrit en 2008). Cette différence provient probablement des habitudes alimentaires. Le poisson cru est traditionnellement consommé en fin de repas, lorsque l'estomac est plein. La pénétration de la larve est donc plus difficile. De plus, la consommation de certains condiments dans la cuisine chinoise comme le rhizome de gingembre (*Zingiber officinale*) ou le shiso (*Perilla frutescens*) aurait un effet inhibiteur voir létal sur les larves d'*A. simplex* (8). En Corée, entre 1989 et 1992, 107 cas ont été diagnostiqués par gastroscopie (36).

En Espagne, la prévalence est d'environ 4 cas pour 100 000 habitants (9, 65). En Italie, entre 1996 et 2007 23 cas ont été diagnostiqués (10, 38). Aux Etats-Unis, 50 cas ont été décrits entre 1959 et 1989. Au Pérou, 8 cas ont été décrits en 2004 (14).

En France, une étude rétrospective effectuée entre 1985 et 1987 a mis en évidence 21 cas (34). Tous les cas étaient liés à la consommation de poissons crus ou insuffisamment cuits. Une autre étude effectuée entre 1986 et 1993 en Loire Atlantique auprès des gastro-

entérologues a mis en évidence 6 cas (3 confirmés et 3 suspects). En 1995, 55 cas d'anisakidose avaient été décrits. Les mesures sanitaires prises (congélation du poisson, éviscération précoce...) ont permis de diviser par 4 le nombre de cas entre la période 1992-2005 (6 cas) par rapport à la période 1977-1991 (25 cas) (12). En 1990, la prévalence était évaluée à environ 8 cas par an (46). Il n'existe aucun système de surveillance des anisakidoses en France (37) ce qui explique les chiffres assez bas.

L'augmentation de prévalence de cette pathologie peut s'expliquer par différents facteurs (52):

des facteurs sociaux, diététiques ou culturels qui facilitent la consommation de poissons crus (augmentation de la consommation de sushi ou consommation de poisson mariné fréquente culturellement comme aux Pays Bas ou dans les pays scandinaves). La probabilité d'exposition au parasite est donc plus importante.

des facteurs environnementaux comme les moyens de conservation du poisson : la congélation obligatoire pour les poissons destinés à être consommés crus selon la norme européenne (Annexe 1), la présence ou non d'éviscération précoce du poisson et donc la possibilité pour les larves d'*Anisakis* de s'enkyster dans les tissus musculaires.

les progrès en diagnostic notamment le diagnostic moléculaire (ELISA) ou l'imagerie (gastroscopie) qui permettent un diagnostic plus facile d'anisakidose ou d'allergie à *Anisakis simplex* notamment par recherche des anticorps anti-Anisakis.

1.3.3 Formes cliniques de la maladie

1.3.3.1 Forme gastrique

Elle représente la majorité des cas.

Elle se caractérise par un syndrome de type abdomen aigu. Le patient présente de la nausée, des vomissements, une violente douleur épigastrique (18) dans environ 90% des cas (65). Les symptômes apparaissent 2 à 5 heures après la consommation de poisson cru. Il peut parfois s'écouler 12 heures avant l'apparition des symptômes (35, 36). D'autres symptômes de type allergique comme de l'urticaire ou un œdème peuvent également être présents peu avant l'apparition des autres symptômes.

Lors de la prise des commémoratifs, on note la consommation de poissons crus ou insuffisamment cuits.

L'évolution se fait vers un ulcère gastrique, voire une péritonite (9). La formation d'un granulome éosinophilique peut évoluer vers l'apparition d'un processus tumoral.

Le diagnostic différentiel doit se faire avec les autres causes d'abdomen aigu comme par exemple une occlusion intestinale, une appendicite ou une péritonite.

Les symptômes disparaissent parfois en quelques jours ce qui a valu le nom de " tumeur fugace " ("vanishing tumor").

Le diagnostic s'effectue par gastroscopie et permet un traitement rapide par extraction de la larve.

1.3.3.2 Forme intestinale

Elle est beaucoup plus rare que la forme gastrique. Cette forme est beaucoup plus difficile à diagnostiquer car les symptômes sont encore plus frustrés que dans la forme gastrique.

L'évolution se fait vers un granulome éosinophilique centré sur la larve d'*Anisakis simplex*.

Les symptômes observés sont : diarrhées éventuellement sanglantes, vomissements, nausées, alternance d'épisodes de constipation et de diarrhée... Une douleur pouvant faire penser à une appendicite est présente chez 80% des patients (65). La présence de granulome éosinophilique peut parfois entraîner des occlusions (81).

L'évolution du granulome éosinophilique en processus tumoral semble possible.

1.3.3.3 Autres localisations

Ces localisations sont beaucoup plus rares. Des formes coliques (39), pulmonaires (87) ou spléniques suite à une perforation gastrique (77) ont été décrites. Des symptômes rhumatologiques de type arthrite ont été décrits chez un patient (7).

La maladie est parfois asymptomatique et peut être une découverte fortuite lors par exemple d'endoscopie.

Des cas de syndromes néphrotiques dûs aux allergènes d'*Anisakis simplex* ont été décrits (54).

1.3.4 Diagnostic

Les symptômes sont peu évocateurs, le diagnostic est donc souvent difficile. L'anisakidose est ainsi à l'origine de nombreuses erreurs de diagnostic notamment avec les tumeurs du pancréas ou de l'estomac.

1.3.4.1 Commémoratifs

Les commémoratifs sont très importants. En effet, la consommation de poisson cru ou insuffisamment cuit est toujours présente.

1.3.4.2 Examens de laboratoire

La formule sanguine est généralement normale. Une leucocytose transitoire 1 à 2 jours après l'ingestion est parfois observée (65). La présence d'une éosinophilie est inconstante.

La coproscopie est inutile. En effet, l'homme est une impasse parasitaire, il n'y a donc pas excrétion d'œufs d'*Anisakis* dans les fèces.

Le taux d'IgE total augmente rapidement dès les premiers jours et reste élevé pendant des mois voire des années (8).

Les tests sérologiques sont complexes en raison de nombreuses réactions croisées avec notamment d'autres helminthes comme *Ascaris sp.* Les trois méthodes les plus fréquemment utilisées pour la détection des IgE anti-*A. simplex* sont CAP-FEIA (capture de protéine et Fluorescence Enzyme ImmunoAssay) et la technique d'immunoblot ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) et le test SPT (Skin Prick Test). Le test SPT correspond à l'injection sous cutanée d'une petite quantité d'allergène et à la mesure du diamètre de la réaction observée (45). Il est considéré comme positif lorsque la papule observée mesure plus de 5mm de diamètre (63).

La technique CAP-FEIA possède une forte sensibilité (proche de 100%) mais une faible spécificité (environ 45%) du fait des nombreuses réactions croisées existantes. La recherche par ELISA utilisant l'anticorps monoclonal UA3 présente une bonne spécificité (proche de 100%) et une bonne sensibilité (proche de 100%) Cette technique est cependant difficile à mettre en pratique sur le terrain (coût du matériel...). Le test SPT ne donne des résultats ni en relation avec l'intensité des symptômes ni avec le taux d'IgE total. A l'inverse, les résultats obtenus avec les techniques CAP-FEIA ou ELISA sont fortement corrélés au taux d'IgE total et à l'intensité des symptômes observés (45).

1.3.4.3 Imagerie

La gastroscopie permet de mettre en évidence directement les larves au sein d'un granulome éosinophilique ou isolées. Elle est la méthode de choix en cas de forme aiguë. Un épaissement, une hyperhémie et un œdème de la muqueuse sont mis en évidence avec éventuellement la présence d'ulcération (17).

La radiographie permet de mettre en évidence des plis gastriques longitudinaux épaissis et rigides. La larve est parfois visible comme une ombre linéaire. Les perturbations occasionnées par la larve comme la dilatation de la lumière intestinale ou la présence de liquide d'ascite sont observables.

L'échographie présente un intérêt dans la forme intestinale. L'épaississement et l'œdème de la paroi intestinale sont visibles. Une iléite est présente dans 80% des cas (65).

1.3.4.4 Histologie

Les différentes étapes sont résumées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Evolution des lésions lors d'infestation par *Anisakis simplex* (8, 19)

	Facteurs libérés ou réponse immunitaire	Lésions macroscopiques	Lésions microscopiques
Localisation gastrique			
Phase aiguë <1 heure	Enzymes protéolytiques	Epaississement paroi gastrique, lésions hémorragiques Larve visible dans muqueuse	Œdème, éosinophilie, infiltration de lymphocytes, macrophages et neutrophiles
Phase chronique			
<i>1^{er} phase</i> 4h à 6 jours	Facteurs chémotactiques	Type phlegmoneux Larve vivante occasionnellement dans la muqueuse ou la sous-muqueuse	Réaction de type Arthus Infiltration éosinophilique Lésions érosives
<i>2^{ème} phase</i> 7 à 14 jours	Induction de l'hypersensibilité	Type abcès Larve en légère dégénérescence avec œdème et exsudat fibrineux	Lésions ulcéreuses

<i>3^{ème} phase</i> Plus de 14 jours	Inflammation persistante ou granulome	Type abcès granulome Débris de larve entourés de tissus granulomateux	Infiltration lymphoplasmocytaire
<i>4^{ème} phase</i> Jusqu'à 6 mois		Type granulome Débris de larves entourés de tissus granulomateux	Fibrose, histiocytes géants à corps étrangers
Localisation intestinale			
Phase aiguë		Epaississement de la paroi Œdème intense	Nombreux éosinophiles, neutrophiles, macrophages et lymphocytes
Phase chronique			
<i>1^{er} phase</i>		Type phlegmoneux Idem phase aiguë	Idem phase aiguë
<i>2^{ème} phase</i>		Type abcès Larve en légère dégénérescence	Nécrose tissulaire massive
<i>3^{ème} phase</i>		Type abcès granulome Larve en dégénérescence intensive	Infiltration lymphoplasmocytaire
<i>4^{ème} phase (rare)</i>		Type granulome	Débris non-identifiés dans un granulome

1.3.5 Traitement

L'exérèse de la larve par endoscopie est la méthode de choix en cas de forme gastrique. La chirurgie est parfois nécessaire en cas de forme intestinale ou chronique de façon à éliminer le granulome éosinophilique qui s'est formé. Un traitement anti-helminthique à l'aide de tiabenzol ou albendazol peut être entrepris. Un traitement symptomatique des ulcères gastriques doit aussi être mis en place (65).

1.3.6 Risque allergique

La réaction immunitaire de l'hôte fait intervenir différents mécanismes résumés dans la Figure 3. La réponse initiale fait intervenir les cellules épithéliales notamment du tractus digestif. La réponse adaptative est essentiellement de type Th2 comme pour la majorité des helminthes (8). De plus, des réactions d'hypersensibilité peuvent apparaître.

1.3.6.1 Prévalence

Au Japon, sur 34400 patients atteints d'allergies alimentaires ou d'urticaire, 29,8% sont positifs lors de recherche d'IgE anti *Anisakis simplex*, 33% présentent une dermatite atopique, 75% une urticaire et 10% sont asymptomatiques (87). 12,6% des donneurs de sang japonais (groupe témoin) présentent des IgE anti *Anisakis simplex* (7).

Dans une étude coréenne, sur les 10 patients présentant une urticaire, un angio-œdème ou un choc anaphylactique, tous avaient des IgE spécifiques anti *Anisakis* (18).

En Espagne, la prévalence va de 5 à 56% en fonction de l'origine géographique du patient. En effet, dans le sud de l'Espagne, culturellement le poisson est consommé frit, le risque de contamination est donc réduit. Dans le Pays-Basque, la prévalence est de 22% chez les patients présentant une urticaire ou un angio-œdème. A la consultation d'allergologie de Madrid, la prévalence est comprise entre 16 et 22% (87). L'âge moyen est d'environ 40 ans chez les patients souffrant d'urticaire chronique liée à une réaction allergique à *A. simplex* (21). Plus de 50% des patients allergiques à *A. simplex* nécessitent une prise en charge d'urgence et 8% une hospitalisation (choc sévère, arrêt respiratoire ou angio-œdème persistant) (7). *A. simplex* est ainsi l'allergène d'origine alimentaire le plus important dans la population d'adulte souffrant d'urticaire (Tableau 5) (8). En effet, dans 50% des cas d'allergie alimentaire *A. simplex* est mis en cause (63). L'urticaire est chronique lorsque les lésions persistent plus de 6 semaines et disparaît lorsque le patient cesse de consommer du poisson. L'urticaire est associée à de l'angio-œdème dans environ 1 cas sur 3 (63).

Tableau 5 : Allergènes responsables de choc anaphylactique à la consultation d'allergologie (Pays-Basque, Espagne) (8)

Allergène	Prévalence (%)
Médicament	60
Venin d'hyménoptère	14
<i>Anisakis simplex</i>	10
Alimentaire	10
Idiopathique	4
Latex	2

1.3.6.2 Principaux allergènes connus

Ils se répartissent en 3 classes : les antigènes somatiques, les antigènes sécréteurs / excréteurs et les antigènes de surface. Les principaux allergènes sont regroupés dans le Tableau 6. Ce sont majoritairement des antigènes sécréteurs/excréteurs.

Antigènes somatiques (8, 70, 87):

Les antigènes somatiques sont les plus abondants. Leur poids moléculaire varie de 13 à 150 kDa. Ces antigènes correspondent à des protéines impliquées dans la néoglucogenèse ou dans la synthèse des acides gras.

Ainsi la biotine est une des protéines impliquée dans les réactions croisées avec d'autres *Ascaris*.

La tropomyosine est une protéine de 32,5 kDa et est contenue dans les muscles. Il existe un fort degré d'homologie entre espèces même lors de fort éloignement phylogénique. La tropomyosine des invertébrés est également responsable des allergies aux crustacés ou aux acariens présents dans la poussière. Il existe donc de nombreuses réactions croisées notamment entre *A. simplex* et les acariens ou entre *A. simplex* et d'autres helminthes (*Acanthocheilonema viteae*, *Onchocerca volvulus*, *Ascaris suum*, *Trichostrongylus colubriformis* ou *Trichinella spiralis*). La tropomyosine est considérée comme un pan-allergène. L'immunité induite par cette protéine est protectrice. Elle pourrait donc être utilisée dans le cadre de vaccin. La tropomyosine des vertébrés est non allergène.

Antigènes sécréteurs / excréteurs (8, 70, 87):

Les antigènes sécréteurs / excréteurs ont un poids moléculaire variable. Ceux ayant un poids moléculaire bas (14, 17 et 18 kDa) sont présents uniquement sur des larves vivantes. Ils sont spécifiques des larves de stade 3 et 4 uniquement.

Ces antigènes sont synthétisés en deux endroits : dans le ventricule œsophagien et dans les cellules sécrétrices du tractus digestif. Ce sont surtout des enzymes histolytiques ayant pour but de faciliter le passage du parasite dans la muqueuse gastrique.

Ces antigènes peuvent provoquer une dégranulation des mastocytes.

Antigènes de surface (8,87):

Les antigènes de surface sont des molécules exprimées par la cuticule du parasite. Ils sont donc exprimés lors des périodes de mue comme lors d'évolution de la larve de stade 3 en larve de stade 4. Ils sont probablement responsables des allergies d'origine alimentaire car ils peuvent être présents dans la nourriture. Ils sont identiques à ceux d'autres nématodes.

Ces antigènes pourraient jouer un rôle dans les processus chroniques comme les granulomes.

Il existe cependant de nombreuses réactions croisées avec d'autres nématodes comme *Ascaris suum*, *Toxocara canis* ou *Trichinella spiralis*.

Les allergènes sont thermostables. Ni la cuisson, ni la congélation ne permettent de les détruire (8).

Tableau 6 : Principaux allergènes d'*Anisakis simplex* (8)

Nom	Poids moléculaire (kDa)	Localisation	Classe d'allergène
Ani s 1	21-24	sécréteur/excréteur	homologue à l'inhibiteur de la sérine
Ani s 2	97	somatique	paramyosine
Ani s 3	41	somatique	tropomyosine
Ani s 4	9	sécréteur/excréteur	inhibiteur de la cystéine
Ani s 5	15	sécréteur/excréteur	protéine SXP/RAL
Ani s 6		sécréteur/excréteur	inhibiteur de la sérine
Ani s 7	139-154	sécréteur/excréteur	glycoprotéine
Ani s 8	15	sécréteur/excréteur	protéine SXP/RAL

1.3 6.3 Différentes manifestations cliniques

Lors d'exposition à l'allergène comme par exemple chez les poissonniers ou les personnes travaillant dans des usines de transformation de poissons des symptômes identiques à savoir urticaire, angio-œdème ou choc anaphylactique ont été décrits (69).

Quelques cas d'allergie dus à *Anisakis simplex* ont été décrits non pas par consommation de poisson cru mais par ingestion de viande de poulet ou par contact avec des aliments pour poulets. En effet, les allergènes présents dans le parasite se retrouvent dans la viande ou dans la nourriture des poulets (alimentation à base de farines de poisson) (6). Des allergies de contact, par exemple chez les pêcheurs ou les poissonniers ont également été décrites (8).

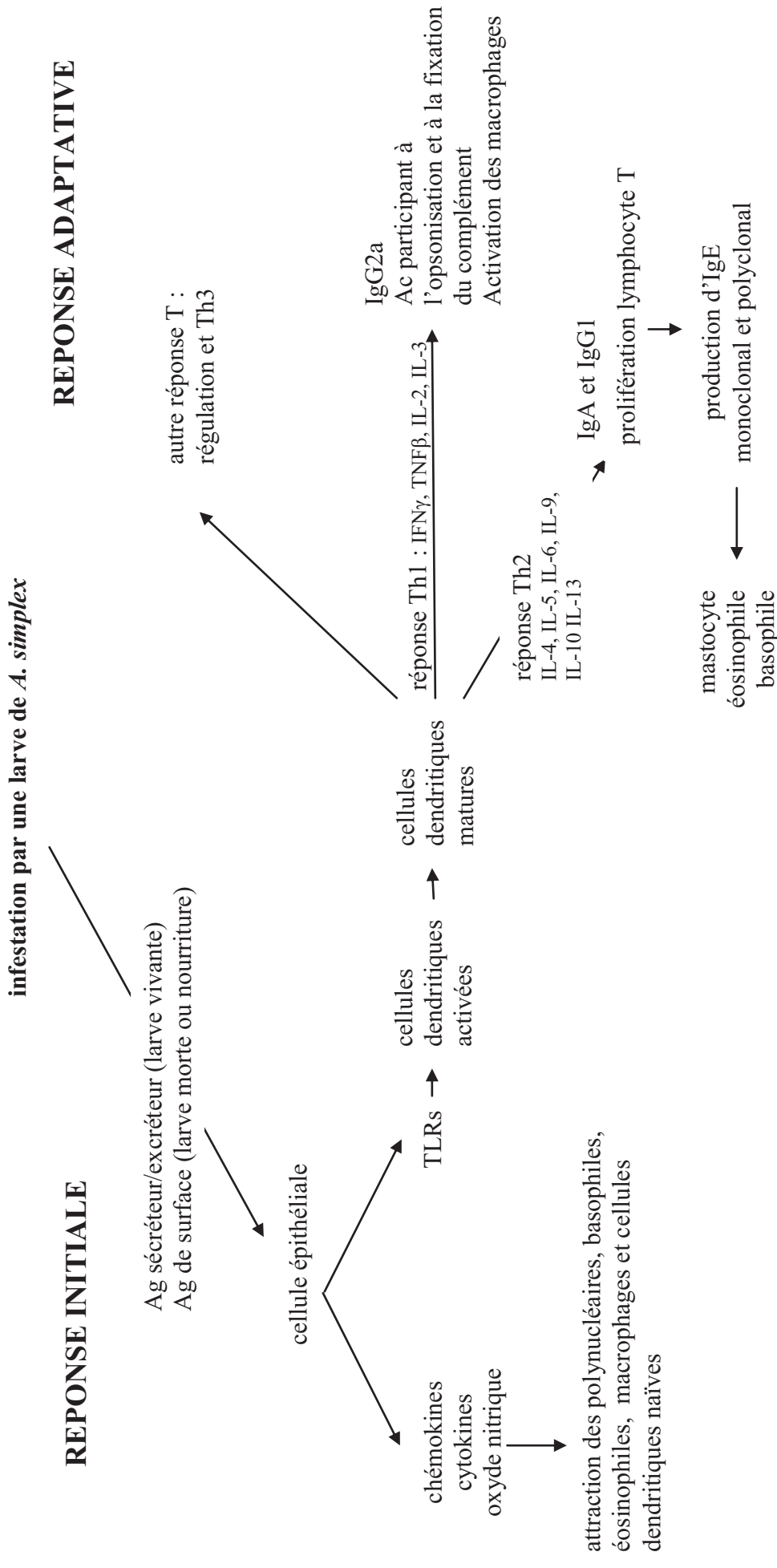


Figure 3 : Représentation schématique de la pathogénicité d'*A. simplex* (8)

1.4 Prophylaxie

La préparation de sushis par une personne expérimentée (restaurant par exemple) semble diminuer le risque de contamination par *Anisakis simplex* (52).

1.4.1 Congélation

Afin d'éliminer les larves d'*Anisakis*, il est conseillé de congeler le poisson. Les recommandations sont : congélation rapide à -35°C à cœur pendant 15 heures ou congélation classique à -20°C pendant 24 heures (29). La norme européenne (Annexe I) impose ainsi la congélation du produit cru ou du produit fini à une température n'excédant pas -20°C en tout point du produit pendant au moins 24 heures. Cette norme s'applique :

aux produits consommés crus (sushi)

aux produits de la pêche (saumons sauvages, harengs, maquereaux, sprats) devant subir un fumage à froid au cours duquel la température interne du produit n'excède pas 60°C

aux produits de la pêche marinés ou salés si le traitement est insuffisant pour détruire les larves de nématodes

Cependant la congélation ne permet pas de détruire les antigènes. Une réaction allergique est donc toujours possible (75).

1.4.2 Salage

Un salage, notamment du hareng, avec une concentration de sel de 8 à 9% pendant 5 à 6 semaines permet d'éliminer les larves d'*Anisakis* présentes en surface. Ces concentrations sont celles utilisées lors de la préparation traditionnelle de harengs aux Pays-Bas. Les larves présentes à l'intérieur des tissus sont plus difficiles à atteindre. Une concentration de sel de 3-3,5% est insuffisante pour détruire le parasite (29).

La conservation dans le vinaigre ne permet pas de détruire les larves d'*Anisakis* (75).

1.4.3 Fumage

Une température de 60°C pendant une minute est nécessaire pour tuer les larves d'*Anisakis*. Cette température n'est pas atteinte lors du fumage traditionnel. Les larves ne sont donc pas éliminées par cette technique. Une température de 66°C pendant 24 heures est nécessaire pour obtenir la destruction du parasite (29).

2 *Kudoa* sp.

2.1 Biologie

2.1.1 Classification

Le genre *Kudoa* appartient à l'embranchement des Myxospora, à la classe des Myxosporia, à l'Ordre des Multivalvulida et la famille des Kudoidae. La famille des Kudoidae comporte un seul genre *Kudoa* (27). Plus de 64 espèces ont été décrites et de nouvelles le sont régulièrement (25). Certaines sont spécifiques d'espèce comme *Kudoa thalassomi* (2), d'autres sont plus cosmopolites comme *Kudoa thyrsites* (Tableau 7).

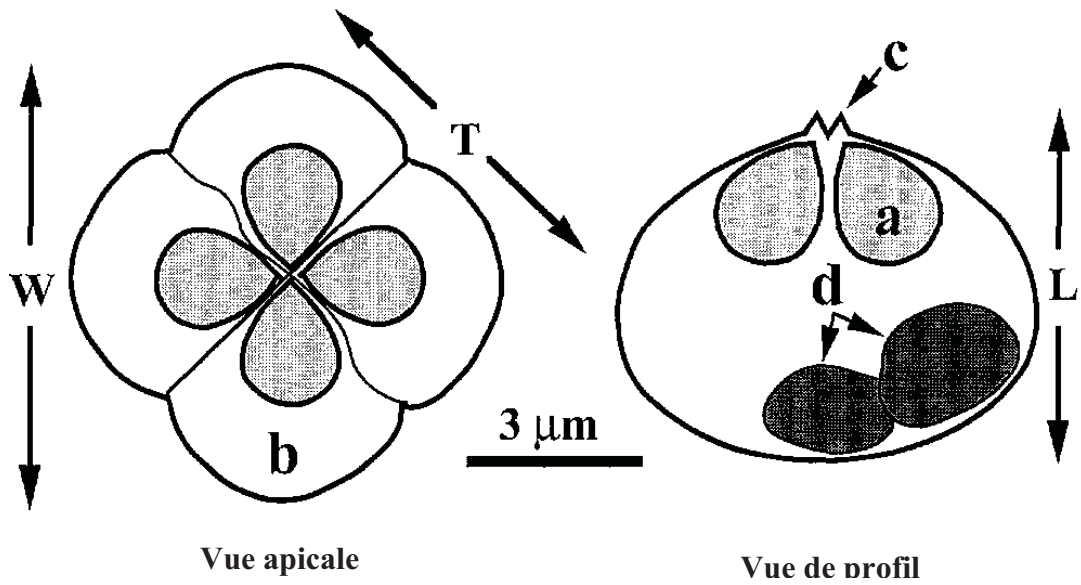
2.1.2 Morphologie Figure 4

Les Multivalvulida sont caractérisés par des myxospores à symétrie radiale composées de 3 à 7 valves (27). Une espèce de *Kudoa* à 13 valves *K. permulticapsula* a été décrite (89).

Kudoa sp est caractérisé par des myxospores disposées en carré ou en étoile. Les myxospores possèdent de plus une membrane fine et une séparation indistincte entre les valves. Chaque valve possède une capsule polaire. La myxospore renferme deux sporoplasmes uninucléés imbriqués l'un dans l'autre (57).

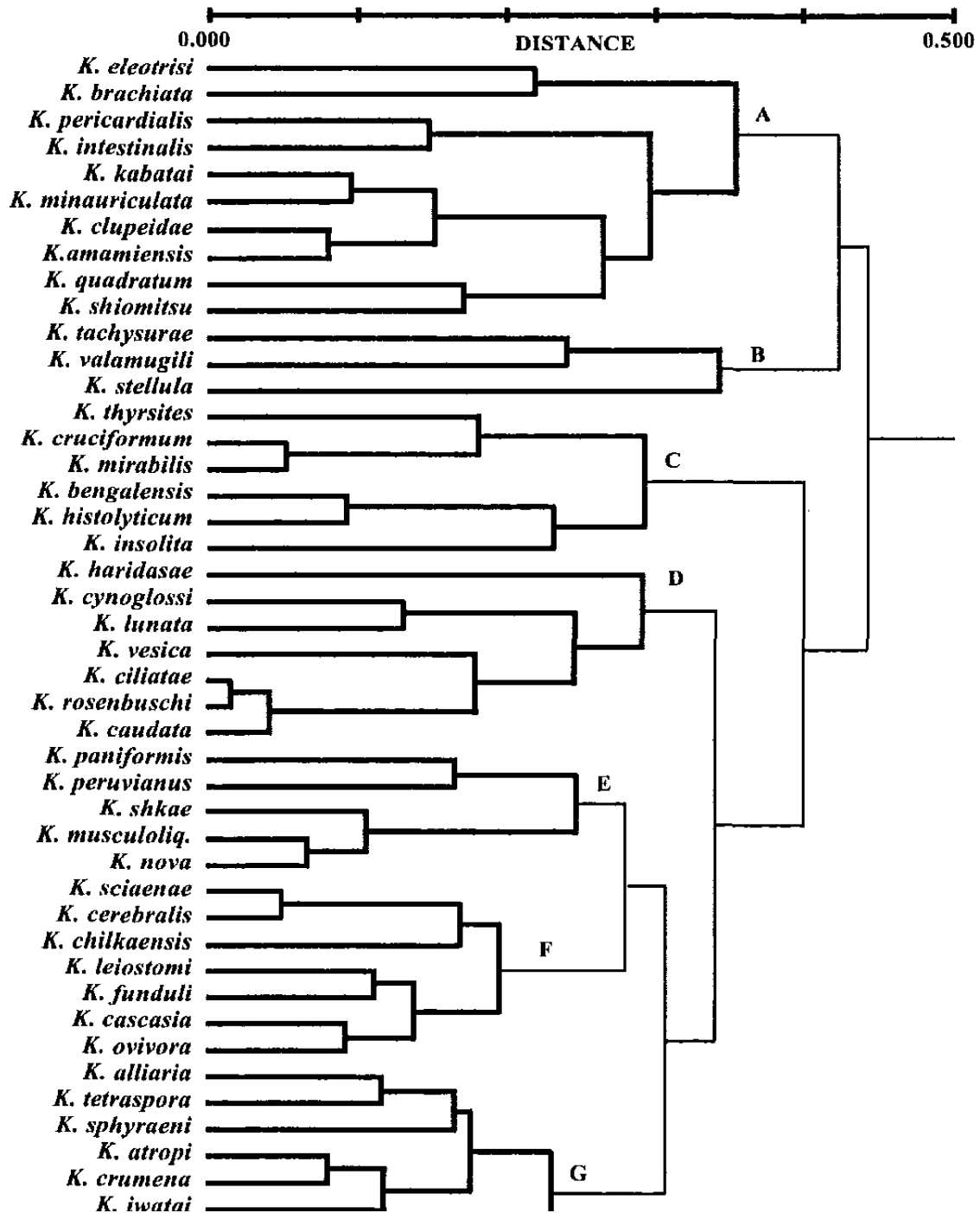
Soixante-quatre espèces ont été recensées et de nouvelles sont régulièrement découvertes. La plupart sont des parasites des muscles (57). D'autres localisations ont été décrites comme dans les ovaires (*K. ovivora*) ou dans le rein (*K. stellula*) (Tableau 9). De nouvelles espèces sont régulièrement décrites comme *K. grammatorcyni* (2) ou *K. megacapsula* (92).

Jusqu'à présent la description d'une nouvelle espèce de *Kudoa* s'effectuait sur des critères morphologiques, géographiques ou de spécificité d'espèce par exemple la taille, la forme des spores. Les techniques d'analyse du génome (PCR par exemple) vont probablement permettre de regrouper certaines espèces comme *K. alliaria* et *K. rosenbuschi* (1, 91) ou d'inclure des espèces jusqu'à présent classées dans une autre famille sur des critères morphologiques (Figure 5). D'après l'analyse moléculaire, le genre *Kudoa* est composé d'un seul genre monophylétique (90).



W : largeur, T : épaisseur, L : longueur
 a : capsule polaire, b : valve, c : projection apicale, d : nucléole de taille inégale

Figure 4 : Schéma d'une spore de *Kudoa ovivora* (80)



distance : degré de dissemblance, 0 : similarité complète, 1 : dissemblance complète
 A : petites spores carrées avec extension des valves apicale et latérale et une capsule polaire égale
 B : petites spores avec seulement extension des valves apicale et une capsule polaire ovale et inégale
 C : grandes spores en étoile avec seulement extension des valves latérale et une capsule polaire non piriforme
 D : spores de taille moyenne en étoile avec une capsule polaire de même taille
 E : spores de taille moyenne sans extension des valves latérale et apicales et capsule polaire de même taille
 F : spores de taille moyenne carré avec seulement extension des valves apicales et capsule polaire de même taille
 G : grande spores sans extension des valves latérale et capsule polaire allongée et de même taille

Figure 5 : Analyse partielle des séquences ADN et classification morphologique de *Kudoa* sp (80)

2.1.3 Cycle

Le cycle de *Kudoa sp* est (Figure 6) encore mal connu. Il fait sans doute intervenir un hôte intermédiaire, probablement un Annélidés. Chez d'autres Myxosporea (*Myxidium leei*) la transmission de poisson à poisson est possible via la consommation de chair ou via l'eau de mer (23). Une telle contamination peut être possible par exemple chez *Thalassoma bifasciatum* qui est parfois cannibale et ingère donc directement des myxospores de *Kudoa ovivora* présentes chez ses congénères (80).

Les étapes du cycle à l'intérieur de l'hôte définitif (poisson) sont encore mal connues. Le stade trophozoïte semble ne pas exister chez le poisson.

Le cycle de *Kudoa sp.* est résumé dans la Figure 6. Il apparaîtrait que la myxospore soit le stade contaminant, cependant les études expérimentales ne vont pas dans ce sens (57). La myxospore est libérée dans l'organisme infecté. Puis le sporoplasme est libéré. Il se divise en 2 cellules : une interne et une externe. Cette phase correspond à la phase présporogonique. La cellule interne correspond au trophozoïte.

A l'intérieur du trophozoïte, les noyaux se multiplient pour former un kyste (ou pseudokyste) plasmodial. La nutrition se fait par activité pinocytaire (27).

La phase de sporogonie a lieu au sein du kyste (ou pseudokyste) et correspond à un stade végétatif. Dans le plasmodium, des cellules, les sporontes s'agglomèrent pour constituer des sporoblastes. Les sporoblastes se divisent pour former 4 cellules uninucléées et une cellule binucléée. Deux des cellules uninucléées forment les valves et les deux autres les capsules. La cellule binucléée devient le sporoplasme. L'activité pinocytaire est alors interrompue et le mécanisme devient actif (Figure 7) (27).

Une phase proliférative ou phase extrasporogonique a été démontrée chez de nombreux Myxosporea mais n'a pas été décrite chez le genre *Kudoa*. Elle est cependant suspectée. Cette phase correspond à une multiplication du parasite dans des organes différents du site final à savoir les muscles somatiques. Chez *K. thyrsite*, une production de stade extrasporogonique a été démontrée. Ces stades circulent de plus dans le sang du poisson et sont infestants lors de contamination expérimentale (57).

Lors de contamination expérimentale de saumon, la phase de sporogonie est observée environ 4 mois après l'infestation du muscle cardiaque, et entre 9 semaines et 5,5 mois dans les autres tissus. Lors de contamination expérimentale du poisson, il faut attendre 3 à 4 mois après une exposition à *Kudoa sp.* avant d'avoir une excrétion de spores. L'essai de transmission de ces myxospores matures directement dans l'estomac de poisson n'a conduit à aucune

contamination, même après 6 mois d'incubation. Les myxospores ne sont donc pas directement contaminantes lors d'étude expérimentale (57). Elles subissent donc une maturation ou un traitement avant de le devenir.

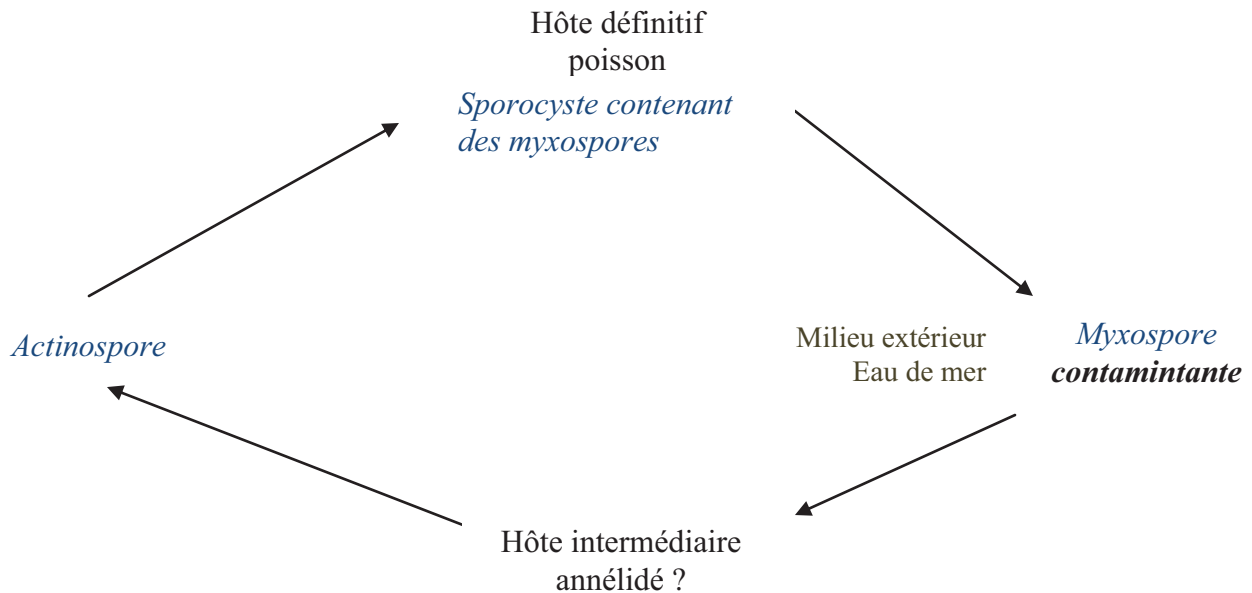


Figure 6: Cycle de *Kudoa sp* (27)

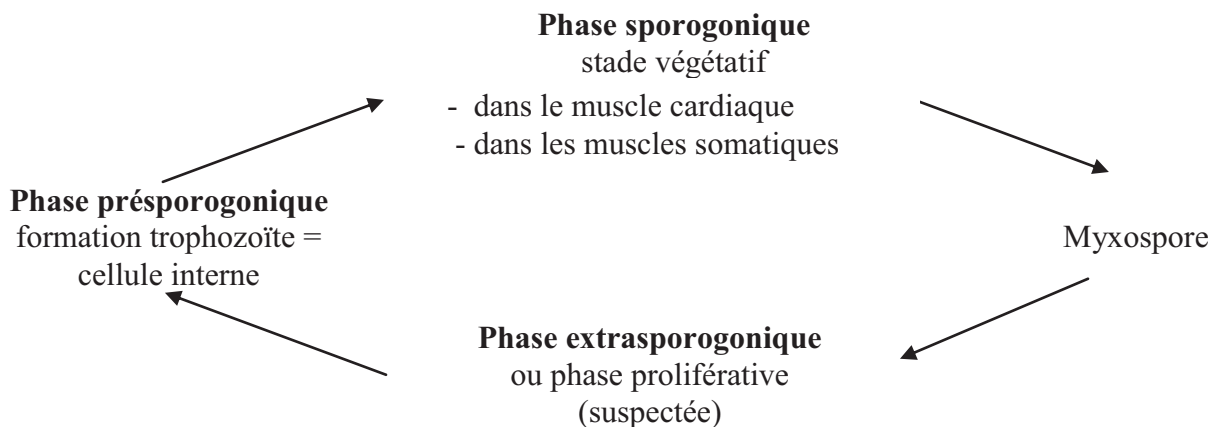


Figure 7 : Cycle présumé de *Kudoa sp.* chez le poisson (27)

2.1.4 Etude histologique

L'invasion du parasite commence par l'atrophie et la nécrose de l'endomysium entourant chaque fibre musculaire. Les fibres musculaires sont ensuite envahies par le parasite puis elles

nécrosent. Des enzymes protéolytiques sont libérées par le parasite (57). Un pseudokyste se forme. Le terme pseudokyste est préférable à celui de kyste. En effet, le pseudokyste est plus formé par une réaction inflammatoire de la part de l'hôte, plutôt que par une véritable enveloppe du parasite. Enfin, le pseudokyste s'encapsule. La dernière phase se caractérise par une atrophie sévère et une nécrose de la fibre musculaire. Au niveau cellulaire, des noyaux pycnotiques ou hypertrophiques peuvent être observés (33).

Tant que le parasite est à l'extérieur des fibres musculaires, l'hôte est incapable de détecter le parasite. La principale mesure de défense du poisson face à l'invasion du parasite est l'inflammation mais les tissus infestés ne présentent pas de trace d'inflammation chronique. L'inflammation n'est cependant observée que lorsque le parasite a achevé la phase de sporogonie et que le pseudokyste contient des myxospores matures. Elle se caractérise par une infiltration phagocytaire entraînant la formation d'une capsule de fibres de collagène et de fibroblastes de façon à isoler le parasite, et la formation d'un granulome (57). La réaction inflammatoire est plus ou moins importante selon l'espèce concernée. Ainsi, par exemple chez *K. hypoepicardialis*, l'inflammation est quasi nulle (11).

La couleur noire parfois observée du pseudokyste provient d'une dégranulation des spores et des produits de dégradation (49).

2.1.5 Diagnostic

2.1.5.1 Examen macroscopique

Il n'est possible que lorsque les pseudokystes sont visibles à l'œil nu, c'est-à-dire lorsqu'ils sont suffisamment gros. Cette méthode ne nécessite aucun matériel particulier. Elle est donc utilisable sur les marchés par exemple (57).

2.1.5.2 Examen microscopique

L'observation sur état frais est possible. La présence de myxospores est cependant nécessaire à la reconnaissance du parasite. Cette méthode reste peut onéreuse et peut donc être facilement utilisée notamment en élevage (57).

2.1.5.3 PCR

La sensibilité et la spécificité de ces tests sont très importantes. En effet, ils permettent la détection du parasite quel que soit le stade larvaire. Une seule région est amplifiée ce qui garantit une grande spécificité dans la recherche d'une espèce et le peu de réaction croisée. Cependant, ce test ne peut pas être utilisé comme méthode de diagnostic rapide mais peut être intéressant pour scanner une population d'élevage avant la vente.

Il repose sur la détection du gène 18S de l'ADN ribosomal (94).

2.1.5.4 Techniques immunologiques

Elles font intervenir la détection d'antigènes. Ces méthodes sont peu onéreuses, rapides et quantitatives. Elles pourraient donc aisément être utilisées sur les saumons d'élevage. Ainsi, des techniques ELISA sont des méthodes quantitatives et sensibles permettant la détection notamment de *K. thyrsite* chez le saumon (*Salmo salar*) (82) ou chez le merlu du Pacifique sud (*Merluccius gayi*). Cette méthode permet de déterminer le degré d'infestation du poisson par le parasite.

2.2 Epidémiologie

2.2.1. Prévalence : Tableau 7, Tableau 8 et Tableau 9

Toutes les espèces de *Kudoa* décrites sont des parasites des poissons de mer ou d'estuaire. Les poissons touchés sont aussi bien des animaux issus d'élevage que sauvages. Certaines espèces de *Kudoa* sont spécifiques d'une espèce de poisson comme *K. rosenbuschi* et *Merluccius hubbsi*, alors que d'autres ont une répartition cosmopolite et sont décrites chez de nombreuses espèces comme *K. thyrsites*.

Le stress semble augmenter la prévalence de *Kudoa sp.* Par exemple chez les jeunes saumons d'élevage tout juste transférés en mer, la prévalence des infections à *Kudoa* augmente jusqu'à 60%. De même des saumons bien nourris ont un système immunitaire plus compétent et donc un taux d'infestation plus bas (57).

Les saumons sexuellement matures sont plus infectés que les immatures (67).

Tableau 7 : Principaux poissons hôtes de *Kudoa* sp et prévalence (N.D. : Non Défini)

Nom d'usage	Nom latin	Lieu de pêche	Espèce de <i>Kudoa</i>	Prévalence (%)	Référence
Merlan bleu austral	<i>Micromesistius australis</i>	Ouest de l'Atlantique Sud	<i>Kudoa alliararia</i>	N.D.	57
Bocasse	<i>Notothenia sp</i>				
	<i>Abudefduf sp</i>	Ouest du Pacifique Nord	<i>Kudoa amamiensis</i>	N.D.	26
Sérieole du Japon	<i>Seriola quinqueradiata</i>				
	<i>Chrysiptera sp</i>				
	<i>Chromis sp</i>	Océan Indien	<i>Kudoa bengalensis</i>	N.D.	
	<i>Tachysurus platystomus</i>				
Mulet	<i>Mugil sp</i>	Ouest du Pacifique Nord	<i>Kudoa bora</i>	N.D.	
Maquereau espagnol	<i>Scomber japonicus</i>	Est de l'Atlantique Sud	<i>Kudoa caudata</i>	N.D.	
Gaspereau	<i>Alosa pseudoharengus</i>	Ouest de l'Atlantique Nord Californie du Sud	<i>Kudoa clupeidae</i>	N.D.	57
Hareng	<i>Clupea harengus</i>				
Menhaden tyran	<i>Breloortia tyrannus</i>				
Alose d'été	<i>Alosa aestivalis</i>				
Alose américaine	<i>Alosa mediocris</i>				
Loquette d'Amérique	<i>Macrozoarces americanus</i>				
Sebaste bocace	<i>Sebastes paucispinis</i>			37	34
Bar du japon	<i>Lateolabrax japonicus</i>	Ouest du Pacifique Nord	<i>Kudoa cruciformum</i>	N.D.	
Thazard atlantique	<i>Scomberomorus maculatus</i>	Est de l'Atlantique Nord	<i>Kudoa crumena</i>	N.D.	57
Sole-langue sénégalaise	<i>Cynoglossus senegalensis</i>	Est de l'Atlantique Nord	<i>Kudoa cynoglossi</i>	N.D.	
Choquemort	<i>Fundulus heteroclitus</i>	Ouest de l'Atlantique Nord	<i>Kudoa funduli</i>	100	4
Thazard requin	<i>Grammatorcynus bicarinatus</i>	Australie (barrière de corail)	<i>Kudoa grammatorcyni</i>	60	2
Maquereau	<i>Scomber scombrus</i>	Est de l'Atlantique Nord, Mer Méditerranée	<i>Kudoa histolytica</i>	N.D.	57
Sérieole couronnée	<i>Seriola dumerili</i>	Est de l'Atlantique Nord	<i>Kudoa insolita</i>	N.D.	
Acoupa pintade	<i>Cynoscion nebulosus</i>	Caroline du Sud	<i>Kudoa inorta</i>	91	25
Dorade japonaise	<i>Pagrus major</i>	Ouest du Pacifique Nord	<i>Kudoa iwatai</i>	10-64	24
	<i>Oplegnathus punctatus</i>				
Turbot de roche	<i>Zeugopterus punctatus</i>	Est de l'Atlantique Nord	<i>Kudoa kabatai</i>	N.D.	57
Tambour croca	<i>Leiostomus xanthurus</i>	Golfe du Mexique	<i>Kudoa leiostomi</i>	N.D.	

Arnoglosse impériale	<i>Arnoglossus imperialis</i>	Mer Méditerranée	<i>Kudoa lunata</i>	Jusqu'à 100%	
Sebaste bocace	<i>Sebastes paucispinis</i>	Est du Pacifique	<i>Kudoa miniauriculata</i>	N.D.	
Sérieole du Japon	<i>Seriola quiqueradiata</i>	Japon	<i>Kudoa megacapsula</i>	12	93
Bécune	<i>Sphyræna pinguis</i>			N.D.	92
Poisson sabre commun	<i>Trichiurus haumela</i>	Mer rouge	<i>Kudoa mirabilis</i>	N.D.	57
Espadon	<i>Xiphias gladius</i>	Ouest du Pacifique	<i>Kudoa musculoliquefaciens</i>	N.D.	
Tassergal	<i>Pomotomus saltatrix</i>	Atlantique, Mer Noire, Mer Méditerranée	<i>Kudoa nova</i>	N.D.	
Denté à gros yeux	<i>Dentex macrophthalmus</i>				
Gobie	<i>Neogobius sp et Gobi sp</i>				
Gobie à longue queue	<i>Knipowitschia longicaudata</i>				
Gobie marbré	<i>Pomatoschistus microps leopardinus</i>				
Gobie à narine tubulaire	<i>Proterirhinus marmoratus</i>				
Bonite	<i>Euthynnus alletteratus</i>				
Maquereau	<i>Trachurus sp</i>				
Pageot acarné	<i>Pagellus acarne</i>				
Thon aux gros yeux	<i>Thunnus obesus</i>				
Merlu du Pacifique Nord	<i>Merluccius productus</i>	Nord-Est du Pacifique	<i>Kudoa paniformis</i>	60 dont 23 coinfection avec <i>K. thyrssites</i>	94
Thazard rayé	<i>Scomberomorus commerson</i>	Australie (barrière de Corail)	<i>Kudoa permulticapsula</i>	50	89
Merlu du Pacifique Sud	<i>Merluccius gayi</i>	Est du Pacifique Sud	<i>Kudoa peruvianus</i>	87,5	60
Chaboisseau commun	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Est de l'Atlantique Nord, Méditerranée	<i>Kudoa quadratum</i>	N.D.	57
Aiguille de mer	<i>Syngnathus acus</i>				
Chinchard	<i>Trachurus trachurus</i>				
Entélure	<i>Entelurus olquerus</i>				
Dragonnet lyre	<i>Callionymus lyra</i>				
Girelle	<i>Julis vulgaris</i>				
Carangue pailletée	<i>Carangoides fulvoguttatus</i>	Australie (barrière de Corail)	<i>Kudoa quadricornis</i>	100	88
Merlu d'Argentine	<i>Merluccius hubbsi</i>	Ouest de l'Atlantique Sud	<i>Kudoa rosenbuschi</i>	20,07	68
				N.D.	1
	<i>Scianidae</i>	Est du Pacifique Sud	<i>Kudoa sciaenae</i>	N.D.	57
Thazard rayé	<i>Scomberomorus commerson</i>	Australie (barrière de corail)	<i>Kudoa scomberomori</i>	10	2

Mâchoiron chat	<i>Arius felis</i>	Golf du Mexique, Ouest de l'Atlantique Nord	<i>Kudoa shkae</i>	N.D.	57		
Girelle verte	<i>Thalassoma lunare</i>	Australie (barrière de corail)	<i>Kudoa thalassomi</i>	33	2		
Saumon atlantique	<i>Salmo salar</i>	Pacifique Nord et Sud, Atlantique Nord et Sud	<i>Kudoa thyrsites</i>	61	67		
Faux flétan du Pacifique	<i>Atheresthes stomias</i>			N.D.	94		
	<i>Engraulis australis</i>				57		
Pilchard	<i>Sardinops sagax</i> <i>Neopilchardus</i>						
Hareng rond	<i>Spratelloides delicatulus</i>						
Merlu côtier du Cap	<i>Merluccius capensis</i>						
Dorade	<i>Coryphaena hippurus</i>						
Limande sole du Pacifique	<i>Microstomus pacificus</i>						
Anchois japonais	<i>Engraulis japonicus</i>						
Sabre argenté	<i>Lepidopus caudatus</i>						
Morue-lingue	<i>Ophidon elongatus</i>						
Merlu du Pacifique Nord	<i>Merluccius productus</i>						
Flétan du Pacifique	<i>Hippoglossus stenolepis</i>					50 dont 23 coinfection par <i>K. paniformis</i>	94
Saumon du Pacifique	<i>Oncorhynchus sp</i>					N.D.	57
Fausse limande du Pacifique	<i>Pleuronectes bilineatus</i>						
Sardinelle de Bali	<i>Sardinella lemuru</i>						
Escolier	<i>Thyrsites atun</i>						
Pilchard	<i>Sardinops sagax ocellatus</i>						
	<i>Icelinus filamentosus</i>						
	<i>Aulorhynchus flavidus</i>						
Lieu de l'Alaska	<i>Theragra chalcogramma</i>						
	<i>Zeus sp</i>						
	<i>Atropus atropus</i>						
Tambour croca	<i>Leiostomus xanthurus</i>	Océan Indien	<i>Kudoa atropi</i>	N.D.			
	<i>Sicamugil cascasia</i>	Clear Lake, Texas	<i>Kudoa branchiata</i>	N.D.			
Bar d'Amérique	<i>Morone saxatilis</i>	Océan Indien	<i>Kudoa cascasia</i>	N.D.			
Aiguillette ocelée	<i>Strongylura strongylura</i>	Ouest de l'Atlantique Nord	<i>Kudoa cerebralis</i>	N.D.			
Pêche-madame	<i>Sillago ciliata</i>	Chilka Lake, Inde	<i>Kudoa chilkaensis</i>	N.D.			

sable					
	<i>Eleotris kribensis</i>	Australie	<i>Kudoa ciliatae</i>	N.D.	
	<i>Mugil persina</i>	Atlantique, Golfe de Guinée	<i>Kudoa eleotrisi</i>	N.D.	
Dérivant des physalies	<i>Nomeus gronovii</i>	Océan Indien	<i>Kudoa haridasae</i>	N.D.	
Carangue coubali	<i>Caranx crysos</i>	Golfe du Mexique	<i>Kudoa hypoepicardialis</i>	25	11
Mérou Varsovie	<i>Epinephelus negritus</i>			1,5	
Croupia roche	<i>Lobotes surinamensis</i>			33	
Vivaneau campêche	<i>Lutjanus campechanus</i>			17	
Grand tambour	<i>Pogonias cromis</i>			0,5	
Tassergal	<i>Pomatomus saltatrix</i>			2	
				17	
Mulet à grosse tête	<i>Mugil cephalus</i>	Ouest du Pacifique Nord	<i>Kudoa intestinalis</i>	N.D.	57
	<i>Thalassoma bifasciatum</i>	Panama	<i>Kudoa ovivora</i>	23 à 40	80
	<i>Halichoeres sp</i>			5 à 16	
	<i>Sparisoma sp</i>			20 à 37	
Sérieole du Japon	<i>Seriola quinqueradiata</i>	Ouest du Pacifique Nord	<i>Kudoa pericardialis</i>	N.D.	26
	<i>Takifugu rubripes</i>		<i>Kudoa shiomitsui</i>	N.D.	
Bécune	<i>Sphyraena jello</i>	Océan Indien	<i>Kudoa sphyraeni</i>	N.D.	57
Cabasson	<i>Atherina hepsetus</i>	Mer Noire	<i>Kudoa stellula</i>	N.D.	
Mâchoiron aiguillette	<i>Tachysurus tenuispinis</i>	Océan Indien	<i>Kudoa tachysuræ</i>	N.D.	
	<i>Mugil cephalus</i>		<i>Kudoa tetraspora</i>	N.D.	
	<i>Valamugil cunnesius</i>		<i>Kudoa valamugili</i>	N.D.	
	<i>Pseudoicichthys australi</i>	Antarctique	<i>Kudoa vesica</i>	N.D.	

Tableau 8 : Principales espèces de *Kudoa* à localisation musculaire

Espèce	Myxospore (vue apicale)	Valve	Capsule polaire	Kyste/pseudokyste	Taille (mm)	Remarque	Référence
<i>Kudoa alliardia</i>	carré		piriforme, égale	pseudokyste	6x1 à 10x5		57, 91
<i>Kudoa amamiensis</i>	carré, bord arrondis	projection antérieure, parfois papilles	piriforme, égale	kyste sphérique à ellipsoïdal, opaque, crèmeux blanc	5	Observée également dans le cœur, la séreuse et la peau chez les sérioles très infectées	26
<i>Kudoa bengalensis</i>	en étoile	bords pointus, pas d'ornementation	tubulaire, égale				57
<i>Kudoa bora</i>	sphérique		forme de massue, égale	kyste sphérique à rectangulaire	2		
<i>Kudoa caudata</i>	carré						
<i>Kudoa clupeiidae</i>	carré	arrondies, avec projection apicale		trophozoïte en forme de fuseau	7-22x1-5		
<i>Kudoa cruciformum</i>	étoile	subégale, pas d'ornementation	ovoïde, inégale				
<i>Kudoa crumena</i>	carré	pas d'ornementation	Egale	kyste polysporique blanchâtre, ellipsoïde	1,7x2,6		
<i>Kudoa cynoglossi</i>	en étoile	bords surélevés, avec projection apicale	piriforme, égale	kyste en forme de fuseau, blanchâtre	14x4		
<i>Kudoa funduli</i>	carré, bords arrondis	avec projection apicale	piriforme	pseudokyste opaque, blanchâtre, allongé	2x0,1		4
<i>Kudoa grammatorcyni</i>	en étoile		6 valves, piriforme	spore ovoïde	2-3x1		2
<i>Kudoa histolytica</i>	en étoile	pas d'ornementation	piriforme, inégale				57
<i>Kudoa insolita</i>	carré	pas	piriforme, égale				

			d'ornementation	piriforme	plasmidium en forme de fuseau	2-3	pas de myoliquéfaction chez <i>Cynoscion nebulosus</i>	25
<i>Kudoa in</i>	carré à bords arrondis			piriforme	plasmidium en forme de fuseau	2-3	pas de myoliquéfaction chez <i>Cynoscion nebulosus</i>	25
<i>Kudoa iwatai</i>	arrondie à carré	valves égales	piriforme, presque égale		kyste sphérique blanc crémeux	1-2x5		24
<i>Kudoa kabatai</i>	en étoile	bords surélevés, avec projection apicale			pseudokyste rectangulaire	3		57
<i>Kudoa leiostomi</i>	carré avec un apex plus fin		allongée, égale					
<i>Kudoa lunata</i>	en étoile	bords émoussés, projection apicale	Egale		pseudokyste blanc à jaunâtre en forme de fuseau	0,7x3		
<i>Kudoa megacapsula</i>	en étoile ou en croix		une beaucoup plus large que les autres, piriforme		pseudokyste noir	2-3	pas de myoliquéfaction chez certains poissons	92, 93
<i>K. miniauriculata</i>	en étoile	bords surélevés	piriforme, égale		pseudokyste mou et blanc ou dur et jaune	20x2		57
<i>K. mirabilis</i>	en étoile	Inégale	ovoïde, inégale		pseudokyste ovoïde à sphérique	20x5		
<i>Kudoa musculoliquefaciens</i>	carré	pas d'ornementation	subsphérique à ovoïde, égale		pseudokyste	1,3		
<i>Kudoa nova</i>	carré		piriforme, égale		pseudokyste forme de fuseau	7		

<i>Kudoa paniformis</i>	carré	bords arrondis, pas d'ornementation	piriforme, inégale					
<i>Kudoa permulticapsula</i>	subsphérique à ovoïde	13 à 15 valves disposées en anneau					89	
<i>Kudoa peruvianus</i>	sphérique		ovoïde, égale				57	
<i>Kudoa quadratum</i>	carré	piriforme						
<i>Kudoa quadricornis</i>	piriforme		4 projections latérales postérieures	ellipsoïde inégale			89	un seul sporoplasme à 2 noyaux
<i>Kudoa rosenbuschi</i>	carré		Egal		2,1-10,5x0,5-1,2		1	
<i>Kudoa sciaenae</i>	carré	bord arrondis, pas d'ornementation	piriforme				57	
<i>Kudoa scomberomori</i>	en étoile		6 valves					
<i>Kudoa shkae</i>	sphérique		sphérique, égale	plasmodium en forme de fuseau, polysporique		0,2x0,06		

<i>Kudoa thalassami</i>	en étoile		piriforme						2
<i>Kudoa thyrssites</i>	en étoile	pas d'ornementation	piriforme, inégale			12,6x6,8			92

Tableau 9 : Principales espèces de *Kudoa* à localisation non musculaire

Espèce	Localisation	Myxospore (vue apicale)	Valve	Capsule polaire	Kyste/pseudokyste	Taille (mm)	Référence
<i>Kudoa atropi</i>	ouïe	carré	pas d'ornementation	piriforme, égale	kyste opaque, blanchâtre	1	57
<i>Kudoa branchiata</i>	ouïe	carré	bords surélevés	piriforme, égale	kyste blanc	1,1x0,4	
<i>Kudoa cascasia</i>	mésentère intestinal	carré	pas d'ornementation	piriforme, égale	kyste crémeux	1,5	
<i>Kudoa cerebralis</i>	cerveau	carré			kyste	2,2	
<i>Kudoa chilkaensis</i>	muscles et péritoine en région œsophagienne	carré		piriforme, égale	kyste	0,8	
<i>Kudoa ciliatae</i>	muscles intestinaux mais pas de manifestation clinique	carré		piriforme, subégale	plasmodium ellipsoïde, polysporique	0,25	
<i>Kudoa eleotrisi</i>	ouïe	carré			kyste		
<i>Kudoa haridasae</i>	vésicule biliaire	en étoile avec inflammation latérale		piriforme, égale	pas de plasmodium observé		

<i>Kudoa hypoepicardialis</i>	tissus cardiaque	carré			piriforme	plasmodium oblong à ovoïde blanc	0,66x0,29	11
<i>Kudoa intestinalis</i>	muscles intestinaux	carré		bords arrondis, avec projection apicale	ellipsoïdale, égale	plasmodium sphérique ou ellipsoïde, opaque, blanchâtre	0,5	53
<i>Kudoa ovivora</i>	ovaire	carré		bords arrondis, petite projection apicale	piriforme	kyste tubulaire, en forme de branche	25-50	80
<i>Kudoa pericardialis</i>	cavité péricardique	carré, avec 4 dépressions		Allongée	fine	kyste allongé ou ovale	2,7x1,2	57
<i>Kudoa quadricornis</i>	piriforme			4 projections latérales postérieures	ellipsoïde inégale	un seule sporoplasme à 2 noyaux		
<i>Kudoa shiomitsui</i>	cavité péricardique, cœur	presque carré		bords émoussés	piriforme	kyste ellipsoïde, crémeux blanc	3x0,6	
<i>Kudoa sphyraeni</i>	muscles intestinaux	carré		pas d'ornementation	en forme de massue, égale	kyste pédonculé, opaque	2	
<i>Kudoa stellula</i>	Rein	en étoile			inégale			
<i>Kudoa tachysurax</i>	vésicule biliaire	carré		Arrondies	piriforme, inégale			
<i>Kudoa tetraspora</i>	cerveau	carré		pas d'ornementation	en forme de massue, égale	kyste	1,5	
<i>Kudoa valamugili</i>	muscles intestinaux	carré		pas d'ornementation, bords arrondis, 2 sporoplasmes dans la valve la plus grande	piriforme, inégale	plasmodium sphérique à ovale, opaque, blanc	0,7	
<i>Kudoa vesica</i>	vessie urinaire	en étoile ou carré		pas d'ornementation	piriforme, inégale			

2.2.2 Répartition géographique : Tableau 7

Kudoa sp est réparti de façon cosmopolite : Océan Atlantique, Pacifique, Mer Méditerranée (24). Des espèces comme *Kudoa iwatai* ont tout d'abord été décrites dans un secteur donné (Japon) puis dans une toute autre région (Mer Méditerranée) (24) ou après l'introduction d'une espèce d'élevage dans un nouvel environnement comme *Seriola quinqueradiata* et *Kudoa megacapsula* (93).

2.2.3 Localisation chez le poisson

De nombreuses localisations ont été décrites. Elles peuvent être réparties en 2 catégories, les localisations musculaires (Tableau 8) et les localisations extramusculaires (cerveau, péricarde...) (Tableau 9). Cependant, certaines espèces possèdent à la fois une localisation musculaire et une localisation extramusculaire comme *K. iwatai*. En effet, cette espèce a été trouvée à la fois dans le muscle, le rein, le foie, le cœur, les ovaires, les axones, le péritoine, le tractus intestinal (24).

2.2.4 Variations saisonnières

La prévalence de *Kudoa sp* est plus importante durant les mois d'été. Les poissons ne se contaminent pas au printemps ou en hiver. Ces variations sont probablement dues à la présence saisonnière de l'hôte intermédiaire. Cependant, les saumons d'élevage restent plus d'un an dans l'eau de mer. La période à laquelle les saumons sont transférés a donc probablement peu d'impact sur la prévalence de *Kudoa sp* sur les poissons mis à la consommation (57).

2.3 Risque pour l'homme

2.3.1 Risque sanitaire

L'importance de *Kudoa sp* est essentiellement économique. La rupture des pseudokystes libère une substance crémeuse blanchâtre peu appétissante rendant le poisson invendable. De plus, une fois cuite la chair prend un consistante pâteuse.

L'activité protéolytique de *Kudoa* est de plus responsable d'une nécrose musculaire ou myoliquéfaction du poisson conduisant à un aspect flasque de la chair ("soft flesh") (57). La myoliquéfaction existe chez d'autres Multivalidés (*Unicapsula seriola*, *Unicapsula musculus* ou *Hexacapsula neothunni*) et chez de nombreuses espèces *Kudoa*, notamment *K.*

thyrsites chez le saumon (*Salmo salmar*) (57) et *K. paniformis* chez le merlu (*Merluccius productus*) (94). Il existe une relation entre le nombre de spores de *K. thyrsites* et l'aspect de la chair. Plus les spores sont nombreuses, plus la chair est molle. Un niveau important de spores est nécessaire pour produire des lésions. L'intensité de l'infestation et la présence de spores de *Kudoa sp.* sont corrélées à l'autolyse post-mortem. Cependant, d'autres facteurs peuvent être associés comme la température, la durée de stockage... (67, 68). L'activité protéolytique perdure jusqu'à 72h après la mort du poisson maintenu au frais (68).

Les enzymes responsables de la myoliquéfaction sont probablement contenues dans le pseudokyste mais non liées directement aux myxospores. L'activité protéolytique semble être liée à une protéase de type cathepsine L-like. Elle provient probablement des spores de *K. thyrsites* ou *K. paniformis* et non pas d'une réaction immunitaire du poisson. En effet, la proenzyme de la cathepsine L est présente dans la chair du saumon (*Salmo salmar*) avant sa mort et est sans doute activée à la mort du poisson (changement de pH). L'activité protéolytique est ainsi maximale à pH 5,5 (94). Chez les espèces formant des kystes noirs, l'activité protéolytique semble être absente (58, 93).

Le pressage de la chair lavée diminue l'activité protéolytique de façon importante, par exemple dans le surimi (58).

K. thyrsites et *K. paniformis* peuvent être utilisés comme indicateur de la qualité des filets de *Merluccius productus*. En effet, leur présence est corrélée à la texture du poisson (94).

2.3.2 Risque allergique

L'administration d'extrait de pseudokystes blancs ou noirs à des souris a permis de déterminer l'effet potentiellement allergique de *Kudoa sp* (4). Les pseudokystes noirs semblent induire une réponse plus importante que les blancs (50). Cette réponse se traduit principalement par la production d'IgG et d'IgE. Il existe donc probablement une réponse de type Th2 (51).

L'administration par voie orale d'extrait de pseudokystes induit une réponse IgG1 importante qui peut entraîner une dégranulation des mastocytes et donc une réponse allergique. Une administration par voie sous-cutanée induit une réponse IgE plus importante qu'une administration par voie orale. La préparation d'un extrait par sonication conduit à une réponse IgG1 moins importante que lors de préparations par d'autres méthodes (FastPrep[®] shaker par exemple). La sonification doit ainsi détruire certaines protéines antigéniques (50).

La mise en contact entre la peau de patient présentant des symptômes gastroallergiques et un extrait de pseudokystes de *Kudoa sp* entraîne une réaction allergique chez 4 patients sur 15 (51).

Les antigènes en cause sont contenus dans la capsule. Les glycoprotéines de la capsule jouent probablement un rôle dans la reconnaissance antigénique. Ces carbohydrates aurait également un rôle lors des réactions croisées observées avec d'autres Myxospora (51, 57)

2.4 Prophylaxie

La prophylaxie passe par trois concepts de base : la diminution du nombre de stades infestant dans l'environnement, le contrôle des stades végétatifs hors du poisson, et la gestion de l'élevage de poisson.

2.4.1 Méthodes de lutte

Le cycle de *Kudoa sp* est mal connu. L'interruption de ce cycle est difficile voire impossible. Le moyen d'action le plus simple est probablement d'agir sur les hôtes intermédiaires en contrôlant leur nombre, notamment les annélidés qui semblent jouer le rôle d'hôte intermédiaire (27).

Un autre moyen d'action peut être de lutter contre les enzymes protéolytiques libérées (57).

Il est également possible d'éliminer les saumons matures qui sont généralement plus infestés que les immatures. Ils doivent être exclus avant la pêche car une fois découpés il est difficile de déterminer s'il s'agit d'un poisson sexuellement mature ou non (57).

Le contrôle des poissons introduits dans les élevages est également important. En effet, certains cas de contamination ont été observés notamment par *K. megacapsula* suite à l'introduction de poissons (*Seriola quinqueradiata*) provenant de Corée. Un système de quarantaine doit ainsi être mis en place (93).

Le pH post mortem du poisson semble jouer un rôle dans l'activité protéolytique. Le contrôle du pH permettrait donc de réduire voir diminuer cette dernière (94).

La précuisson à 52°C est associée à une texture plus ferme. Elle pourrait donc être une solution à la myoliquéfaction (94).

2.4.2 Traitement

Il n'existe pas de traitement possible chez les poissons destinés à la consommation humaine.

La fumagilline DCH a montré une efficacité sur d'autres protozoaires produisant des spores

comme *Loma salmonae* chez le saumon (41) ou *Tetracapsula bryosalmonae* responsable de la “Proliferative Kidney Disease” chez les salmonidés (42). Cependant cette molécule ne possède pas d’A.M.M. en France et pose de nombreux problèmes (ralentissement de la croissance des poissons traités, dégénérescence hépatique...) (42).

DEUXIEME PARTIE ETUDE HISTOLOGIQUE D'ANISAKIS SIMPLEX ET KUDO A SP DANS DIFFERENTES DENREES ALIMENTAIRES

1 Matériel et méthode

1.1 Matériel

1.1.1 Echantillon

Les poissons proviennent soit du commerce de détail (poissonnerie artisanale) soit de matières premières utilisées dans les industries de transformation (saumon fumé ou pulpe de poisson).

1.1.2 Préparation histologique

L'automate utilisé pour l'inclusion en paraffine est un Tissue-Tek II, modèle 4634. Le microscope utilisé est un microscope photonique Nikon, eclipse 80i. La caméra utilisée pour les photos numériques est une Nikon DS Fi1.

1.2 Méthode

1.2.1 Etat frais

Les larves d'*Anisakis* sont prélevées dans la cavité viscérale ou les viscères de poissons du commerce. Elles sont isolées et placées dans une solution de formol à 10% pendant environ 1 heure. Les larves sont ensuite placées dans une solution de chloral lactophénol afin de les éclaircir et observées au microscope optique à différents grossissements.

1.2.2 Coupe histologique

Les larves sont placées dans une solution de formol à 10% acidifiée. Elles sont laissées dans cette solution pendant 2 jours puis incluses en paraffine.

Le protocole d'inclusion en paraffine est décrit dans l'Annexe I. Les coupes sont ensuite colorées par la coloration de Lillie et Pasternack (Annexe II) et examinées au microscope photonique

2 Etude histologique d'*Anisakis simplex*

Les coupes histologiques d'*Anisakis simplex* sont réalisées longitudinalement. Elles permettent de mettre en évidence les différentes structures du parasite : la tête avec le proventricule et le ventricule (Photo 12, Photo 13 : Coupe histologique de tête de larve d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x100 (coloration de Lillie et Pasternack)Photo 13, Photo 14, Photo 15), la queue avec le mucron et le canal excréteur (Photo 16, Photo 17, Photo 18, Photo 19)

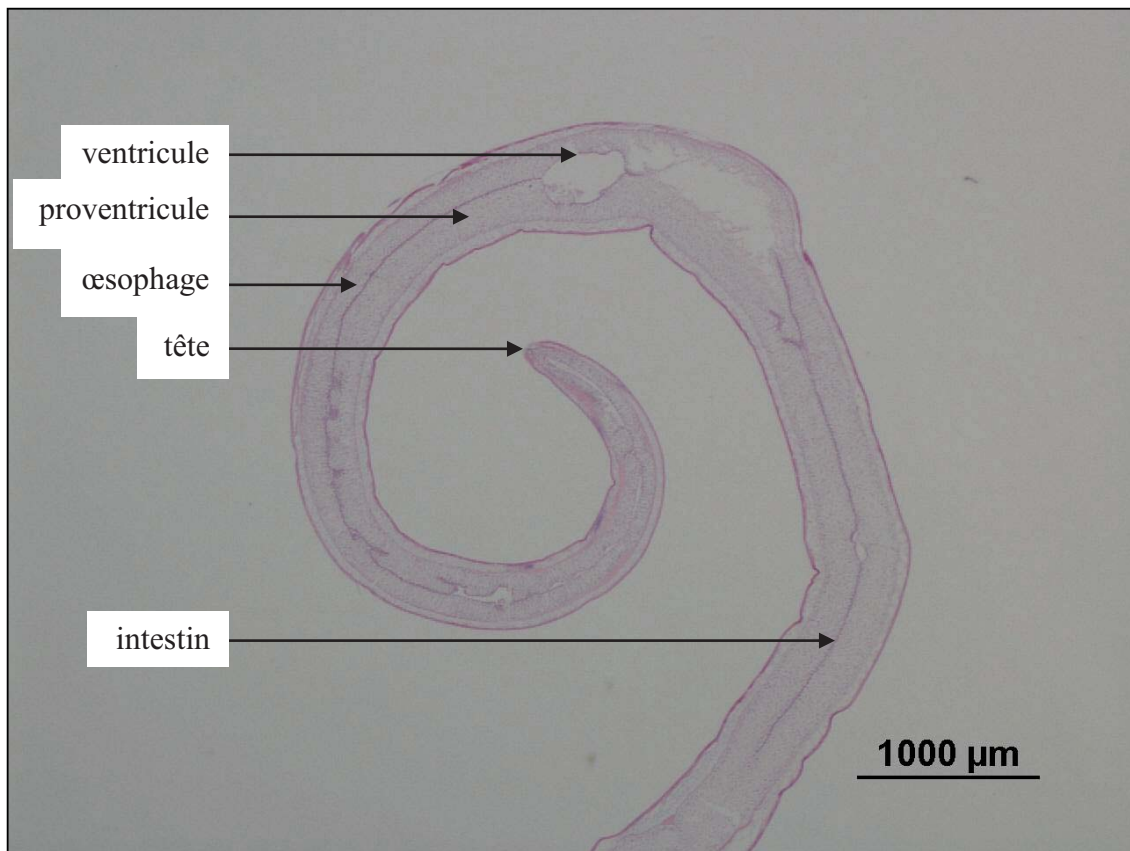


Photo 12 : Coupe histologique de tête de larve d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x20 (coloration de Lillie et Pasternack)



Photo 13 : Coupe histologique de tête de larve d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x100 (coloration de Lillie et Pasternack)

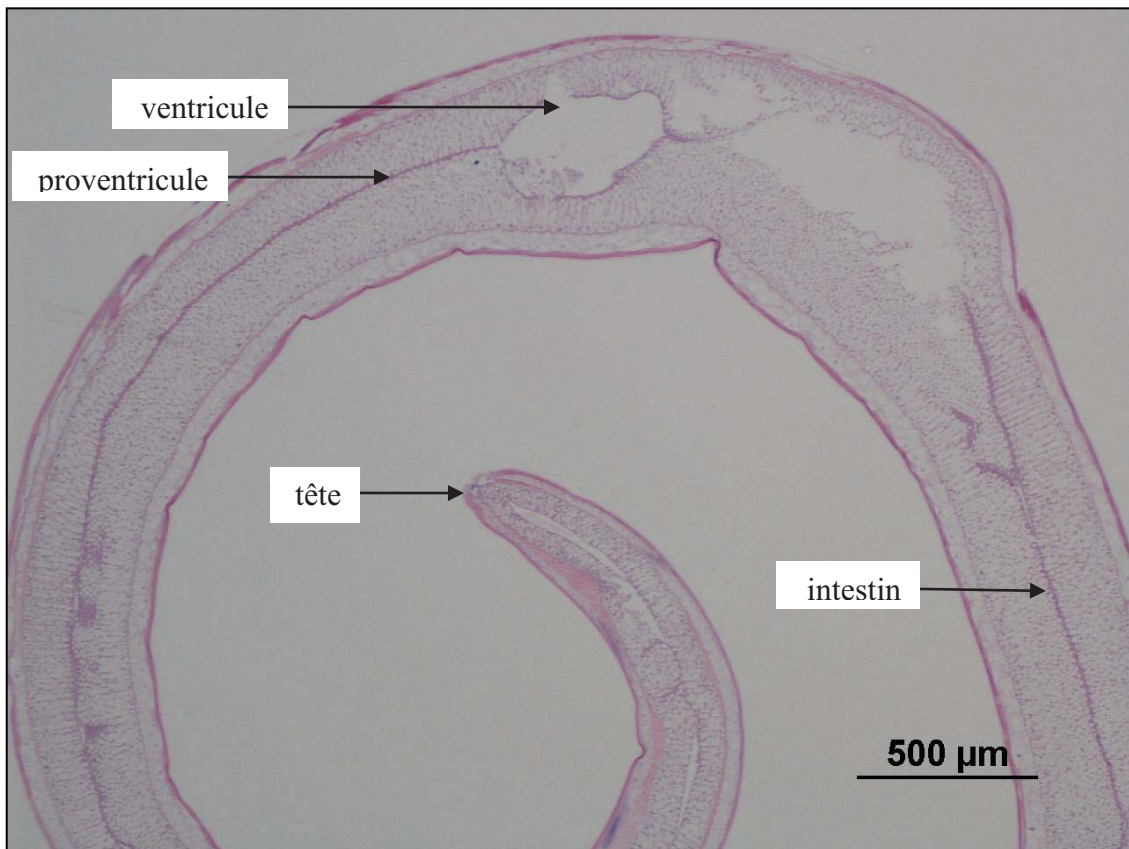


Photo 14: Coupe histologique de tête de larve d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x40 (coloration de Lillie et Pasternack)

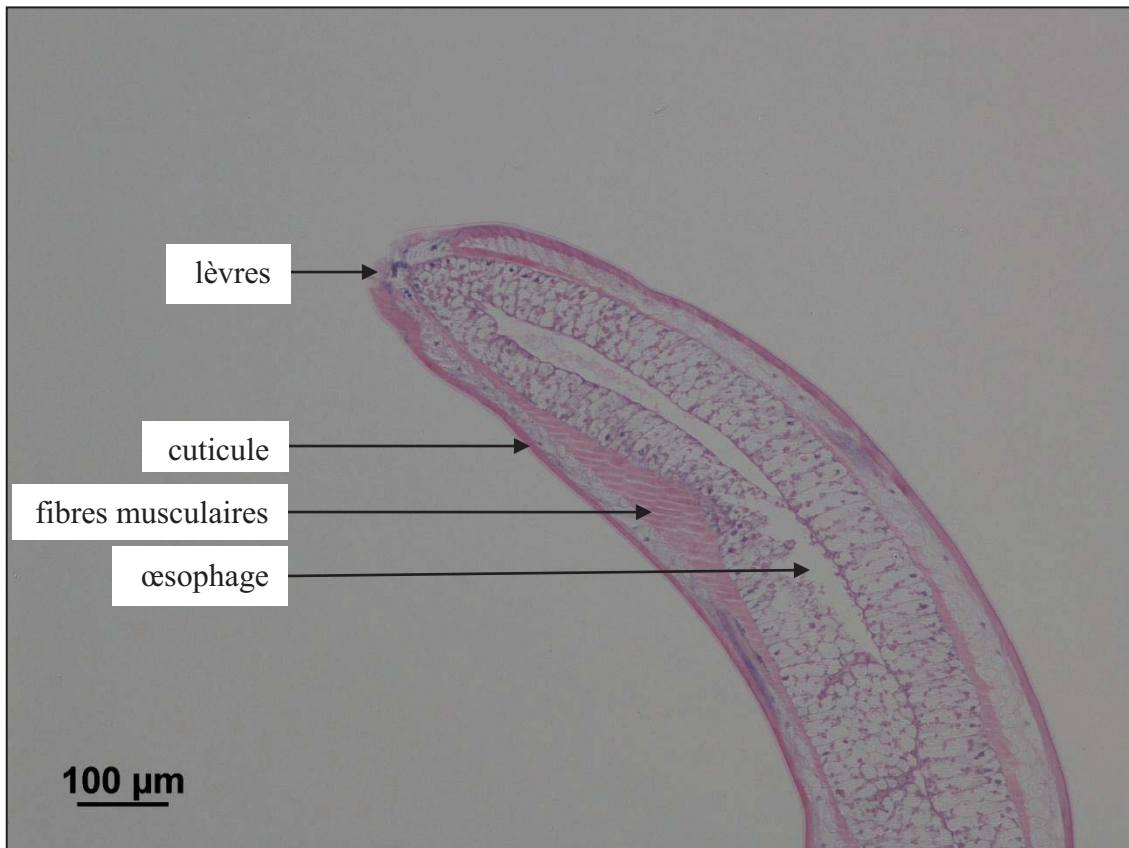


Photo 15 : Coupe histologique de tête de larve d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x100 (coloration de Lillie et Pasternack)



Photo 16 : Coupe histologique de queue de larve d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x40 (coloration de Lillie et Pasternack)



Photo 17 : Coupe histologique de queue de larve d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x100 (coloration de Lillie et Pasternack)

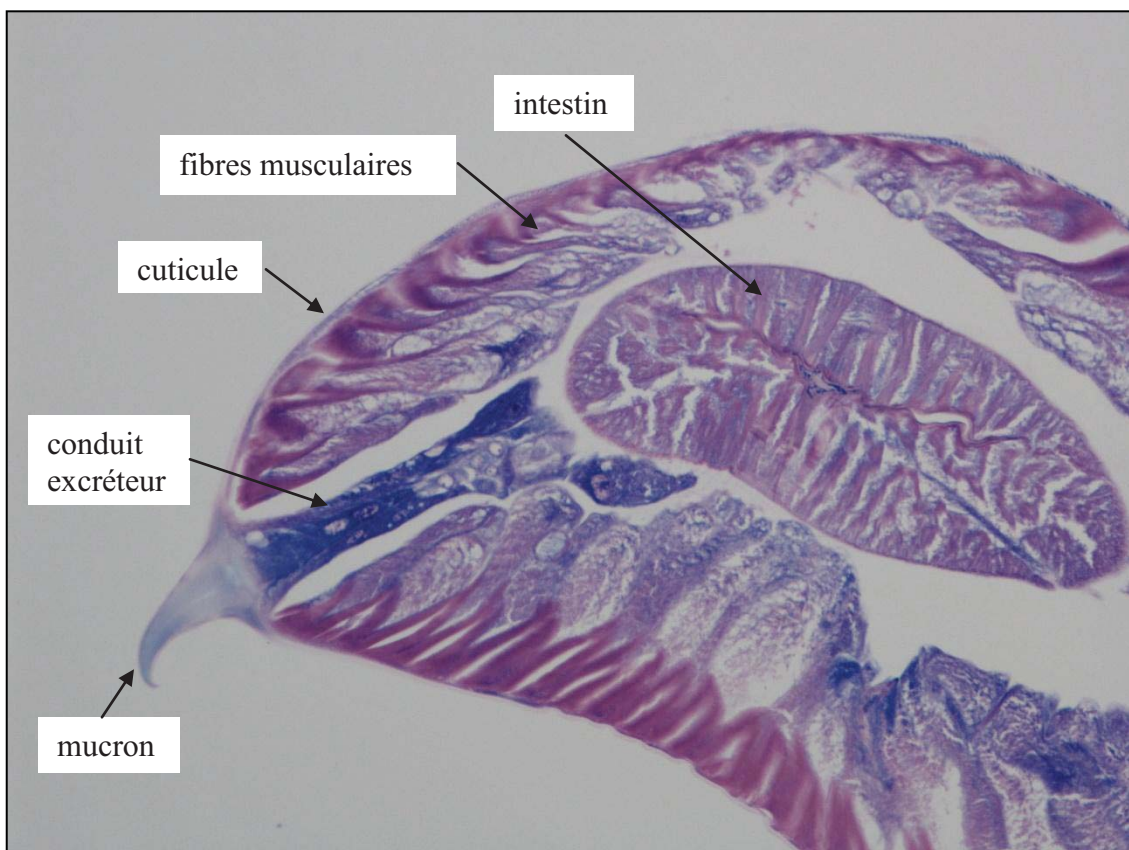


Photo 18 : Coupe histologique de queue de larve d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x200 (coloration de Lillie et Pasternack)

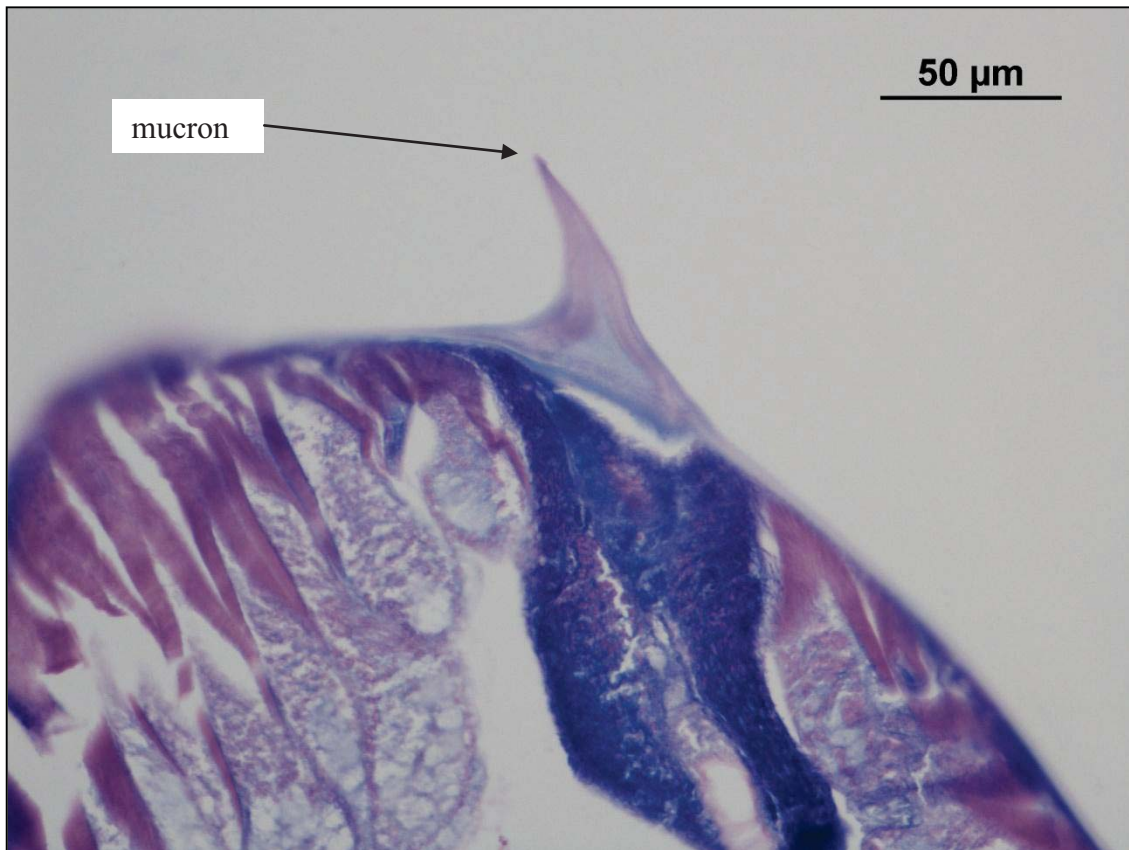


Photo 19 : Coupe histologique de queue d'*Anisakis simplex* en microscopie optique x400 (coloration de Lillie et Pasternack)

3 Etude histologique d'*Anisakis simplex* dans différentes denrées alimentaires

3.1 Poisson frais (61)

Les coupes histologiques réalisées sur un intestin de bar mettent en évidence la présence d'une larve d'*Anisakis simplex* enkystée dans le tissu conjonctif de la sous-muqueuse de l'intestin d'un bar (*Dicentrarchus labrax*) en microscopie optique. Un grossissement x20 (Photo 20) est suffisant pour voir la larve. Un grossissement x100 ou x200 permet de mieux distinguer le parasite au sein des tissus environnants (Photo 21, Photo 22, Photo 23). Au grossissement x400 la structure interne de la larve est observée (Photo 24, Photo 25).

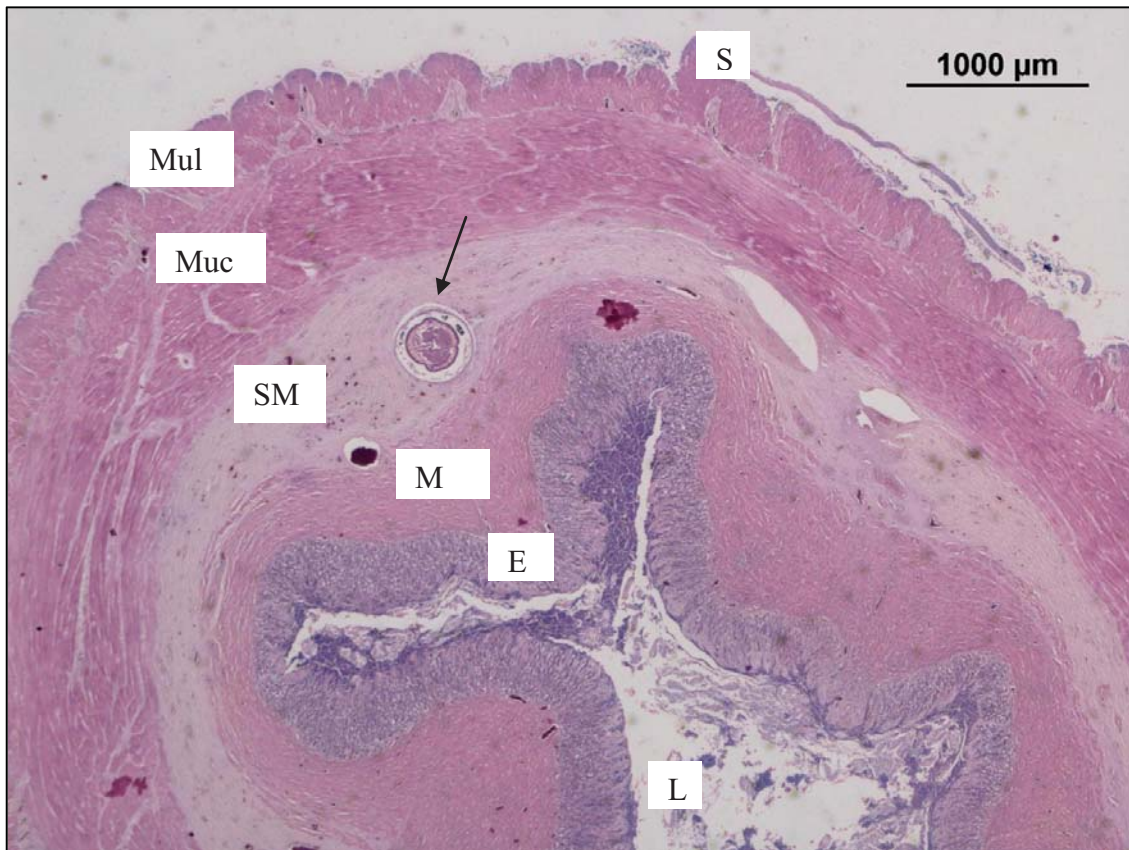


Photo 20 : Larve d'*Anisakis simplex* enkysté dans un intestin de bar (*Dicentrarchus labrax*) x20
L : lumière, E : épithélium, M : muqueuse, SM : sous-muqueuse, Muc : muscles circulaires, Mul : muscles longitudinaux, S : séreuse

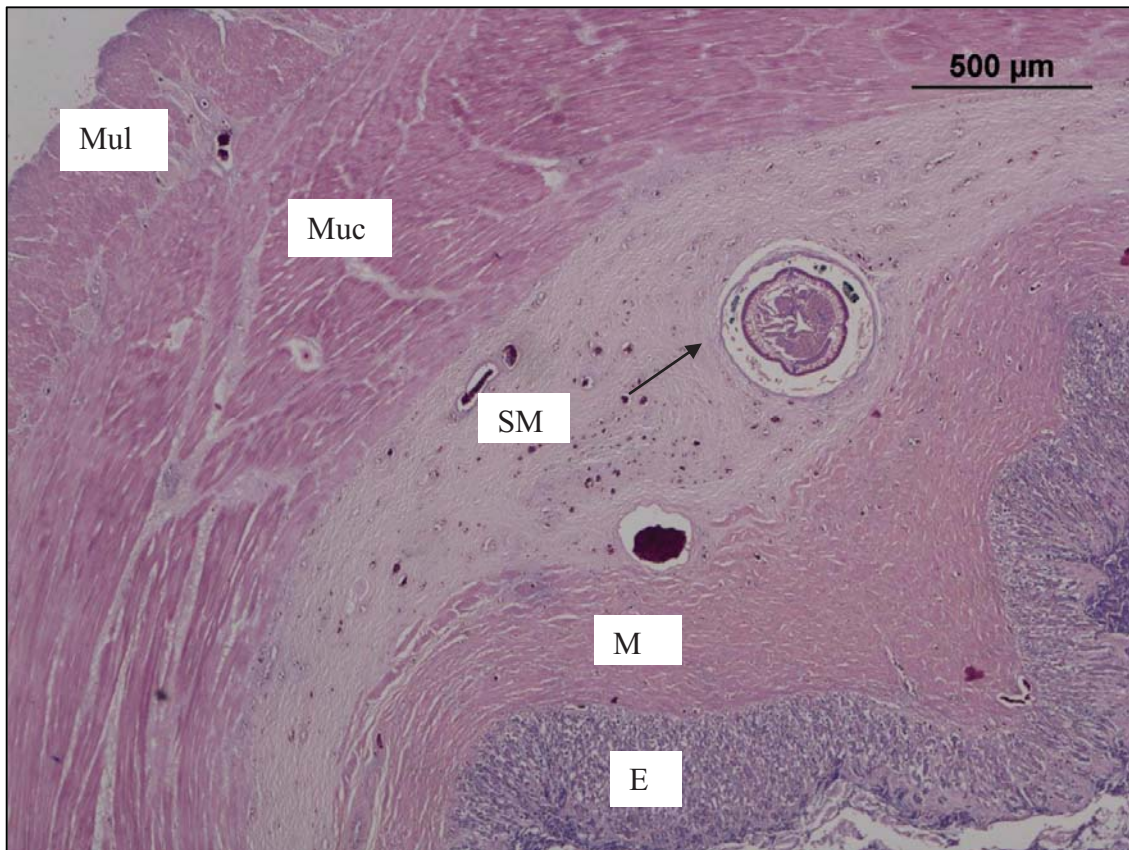


Photo 21 : Larve d'*Anisakis simplex* dans un intestin de bar (*Dicentrarchus labrax*) en microscopie optique x40

L : lumière, E : épithélium, M : muqueuse, SM : sous-muqueuse, Muc : muscles circulaires, Mul : muscles longitudinaux, S : séreuse



Photo 22 : Larve d'*Anisakis simplex* dans un intestin de bar (*Dicentrarchus labrax*) en microscopie optique x100
 M : muqueuse, SM : sous-muqueuse, Muc : muscles circulaires

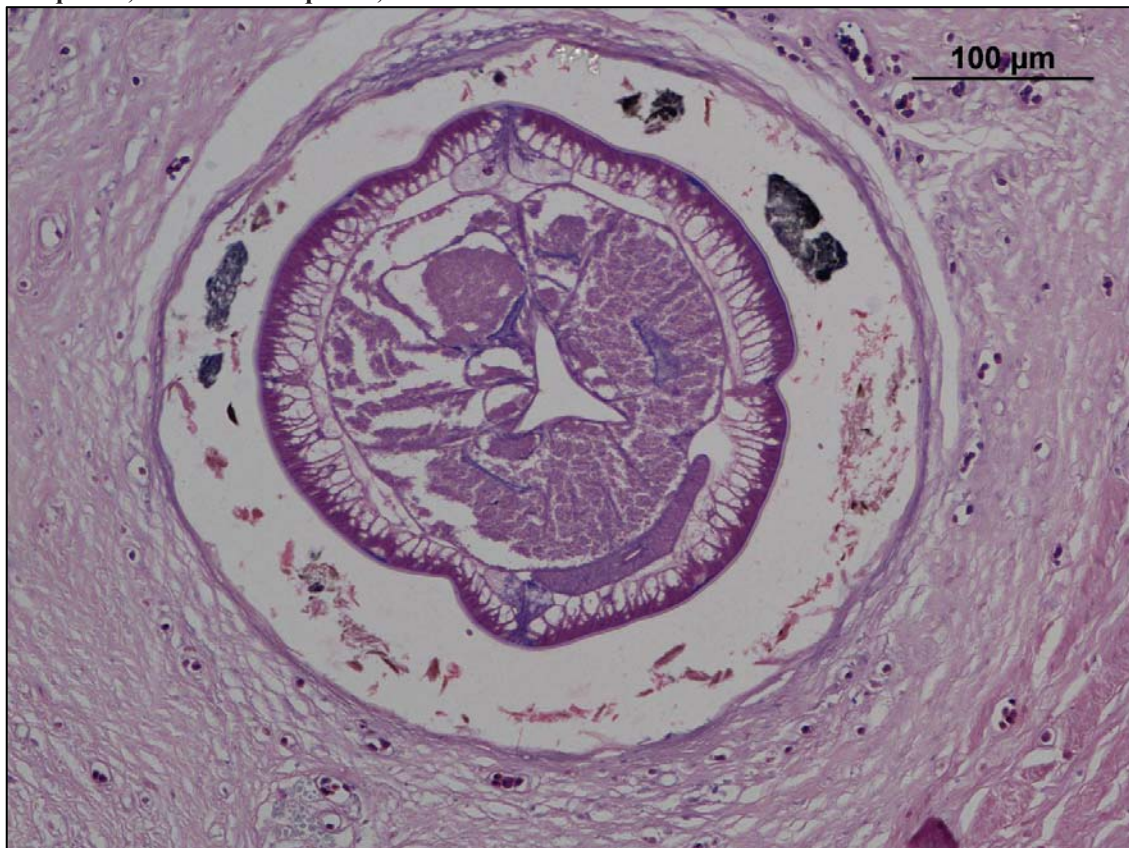


Photo 23 : Larve d'*Anisakis simplex* dans un intestin de bar (*Dicentrarchus labrax*) en microscopie optique x200

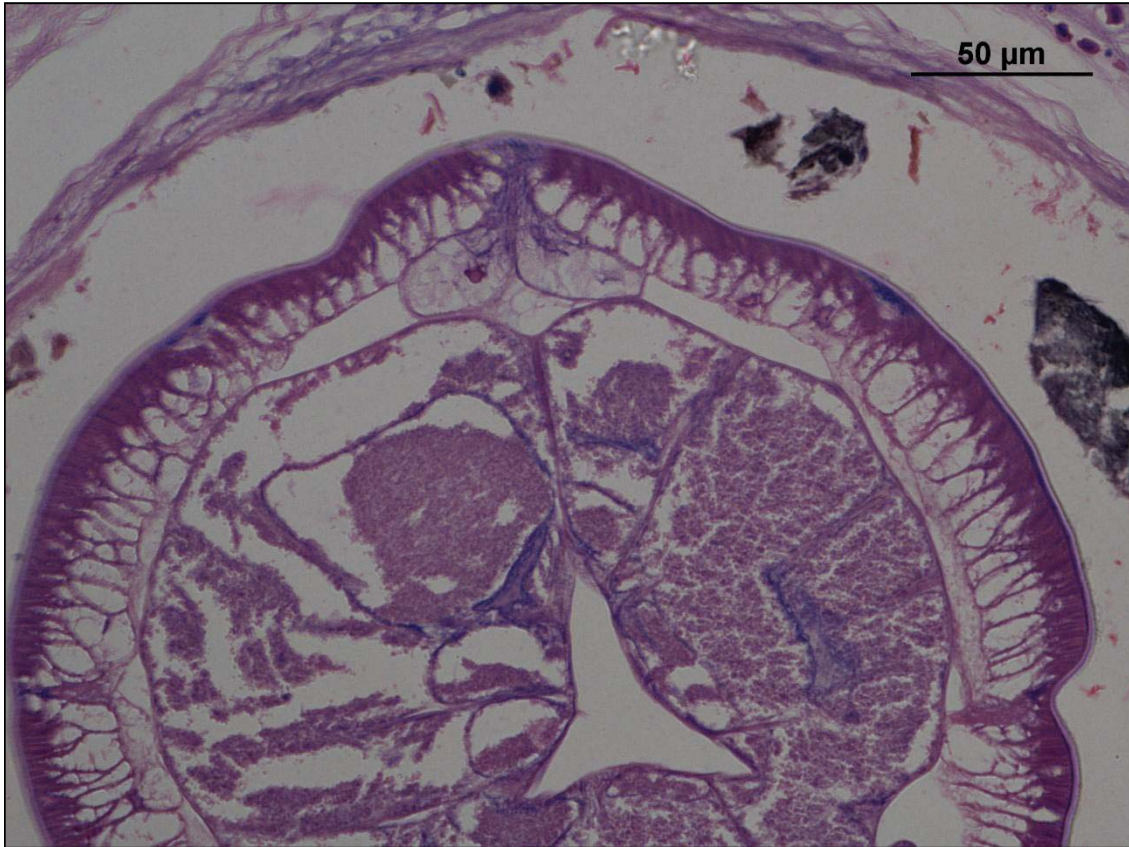


Photo 24 : Larve d'*Anisakis simplex* dans un intestin de bar (*Dicentrarchus labrax*) en microscopie optique x400

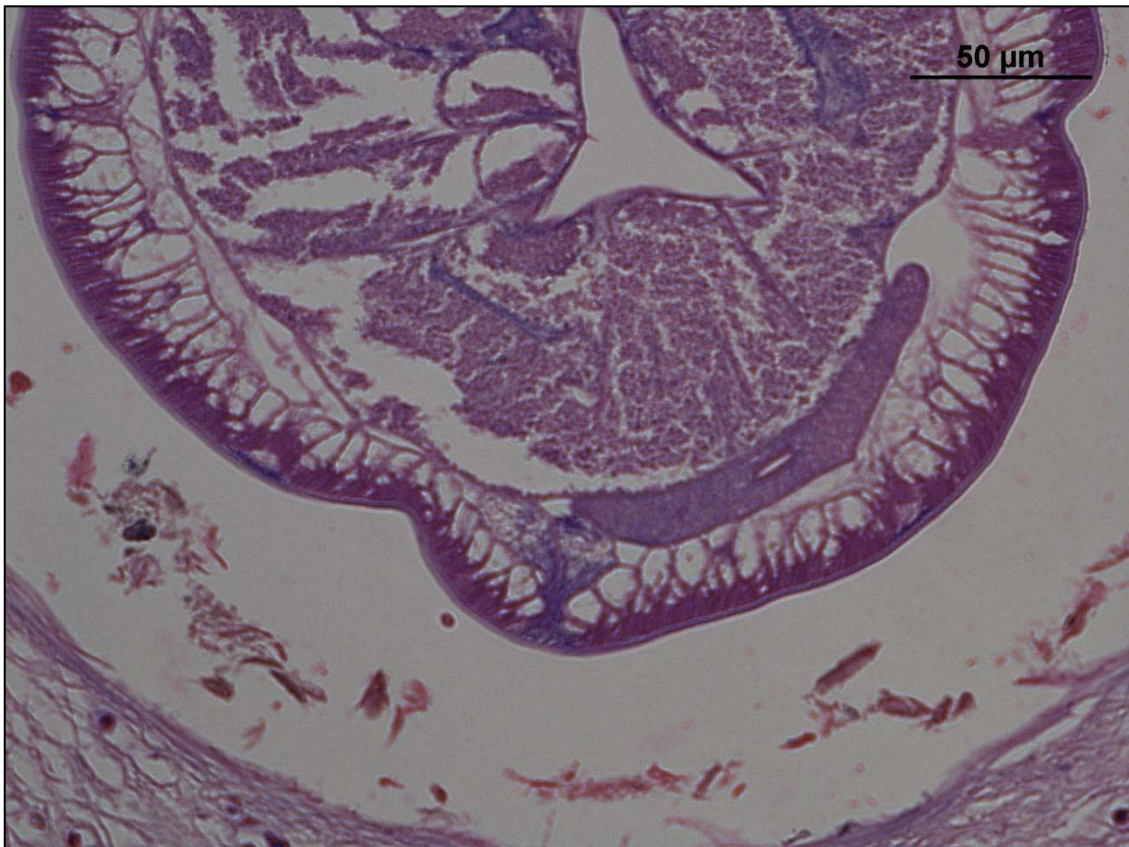


Photo 25 : Larve d'*Anisakis simplex* dans un intestin de bar (*Dicentrarchus labrax*) en microscopie optique x400

3.2 Pulpe de poisson destinée à la transformation

Les coupes histologiques permettent de mettre en évidence les larves de stade 3 d'*Anisakis simplex* dans la pulpe de poisson destinée à la transformation (Photo 26).



Photo 26 : Larve d'*Anisakis simplex* dans de la pulpe de merlu en microscopie optique x40

3.3 Saumon fumé

Le saumon fumé peut présenter des larves d'*Anisakis*. Elles sont visibles macroscopiquement dans le filet (Photo 27).



Photo 27 : Larve d'*Anisakis* dans du saumon fumé (vue macroscopique)

4 Etude histologique de *Kudoa sp.* dans différentes denrées alimentaires

4.1 Pulpe de poisson destinée à la transformation

Les myxospores de *Kudoa sp.* sont visibles en microscopie optique. Un grossissement x10 ou x40 permet d'observer les pseudokystes au sein des tissus avoisinants (Photo 28, Photo 29). Un grossissement x100 ou x400 permet de distinguer les myxospores à l'intérieur du pseudokyste (Photo 30, Photo 31). Un grossissement x1000 permet d'observer la structure des myxospores (Photo 32).

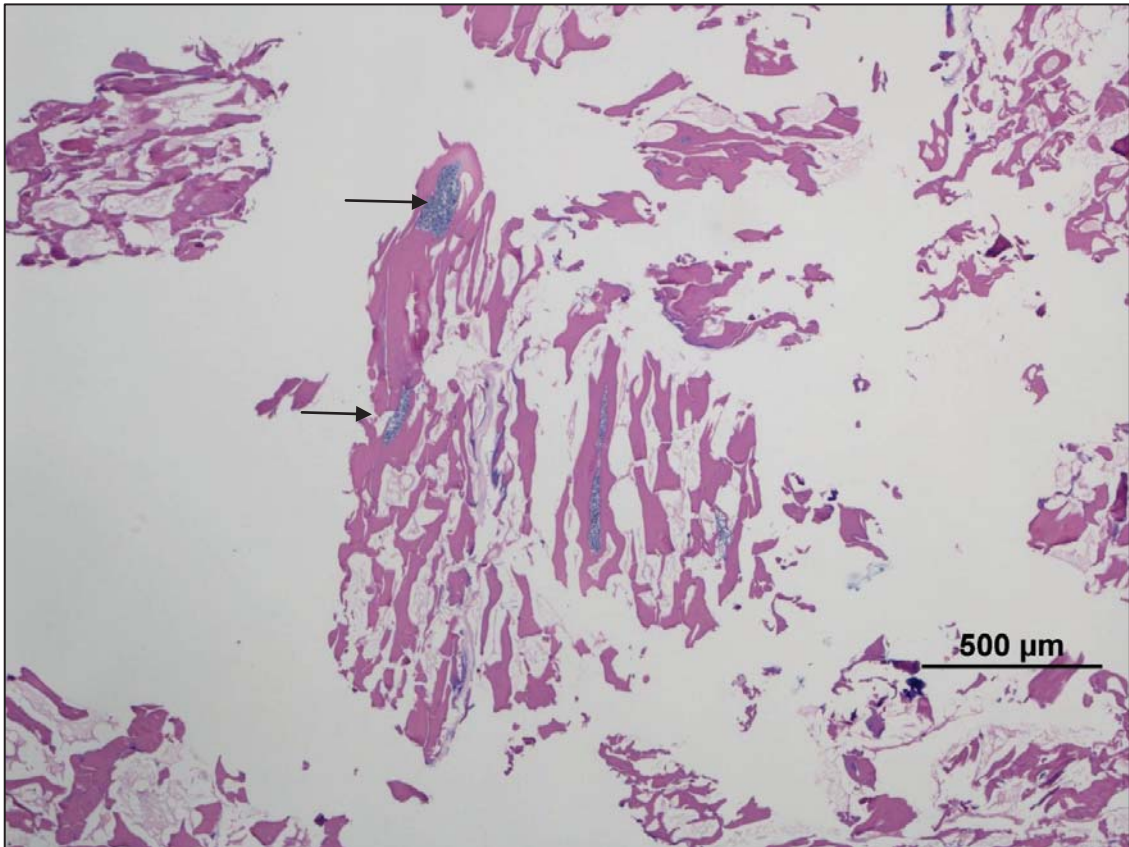


Photo 28 : Pseudokystes de *Kudoa sp.* dans de la pulpe de merlu en microscopie optique x40

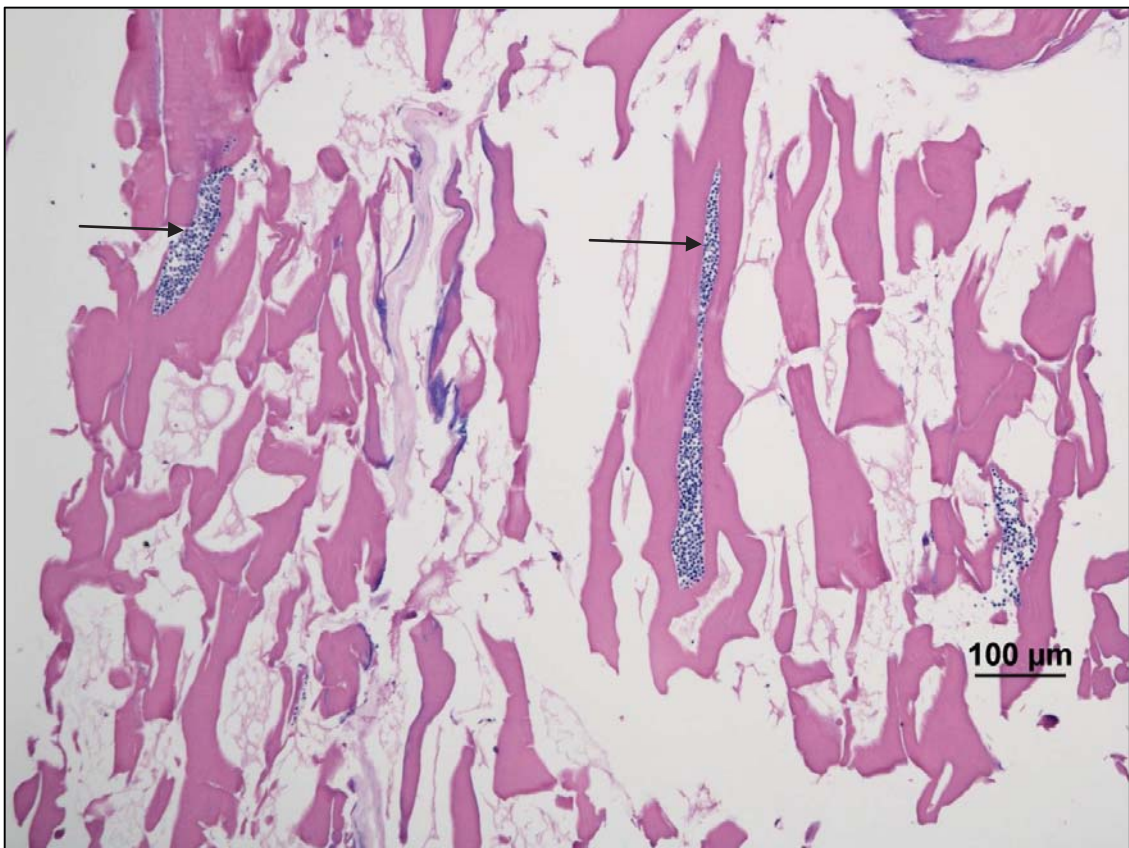


Photo 29 : Pseudokystes de *Kudoa sp.* dans de la pulpe de merlu en microscopie optique x100

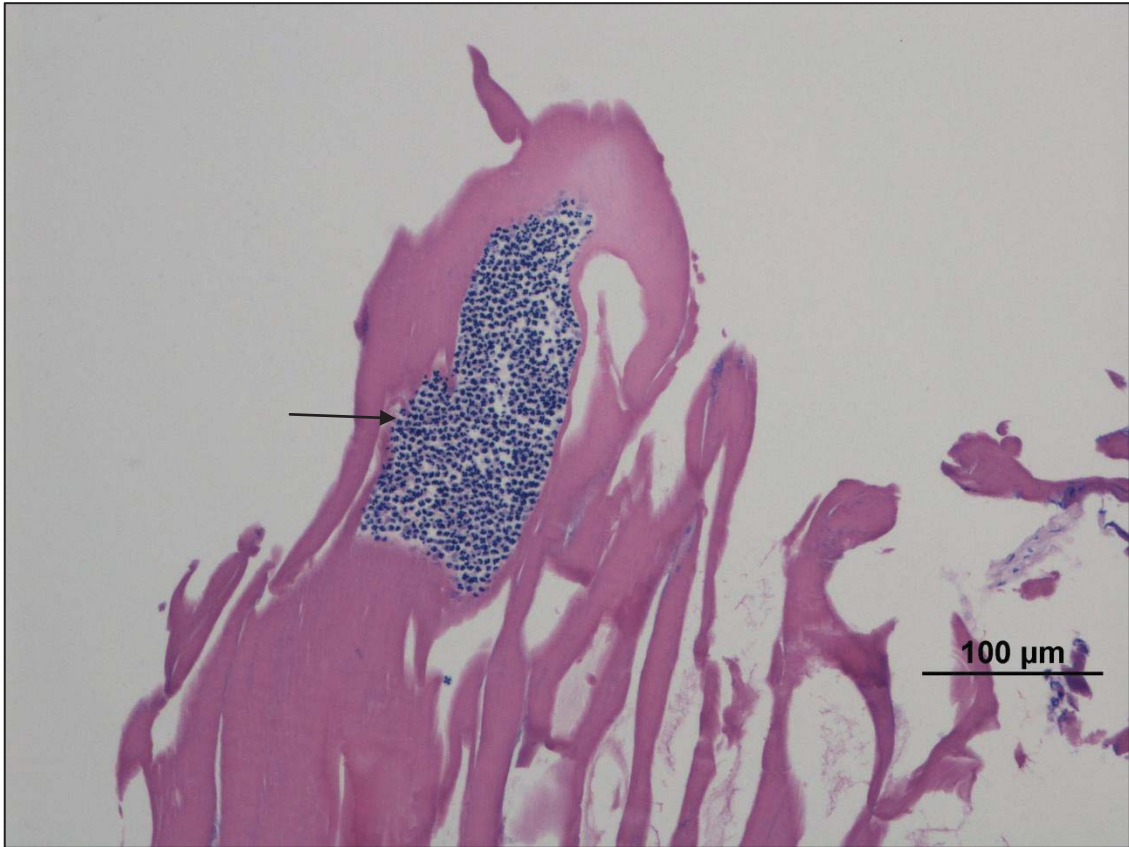


Photo 30 : Myxospores de *Kudoa sp.* dans du merlu en microscopie optique x200



Photo 31 : Myxospores de *Kudoa sp.* dans du merlu en microscopie optique x400

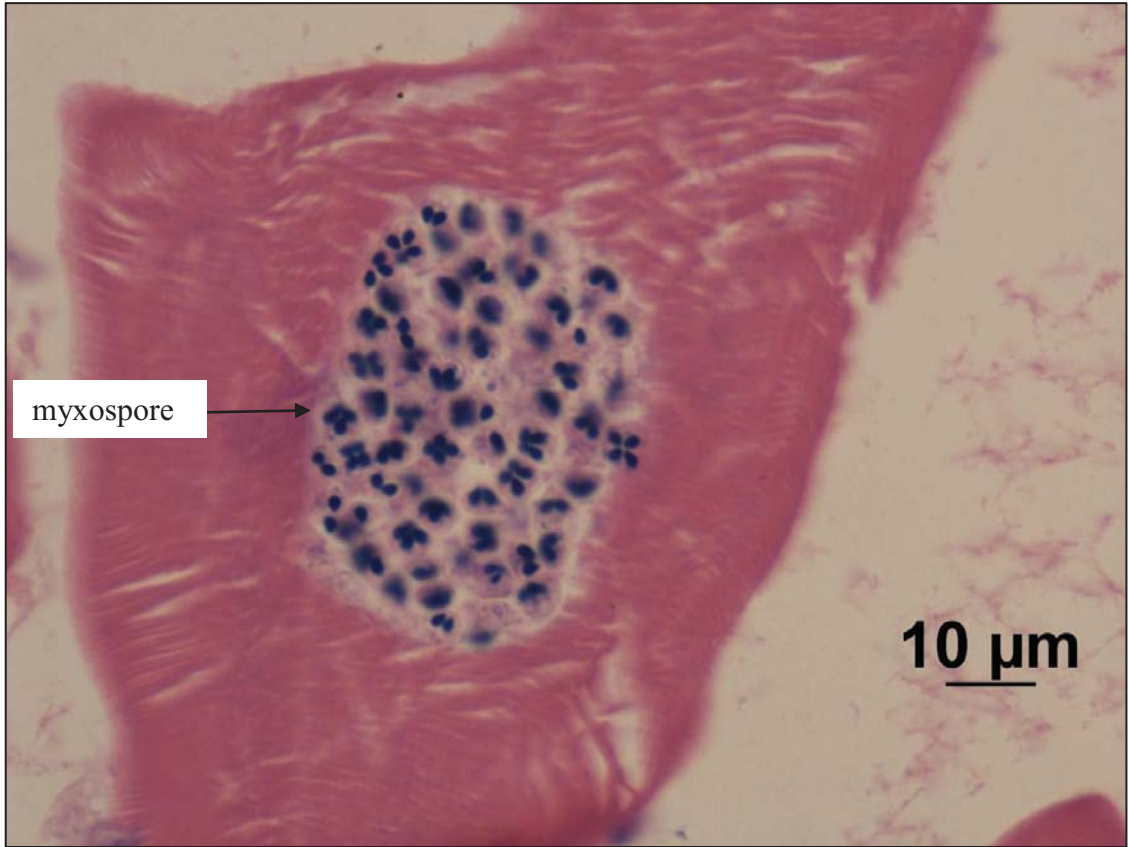


Photo 32 : Myxospores de *Kudoa histolytica* dans le merlu en microscopie optique x1000

CONCLUSION

Anisakis simplex et *Kudoa sp* sont deux parasites importants de part leur fréquence chez le poisson et leur répartition cosmopolite.

Ils posent tous deux des problèmes de santé publique.

A.simplex est ainsi responsable d'anisakidose, maladie relativement rare (5 cas par an en France (5)) mais dont la fréquence augmente progressivement du fait du changement des habitudes alimentaires (consommation de sushis notamment). *Kudoa sp.* est également responsable de phénomènes allergiques probablement sous-estimés à l'heure actuelle.

Ces deux parasites bien qu'appartenant à des classes différentes (Nématode pour *A. simplex* et Myxospora pour *Kudoa sp.*) sont tous deux responsables de manifestations allergiques importantes chez l'homme.

Kudoa sp. est quant à lui responsable d'une myoliquéfaction de la chair du poisson entraînant une perte économique (poisson invendable).

L'histologie est une méthode simple et peu coûteuse permettant de mettre en évidence ces deux parasites aussi bien dans le poisson frais que dans des denrées alimentaires destinées à la transformation (pulpe de poisson) ou dans les produits finis (saumon fumé). Cette méthode peut donc aisément être utilisée pour le diagnostic *A. simplex* et *Kudoa sp.* Elle ne permet cependant pas le diagnostic immédiat de ces deux parasites (temps de coloration et temps de préparation des coupes) et ne peut donc pas être utilisée avant la mise sur le marché des produits. Sa sensibilité est de plus faible qu'une méthode de diagnostic moléculaire (P.C.R. ou E.L.I.S.A.). L'histologie est donc utilisable pour les produits transformés ou en complément d'autres méthodes (P.C.R. ou E.L.I.S.A.)

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que
Mlle ORAIN Delphine, Muriel
a été admise sur concours en : 2002
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 12 juillet 2007
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE


Je soussignée, Geneviève BENARD, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
autorise la soutenance de la thèse de :
Mlle ORAIN Delphine, Muriel

intitulée :
« Apport de l'histologie dans la détection d'*Anisakis simplex* et de *kudoa sp.* dans les poissons et les matières premières
utilisées dans l'industrie ou dans les produits finis. »

**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Geneviève BENARD**





**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Gérard CAMPISTRON**

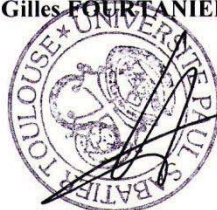
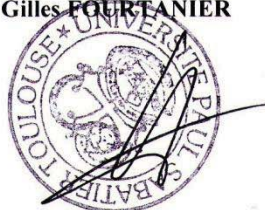


Professeur G. CAMPISTRON
SERVICE PHYSIOLOGIE-HEMATOLOGIE
FACULTE PHARMACIE
35, Chemin des Maraichers
31062 TOULOUSE CEDEX 4
Tél. : 05.62.25.68.20
Fax : 05.62.25.98.15

**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON**



**Vu le : 21 MAI 2010
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Gilles FOURTANIER**



ANNEXES

Annexe I : Règlement (CE) n°853/4004 du Parlement Européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale

Annexe II : Protocole d'inclusion à la paraffine

Annexe III : Coloration de Lillie et Pasternack

Annexe I : règlement (CE) n°853/4004 du Parlement Européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'hygiène applicables aux denrées alimentaires d'origine animale Section VIII : Produits de la pêche pages 45-46

L 226/66 FR Journal officiel de l'Union européenne 25.6.2004

CHAPITRE III: EXIGENCES APPLICABLES AUX ÉTABLISSEMENTS, Y COMPRIS LES NAVIRES, MANIPULANT LES PRODUITS DE LA PÊCHE

Les exploitants du secteur alimentaire doivent veiller au respect des exigences mentionnées ci-après, lorsque approprié, en

ce qui concerne les établissements manipulant les produits de la pêche.

A. EXIGENCES APPLICABLES AUX PRODUITS FRAIS DE LA PÊCHE

1. Quand les produits réfrigérés non conditionnés ne sont pas distribués, expédiés, préparés ou transformés immédiatement

après leur arrivée dans un établissement à terre, ils doivent être entreposés sous glace dans un lieu approprié.

Un réglage doit être effectué aussi souvent que nécessaire. Les produits de la pêche frais conditionnés doivent être réfrigérés à une température approchant celle de la glace fondante.

2. Les opérations telles que l'étêtage et l'éviscération doivent être effectuées de manière hygiénique. Lorsqu'il est possible,

du point de vue technique et commercial, de procéder à l'éviscération, celle-ci doit être effectuée le plus rapidement possible après la capture ou le débarquement des produits de la pêche. Les produits doivent être lavés abondamment à l'eau potable ou, à bord du vaisseau, à l'eau propre immédiatement après ces opérations.

3. Les opérations telles que le filetage et le tranchage doivent être réalisées de telle sorte que la contamination ou la souillure des filets et des tranches soit évitée. Les filets et les tranches ne doivent pas séjourner sur les tables de travail au-delà de la durée nécessaire à leur préparation. Les filets et les tranches doivent être conditionnés et, s'il y a lieu, emballés et réfrigérés le plus vite possible après leur préparation.

4. Les conteneurs utilisés pour l'expédition ou l'entreposage des produits de la pêche frais préparés et non emballés

et conservés sous glace doivent permettre à l'eau de fusion de ne pas rester en contact avec les produits.

5. Les produits de la pêche frais entiers et vidés peuvent être transportés et conservés dans de l'eau réfrigérée à bord

des vaisseaux. Ils peuvent aussi continuer à être transportés dans de l'eau réfrigérée après le débarquement, et être transportés depuis des installations d'aquaculture, jusqu'à leur arrivée dans le premier établissement à terre qui exerce toute activité autre que le transport ou le triage.

B. EXIGENCES APPLICABLES AUX PRODUITS CONGELÉS

Les établissements terrestres où sont congelés des produits de la pêche doivent disposer d'équipements répondant aux exigences fixées pour les bateaux congélateurs à la section VIII, chapitre I, partie I, titre C, points 1 et 2.

C. EXIGENCES APPLICABLES AUX PRODUITS DE LA PÊCHE SÉPARÉS MÉCANIQUEMENT

Les exploitants du secteur alimentaire qui produisent des produits de la pêche séparés mécaniquement doivent veiller au respect des exigences mentionnées ci-après:

1) les matières premières utilisées doivent satisfaire aux critères visés ci-après:

a) seuls des poissons entiers et la chair restant sur les arêtes après filetage peuvent être utilisés pour produire des produits de la pêche séparés mécaniquement;

b) toutes les matières premières doivent être exemptes de viscères;

2) le processus de fabrication doit satisfaire aux exigences mentionnées ci-après:

a) la séparation mécanique doit être réalisée sans délai indu après le filetage;

b) si des poissons entiers sont utilisés, ils doivent être éviscérés et lavés au préalable;

c) après leur fabrication, les produits de la pêche séparés mécaniquement doivent être congelés le plus rapidement possible ou incorporés dans un produit destiné à être congelé ou à subir un traitement stabilisateur.

D. EXIGENCES CONCERNANT LES PARASITES

1. Les produits de la pêche suivants doivent être congelés à une température ne dépassant pas - 20 °C en tous points du produit pendant une période d'au moins vingt-quatre heures; ce traitement doit être appliqué au produit cru ou au produit fini:

a) les produits de la pêche devant être consommés crus ou pratiquement crus;

b) les produits de la pêche provenant des espèces suivantes s'ils doivent subir un traitement de fumage à froid au cours duquel la température interne du produit de la pêche ne dépasse pas 60 °C:

i) le hareng;

- ii) le maquereau;
- iii) le sprat;
- iv) le saumon (sauvage) de l'Atlantique ou du Pacifique, et
- c) les produits de la pêche marinés et/ou salés si le traitement est insuffisant pour détruire les larves de nématodes.

2. Les exploitants du secteur alimentaire ne sont pas obligés de procéder au traitement visé au point 1:

- a) s'il existe des données épidémiologiques indiquant que les lieux de pêche d'origine ne présentent pas de danger sanitaire en ce qui concerne la présence de parasites, et
- b) si l'autorité compétente l'autorise.

3. Les produits de la pêche visés au point 1 doivent, lorsqu'ils sont mis sur le marché, sauf lorsqu'ils sont fournis au consommateur final, être accompagnés d'un document du fabricant indiquant le type de traitement auquel ils ont été soumis.

CHAPITRE IV: EXIGENCES APPLICABLES AUX PRODUITS DE LA PÊCHE TRANSFORMÉS

Les exploitants du secteur alimentaire qui effectuent la cuisson des crustacés et des mollusques doivent veiller au respect des exigences mentionnées ci-après:

- 1) un refroidissement rapide doit suivre la cuisson. L'eau utilisée à cet effet doit être de l'eau potable ou, à bord du navire de l'eau propre. Si aucun autre moyen de conservation n'est employé, le refroidissement doit être poursuivi jusqu'à ce soit atteinte une température proche de celle de la glace fondante;
- 2) le décorticage ou le décoquillage doivent être effectués dans des conditions d'hygiène de nature à éviter toute contamination du produit. S'ils sont exécutés à la main, le personnel doit veiller à bien se laver les mains;
- 3) après décorticage ou décoquillage, les produits cuits doivent être congelés immédiatement ou réfrigérés dès que possible à la température fixée au chapitre VII.

Annexe II : protocole d'inclusion à la paraffine

Matériel :

- automate à inclusion (Tissue-Tek II, modèle 4634) permettant la déshydratation, le délipidation et l'imprégnation des tissus
- distributeur de paraffine
- plaque réfrigérante
- microtome à paraffine
- plaque chauffante
- matériel de coloration des coupes
- minuteur
- hotte
- moule à inclusion
- papier essuie tout
- rasoirs jetables
- lames et lamelles

Réactifs :

- formol 10%
- alcool à 70°, 95° et alcool absolu
- microclearing à base de terpène : LMR[®] ou Claral[®]

Méthode

- prélever un échantillon de 2x0,5 cm environ
- mettre le produit dans une cassette
- placer la cassette dans l'automate et lancer le cycle d'inclusion
- solidifier sur une plaque réfrigérante
- démouler pour obtenir des blocs prêts à être découpés
- couper au microtome pour obtenir des coupes de 3 µm environ
- recueillir les coupes
- déposer la coupe sur une lame de verre contenant de l'eau
- placer l'ensemble sur une plaque chauffante pour l'étalement et l'adhésion de la coupe sur la lame
- laisser sécher 24 heures dans une étuve à 40°C
- déparaffiner la coupe dans deux bains de LMR[®] ou Claral[®] 5 minutes chacun
- éliminer le microclearing dans deux bains d'alcool 100° et 95° pendant 5 minutes chacun, puis dans un bain d'alcool à 70° pendant 5 minutes, puis dans un bain d'eau
- réaliser la coloration (Annexe II)
- rincer les lames à l'acétone sous la hotte
- les placer dans deux bains successifs de LMR[®] pendant quelques minutes
- déposer quelques gouttes de LMR[®]-histologique sur la lame
- placer la lamelle sur la lame, face couverte de LMR[®] au contact de la coupe
- laisser sécher 3 heures à température ambiante

Annexe III : coloration de Lillie et Pasternack

Technique

- déparaffiner et hydrater
- coloration pendant 1h30 dans le mélange suivant, préparé extemporanément :
 - Giemsa : 4 mL
 - Solution tampon pH 4,2 : 17 mL
 - Acétone : 40 mL
 - Eau distillée : 200 mL
- déshydrater directement avec de l'acétone pure
- éclaircir par 2 bains de LMR[®] (ou toluène)
- monter avec une résine synthétique

BIBLIOGRAPHIE

1. ABOLLO E., NOVOA B., FIGUERAS A., SSSU rDNA analysis of *Kudoa rosenbuschi* (Myxosporidia) from the Argentinean hake *Merluccius hubbsi*, *Dis. Aquat. Org.*, 2005, **64** : 135-139
2. ADLARD R.D., BRYANT M.S., WHIPPS C.M., KENT M.L., Multivalvulid Myxozoans from eastern Australia : three new species of *Kudoa* from scombrid and labrid fishes of Great Barrier Reef, Queensland, Australia, *J. Parasitol.*, 2005, **91** (5) : 1138-1141
3. ADROHER F.J., VALERO A., RUIZ-VALERO J., IGLESIAS L., Larval anisakids (Nematoda: Ascaridoidea) in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the fish market in Granada (Spain), *Parasitol. Res.*, 1996, **82** (3) : 253-256
4. AKAISHI F., EASY R., SAINT JEAN S., COURTENAY S., DE OLIVEIRA RIBEIRO C.A., CONE D., Supplemental diagnosis of *Kudoa funduli* (Myxozoa) parasiting *Fundulus heteroclitus* (Cyprinodontidae) from coastal northeastern North America, *J. Parasitol.*, 2004, **90** (3) : 477-480
5. ANGOT V., BRASSEUR P., Epidémiologie et prophylaxie de l'anisakiase : Enquête sur l'infestation de 3 espèces de consommation courante en France, *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 1983, **14** : 59-60
6. ARMENTIA A., MARTIN-GIL F.J., PASCUAL C., MARTIN-ESTEBAN M., CALLEJO A., MARTINEZ C., *Anisakis simplex* allergy after eating chicken meat, *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.*, 2006, **16** (4) : 258-263
7. AUDICANA M.T., ANSOTEGUI I.J., DE CORRES L.F., KENNEDY M.W., *Anisakis simplex* : dangerous - dead or alive ?, *Trends Parasitol.*, 2002, **18** (1) : 20-25
8. AUDICANA M.T., KENNEDY M.W., *Anisakis simplex* : from obscure worm to inducer of immune hypersensitivity, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2008, **21** (2) : 360-379
9. BAO PEREZ F., ALVAREZ RUBIO M., MARTI CABANE J., *Anisakis simplex* sobre ulcus en paciente con Billroth II, *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, 2005, **97** (6) : 533-534
10. BENARDI C., Preliminary study on prevalence of larvae of Anisakidae family in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *Food Control.*, 2009, **20** : 433-434
11. BLAYLOCK R.B., BULLARD S.A., WHIPPS C.M., *Kudoa hypoepicardialis* n.sp. (Myxozoa : Kudoidae) and associated lesions from the heart of seven perciform fishes in the Northern Gulf of Mexico, *J. Parasitol.*, 2004, **90** (3) : 584-593

12. BOUREE P., PAUGAM A., BISARO F., PETITHORY J.C., Ingestion de poisson cru : l'anisakidose – données actuelles à propos de 25 observations, *Médecine et Nutrition*, 1995, **31** (2) : 83-88
13. BRENT R.D., Isolation and identification of *Anisakis* roundworm larvae in fish, http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/index_e.html, 2006
14. CABRERA R., DEL PILAR M., ALTAMIRANO T., Anisakidosis a marine parasitic zoonosis : unknown or emerging in Peru?, *Rev. Gastroenterol. Peru*, 2004, **24** (4) : 335-342
15. CATTAN P.E., BABERO B.B., TORRES D.N., The helminth fauna of Chile : IV Nematodes of general *Anisakis* Dujardin, 1845 and *Phocanema* Myers, 1954 in relation with gastric ulcers in a South American sea lion, *Otaria byronia*, *J. of Wildl. Dis.*, 1976, **12** : 511-515
16. CHAI Y-J., CHO S-R., KOOK J., LEE S-H., Infection status of the seal eel (*Astroconger myriaster*) purchased from the Noryangjin fish market with anisakid larvae, *Korean J. Parasit.*, 1992, **31** (3) : 157-162
17. CHAUVEAU E., RICHECOEUR M., NICOLAS X., ANCEL D., KLOTZ F., Traitement endoscopique d'une anisakidose gastrique aiguë, *Acta Encoscopica*, 1999, **29** (4) : 505-507
18. CHOI S-J., LEE J-C., KIM M-J., HUR G-Y., SHIN S-Y., PARK H-S., The clinical characteristics of *Anisakis* allergy in Korea, *Korean J. Int. Med.*, 2009, June, **24** (2) : 160-163
19. COHEN S., Les risques parasitaires liés à la consommation de poisson cru, *Th. Med. Vet.*, Maison-Alfort, 2004, 126, 117 pp
20. COSTA G., PONTES T., MATTIUCCI S., D'AMELIO S., The occurrence and infection dynamics of *Anisakis* larvae in the black-scabbard fish, *Aphanopus carbo*, chub mackerel, *Scomber japonicus*, and oceanic horse mackerel, *Trachurus picturatus* from Madeira, Portugal, *J.Helmuthol.*, 2003, **77** (2) : 163-166
21. DASCHNER A., VEGA DE LA OSADA F., PASCUAL C.Y., Allergy and parasites reevaluated : wide-scade induction of chronic urticaria by the ubiquitous fish-nematode *Anisakis simplex* in endemic region, *Allergol. Immunopathol.*, 2005, **33** (1) : 31-37
22. DEADORFF T.L., KENT M.L., Prevalence of larval *Anisakis simplex* in pen-reared and wild-caught salmon (Salmonidae) from Puget Sound, Washington, *J. of Wildl. Dis.*, 1989, **25** (3) : 416-419
23. DIAMANT A., Fish-to-fish transmission of a marine myxosporean, *Dis. Aquat. Org.*, 1997, **30** : 99-195

24. DIAMANT A., UCKO M., PAPERNA I., COOLORNI A., LIPSHITZ A., *Kudoa iwatai* (Myxosporea : Multivalvulida) in wild and cultured fish in the Red Sea : redescription and molecular phylogeny, *J. Parasitol.*, 2005, **91** (5) : 1175-1189
25. DYKOVA I., DE BURON I., FIALA A., ROUMILLAT W.A., *Kudoa inornata* sp. n. (Myxosporea : Multivalvulida) from the skeletal muscle of *Cynoscion nebulosus* (Teleostei : Sciaenidae), *Folia Parasitol.*, 2009, **56** (2) : 91-98
26. EGUSA S., NAKAJIMA K., *Kudoa amamiensis* n.sp. (Myxosporea : Multivalvulida) found in cultured yellowtails and wild damselfishes from Amami-Oshima and Okinawa, Japan, *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1980, **46** (10) : 1193-1198
27. EUZEBY J., Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire, TEC&DOC Edition, 2008
28. FERNANDEZ M., AZNAR J.F., MONTERO F.E. GEORGIEX B.B., RAGA J.A., Gastrointestinal helminths of Cuvier's Beaked Whales, *Ziphius cavirostris*, from the Western Mediterranean, *J. Parasitol.*, 2004, **91** (2) : 418-420
29. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, Chap V Potential hazard in cold-smoked fish : Parasites, *Processing parameters needed to control pathogens in cold smoked fish*, 29 March 2001, <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/SafePracticesforFoodProcesses/ucm092182.htm>
30. GEORGES-NASCIMENTO M.A., CARVAJAL J.G., ALCAINO H.C., Occurrence of *Anisakis* sp larvae in the chilean Jack Mackerel, *Trachurus murphyi*, Nichols 1920, *Revista Chilena de Historia Natural*, 1983, **56** : 31-37
31. GONZALEZ T., ACUNA E., Influence of host size and sex on the endohelminth infracommunities of the Red Rockfish *Sebastes capensis* off Northern Chile, *J. Parasitol.*, 2000, **86** (4) : 854-857
32. HAYS R., MEASURES L.N., HUOT J., Capelin (*Mallotus villosus*) and herring (*Clupea harengus*) as paratenic hosts of *Anisakis simplex*, a parasite of beluga (*Delphinapterus leucas*) in the St. Lawrence estuary, *Can. J. Zool.*, 1998, **76** (8) : 1411-1417
33. HECKMANN R.A., JENSEN L.A., The histopathology and prevalence of *Henneguya sebasta* and *Kudoa clupeiidae* in the rockfish, *Sebastes paucispinis* of Southern California, *J. Wildl. Dis.*, 1978, **14** : 259-262
34. HUBERT B., BACOU J., BELVEZE H., Epidemiology of Human Anisakiasis : Incidence and sources in France, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1989, **40** (3) : 301-303
35. IGLESIAS-HIDALGO A., MANE-RUIZ N., MENDEZA BELRAN P., Abdomen agudo causado por *Anisakis simplex*, *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 2003, **21** (6) : 321-326

36. IM K-I., SHIN H-J., KIM B-H., MOON S-I., Gastric anisakiasis cases in Cheju-do, Korea, *Korean J. Parasitol.*, 1995, **33** (3) : 179-186
37. INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE, Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France, *Rapport INVS*, 2003, 149-151
38. IOLI A., LEONALDI R., GANGEMI C., LO GIUDICE L., BOTTARI M., PETIHORY J.C., A propos d'un cas d'anisakiase contractée en Sicile, *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 1998, **91** (3) : 232-234
39. JUGLARD R., TALARMIN B., CASSE J.P., CROQ M., LE GALL R., GARCIA J.F., Anisakidose, une localisation colique pseudotumorale rare. A propos d'un cas, *J. Radiol.*, 1998, **79** (9) : 883-885
40. KANAREK G., ROBBIECKI L., Third-stage larvae of *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809) in the Great Cormorant [*Phalacrocorax carbo sinensuns* (Blumenbach, 1798)] from the Vistula Lagoon, Poland, *International Journal of Oceanography and Hydrobiology*, 2006, **35** (1) : 23-28
41. KENT L.M., DAWE S.C., Efficacy of Fumagillin DCH against experimentally induced *Loma salmonae* (Microsporea) infections in Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*, *Dis. Aquat. Org.*, 1994, **20** : 231-233
42. KINKELIN P., GAY M., La Tétracapsulose à *Tetracapsula bryosalmonae* une bonne cible pour les études épidémiologiques en ichtyopathologie, *Epidemiol. et Santé Anim.*, 2000, **38** : 7-18
43. KUIPERS F.C., VAN THIEL P.H., RODENBURG W., WIELINGA W.J., ROSKAM P.T., Eosinophilic phlegmon of the alimentary canal caused by a worm, *Lancet.*, 1960, **26** (2) : 1171-1173
44. LE BRUN P., Lésions macroscopiques relevées à la criée (enquête à Cherbourg sur quatre espèces de poissons), *Th. Med. Vet.*, Nantes, 1990, 037, 171 pp
45. LORENZO S., IGLESIAS R., LEIRO J., UBEIRA F.M., Usefulness of currently available methods for the diagnosis of *Anisakis simplex* allergy, *Allergy*, 2000, **55** : 627-633
46. MAGNAVAL J.F., PAUGAM A., *Anisakis spp.*, *Pseudoterranova spp.*, Fiche de description de danger transmissible par les aliments, A.F.S.S.A., <http://www.afssa.fr/Documents/MIC-Fi-Anisakis.pdf>, 4pp
47. MANFREDI M.T., CROSA G., GALLI P., GANDUGLIAS S., Distribution of *Anisakis simplex* in fish caught in the Ligurian Sea, *Parasitol. Res.*, 2000, **86** (7) : 551-553

48. MARCOGLIESE D.J., Fecundity of Sealworm (*Pseudoterranova decipiens*) infecting Grey seals (*Halichoerus grypus*) in the Gulf of St. Lawrence, Canada: lack of density – dependent effects, *Int. J. Parasitol.*, 1997, **27** (11) : 1401-1409
49. MARTINEZ DE VELASCO G., RODERO M., CUELLAR C., CHIVATO T., MATEOS J.M., LAGUNA R., Skin prick test of *Kudoa sp.* antigens in patients with gastrointestinal and/or allergic symptoms related to fish ingestion, *Parasitol. Res.*, 2008, **103** (3) : 713-715
50. MARTINEZ DE VELASCO G., CUELLAR C., Humoral immune response induced by *Kudoa sp.* (Myxosporea : Multivalvulida) in BALB/c mice : oral administration, immunization and cross-reactions with *Myxobolus aeglefini* (Myxosporea : Bivalvulida), *Parasite Immunol.*, 2003, **25** : 449-456
51. MARTINEZ DE VELASCO G., RODRERO M., ZAPATERO L., CUELLAR C., Humoral immune responses induced by *Kudoa sp.* (Myxosporea : Multivalvulida) antigens in BALB/c mice, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2002, **97** (8) : 1091-1095
52. MC CARTHY J., MOORE T.A., Emerging helminth zoonoses, *Int. J. of Parasitol.*, 2000, **12-13** (30) : 1351-1360
53. MEENO Y., NAGASAWA K., SORIMACHI M., *Kudoa intestinalis n.sp.* (Myxosporea : Multivalvulida) from the intestinal musculature of the striped mullet, *Mugil cephalus*, from Japan, *J. Parasitol.*, 1993, **79** (2) : 190-192
54. MENON-BERTHEUX P., Anisakidés et anisakidose, *Th. Med. Vet.*, Maisson-Alfort, 1988, 056, 83pp
55. MESEGUER J., NAVARRO V., SANCHEZ-GUERRERO I., BARTOLOME B., NEGRO ALVAREZ J.M., *Anisakis simplex* allergy and nephrotic syndrome, *Allergol. Et Immunopath.*, 2007, **35** (5) : 216-220
56. MIGAKI G., HECKMANN R.A., ALBERT T.F., Gastric nodules caused by “*Anisakis type*” larvae in the bowhead whale (*Balaena mysticetus*), *J. Wildl. Dis.*, 1982, **18** (3) : 353-357
57. MORAN J.D.W., WITHAKER D.J., KENT M.L., A review of the myxosporeans genus *Kudoa* Meglitsch, 1947, and its impact on the international aquaculture industry and commercial fisheries, *Aquaculture*, 1999, **172** : 163-196
58. MORRISSEY M.T., HARTLEY P.S., HAEJUNG A., Proteolytic activity in Pacific Whiting and effects of surimi processing, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 1996, **4** (4) : 5-18
59. NADLER S.A., D’AMELIO S., DAILEY M.D., PAGGI L., SIU S., SAKANARI J.A., Molecular phylogenetics and diagnosis of *Anisakis*, *Pseudoterranova*, and *Contracaecum* from northern Pacific marine mammals, 2005, *J. Parasitol.*, **91** (6) : 1413-1429

60. OLIVA M.E., BALLON I., Metazoan parasites of the Chilean hake *Merluccius gayi gayi* as a tool for stock discrimination, *Fish. Res.*, 2002, **56** : 313-320
61. OSTRANDER G.K., The laboratory Fish, Academic Press, 2000, Chapter 23, p 379-382
62. PETERSEN F., PALM H., MOLLER H., CUZI M.A., Flesh parasites of fish from central Philippine waters, *Dis. Aquat. Org.*, 1993, **15** : 81-86
63. PETITHORY J.C., Actualité sur l'anisakidose, *Revue Francophone des Laboratoires*, 2008, **399** : 87-93
64. PICCOLO G., MANFREDI M.T., HOSTE L., VERCRUYSSSE J., Anisakidae larval infection in fish fillets sold in Belgium, *Vet. Q*, 1999, **21** (2) : 66-67
65. REPISO ORTEGA A., ALCANTARA TOREZ A., GONZALEZ DE FRUTO C., DE ARTAZA VARASA T., RODRIGUEZ MERLO R., VALLE MUNOZ J., MARTINEZ POTENCIANO J.L., Anisakiasis gastrointestinal. Estudio de una serie de 25 pacientes, *Gastroenterol. Hepatol.*, 2003, **26** : 341-346
66. ROKICKI J., RODJUK G., ZDZITOWIECKI K., LASKOWSKI Z., Larval ascaridoid nematodes in fish from South Shetland Islands (Southern Ocean), *Polish Polar Research*, 2009, **30** (1) : 49-58
67. SAINT-HILAIRE S., HILL M., KENT M.L., WHITAKER D.J., RIBBLE C., Comparative study of muscle texture and intensity of *Kudoa thyrsites* in farm-reared Atlantic *Salmo salar* on the Pacific coast of Canada, *Dis. Aquat. Org.*, 1997, **31** : 221-225
68. SARDELLA N.H., TRINCHERO J.L., MANCA E.A., Efectos del deterioro producido por mixosporidios de la especie *Kudoa rosenbuschi* en la musculatura de *Merluccius hubbsi*, *Rev. Invest. Des. Pesq.*, 1987, **7** : 105-112
69. SCALA E., GIANI M., PIRROTTA L., GUERRA E.C., CADONI S., GIRARDELLI C.R., DE PITA O., PUDDU P., Occupational generalised urticaria and allergic airborne asthma due to *Anisakis simplex*, *Eur. J. Dermatol.*, 2001, **11** (3) : 249-250
70. SEREDA M.J., HARTMANN S., LUCIUS R., Helminths and allergy : example of tropomyosine, *Trends Parasitol.*, 20008, **24** (6) : 274-278
71. SHIELD B.A., BIRD P., LISS W.J., GROVES K.L., OLSON R., ROSSIGNOL P.A., The Nematode *Anisakis simplex* in American shad (*Alosa sapidissima*) in two Oregon rivers, *J. Parasitol.*, 2002, **88** (5) : 1033-1035
72. SIEBERT U., TOLLEY K., VIKINGSSON G.A., OLAFSDOTTIR D., LEHNERT K., WEISS R, BAUMGARTNER W., Pathological findings in harbour porpoise (*Phocanea phocanea*) from Norwegian and Icelandic waters, *J. Comp. Pathol.*, 2006, **134** (2-3) : 134-142

73. SMITH J.W., WOOTTEN R., Fiche n°8 : *Anisakis* larvae (“herringworm”) (Nematoda) in fish, Parasitose des poissons par les larves du Nématode *Anisakis*, *Fiches d’identification des maladies et des parasites des poissons, crustacés et mollusques*, 1984, May, Ed. Carl J. Sinderman, NOAA National Marine Fisheries Service
74. SOHN W-M., CHAI J-Y., Infection status with helminthes in feral cats purchased from a market in Busan, Republic of Korea, *Korean J. Parasitol.*, 2005, **43** (3) : 93-100
75. SOLAS M.T., DE LAS HERAS C., RODRIGUEZ-MAHILLO A.I., GONZALEZ-MUNOZ M., MONEO I., MENDIZABAL A., TEJADA M., *Anisakis simplex* antigens in fresh and frozen-thawed muscle of anchovies in vinegar, *Food Science and Technology International*, 2009, **15** (2) : 139-148
76. SONG S-B., HWANG E-G., Infection status of larval anisakids in *Astroconger myriaster* collected from the Southern Sea near Pusan, *Korean J. Parasitol.*, 1992, **30** (4) : 263-267
77. SONG S-B., LEE S.R., CHUNG H.H., HAN N.S., Infection status of anisakid larvae in anchovies purchased from local fishery market near southern and eastern sea Korea, *Korean J. Parasitol.*, 1995, **33** (2) : 95-99
78. STROMNES E., ANDERSEN K., Distribution of the whaleworm (*Anisakis simplex*, Nematoda, Ascaridoidea) L3 larvae in the three species of marine fish; saithe (*Pollachius virens*(L.)), cod (*Gadus morhua* L.) and redfish (*Sebastes marinus* (L.)) from Norwegian waters, *Parasitol. Res.*, 1998, **84** : 281-285
79. SUGAWARA Y., URAWA S., KAERIYAMA M., Infection of *Anisakis simplex* (Nematoda : Anisakidae) larvae in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in the North Pacific Ocean, Bering Sea, and a river of Hokkaido, *North Pacific Anadromous Fish Comission Doc. 791*, 2004, Oct, 14 pages
80. SWEARER S.E., ROBERTSON D.R., Life history, pathology, and description of *Kudoa ovivora n.sp.* (Myxozoa, Myxosporea): an ovarian parasite of Caribbean labroid fishes, *J. Parasitol.*, 1999, **85** (2) : 337-353
81. TAKABE K., OHKI S., KUNIHICO O., SAKASHITA T., ENDO I., ICHIKAWA Y., SEKIDO H., AMANO T., NAKATANI Y., SUZUKI K., SHIMADA H., Anisakidosis : A cause of intestinal obstruction from eating sushi, *Am. J.Gastroenterol.*, 1998, **93** (7) 1172-1173
82. TAYLOR K., JONES S., An enzyme linked immunosorbent assay for the detection of *Kudoa thyrsites* in Atlantic salmon *Salmo salar*, *Aquaculture*, 2005, **250** : 8-15

- 83.** TESTINI M., GENTILE A., LISSIDINI G., DI VENERE B., PAMPIGLIONE S., Splenic anisakiasis resulting from a gastric perforation : an unusual occurrence, *Int. Surg.*, 2003, **88** (3) : 126-128
- 84.** TORRES P., OPORTO J.A., BRIEVA L.M., ESCARE L., Gastrointestinal Helminths of the Cetaceans *Phocoena spinipinnis* (Burmeister, 1865) and *Cephalorhynchus eutropia* (Gray, 1846) from the Southern Coast of Chile, *J. Wildl. Dis.*, 1992, **25** (2) : 313-315
- 85.** TORRES P., ORTEGA J., SCHLATTER R., Nematode parasites of the digestive tract in the Neotropic cormorant chicks (*Phalacrocorax brasilianus*) from the River Cruces Ramsar site in southern Chile, *Parasitol. Res.*, 2005, **97** (2) : 103-107
- 86.** URAWA S., FUJISAKI Y., Heavy infections of *Anisakis simplex* (Nematoda : Anisakidae) larvae in the muscle of maturing chum salmon : a preliminary report, *North Pacific Anadromous Fish Commission Doc. 993*, 2006, Oct., 6 pages
- 87.** VALLS A., PASCUAL C.Y., MARTIN ESTEBAN M., *Anisakis* y anisakiosis, *Allergol. et Immunopathol.*, 2003, **31** (6) : 348-55
- 88.** VAN THIEL P., KUIPERS F.C., ROSKAM R.T., A nematode parasitic herring, causing acute abdominal syndromes in man, *Trop. Geogr. Med.*, 1960, **12** : 97-113
- 89.** WHIPPS C.M., ADLARD R.D., BRYANT M.S., KENT M.L., Two unusual Myxozoans, *Kudoa quadricornis* n.sp. (Multivalvulida) from the muscle of goldspotted trevally (*Carangoides fulvoguttatus*) and *Kudoa permulticapsula* n.sp. (Multivalvulida) from the muscle of spanish mackerel (*Scomberomorus commerson*) from the Great Barrier Reef, Australia, *J. Parasitol.*, 2003, **89** (1) : 168-173
- 90.** WHIPPS C.M., GROSSEL G., ADLARD R.D., YOKOYAMA H., BRYANT M.S., MUNDAY B.L., KENT M.L., Phylogeny of the Multivalvulidae (Myxozoa : Myxosporea) based on comparative ribosomal DNA sequence analysis, *J. Parasitol.*, 2004, **90** (3) : 618-622
- 91.** WHIPPS C.M., DIGGLES B.K., *Kudoa alliarina* in flesh of Argentinian hoki *Macruronus magellanicus* (Gadiformes ; Merlucciidae), *Dis. Aquat. Organ.*, 2006, **60** (2-3) : 259-263
- 92.** YOKOYAMA H., ITOH N., Two multivalvulid Myxozoans causing postmortem myoliquefaction: *Kudoa megacapsula* n.sp. from red barracuda (*Sphyraena pinguis*) and *Kudoa thyrsites* from splendid alfonso (*Beryx spendens*), *J. Parasitol.*, 2005, **91** (5) : 1132-1141
- 93.** YOKOYAMA H., YANAGIDA T., TAKEMARU I., The first record of *Kudoa megacquadapsula* (Myxozoa : Multivalvulida) from farmed yellowtail *Seriola quinqueradiata* originating from wild seedlings in South Korea, *Fish Pathol.*, 2006, **41** (4) : 159-163

94. ZHOU L.S., LI-CHAN E.C.Y., Effects of Kudoa spores endogenous protease activity and frozen storage on cooked texture of minced Pacific hake (*Merluccius productus*), *Food Chem.*, 2009, **113** : 1076-1082

Crédit photographique G. Bénard

Toulouse, 2010

NOM : ORAIN

Prénom : Delphine

TITRE : APPORT DE L'HISTOLOGIE DANS LA DETECTION D'ANISAKIS SIMPLEX ET DE KUDOA SP. DANS LES POISSONS ET LES MATIERES PREMIERES UTILISEES DANS L'INDUSTRIE OU DANS LES PRODUITS FINIS

RESUME : *Anisakis simplex* et *Kudoa sp.* sont deux parasites des poissons d'importance mondiale. Ils sont à la fois responsables de pertes économiques importantes (dépréciation de la chair du poisson contaminée, myoliquéfaction pour *Kudoa sp.*) et de risque pour la santé publique (anisakidose, risque allergique). Leur diagnostic par histologie à partir de poisson frais, de matières premières utilisées dans l'industrie (pulpe de poisson) ou de produit fini (saumon fumé) est donc important. L'histologie est une méthode peu coûteuse et facile permettant de mettre en évidence ces deux parasites. Elle peut donc être utilisée facilement.

MOTS-CLES : *Anisakis simplex*, *Kudoa sp.*, parasite poisson, histologie, aliments

ENGLISH TITLE : CONTRIBUTION OF HISTOLOGY IN DETECTION OF ANISAKIS SIMPLEX AND KUDOA SP. IN FISH AND IN COMMODITIES PRODUCTS USED IN INDUSTRY OR IN FINAL PRODUCTS

ABSTRACT : *Anisakis simplex* and *Kudoa sp.* are two fish parasites . They are both responsible of important economic losses (depreciation of contaminated fish meat, myoliquefaction for *Kudoa sp.*) and are a risk for public health (anisakidiosis, allergy). So histological diagnostic from fresh fish, commodities products (fish pulp) ou final product (smoked salmon) is important. Histology is a not expensive and easy method for the detection of the two parasites. It must be used easily.

KEYWORDS : *Anisakis simplex*, *Kudoa sp.*, fish, parasite, histology, food